

## Faglige resultater fra prosjekt 150783/120:

### OVERFØRING AV IPN-virus FRA STAMFISK TIL AVKOM

#### INTRODUKSJON

Vertikal smitte av IPN-virus, dvs smitte fra foreldrefisk (stamfisk) til avkom (yngel) er påvist for bekkerøye og regnbueørret uten at mekanismen er avslørt. Uten sikre kunnskaper om en slik overføring hos atlantisk laks, har man ikke hatt gode nok argumenter for blant annet å investere i effektiv stamfiskkontroll ved oppdrett av laks i Norge. Det er ikke kjent hvilken betydning dette hatt for spredning av infeksjøs pankreasnekrose-virus (IPN-virus) i norsk oppdrettsnæring.

Laksefisk kan bli skjult infisert med IPN-virus, enten som overleverer etter et IPN-utbrudd eller etter en subklinisk infeksjon. En skjult infeksjon med IPN-virus kan være vanskelig eller umulig å avsløre. Inntil nylig har dyrking i cellekultur vært regnet som den mest følsomme metoden for å identifisere en slik infeksjon. Undersøkelse med reverse transcriptase og polymerase chain reaction (RT-PCR) har en tid vært ansett som lovende med tanke på økt følsomhet slik at en større andel av infiserte fisker kan oppdages vha RT-PCR enn vha dyrking.

I en pilotstudie som dannet grunnlaget for det foreliggende prosjektet, ble 38 stamfisk undersøkt for IPN-virus høsten 2000. Viruset ble da påvist ved tradisjonell dyrking i cellekultur, fra prøver av 8 av 38 laks (21%) og ved hjelp av RT-PCR, hos 25 av 38 laks (66%). RT-PCR-undersøkelsene av de resterende prøvene ga usikre resultater. Denne årsklassen hadde gjennomgått et kraftig IPN-utbrudd i sjøvannsfasen. Vi vurderte det slik at IPN-utbruddet i sjøvannsfasen kunne være en mulig årsak til at så stor andel av stamfisken var infisert med IPN-virus. Det nye prosjektet ble designet utifra en hypotese om at vi i en annen årsklasse ville finne en blanding av både viruspositive og virusnegative stamfisk. Vi ville sammenligne virusforekomst hos avkom etter kryssninger der begge foreldre hadde testet positivt, med forekomst hos avkom etter foreldre som begge hadde testet negativt. Det var også viktig å redusere muligheten for at yngelgruppene i anlegget kunne smittes på andre måter enn via foreldrefisken. På denne bakgrunnen ønsket vi også å undersøke inntaksvann fra yngelavdelingen for, om mulig, å kunne avsløre om yngelen kunne ha blitt smittet horisontalt via andre kilder enn vertikalt fra foreldrefisken.

Hovedmål for prosjektet var å undersøke om det kan finnes en sammenheng mellom forekomst av IPN-virus hos stamfisk og forekomst av IPN-virus hos avkom, som kunne indikere at virus hadde smittet fra foreldrefisk til yngel.

Delmål var å

1. Undersøke stamfisk med hensyn på IPN-virus og spesifikt antistoff
2. Undersøke søskengrupper av yngel etter stamfisk som testet henholdsvis positivt og negativt for IPN-virus
3. Undersøke inntaksvann til yngelavdelingen med hensyn på IPN-virus



## DELMÅL 1: UNDERSØKELSE AV STAMFISK

### Materiale og metode:

I samarbeid med Aqua Gen A/S Kyrksæterøra ble det tatt ut blodprøver og prøver av nyre fra stamfisk av atlantisk laks som inngår i Aqua Gen A/S sitt avlsarbeid ("toppen av avlspyramiden") og som kjønnsmodnet høsten 2002. Undersøkelsen inkluderte 48 hannfisk og 50 hunnfisk.

Blodprøver ble undersøkt serologisk vha ELISA for antistoff rettet mot IPNV (se vedlegg). Fra hver stamfisk ble det tatt ut to parallelle (separate) nyreprøver, kalt henholdsvis A- og B-prøve. Disse prøvene ble analysert separat for IPN-virus vha real time RT-PCR (light cycler, Roche, se vedlegg). Resultatet ble klassifisert som positivt for IPN-virus hvis både A- og B-prøve testet positivt.

Som en del av Aqua Gen AS sitt regulære stamfiskarbeid ble parallelle nyreprøver fra de samme stamfiskene også analysert ved et kommersielt laboratorium. Uoverensstemmelse mellom analyse-resultatene ved de to laboratoriene ble undersøkt nærmere ved bytting av prøvemateriale og nye analyser vha PCR.

Nyreprøver fra alle fisker som hadde testet positivt enten hos det kommersielle laboratoriet eller ved Veterinærinstituttet samt 20 prøver av fisk som hadde testet negativt ved begge laboratoriene ble undersøkt ved hjelp av dyrking i BF-2 cellekultur i 96-brønnersplater (standard metode for stamfiskundersøkelser for IPN-virus ved Veterinærinstituttet). Prøvene hadde vært oppbevart frosset på  $-70^{\circ}\text{C}$ .

### Resultat og vurderinger

Ved Veterinærinstituttet ble IPN-virus ble påvist vha RT-PCR hos 3 fisk, to hunner og en han. Prøver av 92 av totalt 98 fisk (~94%) testet negativt, dvs at IPN-virus ikke ble påvist ved hjelp av RT-PCR. Prøver fra 3 fisk ga usikkert resultat fordi de testet ulikt på A og B-prøver. På bakgrunn av den lave forekomsten av test positive stamfisk, ble fiskene med usikkert testresultat inkludert som foreldrefisk for yngelen som skulle undersøkes.

Tilsvarende undersøkelser ved det kommersielle laboratoriet ga like stor andel (~94%) av test negativ fisk, men det viste seg ikke å være overensstemmelse mellom prøveresultatene mellom de to laboratoriene på individnivå. Ved det kommersielle laboratoriet ble IPN-virus påvist hos 6 fisk som alle hadde testet negativt ved Veterinærinstituttet (Tabell 1, side 3).

Nyreprøver fra alle de 12 fiskene som testet forskjellig, samt fra 20 fisk som testet negativt ved begge laboratorier, ble undersøkt vha dyrking i cellekultur. Disse undersøkelsene ga bare negative resultat, dvs ingen påvisning av IPN-virus.

Antistoff mot IPN-virus ble påvist hos 6 av 93 fisk. Alle de 3 fiskene som testet positivt for IPN-virus ved Veterinærinstituttet (vha RT-PCR), testet også positivt for antistoff (Tabell 2, side 3). Fem fisk ble ikke undersøkt for antistoff på grunn av uhell ved uttak av blodprøver.



Tabell 1. Oversikt over kryssinger og testresultat for stamfisk der minst et testresultat var positivt

| Mor         | Testresultat |           |   | Far        | Testresultat |             |             |
|-------------|--------------|-----------|---|------------|--------------|-------------|-------------|
|             | VI           | Antistoff | X |            | VI           | Antistoff   | X           |
| 00020F8D94  | -            | -         | + | 0F01C66E34 | -            | -           | -           |
| 00020F3346  | -            | -         | + | 0001E6C876 | ikke testet  | ikke testet | ikke testet |
| 00020F99BC  | -            | +         | - | 0001809B2D | -            | +           | -           |
| 000169FC37  | usikker      | -         | - | 00020F81FC | -            | -           | -           |
| 0001E6C0CD  | +            | +         | - | 0001E1072C | -            | -           | -           |
| 0001E105D1  | -            | -         | + | 00020F34D2 | -            | -           | -           |
| 00020F28DF  | +            | +         | - | 00020F3941 | -            | -           | -           |
| 00013623D9  | -            | -         | + | 00020F36BA | -            | -           | -           |
| 00020F31CA* | -            | -         | + |            |              |             |             |
| 00020F7258- | -            | -         | - | 0001E14A7D | -            | -           | +           |
| 0001E62728- | -            | -         | - | 0001E6BCF1 | +            | +           | -           |
| 00013E4327  | -            | -         | - | 00012C138A | usikker      | +           | -           |
| 0001F09921* | usikker      |           |   |            |              |             |             |

VI = resultat av RT-PCR for IPN-virus ved Veterinærinstituttet

X= resultat av RT-PCR for IPN-virus ved et annet (kommersielt) laboratorium

\* = Verken hanfisk eller avkom ble inkludert i prosjektet

Tabell 2. Sammenheng mellom funn av IPN-virus vha RT-PCR ved Veterinærinstituttet og funn av spesifikt antistoff mot IPN-virus hos 90 stamfisk.

|            |   | IPN-virus |    | Totalt |
|------------|---|-----------|----|--------|
|            |   | +         | -  |        |
| Antistoff* | + | 3         | 2  | 5      |
|            | - | 0         | 85 | 85     |
|            |   |           |    | 90     |

\* I tillegg ble antistoff mot IPN-virus påvist hos 1 av 3 stamfisk som ikke er tatt med i tabellen. Disse 3 fiskene kunne verken klassifiseres som positive eller negative mhp IPN-virus fordi testresultatene var usikre.

Prøvemateriale i form av isolert arvestoff (RNA) fra alle de 12 prøvene som ga forskjellige resultat ved de to laboratoriene, samt fra 4 prøver som ga negative testresultater begge steder (totalt 16 prøver), ble utvekslet før ny undersøkelse vha RT-PCR. Alle disse undersøkelsene ga negative resultater, dvs ingen påvisning av IPN-virus. Dette kan ha sammenheng med at mengden virus i prøvene har vært så liten og derfor så nær deteksjonsgrensen for testene, at en svak reduksjon i påvisbart RNA har vært avgjørende for testresultatet. Isolerte RNA kan ha tålt oppbevaring (-70°C) eller overlevering dårlig. Vi tror også at en viktig grunn til at testresultatene i utgangspunktet var forskjellige, var at de to laboratoriene benyttet ulike prinsipper for å utvinne virus-RNA fra prøvene (RNA-isolering kontra DNA-isolering). Denne metodeforskjellen kan være noe av forklaringen på at laboratoriene identifiserte virus i



forskjellige prøver. Men, ved begge laboratoriene har de positive kontrollene i oppsettene fungert som forventet. Det var ikke mer igjen av ubehandlede nyreprøver slik at det var ikke mulig å gå videre med sammenligninger av metodene i dette prosjektet.

Når det gjelder våre resultater, var det relativt god overensstemmelse mellom funn av IPN-virus vha RT-PCR og funn av spesifikt antistoff i blod (Tabell 2, side 3). Både i den foreliggende undersøkelsen og i pilotstudien viste det seg at det var større sannsynlighet for å finne IPN-virus hos fisk med spesifikt antistoff enn hos fisk uten påvisbart antistoff. Dette er i overensstemmelse med andre undersøkelser som tyder på at spesifikt antistoff mot IPN-virus ikke eliminerer infeksjonen.

Fordi en så stor andel av stamfisken i pilotstudien testet positivt for IPN og samtidig hadde overlevd et IPN-utbrudd i sjøvannsfasen, lurte vi på om det kunne være en sammenheng mellom disse to faktorene. Men, ved en nærmere gjennomgang av historien til den årsklassen som inngikk i prosjektet, viste det seg at også denne populasjonen hadde overlevd et utbrudd av IPN som post-smolt. Kumulativ dødelighet ved de to utbruddene var henholdsvis 18,7% (2000-stamfisk) og 11,6% (2002-stamfisk).

Vi er fortsatt i tvil om i hvilken grad våre undersøkelser evner å identifisere reelt infiserte individer. Nylig ble det presentert resultater som tyder på at undersøkelser av hvite blodlegemer sannsynligvis er mye mer følsomt enn undersøkelser av nyreprøver, slik standarden nå har vært i mange år. Vi er også i tvil om i hvilken grad undersøkelser av toppen av avlspyramiden hos Aqua Gen AS reflekterer forholdene hos produksjonsfisken, dvs den populasjonen som produserer befruktet rogn for produksjon av matfisk. Uansett, når vi inkluderer resultatene fra pilotstudien, bekrefter våre resultater at forskjellige årsklasser hos samme rognprodusent kan ha svært forskjellig status, målt i antall individer med påvisbar infeksjon.

## **DELMÅL 2: UNDERSØKELSE AV SØSKENGRUPPER ETTER STAMFISK SOM HADDE TESTET HENHOLDSVIS POSITIVT OG NEGATIVT FOR IPN-VIRUS**

### **Materiale og metoder:**

Forekomsten av test positiv stamfisk var så liten at vi ikke fant noen yngelgrupper der både mor og far hadde testet positivt for IPN-virus, slik planen var. Vi plukket derfor ut så mange helsøskengrupper som mulig der minst en av foreldrene hadde testet positivt på en eller flere undersøkelser. Dette ble i alt 11 grupper, se Tabell 1, side 3. I tillegg ble 36 yngelgruppene etter foreldre som begge hadde testet negativt på alle undersøkelser inkludert i undersøkelsen.

Planen var å prioritere undersøkelser av syk yngel ("svimere") for å øke sannsynligheten for å finne IPN-virus i yngelgruppene. Men, da det ikke var noen spesielle problemer i noen av gruppene, ble 25 tilfeldige yngel tatt ut fra hver av de 47 gruppene. Organpakke og nyre ble skåret ut, lagt på sentrifugerør med PBS de Boer tillaget med DEPC-vann og homogenisert med Mixer Mill. Prøvene ble ekstrahert med Trizol, og analysert vha light cyclus RT-PCR for IPN-virus, i pooler á 5 fisk.



I februar 2003 fikk prosjektet en henvendelse fra fiskehelsetjenesten hos en annen stamfiskprodusent. De ønsket å undersøke to ulike testmetoder for påvisning av IPN-virus, brukt på rogn og yngel fra grupper der foreldrefisken hadde testet henholdsvis positivt og negativt for IPN-virus. Stamfisken som inngikk i forsøket deres var føret fram ved et kommersielt matfiskanlegg. Stamfisken var testet ved at 30 samleprøver á 5 hunnfisk (dvs 150 hunnfisk) og 15 samleprøver á 2 hannfisk (dvs 30 hannfisk) ble undersøkt vha PCR hos et annet (kommersielt) laboratorium. Rogn fra 4 sylindre med "IPNV-frie" foreldre og fra 4 sylindre med "IPNV-positive" foreldre, ble deretter lagt inn på forsøksstasjonen VESO Vikan. Der ble rogn og yngel ble holdt smittemessig atskilt gjennom inkubering, klekking og startføring fram til de var ca 1 g.

For vårt prosjekt ble det tre uker etter startføring på VESO Vikan, tatt ut 60 yngel etter "positive" foreldre og 60 yngel etter "negative" foreldre, i samleprøver á 2 yngel, dvs totalt 30 prøver fra hver gruppe. Prøvene ble oppbevart på is og preparert og undersøkt vha RT-PCR på samme måte som beskrevet for yngel fra Aqua Gen AS. De samme prøvene ble også undersøkt for IPN-virus vha dyrking i BF-2 celler (fra et homogenat av nyre og organpakke til sammen).

Avkom fra stamfisk som hadde testet negativt ble siden levert til to kommersielle settefiskanlegg. Da denne fisken var ca 30g brøt det ut sykdom på begge mottageranleggene. Prøver av syk fisk ("svimere") ble sendt inn til prosjektet for sykdomsdiagnostikk. Prøver av syk fisk ble også sendt inn til Veterinærinstituttets Seksjon for virologi og serodiagnostikk for karakterisering av virusgenomet, inkludert i et annet (internt) IPN-prosjekt.

### **Resultat og vurderinger**

Undersøkelse av all yngel fra Aqua Gen AS, dvs prøver av 25 yngel fra hver av 47 yngelgrupper, testet negativt mhp IPN-virus vha RT-PCR, dvs ingen påvisning av IPN-virus.

Undersøkelse av all yngel fra VESO Vikan, dvs 60 yngel etter "test positive foreldre" og 60 yngel etter test negative foreldre, testet også negativt mhp IPN-virus både vha RT-PCR og vha dyrking i BF2 cellekultur.

Utbrudd av IPN ble påvist hos avkom etter test negativ stamfisk som hadde blitt levert til to kommersielle settefiskanlegg. Akutt pankreasnekrose ble påvist vha histologi i snitt fra alle undersøkte individer, og IPN-virus kunne påvises i nekrosene vha immunhistokjemi. IPN-virus ble påvist i alle prøver fra begge anleggene ved hjelp av RT-PCR. Smittekilden er ukjent.

### **DELMÅL 3: DETEKSJON AV IPN-VIRUS I VANN**

Som angitt i søknaden, fant vi ingen miljøer i Norge som arbeidet med påvisning av IPN-virus i vann. Første punkt ble derfor å etablere en metode for påvisning av IPN-virus i vann. Arbeidet ble basert på en filtreringsmetode beskrevet av McAllister og Bebak (1997).

#### **Etablering av filtreringsmetode for påvisning av IPN-virus i vann:**

En liter destillert vann ble tilsatt 1.0 ml IPN-virus med titer  $10^6$  TCID<sub>50</sub>/ml. Viruset var dyrket i BF-2 celler ved 15°C og viral infektivitet ble kvantifisert ved endepunktstitrering i BF2-celler dyrket i 96-brønners Brett i 10-folds fortykning med 6 parallelle brønner pr. fortykning.



Løsningen av virus i vann ble justert til pH 5,5 ved kontinuerlig omrøring og dryppvis tilsetning av 10N HCl. Dette ble så filtrert gjennom to electropositive virosorb filter (CUNO VIROSORB 64085-02-1MDS) (Maheshkumar, Goyal & Economon 1991a; Maheshkumar, Goyal, Peterson & Economon 1991b) Filtreringen ble gjort under vakum for å beholde en gjennomstrømningshastighet på rundt 3 ml per minutt per cm filter areal (Sobsey & Glass 1980, 1981). Virus ble utvunnet (eluert) fra filteret vha 5 ml biffekstrakt (pH 10,0). Dette trinnet ble gjentatt, slik at virus fra filteret ble eluert i totalt 10 ml løsning

Eluatet ble så justert til pH 7,2 ved tilsetning av 1 N HCl. Videre ble det laget 3 fortynninger (10-folds) vha tilsetning av fosfatbufret saltløsning (PBS). Tre prøver av ufortynnet eluat og av hver fortynning ble RNA-ekstrahert og undersøkt for IPN-virus vha light cyclus RT-PCR.

IPN-virus ble påvist i alle tre parallelle prøver i ufortynnet eluat og i eluat fortynnet 1:10. Undersøkelser av alle parallelle prøver som hadde vært fortynnet 1:100 og 1:1000 ga negative resultater. Dette tyder på at mye virus kan ha gått tapt i prosessen, enten ved at virus ikke ble fanget opp i filtret (ved filtrering), at virus ikke ble eluert fra filtret, eller at ekstraksjon av RNA fra eluatet kan optimaliseres.

Virologisk undersøkelse av de samme prøvene som ble analysert på light cyclus RT-PCR ble også undersøkt parallelt ved dyrking i BF-2 cellekultur. IPN-virus ble ikke påvist vha dyrking.

#### **Undersøkelse av vann fra oppdrettsanlegg:**

Inntaksvann og driftsvann fra to settefiskanlegg med IPN-utbrudd ble samtidig undersøkt som beskrevet ovenfor. Vannet ble sendt inn til laboratoriet på prøvetakingsdagen og analysert påfølgende dag. Det ble også gjort virologisk undersøkelse av de samme prøvene vha dyrking i BF-2 cellekultur. Alle undersøkelsene, både ved hjelp av RT-PCR og dyrking, ga negative resultater. At viruset ikke ble påvist i driftsvann, tydet på at metoden ikke var særlig sensitiv. Derfor ble to trinn i prosessen undersøkt nærmere:

#### **1) Utprøving av 3 ulike kommersielle kit for ekstraksjon av RNA**

Tre ulike kit ble sammenlignet med hensyn på utvinning av mengde ekstrahert nukleinsyre ved ulike fortynninger av eluatet. Dette gjaldt:

- QIAamp® Viral RNA Mini Kit (cat.no.52904)
- Invitrogen™ Total RNA Purification System (cat.no.12183-018)
- Trizol-metode fra Life Technologies™(cat.no. 15596)

Ekstraksjonsmetodene ga svært likt utbytte. QIAamp ble likevel oppfattet som mer brukervennlig.

#### **2) Bruk av bovint serum albumin (BSA) bufret med EDTA i Tris-buffer for eluering av virus fra filteret.**

En hypotese var at biffekstrakt, i tillegg til å eluere IPN-virus dårlig, også kunne inneholde RNaser eller annen enzymaktivitet som kunne medføre destruksjon/reduksjon av mengden virus RNA ved eluering av virus fra filteret. Derfor ble biffekstrakt forsøksvis skiftet ut med en løsning av bovint serum albumin (BSA) bufret med EDTA i Tris-buffer. EDTA er en RNase inhibitor og BSA et velkjent lagringsmedium for nukleinsyrer. Fordi filtreringsmetoden så ut til å være lite sensitiv, ble det laget fortynninger med små fortynningsintervaller: En liter destillert vann ble tilsatt henholdsvis 1ml, 0,5ml og 0,25ml av IPN-virus (supernatant) med titer  $10^6$  TCID<sub>50</sub>/ml. Disse prøvene ble filtrert, og virus ble eluert fra filteret ved hjelp av BSA / EDTA i Tris-buffer.



Etter eluering kunne IPN-virus påvises i alle viruskonsentrasjoner. Selv om dette resultatet så lovende ut, avsluttet vi utprøvingen på dette trinnet fordi det ikke var mer ressurser på prosjektet til å fortsette metodeutviklingen. Hvis metodeutviklingen skal fortsette, kan følgende faktorer i prosessen optimaliseres:

- Gjøre filtreringsoppsettet mer stabilt mhp gjennomstrømshastighet og mulig kontaminering
- Videre optimalisering av elueringsbuffer.
- Etablering av metode for kvantitativ PCR

## HOVEDKONKLUSJONER OG DISKUSJON

Den lave forekomsten av påvisbart IPN-virus hos stamlaksen førte til at vi fikk et dårlig grunnlag for å trekke noen konklusjon med hensyn på en eventuell overføring til yngel under praktiske forhold. Bare 3 av 98 stamfisk testet positivt for IPN-virus, og ingen kryssninger mellom foreldrefisk som begge var test positive ble gjennomført slik planen var. Fordi det likevel var yngelgrupper der en av foreldrefiskene hadde testet positivt eller usikkert på en eller flere undersøkelser, valgte vi likevel å fullføre prosjektet. For å skaffe et noe bredere grunnlag for prosjektet, inkluderte vi også yngel fra en annen rognprodusent. Stamfisken fra det siste anlegget var testet ved et eksternt laboratorium, og yngelen var samlet i 2 store grupper. Den ene yngelgruppen var etter test negative foreldre og den andre var etter en blanding av test positive og test negative foreldre. Uansett ble det ikke påvist IPN-virus hos noen yngel, verken fra 47 yngelgrupper fra Aqua Gen AS eller hos yngel fra den andre rognprodusenten.

To år tidligere gjennomførte vi et pilotprosjekt på samme måten, med noe færre stamlaks og med bare fire yngelgrupper. De aller fleste stamfiskene og alle de undersøkte yngelgruppene testet da positivt for IPN-virus. Det er et paradoks denne årsklassen heller ikke hadde en smittestatus som var særlig egnet for dette studiedesignet, da fordi virusforekomsten var altfor høy. Derfor er det tvilsomt om en slik design som dette er egnet for å undersøke denne problemstillingen videre. Men, selvfølgelig kan det hende at andre årsklasser har en fordeling av test positive og test negative stamfisk som er bedre egnet for en tilsvarende studie.

Fordi en så stor andel av stamfisken i pilotstudien testet positivt for IPN-virus og samtidig hadde overlevd et IPN-utbrudd i sjøvannsfasen, trodde vi at det kunne være en sammenheng mellom disse to faktorene. Men, ved en nærmere gjennomgang av historien til den årsklassen som inngikk i prosjektet, viste det seg at også denne hadde overlevd et utbrudd av IPN som post-smolt. Kumulativ dødelighet ved de to utbruddene var henholdsvis 18,7% (2000-stamfisk) og 11,6% (2002-stamfisk). De to årsklassene var derfor ganske like med hensyn på "IPN-historie" fra sjøvannsfasen.



Et annet viktig moment er spørsmålet om de diagnostiske metodene som per i dag er etablert, er gode nok for en slik studie. Frisk fisk med en skjult infeksjon med IPN-virus inneholder vanligvis mye færre viruspartikler enn fisk som er syk på grunn av IPN-virus. Derfor stilles diagnostikken overfor store utfordringer når en skjult infeksjon skal identifiseres. Vi har tidligere vist at undersøkelser med hensyn på IPN-virus ved hjelp av RT-PCR har høyere følsomhet enn dyrking i cellekultur (standard metode). Likevel er det grunn til å spørre om situasjonen fortsatt kan sammenlignes med det å oppdage et isfjell. Kanskje "ser" RT-PCR-metoden bare en litt større del av "isfjellet" enn tidligere. Kanskje var ikke de to årsklassene så forskjellige som testresultatene tydet på?

Nylig ble det på et faglig møte, presentert resultater som tydet på at testing av hvite blodlegemer fra laksefisk kunne identifisere langt flere fisker som bærere av IPN-virus enn tilsvarende testing av nyreprøver, slik standarden nå har vært i mange år (muntlig presentasjon v/ dr. Tony Ellis, Marine Laboratorium, Skottland). Dette er et viktig spor som bør undersøkes nærmere ved eventuelle nye IPN-prosjekter.

På bakgrunn av resultatene i prosjektet kan man også spørre om undersøkelser av blodprøver med hensyn på spesifikt antistoff kan ha et større potensial for å identifisere mulig smittet fisk enn man tidligere har vært klar over. Både i pilotprosjektet og i det foreliggende prosjektet var det større sjanse for å påvise IPN-virus hos antistoff positive fisk enn hos antistoff negative fisk. Men, materialet er lite, så dette må bare oppfattes som en hypotese som det kan være verdt å undersøke nærmere. Undersøkelser av blodprøver med hensyn på spesifikt antistoff er langt billigere enn virusundersøkelser, enten dette gjøres vha RT-PCR eller vha dyrking i cellekultur.

De foreliggende resultatene er et lite, men viktig bidrag til økt kunnskap om IPN-virus hos stamlaks og yngel og om forekomst av spesifikt antistoff hos stamlaks, selv om testresultatene ikke var som forventet.