



Hva skal til for at en ufarlig ILA virus variant utvikler seg til sykdomsfremkallende ILA virus?

Vil ha mer kunnskap om apatogene ILA-virus i settefiskanlegg

ILA-SAFE – en dugnad for å øke kunnskapen om utbredelse av ILAV HPR0 i norske settefiskanlegg og identifisere faktorer av betydning for endring av denne virusvarianten til sykdomsframkallende variant.

Hilde Sindre, Torfinn Moldal, Johanna Hol Fosse, Monika J. Hjortaas, Simon Chioma Welu, Maria Dale, Mona Drevdal Jansen, Ole Bendik Dale (alle Veterinærinstituttet) og Ma Michelle Demogina Penaranda (Havforskningsinstituttet).

Bakgrunn

ILA er den eneste smittsomme sykdommen som har ført til nedstenging av lakseoppdrett i hele land (Chile og Færøyene). I Norge unngikk vi dette gjennom effektive biosikkerhetstiltak og bedre struktur i næringen. Antall utbrudd ble redusert fra mer enn 80 i 1990 til mellom 1 og 15 fram til 2019. De siste årene har vi sett en negativ utvikling med 23 utbrudd av ILA i 2020 og videre økning til 25 utbrudd i 2021 (Figur 1 og Fiskehelse rapporten 2021). Ved utgangen av juli i år var det 9 stadfestede eller mistenkte utbrudd av ILA

i henhold til månedsrapport utarbeidet av Veterinærinstituttet.

Noen av utbruddene knyttes til horisontal spredning fra primærutbrudd, men flere tilfeller kan spores tilbake til påvisninger av den avirulente varianten, ILAV HPR0, og i noen tilfeller deletert sykdomsvariant ILAV HPRΔ, i settefiskanlegg. Når virulensutviklingen starter i settefiskfasen blir resultatet ofte svært kostbare utbrudd i sjø fordi fisken må slaktes før den er nådd tiltenkt slaktevekt. Samtidig er spredningspotensialet fra settefiskanlegg større enn fra matfiskanlegg siden settefiskanlegg leverer til flere matfiskanlegg. Utviklingen krever økt fokus på biosikkerhet i settefiskfasen, karakterisering av endringer i ILAV HPR0- og driverne bak endringer. Ved å identifisere andre faktorer som disponerer for utvikling av ILA kan næringen målrette biosikkerhetsarbeidet og etablere verktøy slik at virulensutvikling kan oppdages tidlig og dermed unngås sykdom.

Oppdrettsselskapene gjennomfører screeninger for ILAV, men til tross for dette mangler en samlet oversikt over

Fakta om ILA

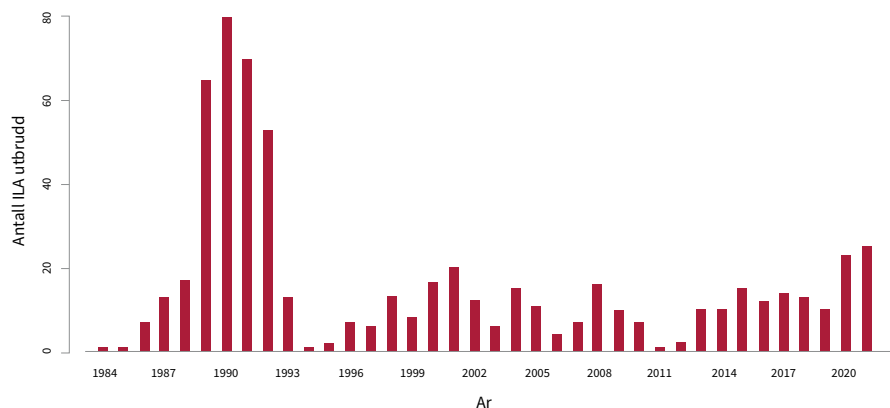
- Infeksiøs lakseanemi (ILA) er en alvorlig, smittsom virus sykdom hos laks.
- Viruset som er årsak til infeksiøs lakseanemi er et akvatisk orthomyxovirus og ligner på influensavirus.
- Det fins 2 hovedvarianter av ILAV, en avirulent variant, ILAV HPR0, og en sykdomsvariant, ILAV HPRΔ, som har endringer i fusjonsproteinet og hemagglutinin-esterasegenet.
- ILA-viruset gir alvorlig anemi og fører til sirkulasjonsproblemer og blødninger i hud og i indre organer.
- Veterinærinstituttet er nasjonalt referanse-laboratorium for fiskesykdommer og WOAH referanselaboratorium for ILA.

Kilde: Faktaark ILA, VI:

<https://www.vetinst.no/sykdom-og-agens/infeksiøs-lakseanemi-ila>



reell forekomst av ILAV HPR0 i norske settefiskanlegg. Dette gjør at vi ikke vet sikkert hvor utbredt denne varianten er og betydningen den har for utvikling av ILA i sjøfasen. Systematisk overvåking gjennom flere år av færøyske settefiskanlegg har vist at det er en stor variasjon i prevalens av ILAV HPR0, både mellom settefiskanlegg og innad i settefiskanlegg fulgt over tid, og at det etablerer seg «husstammer» av ILAV HPR0 i enkelte anlegg (Christiansen et al, 2011, Christiansen et al, 2021). I Mattilsynets overvåkingsprogram for ILAV HPR0 i 2021 var antallet norske settefiskanlegg som testet positivt 14 %, men med en økt forekomst (40 %) hos anlegg med både gjennomstrømning og RAS eller bare RAS (Jansen & Moldal, The surveillance programme for infectious salmon anaemia virus HPR0 (ISAV HPR0) in Norway 2020, Veterinærinstituttets rapportserienr 33/2021). Det reelle antallet antas å være høyere, fordi anleggene i overvåkingsprogrammet kun testes en gang og fisk ikke blir prøvetatt fra alle kar. Økt kjennskap til forekomst av ILAV HPR0 i de enkelte settefiskanlegg og eventuell utvikling til sykdomsframkallende



Figur 1: Antall registrerte utbrudd av ILA i Norge fra 1984 til 2021 (Fiskehelse rapporten, 2021)

varianter er viktig for å få bedre innsikt i hvordan ILA oppstår og sprer seg i norsk oppdrettsfisk.

Bruk av miljøprøver for screening av settefisk for forekomst av virus

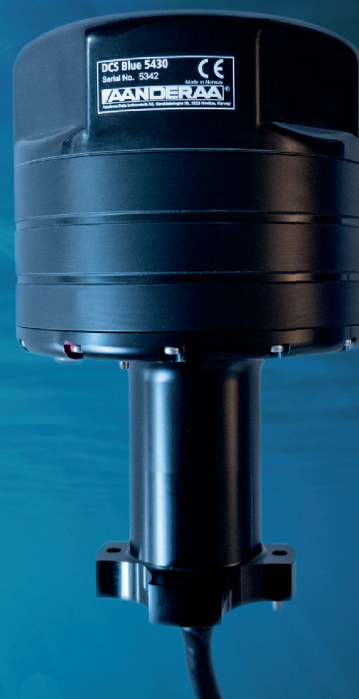
Dagens testregime for ILAV HPR0 bygger i all hovedsak på prøvetaking av gjellelev fra fisken. Dette er en påkjenning for

TILGJENGELIG SOM FRITTSTÅENDE SENSOR

DCS Blue

HØYKVALITETS STRØMSENSOR

- Strømhastighet og strømretning
- Tilt og temperatur
- Enkel i bruk
- Kontinuerlig sensorstatus via LED
- Intern lagring og/eller RS-232 i sanntid



For tekniske notater, opplæring og produkt informasjon, besøk: [Aanderaa.com/rcm-blue](https://www.aanderaa.com/rcm-blue)

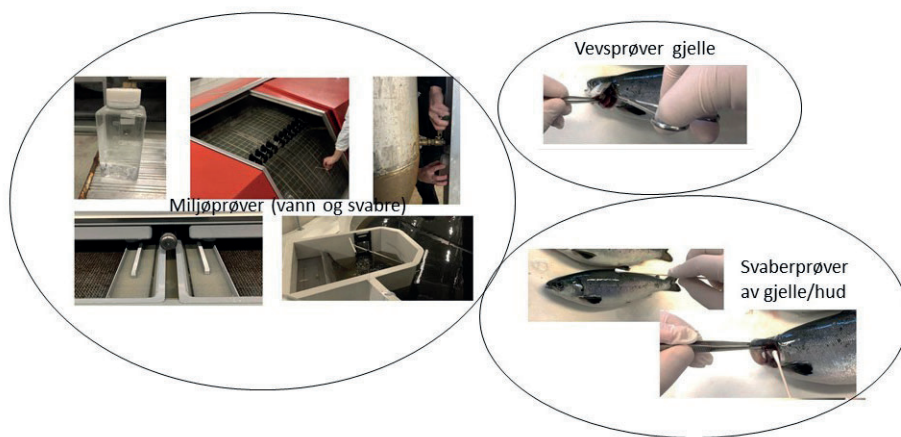
AANDERAA
a xylem brand

fisken og er ressurskrevende og lite egnet til overvåking av anleggene over tid. I et nylig avsluttet FHF-finansiert forskningsprosjekt (se faktaboks om ILA-SAFE) kom det fram at svaberprøver (se figur 2) fra fisken kan brukes for påvisning av ILAV HPRΔ i populasjoner med en ILA-diagnose og også fanger opp ILAV HPR0 (FHF901181, Veterinærinstituttets rapportserie rapport 43-2021). Selv om dette er en enkel prøvetakingsmetode, innebærer den fremdeles prøvetaking av potensiell frisk fisk. Av fiskevelferdsmessige hensyn er det derfor ønskelig med overvåkningsmetoder hvor unødig stress og avlivning av fisk kan unngås. Veterinærinstituttet har utviklet en metode for analyser av vannprøver for ulike smittestoff, inkludert ILAV, og denne fanger også opp ILAV HPR0 i feltprøver (Weli et al, 2021a, Weli et al, 2021b).

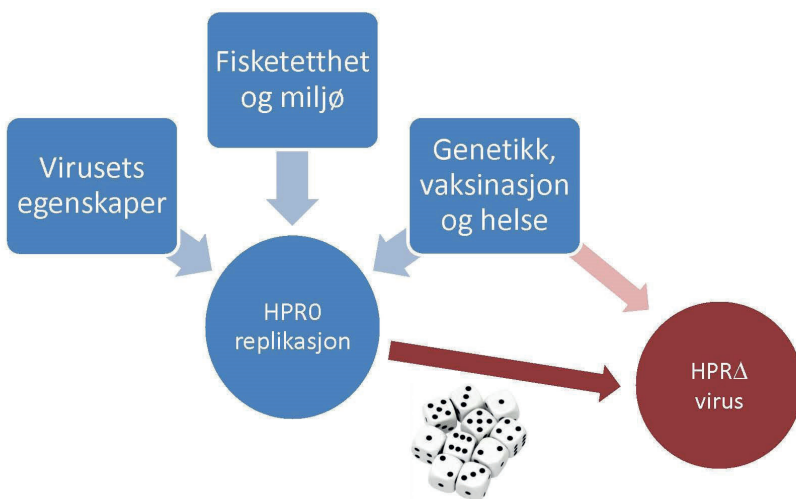
Svabring av karvegger, siler, osv. kan også kan benyttes for å påvise smittestoffer. Overgang fra testing av fisk til testing av miljøprøver som vann og svabre for forekomst av ILAV (eRNA) kan derfor være et godt alternativ for å overvåke forekomst av ILAV HPR0 og deleterte varianter. I tillegg til rene fiskevelferdshensyn vil et slikt regime forenkle prøvetakingen, og man vil trenge langt færre prøver for å få en god oversikt over settefiskanlegget. I andre pågående prosjekter blir slike metoder benyttet til å påvise bakterier, sopp og parasitter, og det blir jobbet med å forenkle og videreutvikle metodene. På denne måten kan en enkelt prøve benyttes til å overvåke flere smittestoffer. Gjennom ILA-SAFE er det så langt samlet inn over 4500 prøver fordelt på vevsprøver, svaberprøver og vannprøver, og foreløpige resultater er lovende for bruk av både vannprøver og miljøsvabre for å fange opp ILAV-HPR0 infeksjon i settefiskanleggene.

Drivere for utvikling av ILA

For å unngå at ILAV HPR0 til stadighet utvikler virulens må vi forstå driverne, altså oppdrettsbetingelsene som fremmer virulens-utvikling (figur 3). Driverne er tett knyttet til biologiske mekanismer. Overgangen fra ikke-virulent ILAV til deletert variant er definert av mutasjoner i HE proteinet som binder celleoverflaten og F proteinet som hjelper viruset å komme inn i cellene, men hvilke endringer som er avgjørende for å tillate at HPR0 utvikler seg til sykdomsframkallende HPRΔ-varianter er ikke kjent. Er det nok med en enkel mutasjon eller en aminosyreendring i en spesifikke posisjon for å sette i gang denne prosessen, eller trengs det en rekke ulike endringer av genomet? Å vite dette er nødvendig for å vurdere risikoen for å om HPR0 utvikler seg til HPRΔ. Verktøy for å påvise ILAV HPRΔ og overgangsformer, kan brukes av næringen for å oppdage uønskede endringer tidlig og gi mulighet for å fase ut kar eller fiskegrupper før problemet har spredt seg i hele settefiskanlegget eller til matfiskanlegg. Observasjoner fra felt gjennom flere år tyder på at kronisk gjellebetennelse i settefiskanlegg med husstammer av HPR0 kan være en høy-risiko situasjon. Det er flere eksempler på at skifte fra ILAV HPR0 til ILAV HPRΔ har startet i settefiskanlegg med store gjelle-helseproblemer. Ved ko-infeksjon med ulike gjellepatogener og



Figur 2: Aktuelt prøvemateriale for påvisning av ILAV-HPR0.



Figur 3: Faktorer som kan påvirke endring av ILAV HPR0 til HPRΔ.

HPR0 vil sammenkleberinger av lameller gjøre at HPR0 infiserte celler på lamell-overflaten fanges i betennelsesvevet. Til betennelsen kommer også makrofager som «spiser» døde celler og fremmede partikler inkludert virus, noe som antyder at cellulære forhold assosiert med patologi, som celleskade, kan bidra til endring av virulens.

Funn fra infisert fisk som viser at ikke-virulent ILA HPR0 bare infiserer epitelceller på fiskens overflate, mens virulent ILA virus klarer å infisere flere celletyper, hovedsakelig endotelceller på innsiden av blodkar, og kan spre seg til indre organer og føre til sykdom. Evnen til å trenge inn i andre celler enn overflateepitel kan derfor være avgjørende for evnen til å fremkalle sykdom (Aamelfot et al, 2014, Aamelfot et al, 2016). Hvilke faktorer som bidrar til dette er ikke kjent, men på bakgrunn av hva vi vet om aktiveringsprosessen og om andre influensalignende virus, er det naturlig å tenke på muligheten av at proteaser uttrykt av vertsceller eller andre patogener kan spille en rolle (Böttcher-Friebertshäuser et al, 2013). I sum finner en både et mutagent miljø og et nytt, annerledes selektivt press på HPR0 i gjellebetennelsen. Ved å kombinere kjent kunnskap kan en modell for å teste hvilken effekt gjellebetennelse har på ILAV HPR0-infeksjon i kontrollerte laboratorieforhold etableres. Arbeidet med smitte modellen vil foregå i tett samarbeid med Havforskningsinstituttet i Bergen. I tillegg inngår prøver fra felt og etter hvert også fra smitteforsøket i studier for å identifisere faktorer i laksens celler som kan bidra til utvikling av sykdomsframkallende ILA-virus, og det blir også utviklet verktøy for å måle virusaktivering og påvise enzymer som kan være involvert i denne prosessen. Samlet håper vi å bidra med viktig kunnskap om utbredelse av ILAV HPR0, mekanismer for utvikling av sykdomsframkallende varianter og å gi råd til akvakulturnæringen om hvordan man bør overvåke og håndtere infeksjonen i de enkelte settefiskanlegg for å redusere risiko for ILA-sykdom.

Referanser

Sommerset I, Walde CS, Bang Jensen B, Wiik-Nielsen J, Bornø G, Oliveira VHS, Haukaas A og Brun E., *Fiskehelse-rapporten 2021*, Veterinærinstituttets

ILA-SAFE

- FHF-prosjektnummer: 901674
- Varighet 01.01.2021- 0.06.2024
- Budsjett: 12 mill. kr
- Med finansiering fra FHF satte akvakulturnæring, fiskehelsetjeneste, Havforskningsinstituttet og Veterinærinstituttet i 2021 i gang en stor dugnad kalt ILA-SAFE.
- I prosjektet blir et stort antall settefiskanlegg overvåket over lang tid for å undersøke om ILAV HPR0 kan påvises, hvordan viruset sprer seg i anlegget og om det endrer seg til mer sykdomsframkallende, HPR-deleterte varianter.
- Et av hovedmålene er å utarbeide forslag til biosikkerhetstiltak for å forhindre introduksjon, håndtere forekomst og beskrive effektive saneringstiltak.

Les mer om prosjektet ved å scanne QR-koden til høyre:



rapportserie nr. 2a/2022, utgitt av Veterinærinstituttet 2022.

Veterinærinstituttet, *Stadfestede tilfeller av infeksjons lakseanemi (ILA) 2003-2022*.

Christiansen DH, P.S. Østergaard, M. Snow, O.B. Dale, K. Falk, *A low-pathogenic variant of infectious salmon anemia virus (ISAV-HPR0) is highly prevalent and causes a non-clinical transient infection in farmed Atlantic salmon (Salmo salar L.) in the Faroe Islands*, JI gen virol 92(Pt 4) (2011) 909-18.

Christiansen DH, Petersen PE, Dahl MM, Vest N, Aamelfot M, Kristoffersen AB, Jansen MD, Matejusova I, Gallagher MD, Jónsson G, Rodriguez E, Fosse JH, Falk K. *No Evidence of the Vertical Transmission of Non-Virulent Infectious Salmon Anaemia Virus (ISAV-HPR0) in Farmed Atlantic Salmon*. Viruses. 2021 Dec 3;13(12):2428. doi: 10.3390/v13122428.

Jansen MD, Moldal T. *The surveillance programme for infectious salmon anaemia virus HPR0 (ISAV HPR0) in Norway 2021*. Surveillance program report. Veterinærinstituttet 2022.

Weli SC, Tartor H, Spilsberg B, Dale OB, Lillehaug A. *Short communication: Evaluation of charged membrane filters and buffers for concentration and recovery of infectious salmon anaemia virus in seawater*. PLoS One. 2021 Jun 16;16(6):e0253297. doi: 10.1371/journal.pone.0253297. eCollection 2021.

Weli SC, Bernhardt LV, Qviller L, Dale OB, Lillehaug A. *Infectious Salmon Anemia*

Virus Shedding from Infected Atlantic Salmon (Salmo salar L.)-Application of a Droplet Digital PCR Assay for Virus Quantification in Seawater. Viruses. 2021 Sep 4;13(9):1770. doi: 10.3390/v13091770.

Aamelfot M, Christiansen DH, Dale OB, McBeath A, Benestad SL, Falk K. *Localised Infection of Atlantic Salmon Epithelial Cells by HPR0 Infectious Salmon Anaemia Virus*, PLoS One 11(3) (2016) e0151723.

Aamelfot M, Dale OB, Falk K. *Infectious salmon anaemia - pathogenesis and tropism*, J Fish Dis 37(4) (2014) 291-307.

Böttcher-Friebertshäuser E, Klenk HD, Garten W. *Activation of influenza viruses by proteases from host cells and bacteria in the human airway epithelium*, Pathogens and Disease 69(2) (2013) 87-100.