Vitenskapskomiteen for mattrygghet
Norwegian Scientific Committee for Food Safety

Risikovurdering - stamfiskovervåking og vertikal smitteoverføring

Uttalelse fra Faggruppe for dyrehelse og dyrevelferd i Vitenskapskomiteen for mattrygghet

26.05.10

ISBN: **978-82-8082-384-7**

Risikovurdering - stamfiskovervåking og vertikal smitteoverføring

Espen Rimstad

Inger Dalsgaard

Brit Hjeltnes

Tore Håstein

BIDRAGSYTERE

Den som utfører arbeid for VKM, enten som oppnevnte medlemmer eller på *ad hoc*-basis, gjør dette i kraft av sin egen vitenskapelige kompetanse og ikke som representanter for den institusjon han/hun arbeider ved. Forvaltningslovens habilitetsregler gjelder for alt arbeid i VKM-regi.

TAKK TIL

VKM har nedsatt en *ad hoc*-gruppe bestående av medlemmer av VKM og eksterne eksperter til å besvare oppdraget fra Mattilsynet. Medlemmene av *ad hoc*-gruppen takkes for arbeidet med denne risikovurderingen.

Medlemmer av *ad hoc*-gruppen er:

VKM-medlemmer

Espen Rimstad (leder), Faggruppe for dyrehelse og dyrevelferd (dyrevern)

Brit Hjeltnes, Faggruppe for dyrehelse og dyrevelferd (dyrevern)

Tore Håstein, Faggruppe for dyrehelse og dyrevelferd (dyrevern)

Eksterne eksperter

Inger Dalsgaard, Danmarks Tekniske Universitet, København, Danmark

VURDERT AV

Rapporten fra *ad hoc*-gruppen er vurdert og godkjent av

Faggruppe for dyrehelse og dyrevelferd (dyrevern):

Wenche Farstad (leder), Bjarne O. Braastad, Knut E. Bøe, Arne Flåøyen, Brit Hjeltnes, Kristian Hoel, Tore Håstein, Rolf Erik Olsen, Espen Rimstad, Rune Waagbø og Olav Østerås

Koordinator(er) fra sekretariatet: Ingfrid Slaatto Næss

SAMMENDRAG

Mattilsynet har bedt Vitenskapskomiteen for mattrygghet (VKM) om en vurdering av sannsynlighet for vertikal overføring av listeførte fiskesykdommer som forekommer i Norge og en vurdering av risiko ved slik overføring. Det bes også om en tilsvarende vurdering når det gjelder sykdommer som er under utredning for listeføring og gjerne også for andre viktige sykdommer som for tiden ikke er listeførte. På bakgrunn av en slik risikovurdering ønsker Mattilsynet også råd om hvilke sykdommer som ut fra en smittefaglig risikovurdering anbefales tatt inn i et nasjonalt overvåkningsprogram.

Vurderingen er utført av Faggruppe for dyrehelse og dyrevelferd (dyrevern). Denne versjonen av vurderingen (09/806-Endelig-Rev1) erstatter tidligere versjon (09/806-Endelig) som ble publisert den 18.03.2010.

Vitenskapskomiteen for mattrygghet nedsatte en *ad hoc*-gruppe bestående av tre medlemmer av VKM og en ekstern ekspert for å utrede spørsmålene fra Mattilsynet. Bakgrunnsrapporten fra *ad hoc*-gruppen er brukt som grunnlag for faggruppens konklusjoner.

Vurdering av sannsynlighet for vertikal overføring

Sannsynligheten for vertikal overføring av smittsomme agens vil være avhengig av en rekke faktorer som blant annet mengden agens i gonadene, og sannsynligheten for videre spredning via egg, yngel og smolt som vil avhenge av effektiviteten av desinfeksjon. I vurderingen er det tatt som utgangspunkt at det norske kravet om desinfeksjon er utført. Det vil si at vurderingen baseres på norske forhold og ikke om et agens under andre forhold kan overføres vertikalt. Begrepet vertikal overføring er benyttet uavhengig av om agens er på innsiden eller utsiden av egget. Det er gjort et utvalg av de listeførte sykdommer på grunnlag av betydning i Norge og hvor risiko for eventuell vertikal overføring er lite kjent eller ikke endelig kartlagt.

Infeksiøs lakseanemi (ILA) virus

Siden forrige vurdering som VKMs faggruppe for dyrehelse og dyrevelferd ga i 2007 om vertikal overføring av ILA: *Which risk factors relating to spread of Infectious Salmon Anaemia (ISA) require development of management strategies?,* har det kommet mer informasjon om HPR0 varianter, det vil si virus med fullengde varianter av Hemagglutinin-Esterase molekylet, som er antatt å være apatogene. HPR0 varianter er funnet å være relativt vanlig forekommende hos oppdrettslaks. Det har også utviklet seg en massiv ILA epidemi i Chile, og det er vist at chilenske isolater fra 2007 og senere er nært beslektet med virusvarianter tidligere funnet i Norge. Epidemiologiske analyser fra Chile og fra ILA utbrudd i Nord-Amerika indikerer at epidemiene har spredd seg hovedsakelig horisontalt og at blant annet rask utslakting etter sykdomsutbrudd er en effektiv måte å begrense spredning på. Konklusjonen nå blir lik vurderingen som VKM ga i 2007. Vertikal overføring av ILA virus kan ikke utelukkes, men er av liten eller ikke målbar betydning for spredning av ILA i norsk oppdrett.

Infeksiøs pankreas nekrose (IPN) virus

Det foreligger indirekte indikasjoner for vertikal overføring av IPN virus i atlantisk laks, og det er vist direkte at dette forekommer hos flere andre arter laksefisk. Vurderingen er at vertikal overføring av IPN virus antas å kunne forekomme hos atlantisk laks. Dagens

desinfeksjonsrutiner er ikke tilstrekkelige til å hindre dette. Det er ikke tilgjengelig informasjon som kan brukes til å estimere den relative betydningen av vertikal overføring i norsk oppdrett.

Nodavirus

Nodavirus påvises vanligvis i larver og yngel i marine fiskearter, og har en tilnærmet global utberedelse. Vertikal overføring vurderes å kunne forekomme. Det er ikke grunnlag for å utelukke vertikal overføring hos noen av dagens oppdrettsarter. Det bør undersøkes om kombinasjon av ulike desinfeksjonsmidler og – metoder kan inaktivere virus i egg fullstendig.

Salmonid Alphavirus (SAV)

SAV forårsaker *pancreas disease* (PD). PD forekommer endemisk på laks og regnbueørret i viktige oppdrettsområder i Norge. Sannsynligheten for at stamfisk kan smittes og være bærer av SAV i endemisk område i Norge vurderes å være høy. I Norge er kun subtypen SAV3 påvist. Det foreligger undersøkelser som kan indikere forekomst av SAV i rogn og melke fra infisert stamfisk. Tilsvarende undersøkelser foretatt ved andre laboratorier har ikke bekreftet dette resultatet. En tør imidlertid ikke utelukke at kjønnsprodukter fra stamfisk som er i viremisk fase, kan inneholde virus, enten dette forekommer naturlig i rognvæske og melke eller som en følge av kontaminering i strykeprosessen.

Det foreligger resultater som kan indikere overføring av SAV fra kjønnsprodukter til settefisk i ferskvannsfasen. Disse funnene er ikke blitt bekreftet av flere tilsvarende relativt omfattende undersøkelser utført av både norske og utenlandske grupper. Epidemiologiske undersøkelser av sykdomsutbrudd indikerer ikke vertikal overføring. I tillegg foreligger det heller ingen indikasjoner på at SAV har blitt overført ved rogneksport. Ut fra dette vurderes risikoen for vertikal overføring av SAV å være ubetydelig.

Flavobacterium psychrophilum

Infeksjonen har stor betydning for oppdrett av flere viktige arter laksefisk globalt sett, og med de tilfellene som er observert i Norge i de senere år, bør det være fokus på forekomst, smittespredning og kontroll av *Flavobacterium psychrophilum*. Vertikal overføring forekommer, og stamfisk er en mulig smittekilde for å få overført *F. psychrophilum* både vertikalt og horisontalt. Det er ikke kjent om dagens desinfeksjonsrutiner er fullt ut tilstrekkelige til å hindre dette. Ytterligere kunnskap innenfor området vil være relevant.

Piscirickettsia salmonis

Piscirickettsia salmonis har blitt identifisert fra en rekke forskjellige laksefisker verden over. Vertikal overføring kan ikke utelukkes. Ytterligere kunnskap innenfor området, især med hensyn til atlantisk laks vil være relevant.

Francisella noatunensis

Francisellose har blitt rapportert siden 2004 i norsk oppdrett av torsk. Vertikal overføring kan ikke utelukkes. Ytterligere kunnskap innenfor området, især med hensyn til torskeoppdrett vil være relevant.

Hjerte- og skjelettmuskelbetennelse (HSMB)

Det foreligger ikke tilstrekkelig informasjon som kan danne grunnlag for vurdering av eventuell vertikal overføring av agens.

Hvilke sykdommer, ut i fra en smittefaglig risikovurdering anbefales tatt inn i et nasjonalt overvåkningsprogram?

En forutsetning for at Norge skal bevare og videreutvikle seg som oppdrettsnasjon, er at en har oversikt over de alvorligste fiskesykdommene, over endringer i forekomst av sykdom og fremtidige utfordringer for fiskens helse. En grundig *post mortem* stamfiskkontroll anses som et viktig virkemiddel for å hindre vertikal overføring av sykdommer. Et krav om ytterligere overvåkning av bærertilstand i stamfisk, det vil si når makroskopiske patoanatomiske forandringer ikke observeres, vil medføre testing av enkeltfisk med mikrobielle og molekylære metoder.

Skal sykdommer som kan overføres vertikalt være med i et nasjonalt overvåkningsprogram, og skjerpet biosikkerhet og desinfeksjon ikke er tilstrekkelig til å hindre overføring, bør metodene som benyttes for påvisning av agens være validert.

Meldepliktige sykdommer skal diagnostiseres ved offentlige godkjente laboratorier. I Norge er meldepliktige sykdommer rangert på Liste 1, 2 og 3. Liste 1 innholder sykdommer som Norge i dag er fri for.

Av de agens som er omtalt i denne vurderingen finner vi på liste 2: ILA, og på liste 3: sykdommer forårsaket at Nodavirus, SAV, HSMB og *Francisella noatunensis*. Derimot er sykdommer forårsaket av IPN virus, *F. psychrophilum, P. salmonis* som er tatt med i denne vurderingen, ikke listeførte. Skal en sykdom være med i et nasjonalt overvåkningsprogram bør den være listeført.

Infeksiøs lakseanemi (ILA) virus

Konklusjon som er gitt ovenfor: ”*Vertikal overføring av ILA virus kan ikke utelukkes, men er av liten eller ikke målbar betydning for spredning av ILA i norsk oppdrett.”* tilsier at ILA ikke anbefales tatt inn i et nasjonalt overvåkningsprogram.

Infeksiøs pankreas nekrose (IPN) virus

IPN er ikke meldepliktig og det er ingen nasjonal bekjempelsesplan for sykdommen. Videre så forekommer sykdommen i alle områder i Norge hvor det drives oppdrett. Det er derfor ikke grunnlag for å foreslå at denne sykdommen anbefales tatt inn i et nasjonalt overvåkningsprogram. Dersom en nasjonal bekjempelsesplan introduseres, bør eventuell nasjonal overvåkning vurderes på nytt.

Nodavirus

Utbredelse av infeksjonen er ikke klarlagt, og følgelig er de økonomiske konsekvensene av vertikal overføring ikke fullt utredet. Nodavirus infeksjon er først og fremst dødsårsak hos yngel, og i mindre grad for matfisk. Skal Nodavirus anbefales tatt inn i et nasjonalt overvåkningsprogram må det eventuelt være som et ledd i et større program hvor det stilles krav til driftsformer for å hindre innsmitte av Nodavirus på andre måter, blant annet når det gjelder biosikkerhet ved hold av stamfisk og desinfeksjon av inntaksvann.

Salmonid Alphavirus (SAV)

Konklusjonen gitt ovenfor *"… vurderes risikoen for vertikal overføring av SAV å være ubetydelig*" tilsier at SAV ikke anbefales tatt inn i et nasjonalt overvåkningsprogram.

Flavobacterium psychrophilum

Sykdom forårsaket av *F. psychrophilum* har økt i utbredelse i Norge i de senere årene, spesielt hos yngel av regnbueørret. I andre deler av verden med oppdrett av laksefisk er sykdommen utbredt og regnes som et stort problem. Sykdommen har begrenset utbredelse i Norge i dag, og overvåkning kan bidra til at sykdommen ikke får tilstrekkelig fotfeste her i landet. Det vil være flere usikkerhetsmomenter ved en overvåkning av *F. psychrophilum* i stamfisk. Det foreligger ikke noen standardisert laboratoriemetode for å skille mellom patogene og ikke-patogene stammer.

Sykdom forårsaket av *F. psychrophilum* bør vurderes listeført. Sykdommen anbefales tatt inn i et nasjonalt overvåkningsprogram dersom metoder som benyttes for påvisning av sykdomsfremkallende agens blir validert.

Piscirickettsia salmonis

Det er i de senere år kun gjort noen få påvisninger av *P. salmonis* i Norge og den anses ikke å ha en økende utbredelse her i landet. De norske isolatene har gitt betydelig lavere dødelighet enn de som er beskrevet fra utlandet. En anser ikke *P. salmonis* til å være av tilstrekkelig betydning i norsk oppdrett til å anbefales tatt inn i et nasjonalt overvåkningsprogram.

Francisella noatunensis

Kunnskap om utbredelse og smitteveier er begrenset. Mulig smitte av anlegg fra villfauna er ukjent. Betydningen av vertikal overvåkning som overføringsvei, og mulighetene til å begrense dette ved endrede driftsformer, økt biosikkerhet og desinfeksjon må klarlegges før en kan konkludere om hvorvidt *F. noatunensis* bør anbefales tatt inn i et nasjonalt overvåkningsprogram.

Hjerte- og skjelettmuskelbetennelse (HSMB)

Det foreligger ikke tilstrekkelig informasjon til å vurdere denne sykdommen.

NØKKELORD
Stamfisk, vertikal overføring, fiskehelse, fiskevelferd

Begrepene ”overvåkning” og ”sykdomsovervåkning” brukes i denne risikovurderingen som likeverdige begreper.

Risikovurderingen omfatter, som tittelen gjenspeiler, overvåkning av stamfisk og ikke omtalte sykdommer generelt.

Begrepene ILA virus, IPN virus osv betegner selve agens, mens ILA, IPN osv betegner sykdommene. ILA virus, IPN virus er derfor ekvivalente betegnelser med ILAV, IPNV som ofte benyttes i litteraturen.

INNHOLDSFORTEGNELSE

BIDRAGSYTERE 3
Takk til 3
Vurdert av 3
SAMMENDRAG 4
NØKKELORD 8
INNHOLDSFORTEGNELSE 9
BAKGRUNN 10
OPPDRAG FRA MATTILSYNET 11
VURDERING 11
Generelt om vertikal overføring – definisjon 11
Infeksiøs lakseanemi virus: 12
Infeksiøs pankreas nekrose virus: 14
Nodavirus: 14
Salmonid alphavirus (pancreas disease virus): 15
Flavobacterium psychrophilum 18
Francisella og Piscirickettsia: 20
Hjerte- og skjelettmuskelbetennelse (HSMB): 22
KONKLUSJONER/SPØRSMÅL FRA MATTILSYNET 22
Forskningsbehov: 26
REFERANSER 27
APPENDIX 38
Vedlegg 1: 38
Listeføring av sykdommer 38
Liste 1 - Eksotiske sykdommer 38
Liste 2 - Ikke-eksotiske sykdommer 39
Liste 3 - Nasjonale sykdommer 40
Desinfeksjon av rogn 41
Desinfeksjonsmidler som brukes i dag 42
Praktiske desinfeksjonsprosedyrer på anlegg 43
Desinfeksjon av lakseegg - grønneggstadiet 43
Desinfeksjon av lakseegg - øyerogn 43
Desinfeksjon av egg fra marine arter 44

BAKGRUNN

Mattilsynet har mottatt en bestilling fra Fiskeri- og kystdepartementet (FKD) på å utarbeide et nasjonalt overvåkningsprogram for stamfisk. Bestillingen fra FKD tar utgangspunkt i at PD-soneforskriften for Vestlandet inneholder et forbud mot å selge rogn som har testet positivt på PD-virus ut av sonen, men at dette forbudet ikke skal tre i kraft før det er etablert et overvåkningsprogram for stamfisk. FKD nevner i bestillingen også at et nytt program trolig bør rettes inn mot flere listeførte sykdommer inkludert ILA og PD.

Mattilsynet vurderer det slik at det i første omgang kan være hensiktsmessig å etablere denne typen overvåkningsprogram for artene laks, regnbueørret og torsk.

Mattilsynet har hatt flere møter og samtaler med Veterinærinstituttet og med representanter for de største stamfiskprodusentene i Norge, og har kommet frem til det er naturlig å be om en risikovurdering fra VKM i denne saken. Dette er grunngitt med behovet for en uavhengig vurdering i forhold til et tema som er omdiskutert. Innenfor spørsmålet vertikal overføring av smitte hos fisk er det også gjort nye undersøkelser med resultater som sannsynligvis vil bli publisert i nær fremtid.

<u>Diverse lover og forskrifter berører de problemstillinger som tas opp i denne utredningen:</u>

LOV-2003-12-19 nr 124: Matloven. Lov om matproduksjon og mattrygghet mv.

FOR 2008-06-17 nr 822: Forskrift om drift av akvakulturanlegg (akvakulturdriftsforskriften)

FOR-2008-06-17 nr 819: Forskrift om smittsomme sykdommer, akvatiske dyr. Forskrift om omsetning av akvakulturdyr og produkter av akvakulturdyr, forebygging og bekjempelse av smittsomme sykdommer hos akvatiske dyr

Vurderingen er utført av Vitenskapskomiteens Faggruppe 8 for dyrehelse og dyrevelferd (dyrevern). Som grunnlag for vurderingen er det utarbeidet en rapport av en *ad hoc*-gruppe nedsatt av Faggruppe 8 som bestod av 3 medlemmer fra Faggruppe 8 samt en ekstern ekspert.

OPPDRAG FRA MATTILSYNET

Ut fra bakgrunnen beskrevet ovenfor ønsker Mattilsynet en vurdering av sannsynlighet for vertikal overføring av primært de listeførte fiskesykdommer som forekommer i Norge sammenstilt med en vurdering av konsekvenser ved slik overføring.

Det bes også om en tilsvarende vurdering når det gjelder sykdommer som er under utredning for listeføring (for eksempel infeksjon med *Flavobacterium psychrophilum*) og gjerne også for andre viktige sykdommer som for tiden ikke er listeførte (for eksempel IPN).

På bakgrunn av en slik risikovurdering ønsker Mattilsynet også råd om hvilke sykdommer som ut i fra en smittefaglig risikovurdering anbefales tatt inn i et nasjonalt overvåkningsprogram.

VURDERING

GENERELT OM VERTIKAL OVERFØRING – DEFINISJON

Sannsynligheten for at et smittsomt agens skal kunne overføres vertikalt vil være avhengig av en rekke faktorer som klinisk status og mengden av agens i foreldrefiskene, eventuell svikt i prosessen med desinfeksjon av befruktede egg, hvorvidt agens forefinnes intracellulært eller ekstracellulært, stamme/variant av smittsomme agens med mer. Sannsynligheten for vertikal overføring vil mer spesifikt være avhengig av mengden agens i gonadene, desto mer agens desto større sannsynlighet. Sannsynligheten for videre spredning via egg, yngel og smolt som en følge av vertikal overføring via gonader, vil avhenge av effektiviteten av desinfeksjon. I § 11 i akvakulturdriftsforskriften, tredje ledd står det:
*"**Det skal gjennomføres systematiske tiltak** som hindrer spredning av smitte med rogn og melke. Nybefruktet rogn av laksefisk skal desinfiseres før den legges inn til inkubering. Rogn av andre arter enn laksefisk skal også desinfiseres dersom det finnes egnet desinfeksjonsmetode*". I Norge brukes nesten utelukkende jodofordesinfeksjon (100 mg l^{-1}, 10 min) av egg fra salmonider etter befruktingen og før transport fra avlsstasjon til klekkerier, og er også vanlig brukt ved ankomst til klekkeri. Følsomhet overfor jodoforer i nevnte konsentrasjon og tid er en forutsetning for at dette skal være en effektiv desinfeksjon.
Flere forhold kan virke inn på effektiviteten av desinfeksjon så som beskyttelse av agens av eggprodukter, lokalisering av agens på innsiden av eggskallet og muligheter for feil i desinfeksjonsrutinene. For å kompensere for at effektiviteten av jodofor desinfeksjon i felt kan feile på grunn av svikt i rutiner, utføres jodofor desinfeksjon minst 2 ganger (rett etter befruktning og før transport). I tillegg til jodofordesinfeksjon blir profylaktisk anti-sopp behandling av egg med formaldehyd (0,01 %, 10-30 min) rutinemessig brukt gjentatte ganger i øyeegg stadiet. Overflatedesinfeksjon av egg fra salmonider vil derfor i praksis kunne finne sted et to-sifret antall ganger før klekking.

I dag er PCR metoder (real-time PCR for DNA organismer og RT etterfulgt av real-time PCR for RNA organismer) dominerende i screening-undersøkelser av agens, spesielt for agens som er vanskelig eller tidkrevende å dyrke. Ved bruk av metoder som ikke innebærer dyrking av agens, påviser man ikke nødvendigvis et smittsomt agens. Det mangler beregninger og er generelt vanskelig å finne ut av når en kan anse at et positivt funn ved real-time PCR

nødvendigvis gjenspeiler funn av et smittsomt agens. Biologisk relevans av positivt funn i PCR analyser vil derfor være en vurderingssak. Det er heller ikke konsensus om hvilke grenseverdier en skal benytte for real-time PCR for de ulike agens, eller om en skal bruke grenseverdier i det hele tatt. Dette innebærer at det er en innbakt usikkerhet i vurderingen av resultater for overføring av smittsomt agens når dette hovedsakelig er basert på påvisninger ved hjelp av molekylære metoder.

”Vertical transmission” – definition

OIE’s Aquatic Animal Health Code (2008) har følgende definisjon på vertikal overføring:

“*Vertical transmission means the transmission of a pathogen from a parent aquatic animal to its progeny via its sexual products”.*

Ad hoc-gruppen bruker denne definisjonen i denne risikovurderingen. Det er mulig at kjønnsprodukter kan kontamineres med infeksiøse agens gjennom andre kilder, slik som gjennom håndtering, utstyr m.m. noe som i en praktisk situasjon vil registreres som vertikal overføring. I denne risikovurderingen skiller vi ikke mellom disse to mulige kildene for smittsomme agens. Enn videre benyttes begrepet vertikal overføring uavhengig av om agens er på innsiden eller utsiden av egget.

INFEKSIØS LAKSEANEMI VIRUS:

Som et sentralt utgangspunkt for teksten nedenfor brukes risikovurderingen: ”*Which risk factors relating to spread of Infectious Salmon Anaemia (ISA) require development of management strategies?”,* utgitt av VKM 26. 01. 2007 (Rimstad et al., 2007).

Siden 2007 har det kommet ny litteratur på enkelte områder som kan ha betydning for den konklusjonen som da ble truffet.

Det er kommet mer informasjon om HPR0 virus, det vil si virus med fullengde varianter av Hemagglutinin-Esterase molekylet. Virus med HPR0 er så langt funnet å være ikke-virulente. ILA virus med HPR0 er funnet relativt vanlig forekommende hos oppdrettslaks, først og fremst funnet i gjeller, men også i andre organer i tilsynelatende frisk fisk. ILA virus-HPR0 er påvist i Skottland, Færøyene, Norge og Chile (Anonymus 2005, Kibenge et al., 2009, Nylund et al., 2007, Christiansen & Østergård, 2007). Gir en høyere prevalens av HPR0 ILA virus enn man visste i 2007 grunnlag for endret vurdering av mulig vertikal overføring? En vellykket overføring av et agens vertikalt vil være avhengig av at det er en ikke-virulent variant av virus (som for eksempel ILA virus-HPR0 er) som overføres, ellers forventes embryo, yngel etc. å dø som følge av infeksjonen. På Færøyene har en hatt en god overvåkning av ILA virus, men ikke rapportert forekomst av ILA virus HPR0 i stamfisk, derimot er dette funnet i relativt store mengder i gjellene i sjøfasen hos oppdrettslaks (Anonymous 2005), noe som indikerer at laks smittes med HPR0 i sjøfasen. Mulige reservoarer utover oppdrettslaks er undersøkt i begrenset grad. Man har ikke klart å dyrke ILA virus – HPR0 varianter, hvilket har virket begrensende på forskning av HPR0 varianter.

Det er publisert påvisning av ILA virus nukleinsyresekvenser ved hjelp av real-time RT-PCR i et flertall av undersøkte smolt produsenter (Nylund et al., 2007), og i embryo, parr, smolt og post smolt og i kombinasjon med gentyping ble det konkludert at den viktigste overføringen av ILA virus i norsk oppdrett er vertikal (Nylund et al. 2007, Vike et al., 2009). Tilsvarende funn og konklusjoner er ikke publisert av andre miljøer. Tvert imot så har en epidemiologisk undersøkelse av ILA utbrudd i Norge i perioden 2003-2005 konkludert at genetisk

informasjon om virus isolater støtter tesen om at det er sammenheng mellom nærliggende utbrudd, dvs. horisontal overføring av virus (Lyngstad et al., 2008). Basert på informasjon om genogrupping av virus, smoltleverandører eller avlsselskaper fant den gruppen ingen indikasjoner for vertikal overføring.

Siden den forrige VKM-rapporten ble publisert i 2007 har ILA blitt rapportert i nye geografiske områder og det har utviklet seg en massiv ILA epidemi i Chile. ILA virus har tidligere også blitt rapportert fra Chile (Kibenge et al., 2001), men da ble virus rapportert isolert fra Coho laks *(Oncorhynchus kisutch)*, i forbindelse med sykdommen *jaundice syndrome* og virus var oppgitt å være tilnærmet identisk med canadiske stammer av ILA virus. Denne varianten av ILA virus påvises ikke lenger i Chile, og er ikke påvist hos atlantisk laks der. ILA virus som er påvist i Chile fra 2007 og senere er derimot nært beslektet med isolater av virusvarianter man har funnet i Norge, og det er derfor antatt at opphavet stammer herfra. På grunnlag av mutasjonsfrekvenser i HE og F er det anslått at dette viruset ble introdusert til Chile i 1996 ± 2 år (Kibenge et al., 2009). Hvorvidt en slik ”biologisk klokke” tikker jevnt over tidsperiode hvor for eksempel populasjonsstørrelsen av atlantisk laks i Chile endret seg kraftig er omdiskuterbar. Det er mange norske oppdrettsselskaper i Chile, og eventuell kommunikasjon med norske miljøer som transport av utstyr og båter fra Norge kan teoretisk overføre smitte. Slik transport tar lang tid og skal passere over klimasoner med høye temperaturer noe som gjør en slik smitteoverføring lite sannsynlig. Av biologisk materiale er store mengder befruktet rogn blitt eksportert til Chile og som dermed peker seg ut som en mulig introduksjonsvei. Ser man dette isolert, kan dette indikere i favør av vertikal overføring.

På den annen side finnes det foreløpig ingen rapporter om isolering av infektive (”levende”) virus fra befruktede, desinfiserte egg eller fra yngel fra slike egg. Dette kan imidlertid forklares med at så langt ikke har lykkes å dyrke HPR0 i cellekulturer. Det er som nevnt ikke funnet indikasjoner på vertikal overføring av ILA virus på Færøyene hvor laksepopulasjonen blir monitorert for ILA virus relativt nøye (Christiansen & Østergård, 2007). Epidemiologiske analyser fra Chile indikerer at epidemien har spredd seg hovedsakelig horisontalt og at passiv spredning gjennom sjøvann antas å være viktig (Mardones et al., 2009). Sammenliknet med utbruddet i Skottland på slutten av 1990-tallet hvor det var en vellykket bekjempelse av sykdommen, var det en langt senere utslakting av affiserte anlegg i Chile enn i Skottland (Mardones et al., 2009, Stagg et al., 2001). I Chile ble først indeks kasuset slaktet ut etter 4-5 måneder, mot 1 måned i Skottland, og sekundært infiserte og kontakt-anlegg ble først slaktet ut etter 16 uker i Chile mot 3 uker i Skottland. Observasjoner i Nord-Amerika indikerer også at rask utslakting etter sykdomsutbrudd er en effektiv måte å begrense spredning på (Gustafson et al., 2005).

I Norge har det vært relativt mange ILA utbrudd i 2008-09, og blant annet en miniepidemi i Troms. De fleste utbruddene her kan forklares ut fra at en har ”hot spots” og horisontal spredning derfra (Lyngstad et al., 2009).

På grunnlag av det som er gjennomgått i det foranstående, er det vanskelig å se at konklusjonen vil være annerledes enn siste vurdering (Rimstad et al., 2007), ” *Vertical transmission* ***cannot be excluded.***“

Det vil si at en i norsk oppdrettsnæring ikke kan se bort fra at vertikal overføring av ILA virus kan skje, men en antar at dette har liten betydning for utbrudd og spredning av ILA i norsk oppdrettsnæring.

INFEKSIØS PANKREAS NEKROSE VIRUS:

Som hovedkilder her brukes VESOs rapport dateret 30. juni 2005, prosjektnummer V-1601 med tittel: Work package 1 report: Hazard identification for vertical transfer of fish disease agents og FHF / NFR rapporten: IPN in salmonids, a review fra oktober 2003.

Vertikal overføring av IPN virus har blitt vist for bekkerøye (*Salvelinus fontinalis*) og for regnbueørret (*O. mykiss*). Dette ble først vist av Wolf et al. (1968) og er senere blitt bekreftet (Ahne 1983; Bootland et al., 1991). IPN virus er påvist i øyeegg, og i plommesekkyngel (Ahne & Negele, 1985). Selv om det ikke er et direkte bevis for vertikal overføring, indikerer det at eggskall kan være involvert i overføring av virus fra en generasjon til den neste og at eggskall kan være viktige i horisontal spredning hos yngel som har begynt å ta til seg næring. Det er aldri med sikkerhet vist at vertikal overføring kan forekomme for atlantisk laks (*Salmo salar*) (Ahne & Negele, 1985; Dorson & Torchy, 1985, Smail & Munro, 1989).

Selv om det ikke er eksperimentelle data for vertikal overføring av IPN virus hos atlantisk laks, er det indirekte og erfaringsbaserte indikasjoner på dette. Det har for eksempel relativt sett vært langt flere IPN utbrudd i ferskvannsfasen i Norge enn i Skottland. Det er to ulike regimer for å bekjempe sykdommen i disse to land. I Skottland har det vært en aktiv bekjempelse med blant annet inspeksjoner i stamfiskanlegg to ganger per år og årlig prøvetaking av stamfisk (Gregory et al., 2003) og gameter fra IPN virus positiv fisk blir destruert. I Norge har det ikke vært tilsvarende krav fra myndighetene, selv om avlsselskaper har prøvd tilsvarende på eget initiativ. Prevalensen av IPN i ferskvannsfasen har vært oppgitt til å være dobbelt så høy i Norge som i Skottland (Gregory et al., 2003), noe som indikerer at en systematisk fjerning av IPN virus positive kjønnsprodukter senker forekomsten av IPN utbrudd i ferskvannsfasen, og at dette igjen indirekte indikerer at vertikal overføring av IPN virus forekommer i oppdrett av atlantisk laks.

Hos bekkerøye ble virus-titer høyere enn 10^4 TCID50/ml i ovarievæske korrelert med funn av IPN virus i egg (Wolf et al., 1963), men de fleste studier konkluderer at vertikal overføring er svært uforutsigbar og det derfor er liten sannsynlighet for å observere dette under laboratoriebetingelser (Mulcahy & Pascho 1984, Bootland et al., 1991).
Overflate-desinfeksjon av rogn med jodofor gir ikke fullstendig beskyttelse for å hindre vertikal overføring av IPN virus (Bullock et al., 1976, Dorson et al., 1997).

Det er vist at virus har sterk affinitet til spermiehode (Mulcahy & Pascho, 1984) og at virus finnes i ovarievæske (Wolf et al., 1963). En antar derfor at spermier vil fungere som transport vektor for virus fra ovarievæsken til egg og at egget infiseres ved befruktning. Eksakt lokalisering av virus i befruktede egg er ikke kartlagt i detalj, og det har vært vanskelig å isolere virus fra egg. Virus kan derimot isoleres relativt enkelt etter klekking (Fijan & Giogetti, 1978).

Vertikal overføring av IPN virus hos andre arter enn laksefisk er ikke godt undersøkt.

NODAVIRUS:

Som hovedkilde her brukes VESOs rapport dateret 30. juni 2005, prosjektnummer V-1601 med tittel: Work package 1 report: Hazard identification for vertical transfer of fish disease agents.

Sykdom forårsaket av Nodavirus (Viral nervevevsnekrose -VNN / Viral encefalo- og retinopati -VER) vanligvis påvises i larver og yngel i marine fiskearter, og har en tilnærmet global

utbredelse. Sykdom observeres selv i klekkerier med desinfeksjon av inntaksvann og vertikal overføring ble tidlig holdt som sannsynlig smittevei.

Nodavirus er påvist i gonader i både hunn- og hannfisk ved hjelp av ELISA og PCR, men virus er ikke rapportert å være isolert fra gonader i cellekultur (Arimoto et al., 1992, Mushiake et al., 1994; Nishizawa et al., 1996; Dalla Valle et al., 2000).

Virus har blitt påvist i befruktede egg ved ELISA (Arimoto et al., 1992, Nishizawa et al., 1996) og i larver fra stamfisk som har blitt eksperimentelt smittet (Breuil et al., 2002).

Eksakt lokalisering av virus i befruktede egg er ikke kjent. Enkelte resultater indikerer at kombinasjonen av ozon og jodofor behandling av befruktede egg (striped jack) gir effektiv dekontaminering (Arimoto et al., 1996). Ved desinfeksjon av rogn fra marin fisk benyttes gjerne glutaraldehyd med konsentrasjon på 400-600 mg/l og kontakttid på 5-10 minutter (Erstad, pers. meddelelse 2009).

SALMONID ALPHAVIRUS (PANCREAS DISEASE VIRUS):

Årsaken til pankreassykdom (PD) er Salmonid alphavirus (SAV) innen genus *Alphavirus* i familien *Togaviridae*. Den norske subtypen av viruset er en av seks kjente subtyper av SAV og går under betegnelsen SAV3. Verken SAV1, som gir PD i Skottland og Irland eller SAV2, som gir en lignende sykdom i ferskvannsoppdrettet regnbueørret i Frankrike og Storbritannia, er hittil påvist i Norge. SAV3 forekommer endemisk på laks og regnbueørret i viktige oppdrettsområder i Norge. SAV4 er påvist i Irland og Skottland, SAV5 i Irland og SAV6 i Skottland.

Sjøvannsfasen

For SAV3 er det i sjøvannsfasen dokumentert utbrudd og virusforekomst på alle fiskestørrelser i alle faser, også stamfisk. Risikoen for at stamfisk i endemisk område kan bli smittet må derfor vurderes som høy.

Forekomst i kjønnsprodukter

Egg fra SAV3-positiv stamfisk, strøket i sjøvann; ble etter desinfeksjon med jodofor, fulgt til 843 døgngrader etter klekking (Brattland & Nylund, 2009). Stamfiskpopulasjonen hadde tidligere gjennomgått et PD sykdomsutbrudd. Det ble ved realtime-PCR funnet positiv påvisning i 1/220 ubefruktede egg, 1/220 øyerogn og 2/430 yngel. Det er oppgitt relativt høye ct-verdier (Brattland, pers. meddelelse) for de positive prøvene.

I en studie av Kongtorp og medarbeidere (pers. meddelelse), ble det derimot ikke påvist SAV3 ved realtime-PCR i egg eller melke fra SAV3-positiv stamfisk. Også i denne stamfiskpopulasjonen var det tidligere påvist PD.

Det private laboratoriet PatoGen undersøkte i 2008 kjønnsprodukter fra infisert stamfisk ved hjelp av realtime PCR. SAV3 ble påvist i hjerteprøver og for lokalitet 1 lå Ct-verdiene for de testede fiskene mellom 26,26-35,18 og for lokalitet 2 lå verdiene mellom 26 og 38,78. Fra lokalitet 1 ble det undersøkt prøver av 425 ovarievæsker og 96 prøver av melke. Fra lokalitet 2 ble det undersøkt 130 prøver av ovarievæsker og 25 prøver av melke. Alle prøvene av ovarievæsker og melke var negative (Aspehaug, pers. meddelelse).

Ferskvannsfasen

Årlig undersøkes det et stort antall yngel og smolt av fiskehelsetjenesten og av Veterinærinstituttet. Det foreligger ikke informasjon om sykdomsutbrudd av PD i ferskvannsfasen.

I ferskvannsfasen er det et rapportert en påvisning av SAV3 (Bratland & Nylund, 2009) ved PCR. Det er likevel ikke klarlagt om sjøvannskontakt eller andre muligheter for horisontal smitteoverføring kan utelukkes. En undersøkelse fra 2009 (Brattland & Nylund, 2009) hvor en brukte realtime-PCR var 16 av 35 undersøkte smoltanlegg positive. Det ble undersøkt mellom 30-60 prøver fra hvert anlegg og det ble brukt realtime-PCR uten cut off–verdier. Denne undersøkelsen kan indikere vertikal smitteoverføring og/eller smitte i ferskvannsfasen, men funnene er til nå ikke blitt bekreftet av tilsvarende funn ved andre vitenskapelige miljøer.

På oppdrag for næringen har PatoGen i 2007 og 2009 utført screening av til sammen 1800 tilfeldig utvalgte smolt fra hhv 15 og 10 ulike settefiskanlegg fra Agder til Nordland ved hjelp av realtime-PCR. Både SO og S1-smolt ble testet med 30-60 fisk pr. gruppe. Med unntak av fire prøver som var positive for vaksinestammen SAV1, ble det ikke gjort noen positive funn. Det ble kjørt 45 sykluser og cut-off verdien var satt til 37 (Aspehaug, pers. meddelelse). Påvisningene av vaksinestamme er satt i sammenheng med prøvetakningsteknikk (trimming av prøve i bukhule), og PatoGen har siden vist at dette problemet kan unngås ved fokus på sterilteknikk (Fridel et al., 2009). I tidsrommet 2007-2009 utførte PatoGen en tilsvarende undersøkelse av fisk fra 35 settefiskanlegg sør for Hustavika. Dette er et område hvor sjølokaliteter må betraktes som endemisk for SAV3. I alt 3344 analyser ble utført. Med unntak av ett anlegg, var prøvene negative. For ett anlegg var 4 av 60 prøver positive (både A og B prøve) for SAV3. Alle de positive prøvene kom fra et kar hvor det til sammen var tatt ut 20 prøver. Uttak av 60 nye prøver fra samme kar ga imidlertid negativt resultat. Intervju med oppdretter avdekket at samme prøvetakningsutstyret 10 dager tidligere var blitt brukt ved uttak av prøver på et PD-positivt anlegg. Oppdretter var usikker på hvor godt utstyret var blitt rengjort. De positive prøvene viste seg å være blant de 6 første prøvene som var tatt. Ut fra disse opplysningene og sammenholdt med det negative retestingsresultatet, har PatoGen vurdert dette til å være en kontaminering.

I forbindelse med en cohort studie, har Jansen og medarbeidere (pers. meddelelse) gjennomført en screening av fisk fra 46 smoltanlegg. Prøver ble undersøkt med realtime-PCR. PCR-undersøkelsen ble i utgangspunktet gjennomført på samleprøver à 5 fisk og dermed kan fortynningseffekten gi noe redusert sensitivitet i forhold til testing av enkeltindivider. Erfaringsmessig kan dette ha innvirkning på resultatet ved Ct verdier over 35 ved en enkelt positiv prøve i en samleprøve av denne størrelsen. Imidlertid ble det i tillegg gjennomført analyser av enkeltprøver fra 10 smolt. Ved positive funn i sjøvannsfasen (23 av 36 undersøkte lokaliteter), ble det utført undersøkelser på enkeltprøver fra ferskvannsuttaket. Der det var mulig, ble utvalget gjort i fiskegrupper med forøket dødelighet og/eller sykdomsproblemer. I tillegg ble det utført histologiske og serologiske undersøkelser av smolt fra fire smoltanlegg med leveranser til sjøanlegg hvor det senere ble påvist PD. Prøveresultat fra realtime-PCR som viste avvikende kurve og/eller Ct verdier større eller lik 40, ble reanalysert på enkeltprøver med både standard og alternative primere og probe. For to smoltanlegg ble henholdsvis en og tre samleprøver undersøkt på nytt. Dette studiet ga ingen indikasjon på vertikal overføring.

Graham og medarbeider (pers. meddelelse) har ved realtime-PCR, serologi og dyrking for SAV undersøkt stamfisk og avkom fra endemisk område i Irland. De fant ingen indikasjoner på vertikal overføring.

I den grad det er utført testing i ferskvannsfasen i Skottland, er det ikke gjort funn av SAV1 eller SAV3 (Raynard, pers. meddelelse).

Eksperimentelle studier

For SAV2 foreligger det et forsøk med kunstig smittet stamfisk som viser smitteoverføring (Castric, pers. meddelelse). I dette forsøket ble det arbeidet med meget store virusmengder. Forsøket er ikke publisert, men presentert på møter. For SAV-3 er vi kjent med et vitenskapelig forsøk. Kongtorp og medarbeidere (pers. meddelelse) kunne ikke påvise SAV på avkom etter naturlig SAV-smittet fisk. Rogn og melke fra SAV-negativ stamfisk ble også kunstig eksponert for SAV ved fertilisering. Alle prøver testet på ulike tidspunkter frem til smoltifisering var SAV-negative. Heller ikke ved bruk av udesinfisert rogn, ble det påvist smitteoverføring. Alle prøver ble analysert med realtime- PCR av to uavhengige laboratorier (PatoGen og David Graham). Det ble foretatt histologiske undersøkelser av yngel og smoltifiserende fiskparr, og parrsmoltifiserende fisk ble i tillegg analysert for spesifikke antistoff mot SAV. Totalt ble det undersøkt et stort antall prøver; ca 2000 fra de eksperimentelle gruppene. Dette gir en høy statistisk sannsynlighet for å fange opp eventuelle positive prøver. Forsøket ble utført på kronisk PD-syk stamfisk med moderate virusmengder. Fisk i en viremisk fase (tidlig i sykdomsforløpet) vil kunne representere en noe høyere risiko for mulig sykdomsoverføring. I studiet ble dette forsøkt ivaretatt gjennom gruppen som ble kunstig eksponert for SAV ved fertilisering.

Epidemiologiske data

Norske undersøkelser viser at det er en sammenheng mellom utbrudd av PD, brønnbåttransport, mangelfull brakklegging (Brun et al., 2006) og infeksjonspress fra naboanlegg (Kristoffersen et al., 2009). Det foreligger ikke data som indikerer sammenhenger mellom positive funn i ferskvannsfasen og utbrudd i sjøvannsfasen.

Til tross for betydelig transport gjennom mange år av egg og yngel fra nordvestlig deler av Irland til vestlige områder, er det forskjellig subtyper av SAV i de forskjellige geografiske områdene (Fringuelli et al., 2008).

I løpet av de siste 30 årene er det eksportert en betydelig mengde befruktede egg til Skottland, Irland, Færøyene, Island, Chile og Nord-Amerika. Så langt er det ikke dokumentert overføring av SAV som følge av dette.

Fysisk/kjemiske egenskaper for SAV (Graham et al., 2007)

Varme	60 °C i 1t	Inaktivert
Syre	pH 4 i 5 min	Inaktivert
Lut	pH 12 i 5 min	Inaktivert
Peroxygen	0,5-2 % 4 eller 10 °C	Inaktivert 5-30 min
Kloramin	0,5-2 % 4 eller 10 °C	Inaktivert 5-30 min
Iodoforer	1/600-1/125, 10 °C	Inaktivert 30 min
Buffrete jodoforer	1-2 %, 10 °C	Inaktivert 30 min

SAV overlever i sjøvann i 60 dager ved 4 °C.

FLAVOBACTERIUM PSYCHROPHILUM

Infeksjoner forårsaket av bakterien *Flavobacterium psychrophilum* har siden midten av 1980-tallet forårsaket høy dødelighet hos regnbueørret i Europa. Bakterien har vært registrert i Norge siden åttitallet (Olsen, pers. meddelelse) uten å forårsake store problemer. Første tilfelle av systemisk infeksjon ble registrert i 2004 (Colqehoun, pers. meddelelse) og etter hvert har det oppstått økende problemer i regnbueørret yngel med systemisk infeksjon forårsaket av *F. psychrophilum* (Brun et al., 2009).

Med henblikk på å bevise en mulig vertikal overføring av *F. psychrophilum* anvendes som utgangspunkt VESOs rapport (2005), hvor en gjennomgang av anvendt litteratur fra perioden 1960 – 2002 viste, at bakterien fantes utenpå fiskeegg, i ovarievæske og i sædvæsken, men det var forskjellige meninger om bakterien fantes inne i selve egget, slik at det kunne betegnes som ”sann” vertikal overføring.

Da infeksjonen har stor betydning i fiskeoppdrett globalt og ved oppdrett av flere viktige laksearter er det fortsatt stor fokus på forekomst, smittespredning og kontroll av *F. psychrophilum*.

Forekomst i kjønnsprodukter

Ved undersøkelse av kjønnsprodukter fra 40 stamfisk (regnbueørret, Danmark) uten kliniske symptomer fantes bakterien hos 43 %, henholdsvis i sædvæske (53 %) og i ovarievæske (35 %) (Madsen et al., 2005). I en senere undersøkelse av 122 stamfisk (regnbueørret, Danmark) ble tilsvarende prosent av fiskene funnet å være latent infisert (Madsen og Dalsgaard, 2008). Tilsvarende funn er beskrevet av Madetoja et al. (2002) og Baliarda et al. (2002).

Taylor (2004) har over en årrekke undersøkt eggvæske og funnet følgende prosentvise forekomst av bakterien i laksefisk: 42 % chinook salmon (*O. tszhawytscha*) (31 individer undersøkt), 67 % coho salmon *(O. kisutch)* (90), 56 % chum salmon (*O. keta*) (52) og 67 % steelhead (sjøgående regnbueørret) (24). Baliarda et al. (2002) fant at 62,5 % av de 16 undersøkte coho salmon var infisert. Misaka & Suzuki (2007) undersøkte 240 chum salmon og fant mellom 3-90 % positive avhengig av levested. Ved undersøkelse av Ayu (*Plecoglossus altivelis*) fant man 26 % hunner av 65 individer og 7 % hanner positive av 55 (Kumagai et al., 2004). Ekman et al. (1999) fant bakterien i 14 % av undersøkte 50 Østersjølaks (Baltic salmon) fanget i forbindelse med gytevandring. Stamfisk av både

oppdrettet og viltlevende fisk er derfor en mulig smittekilde for å overføre *F. psychrophilum* vertikalt og horisontalt.

Forekomst på/i egg

Nyere undersøkelser viser, at det stadig er enighet om at *F. psychrophilum* finnes på overflaten av befruktede egg (Jensen et al., 2003, Kumagai et al., 2004, Madsen & Dalsgaard, 2008, Taylor, 2004).

Derimot er det stadig uenighet om bakterien kan finnes inne i selve egget. Cipriano (2005) og Taylor (2004) konkluderte etter anvendelse av henholdsvis dyrkning og PCR til påvisning av bakterien etter joddesinfeksjon, at *F. psychrophilum* kan finnes inne i egget. Ekman et al. (2003) anvendte nanoinjeksjon for å få bakterien inn i egget og oppnådde en signifikant høyere dødelighet enn i kontrollgruppen. Det er vist, at *F. psychrophilum* ikke er så følsom for lysozym som andre bakterier og den er derfor i stand til at overleve i eggeinnhold og plommesekk (Brown et al., 1997).

Madsen og Dalsgaard (2008) har ved undersøkelse av regnbueørretegg ikke påvist bakterien inne i egget. Tilsvarende funn er gjort av Kumagai et al. (2004) ved undersøkelse av ayu egg. Vatsos et al. (2006) fant etter en vannbåren kolonisering av eggoverflaten, at *F. psychrophilum* forble på overflaten og syntes ikke å trenge gjennom egget, selv om en ødeleggelse av slimlaget forekom.

De foretatte undersøkelser tyder på at gjennomtrengeligheten av bakterien inn i eggene kan være avhengig av fiskeart. Ifølge litteraturen er *F. psychrophilum* påvist inne i egg fra chinook laks, coho laks, chum laks, steelhead og atlantisk laks, mens bakterien ikke er påvist inne i egg av regnbueørret og ayu. En annen forklaring på de forskjeller som er funnet, kan være at de metoder som har vært anvendt til påvisning ikke har vært optimale.

Jodofor desinfeksjon av *F. psychrophilum*

Taylor (2004) desinfiserte egg med jod (200 µg/L povidone iodine opløsning) i 15 min. med etterfølgende vask i sterilt vann og påviste forekomst av *F. psychrophilum* ved bruk av PCR. Madsen et al. (2005) anvendte Actomar K30 1 % oppløsning (100 ppm aktiv jod (100 mg/L)) i 10 min. I samme undersøkelse ble det også desinfiserte egg med 300 ppm jod og 0,1 % og 1 % Virkon®S der resultatet var at bakteriefloraen på eggene ikke ble eliminert totalt med jod-oppløsningene, men ble redusert i forhold til egg som ikke var desinfisert. Den mest effektive metode var 1 % Virkon®S, men da ble eggene ødelagt. I et annet forsøk ble øyeegg desinfisert med 100 og 400 ppm jod og 0,1 % H_2O_2. Den anvendte konsentrasjon av H_2O_2 var ikke i stand til å eliminere bakteriefloraen (Madsen & Dalsgaard, 2008).

Cipriano (2005) har evaluert effekten av desinfeksjon av egg fra atlantisk laks. Før undersøkelsen ble de befruktede egg desinfisert 2 ganger med jod (povidone iodine). Første gang med 50 mg/L i 30 min før vannherding, annen gang med 100 mg/L i 30 min i forbindelse med flytting. Etter den nevnte jod desinfeksjon ble eggene innkubert knust i vekstmedium, og antallet av *F. psychrophilum* ble påvist å være mellom 10^2 og 10^7 cfu/g egg.

Kumagai et al. (1998) vurderte effekten av desinfeksjon av egg etter tilsetning av *F. psychrophilum* i høyt antall. Umiddelbart etter desinfeksjon med jodofor, 50 ppm i 15 min ble det ikke påvist bakterier, men da eggene nådde øyeeggstadiet kunne bakterien igjen påvises. Selv om egg fra coho laks ble desinfisert med 1000 ppm, ble bakterien påvist. I en senere

undersøkelse av Kumagai et al. (2004) ble *F. psychrophilum* ikke påvist etter desinfeksjon av ayu egg med povidone-iodine 5 ppm i 10 min eller H_2O_2 150 ppm i 30 min.

Overlevelsen av *F. psychrophilum* ble undersøkt i en jod oppløsning på 100 mg/L vann i 30 min, og etter dyrkning var det ingen overlevende bakterier (Cipriano 2005). Kumagai et al. (1998) anvendte likeledes en povidone-iodine oppløsning og fant at de tilsatte bakterier ~10^7 CFU/ml ble drept i en konsentrasjon på 20 ppm etter 1 min eller 40 ppm i 0,5 min. Kumagai et al. (2004) fant at 10^7 CFU/ml ble inaktivert i en jod oppløsning på 20 ppm etter 5 min og i en H_2O_2 konsentrasjon på 120 ppm etter 30 min.

I forsøkssammenheng er det anvendt forskjellige behandlinger med jodoppløsninger angående konsentrasjon og varighet, hvilket gjør det vanskelig å sammenligne de beskrevne forsøkene.

FRANCISELLA OG PISCIRICKETTSIA:

Gram-negative, intracellulære bakterier i fisk har vært kjent under samle betegnelsen *Piscirickettsia*-liknende organismer etter *Piscirickettsia salmonis* som var den første karakteriserte bakterien i denne gruppen (Fryer et al., 1992). *Francisella er* fakultative intracellulære bakterier og kan dyrkes på agar anriket med aminosyren cystein (Mikalsen et al., 2007, Nylund et al., 2006, Olsen et al., 2006, Ottem et al., 2007a). *Rickettsia*-lignende organismer (RLO) er obligat intracellulære bakterier. Videre eksisterer det indikasjoner på en større diversitet i RLO-gruppen enn hva som er beskrevet hittil (Corbeil et. al., 2005; Davies, 1986; Khoo et al., 1995; Lloyd et al., 2008).

Piscirickettsia salmonis

P. salmonis ble først beskrevet fra sølvlaks (Coho salmon) fra Chile i 1989 (Fryer et al., 1990, Fryer et al., 1992). Siden har bakterien blitt identifisert fra en rekke forskjellige laksefisker verden over (Brocklebank et al., 1993, Corbeil et al., 2005, Fryer et al., 1992, Fryer & Mauel., 1997, Olsen et al., 1997, Rodger & Drinan, 1993), men også ulike arter av sea bass (*Dicentrarchus labrax* og *Atractoscion nobilis*) er mottakelig for infeksjon med bakterien (Arkush et al., 2005, Comps et al., 1996, McCarthy et al., 2005). Infeksjon med *P. salmonis* er kjent som piscirickettsiose (Fryer & Hedrick, 2003), men andre navn som salmonid rickettsial septicemia (SRS), Hito-disease and Coho salmon syndrome har blitt benyttet om sykdommen (Bravo & Campos, 1989, Cvitanich et al., 1991). Med ett unntak, er det de senere år kun gjort noen få påvisninger av *P. salmonis*. Unntaket er 2002 hvor det var 17 påvisninger. De norske isolatene har hatt betydelig lavere dødelighet enn de som er påvist i Chile (Helsesituasjonen hos oppdrettsfisk 2008)

(http://www.vetinst.no/nor/Forskning/Publikasjoner/Fiskehelserapporten/Helsesituasjonen-hos-oppdrettsfisk-2008).

Vertikal overføring til egg er vist for *P. salmonis* og bakterien kan smitte både fra infisert hunn og hann fisk (rogn og melke) til det fertiliserte egget. Det ble rapportert en prevalens på 6,7-10 % infiserte egg 18 dager etter befrukting der en eller begge foreldrene har vært infisert med bakterien (Bovo et al., 2005b, Larenas et al., 2003). En eksperimentell studie har vist at *P. salmonis* fester seg til egget. Det er antatt at bakterien infiserer egget hurtig etter de har festet seg ettersom *P. salmonis* har meget dårlig overlevelse i ferskvann (Lannan & Fryer, 1994, Larenas et al., 2003). Bakterien sin dårlige overlevelse i ferskvann, samt lav innsidens av sykdommen i ferskvann, har vært grunnlag for å sette spørsmålstegn ved betydningen av

vertikal overføring av sykdommen (Bovo et al., 2005a, Larenas et al., 2003, Mauel & Miller, 2002). I rapporten "Hazard identification for vertical transfer of fish disease agents" (Bovo et al., 2005b) forklares den lave forekomsten med liten grad av publiseringer på dette området, men den dårlige overlevelsen av bakterien i ferskvann ble ikke adressert. Videre så antydes det at fisk som blir smittet av *P. salmonis* gjennom en vertikal smitteoverføring blir asymptomatiske bærere av infeksjonen (Larenas et al., 2003).

Francisella noatunensis

I den senere tid har det blitt oppdaget en rekke bakterier i fisk som hører hjemme i slekten *Francisella* (Hollis et al., 1989, Hsieh et al., 2006, Mailman & Schmidt, 2005, Mikalsen et al., 2007, Nylund et al., 2006, Olsen et al., 2006, Ottem et al., 2007a, Ottem et al., 2007b) og som forårsaker sykdommen francisellose. I Norge ble den første offisielle diagnosen på oppdrettstorsk rapportert i 2005 (Helsesituasjonen hos oppdrettsfisk 2005)

(http://www.vetinst.no/nor/Forskning/Publikasjoner/Fiskehelserapporten/Helsesituasjonen-hos-oppdrettsfisk-2005).

I 2008 ble sykdommen meldepliktig, og det ble rapportert 14 sykdomsutbrudd: (Helsesituasjonen hos oppdrettsfisk 2008)

(http://www.vetinst.no/nor/Forskning/Publikasjoner/Fiskehelserapporten/Helsesituasjonen-hos-oppdrettsfisk-2008).

Den første kjente referansen til *Francisella* infeksjon i fisk er gjort i en WHO rapport fra 1970, der to fiskeslag blir listet som mottakelige dyr for infeksjon (Olsufèv 2007). De fiskepatogene *Francisella* spp. er forskjellig fra de kjente humanpatogene stammene (Hollis et al., 1989, Hsieh et al., 2006, Mailman & Schmidt, 2005, Mikalsen et al., 2009, Nylund et al., 2006, Olsen et al., 2006, Ottem et al., 2007a, Ottem et al., 2007b). De fiskepatogene *Francisella* spp. er foreslått å tilhøre to arter; *F. noatunensis* og *F. asiatica* (Mikalsen & Colquhoun, 2009) og av andre å være samlet i gruppen *F. noatunensis* (Ottem et al., 2009).

I litteraturen er det ingenting som er beskrevet om vertikal smitteoverføring av fiskepatogene *Francisella*. I ett prosjekt finansiert av Fiskeri og havbruksnæringens fond (FHF) har Marine Breed AS og Veterinærmedisinsk oppdragssenter (VESO 2009) gjennomført en studie av risikoen for *Francisella* kontaminering av kjønnsproduktene. I denne studien ble kjønnsprodukter fra stamtorsk (*Gadus morhua*) som var gjennominfiserte med *F. noatunensis* undersøkt. Det ble påvist bakterier i kjønnsprodukter fra både hunn og hannfisk, men dog kun i et lite antall individer (7 av 181 fisk):

http://www.fiskerifond.no/index.php?current_page=prosjekter&detail=1&id=814&gid=1.

Dette gir en prevalens på 3,7 %:
(http://www.fiskerifond.no/index.php?current_page=prosjekter&detail=1&id=814&gid=1)
(http://www.fiskerifond.no/news_print.php?id=548)

med ett 95 % konfidensintervall mellom 1,6-7,2 %. Bakgrunnen for dette prosjektet var påvisning av francisellose i stamfisk i to av Marine Breed sine stamfiskgrupper høsten 2007, hvor deres resultater viste at dobbel desinfiserte kjønnsprodukter ikke testet positivt på smitte

(http://www.fiskerifond.no/index.php?current_page=prosjekter&detail=1&id=814&gid=1)

(http://www.fiskerifond.no/news_print.php?id=548).

I prosjektet ble effekten av desinfeksjon forsøk undersøkt men funn av bakterier i blant annet negative kontroller gjør at disse resultatene ikke er adressert her.

HJERTE- OG SKJELETTMUSKELBETENNELSE (HSMB):

HSMB gir store tap i oppdrett av atlantisk laks i Norge. Sykdommen forekommer langs hele kysten. Antall utbrudd har økt siden sykdommen ble beskrevet for første gang i 1999 (Kongtorp et al., 2004), og totalt 144 utbrudd ble påvist i 2008. Eksperimentelle smitteforsøk har vist at sykdommen er av viral natur (Kongtorp & Taksdal, 2009). Vertikal overføring av sykdomsfremkallende agens er ikke satt i sammenheng med sykdomsutbrudd av HSMB. Men det foreligger ikke tilstrekkelig informasjon som kan danne grunnlag for risikovurdering av eventuell vertikal overføring av agens.

KONKLUSJONER/SPØRSMÅL FRA MATTILSYNET

1) **Vurdering av sannsynlighet for vertikal overføring av primært de listeførte fiskesykdommer som forekommer i Norge sammenstilt med en vurdering av konsekvenser ved slik overføring.**

Infeksiøs lakseanemi (ILA) virus

Siden forrige vurdering som VKMs faggruppe for dyrehelse og dyrevelferd ga i 2007 om vertikal overføring av ILA: *Which risk factors relating to spread of Infectious Salmon Anaemia (ISA) require development of management strategies?,* har det kommet mer informasjon om HPR0 varianter, det vil si virus med fullengde varianter av Hemagglutinin-Esterase molekylet, som er antatt å være apatogene. HPR0 varianter er funnet å være relativt vanlig forekommende hos oppdrettslaks. Det har også utviklet seg en massiv ILA epidemi i Chile, og det er vist at chilenske isolater fra 2007 og senere er nært beslektet med virusvarianter tidligere funnet i Norge. Epidemiologiske analyser fra Chile og fra ILA utbrudd i Nord-Amerika indikerer at epidemiene har spredd seg hovedsakelig horisontalt og at blant annet rask utslakting etter sykdomsutbrudd er en effektiv måte å begrense spredning på. Konklusjonen nå blir lik vurderingen som VKM ga i 2007. Vertikal overføring av ILA virus kan ikke utelukkes, men er av liten eller ikke målbar betydning for spredning av ILA i norsk oppdrett.

Infeksiøs pankreas nekrose (IPN) virus

Det foreligger indirekte indikasjoner for vertikal overføring av IPN virus i atlantisk laks, og det er vist direkte at dette forekommer hos flere andre arter laksefisk. Vurderingen er at vertikal overføring av IPN virus antas å kunne forekomme hos atlantisk laks. Dagens desinfeksjonsrutiner er ikke tilstrekkelige til å hindre dette. Det er ikke tilgjengelig informasjon som kan brukes til å estimere den relative betydningen av vertikal overføring i norsk oppdrett.

Nodavirus

Nodavirus påvises vanligvis i larver og yngel i marine fiskearter, og har en tilnærmet global utberedelse. Vertikal overføring vurderes å kunne forekomme. Det er ikke grunnlag for å utelukke vertikal overføring hos noen av dagens oppdrettsarter. Det bør undersøkes om kombinasjon av ulike desinfeksjonsmidler og – metoder kan inaktivere virus i egg fullstendig.

Salmonid Alphavirus (SAV)

SAV forårsaker pancreas disease (PD). PD forekommer endemisk på laks og regnbueørret i viktige oppdrettsområder i Norge. Sannsynligheten for at stamfisk kan smittes og være bærer av SAV i endemisk område i Norge vurderes å være høy. I Norge er kun subtypen SAV3 påvist. Det foreligger undersøkelser som kan indikere forekomst av SAV i rogn og melke fra infisert stamfisk. Tilsvarende undersøkelser foretatt ved andre laboratorier har ikke bekreftet dette resultatet. En tør imidlertid ikke utelukke at kjønnsprodukter fra stamfisk som er i viremisk fase, kan inneholde virus, enten dette forekommer naturlig i rognvæske og melke eller som en følge av kontaminering i strykeprosessen.

Det foreligger resultater som kan indikere overføring av SAV fra kjønnsprodukter til settefisk i ferskvannsfasen. Disse funnene er ikke blitt bekreftet av flere tilsvarende relativt omfattende undersøkelser utført av både norske og utenlandske grupper. Epidemiologiske undersøkelser av sykdomsutbrudd indikerer ikke vertikal overføring. I tillegg foreligger det heller ingen indikasjoner på at SAV har blitt overført ved rogneksport. Ut fra dette vurderes risikoen for vertikal overføring av SAV å være ubetydelig.

Flavobacterium psychrophilum

Infeksjonen har stor betydning for oppdrett av flere viktige arter laksefisk globalt sett, og med de tilfellene som er observert i Norge i de senere år, bør det være fokus på forekomst, smittespredning og kontroll av *Flavobacterium psychrophilum*. Vertikal overføring forekommer, og stamfisk er en mulig smittekilde for å få overført *F. psychrophilum* både vertikalt og horisontalt. Dagens desinfeksjonsrutiner er ikke fullt ut tilstrekkelige til å hindre dette.

Piscirickettsia salmonis

Piscirickettsia salmonis har blitt identifisert fra en rekke forskjellige laksefisker verden over. Vertikal overføring kan ikke utelukkes. Ytterligere kunnskap innenfor området, især med hensyn til atlantisk laks vil være relevant.

Francisella noatunensis

Francisellose har blitt rapportert siden 2004 i norsk oppdrett av torsk. Vertikal overføring kan ikke utelukkes. Ytterligere kunnskap innenfor området, især med hensyn til torskeoppdrett vil være relevant.

Hjerte- og skjelettmuskelbetennelse (HSMB)

Det foreligger ikke tilstrekkelig informasjon som kan danne grunnlag for vurdering av eventuell vertikal overføring av agens.

2. Hvilke sykdommer, ut i fra en smittefaglig risikovurdering anbefales tatt inn i et nasjonalt overvåkningsprogram?

En forutsetning for at Norge skal bevare og videreutvikle seg som oppdrettsnasjon, er at en har oversikt over de alvorligste fiskesykdommene, over endringer i forekomst av sykdom og fremtidige utfordringer for fiskens helse. En grundig *post mortem* stamfiskkontroll anses som et viktig virkemiddel for å hindre vertikal overføring av sykdommer. Et krav om ytterligere overvåkning av bærertilstand i stamfisk, det vil si når makroskopiske patoanatomiske forandringer ikke observeres, vil medføre testing av enkeltfisk med mikrobielle og molekylære metoder.

Skal sykdommer som kan overføres vertikalt være med i et nasjonalt overvåkningsprogram, og skjerpet biosikkerhet og desinfeksjon ikke er tilstrekkelig til å hindre overføring, bør metodene som benyttes for påvisning av agens være validert.

Meldepliktige sykdommer skal diagnostiseres ved offentlige godkjente laboratorier. I Norge er meldepliktige sykdommer rangert på Liste 1, 2 og 3. Liste 1 innholder sykdommer som Norge i dag er fri for.

Av de agens som er omtalt i denne vurderingen finner vi på liste 2: ILA, og på liste 3: sykdommer forårsaket at Nodavirus, SAV, HSMB og *Francisella noatunensis*. Derimot er sykdommer forårsaket av IPN virus, *F. psychrophilum, P. salmonis* som er tatt med i denne vurderingen, ikke listeførte. Skal en sykdom være med i et nasjonalt overvåkningsprogram bør den være listeført.

Infeksiøs lakseanemi (ILA) virus

Konklusjon som er gitt ovenfor: ”*Vertikal overføring av ILA virus kan ikke utelukkes, men er av liten eller ikke målbar betydning for spredning av ILA i norsk oppdrett.”* tilsier at ILA **ikke** anbefales tatt inn i et nasjonalt overvåkningsprogram.

Infeksiøs pankreas nekrose (IPN) virus

IPN er ikke meldepliktig og det er ingen nasjonal bekjempelsesplan for sykdommen. Videre så forekommer sykdommen i alle områder i Norge hvor det drives oppdrett. Det er derfor ikke grunnlag for å foreslå at denne sykdommen anbefales tatt inn i et nasjonalt overvåkningsprogram. Dersom en nasjonal bekjempelsesplan introduseres, bør eventuell nasjonal overvåkning vurderes på nytt.

Nodavirus

Utbredelse av infeksjonen er ikke klarlagt og følgelig er de økonomiske konsekvensene av vertikal overføring ikke fullt utredet. Nodavirus infeksjon er først og fremst dødsårsak hos yngel, og i mindre grad for matfisk. Skal Nodavirus anbefales tatt inn i et nasjonalt overvåkningsprogram må det eventuelt være som et ledd i et større program hvor det stilles krav til driftsformer for å hindre innsmitte av Nodavirus på andre måter, blant annet når det gjelder biosikkerhet ved hold av stamfisk og desinfeksjon av inntaksvann.

Salmonid Alphavirus (SAV)

Konklusjonen gitt ovenfor *".. vurderes risikoen for vertikal overføring av SAV å være ubetydelig.*" tilsier at SAV **ikke** anbefales tatt inn i et nasjonalt overvåkningsprogram.

Flavobacterium psychrophilum

Sykdom forårsaket av *F. psychrophilum* har økt i utbredelse i Norge i de senere årene, spesielt hos yngel av regnbueørret. I andre deler av verden med oppdrett av laksefisk er sykdommen er utbredt og regnes som et stort problem. Sykdommen har begrenset utbredelse i Norge i dag, og overvåkning kan bidra til at sykdommen ikke får tilstrekkelig fotfeste her i landet. Det vil være flere usikkerhetsmomenter ved en overvåkning av *F. psychrophilum* i stamfisk. Det foreligger ikke noen standardisert laboratoriemetode for å skille mellom patogene og ikke-patogene stammer.

Sykdom forårsaket av *F. psychrophilum* bør vurderes listeført. Sykdommen anbefales tatt inn i et nasjonalt overvåkningsprogram dersom metoder som benyttes for påvisning av sykdomsfremkallende agens blir validert.

Piscirickettsia salmonis

Det er i de senere år kun gjort noen få påvisninger av *P. salmonis* i Norge og den anses ikke å ha en økende utbredelse her i landet. De norske isolatene har gitt betydelig lavere dødelighet enn de som er beskrevet fra utlandet. En anser ikke *P. salmonis* til å være av tilstrekkelig betydning i norsk oppdrett til å anbefales tatt inn i et nasjonalt overvåkningsprogram.

Francisella noatunensis

Kunnskap om utbredelse og smitteveier er begrenset. Mulig smitte av anlegg fra villfauna er ukjent. Betydningen av vertikal overvåkning som overføringsvei, og mulighetene til å begrense dette ved endrede driftsformer, økt biosikkerhet og desinfeksjon må klarlegges før en kan konkludere om hvorvidt *F. noatunensis* bør anbefales tatt inn i et nasjonalt overvåkningsprogram.

Hjerte- og skjelettmuskelbetennelse (HSMB)

Det foreligger ikke tilstrekkelig informasjon til å vurdere denne sykdommen.

FORSKNINGSBEHOV:

Hjerte- og skjelettmuskelbetennelse (HSMB)

Det foreligger ikke tilstrekkelig informasjon som kan danne grunnlag for vurdering av eventuell vertikal overføring av agens. Ytterligere kunnskap innenfor området som for eksempel om stamfisk kan være bærer, forekomst og virusmengde i kjønnsprodukter vil være relevant.

Piscirickettsia/ Francisella

Vertikal overføring kan ikke utelukkes. Ytterligere kunnskap innenfor området, især med hensyn til atlantisk laks vil være relevant.

REFERANSER

http://www.fiskerifond.no/index.php?current_page=prosjekter&detail=1&id=814&gid=1.

2009a.
Ref Type: Internet Communication

http://www.fiskerifond.no/news_print.php?id=548.

2009b.
Ref Type: Internet Communication

http://www.vetinst.no/nor/Forskning/Publikasjoner/Fiskehelserapporten/Helsesituasjonen-hos-oppdrettsfisk-2005

2005

Ref Type : Internet Commmunication

http://www.vetinst.no/nor/Forskning/Publikasjoner/Fiskehelserapporten/Helsesituasjonen-hos-oppdrettsfisk-2008

2008

Ref Type : Internet Communication

LOV-2003-12-19 nr 124: Matloven. Lov om matproduksjon og mattrygghet mv.

FOR 2008-06-17 nr 822: Forskrift om drift av akvakulturanlegg (akvakulturdriftsforskriften)

FOR-2008-06-17 nr 819: Forskrift om smittsomme sykdommer, akvatiske dyr. Forskrift om omsetning av akvakulturdyr og produkter av akvakulturdyr, forebygging og bekjempelse av smittsomme sykdommer hos akvatiske dyr

Ahne W. 1983. Presence of infectious pancreatic necrosis virus in the seminal fluid of rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson. J. Fish. Dis. **6**(4): 377.

Ahne W. & Negele R.D. 1985. Studies on the transmission of infectious pancreatic necrosis virus via eyed eggs and sexual products of salmonid fish. In: Fish and Shellfish Pathology (A.E. Ellis ed.), Academic Press, pp261-269.

Anonymous. 2005. Epizootiological Investigation into a case of suspicion of infectious salmon anaemia (ISA) in Scotland in November 2004. Report by FRS Marine Laboratory, Aberdeen AB11 9DB. Ref Type: Report.

Arimoto M., Mushiake K., Mizuta Y., Nakai T., Muroga K. & Furusawa I. 1992. Detection of striped jack nervous necrosis virus (SJNNV) by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Fish Pathol. **27:** 191-195.

Arimoto M., Sato J., Maruyama K., Mimura G. & Furusawa I. 1996. Effect of chemical and physical treatments on the inactivation of striped jack nervous necrosis virus (SJNNV) Aquaculture **143:** 15-22.

Arkush K. D., McBride A. M., Mendonca H. L., Okihiro M.S., Andree K.B., Marshall S., Henriquez V. & Hedrick R.P. 2005. Genetic characterization and experimental pathogenesis of *Piscirickettsia salmonis* isolated from white seabass *Atractoscion nobilis*. Dis. Aquat. Org. **63**: 139-149.

Baliarda A., Faure D. & Urdaci M.C. **2002.** Development and application of a nested PCR to monitor brood stock salmonid ovarian fluid and spleen for detection of the fish pathogen *Flavobacterium psychrophilum.* J. Appl. Microbiol. **92**: 510-516.

Bergh Ø. & Jelmert A. 1996. Iodophore disinfection of eggs of Atlantic halibut. J. Aquat. Anim. Health **8:** 135-145.

Bootland L.M., Dobos P. & Stevenson R.M.W. 1991. The IPNV carrier state and demonstration of vertical transmission in experimentally infected brook trout. Dis. Aquat. Org. **10**: 13-21.

Bovo G., Hill B., Husby A., Håstein T., Michel C., Olesen N.J., Storset A. & Midtlyng P.J. 2005a. Fish Egg Trade work package 3 report: Pathogen survival outside the host, and susceptibility to disinfection. VESO, Oslo, Norway, ISBN 82-91743-37-1. 53 pp.

Bovo G., **Håstein T., Hill B., LaPatra S., Michel C., Olesen N.J., Shchelkunov I., Storset A., Wolffrom T. & Midtlyng P.J. 2005b.** Work package 1 report: Hazard identification for vertical transfer of fish disease agents. 82-91743-35-5. Ref. type: Report.

Bratland A. & Nylund A. 2009. Studies on the possibility of vertical transmission of Norwegian salmonid Alphavirus in production of Atlantic salmon in Norway. J. Aquat Anim Health. **21**(3):173-8.

Bravo, S. and M. Campos. **1989.** Coho salmon syndrome in Chile. Fish Health Section, Am. Fish. Soc. Newsletter, **17**(3): 3.

Breuil G., Pepin J.F., Boscher S. & Thiery R. 2002. Experimental vertical transmission of nodavirus from broodfish to eggs and larvae of the sea bass *Dicentrarchus labrax*. J. Fish. Dis. **25:** 697-702.

Brocklebank J.R., Evelyn T.P.T., Speare D.J. & Armstrong R.D. **1993.** Rickettsial Septicemia in Farmed Atlantic and Chinook Salmon in British-Columbia - Clinical Presentation and Experimental Transmission. Can. Vet. J.-Revue Veterinaire Canadienne **34**: 745-748.

Brown L.L., Cox W.T. & Levine R.P. **1997.** Evidence that the causal agent of bacterial coldwater disease *Flavobacterium psychrophilum* is transmitted within salmonid eggs. Dis. Aquat. Org. **29:** 213-218.

Brun E., Olsen A.B., & Rørvik L. 2006. Et epidemiologisk studium av pankreasjukdom hos oppdrettslaks i Norge (in Norwegian), *Norsk Fiskeoppdrett* **31:** 50–53.

Brun E., Nilsen H. & Olsen A.B. 2009. Faglig vurdering av behov for kontrolltiltak overfor *Flavobacterium psychrophilum* i norsk laksefiskproduksjon. Veterinærinstituttets rapportserie 13–2009. pp17.

Bullock G.L., Rucker R.R., Amend D.H., Wolf K. & Stuckey H.M. 1976. Infectious pancreatic necrosis: transmission with iodine-treated and non-treated eggs of brook trout (*Salvelinus fontinalis*). J. Fish Res. Bd. Can. **33**: 1197-1198.

Christiansen D.H. & Østergård P.S. 2007. Genetic charcterization of infectious salmon anaemia virus (ISAV) highly polymorphic region subtype 0 (HPR0) in Faroe Islands. Abstract from 13th EAFP-meeting, Grado, Italy,124. 2007. Ref Type: Abstract.

Cipriano R.C. **2005.** Intraovum infection caused by *Flavobacterium psychrophilum* among eggs from captive Atlantic salmon broodfish. J. Aquat. Anim. Health, **17:** 275-283.

Comps M., Raymond M.J. & Plassiart G.N. **1996.** *Rickettsia*-like organism infecting juvenile sea-bass *Dicentrarchus labrax*. Bull. Eur. Assoc. Fish Pathol. **16**: 30-33.

Corbeil S., Hyatt A. D. & Crane M. S. J. 2005. Characterisation of an emerging rickettsia-like organism in Tasmanian farmed Atlantic salmon *Salmo salar*. Dis. Aquat. Org. **64**: 37-44.

Cvitanich J.D., Garate O.N. & Smith C.E. 1991. The Isolation of a *Rickettsia*-like Organism Causing Disease and Mortality in Chilean Salmonids and Its Confirmation by Koch Postulate. J. Fish Dis. **14**: 121-145.

Dalla Valle L., Zanella L., Patarnello P., Paolucci L., Belvedere P. & Colombo L. 2000. Development of a sensitive diagnostic assay for fish nervous necrosis virus based on RT-PCR plus nested PCR. J. Fish. Dis. **23:** 321-327.

Davies A.J. 1986. A *Rickettsia*-like organism from Dragonets, *Callionymus lyra* L. (Teleostei: Callionymidae) in Wales. Bull. Eur. Assoc. Fish Pathol. **6**: 103-104.

Dorson M. & Torchy C. 1985. Experimental transmission of infectious pancreatic necrosis virus *via* the sexual products. In: *A.E. Ellis* (*ed*). *Fish and Shellfish Pathology*, Academic Press, London. 251-260.

Dorson M., Rault P., Haffray P. & Torchy C. 1997. Water-hardening rainbow trout eggs in the presence of an iodophor fails to prevent the experimental egg transmission of infectious pancreatic necrosis virus. Bull. Eur. Assoc. Fish Pathol. **17**(1): 13-16.

Ekman E., Börjeson H. & Johansson N. 1999. *Flavobacterium psychrophilum* in Baltic salmon *Salmo salar* brood fish and their offspring. Dis. Aquat. Org, **37:** 159-163.

Ekman E., Åkerman G., Balk L. & Norrgren L. **2003.** Nanoinjection as a tool to mimic vertical transmission of Flavobacterium *psychrophilum* in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. Dis. Aquat. Org. **55:** 93-99.

FHF/NFR. 2003. The Infectious pancreatic necrosis virus. In IPN in salmonids – a review. Editor. K. Maroni. VESO report. 2003.

Fijan N.N. & Giorgetti G. 1978. Infectious pancreatic necrosis: isolation of virus from eyed eggs of rainbow trout, *Salmo gairdneri Richardson*. J. Fish Dis. **1**(3): 269-270.

Fridel F., Tingbø M.G., Aspehaug V., Devold M. 2009. Can viral antigens in vaccines give false positive results in diagnostics performed by PCR? 14th EAFP International Conference.O-029. Prague, 2009.

Fringuelli E., Rowley H.M., Wilson J.C., Hunter R., Rodger H., Graham D.A. 2008. Phylogenetic analyses and molecular epidemiology of European salmonid alphaviruses (SAV) based on partial E2 and nsP3 gene nucleotide sequences. J. Fish. Dis. **31**(11):811-23.

Fryer J. L., Lannan C. N., Garces L.H, Larenas J. J. & Smith P.A. 1990. Isolation of a *Rickettsiales*-Like Organism from Diseased Coho Salmon (*Oncorhynchus kisutch*) in Chile. Fish Pathol. **25**: 107-114.

Fryer J. L., Lannan C. N., Giovannoni S. J. & Wood N.D. 1992. *Piscirickettsia salmonis* gen. nov., sp. nov., the causative agent of an epizootic disease in salmonid fishes. Int. J. Syst. Bacteriol. **42:** 120-126.

Fryer, J. L. & Mauel M.J. 1997. The *Rickettsia*: an emerging group of pathogens in fish. Emerg. Infect. Dis. **3**: 137-144.

Fryer J. L. & Hedrick R. P. 2003. *Piscirickettsia salmonis*: a Gram-negative intracellular bacterial pathogen of fish. J. Fish. Dis. **26**: 251-262.

Graham D.A., Staples C., Wilson C.J., Jewhurst H., Cherry K., Gordon A., Rowley H.M. 2007. Biophysical properties of salmonid alphaviruses: influence of temperature and pH on virus survival. J. Fish Dis. **30** (9): 533-43.

Gregory A., Raynard R. & Stagg R. 2003. Transmission and reservoirs. In. Review of IPN in Salmonids. pp 37-50, VESO/FHL Report. ISBN 82-91743-16-9.

Grotmol S. & Totland G.K. 2000. Surface disinfection of Atlantic halibut *Hippoglossus hippoglossus* eggs with ozonated sea-water inactivates nodavirus and increases survival of the larvae. Dis. Aquat. Org. **39:** 89-96.

Gustafson L. L., Ellis S. K. & Bartlett C. A. 2005. Using expert opinion to identify risk factors important to infectious salmon-anemia (ISA) outbreaks on salmon farms in Maine, USA and New Brunswick, Canada. Prev.Vet. Med. **70**: 17-28.

Hollis D.G., Weaver R. E., Steigerwalt A. G., Wenger J. D., Moss C. W. & Brenner D. J. 1989. *Francisella philomiragia* comb. nov. (formerly *Yersinia philomiragia*) and *Francisella tularensis* biogroup *novicida* (formerly *Francisella novicida*) associated with human disease. J. Clin. Microbiol. **27**: 1601-1608.

Hsieh C.Y., Tung M.C., Tu C., Chang C.D & Tsai S.S. 2006. Enzootics of visceral granulomas associated with *Francisella*-like organism infection in tilapia (*Oreochromis spp*.). Aquaculture, **254**: 129-138.

Jensen P.A., Henriksen N.H., Michelsen K., Madsen L. & Dalsgaard I. 2003. Forebyggelse af YDS (yngeldødelighedssyndrom) og begrænsning af medicinforbrug i æg- og yngelopdræt i danske dambrug. DFU-rapport no. 124-03: 129 pp. Danmarks Fiskeriundersøgelser. ISBN: 87-90968-47-6.

Khoo L., Dennis P.M. & Lewbart G.A. 1995. *Rickettsia*-like Organisms in the Blue-Eyed *Plecostomus panaque Suttoni* (Eigenmann and Eigenmann). J. Fish. Dis. **18**: 157-163.

Kibenge F.S., Gárate O.N., Johnson G., Arriagada R., Kibenge M.J., Wadowska D. 2001. Isolation and identification of infectious salmon anaemia virus (ISAV) from Coho salmon in Chile. Dis. Aquat. Org. **45**(1): 9-18.

Kibenge F. S. B., Godoy M. G., Wang Y. W., Kibenge M. J. T., Gherardelli V., Mansilla S., Lisperger A., Jarpa M., Larroquete G., Avendano F., Lara M., Gallardo A. 2009. Infectious salmon anaemia virus (ISAV) isolated from the ISA disease outbreaks in Chile diverged from ISAV isolates from Norway around 1996 and was disseminated around 2005, based on surface glycoprotein gene sequences. Virol. J. 6.

Kongtorp R.T., Kjerstad A., Taksdal T., Guttvik A., Falk K. 2004 Heart and skeletal muscle inflammation in Atlantic salmon, Salmo salar L.: a new infectious disease. J. Fish. Dis. **27:** 351-358.

Kongtorp R.T. & Taksdal T. 2009. Studies with experimental transmission of heart and skeletal muscle inflammation in Atlantic salmon, *Salmo salar* L. J. Fish Dis. **32**: 253-262.

Kristoffersen A.B., Viljugrein H., Kongtorp R.T., Brun E., Jansen P.A. 2009. Risk factors for pancreas disease (PD) outbreaks in farmed Atlantic salmon and rainbow trout in Norway during 2003-2007. Prev. Vet. Med. 2009 Jul 1; 90 (**1-2**): 127-36.

Kumagai, A., Takahashi, K., Yamaoka, S. & Wakabayashi, H. 1998. Ineffectiveness of iodophore treatment in disinfecting salmonid eggs carrying *Cytophaga psychrophila*. Fish Pathol **33**: 123-128.

Kumagai A., Nakayasu C. & Oseko N. 2004. No evidence for the presence of *Flavobacterium psychrophilum* within ayu eggs. Fish Pathol. **39**: 183-187.

Lannan, C. N. & J. L. Fryer. **1994.** Extracellular Survival of *Piscirickettsia salmonis*. J. Fish Dis.**17**: 545-548.

Larenas J. J., Bartholomew J., Troncoso O., Fernandez S., Ledezma H., Sandoval N., Vera P., Contreras J. & Smith P. 2003. Experimental vertical transmission of *Piscirickettsia salmonis* and in vitro study of attachment and mode of entrance into the fish ovum. Dis. Aquat. Org. **56**: 25-30.

Lloyd S.J., LaPatra S.E., Snekvik K.R., St-Hilaire S., Cain K.D. & Call D.R. 2008. Strawberry disease lesions in rainbow trout from southern Idaho are associated with DNA from a *Rickettsia*-like organism. Dis. Aquat. Org. **82**: 111-118.

Lyngstad, T. M., Jansen, P. A., Sindre, H., Jonassen, C. M., Hjortaas, M. J., Johnsen, S., Brun, E. 2008. Epidemiological investigation of infectious salmon anaemia (ISA) outbreaks in Norway 2003-2005. Prev. Vet. Med. **84**: 213-227.

Lyngstad, T. M., Hjortaas, M., Jansen, P. A., Kristoffersen, A., Karlsen E, Johansen E.J., Jonassen C.M. 2009. Tracing the spread of infectious salmon anemia virus (ISAV) in salmon farms in Norway. Abstract from 14th EAFP-meeting. Prague, Czech Republic, 2009, 28. Ref Type: Abstract.

Madetoja J., Dalsgaard I. & Wiklund T. 2002. Occurrence of *Flavobacterium psychrophilum* in fish farming environments. Dis. Aquat. Org. **52:** 109-118.

Madsen L., Møller J.D. & Dalsgaard I. **2005.** *Flavobacterium psychrophilum* in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), hatcheries: studies on broodstock, eggs, fry and environment. J. Fish Dis. **28**: 39-47.

Madsen L. & Dalsgaard I. 2008. Water recirculation and good management: potential methods to avoid disease outbreaks with *Flavobacterium psychrophilum.* J. Fish Dis. **31:** 799-810.

Mailman T. L. & Schmidt M.H. **2005.** *Francisella philomiragia* adenitis and pulmonary nodules in a child with chronic granulomatous disease. Can. J. Infect. Dis. Med. Microbiol. **16**: 245-248.

Mardones F.O., Perez A.M. & Carpenter T.E. 2009. Epidemiologic investigation of the re-emergence of infectious salmon anemia virus in Chile. Dis. Aquat. Org. 2009 Apr 6; **84**(2): 105-14.

Mauel M. J. & Miller D.L. **2002.** Piscirickettsiosis and piscirickettsiosis-like infections in fish: a review. Vet. Microbiol. **87**: 279-289.

McCarthy U., Steiropoulos N. A., Thompson K. D., Adams A., Ellis A. E. & Ferguson H. W. 2005. Confirmation of *Piscirickettsia salmonis* as a pathogen in European sea bass *Dicentrarchus labrax* and phylogenetic comparison with salmonid strains. Dis. Aquat. Org. **64**: 107-119.

Mikalsen J., Olsen A. B., Tengs T. & Colquhoun D. J. 2007. *Francisella philomiragia* subsp. *noatunensis* subsp. nov., isolated from farmed Atlantic cod (*Gadus morhua* L.). Int. J. Syst. Evol. Microbiol. **57**: 1960-1965.

Mikalsen J., Skjaervik O., Wiik-Nielsen J., Wasmuth M.A. & Colquhoun D.J. 2008. Agar culture of *Piscirickettsia salmonis*, a serious pathogen of farmed salmonid and marine fish. FEMS Microbiol. Lett. **278**: 43-47.

Mikalsen J. & Colquhoun D. J. *Francisella asiatica* sp. nov. isolated from farmed tilapia (*Oreochromis* sp.) and elevation of *Francisella philomiragia* subsp. *noatunensis* to species rank as *Francisella noatunensis* comb. nov., sp. Int. J. Syst. Evol. Microbiol. National Veterinary Institute. *In press.*

Mikalsen J., Olsen A. B., Rudra H., Moldal T., Lund H., Djonne B., Bergh O. & Colquhoun D. J. 2009. Virulence and pathogenicity of *Francisella philomiragia* subsp. *noatunensis* for Atlantic cod, *Gadus morhua* L., and laboratory mice. J. Fish Dis. **32**: 377-381.

Misaka N. & Suzuki K. 2007. Detection of *Flavobacterium psychrophilum* in Chum salmon *Oncorhynchus keta* and virulence of isolated strains to salmonid fishes. Fish Pathol. **42:** 201-209.

Mulcahy D. & Pascho R.J. 1984. Adsorption to fish sperm of vertically transmitted fish viruses. Science **225** (4659): 333-335.

Mushiake K., Nishizawa T., Nakai T., Furusawa I. & Muroga K. 1994. Control of VNN in striped jack: selection of spawners based on the detection of SJNNV gene by polymerase chain reaction (PCR). Fish Pathol. **29**: 177-182.

Nishizawa T., Muroga K. & Arimoto M. 1996. Failure of the polymerase chain reaction (PCR) method to detect striped jack nervous necrosis virus (SJNNV) in striped jack *Pseudocaranx dentex* selected as spawners. J. Aquat. Anim. Health, **8**: 332-334.

Nylund A., Ottem K.F., Watanabe K., Karlsbakk E. & Krossoy B. 2006. *Francisella* sp. (Family Francisellaceae) causing mortality in Norwegian cod (*Gadus morhua*) farming. Arch. Microbiol. **185**: 383-392.

Nylund A., Plarre H., Karlsen M., Fridell F., Ottem K. F., Bratland A. & Saether P. A. 2007. Transmission of infectious salmon anaemia virus (ISAV) in farmed populations of Atlantic salmon (*Salmo salar*). Arch. Virol. **152**: 151-179.

OIE Aquatic Animal Health Code, **2008.** Eleventh Edition, Office. International des Epizooties, Paris, France.

Olsen A. B., Melby H.P., Speilberg L., Evensen O & Hastein T. 1997. *Piscirickettsia salmonis* infection in Atlantic salmon *Salmo salar* in Norway - epidemiological, pathological and microbiological findings. Dis. Aquat. Org. **31**: 35-48.

Olsen A. B., Mikalsen J., Rode M., Alfjorden A., Hoel E., Straum-Lie K., Haldorsen R., & Colquhoun D. J. 2006. A novel systemic granulomatous inflammatory disease in farmed Atlantic cod, *Gadus morhua* L., associated with a bacterium belonging to the genus *Francisella.* J. Fish. Dis. **29**: 307-311.

Olsufèv, N. G. 2007. Tularaemia. 1-12. 15-5-1970. World Health Organization. Ref Type: Report.

Ottem K. F., Nylund A., Karlsbakk E., Friis-Moller A. & Krossoy B. 2007a. Characterization of *Francisella sp*., GM2212, the first *Francisella* isolate from marine fish, Atlantic cod (*Gadus morhua*). Arch. Microbiol. **187**: 343-350.

Ottem K.F., Nylund A., Karlsbakk E., Friis-Moller A., Krossoy B. & Knappskog D. 2007b. New species in the genus *Francisella* (Gammaproteobacteria; Francisellaceae); *Francisella piscicida* sp. nov. isolated from cod (*Gadus morhua*). Arch. Microbiol. **188**: 547-550.

Ottem K.F., Nylund A., Karlsbakk E., Friis-Moller A., Kamaishi, T. 2009. Elevation of *Francisella philomiragia* subsp *noatunensis* Mikalsen et al. (2007) to *Francisella noatunensis* comb. nov [syn. *Francisella piscicida* Ottem et al. (2008) syn. nov.] and characterization of *Francisella noatunensis* subsp. *orientalis* subsp nov., two important fish pathogens.

J. Appl. Microbiol. **106**: 1231-1243.

Rimstad E., Biering E., Brun E., Falk K., Kibenge F., Mjaaland S., Snow M. & Winton J. 2007. Which risk factors relating to spread of Infectious Salmon Anaemia (ISA) require development of management strategies? Oslo, Norway, Norwegian Scientific Committee for Food Safety. Report 06/804.

Rodger H. D. & Drinan E. M. 1993. Observation of a *Rickettsia*-like Organism in Atlantic Salmon, *Salmo-salar* L, in Ireland. J. Fish Dis. **16**: 361-369.

Rosseland B. O., Håstein T., Torgersen Y., Backer J. G. & Andersen S. 1991. Desinfeksjon av rogn med Buffodin^{R}. Virkning av Buffodinbehandling på øyerogn av ørret (*Salmo trutta* L.) og nybefruktet egg og øyerogn av laks (*Salmo salar* L.). NIVA Rapport Akvakultur E-88442, ISBN 82 – 577 - 1888 – 2. pp22.

Salvesen I., Øie G. & Vadstein O. 1997. Surface disinfection of Atlantic halibut and turbot eggs with glutaraldehyde: evaluation of concentrations and contact times. Aquacult. Int. **5:** 249-258.

Smail D. A & Munro A. L. S. 1989. Infectious pancreatic necrosis virus in Atlantic salmon: transmission via the sexual products? In: Viruses of Lower Vertebrates (Ahne, W. and Kurstak, E., eds.), Springer-Verlag: 292-301.

Stagg R. M., Bruno D. W., Cunningham C. O., Raynard R. S., Munro P. D., Murray A. G., Allan C. E. T., Smail D. A., McVicar A. H. & Hastings T. S. 2001. Epizootiological investigations into an outbreak of infectious salmon anaemia (ISA) in Scotland. Report No. 13/01, FRS Marine Laboratory, Aberdeen.

Taylor P. W. **2004.** Detection of *Flavobacterium psychrophilum* in eggs and sexual fluids of pacific salmonids by a polymerase chain reaction assay: Implications for vertical transmission of bacterial coldwater disease. J. Aquat. Anim. Health **16:** 104-108.

Vatsos I. N., Thompson K. D. & Adams A. 2006. Colonization of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), eggs by *Flavobacterium psychrophilum*, the causative agent of rainbow trout fry syndrome. J. Fish Dis. **29:** 441-444.

VESO Oslo, **2005**, prosjektnummer V-1601 med tittel: Work package 1 report: Hazard identification for vertical transfer of fish disease agents. Prosjektleder: Paul J. Midtlyng.

VESO Oslo**, 2009.** Marine Breed A/S. forebygging av vertikal smitte med *Francisella*-bakterier hos torsk. Evaluering av testingsmetoder og antibiotikabehandling av infisertt stamtorsk, og av etablerte desinfeksjonsmetoder. FHF-prosjekt nr: 900047. Sluttrapport V-1727, pp22.

Vike S., Nylund S. & Nylund A. 2009. ISA virus in Chile: evidence of vertical transmission. Arch. Virol. **154**(1): 1-8.

Wolf K, Quimby M.C & Bradford A.D. 1963. Egg-associated transmission of IPN virus of trouts. Virol. **21**(3): 317-321.

Wolf K., Quimby M. C, Carlson C. P & Bullock G. L. 1968. Infectious pancreatic necrosis: selection of virus-free stock from a population of carrier trout. J. Fish. Res. Bd. Can. **25**(2): 383-391.

APPENDIX
VEDLEGG 1:

LISTEFØRING AV SYKDOMMER

LISTE 1 - EKSOTISKE SYKDOMMER

	Sykdom	***Mottakelige arter***
Fisk	Epizootisk hematopoietisk nekrose	*Oncorhynchus mykiss* (Regnbueørret) og *Perca fluviatilis* (Abbor)
	Epizootisk ulcerativ syndrom	Slektene *Catla, Channa, Labeo, Mastacembelus, Mugil, Puntius* og *Trichogaster*
Bløtdyr	Infeksjon med *Bonamia exitiosa*	*Ostrea angasi* (Australsk mudderøsters) og *O. chilensis* (Chilensk flatøsters)
	Infeksjon med *Perkinsus marinus*	*Crassostrea gigas* (Stillehavsøsters) og *C. virginica* (Amerikansk østers)
	Infeksjon med *Microcytos mackini*	*Crassostrea gigas* (Stillehavsøsters), *C. virginica* (Amerikansk østers), *Ostrea conchaphila* (Olympia flatøsters) og *O. edulis* (Europeisk flatøsters)
Krepsdyr	Taurasyndrom	*Penaeus setiferus* (Gulf white shrimp), *P. stylirostris* (Pacific blue shrimp) og *P. vannamei* (Pacific white shrimp)
	Yellow head disease	*Penaeus aztecus* (Gulf brown shrimp), *P. duorarum* (Gulf pink shrimp), *P. japonicus* (Kuruma prawn), *P. monodon* (Black tiger shrimp), *P. setiferus* (Gulf white shrimp), *P. stylirostris* (Pacific blue shrimp) og *P. vannamei* (Pacific white shrimp)

LISTE 2 - IKKE-EKSOTISKE SYKDOMMER

	Sykdom	***Mottakelige arter***
Fisk	Spring viraemia hos karpe (SVC)	*Aristichthys nobilis* (Bighead carp), *Carassius auratus* (Gullfisk), *C. carassius* (Karuss), *Ctenopharyngodon idellus* (Gresskarpe), *Cyprinus carpio* (Vanlig karpe og Koikarpe), *Hypophthalmichthys molitrix* (Sølvkarpe), *Silurus glanis* (Østeuropeisk malle) og *Tinca tinca* (Suter)
	Viral hemorrhagisk septikemi (VHS)	*Clupea spp.* (Sild), *Coregonus sp.* (Lagesild og Sik), *Esox lucius* (Gjedde), *Gadus aeglefinus* (Kolje), *G. macrocephalus* (Stillehavstorsk), *G. morhua* (Atlantisk torsk), *Oncorhynchus spp.* (Stillehavslaks), *Salmo salar* (Atlantisk laks), *O. mykiss* (Regnbueørret), *Onos mustelus* (Femtrådet tangbrosme), *Salmo trutta* (Brunørret), *Scophthalmus maximus* (Piggvar), *Sprattus sprattus* (Brisling) og *Thymallus thymallus* (Harr)
	Infeksiøs hematopoietisk nekrose (IHN)	*Oncorhynchus keta* (Ketalaks), *O. kisutch* (Coho laks), *O. masou* (Japansk laks), *O. mykiss* (Regbueørret), *O. nerka* (Indian-laks), *O. rhodurus* (Pukkellaks), *O. tshawytscha* (Chinook) og *Salmo salar* (Atlantisk laks)
	Koi herpes virus sykdom (KHV)	*Cyprinus carpio* (Vanlig karpe og Koikarpe)
	Infeksiøs lakseanemi (ILA)	*Oncorhynchus mykiss* (Regnbueørret), *Salmo salar* (Atlantisk laks), *S. trutta* (Brunørret og Sjøørret)
Bløtdyr	Infeksjon med *Marteilia refringens*	*Ostrea angasi* (Australsk mudderøsters), *O. chilensis* (Chilensk flatøsters), *O. edulis* (Europeisk flatøsters), *O. puelchana* (Argentinsk østers), *Mytilus edulis* (Blåskjell) og *M. galloprovincialis* (Middelhavsblåskjell)
	Infeksjon med *Bonamia ostreae*	*Ostrea angasi* (Australsk mudderøsters), *O. chilensis* (Chilensk flatøsters), *O. conchaphila* (Olympia flatøsters), *O. denselammellosa* (Asiatisk østers), *O. edulis* (Europeisk flatøsters), og *O. puelchana* (Argentinsk østers)
Krepsdyr	Hvitflekksykdom	*Decapoda* (Tifotkreps)

LISTE 3 - NASJONALE SYKDOMMER

	Sykdom	***Mottakelige arter***
Fisk	Bakteriell nyresyke (BKD, *Renibacterium salmoninarum*)	Fastsettes i henhold til egne handlingsplaner/bekjempelsesplaner.
	Infeksjon med *Gyrodactylus salaris*	
	Viral nervøs nekrose (VNN)/Viral encephalo- og retino-pati (VER) Nodavirus	
	Furunkulose (*Aeromonas salmonicida* subsp. *salmonicida*)	
	Pankreassykdom (PD, *Norwegian salmon alpha virus*)	
	Hjerte- og skjelett-muskelbetennelse (HSMB)	
	Francisellose (*Francisella sp.*)	
	Infeksjon med *Lepeophtheirus salmonis* (Lakselus)	
Krepsdyr	Krepsepest (*Aphanomyces astaci*)	

DESINFEKSJON AV ROGN

Krav

Presisering av innholdet i den aktuelle forskriftsbestemmelsen i § 11, tredje ledd:

(Merknadene synes i stor grad å samsvare med teksten i OIEs tidligere anbefalinger).

§ 11. *Smittehygiene*

Nødvendig brakklegging og renhold av installasjoner og produksjonsenheter skal foretas regelmessig. Det skal sikres at personell, arbeidstøy, utstyr, gjenstander, brukt emballasje med videre, ikke sprer smitte. Brukte nøter, gjenstander, utstyr etc. skal rengjøres og desinfiseres med godkjent desinfeksjonsmiddel før de flyttes til et annet akvakulturanlegg.

Produksjonsenheter skal om nødvendig dekkes til for å sikre mot smitte.

Det skal gjennomføres systematiske tiltak som hindrer spredning av smitte med rogn og melke. Nybefruktet rogn av laksefisk skal desinfiseres før den legges inn til inkubering. Rogn av andre arter enn laksefisk skal også desinfiseres dersom det finnes egnet desinfeksjonsmetode.

Den sentrale teksten i *merknadene* til forskriften er beskrevet under. Merknadene er under revisjon, men det vurderes slik at merknadsteksten under kan brukes til presisering av innholdet i den aktuelle forskriftsbestemmelsen i § 11, tredje ledd. Merknadene synes i stor grad å samsvare med teksten i OIEs tidligere anbefalinger.

…Bestemmelsen i tredje ledd innebærer at det ved ethvert akvakulturanlegg hvor akvakulturdyr skal strykes, eller reproduseres på annen måte, må finnes rutiner som så langt det er mulig hindrer smittespredning med rogn og melke. Dette innebærer bl.a. desinfeksjon av befruktet rogn dersom egnet desinfeksjonsmetode for den aktuelle arten finnes, fysisk og smittehygienisk skille mellom ren og uren avdeling med smittesluser og rutiner som hindrer krysskontaminering. Det er ikke lenger krav om godkjenning av driftsopplegg ved uttak av kjønnsprodukter. Det må påregnes at rutinene omkring stryking og uttak av kjønnsprodukter blir gitt spesiell oppmerksomhet i forbindelse med tilsyn og systemrevisjoner.

Jodofor kan benyttes til desinfeksjon av rogn fra en rekke fiskearter, men er mest vanlig brukt på rogn fra fisk innen laksefamilien. For andre arter enn de som tilhører laksefamilien bør det gjennomføres tester på mindre rogngrupper mht sikkerhet i forhold til rognstadium og konsentrasjon på jodoforløsning.

Ved bruk av jodofor ved desinfeksjon av rogn fra fisk i laksefamilien må pH på løsningen være mellom pH 6 og pH 8. Anbefalt konsentrasjon på jodoforløsning er 100 mg/l, kontakttid 10 minutter. Det anbefales at rogna renses i «rent» ferskvann før og etter desinfeksjon,

alternativt at jodoforløsningen nøytraliseres med natriumthiosulfat etter adekvat kontakttid. Vann som benyttes til jodoforløsningen må være fri for organisk materiale.

En må være oppmerksom på at ulike jodoforprodukter som finnes tilgjengelig på markedet kan inneholde variable mengder med detergenter som kan ha toksisk effekt på rogn. Ved eventuelt skifte av produkt bør det gjennomføres tester på mindre bacher.

Det påpekes at desinfeksjon av rogn med jodofor er en overflatebehandling som vil ha redusert effekt mht vertikal overføring av agens som kan overføres inne i rognkornene.

Ved desinfeksjon av rogn fra marine arter, som rødspette, torsk og kveite, er det dokumentert bivirkninger ved bruk av jodofor. Ved desinfeksjon av rogn fra marin fisk kan glutaraldehyd med konsentrasjon på 400-600 mg/l og kontakttid på 5-10 minutter benyttes. Glutaraldehyd er imidlertid ikke effektiv mht nodavirus (VNN/VER). Her anbefales bruk av ozon med konsentrasjon på 0,1-0,2 mg O3 /liter og kontakttid på 30 sekunder. En må også her være oppmerksom på at ozon kan ha toksisk effekt på rogn. Det bør gjennomføres tester på mindre rogngrupper før bruk i større skala.

DESINFEKSJONSMIDLER SOM BRUKES I DAG

Jodoforer

Jodofor kan benyttes til desinfeksjon av rogn fra en rekke fiskearter, men er mest vanlig brukt som desinfeksjonsmiddel for nybefruktet rogn og øyerogn av laksefisk. Ved bruk av jodofor ved desinfeksjon av rogn fra fisk i laksefamilien må pH på løsningen være mellom pH 6 og pH 8. Anbefalt konsentrasjon på jodoforløsning er 100 mg/l, kontakttid 10 minutter. Det anbefales at rogna renses i ”rent” ferskvann før og etter desinfeksjon, alternativt at jodoforløsningen nøytraliseres med natriumthiosulfat etter adekvat kontakttid. Vann som benyttes til jodoforløsningen må være fri for organisk materiale.

Ulike jodoforprodukter som finnes tilgjengelig på markedet kan inneholde variable mengder med detergenter som kan ha toksisk effekt på rogn.

Desinfeksjon av rogn med jodofor er en overflatebehandling som vil ikke ha effekt mht dersom agens foreligger inne i rognkornene. Buffodin^{R} er den mest brukte jodofor som brukes til desinfeksjon av lakseegg og har en rask antimikrobiell effekt på bakterier, sopp og virus. Det er dokumentert at Buffodin^{TM} ikke medfører økt dødelighet på nybefruktede egg eller øyerogn forutsatt at anbefalt behandlingsregimet følges. Det ble videre vist at fiskepatogenene *Yersinia ruckeri*, *Aeromonas salmonicida* subspecies *salmonicida* og IPN virus ble inaktivert dersom eksponeringstiden var 30 minutter (Rosseland et al., 1991).

For andre arter enn de som tilhører laksefamilien bør det gjennomføres tester på mindre rogngrupper mht sikkerhet i forhold til rognstadium og konsentrasjon på jodoforløsning, før man eventuelt starter behandling. Det er imidlertid vist at Buffodin^{TM} 1 % i 10 minutter ikke har skadelig effekt på egg fra kveite (Bergh & Jelmert, 1996).

Glutaraldehyd

Ved desinfeksjon av rogn fra marine arter, som rødspette, torsk og kveite, er det dokumentert bivirkninger ved bruk av jodofor. Ved desinfeksjon av rogn fra marin fisk kan derfor glutaraldehyd med konsentrasjon på 400-600 mg/l og kontakttid på 5-10 minutter benyttes. Det er angitt at piggvar er med sensitiv for høyere doser av glutaraldehyd enn kveite, men ved bruk av 400-800 mg /l glutaraldehyd og kontakttid på 2,5 minutter, oppnår man godt resultat (Salvesen et al., 1997). Pilotforsøk har vist at mengden *Francicella* bakterier blir vesentlig redusert ved desinfeksjon med glutaraldehyd. (VESO sluttrapport V-1727, 2009).

Ozon

Da glutaraldehyd ikke har dokumentert effekt mht nodavirus (VNN/VER), er det anbefalt å bruke ozon med konsentrasjon på 0,1-0,2 mg O_3 /liter og kontakttid på 30 sekunder. Her må man imidlertid være oppmerksom på at ozon kan ha toksisk effekt på rogn. Forsøk har vist at desinfeksjon med 4 mgO_3/l^{-1} i 0,5 minutter ikke har skadelig effekt på utvikling av kveitelarver etter klekking, samtidig med at man oppnår god effekt med hensyn på desimering av VNN/VER virus (Grotmol & Totland, 2000). Tester med hensyn på desinfeksjon bør imidlertid gjennomføres på mindre rogngrupper før bruk i større skala.

PRAKTISKE DESINFEKSJONSPROSEDYRER PÅ ANLEGG

DESINFEKSJON AV LAKSEEGG - GRØNNEGGSTADIET

Desinfisering skal skje så snart som mulig etter skylling og før rogna inkuberes i rognsylindre for svelling. Løsning lages av fysiologisk saltvann (anbefalt11 promille) og 100 ml Buffodin^R i 10 l vann. Bruk gummihansker. Når alt skyllevannet er silt fra senkes hele rognbøtta/rognbeholderen ned i desinfiseringbadet i 10 minutter. (Overeksponering er skadelig). Det skal være fysisk sperre mellom før og etter desinfisering. Forskjellige personer skal arbeide på ren og uren side. Evt. persontrafikk skal foregå via streng slusehygiene (skifte av arbeidstøy, sko, vask av hender osv.). Etter desinfisering settes rogna til svelling i egen enhet eller direkte i inkuberingsenheten (klekkebakke/ klekkesylinder) (Salomonsen, pers. meddelelse 2009).

DESINFEKSJON AV LAKSEEGG - ØYEROGN

Ved desinfeksjon av øyerogn med Buffodin^R kan dette skje rett før innlegging i klekkebakker på eget anlegg, eller før pakking av øyerogn dersom en kunde ønsker det. Alternativt kan desinfeksjon også skje på mottakers klekkeri før rogna legges inn. Øyerogn som skal desinfiseres på stamfiskanlegget må ikke være over 420 døgngrader da desinfeksjonen kan fremskynde klekkingen. Desinfeksjon på stamfiskanlegget skal skje rett før pakking. Desinfeksjonen må skje i produksjonsvann som holder samme temperatur som rogna og det benyttes 100 ml Buffodin^R i 10 l vann i 10 minutter. Overeksponering er skadelig. Fjerning av Buffodin^R skjer ved at vannet skiftes ut 3 ganger etter desinfeksjon har funnet sted (Simonsen, pers. meddelelse 2009).

DESINFEKSJON AV EGG FRA MARINE ARTER

Torsk

Ved desinfeksjon av torske-egg, tar man inntil 4 liter torskeegg i en 10 - litersbøtte og fyller opp resten med vann (konsentrasjonen varierer altså med hvor mye egg du har). Tilsetter 16 ml glutaraldehyd (25 %) og lar dette stå i 8 minutter med svak bobling for omrøring. Til slutt helles bøtten (ikke noe skylling først) over i en ferdig fylt 250 liters inkubator som settes på gjennomstrømming (Grøtan, pers. meddelelse 2009).

Kveite

Når det gjelder desinfeksjon av kveiteegg foregår dette ved å bruke 8ml 25 % glutaraldehyd (400ppm) utblandet i 5 liter sjøvann. Virketiden er 1 minutt. Deretter skylles eggene i rent sjøvann (Erstad, pers. meddelelse 2009).