

Faglig vurdering i forbindelse med bekjempelse av viral hemoragisk septikemi (VHS) i Storfjorden

Trude M. Lyngstad

Helga R. Høgåsen

Irene Ørpetveit

Hege Hellberg

Ole Bendik Dale

Atle Lillehaug





Veterinærinstituttets rapportserie · 3 - 2008

Tittel

Faglig vurdering i forbindelse med bekjempelse
av viral hemoragisk septikemi (VHS) i Storfjorden

Publisert av

Veterinærinstituttet · Pb. 750 Sentrum · 0106 Oslo

Form omslag: Graf AS

Forsidefoto: Dansk regnbueørret med tegn på kronisk
VHS (utstående øyne).

Foto: Ole Bendik Dale, Veterinærinstituttet

Bestilling

kommunikasjon@vetinst.no

Faks: + 47 23 21 60 01

Tel: + 47 23 21 63 66

ISSN 0809-9197

ISSN 1890-3290 elektronisk utgave

Forslag til sitering:

Lyngstad TM, Høgåsen HR, Ørpetveit I, Hellberg H, Dale OB,
Lillehaug A. Faglig vurdering i forbindelse med bekjempelse
av viral hemoragisk septikemi (VHS) i Storfjorden.

Veterinærinstituttets rapportserie 3-2008. Oslo: Veterinær-
instituttet; 2008. 20s.

© Veterinærinstituttet

Kopiering tillatt når kilde gjengis



Veterinærinstituttets rapportserie

National Veterinary Institute's Report Series

Rapport 3 · 2008

Faglig vurdering i forbindelse med bekjempelse av viral hemoragisk septikemi (VHS) i Storfjorden

Forfattere

Trude M. Lyngstad

Helga R. Høgåsen

Irene Ørpetveit

Hege Hellberg

Ole Bendik Dale

Atle Lillehaug

Oppdragsgiver

Mattilsynet

17. mars 2008

ISSN 0809-9197

ISSN 1890-3290 elektronisk utgave



Veterinærinstituttet
National Veterinary Institute

Innhold

Innhold	5
Forord	6
Mandat	7
Risiko for tilstedeværelse av VHS-virus (VHSV) på lokaliteter som er testet negativ og behovet for ytterligere testing	7
Bakgrunn.....	7
Vurdering	10
Generelt	10
Settefiskanlegg for regnbueørret	12
Sjøanlegg med regnbueørret	13
Sjøanlegg med laks	14
Sjøanlegg med torsk/sei.	15
Kartlegging av VHS-status i villfiskbestanden i Storfjorden	15
Bakgrunn.....	15
Vurdering	16
Mottakelighet av det aktuelle VHSV på torsk og smitteforsøk	17
Etterord.....	17
Referanser	17

Forord

Mattilsynet Regionkontoret for Trøndelag, Møre og Romsdal ønsket i e-post datert 14. januar 2008 bistand fra Veterinærinstituttet i forbindelse med VHS-bekjempelsen. Det ble spesielt bedt om en vurdering av risiko for tilstedeværelse av VHS-virus på lokaliteter hvor det ikke er påvist VHS-virus etter laboratorieundersøkelser.

Som svar på Mattilsynets henvendelse har Veterinærinstituttet utarbeidet en rapport. For å sikre best mulig åpenhet og kvalitet på rapporten, ble en midlertidig utgave lagt ut på Veterinærinstituttets hjemmeside den 26. februar 2008 for at vi skulle kunne motta kommentarer, innspill og tilleggsinformasjon som kunne være av betydning for vurderingen. I tillegg ble også følgende fagmiljøer kontaktet direkte på e-post 3. mars 2008: Norges veterinærhøgskole, Havforskningsinstituttet, Universitetet i Bergen, Universitetet i Tromsø, Fiskeri- og havbruksnæringens landsforening, og Norske Sjømatbedrifters Landsforening. Høringsfristen var satt til 13. mars 2008.

Ved høringsfristens utløp hadde det kommet inn totalt 3 innspill:

- Havforskningsinstituttet ved Øyvind Bergh er positiv til at Veterinærinstituttet sender sin faglige vurdering på åpen høring, og håper at økt åpenhet kan bidra til beste for både næring, forvaltning og forskning. Havforskningsinstituttet er kritisk til Veterinærinstituttets formulering på side 10 i rapporten under punktet om smittepress om at sild og annen villfisk i Storfjorden kan være smittet av oppdrettsfisk. Havforskningsinstituttet understreker imidlertid at "tilstedeværelsen av replikerende virus i en oppdrettspopulasjon vil føre til forhøyet smittepress overfor villfisk". Teksten er korrigert for å tydeliggjøre dette punktet. Havforskningsinstituttet har videre faglige synspunkter på behandling av VHSV i norske populasjoner, og på håndteringen av liknende diagnoser i framtiden. Vi anser at disse momentene ikke har direkte relevans for problemstillingene som er vurdert i denne rapporten og de er derfor ikke vurdert her.
- Espen Rimstad ved Norges veterinærhøgskole etterlyser mer informasjon omkring funn av VHSV og sekvenseringsresultater fra sild som er gjort ved Universitetet i Bergen. Universitetet i Bergen ved Are Nylund er kontaktet, og informasjon om sekvenseringsresultatene er oppdatert. Rimstad foreslår videre en omformulering på side 11 der det bør framgå at regnbueørret regnes for å være en meget mottakelig art for VHS. Dette er justert.
- Renate Johansen ved Veterinærinstituttet foreslår en ytterligere presisering av begrepene genotyper og prevalens. Den endelige rapporten er justert for å ta hensyn til dette.

Mandat

I e-post datert 14. januar 2008 uttrykker Mattilsynet Regionkontoret for Trøndelag, Møre og Romsdal ønske om følgende bistand til VHS-bekjempelsen:

"Mattilsynet, regionkontoret for Trøndelag, Møre og Romsdal vil med dette signalisere behov for faglig bistand i arbeidet med å bekjempe VHS i Storfjorden i Møre og Romsdal på følgende områder:

1. *Vurdering av risikoen for tilstedeværelse av VHS-virus på lokaliteter som pt er testet negativ og en vurdering av behovet for ytterligere testing*
2. *Kartlegging av VHS-status i villfiskbestanden i Storfjorden*
3. *Mottakelighet av den aktuelle VHS-virusstammen på torsk*

Ad. 1

En rekke lokaliteter i og utenfor den midlertidige tiltakssonen er nå testet en gang mhp tilstedeværelse av VHS-virus. Dette gjelder så vel settefiskanlegg som oppdretter regnbueørret som sjøanlegg som huser ulike arter (rbø, torsk, sei, laks). Samtlige testede lokaliteter er også pålagt restriksjoner. Mattilsynet er inntil videre innstilt på å opprettholde båndleggingen, men det vil etter hvert bli behov for å foreta en vurdering av om restriksjonene på de ulike lokalitetene skal oppheves. Et viktig kriterium i denne vurderingen vil være risikoen for tilstedeværelse av VHS-virus. Med utgangspunkt i dette ønsker vi derfor en vurdering av behovet for ytterligere testing, hvilket testregime som det i så fall bør legges opp til og hvilken påvisningssikkerhet som i så fall kan påregnes ved de ulike regimene. Tilbakemeldingen ønskes differensiert etter følgende kriterier:

- *settefiskanlegg for regnbueørret*
- *sjøanlegg med regnbueørret*
- *sjøanlegg med laks*
- *sjøanlegg med torsk/sei*

Ad. 2

Mulig overføring av VHS mellom villfiskbestanden i fjordsystemet og de berørte lokalitetene har vært et tema i de epidemiologiske vurderingene av utbruddet, og vil også kunne bli et moment i forhold til framtidig forvaltningsmessige vurderinger. Sett på bakgrunn av dette vil det være ønskelig å gjennomføre en mindre kartlegging av VHS-status på ulike arter som befinner seg i fjordsystemet. I første omgang ønskes en skisse til slik studie, hvor det tas stilling til nødvendig omfang, hvilke arter som bør sjekkes, hensiktsmessig tidspunkt for undersøkelsen og hvilke kostnader som vil måtte påregnes for en slik studie.

Ad. 3

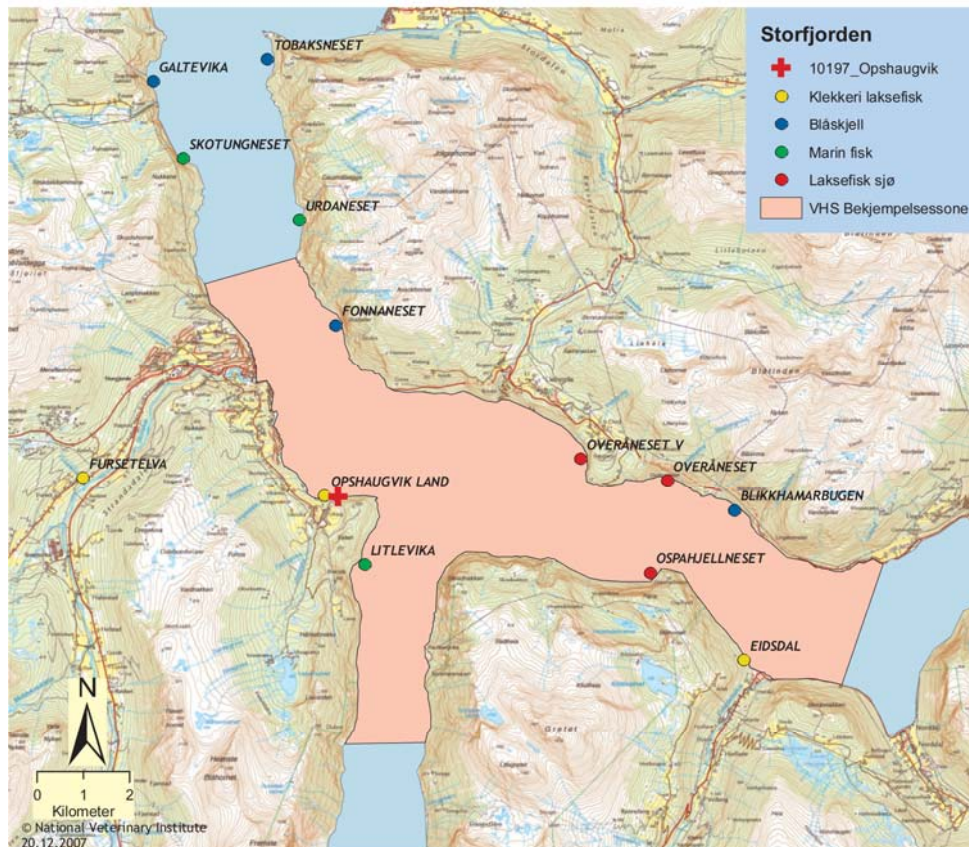
Vi har tidligere hatt noe kontakt vedrørende smitteforsøk med den aktuelle virusstammen på torsk. Det foregår i den forbindelse en viss sondering opp mot fagmiljøet i Aberdeen i Skottland. Vi ønsker en avklaring på om dette lar seg gjennomføre, og på hvilke kostnader Mattilsynet vil måtte påregne i tilknytning til dette."

Risiko for tilstedeværelse av VHS-virus (VHSV) på lokaliteter som er testet negativ og behovet for ytterligere testing

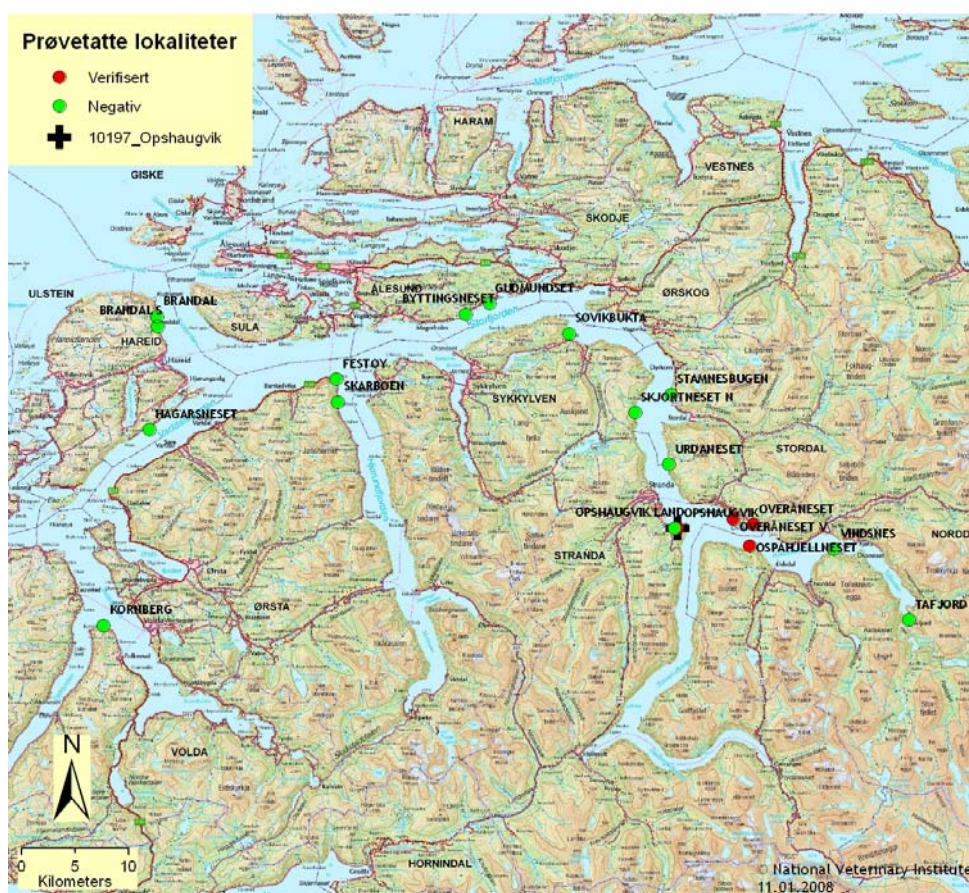
Bakgrunn

Utbrudd av viral hemoragisk septikemi (VHS) hos regnbueørret på lokaliteten Opshaugvik i Møre og Romsdal ble stadfestet av Mattilsynet 27. november 2007. Sykdommen har ikke vært påvist i Norge siden 1974. Utbruddet i Møre og Romsdal høsten 2007 er det første kjente utbruddet hos regnbueørret som er forårsaket av VHS-virus (VHSV) genotype III (GIII). Sykdommen er per 12. februar 2008 påvist i totalt 4 lokaliteter med regnbueørret i samme område. En oversikt over lokalisering av primærutbruddet, registrerte lokaliteter og VHS bekjempelsessone per 20. desember 2007 fremgår av figur 1.

Figur 1. Oversikt over lokalisering av primærutbruddet, registrerte lokaliteter og VHS bekjempelsessone per 20. desember 2007.



Figur 2. Oversikt over prøvetatte lokaliteter med hensyn på forekomst av VHSV per 11. februar 2008, som følge av påvist VHS på Opshaugvik.



I forbindelse med utbruddet ble det iverksatt en undersøkelse av nærliggende lokaliteter, samt av andre lokaliteter i regionen hvor det forelå opplysninger om mulig smittekontakt med lokaliteten Opshaugvik. Som en hovedregel skulle det tas ut prøver fra 30 fisk fra hver lokalitet i samsvar med anbefalinger fra EUs referanselaboratorium for fiskesykdommer i Århus. Hvis det var regnbueørret i anlegget, skulle minst 2/3 av prøvene tas fra denne arten. Hvis det ikke var regnbueørret i anlegget, skulle prøvene tas likt fordelt på de aktuelle artene. Det ble bedt om at prøvene skulle tas av svake individer, svimlere, fisk med unormale svømmebevegelser eller nylig død fisk. Dersom slik fisk ikke eksisterte, skulle prøvene tas av frisk fisk på en slik måte at alle deler av anlegget og alle årsklasser ble representert. Det skulle tas ut enkeltprøver av nyre fra 30 fisk fra hver lokalitet for RT-PCR undersøkelse. Av de samme 30 fiskene skulle det også tas ut seks samleprøver à 5 fisk bestående av vev fra nyre, hjerte og milt for virusdyrking. Ved funn av syk fisk skulle det tas ut prøver for histologisk undersøkelse fra inntil 10 individer. Det ble samlet inn epidemiologisk informasjon om anleggene i tiltakssonen, herunder opplysninger om driftsforhold, biomasse, opprinnelse mv. Per 11. februar 2008 har Veterinærinstituttet mottatt prøver fra 20 ulike lokaliteter, hvorav VHSV er funnet på totalt fire anlegg, alle med regnbueørret (figur 2, tabell 1). Fordelingen av prøver på antall lokaliteter og ulike fiskearter er vist i tabell 1. Tabell 2 viser prevalensestimater for de positive lokalitetene som er undersøkt ved Veterinærinstituttet. I tillegg har Universitetet i Bergen (UiB) undersøkt 30 regnbueørret fra utbruddslokaliteten hvorav to var positive for VHSV, genotype GIII. UiB har også undersøkt villfisk som er fanget lenger ut i fjorden (16 brisling og 120 sild). Per 5. februar 2008 var det funnet 2 positive for VHSV blant de 120 sildene. Sekvensering av ett av isolatene viste at dette var VHSV genotype Ib (pers. komm. A. Nylund).

Tabell 1. Oversikt over antall lokaliteter og ulike fiskearter som er undersøkt ved Veterinærinstituttet.

Art	Antall undersøkte lokaliteter	Antall undersøkte fisk ¹	Antall lokaliteter hvor VHSV ble påvist
Regnbueørret	7	208	4
Laks	2	60	0
Torsk	9 ²	239	0
Sei	3 ²	60	0
Kveite	1	30	0

¹) Alle mottatte prøver er undersøkt, og resultatene fra RT-PCR og virusdyrkingen var samsvarende

²) To lokaliteter hadde både torsk og sei

Tabell 2. Prøveresultater fra de fire positive lokalitetene som er undersøkt ved Veterinærinstituttet. Estimaterberegningen forutsetter et tilfeldig uttak, og er gyldig for den kategorien fisk som er undersøkt. Når svimlere og syk fisk er tatt ut gjelder prevalensestimaterne denne kategorien, og prevalensen på hele lokaliteten må antas å være lavere.

Lokalitetsnavn	Mottatt dato	Antall undersøkte fisk/ antall positive	Estimert prevalens %	95 % konfidensintervall	
Opshaugvik	16.11.2007	7/2	28,6	3,7	71,0
Opshaugvik	27.11.2007	10/10	100,0	69,2	100,0
Overåneset	05.12.2007	30/0	0,0	0,0	11,6
Overåneset	16.01.2008	5/5	100,0	47,8	100,0
Overåneset	06.02.2008	3/3	100,0	29,2	100,0
Ospahjellneset	11.12.2007	30/16	53,3	34,3	71,7
Ospahjellneset	08.02.2008	3/3	100,0	29,2	100,0
Overåneset V	30.11.2007	30/1	3,3	0,1	17,2
Overåneset V	21.12.2007	6/0	0,0	0,0	45,9
Overåneset V	06.02.2008	3/3	100,0	29,2	100,0

I Rådskdirektiv 91/67/EEC stilles det kriterier i forbindelse med frisonestatus for VHS. Før frisonestatus kan gjenopprettes i forbindelse med sykdomsutbrudd skal det 1) ikke være kliniske eller andre tegn til VHS de siste fire år, og 2) gjennomføres to inspeksjoner årlig samt prøvetaking i en to års-periode med negativt resultat med hensyn på undersøkelser for VHSV. I det nye fiskehelsedirektivet som trer i kraft sommeren 2008 (Rådskdirektiv 2006/88/EC) settes det nå krav om aktiv overvåking i to år, samtidig som at listen over mottakelige arter nå omfatter flere arter enn tidligere, blant annet torsk (*Gadus morhua*).

Vurdering

Generelt

VHS er en smittsom sykdom som er forårsaket av et *Novirhabdovirus* i familien *Rhabdoviridae*. Frem til midten av 1980-tallet antok man med at VHS kun rammet regnbueørret og noen andre ferskvannsarter. I de senere årene har imidlertid VHSV blitt isolert fra en rekke marine fiskearter. Det er påvist flere varianter av VHSV og disse kan inndeles i ulike genotyper (I-IV) (Einer-Jensen *et al.*, 2004) på grunnlag av genetisk slektskap:

- Genotype I.
 - Ia omfatter VHSV isolert fra regnbueørret i Danmark og andre europeiske land. Kjente isolater i denne gruppen betraktes som svært patogene for regnbueørret.
 - Ib er bl.a. isolert fra torsk i Østersjøen (1979, 1996) og Lille Belt (1979), fra sild i Østersjøen og Den Engelske kanal (1996), Nordsjøen (1998), Skagerrak (1997 og 1999), Kattegat (2000), samt fra noen andre marine arter i samme områder. Denne genotypen ble også påvist i forbindelse med utbrudd av VHS hos regnbueørret i et sjøanlegg i Sverige (Kattegat 1998 og 2000).
- Genotype II er isolert fra bl.a. sild og brisling i Østersjøen (1996).
- Genotype III er isolert fra torsk (1993) og fra hyse (1995) i Nordsjøen, fra sild i Skagerrak og hvitting i Nordsjøen (1997), og fra piggvar i Irland (1997). Viruset som forårsaket utbrudd av VHS hos piggvar i oppdrett i Skottland (1994) var av denne genotypen. VHSV isolert fra det aktuelle utbruddet av VHS hos regnbueørret i Storfjorden tilhører også genotype III.
- Genotype IV er bare isolert i Nord-Amerika, hittil ikke i Europa. Fra 2005 har denne genotypen forårsaket utbrudd med høy dødelighet på flere arter ferskvannsfisk i Great Lakes området i USA, og er tidligere isolert fra stillehavslaks (1998).

Påvisning av VHSV i fisken er ikke ensbetydende med sykdom, og VHSV isolert fra symptomfri (frisk) fiskeart kan gi utbrudd av VHS hos i andre arter. Ulike marine VHSV isolater er vist å ha ulik patogenitet for regnbueørret (Skall *et al.*, 2005). I Great Lakes-området i USA har VHSV de siste årene gitt massedød hos vill fisk på seks ulike arter og blitt isolert fra ytterligere 19 arter. Det aktuelle isolatet har samme genotype (IV) som VHSV påvist på østkysten av Canada og har trolig kommet inn i sjøene via fisk som har migrert opp St. Lawrence Seaway. Utbruddene i Great Lakes betraktes som én epidemi og antas å ha sitt utgangspunkt i ett virusisolat. Great Lakes epidemien viser at VHSV, under gitte betingelser, har potensial til å gi sykdom hos mange ulike arter.

VHSV smitter via horisontale smitteveier. Milt og nyre inneholder mest virus, og viruset skilles ut i urin (Skall *et al.*, 2005). Viruset kan tas opp per os, gjennom drikking av sjøvann eller inntak av infisert fisk. I oppdrettsammenheng har sykdommen vært forbundet med fôring med fersk eller frossen fisk. Vitenskapskomiteen for mattrygghet (VKM) har 30.06.2007 foretatt en vurdering av smitterisiko knyttet til bruk av ubehandlet fisk som fôr til oppdrettsfisk og ved oppfôring av villfanget fisk. VKM konkluderer med at det er liten tilleggsrisiko knyttet til fôring, siden 1) villfanget torsk kan være smittet i utgangspunktet og utgjøre et like stort, om ikke større, potensial for videre smitte enn fôr, og 2) sild går inn i nære norske kystområder for å gyte og kan derved overføre smitte til oppdrettet fisk. VKM understreker imidlertid at hvis fôret stammer fra et helt annet geografisk område enn torsken som skal oppfôres, må risikoen anses som større. VKM påpeker også at det er nødvendig med ny og oppdatert kunnskap når det gjelder fôring av fangstbasert oppdrettstorsk. Vertikal spredning, dvs. fra foreldre til

avkom, er ikke påvist, men virus kan finnes på yttersiden av eggene, og gode desinfeksjonsrutiner er derfor viktig.

Smittekilden for utbruddet i Møre og Romsdal høsten 2007 er ikke kjent. I teorien kan VHSV ha blitt introdusert til anlegget med regnbueørret blant annet via kontakt med introdusert smittet (marin) fisk til området, kontaktsmitte med villlevende marin fisk eller fôr basert på marin fisk. Viruset som er påvist, tilhører genotype GIII og grupperes sammen med VHSV som tidligere kun har vært isolert fra marin fisk fra bl.a. Skagerak, Nordsjøen og Nord-Atlanteren (Snow *et al.*, 2004; Skall *et al.*, 2005). Virusisolatet er for første gang vist å være patogen for regnbueørret og har gitt høyere dødelighet hos denne arten enn tidligere vist for andre marine VHSV (Skall *et al.*, 2005). Dette kan således være en indikasjon på at det fra et lavpatogent marint reservoar har utviklet seg en ny VHSV-variant med egenskaper som muliggjør etablering og forøket virulens hos regnbueørret i sjøoppdrett. Slik tilpasning er kjent fra regnbueørret og flatfisk, og denne type samkultivering er frarådet i EU-godkjente VHS-frie soner. Ved samkultivering av flere arter synes det derfor som en kan forvente at et evt. marint VHSV vil kunne endre sine egenskaper til en mer virulent form. I tillegg vil villfisk, vandrende eller stasjonær, kunne bli smittet med virulent VHS-virus pga sykdomsutbrudd i opprettsanlegg, og sånn sett bli en del av et samlet smittepress og kunne spre smitten til nye områder.

Patogenitet er demonstrert både ved at klinisk VHS er blitt påvist i utbruddsanlegget, og at smitteforsøk med det spesifikke virusisolatet har ført til VHS hos regnbueørret med høy dødelighet både ved badesmitte og injeksjonssmitte. Også laks er blitt syk ved injeksjon av dette virusisolatet (pers. komm. N. J. Olesen). Hos marine arter har vi lite kunnskap om hvilket klinisk sykdomsbilde vi kan forvente og hvordan eller i hvilken grad infisert marin fisk kan være smittefarlig. Det er så langt ikke påvist kliniske tegn på VHS hos marin fisk i utbruddsområdet. De nærmeste lokalitetene med marine arter, befinner seg 5-10 km fra lokaliteten der primærutbruddet ble oppdaget, og kan dermed ha vært utsatt for mindre smittepress enn regnbueørreten på utbruddslokaliteten. I tillegg har primærlokaliteten relativt liten fisk, og de er rapportert å være mer mottakelig for VHSV enn eldre fisk (Skall *et al.*, 2005).

Siden vi per i dag ikke kjenner til smittekilden til utbruddet, og ikke vet hva slags sykdomsbilde utbruddstammen eventuelt kan gi hos marine arter, og heller ikke om VHSV var endemisk ved disse lokalitetene før utbruddet, er det særdeles vanskelig å vurdere sannsynligheten for tilstedeværelse av smitte på ulike lokaliteter i fjorden. Vi har i denne vurderingen fokusert på en tilstedeværelse av viruset som kan føre til påvisbare sykdomstegn hos følsomme arter. Vi antar videre at VHSV i Storfjorden i hovedsak er et resultat av spredning fra utbruddslokaliteten siden det er sannsynlig at viruset har blitt oppformert og skilt ut i store mengder fra syk fisk.

Vurderingen nedenfor av sannsynligheten for tilstedeværelse av VHSV GIII på en lokalitet hvor det ikke er påvist VHSV etter laboratorietesting er basert på følgende elementer:

- Artens følsomhet for den aktuelle varianten av VHSV:
 - VHS sykdomsutbrudd er påvist hos regnbueørret og laks i smitteforsøk. For de andre artene kan vi kun basere oss på publiserte data (Skall *et al.*, 2005) samt totalt antall undersøkte fisk i nærheten av utbruddsområdet og opplysninger om helsetilstanden.
- Smittepress:
 - En lokalitet med utbrudd av VHS må regnes som en risikofaktor for nærliggende lokaliteter ved at den utøver en kontinuerlig mulighet for smitteintroduksjon hos naboene. Smittet fisk skiller ut virus med urin, og kortere avstand til smittet lokalitet gir større sannsynlighet for at smitte kan overføres. Smittepresset en lokalitet utøver på nærområdet avhenger av biomasse, rømming, avstand, strømretninger, hvorvidt det er et kraftig utbrudd (mye virusutskillelse), virustype, virulens, og andre mulige kontakter som for eksempel via båter, deling av utstyr etc.
 - Villfisk, både vandrende og/eller stasjonær fisk, som kan være smittet av oppdrettsfisk, vil utgjøre del av et samlet smittepress i et område.

- Resultater fra undersøkelse av villfisk indikerer at VHSV finnes i våre kystområder, slik at anlegg basert på villfanget fisk kan inneholde friske bærere av VHSV. En kjenner ikke til i hvilken grad virus vil skilles ut fra slike bærere.
- Fôring av fisk med fersk eller frossen fisk:
 - Dersom det fôres med ubehandlet fersk eller frossen marin fisk fra blant annet Nordsjøbassenget, kan det ikke utelukkes at VHSV blir introdusert gjennom fôring. Sild og brisling synes å ha høyeste risiko ut fra de resultatene som foreligger. Marin fisk fra Nord-Atlanteren og Barentshavet er mindre undersøkt og har ukjent status med hensyn på VHSV.
- Testsensitivitet og epidemiologisk sensitivitet:
 - Med et tilfeldig prøveuttak av 30 fisk fra en oppdrettslokalitet vil en med 95 % sikkerhet finne minst 1 positiv dersom prevalensen av påvisbar VHSV er minst 10 %. Dette betyr at det er 5 % sannsynlighet for at det foreligger negative testresultater selv om prevalensen av viruset er 10 %. Forutsetningen for denne beregningen er at en bruker en perfekt test (100 % sensitivitet). Prøvene fra anleggene ble undersøkt med RT-PCR i tillegg til virusdyrkning. Virusdyrkingen utføres i henhold til Kommisjonsvedtak 2001/183/EC. Begge metodene har høy sensitivitet, og er basert på forskjellige diagnostiske prinsipper. Prøvene var individuelt merket, og det var godt samsvar mellom resultatene fra begge metodene. Når en negativ prøve fra et testsystem (med sensitivitet se_1) undersøkes i et nytt testsystem (med sensitivitet se_2) og også her gir negativt resultat (parallel testing), angis samlet sensitivitet for systemet som $1-(1-se_1)*(1-se_2)$. For RT-PCR og dyrking er det derfor i dette tilfelle rimelig å anta at sensitiviteten til testene samlet sett vil være nær 100 %.
 - I prosedyrebeskrivelsen for prøveuttak ble det også lagt vekt på å målrette prøveuttaket gjennom å ta prøver av eventuelle svimere og syk fisk. Dette kan bedre sannsynligheten for å finne positive individer og dermed øke sikkerheten for å påvise smitte i lokaliteten.
 - Påvisning av VHSV hos bærere eller individer som ikke er i en klinisk fase, kan være vanskelig ved at virusnivåene er lave og/eller at virus lokaliserer seg i spesifikke organ under slike forhold. Kunnskap om "riktig" organ for prøvetaking er derfor viktig, spesielt i screeningøyemed.
- Vanntemperatur og stress:
 - VHS er primært en sykdom som viser seg klinisk ved stigende temperatur i vannet. Økende temperatur og annet stress som for eksempel redusert oksygeninnhold, kan øke sannsynlighet for aktivisering av lave smittenivåer med påfølgende smittespredning, nysmitte og dermed økt prevalens og sjanse for å detektere positive individ.

I vurderingen er sannsynlighetene satt til veldig liten, liten, moderat og høy. Dette er kvalitative begrep hvor moderat kan sies å representere en sannsynlighet på ca 50 %. Vurderingen høy er også benyttet når kunnskapen er svært mangelfull. Dette er i tråd med rådene praksis innen risikovurdering hvor manglende kunnskap automatisk gir et konservativt estimat.

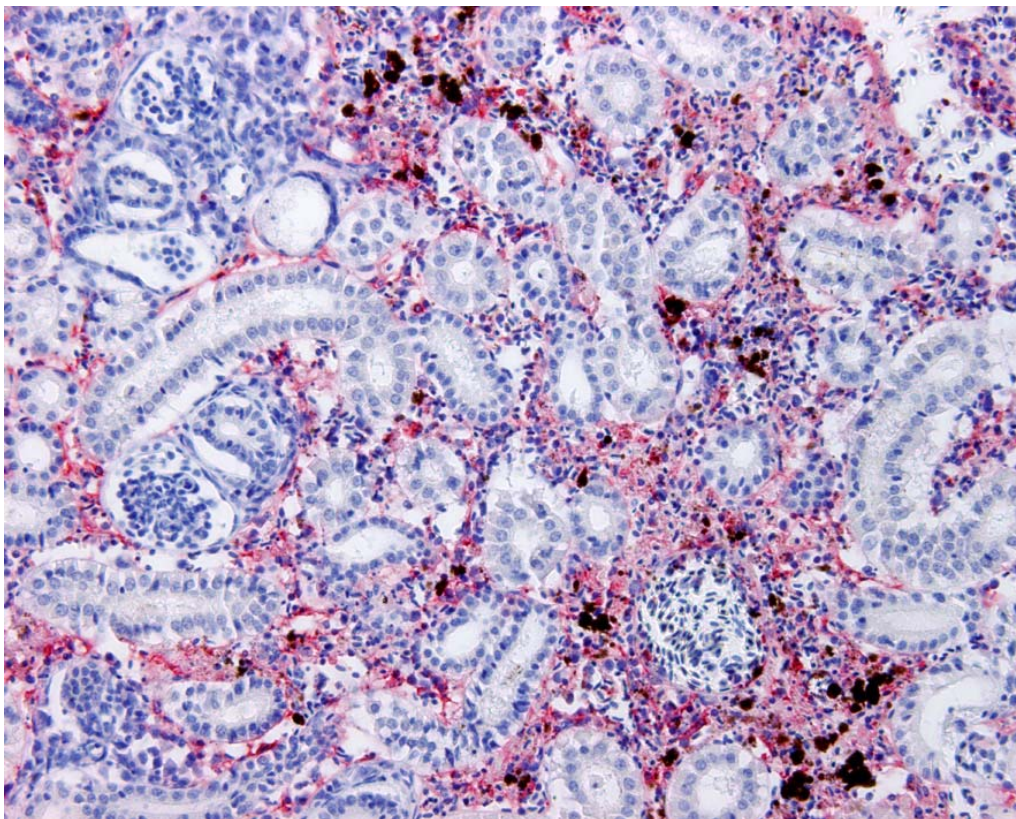
Settefiskanlegg for regnbueørret

- Artens følsomhet for den aktuelle varianten av VHSV: Regnbueørret viser ulik mottakelighet for ulike VHSV. Ulike isolater av VHSV kan gi varierende grad av symptomer og dødelighet i smitteforsøk på denne arten. Regnbueørret regnes likevel som mer mottakelig for VHS enn andre oppdrettsarter. Dette gjør at den vil generelt kunne være en "sentinel" art for tidlig å detektere introduksjon av VHSV i en region. Yngel er mer følsom enn større fisk. Ved smitte vil regnbueørret erfaringsmessig raskt vise kliniske tegn på sykdom, og rapport om økt dødelighet og andre tegn på sykdom må derfor følges opp med adekvat diagnostikk. Utbruddstammen har vist seg å være svært patogent for regnbueørret, både ved at klinisk VHS er blitt påvist i utbruddsanlegget, og at

smitteforsøk med det spesifikke virusisolatet har ført til VHS hos regnbueørret med høy dødelighet både ved badesmitte og injeksjonssmitte (pers. komm. N. J. Olesen).

- Smittepress: Anlegg som er lokalisert i nærheten av et utbruddsanlegg vil ha moderat sannsynlighet for å kunne fange opp smitte. Bruk av sjøvann vil generelt øke denne sannsynligheten.
- Fôring av fisk med fersk eller frossen fisk: Vil være en potensiell smittekilde, men ubehandlet fôr av fersk og frossen fisk benyttes normalt ikke i ferskvannsanlegg for regnbueørret.
- Sensitivitet: VHSV forventes å spre seg lett i en naiv populasjon med regnbueørret. Forventet prevalens i en populasjon med aktiv smitte vil erfaringsmessig være over 10 % ved utbrudd. Uttak av prøver fra 30 fisk til undersøkelse vil derfor med høy sannsynlighet avdekke tilstedeværelse av smitte. Den epidemiologiske sensitiviteten vil øke ved målrettet uttak (subpopulasjonen av klinisk syke individ).
- Lave vintertemperaturer kan forsinke virusspredningen i en smittet populasjon og dermed holde prevalensen på et lavere nivå.

Basert på den følsomheten regnbueørret har for smitte med VHSV virus, vurderes sannsynlighet for uoppdaget tilstedeværelse av VHSV etter prøvetaking som velldig liten. Sannsynligheten for introduksjon av smitte etter prøvetaking vurderes som moderat til høy for anlegg som ligger nær anlegg med smitte. Vi tilrår videre prøvetaking i henhold til EUs regelverk i forbindelse med reetablering av sonestatus. Det forutsettes adekvat diagnostikk av dødelighet og sykdomsproblemer.



Nyre fra regnbueørret fra utbruddslokalitet i Storfjorden hvor immunfarget VHS virus (rødt) vises i skadet vev. Foto: Ole Bendik Dale

Sjøanlegg med regnbueørret

- Artens følsomhet for den aktuelle varianten av VHSV: Regnbueørret i norsk oppdrett må regnes som naiv i forhold til ulike VHSV og mottakelig for smitte. Regnbueørret vil under gitte forhold vise kliniske tegn på VHS. Utbruddstammen har vist seg å være svært patogen for regnbueørret.

- Smittepress: Anlegg som er lokalisert i nærheten av et utbruddsanlegg vil ha høy sannsynlighet for å kunne fange opp smitte. Anlegg utenfor en bekjempelsessone vil i hovedsak være utsatt for villfisksmitte. Dette potensialet er ukjent men vurderes som svært lavt ut fra resultater fra VHS-overvåkingsprogrammet og historiske data generelt.
- Fôring av fisk med fersk eller frossen fisk: Vil være en potensiell smittekilde, men denne type fôr benyttes normal lite til regnbueørret i sjø.
- Sensitivitet: VHSV forventes å spre seg lett i en populasjon med regnbueørret. Forventet prevalens i en smittet naiv populasjon vil erfaringsmessig raskt stige til mer enn 10 % ved utbrudd. Uttak av prøver fra 30 fisk vil derfor med stor sannsynlighet avdekke tilstedeværelse av smitte et stykke ut i forløpet. I et tidlig smittestadium hvor kliniske tegn ikke er framtrædende, kan uttak av prøver fra 15-30 fisk med negativt resultat, gi en falsk negativ status på anlegget. Den epidemiologiske sensitiviteten vil øke ved målrettede uttak (subpopulasjon av klinisk syke individ).
- Lave vintertemperaturer kan forsinke utvikling av klinisk sykdom og virusspredningen i en smittet populasjon og derved holde prevalensen lav.

På historisk grunnlag må den norske populasjonen av regnbueørret oppfattes som naiv i forhold til VHSV. Sannsynligheten for uoppdaget tilstedeværelse av VHSV etter prøvetaking i anlegg som ligger utenfor bekjempelsessone vurderes derfor som veldig liten. For anlegg innenfor sonen og eventuelle andre anlegg som har hatt smittekontakt, vurderes sannsynligheten for tilstedeværelse av smitte som moderat til høy selv med negative testresultat av opptil 30 fisk. Sannsynligheten er spesielt relatert til lave vanntemperaturer. Vi tilrår prøvetaking i henhold til EUs regelverk i forbindelse med reetablering av sonestatus. Det forutsettes adekvat diagnostikk av dødelighet og av sykdomsproblemer generelt.

Sjøanlegg med laks

- Artens følsomhet for den aktuelle varianten av VHSV: Laks i norsk oppdrett må regnes som naiv i forhold til ulike VHSV, men laks synes generelt å være mindre følsom for smitte med VHSV enn regnbueørret. Det er ukjent om den aktuelle virusvarianten vil gi kliniske tegn i felt. Smittemottakelighet og klinisk sykdom hos laks er likevel vist i eksperimentelle forsøk med den spesifikke utbruddstammen (pers. komm. N. J. Olesen).
- Smittepress: Anlegg som er lokalisert i nærheten av et utbruddsanlegg vil ha moderat til høy sannsynlighet for å kunne fange opp smitte. Anlegg utenfor en bekjempelsessone (forhøyet smitteproduksjon) vil i hovedsak være utsatt for villfisksmitte. Dette potensialet er ukjent men vurderes som svært lavt ut fra resultater fra VHS-overvåkingsprogrammet og historiske data generelt.
- Fôring av fisk med fersk eller frossen fisk: Vil være en potensiell smittekilde men denne type fôr benyttes normal lite til laksefisk i sjø.
- Sensitivitet: VHSV forventes å spre seg i en laksepopulasjon, men det er ukjent i hvilken grad dette skjer. Forventet prevalens i en smittet laksepopulasjon kan forventes å være lavere enn for regnbueørret. Tretti tilfeldige prøver fra en frisk populasjon vil trolig ikke være nok for å oppdage tilstedeværelse av smitte og vil dermed kunne gi en falsk negativ status på anlegget. Denne vurderingen er spesielt relatert til lave vanntemperaturer. Den epidemiologiske sensitiviteten vil øke ved målrettede uttak (subpopulasjon av klinisk syke individ).
- Vanntemperatur: Lave vintertemperaturer kan forsinke virusspredningen i en smittet populasjon og derved holde prevalensen lav.

På historisk grunnlag vurderes sannsynlighet for uoppdaget tilstedeværelse av VHSV etter prøvetaking i anlegg som ligger utenfor bekjempelsessone som veldig liten. For anlegg innenfor en slik sone og eventuelle andre anlegg som har hatt smittekontakt vurderes sannsynligheten for tilstedeværelse av smitte som moderat til høy selv med negative testresultat av opptil 30 fisk. Sannsynligheten er spesielt relatert til lave vanntemperaturer. Vi tilrår prøvetaking i henhold til EUs regelverk i forbindelse med

reetablering av sonestatus. Det forutsettes adekvat diagnostikk av dødelighet og av sykdomsproblemer generelt.

Sjøanlegg med torsk/sei.

- Artens følsomhet for den aktuelle varianten av VHSV: Bærerstatus er påvist hos vill torsk og infeksjonen er også satt i sammenheng med sykdom hos arten. Torsk er karnivor og vil dermed kunne smittes ved inntak av infisert fisk. VHSV har aldri vært påvist hos sei (få undersøkelser).
- Smittepress på lokaliteten: Torsk må forventes å kunne fange opp smitte fra nærliggende anlegg med utbrudd. For sei er dette ukjent. Resultater fra undersøkelse av villfisk indikerer at VHSV finnes i våre kystområder, slik at ethvert anlegg basert på villfanget torsk vil i utgangspunktet kunne ha friske bærere av VHSV og eventuelt være utsatt for villfisksmitte.
- Fôring av fisk med fersk eller frossen fisk: Dette er en sannsynlig smittekilde hvor marin fisk fra sørlige Nordsjøen benyttes i produksjonen, spesielt fôr hvor sild og brisling inngår. Fisk fra nordligere havområder har ukjent VHSV-status.
- Sensitivitet: VHSV forventes å spre seg i en populasjon, men det er ukjent i hvilken grad dette skjer. Forventet prevalens i en smittet torsk/seipopulasjon må forventes å være betydelig lavere enn for regnbueørret. Studier av vill torsk har påvist VHSV i 1,4 % av prøvene (Tabell 3). Prevalensen i en smittet populasjon kan antas å være noe høyere under oppdrettsbetingelser pga. kontaktsmitte. Tretti tilfeldige prøver fra en frisk populasjon vil likevel med høy sannsynlighet ikke være nok for å oppdage tilstedeværelse av smitte og vil dermed kunne gi en falsk negativ status på anlegget. Denne vurderingen er spesielt relatert til lave vanntemperaturer. Den epidemiologiske sensitiviteten vil øke ved målrettede uttak (subpopulasjon av klinisk syke individ).
- Vanntemperatur: Lave vintertemperaturer kan forsinke virusspredningen i en smittet populasjon og derved holde prevalensen lav.

Sannsynlighet for uoppdaget tilstedeværelse av VHSV etter prøvetaking i anlegg som ligger utenfor bekjempelsessone vurderes som liten. For anlegg innenfor en slik sone og eventuelle andre anlegg som har hatt smittekontakt vurderes sannsynligheten for tilstedeværelse av smitte som moderat til høy selv med negative testresultat av opptil 30 fisk. Sannsynligheten vil kunne relateres til lave vanntemperaturer. Vi tilrår prøvetaking i henhold til EUs regelverk i forbindelse med reetablering av sonestatus. Det forutsettes adekvat diagnostikk av dødelighet og av sykdomsproblemer generelt.

Kartlegging av VHS-status i villfiskbestanden i Storfjorden

Bakgrunn

VHSV er påvist hos minst 15 forskjellige marine arter i nordeuropeiske farvann (Skall *et al.*, 2005). Første gang viruset ble påvist hos vill, marin fisk var hos torsk i 1979. Det er foretatt flere undersøkelser av forekomsten av VHSV hos villfisk, og prevalensen er generelt lav. Til sammen er det undersøkt nærmere 55 000 individer fra 69 forskjellige arter fra Nordsjøen, Skagerak, Kattegat, vest- og sørkysten av Norge og Østersjøen. Virus ble isolert langt oftere fra noen arter enn andre, noe som tyder på at ulike arter kan ha ulik infeksjonsstatus for VHSV. VHSV ble oftest isolert fra brisling (*Sprattus sprattus*), sild (*Clupea harengus*) og øyepål (*Trisopterus esmarki*) som alle er stimfisk. Tabell 3 viser en oversikt over påvisning av VHSV hos fiskearter i Nordsjøen, Kattegat, Skagerrak og Østersjøen. Siden samleprøver ble undersøkt er prevalensen blant fisk antagelig lavere enn andelen av positive prøver, hvis testen har høy sensitivitet.

Det er ikke funnet sykdomstegn i forbindelse med viruspåvisningene, og resultatene fra virusdyrkingen tyder på at det var lite virus tilstede i de infiserte fiskene. Man vet ikke når eller hvordan fiskene er blitt infisert med VHSV. Det er ikke rapportert om sykdom og dødelighet forbundet med VHSV hos vill, marin fisk i nordeuropeiske farvann. Det er påvist VHS-utbrudd hos stillehavssild (*Clupea pallasi*). Disse

epizootiene har vært forbundet med ulike negative miljøfaktorer som har stresset fisken. Det er vist hos stillehavssild at stengsetting og annen stress øker prevalensen av VHS i populasjonen. Dette er i høyeste grad relevant for fangstbasert oppdrett/oppfôring.

Utbrudd av VHS i piggvaroppdrett i Tyskland, Skottland og Irland tyder på at flatfiskarter kan være utsatt. De tyske isolatene var av genotype I (GI), mens isolatene fra Skottland og Irland var genotype III (GIII).

Tabell 3. Påvisning av VHSV hos ulike fiskearter i Nordsjøen, Kattegat, Skagerrak og Østersjøen. Over 13.947 fisk ble undersøkt. Virusisolering ble gjort fra samleprøver bestående av flere individer fra samme art (Mortensen *et al.*, 1999).

Art	Antall prøver (samleprøver)	% positive prøver (samleprøver)
Sild	539	7,4
Brisling	226	16,3
Torsk	405	1,4
Hvitling	156	1,2
Kolmule	38	2,6
Øyepål	35	2,8
Sandflyndre	140	5,0
Strømsild	3	33,3 ¹
Firetrådet tangbrosme	9	11,1 ²
Rødspette	14	14,3
Skrubbe	21	4,7

¹1 av 3 samleprøver var positiv

²1 av 9 samleprøver var positiv

Vurdering

En kartlegging av villfisk i området i Storfjorden vil kunne gi informasjon om eventuelt smittepress i området. Vi tilrår å estimere smittepresset fra VHSV i senteret og i periferien av bekjempelsessonen ved å undersøke villfiskartene som vi antar er mest mottakelige for den marine genotypen som er påvist. Disse artene vil kunne sammenlignes innbyrdes og sammenholdes med resultater fra andre, publiserte undersøkelser. Alle positive funn bør følges opp med genetisk karakterisering for å avklare slektskap til virusisolatene fra sykdomsutbruddet på regnbueørret.

Dersom en finner VHSV, vil det være nyttig å gjenta prøveuttaket etter noe tid, f.eks 3-6 måneder. I tilfelle av positive funn i nærheten av utbruddslokalitetene vil det også være nyttig å gjenta undersøkelsen 3-6 måneder etter at fisken er slaktet, for å se om smittepresset i villfisk avtar eller vedlikeholdes etter at smitteutslipp fra oppdrettslokaliteter forsvinner.

Det er ønskelig å inkludere både stasjonær fisk som oppholder seg stort sett i samme fjord, og fisk som beveger seg over store avstander og går inn og ut av fjorden. Det vil også være hensiktsmessig å undersøke villfanget fisk som stengsettes/settes i merd og føres opp. Aktuelle arter for kartlegging hos villfisk i Storfjorden er i første rekke torsk, sild, brisling og piggvar. Andre bunnfisk, som for eksempel sandflyndre, skrubbe og rødspette vil også være aktuelle.

Dersom det tas prøver fra 300 fisk i et avgrenset område, vil en med 95 % sikkerhet finne minst 1 positiv dersom prevalensen av VHSV blant villfisk er 1 %. Prøvene fordeles likt mellom de aktuelle artene. Aktuelt prøvemateriale til en slik kartlegging er nyre, milt, hjerte og hjerne, og eventuelt andre lesjoner som for eksempel papler og sår i huden etc.

Mottakelighet av det aktuelle VHSV på torsk og smitteforsøk

Dette punktet besvares i eget brev til Mattilsynet.

Etterord

Vi vil takke Mattilsynets distriktskontor i Indre Sunnmøre for feltdata til rapporten. Vi takker også Birgit Dannevig, Knut Falk, Peder A. Jansen, Niels Jørgen Olesen, og Edgar Brun for bidrag til rapporten.

Referanser

- Einer-Jensen, K., Ahrens, P., Forsberg, R., Lorenzen, N., 2004. Evolution of the fish rhabdovirus viral haemorrhagic septicaemia virus. J. Gen. Virol. 85, 1167-1179.
- Mortensen, H.F., Heuer, O.E., Lorenzen, N., Otte, L., Olesen, N.J., 1999. Isolation of viral haemorrhagic septicaemia virus (VHSV) from wild marine fish species in the Baltic Sea, Kattegat, Skagerrak and the North Sea. Virus Res. 63, 95-106.
- Skall, H.F., Olesen, N.J., Møllergaard, S., 2005. Viral haemorrhagic septicaemia virus in marine fish and its implications for fish farming--a review. J. Fish. Dis. 28, 509-529.
- Snow, M., Bain, N., Black, J., Taupin, V., Cunningham, C.O., King, J.A., Skall, H.F., Raynard, R.S., 2004. Genetic population structure of marine viral haemorrhagic septicaemia virus (VHSV). Dis. Aquat. Organ 61, 11-21.



Veterinærinstituttet er et nasjonalt forskningsinstitutt innen dyrehelse, fiskehelse, mattrygghet og dyrevelferd med uavhengig forvaltningsstøtte til departementer og myndigheter som primæroppgave. Beredskap, diagnostikk, overvåking, referansefunksjoner, rådgivning og risikovurderinger er de viktigste virksomhetsområdene.

Veterinærinstituttet har hovedlaboratorium i Oslo og regionale laboratorier i Sandnes, Bergen, Trondheim, Harstad og Tromsø, med til sammen ca. 350 ansatte.

www.vetinst.no

Tromsø

Stakkevollvn. 23 · 9010 Tromsø
9010 Tromsø
t 77 61 92 30 · f 77 69 49 11
vitr@vetinst.no

Harstad

Havnegata 4 · 9404 Harstad
9480 Harstad
t 77 04 15 50 · f 77 04 15 51
vih@vetinst.no

Bergen

Bontelabo 8 b · 5003 Bergen
Pb 1263 Sentrum · 5811 Bergen
t 55 36 38 38 · f 55 32 18 80
post.vib@vetinst.no

Sandnes

Kyrkjev. 334 · 4325 Sandnes
Pb 295 · 4303 Sandnes
t 51 60 35 40 · f 51 60 35 41
vis@vetinst.no

Trondheim

Tungasletta 2 · 7047 Trondheim
7485 Trondheim
t 73 58 07 27 · f 73 58 07 88
[vit@vetinst.no](mailto:vitr@vetinst.no)

Oslo

Ullevålsveien 68 · 0454 Oslo
Pb 750 Sentrum · 0106 Oslo
t 23 21 60 00 · f 23 21 60 01
post@vetinst.no

