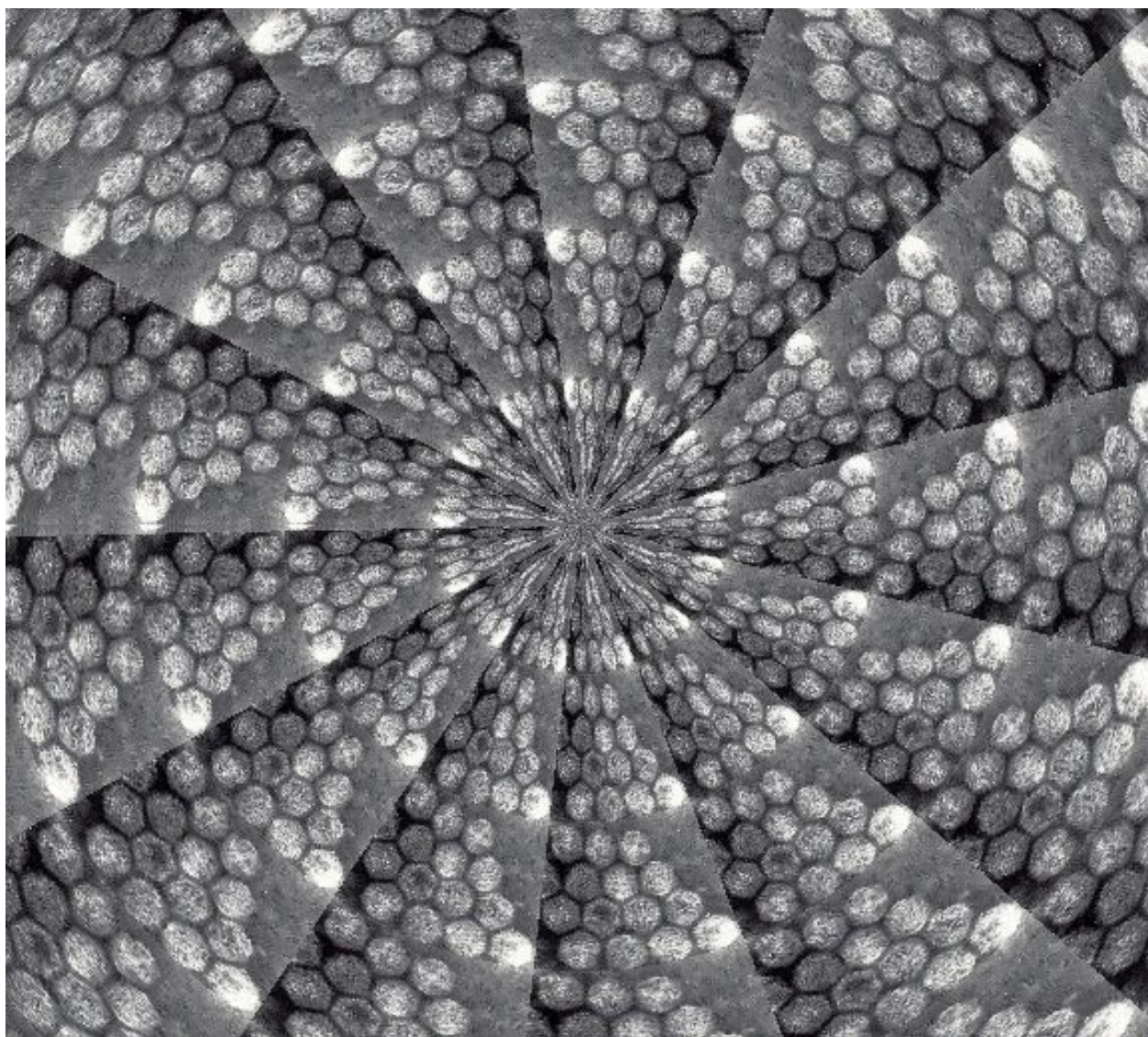


# **TILTAK MOT IPN I NORSK OPPDRETTSNÆRING**

## **GJENNOMGANG AV FORSKNING OG ERFARINGER DE SISTE 10 ÅR**

**Desember 2011**



**Rapporten er finansiert av:  
Fiskeri- og havbruksnæringens forskningsfond (FHF)**



## Forord

Det stilles stadig spørsmål om hvorfor IPN (infeksiøs pankreasnekrose) ikke lar seg kontrollere, til tross for innsatsen de siste årene. Med bakgrunn i diskusjoner om IPN-situasjonen med næringsaktører og FHF's faggruppe "Robust fisk og bærekraftig havbruk", ønsket FHF å bidra til at det ble foretatt en ny gjennomgang og evaluering av tiltak som er gjennomført mot IPN. Dette er forankret i FHF's Handlingsplan for 2011 hvor følgende aktivitet inngår: - Bidra til kunnskap om effekt og relativ betydning av ulike bekjempelsesstrategier mot sykdommer og parasitter.

Dette prosjektet (FHF-nr. 900637) tar utgangspunkt i et tidligere prosjekt finansiert av FHF og NFR (FHF-nr. 552172) utgitt i rapportene: "IPN in salmonids - a review" og "Erfaringer med IPN i norsk oppdrettsnæring" (okt. 2003), sammenfattet i "Fakta om IPN" (jan. 2005). Disse tre rapportene presenterte en gjennomgang av IPN-relevant forskning, identifiserte forskningsbehov og ga en rekke faglig funderte anbefalinger av tiltak mot IPN. Dette prosjektet er mindre omfattende, og resultatene er satt sammen og presenteres i denne rapporten. Formålet nå er å undersøke i hvilken grad de viktigste tiltak identifisert i forrige rapport, er blitt gjennomført av næringen, forvaltningsorganer og av forskningsmiljøene. Det er også foretatt en kartlegging av hvilke tiltak mot IPN som i dag vurderes som viktigst av næringen. En forenklet spørreundersøkelse er benyttet, i tillegg til en gjennomgang av nyere publisert faglitteratur og rapporter på relevante IPN-tema.

### Ansvarlig for prosjektet er Nofima AS:

Arbeidsgruppen har bestått av Ann-Inger Sommer (prosjektleder), Lill-Heidi Johansen og Ingvill Jensen.

### Utarbeidelse og gjennomføring av spørreundersøkelsen:

Kjetil Olsen, Senja Fiskehelse AS har deltatt sammen med arbeidsgruppen. Følgende næringsrelevant referansegruppe har vært konsultert, hovedsakelig ved utarbeidelse av spørreundersøkelsen: Nina Santi, Aqua Gen AS, Morten Lund, Åsen settefisk AS, Vidar Nikolaisen, Lerøy Aurora og Martin Binde, Mattilsynet.

### Øvrige bidragsyttere til fagkapitlene er:

Brit Hjeltnes, Eirik Biering og Tore Håstein, Veterinærinstituttet  
Paul J Midtlyng og Øystein Evensen, Norges Veterinærhøgskole  
Tale M Karlsson Drangsholt og Bjarne Gjerde, Nofima AS

**Prosjektansvarlig hos FHF:** Fagsjef Merete Bjørgan Schrøder



Forsideillustrasjon, IPN-virusspiralen (A.-I. Sommer)

## Innledning

At IPN-problemet ennå ikke er løst viser antallet på over 200 lokaliteter med diagnostiserte IPN-utbrudd de siste år. Til tross for omfattende vaksineringsarbeid er IPN fortsatt svært utbredt og kan gi store tap, både i ferskvanns- og sjøfasen. Det arbeides med flere strategier for å bekjempe sykdommen forårsaket av IPN-viruset (IPNV). Et område er tiltak for å redusere smitterisiko og spredning, samt kvalitetssikre og forbedre diagnostikken. I denne sammenheng utgjør for eksempel symptomfrie IPNV-bærere kanskje den største utfordringen, med mulig risiko for både vertikal smitte, horisontal smitte og utbrudd ved reaktivering av virusinfeksjonen. Forskningsmiljøer, industri og næringsaktører jobber med strategier som utvikling av effektive vaksiner, avlsarbeid for økt sykdomsresistens hos oppdrettslaksen og optimalisering av oppdrettsmiljø, velferd og forbedret fiskehelse.

Dette krever også kunnskap om de forskjellige IPNV-stammer som verserer, deres evne til å forårsake sykdom, og hvordan fiskens immunforsvar virker i møtet med dem. Det skjer en rivende utvikling av molekylærbiologiske teknikker for påvisning og kvantifisering av forskjellige virus på genom-nivå, og av stadig flere immungener uttrykt i fisk eller i cellekulturer fra fisk. Likevel er det fortsatt behov for tradisjonelle verktøy som smittemodell for IPN i laks og cellekulturer til virusproduksjon og studier av virusinfeksjoner.

Ny kunnskap som er fremkommet gjennom IPN-relatert forsknings og utviklingsarbeid i siste 10 års periode er beskrevet i kapittel 1-5, med en historisk gjennomgang av forvaltningsmessige IPN-relaterte tiltak i kapittel 6. For å kunne evaluere innsatsen mot IPN er det nødvendig å få en oversikt over hvilke av de viktigste anbefalte kontrolltiltakene fra de forrige rapporter i 2003/2005, som faktisk anvendes. Det er også viktig å få kartlagt hvilke tiltak som er gjort med "produksjonsslidelsen" IPN i tankene, eller som tiltak mot "infeksjonssykdommen" IPN.

Tiltak som er benyttet og erfaringer som er gjort relatert til drift og smittebegrensning ved produksjon av stamfisk, settefisk og matfisk, er forsøkt kartlagt ved hjelp av en spørreundersøkelse omtalt i kapittel 7. Resultatene er beskrevet i kapittel 8, med dagens status på relevant forskning hentet fra kapitlene 1-6 som innledning til de enkelte typer tiltak som er kartlagt.

Gjennomgang av ny kunnskap kombinert med resultatene fra spørreundersøkelsen har løftet fram fem områder som de viktigste i bekjempelsen av IPN: 1) Optimalisering av driftsforhold og fiskehelse. 2) Vaksineringsarbeid mot IPN. 3) IPN-resistent QTL-fisk. 4) Smittekilder og virussanering. 5) Restriksjoner og bekjempelsesplan for IPN.

Disse er oppsummert til slutt i kapittel 9. Vi håper at rapporten vil være et bidrag ved valg av de mest effektive tiltak mot IPN – valg som ligger hos næringen selv og den offentlige forvaltningen.

Ann-Inger Sommer

Lill-Heidi Johansen

Ingvill Jensen

Tromsø, desember 2011



# Innhold

<b>1</b>	<b>IPN-virusets sykdomsfremkallende evne (virulens).....</b>	<b>1</b>
1.1	Innledning.....	1
1.2	Virus klassifisering.....	1
1.3	Akutte infeksjoner.....	1
1.4	Virulensegenskaper hos IPN-virus.....	2
1.5	Biologiske mekanismer.....	3
1.6	Regnbueørret.....	3
<b>2</b>	<b>Påvisning av IPN-virusbærere, smitteoverføring og desinfeksjon .....</b>	<b>4</b>
2.1	Metoder for påvisning av IPN-virusbærere .....	4
2.2	Vertikal overføring av IPN-virus .....	5
2.3	Horisontal smitteoverføring av IPN-virus.....	10
2.4	Desinfeksjon.....	12
<b>3</b>	<b>IPN-virusangrep og forsvarsstrategier hos laksen .....</b>	<b>13</b>
3.1	Reaktivering av IPNV-infeksjoner hos virusbærere.....	13
3.2	Betydning av virulens for bærertilstanden.....	14
3.3	Vaksinering av IPN-virusbærere.....	15
3.4	Laksens eget forsvar mot IPN-viruset.....	16
3.5	Immunmekanismer ved en bærertilstand.....	17
3.6	Stressutløst reaktivering av en bærertilstand.....	17
3.7	IPN-virus påvirker laksens immunceller .....	18
<b>4</b>	<b>Målrettet avl for mer IPN-resistent oppdrettslaks .....</b>	<b>19</b>
	Tale M. K. Drangsholt og Bjarne Gjerde, Nofima .....	19
4.1	Innledning.....	19
4.2	Arvegrader .....	19
4.3	Genetiske korrelasjoner.....	19
4.4	Seleksjonsrespons - genetisk endring som et resultat av avlsarbeid .....	20
4.5	QTL.....	21
4.6	Feltdata .....	22
4.7	Implementering i avlsprogram .....	22
4.8	Sammendrag.....	24
<b>5</b>	<b>Kontroll av IPN ved vaksinering, bruk av helsefôr og endrede driftsrutiner.....</b>	<b>25</b>
5.1	Innledning.....	25
5.2	Forskning om vaksinebeskyttelse mot IPN .....	25
5.3	Medikamentell behandling og «helsefôr» mot IPN.....	27
5.4	Effekt av endring i driftsrutiner .....	28
5.5	Oppfølging av anbefalingene fra prosjektet «IPN-kunnskap» .....	28
<b>6</b>	<b>Har forvaltningsmessige tiltak hatt betydning for (manglende) kontroll av IPN? ...</b>	<b>30</b>
6.1	Forvaltningsregimet har variert mye gjennom 40 år.....	30
6.2	Villfanget stamfisk blir testet for IPN .....	33
6.3	Vi har gode verktøy for påvisning av virus og for å stille en diagnose .....	33
6.4	Hva skal vi gjøre framover?.....	33
<b>7</b>	<b>Kartlegging av tiltak mot IPN.....</b>	<b>36</b>
7.1	Bakgrunn.....	36

7.2	Informasjon om spørreskjemaet og besvarelser: .....	36
7.3	Dekningsgrad og geografisk fordeling av besvarelsene.....	37
<b>8</b>	<b>Resultater fra spørreundersøkelsen .....</b>	<b>38</b>
8.1	Stamfisk .....	38
8.2	Settefisk og yngel.....	39
8.3	Matfisk.....	42
8.4	Kommentarer fra besvarelsene.....	44
<b>9</b>	<b>Oppsummering .....</b>	<b>45</b>
9.1	Optimalisering av driftsforhold og fiskehelse.....	45
9.2	Vaksinering mot IPN.....	46
9.3	IPN-resistent QTL-fisk .....	46
9.4	Smittekilder og virussanering.....	47
9.5	Restriksjoner og bekjempelsesplaner for IPN .....	48
<b>10</b>	<b>Referanser.....</b>	<b>50</b>

# 1 IPN-virusets sykdomsfremkallende evne (virulens)

Øystein Evensen, Norges veterinærhøgskole.

## 1.1 Innledning

Infeksiøs pankreasnekrose (IPN) ble opprinnelig beskrevet som en meget smittsom sykdom hos yngel av laksefisk. Sykdommen forekommer typisk ved startfôring. Den kliniske manifestasjonen av sykdommen har endret seg over de siste to tiår og nå ses utbrudd hos 5-20g stor yngel/parr, men også hos postsmolt 4-8 uker etter sjøsetting. IPN sees i de landene hvor lakseproduksjonen er stor, som Skottland og Chile i tillegg til Norge. Dødeligheten i ferskvann varierer fra ubetydelig til opp mot 100 % i enkeltkar. I sjøvannsfasen ses også variabel dødelighet, fra noen få prosenter til opp mot 70 % i enkeltmerder. Gjennomsnittlig dødelighet i sjøvann er vanskelig å anslå, men ligger gjennomgående rundt 5-10 %. Variasjonen i dødelighet skyldes nok mange forhold, som miljømessige faktorer, fiskens alder, genetiske forhold osv. Forskjeller i virulens mellom virusstammer kan heller ikke utelukkes.

## 1.2 Virus klassifisering

Infeksiøs pankreasnekrose virus (IPNV) er typearten av genus *Aquabirnavirus* innen familien *Birnaviridae*. Sykdommen IPN hos laksefisk er karakterisert ved akutte forandringer (nekroser) i pankreas (bukspyttkjertelen). Akvatiske birnavirus kan isoleres fra et stort antall fiskearter og i tillegg hos invertebrater over hele verden, de forårsaker mange typer av sykelige forandringer og er vanskelige å klassifisere. De betegnes ikke som IPN-virus, men som akvatiske birnavirus.

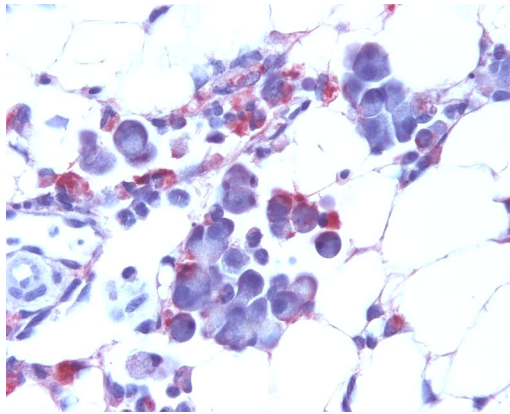
Ved serologisk klassifikasjon (nøytraliserende antistoffer) har man skilt aquabirnavirus i serogruppe A og B. Innen gruppe A finnes det 9 serotyper (A1-A9), mens det i gruppe B finnes kun 1 serotype (B1). Norske isolater av IPN-virus fra atlantisk laks betegnes serotype A2. På basis av sekvensering av virusets arvemateriale (genom) har man foretatt en klassifisering i ulike genogrupper, og så langt er de ulike aquabirnavirus skilt i 7 ulike genogrupper. IPN-virus isolater fra atlantisk laks i Norge sorterer inn under Genogruppe III. I tillegg til dette benyttes ofte betegnelse serotype Sp (Spjarup) om norske IPNV-isolater. Dette er en gammel betegnelse som henviser til den opprinnelige isolering av denne serotypen i Danmark (i Spjarup).

## 1.3 Akutte infeksjoner

IPN-virus forårsaker en akutt infeksjon hos yngel av laksefisk i forbindelse med startfôring. Syk fisk viser endret adferd, typisk med korketrekkerbevegelser og andre ukontrollerte svømmebevegelser, mørkpigmentering og gjerne dilatert buk (ascites). Det henger ofte tråder av fæces fra analåpningen. Forandringene i indre organer er blødning over pylorusblindsekkene og en lys lever. Ved histologisk undersøkelse finnes akutt vevsdød i pankreas og uttalte nekrotiske forandringer i lever. Ved immunhistokjemisk undersøkelse påvises det store mengder virus i eksokrin pankreas (Fig. 1) og i lever. Virus kan dyrkes fra nyret og også påvises ved real-time PCR metoder i indre organer.



Ved utbrudd av IPN senere i ferskvannsfasen ligner symptomer og kliniske funn det som er beskrevet ovenfor. Utbrudd av IPN i sjøvannsfasen (4-8 uker etter sjøsetting), kan manifestere seg som akutt dødelighet, og igjen med blødninger i pylorusområdet og til tider med en blodfylt eller skjoldet lever. Ved histologiske undersøkelser påvises akutte forandringer i pankreas og akutte levernekroser, men ikke så uttalt som ved IPN hos yngel. Virus kan påvises på samme måte som beskrevet ovenfor, og i lever påvises som regel typiske apoptotiske (døde) leverceller, ofte sammen med virus (1, 2).



*Figur 1 Ved immunhistokjemisk undersøkelse kan det påvises store mengder IPN-virus (rød farge på bildet) i sekretorisk vev i bukspyttkjertelen (eksokrin pankreas). (Foto: Ø. Evensen, NVH)*

#### **1.4 Virulensegenskaper hos IPN-virus**

Utbrudd av IPN i ferskvann og etter sjøsetting hos atlantisk laks er i Norge og Chile assosiert med serotype A2 (genotype III). I 2004 ble det foretatt en genotypisk karakterisering av norske isolater av IPN-virus som viste at virulente stammer hadde en bestemt kombinasjon av aminosyrer i definerte posisjoner i det største strukturelle proteinet til IPN-virus, VP2 (3, 4). Studiene ble videreført med bruk av en revers genetikk metode og viste at høy virulens var assosiert med aminosyren threonin (T) i posisjon 217 og alanin (A) i posisjon 221 (5). I tillegg finner man T eller A i posisjon 247, men denne posisjonen synes ikke å ha så stor betydning for virusets virulensegenskaper. De samme studiene viste at lavvirulente varianter av IPN-virus har P<sub>217</sub>A<sub>221</sub> kombinasjoner mens avirulente virusstammer har kombinasjonen PT i de samme posisjoner. På basis av dette kan man avdekke virusisolaters sykdomsframkallende evne ved en enkel analyse av den genetiske sekvensen i det genet som koder for VP2 proteinet. De samme variantene av IPN-virus er senere funnet i Chile (6). Det er også gjennomført studier som viser at VP5 proteinet spiller liten eller ingen rolle for virusstammens virulens, i kontrast til hva som er funnet for et nært beslektet birnavirus, infeksiøs bursa disease virus (7).

Under eksperimentelle studier vil TA isolater gi en dødelighet på opp mot 90 % i mottagelige lakseyngel. Tilsvarende dødelighet kan også oppnås i post-smolt etter eksperimentell smitte. PA isolater gir lavere dødelighet, typisk rundt 40 % i mottagelige fiskegrupper, mens PT varianter er avirulente og gir ikke en dødelighet som overstiger bakgrunnsdødeligheten hos yngel (5).

Tabell 1 Aminosyreposisjoner assosiert med virulens hos atlantisk laks

<b>VP2 – aminosyre posisjoner</b>	<b>217</b>	<b>221</b>
Høyvirulente stammer	T	A
Lavvirulente stammer	P	A
Avirulente stammer	P	T

Som det framgår av det som er nevnt ovenfor, er det små genetiske og fenotypiske forskjeller mellom høy- og avirulente stammer av IPN-virus, serotype A2. Bakgrunnen for at vi kan si dette med så stor sikkerhet er de metodene som ble anvendt (revers genetikk) for å karakterisere de biologiske forskjellene mellom isolater, hvor det er mulig å foreta enkeltmutasjoner/-endringer i virusets genom i laboratoriet og senere teste dette ut i smitteforsøk (5).

### 1.5 Biologiske mekanismer

De biologiske mekanismene som ligger til grunn for de forskjeller som vi observerer mellom ulike stammer av IPN-virus, er ikke kjent. Vi vet i dag at posisjon 217 og 221 er lokalisert på de ytterste deler av VP2 proteinet, såkalte projeksjoner (8). Det er rimelig å anta at disse områdene av overflateproteinene er involvert i reseptor-interaksjoner og dermed har betydning for opptak av viruset i mottagelige celler. Om dette også kan ha betydning for hvilke organer som infiseres eller hvor effektivt viruset infiserer ulike celler eller organer er ikke kjent.

### 1.6 Regnbueørret

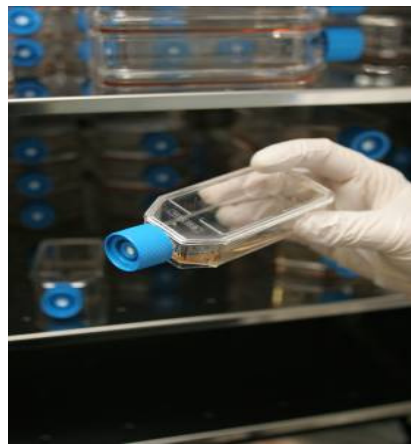
I studien fra 2004 av Santi og medarbeidere ble det isolert IPNV-stammer fra regnbueørret som hadde samme motiv som de høyvirulente stammene fra atlantisk laks. Senere studier har gitt indikasjoner for at stammer som hos laks betegnes som avirulente kan gi høy dødelighet hos regnbueørret i eksperimentell smitte. Det gjenstår likevel en del studier for å endelig bekrefte disse funnene, men indikasjonene er klare.

## 2 Påvisning av IPN-virusbærere, smitteoverføring og desinfeksjon

Lill-Heidi Johansen, Nofima

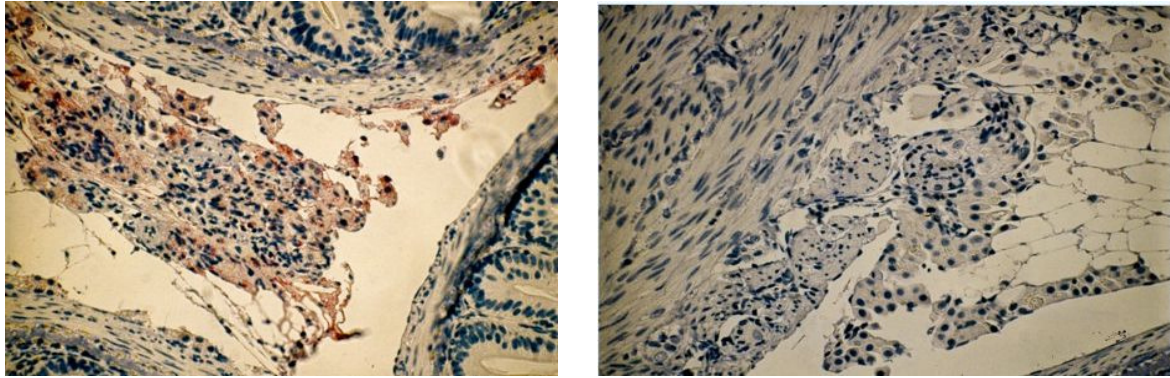
### 2.1 Metoder for påvisning av IPN-virusbærere

Til påvisning av IPN-virusbærere kan ulike typer vevshomogenater fra fisk (hel yngel, hodenyre eller rognvæske og melke) påsettes en cellekultur for påvisning av levende, infeksjøs viruspartikler. Virus er avhengig av levende celler for å formere seg. Cellekulturer består av celler fra ulike typer fiskevev som er etablert i laboratoriet og udødeliggjort. Dette medfører at de kan vokse i monolag og fordeles på stadig nye dyrkingskolber og -brett i det uendelige. Cellekulturene som benyttes til påvisning av IPN-virus er funnet å være spesielt mottagelig for nettopp dette viruset.



*Dyrkingskolber med cellekulturer som IPN-virus kan dyrkes og påvises i (Foto: F. Gregersen, Nofima)*

Antistoffer rettet spesifikt mot IPN-virusets proteiner kan benyttes til å verifisere funn i cellekultur, evt. for å påvise viruset ved andre metoder, som ELISA (enzyme linked immunosorbant assay). ELISA er en proteinmålemetode som utnytter et spesifikt antistoff knyttet til et enzym for å detektere en ukjent mengde antigen (virus) i en prøve. ELISA kan også benyttes til å påvise antistoffer mot IPN-virus som finnes i fiskens blodserum. Om fisken har dannet anti-IPNV antistoffer, er dette et bevis for at fisken har vært eller er infisert med viruset. I immunhistokjemiske teknikker brukes også antistoffer mot IPN-viruset til påvisning av viruset inne celler i snitt av fiskevev.



*Immunhistokjemi på vevssnitt av laksens blindsekker (pylorus) infisert med IPN-virus (røde områder). Normalt, uinfisert vev til høyre. (Foto: L.-H. Johansen, Nofima)*

Ved PCR (Polymerase Chain Reaction) baserte metoder påvises deler av arvestoffet til IPN-virus. PCR er en metode for å lage mange kopier av en bestemt [DNA](#)-sekvens. Kopieringen av DNA skjer eksponensielt. Mange virus, inkludert IPN-virus, har RNA som arvestoff og revers transkripsjon PCR (RT-PCR) må da benyttes. I RT-PCR blir en RNA-tråd først revers transkribert til komplementært DNA, eller såkalt cDNA, ved hjelp av enzymet revers transkriptase, og det resulterende cDNA mangfoldiggjøres så ved hjelp av tradisjonell PCR eller Real Time PCR. Real Time PCR muliggjør både deteksjon og kvantifisering av én eller flere bestemte sekvenser i en DNA-prøve. DNA blir detektert etter hvert som reaksjonen utvikler seg i sanntid i motsetning til standard PCR, der produktet av reaksjonen detekteres på slutten. Produktet må relateres til uttrykket av utvalgte gener (referansegener) som tilhører det generelle cellemaskineriet. Det er vist at stabiliteten til referansegener kan variere i ulike vev og i cellekultur på forskjellige stadier i IPNV-infeksjonen. Vevsspesifikke kombinasjoner av referansegener bør derfor brukes for å normalisere real-time data til bruk i kvantifisering av IPNV (9).

### **2.1.1 Forklaringer på begreper for mengdebestemmelse av virus**

PFU (plaque forming units eller plakkdannende enheter): Antall virus som har gitt opphav til et såkalt plakk ved dyrking i en cellekultur. Etter påsett av virussuspensjonen legges et lag med agarløsning over cellene. Slik vil virusinfeksjonene ikke kunne spre seg i cellelaget og hvert enkelt virus som har startet en infeksjon i en celle vil sees som et avgrenset lite område (plakk) i mikroskopet.

TCID<sub>50</sub> (tissue culture infective dose 50): Den mengde virus som skal til for å infisere 50 % av cellekulturene.

## **2.2 Vertikal overføring av IPN-virus**

### **2.2.1 Definisjon og kunnskapsstatus før 2003**

Vertikal overføring kan defineres som overføring av et smittestoff fra én generasjon til den neste. Agens kan enten være inni kjønnsproduktene (egg, spermatozo) eller alternativt på overflaten av kjønnsproduktene eller i væsken som omgir kjønnsproduktene. Status i 2003 var at selv om vertikal overføring ikke var endelig påvist hos atlantisk laks, var det tilstrekkelig bevis fra andre laksearter til å indikere at vertikal overføring er en strategi som brukes av IPN-virus og en rute som bør kontrolleres.

Tiltak for å redusere risiko foreslått i denne perioden var (10):

- bare bruke foreldre fra stamfiskpopulasjoner som er testet for IPN-virus og vist å være negative.
- teste individuelle stamfisk i positive populasjoner og bare bruke egg fra foreldrepar som tester negativt.
- desinfeksjon av eggene umiddelbart etter befruktning, og igjen før klekking.

Utskillelsesraten av IPN-virus fra laksefisk var ukjent per 2003 og en hadde ikke kunnskap om virustiter-relasjoner mellom nyre og gonader. Det fantes studier som tydet på at virus kunne komme inn i eggene via sperma, men assosiasjonen mellom IPN-virus og sperma var lite undersøkt. Det var videre indikasjon på titeravhengige effekter på vertikal overføring av IPN-virus i bekkerøye (11).

### **2.2.2 Studier i regnbueørret**

I regnbueørret har det vært vist at IPN-virus blir vertikalt overført til neste generasjon via egg, men mekanismen bak var ikke kjent. I 2010 ble to studier av IPN-virus i egg fra regnbueørret publisert (12, 13) og disse forklarer hvordan dette kan skje. Viruset ble ikke funnet å oppformerer aktivt i eggene og gav nesten ingen immunrespons (12). Tvert imot nedregulerte viruset en viktig del av immunresponsen (interferon) som fisk har mot virusinfeksjoner (13). Dermed kan viruset overleve i eggene, noe som muliggjør en vertikal overføring.

Tilstedeværelse av IPN-virus i stamfisk av regnbueørret er også undersøkt (14). Studiet viste at det var dårlig samsvar i testresultat mellom nyre og rognvæske. Det var også dårlig sammenheng mellom deteksjonsmetodene dyrking og Real Time RT-PCR. Virusdyrking fra nyre var mer sensitiv enn Real Time RT-PCR og ble dermed vist å være beste alternativ for påvisning av bærer virus. Betydningen av vertikal smittevei var uavklart. Bare én av prøvene fra melke var IPN-virus positiv. I rapporten diskuteres det om PCR-reaksjonen muligens kan hemmes ved bruk av nyrevev og hvorvidt påvisning i nyre kan korreleres med vertikal overføring. Det antydes her at påvisning i rognvæske synes å være mer relevant for vertikal smitte og at melke ikke er kilde for IPN-virus hos regnbueørret.

I en studie der en meget sensitiv og spesifikk Real Time RT-PCR assay ble utviklet for påvisning og kvantifisering av IPN-virus i regnbueørret, indikerer resultatene at brystfinnen kan brukes i en ikke-letal metode for påvisning og kvantifisering av IPN-virus (15). Det er ikke kjent om dette organet er forsøkt brukt ved IPNV-bærertesting på laksefisk i Norge.

### **2.2.3 Studier av smitteveier for IPN-virus og utvikling av metodikk for påvisning av IPN-virus bærere i Storbritannia**

Det er publisert flere arbeider de senere årene som beskriver IPN-virus stamfisktesting i Storbritannia og metodeutvikling for dette. Videre er det publisert arbeider på epidemiologiske studier av utbredelse og smitteveier for viruset i britiske farvann. Frem til 2005 ble det i Storbritannia forsøkt å kontrollere IPN-virus hos laks ved å pålegge restriksjoner på flytting av fisk i smittede anlegg og ved å teste stamfisk for IPN-virus for å forhindre vertikal overføring til avkom. I perioden 1996-2003 var det en sterk økning i IPNV-påvisninger marint (30-80 %) og en økning også i ferskvann (5-33 %), men med betydelige regionale variasjoner. I en epidemiologisk studie (16) ble det samme mønsteret vist å gå igjen i alle regioner. Om noe av smolten som ble levert til en sjølokalitet var smittet, så ble hele lokaliteten infisert. Når en populasjon først var smittet, var den antatt å forbli slik frem til slakt. Infeksjonene ble likevel funnet å være relativt kortvarige på hver lokalitet, sannsynligvis pga driftsformen med brakklegging etter en 18 mnd produksjonssyklus.

Arbeidet konkluderte med at bedre kontroll av overføring av IPN-virus i ferskvann synes å være den mest effektive måten å redusere infeksjon på, også i marine lokaliteter. En tilnærming til håndtering av IPN-virus på region-, heller enn lokalitetsnivå ble antydnet å kunne være mer effektivt, når det blir kombinert med driftstiltak for å begrense klinisk sykdom på infiserte lokaliteter.

I samme tidsperiode var det en reduksjon i IPNV-prevalens i stamfisk fra 1990-1995, mens det var en signifikant økning fra 1995-2002. Som et ledd i å minimere risikoen for vertikal overføring og holde IPNV-prevalensen lav i ferskvann, ble det i hele perioden individuelt screenet 68000 stamfisk av atlantisk laks ved gyting for IPN-virus ved cellekultur dyrking og ELISA (17). Epidemiologiske analyser fastslo at alder, kjønn og region der stamfisken ble strøket ikke hadde signifikant påvirkning på virusets prevalens i stamfiskpopulasjonen. Resultatet for region var avvikende i forhold til tidligere studier som konkluderte med at det var stor regional variasjon i IPNV-prevalens. Imidlertid var de tidligere studiene utført på populasjonsnivå og ikke individnivå, som i dette studiet. Det ble videre konkludert med at tiltakene med screening av stamfisk så ut til å ha effekt for å holde IPNV-prevalensen relativt lav i ferskvannsfasen.

Metoder for isolering og kvantitering av IPN-virus fra rognvæske og spermvæske er studert i atlantisk laks i et forsøk på å optimalisere ikke-letal prøvemethodikk (18). Det har tidligere vært vist i regnbueørret at eksperimentell vertikal overføring av IPN-virus foregår via virusinfisert melke og at så lite som 1 PFU per 3 spermatozoer er tilstrekkelig for at vertikal overføring skjer. Eksperimentelle forsøk med melke fra atlantisk laks tydet på at virus festet til spermatozo kan være en signifikant risikofaktor for vertikal overføring inn i eggene også i denne arten. Det er dermed relevant, i forhold til risiko for vertikal smitteoverføring, å teste melke fra stamfisk for IPN-virus. Videre var det tidligere vist i bekkerye at sonikerte, pelleterte celler fra ovarievæske inneholdt en betydelig mengde virus og den samme konklusjonen ble trukket i dette arbeidet, noe som peker mot en intracellulær lokalisering av viruset i leukocytter hos laksefisk. Både supernatanten og de pelleterte cellene bør imidlertid testes fordi ethvert virus som ubefruktede rogn kommer i kontakt med utgjør en risiko for vertikal overføring til egg. Virusutbyttet fra rognvæske og nyreprøver var generelt høyere enn fra spermvæske.

Studier utført av Munro og Ellis (19) viste at i umodne stamfisk kunne virus isoleres ved ikke-letal metodikk, mens ingen ikke-letale metoder gav IPNV-positive prøver ved gyting. Også for nyreprøver var antall positive fisk høyest før kjønnsmodning. Resultatene indikerte at dyrking av nyreprøver fortsatt er den mest sensitive metoden for å påvise IPNV-bærere i stamfisk ved gyting og at en endring i IPNV-bærerstatus skjer i løpet av kjønnsmodningen.

#### ***2.2.4. Optimalisering av PCR baserte teknikker for påvisning av IPN-virus***

PCR-baserte teknikker er de senere år forsøkt optimalisert og tilpasset for mer pålitelig påvisning av små mengder IPN-virus. Kombinasjoner av ulike metoder for bærer påvisning er sjeldnere studert, men en publikasjon fra 2010 viste at påvisningsraten av IPN-virus i blodprøver fra ulike arter av havabbor som var friske bærere økte fra 53 til 100 % ved bruk av to ulike teknikker i kombinasjon (20). Først ble arvestoffet til IPN-virus oppformert ved en spesiell RT-PCR metodikk som ble vist å ha høyere sensitivitet enn ordinær RT-PCR. Deretter ble det gjennomført en såkalt dot-blot hybridisering der det oppformerte arvestoffet fra IPN-virus til sist påvises ved bruk av antistoffer koblet til et stoff som ytterligere øker sensitiviteten i metoden. Fordi denne prosedyren kan brukes på ikke-letale prøver, ville det være interessant å teste dette på laksefisk også. Det er imidlertid ikke kjent hvordan



tidsbruken og kostnadene for denne prosedyren er sammenlignet med andre metoder som er i bruk i dag.

### **2.2.5 Studier av smitteveier for IPN-virus og test av metoder for påvisning av IPN-virusbærere i Norge.**

Frosne nyreprøver fra stamfisk av atlantisk laks ble sendt til tre diagnostiske laboratorier for testing ved RT-PCR og cellekultur. Av 100 undersøkte prøver var alle IPNV-negative ved testing i cellekultur. Tretti prøver var positive ved PCR-analyser, men bare fire av disse prøvene var positive i to laboratorier og ingen i alle tre laboratoriene. Resultatene gav derfor ingen rimelig veiledning om hvilke fisk som virkelig var smittet og hvilke partier av befruktede egg som dermed burde kastes. Dette ble opplevd som en klart uakseptabel situasjon og det er tydelig behov for standardiserte betingelser for prøveoppbevaring, RNA ekstraksjon og amplifiseringsteknikker (21). Dette er så vidt meg bekjent det eneste arbeidet som er publisert etter 2003 i peer review tidsskrifter på temaet IPNV testing av stamfisk i Norge.

I sluttrapporter og faktaark på hjemmesidene til FHF og NFR fremkommer imidlertid resultater fra en rekke studier i Norge etter 2002 som fokuserer på stamfisktesting og vertikal overføring. I en prestudie var RT-PCR analyse av nyreprøver fra stamfisk mer sensitiv enn dyrking i cellekultur (22). ELISA- og RT-PCR tester i to ulike laboratorier ble så gjennomført i en påfølgende studie. Ingen prøver var positive ved dyrking og man fant dårlig samsvar mellom de to laboratoriene ved bruk av RT-PCR som analysemetode. Dyrking ble utført i 96 brønners brett og på frosne prøver, to faktorer som innebærer at deteksjonsgrensen for å finne viruspositive prøver er relativt høy og som dermed er med og forklarer den lave andelen IPNV-positive prøver ved dyrking i disse studiene. ELISA analysene sammenholdt med RT-PCR resultatene viste at det er større sannsynlighet for å få en IPNV-positiv RT-PCR prøve hvis spesifikt antistoff er påvist. Konklusjonen fra studiene var at det var tvil omkring valg av både organ og metode og også tvil i forhold til om resultatene reflekterer det reelle bærernivået i populasjonen. Tester ble også gjennomført på yngel fra IPNV-positive og negative foreldre og alle prøver var IPNV-negativ ved RT-PCR og/eller dyrking. Utbrudd av IPN forekom likevel i 2 kommersielle anlegg med avkom av foreldre testet negative.



*Laks død av IPN (nederst) viser patologiske endringer i indre organer sammenliknet med frisk laks (øverst) (Foto: A.-I. Sommer, Nofima )*

Feltstudier der fiskegrupper er fulgt gjennom flere livsstadier er også gjennomført. Egg, melke, yngel, nyre og lever fra stamfisk, parr og smolt ble i perioden 2002-2004 testet for IPN-virus (23). Metodene for påvisning er ikke angitt, men det antas at RT-PCR er brukt. Isolatene som ble funnet i fiskegrupper i sjøvann var de samme som ble isolert i ferskvann i de samme gruppene. IPN-virus ble ikke detektert i stamfisk, melke eller rogn, noe som antyder at vertikal overføring ikke fant sted i dette studiet, men det ble likevel anbefalt å fortsette stamfisktestingen for å kontrollere IPN-virus. Konklusjonen fra undersøkelsen var at fisken blir infisert i settefiskfasen og fisken tar dette viruset med seg ut i sjøen. Allerede i dette studiet fra 2002-2004 ble det konstatert at klekkeri og settefiskanlegg kunne ha "husstammer" av IPN-virus. Et annet interessant funn var at utbrudd i ferskvann ikke nødvendigvis beskyttet fisken mot nytt utbrudd i sjø, noe mange har ment er tilfelle.

I NFR prosjektet "Detection, characterization and differentiation of infectious pancreatic necrosis virus (IPNV) strains in farmed Atlantic salmon (*Salmo salar* L.)" 2007-2010, ble det funnet nøyaktig samme IPN-virusstamme i mange settefiskanlegg på tvers av ulike regioner og oppdrettsselskap (24). Eneste fellesnevner så ut til å være stamfisk eller stamfiskanlegg. Samtidig fant man også i dette prosjektet husstammer i en del anlegg, men også disse anleggene fikk påfyll med nye stammer, slik at enkelte anlegg hadde flere IPNV-stammer. I ett tilfelle fikk ei fiskegruppe gjentatt utbrudd, og utbrudd nummer to skyldtes en annen stamme av viruset. Dette er nok et eksempel på at laksen ikke nødvendigvis alltid er beskyttet mot nye IPNV-utbrudd selv om de har vært igjennom en infeksjon med viruset tidligere. I dette prosjektet kunne også spesifikke IPNV-typer følges gjennom hele ferskvannsfasen og videre ut i sjø. Utbruddsvarianten i sjø kunne spores tilbake til smitte fra ferskvann, og i all hovedsak skjedde virusspredningen med flytting av smittet fisk. I sjøfasen ble smitte overført mellom merder i forbindelse med IPN-utbrudd, men det var ingen indikasjon på at det var andre kilder for IPN-virus i sjø enn fisken selv. Resultatene tilsier dermed at dersom det kun sjøsettes smittefrie fiskegrupper så vil IPN som problem i sjø nærmest være eliminert (24).

Eksperimentell etablering av en persistent IPNV-infeksjon hos stamfisk av atlantisk laks er undersøkt (smittemetode ikke angitt), og ingen forskjell i evne til etablering av infeksjon og persistens ble funnet hos høyvirulente og lavvirulente virus (25). Lave nivåer av virus ble funnet i både nyre, gonader, egg og rognvæske. I dette studiet hadde gonade høyere prevalens av virus enn nyre og virus ble oftere påvist i rognvæske enn i egg. Av befruktete egg som ble testet 10 uker etter befruktning var 5,3 % IPNV-positive, mens i plommeseckkyngel og klekkeklare egg var 7,9 % positive. Heller ikke basert på resultatene fra dette forsøket kunne det konkluderes endelig om vertikal overføring i atlantisk laks skjer eller ikke.

Det ble utført testing av nyreprøver fra en populasjon av stamfiskrekrutter 4-6 mnd før stryking som viste seg å stemme overens med de gruppene av laks som hadde høyest andel IPNV-positive stamfisk ved stryking (26). Slike for-tester brukes nå av avlsselskap for å planlegge kommende strykesesong. Verken helblod eller hvite blodceller viste godt nok samsvar med nyreprøver når det gjaldt å avsløre IPNV-bærere og konklusjonen var at en må fortsatt basere stamfiskkontrollene på nyreprøver. Færre positive prøver ble funnet i kjønnsprodukter (rognvæske, melke) enn i nyrevev, men sammenhengen mellom nyrepositive fisk og vertikal smitterisiko er uklar. Her ble det vist at det var liten forskjell i resultatene fra dyrking i cellekultur og fra Real Time RT-PCR når prøvene var behandlet optimalt.



### 2.2.6. Oppsummering.

Gjennom flere studier er det sannsynliggjort at vertikal overføring har en rolle i spredning av IPN-virus hos atlantisk laks, selv om ingen studier er konklusive på dette. Samlet viser forskningen gjort de senere år at det er mulig å bruke stamfisktesting som ett av flere tiltak for å redusere forekomsten av IPN-virus. Sammenhengen mellom IPNV-påvisning i hodenyre og risiko for vertikal overføring er uklar, men dette synes likevel å være det mest pålitelige organet for påvisning av viruset. Dyrking gir muligens mer pålitelige svar enn PCR basert metodikk, men vi ser imidlertid at det er lab til lab variasjoner på prøvesvar ved analyser av identiske prøver og også variasjoner fra studie til studie i forhold til hvilke metoder og hvilke prøvetyper som gir flest IPNV-positive svar. Også samsvaret mellom metodene varierer. Ikke-letale prøvemethoder synes foreløpig ikke å være sensitive og pålitelige nok til å erstatte letal prøvetaking i forhold til stamfisktesting. Studier viser også at virusnivået varierer i fisken og er høyere før enn etter kjønnsmodning. Det er uklart hvorfor det er slik, men i en IPNV-bærertilstand er virusmengden kjent å kunne variere fra relativt store mengder og til de ikke-detekterbare. Gjennom flere ulike feltstudier både i Norge og Skottland er det vist at IPN-virus følger med fisken fra ferskvann til sjøvann og det synes derfor klart at viruset må bekjempes i ferskvannsfasen om en skal få redusert utbruddene også etter sjøsetting.

Oppsummert kan en si at tidspunkt for prøvetaking, type prøvemateriale, prøvehåndtering før og under analyser, opparbeiding av prøvene samt selve analysemetoden og dens sensitivitetsnivå er avgjørende for hvilket testresultat en får og om en får et pålitelig testresultat. Det er derfor et klart behov for standardisering av metoder og prosedyrer for hele prosessen forbundet med stamfisktesting.



Foto: A.-I.Sommer, Nofima

## 2.3 Horisontal smitteoverføring av IPN-virus

Horisontal overføring av IPN-virus innebærer virusoverføring i og mellom ferskvanns- og marine miljøer via ulike reservoarer og vektorer. I forbindelse med overføring, kan en vektor defineres som en mellomliggende levende eller livløs agent som overfører et patogen til en mottakelig vert. Et reservoar kan bære et patogen og forblir uskadd, samtidig som den fungerer som en potensiell kilde til infeksjon. For å få en grundig forståelse av horisontal overføring av IPN-virus er det viktig å kjenne reservoarer og vektorer og belyse dynamikken i infeksjon i vannmiljøet.

### **2.3.1. Reservoarer**

Oppdrettsfisken selv er viktigste reservoar for IPN-virus og overføring av viruset skyldes hovedsaklig flytting av smittet oppdrettslaks og geografisk nærhet til andre smittede anlegg. Både ved et IPN-utbrudd og ved IPNV-bæretilstand skiller virus ut via faeces og urin og fra døde og døende fisk i området rundt anlegget. En høy andel av oppdrettslaks som gjennomgår en IPNV-infeksjon utvikler en livslang persistent infeksjon. Det er dog sannsynlig at viruset kan spres fra den primære verten (for eksempel laks eller ørret) til ulike reservoarer og -vektorer og *vice versa*. Potensielle reservoarer av IPN-virus inkluderer oppdrettsfisk, villfisk, sedimenter under og rundt oppdrettsanlegg, ektoparasitter, skalldyr, plankton, krepsdyr, fugler og pattedyr.

Alle studier på IPN-virus i villfisk gjennomført i Skottland, Nord-Amerika og Norge tyder på at villfisk har en begrenset eller ubetydelig rolle i spredningen av IPN-virus til oppdrettsfisk. Klinisk utbrudd av IPN i oppdrettslaks kan føre til en lokal liten økning i forekomsten av IPN-virus i vill marin fisk, noe som illustrerer at disse kan være reservoarer for viruset. Rollen til disse reservoarene i forhold til re-infeksjon av oppdrettslaks er imidlertid ikke kjent, men det konkluderes likevel med at villfisk reservoarene ikke er en viktig faktor i smitte av oppdrettsfisk, selv om de teoretisk sett kunne utgjøre en risiko for en evt. reintroduksjon av viruset i oppdrettsfisk hvis forekomsten av IPN i lakseoppdrett skulle reduseres til svært lave nivåer (27).

Overlevelsen av virus i vann er svært viktig, siden de må beholde sin infektivitet lenge nok til å nå og infisere en mottakelig vert. Overlevelse av IPN-virus i ubehandlet friskt elvevann og sjøvann er svært god og overlevelse av viruset utenfor verten er lengre ved lavere temperaturer. Overlevelse i naturen vil imidlertid avhenge av lokale forhold, og mange faktorer kan ha betydning i denne sammenheng. Av spesiell interesse i oppdrettssammenheng er partikulært organisk materiale. Isolering av IPN-virus fra sedimenter hentet i vanninntak og / eller vann utløp fra oppdrettsanlegg er rapportert. Selv om viruset er påvist i mange ulike organismer, er det usikkerhet knyttet til hvilken betydning disse har for smitteoverføring til fisk. Frigjøring av IPN-virus fra reservoarer bør imidlertid undersøkes, da man kjenner lite til betydningen av horisontal overføring via ulike typer vektorer.

### **2.3.2. Utskillelsesrater og infektiv dose**

Kunnskap om utskillelsesrater og minste dose som behøves for å gi infeksjon er fremkommet etter 2003. I en studie der egg og larver av regnbueørret ble utsatt for IPN-virus kontinuerlig i ulike doser, viser resultatene at i det naturlige vannmiljøet vil dødelighet pga IPNV-infeksjon mest sannsynlig ikke skje ved tilførsel av mindre eller lik 1000 PFU IPN-virus per liter vann. I oppdrett med mye høyere tetthet enn i naturen, vil kontinuerlig tilførsel av virus høyere enn bare 10 PFU per liter vann kunne resultere i IPN-utbrudd (28). Smittedose og utskillelsesrater er viktige parametere å beregne for å forstå overføring av IPN-virus. I atlantisk laks post-smolt ble den minste dosen som kreves for å gi infeksjon anslått å være mindre enn 0,1 50 % tissue culture infectious dose (TCID<sub>50</sub>) per ml ved badsmitte (29). Maksimal utskillelsesrate ble estimert å være 6800 TCID<sub>50</sub> per time per kg og skjedde 11 dager etter smitte.

### **2.3.3. Vektorer og smittespredning**

Utstyr som kommer i kontakt med fisk, som nøter, håver, maskinelt utstyr, stamper og containere beholdere, utgjøre en risiko for overføring av sykdom hvis de blir overført mellom kar, avdelinger, merder eller mellom oppdrettsanlegg. Transport av fisk og utstyr i forbindelse med denne aktiviteten, slik som biler, brønnbåter og andre fartøy, kan også utgjøre en betydelig risiko. Andre aktiviteter, som slaktning og foredling av fisk, kan føre til spredning av

sykdommen hvis metoder for reduksjon av smitterisiko ikke tas i bruk. Utstyr som brukes til å fjerne eller transportere død fisk utgjør en høy risiko for å overføre IPN-virus til frisk fisk. Godt dyrehold og driftspraksis, å bruke metoder for sykdomsforebygging og kontroll som er kjent for å være effektive mot andre sykdommer, er sannsynligvis effektive i forebygging og kontroll av IPNV-infeksjoner også.

#### **2.3.4. Risikofaktorer**

IPNV er vanskelig å bli kvitt når det først er introdusert i et klekkeri. Kjøp av yngel, utbrudd i foregående år, og en spesiell fôring av kar har blitt assosiert med økt risiko for IPN-utbrudd i yngel. Blanding av populasjoner fra flere settefiskanlegg, transportmetode og størrelse av smolt ved sjøoverføring er forbundet med økt risiko for IPN-utbrudd i sjøvann. Intensivt oppdrett i ferskvann (superoksygenering, lavt vannforbruk og høy tetthet) er vist å øke risikoen for IPN-utbrudd i sjøvann. Det er foreslått at superoksygenering i seg selv og den spesifikke vannkjemien i blandingssoner mellom forskjellige vannkvaliteter generelt kan gjøre yngel og smolt mer sårbare for smittestoffer som IPN-virus.

## **2.4 Desinfeksjon**

Ulike metoder for inaktivering av IPN-virus har vært vel etablert i mange år og flere publikasjoner som dokumenterer disse metodene ble oppsummert i IPN-rapporten fra 2003 (11). Foruten et fåtall publikasjoner på ulike desinfeksjonsmidlers effekt på IPNV (30) er det siden dette fremkommet ny kunnskap om UV- og ozon-inaktivering av IPN-virus i sjøvann (31). Resultatene støtter resultatene publisert av andre om at viruset er blant de mest UV-resistente virus som finnes. Den generelle oppfatning har vært at IPN-virus er følsom for ozon, men dette studiet viser at en betydelig høyere ozonkonsentrasjon enn tidligere rapportert, synes å være nødvendig for å oppnå en tilfredsstillende inaktivering av IPN-virus i sjøvann. Artikkelforfatterene mener at uoverensstemmelsene i resultater i publiserte studier klart viser behovet for utvikling av en standard prosedyre for å gjennomføre inaktiveringseksperimenter og å utvikle bedre analytiske teknikker for å bestemme de enkelte oksidanter i sjøvann.

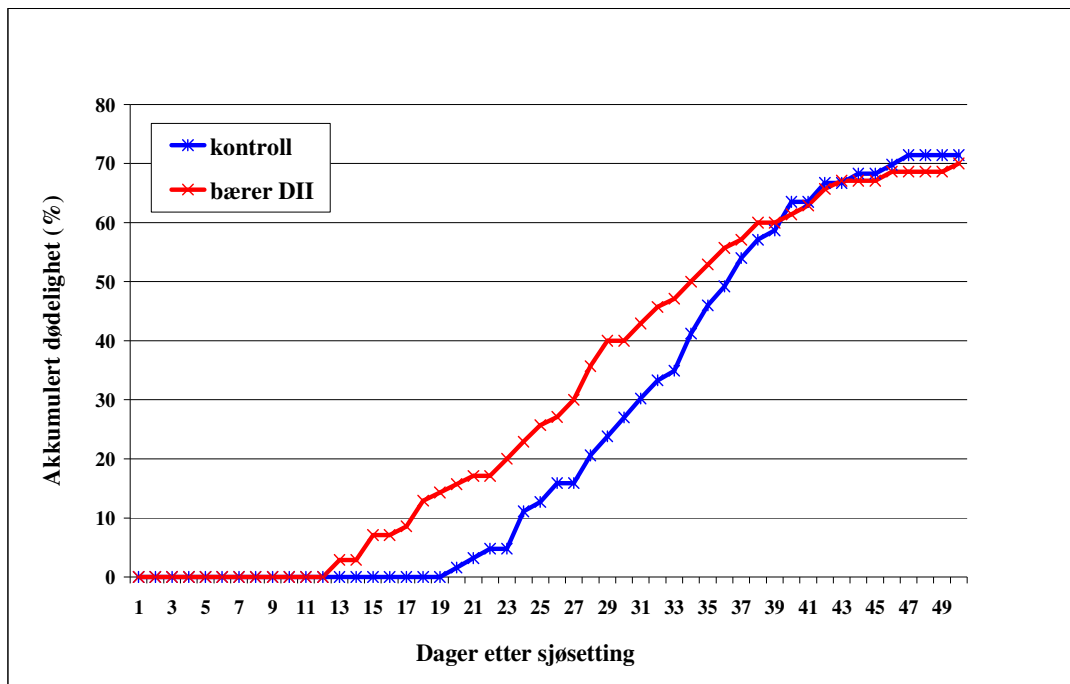
Det er uttrykt et behov for standardiserte komparative data på effekten av desinfeksjonsmidler i oppdrettsnæringen for å kunne veilede oppdrettere og fiskehelsepersonell i bruken av disse, samt være til hjelp for myndighetene i forhold til godkjenning av produkter (32). Det finnes allerede tilgjengelig en kvantitativ standard for suspensjonstester (BS EN 14675:2006) fra Europeisk komité for normalisering (CEN) til bruk i evaluering av antiviral aktivitet i desinfeksjonsmidler og antiseptiske midler til veterinær bruk. Denne ble modifisert ved bruk av desinfeksjonsmidler og testforhold som er representativ for forholdene i havbruk og fungerte godt for tre av fire produkter som ble testet for antiviral aktivitet. For det fjerde produktet måtte det en ytterligere modifikasjon til for at metoden skulle fungere tilfredsstillende.

### 3 IPN-virusangrep og forsvarsstrategier hos laksen

Ingvill Jensen og Ann-Inger Sommer, Nofima

#### 3.1 Reaktivering av IPNV-infeksjoner hos virusbærere

En virusinfeksjon er som kjent ikke synonymt med virus sykdom, og fravær av sykdom betyr ikke at viruset også er fjernet. Utfallet avhenger av egenskaper både hos viruset og vertsdiret, og man kan egentlig se det som en kamp mellom 2 arvematerialer (genomer). Virus kan infisere celler uten å skade de vesentlig, eller de kan produseres i og ødelegge noen få celler uten å skade organer eller gi sykdomstegn. Det kan også forårsakes så store skader at fisken blir akutt syk, med dødelig utgang for noen. Både hos fisk som ikke blir syk eller overlever et utbrudd, kan resultatet bli en langvarig bærertilstand - en vedvarende (persisterende) virusinfeksjon – ofte uten sykdomstegn. Å kunne bæres i hodenyreceller (makrofager) hos tilsynelatende frisk laks, er kanskje IPN-virusets største fortrinn. Det har antagelig bidratt til den store utbredelsen av IPNV-infiserte populasjoner av oppdrettslaks i Norge. Slike symptomfrie IPNV-bærere er svært utbredt hos laks – og de kan utgjøre en risiko både for vertikal smitte og horisontal smitte (se kap. 2), og nytt utbrudd ved reaktivering av den ”sovende” virusinfeksjonen. Hvor alvorlig denne trusselen er, vil avhenge av flere faktorer. Det er bred enighet i dag om at IPN-viruset følger med fisken fra ferskvannsfasen, men det er relativt lite publisert fra studier på selve reaktivering av IPN hos bærere av viruset.

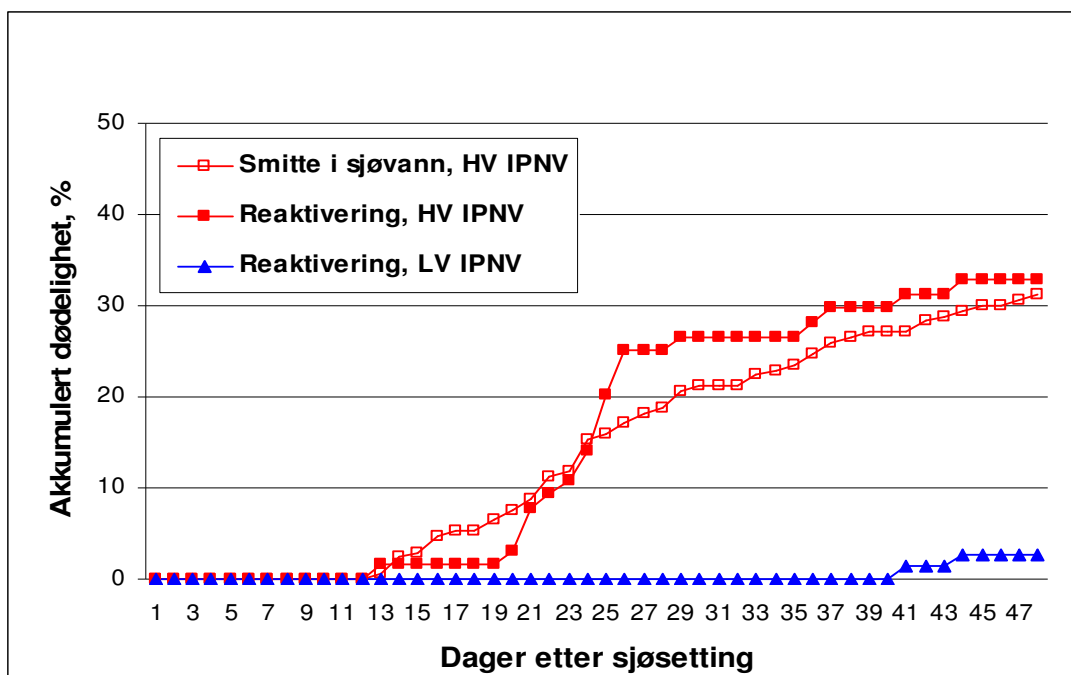


Figur 1 Reaktivering av IPN hos laks som bærer på en høyvirulent IPNV-stamme (DII), og horisontal smitte av virusfri kontrollgruppe etter sjøsetting (Sommer og medarbeidere, upublisert).

Virusmengden under en bærertilstand kan variere over tid. Det er rapportert at selv når virus ikke kunne påvises hos eksperimentelle IPNV-bærere i ferskvannsfasen (<80 infeksjose partikler/g vev), skjedde en reaktivering av infeksjonen til IPN-utbrudd etter overføring til sjøvann (33). Det kan pågå utskillelse av virus fra bærere etter overføring til sjøvann før det observeres noen dødelighet. Faren for reaktivering og horisontal smitte demonstreres eksperimentelt i figur 1. Virusfri fisk (kontroll) som overføres samtidig og går sammen med fisk som er bærere av en høyvirulent IPNV-stamme i sjøvann, kommer svært raskt til utbrudd, her en uke etter bærergruppen. Dette illustrerer også faren ved å blande ulike smoltgrupper selv når gruppene er tilsynelatende friske, som Jarp og medarbeidere tidlig advarte mot etter epidemiologiske studier (34).

### 3.2 Betydning av virulens for bærertilstanden

Det er mange isolat av IPN-virus som tilhører den samme serologiske gruppe, har samme størrelser av RNA og strukturelle proteiner, men viser forskjeller i virulens (se kap.1). Gjennom Fiskeriforsknings arbeid med å utvikle en smittemodell for IPN hos smoltifisert laks etter overføring til sjøvann (post-smolt), ble det allerede på slutten av 90-tallet observert signifikante forskjeller i dødelighet etter smitte med norske IPNV-stammer. Alle stammene tilhørte serotype Sp, men var isolert fra forskjellige utbrudd (35). Smitteforsøk og ny kunnskap om virulens knyttet til spesielle aminosyrer på virusprotein VP2 hos IPN-virusstammene, er også brukt til å belyse betydning av virulens for etablering av en bærertilstand, og for en eventuell reaktivering av IPN (3, 36).



Figur 2 IPN etter sjøsetting og badsmitte av smolt, eller reaktivering av IPN hos smolt som er bærere av høyvirulent (HV) eller lavvirulent (LV) IPN-virus. Badsmitte med LV ga ingen dødelighet (36).

Vi har studert betydningen virulensen hos IPN-viruset kan ha for etablering og reaktivering av infeksjonen. Under identiske forhold ble det etablert en eksperimentell bærertilstand i parr ved badsmitte med både høyvirulent (HV) og lavvirulent (LV) IPN-virus før smoltifisering. Det resulterte i reaktivering av HV stamme etter smoltifisering og overføring til sjøvann, hvor akkumulert dødelighet tilsvarte den som ble observert etter badsmitte i sjøvann med samme HV virus. Dette skjedde selv om virus ikke lenger kunne påvises i ferskvannsfasen ved tradisjonell testing i cellekultur. Reaktivering av LV IPN-virus resulterte i knapt registrerbar dødelighet. Resultatene i figur 2 viser at både høy og lavvirulent stamme kan etablere en bærertilstand og reaktiveres, men sykdomsutviklingen og dødeligheten er mye mer dramatisk med et høyvirulent bærervirus. I forsøket ble det brukt uvaksinerte fiskegrupper og demonstrerer at uten en vaksine som beskytter effektivt mot reaktivering av IPN-virusinfeksjonen, vil særlig bærere av høyvirulente virus utgjøre en stor risiko for oppdrettslaks.

### 3.3 Vaksinerings av IPN-virusbærere

Eksperimentelle tester av vaksineeffekt utføres vanligvis på fisk som ikke er virusbærere. I anleggene kan derimot en stor del av oppdrettslaksen allerede være smittet og bærere av IPN-virus før vaksinerings. Dermed har lakseproduksjonen og vaksineprodusenter manglet svar på følgende: Hvordan påvirker vaksinerings mot IPN bærertilstanden? Kan vaksinerings fjerne bærerviruset og dermed risikoen for oppblomstring av virusinfeksjonen etter overføring til sjøvann?

I et nylig avsluttet Forskningsrådsprosjekt i samarbeid med vaksineprodusenten Intervet, ble det for første gang dokumentert at vaksinerings av laks som allerede er bærere av IPN-virus, også kan beskytte mot de IPN-utbrudd som skyldes reaktivering av virusinfeksjonen etter overføring til sjøvann (Tabell 1). Resultatene indikerte også at å bære på IPN-virus faktisk kan øke laksens beskyttelse mot IPN etter vaksinerings, men effekten ser ut til å avhenge av hvilken type virus som dominerer i bærertilstanden. Den høyvirulente typen syntes å bidra til økt beskyttelse, mens det å bære på et lav-virulent IPN-virus ikke ga samme påvisbare tilleggseffekt til beskyttelsen (37).

Tabell 1 Akkumulert dødelighet (%) i vaksinerte og uvaksinerte grupper av høy- (HV) og lavvirulente (LV) bærere ved utbrudd etter sjøsetting (reaktivering), og ved ny badsmitte av ikke-bærer grupper med HV virus i sjø(37).

	Reaktivering av LV-bærere	Reaktivering av HV-bærere	Ikke-bærere smittet med HV i sjø
Uvaksinert	16%	54%	37%
Vaksinert mot IPN	4%	11%	13%

Målinger av virusmengde i overlevende fisk viste at immunforsvaret ikke fjernet viruset helt i løpet av 15 uker etter vaksinerings. Hvor stor virusutskillelsen er i denne situasjonen er ukjent, men at de friske bærerne vil kunne representere en skjult smittefare for andre mer mottakelige fiskegrupper kan ikke utelukkes. Selv om vaksinerte bærere av virulente IPN-virus selv kan være godt beskyttet kan de utgjøre en smittefare for andre, og dette viser igjen betydningen av å unngå blanding av forskjellige grupper av laks. Selv om alle er vaksinert, kan de av forskjellige årsaker ha opparbeidet seg ulik beskyttelse. Det synliggjør også at arbeidet bør intensiveres for å minske utbredelsen av IPN-virusbærere blant oppdrettslaks i ferskvannsfasen.

### **3.4 Laksens eget forsvar mot IPN-viruset**

Det medfødte immunforsvaret er første forsvarslinje mot infeksjoner. Det aktiveres umiddelbart etter infeksjon og de fleste virusinfeksjoner vil nøytraliseres og stoppes av dette forsvaret. De virus som gir sykdom har evne til å bryte igjennom dette forsvaret, enten ved at de har spesifikke mekanismer som sørger for det, eller at det medfødte forsvaret er svekket. Fra pattedyr vet vi at det viktigste forsvaret mot virus er interferon-systemet. Alle celler som blir infisert kan gjenkjenne virus, og når dette skjer starter cellene å produsere alarmproteiner, interferoner (IFN). IFN sirkulerer i blodet og stimulerer (skruer på) produksjon av antiviralproteiner i cellene. Disse anti-virus proteinene kan stoppe videre oppformering av viruset og hindrer dermed videre virus-spredning. Svekkelse av interferon-systemet kan gi økt mottakelighet for virus-infeksjoner.

Både for fisk og pattedyr har kunnskapen om det medfødte immunforsvaret økt betydelig de ti siste årene. En del av proteinene og genene i fiskens interferon system er nå identifisert, og dette viser at laks har et komplekst interferon-system som har lignende funksjoner som i pattedyr (38).

Når det gjelder IPNV-infeksjoner så er sentrale problemstillinger om utbrudd av IPN kan relateres til nedregulering/svekking av det medfødte forsvaret. Hvordan påvirkes fiskens immunforsvar av fysiologiske prosesser som smoltifisering eller av forhold i miljøet? Og er det mulig å bruke immunstimulanter for å forhindre IPN-utbrudd i sårbare perioder? Hvilken rolle spiller immunforsvaret i etablering, opprettholdelse og reaktivering av en IPNV-bærertilstand? For mange av disse spørsmålene er svaret ennå ikke kjent. Kjennskap til hvordan det medfødte immunforsvaret og IPN-viruset påvirker hverandre er også viktig for vaksineutvikling. Det medfødte immunforsvaret gir signaler til det adaptive immunforsvaret som igjen sørger for hukommelse og beskyttelse etter vaksinerings. Dette kan man utnytte ved vaksinerings og sørge for at vaksiner designes slik at de riktige signalene sendes mellom det medfødte og adaptive immunforsvaret. Dette kan igjen gi en optimalisert vaksine effekt.

Det er kjent at interferon fra laks kan hemme IPNV (39, 40). Dette har blitt vist i cellestudier (in vitro). Når interferon tilsettes til celler før infeksjon/smitte med viruset er cellene beskyttet og Mx protein, som er ett av anti-virus proteinene, bidrar til denne beskyttelsen (41). Produksjonen av IPN-virusets proteiner forsinkes i celler behandlet med interferon (42). Hvis derimot interferon tilsettes til cellene etter at IPNV-infeksjonen er i gang har viruset evne til å bremse opp anti-virus mekanismene og gjennomføre produksjon av nye virus (42). Dette illustrerer nettopp noe av kappløpet mellom virus og vert. Jo lengre tid IPN-viruset får på seg før forsvaret blir aktivert jo større er sjansen for at det skal klare å fullføre infeksjonen. Arbeid pågår for å identifisere hvilke av IPN-virusets proteiner som kan motvirke laksens medfødte immunforsvar, og hvordan dette foregår. I framtida kan denne kunnskapen kanskje brukes til vaksineutvikling. Ved å endre den eller de proteinene som motvirker immunforsvaret kan man produsere et svekket virus som kan være en mulig vaksine kandidat.

I laks er det også vist at injeksjon av immunstimulanter som skruer på interferon-systemet før smitte, gir noe beskyttelse mot IPN (43). Til tross for dette ser det ikke ut til at uttrykk av interferon/Mx i laks korrelerer med resistens mot IPNV infeksjon (44). Nivået av interferon og Mx ser heller ut til å reflektere virusnivået, dvs at høyt virusnivå gir høyest uttrykk av interferon/Mx (45-47). Disse resultatene sett under ett indikerer at det vil være vanskelig å kurere en IPN-virus infeksjon som allerede er etablert og pågående i fisken med tilførsel av immunstimulanter. Mens, behandles fisken med immunstimulanter før smitte kan dette trolig gi en viss beskyttende effekt.

### **3.5 Immunmekanismer ved en bærertilstand**

Cellestudier har blitt brukt som en modell for å forstå hvordan IPN-viruset og det medfødte immunforsvaret opptrer i en situasjon som ligner på en bærertilstand. I motsetning til en vanlig IPNV infeksjon, produserer disse cellene lave mengder virus uten at man kan se synlige celledskader (cytopatogen effekt). Nyere studier viser at det medfødte immunforsvaret er aktivert i celler som har en slik IPNV "bærertilstand". Dette har blitt vist ved å se på uttrykk av interferon og Mx. Små mengder IPNV kan eksistere i disse cellene over lang tid samtidig med at forsvaret er aktivert (48, 49). Detaljene i dette samspillet mellom vertscelle og bærertilstand er ikke klarlagt, men resultatene kan tyde på at interferon systemet, også i en bærertilstand, er med på å redusere oppformering av virus og dermed beskytter cellene mot en infeksjon som ellers ville gitt celledskade.

I laks som har overlevd smitte med IPNV, men som fortsatt har viruset er noe av det samme vist. Det medfødte immunforsvaret er aktivert, men i tillegg ble det påvist at mange ulike funksjoner som kan relateres til å bryte ned proteiner og begrense oppformering av virus var skrudd på (50). Dette viser at også andre mekanismer som vi ikke direkte relaterer til immunforsvaret kan være viktige for å bli beskyttet mot dødelig IPNV infeksjon. I en annen studie av laks som var naturlige bærere av IPNV var ikke det medfødte immunforsvaret aktivert (44). Dette kan kanskje relateres til at virusmengden var lavere her. Det var heller ikke mulig å kurere/fjerne bærertilstanden ved å injisere en immunstimulant som aktiverer interferon systemet.

### **3.6 Stressutløst reaktivering av en bærertilstand**

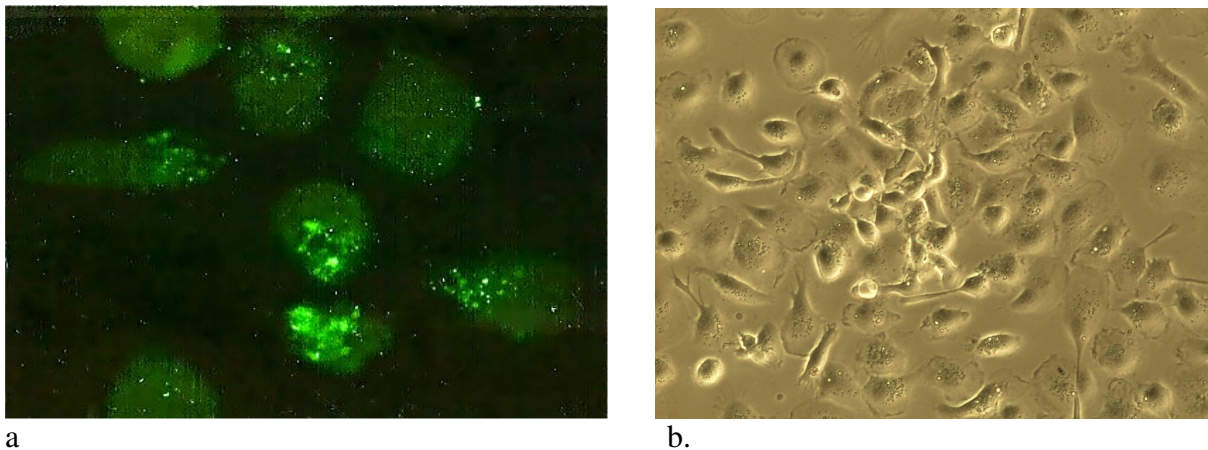
Stressutløst reaktivering av IPN hos naturlige IPNV-bærere har vært kjent hos laksefisk siden 1976 (51), og det har vært beskrevet nye utbrudd etter eksperimentell stressing av fisk som tidligere har blitt naturlige smittet og bærere av virus (52, 93). Også ved eksperimentelt etablert bærertilstand i ferskvann, med et virusnivå under påvisningsgrensen og uten kjente påførte stressfaktorer, er det rapportert om reaktivering etter overføring til sjøvann (33). Det ble benyttet en moderat virulent IPNV-stamme som ga 24 % akkumulert dødelighet i uvaksinert fisk. Oppformering av IPNV aktiveres i bærere under smoltifisering noe som kan forårsake nye utbrudd etter overføring til sjø (33). Laksen går gjennom ganske omfattende fysiologiske endringer ved smoltifisering og opplever varierende stress forbundet med overføring til sjøvann. Andre studier har også vist at den naturlige utfordringen alene kan resultere i reaktivering av IPN med dødelighet som avhenger av bærervirusets virulensegenskaper (36, 37).

Det er kjent at smoltifisering påvirker laksens immunforsvar. Reduksjon i totalt serum immunoglobulin (IgM), lysozym aktivitet i plasma og antall immunceller (leukocytter) i blod har blitt rapportert (53-56). Uttrykk av Mx protein har også blitt undersøkt i laks i perioden



rundt smoltifisering. Seks uker etter overføring til sjø ser mengden Mx protein ut til å være redusert, noe som sammenfaller med når de fleste IPN-utbrudd bruker å være (57). Disse dataene tyder på at laks kan være mer sårbar for IPN under parr-smolt transformasjonen. Dødelighet etter smitte med IPNV er avhenging av fiskens utviklingstrinn (33, 44, 58), og eksperimentell smitte med IPNV gir dødelighet hos post-smolt (35, 58-60) og yngel (3). Disse to livsstadiene er mye mer mottakelige for IPNV infeksjon sammenlignet med parr og pre-smolt.

### 3.7 IPN-virus påvirker laksens immunceller



*Figur 3 a) Laksemakrofager fra hodenyre fiksert 3 døgn etter infeksjon med IPN-virus. IPNV er her påvist med immunofluoriserende antistoff mot viruset. b) Kultur av uinfiserte makrofager (Foto: A-I. Sommer, Nofima )*

IPN-viruset kan infisere makrofager, som er viktige forsvarsceller, og eksistere der over lang tid. Det er også vist at viruset kan formere seg inne i disse cellene når de isoleres i kulturer, uten å ødelegge cellene (61). Virus interagerer med immunceller på ulike måter og kan også påvirke de negativt slik at immunforsvaret hemmes og infeksjonen dermed ikke bekjempes. I noen tilfeller kan funksjonaliteten til makrofagene reduseres ved tilstedeværelse av IPNV (62, 63), men resultatene fra slike studier vil variere med virusstamme og fiskens egenskaper. I nyere studier fant man at IPNV-infeksjon i laks førte til redusert antall nøytrofile granulocytter i fornyre og blod, flere uker etter smitte med viruset (64). Nivået av B-celler ble ikke påvirket av infeksjonen. Nøytrofile celler er fagocytiske celler som først kommer til infeksjonsstedet. Dette kan kanskje medvirke til at IPNV infisert fisk er mer mottakelig for en sekundær bakterieinfeksjon (60). Årsaken til at viruset påvirker disse immuncellene og hvordan det skjer er ukjent.

## 4 Målrettet avl for mer IPN-resistent oppdrettslaks

Tale M. K. Drangsholt og Bjarne Gjerde, Nofima

### 4.1 Innledning

Arbeidet med å avle for atlantisk laks med større motstandsdyktighet mot IPN startet allerede sent på 1990-tallet. Aqua Gen gjennomførte sin første smittetest av familier i 1997 og IPN-resistens har vært inkludert i avlsmålet for laks hos Aqua Gen siden 2001 (65). De siste årene er det funnet et område i laksens genom (QTL- loci som påvirker kvantitative egenskaper) med stor effekt på IPN-resistens hos både skotsk (66) og norsk (67) laks. Tidligere er det funnet slike QTLer hos regnbueørret med medium til stor effekt (68).

### 4.2 Arvegrader

Tabell 1 viser arvegradsestimater for IPN-resistens (overleving) hos atlantisk laks. Det er rapportert estimater fra smittetester med laks i både ferskvann og i sjøvann. I tillegg er det gjort smittetester både ved badsmitte og kohabitantsmitte som begge er metoder som i større grad imiterer infeksjon under naturlige utbrudd enn hva injeksjonssmitte gjør. Videre finnes det estimater fra naturlig infeksjon i felt. Alle estimater tyder på en betydelig arvelig variasjon i motstand mot IPN hos laks, og at det derfor bør være mulig å forbedre laksen sin motstandskraft gjennom et målrettet avlsarbeid.

Tabell 1 Arvegradsestimater for IPN-resistens under ulike forhold.

Arvegrad standardfeil) (±		Ferskvann (Fe) /Sjøvann (Sj)	Smittetest (S)/Felt (F)	Smitte- metode <sup>1</sup>	Virus	Referanse
Observerbar skala	Underliggende skala					
0,20 ± 0,05	0,39 ± 0,05	Fe	S	K	Ikke oppgitt	(69)
	0,55	Fe	S	B	VI 94/09/865	(70)
0,17–0,45 0,31 <sup>4</sup>		Fe	S	B	VI 94/09/865 og V-1244	(65)
0,11		Fe	F	-	Ikke oppgitt	(65)
0,07 ± 0,01 – 0,56 ± 0,04		Sj	F <sup>3</sup>	-	A2	(71)
0,16 <sup>4</sup>	0,24 - 0,81 0,43 <sup>2</sup>	Sj	F <sup>3</sup>	-	Ikke oppgitt	(72)
0,10		Sj	F	-	Ikke oppgitt	(65)

<sup>1</sup> K: kohabitantsmitte, B: badsmitte

<sup>2</sup> Samlet estimat

<sup>3</sup> Test på lokaliteter med naturlig forekomst av IPN

<sup>4</sup> Samlet estimat

### 4.3 Genetiske korrelasjoner

Tabell 2 viser genetiske korrelasjoner (sammenhenger) mellom resistens (overleving) mot IPN og andre sykdommer og mellom resistens mot IPN under ulike testforhold. Svake genetiske sammenhenger mellom IPN og ILA, og mellom IPN og furunkulose, tyder på at det er uproblematisk å drive avl for økt resistens mot disse sykdommene parallelt.

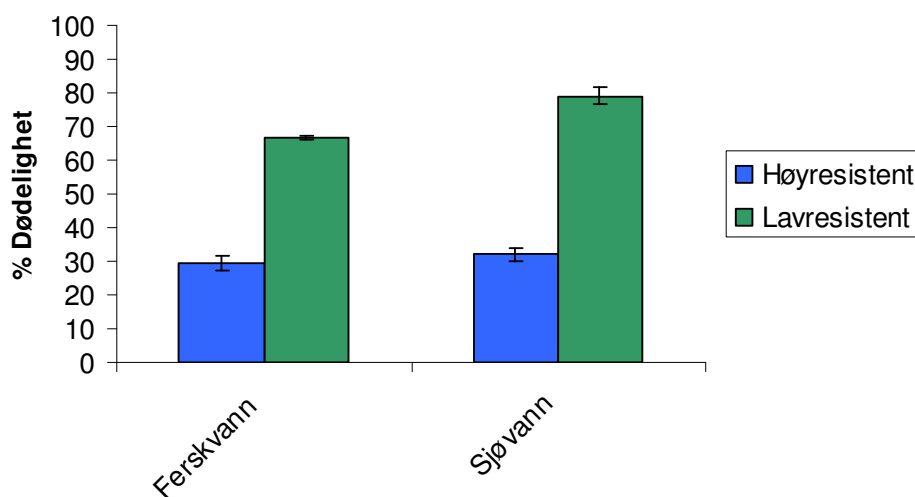
IPN-resistens i smittetest og felt ser i stor grad ut til å være samme egenskap ettersom det var sterk sammenheng mellom overlevelse i smittetester (ferskvann) og i utbrudd både i sjøvann og ferskvann (65). Videre er det vist høy genetisk sammenheng mellom resistens mot IPN på ulike sjølokaliteter (72). Disse resultatene tyder på at seleksjon for IPN-resistens basert på smittetester i ferskvann eller sjøvann vil gi god respons i felt. Så vidt vi vet er det imidlertid ikke gjort undersøkelser av genetiske sammenhenger mellom resistens mot IPN når en smitter samme familiemateriale med ulike virusstammer med ulik virulens.

Tabell 2 Genetiske korrelasjoner mellom resistens (overleving) mot IPN og andre sykdommer, og mellom resistens mot IPN under ulike testforhold.

	Genetisk korrelasjon ( $\pm$ standardfeil)	Referanse
<b>Ulike sykdommer</b>		
IPN vs. ILA	-0,10	(70)
IPN vs. ILA	0,23 $\pm$ 0,11	(69)
IPN vs. Furunkulose	-0,11	(70)
IPN vs. Furunkulose	0,35 $\pm$ 0,10	(69)
<b>Smittetest vs. Felt</b>		
Ferskvann vs. Sjøvann	0,78 $\pm$ 0,16	(65)
Ferskvann vs. Ferskvann	0,83 $\pm$ 0,07	(65)
Ulike lokaliteter i felt (Sjøvann)	0,71 og 0,78	(72)

#### 4.4 Seleksjonsrespons - genetisk endring som et resultat av avlsarbeid

I 2007 ble det publisert en studie hvor det var gjort seleksjon for høy og lav IPN-resistens i en generasjon basert på smittetest i ferskvann (73). I smittetest med IPN-virus hadde avkom etter høyresistent fisk langt høyere overlevelse enn avkom etter lavresistent fisk, både i ferskvann og i sjøvann. Dette viser at avl for økt IPN-resistens kan være svært effektivt.



Figur 1 Dødelighet i % ( $\pm$ standardfeil) for avkom etter høyresistent fisk og lavresistent fisk i smittetest med IPN i ferskvann (pre-smolt) og i sjøvann (post-smolt) (73).

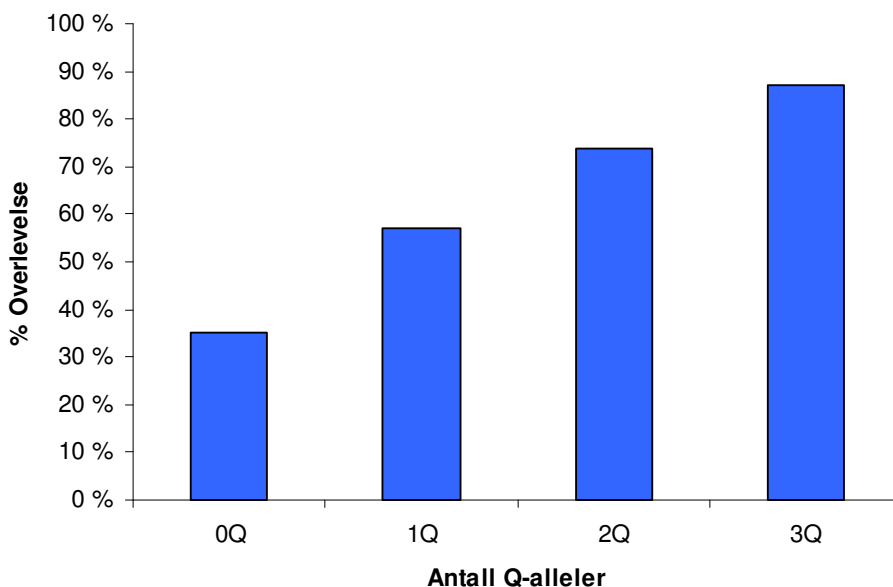
## 4.5 QTL

Det er i dag godt kjent at det hos atlantisk laks er identifisert en QTL (et område av laksens genom) som forklarer en svært stor del (80-90%) av den genetiske variasjonen i resistens mot IPN. Denne QTLen er identifisert både i en skotsk og en norsk populasjon av laks, og både i ferskvann og i sjøvann (Tabell 3). Det ser dermed ut til at effekten av denne QTLen er konsistent på tvers av oppdrettsmiljø og populasjon, og er et nyttig verktøy for å kunne levere en laks til næringa som er betydelig mer resistent mot IPN. Selve genet/genene er imidlertid ikke kartlagt, men det arbeides med dette (Norges Forskningsråd, prosjektnummer [192322](#)).

Tabell 3 Identifisering av QTL for IPN-resistens hos atlantisk laks.

Populasjon	Datakilder	Virus	Referanse
Landcatch, Skotland	Utbrudd i sjø	Ikke oppgitt	(74)
Landcatch, Skotland	Smittetest, ferskvann	V0512-1, A2	(66)
Aqua Gen, Norge	Smittetest, ferskvann og sjøvann	V-1244	(67)

Resultater fra Aqua Gen viser at QTL-en gir god beskyttelse i smittetest, og at andel overlevende fisk øker med antall kopier av den gunstige QTL-en (Q) (Figur 2). Ved kryssing av homozygote foreldre som mangler det gunstige Q-allelet (qq x qq) hadde avkommet 35 % overlevelse, mens en kryssing mellom en homozygot og en heterozygot forelder med det gunstige Q-allelet (QQ x Qq) gir 87 % overlevelse hos avkommet (75).



Figur 2 Overlevelse for pre-smolt avkom etter foreldre med ulikt antall gunstige Q-alleler (data fra Aqua Gen (75)).

## 4.6 Felldata

Data fra felt med fisk avlet spesielt med tanke på IPN-resistens er begrenset. Aqua Gen presenterte imidlertid en del resultater under et Fagmøte på Aqua Nord 2011 (Tabell 4). I dette datamaterialet hadde det ikke vært utbrudd av IPN i anlegg som hadde fisk med den gunstige QTL-en for IPN-resistens. Det ser derfor ut til at denne QTL-en gir god beskyttelse av fisken i felt både i ferskvann og i sjøvann. Det er imidlertid behov for resultater fra flere anlegg for å kunne si noe mer sikkert om effekten av IPN-QTLen. På anlegg som hadde fisk med den gunstige QTLen, men likevel fikk utbrudd av IPN eller hvor IPN ble påvist, kan det være interessant å ta vevsprøver av fisk med IPN for å kartlegge om disse faktisk har den aktuelle QTL-en.

Tabell 4 Feltdokumentasjon på anlegg i ferskvann og sjøvann som fikk fisk med standard og/eller gunstig QTL for IPN-resistens (resultater per 1. juni 2011). De samme anleggene inngår i gruppe 1A og 1B, og i gruppe 2A og 2B (76).

	Ferskvann				Sjøvann	
	Gr1A	Gr1B	Gr2A	Gr2B	Gr3	Gr4
<b>QTL-status</b>	Standard	Standard	Standard	QTL-IPN	QTL-IPN	Standard
<b>Antall anlegg totalt</b>	14	14	15	15	15	7
<b>Antall anlegg med IPN-utbrudd</b>	5	4	5	0	0	1
<b>Antall anlegg hvor IPN er påvist</b>	-	1	-	1	-	-
<b>År for startføring</b>	2008/09	2009/10	2008/09	2009/10	Høstsmolt 2010	Høstsmolt 2010

## 4.7 Implementering i avlsprogram

Aqua Gen har inkludert motstandsdyktighet mot IPN basert på smittetest av pre-smolt i avlsarbeidet siden 2001 (65). I dag driver både Aqua Gen og SalmoBreed tradisjonell avl for økt motstand mot IPN basert på smittetest, i tillegg til markør assistert seleksjon for den gunstige IPN-QTLen. Oss bekjent brukes data fra smittetestene mot IPN som grunnlag for å gjøre et tradisjonelt utvalg mot IPN i avlskjernen. Dette kan forklare at frekvensen av den gunstige QTLen i Aqua Gen sin avlskjerne har økt fra  $Q=0.3$  i 2005-årsklassen til  $Q=0.5$  i 2008 årsklassen; dvs. et resultat av bare en generasjon seleksjon for økt motstand mot IPN (67, 75). På stamfiskstasjonene gjennomføres det trolig en kombinasjon av både tradisjonell seleksjon for økt motstand mot IPN basert på data fra smittetest og seleksjon for den gunstige QTLen.

Tabell 5 gir en grov skisse av tilgjengelige produkter med vekt på IPN-resistens fra Aqua Gen og SalmoBreed. Seleksjon for den gunstige QTLen er basert på QTL-typing av hannfisk, mens tradisjonell seleksjon for økt motstand mot IPN basert på smittetest gjøres på både hann- og hunnfisk. Begge selskapene har et produkt selektert med tanke på egenskaper knyttet til helse/robusthet (inkludert IPN-resistens) i tillegg til produksjons- og kvalitetsegenskaper (f. eks. vekst) (Aqua Gen Atlantic Ova og SalmoBreed Optimal). Videre

kombineres seleksjon for den gunstige QTLen med ulik vektlegging av helse/robusthet. Aqua Gen tilbyr også et produkt som primært er selektert for produksjons- og kvalitets-egenskaper, men hvor den gunstige IPN-QTLen også er inkludert.

Tabell 5 Produkter fra Aqua Gen og SalmoBreed selektert spesielt med tanke på økt IPN-resistens. "QTL" angir om det selekteres for den gunstige IPN-QTL-en. "Tradisjonell" angir om IPN-resistens basert på smittetest inngår i den tradisjonelle seleksjonsindeksen. ♀ og ♂ angir om seleksjonen gjøres på hhv hunnfisk og/eller hannfisk. Pluss (+) angir ekstra vektlegging av helseegenskaper (blant annet IPN).

Avlsselskap / Produktnavn	IPN-seleksjon	
	QTL	Tradisjonell
<b>Aqua Gen</b>		
Aqua Gen® Atlantic Ova	-	♀ ♂
Aqua Gen® Atlantic QTL-innOva	♂	♀ ♂
Aqua Gen® Atlantic QTL-innOva IPN/PD	♂	♀ ♂ +
Aqua Gen® AtlanticQTL-innOva IPN/E	♂	-
<b>SalmoBreed</b>		
SalmoBreed Optimal	-	♀ ♂
SalmoBreed Plus-Helse	-	♀ ♂ +
SalmoBreed Exclusive IPN-QTL	♂	♀ ♂ +

Resultater fra smittetester mot IPN hos Aqua Gen viser at frekvensen av den gunstige IPN-QTLen er svært høy i rogn hvor hannfisk er selektert for den gunstige QTLen. Dette produktet har svært lav dødelighet etter smitte og en liten andel av de overlevende er bærere av IPN-virus (Tabell 6).

Tabell 6 Frekvens av den gunstige IPN-QTL-en (Q), dødelighet og bærerstatus i ulike typer rogn fra Aqua Gen basert på smittetester (77).

Type rogn <sup>1</sup>	QTL-frekvens	Dødelighet	IPNV-bærere <sup>2</sup>
<b>Sensitiv</b>	0,22	52,5 %	90 %
<b>Standard (Ova)</b>	0,45	22 %	60 %
<b>QTL innOva</b>	0,84	1,3 %	10 %

<sup>1</sup> Se Tabell 3

<sup>2</sup> % av overlevende

## 4.8 Sammendrag

- Det er funnet betydelig arvelig variasjon i IPN-resistens hos atlantisk laks under en rekke miljøforhold; smittetester og felldata, ferskvann og sjøvann; Norge og Skottland.
- Det er funnet en sterk genetisk sammenheng mellom overlevelse i smittetester og i felt. Seleksjon for økt IPN-resistens basert på smittetester vil derfor mest trolig gi god respons for økt motstand mot IPN i felt.
- Svake genetiske sammenhenger i resistens mellom IPN og ILA, og mellom IPN og furunkulose, tyder på at det er uproblematisk å drive avl for økt resistens mot disse sykdommene parallelt.
- Det er viktig å få estimert størrelsen på den genetiske sammenhengen mellom resistens mot IPN når en smitter samme familiemateriale med IPN-virusstammer med ulik virulens.
- Det er påvist en QTL for økt IPN-resistens i atlantisk laks, og effekten av den gunstige QTL-en ser ut til å være konsistent på tvers av miljø og avlspopulasjoner. Denne IPN-QTLen ser ut til å være et nyttig verktøy for å kunne produsere en fisk som er mer resistent mot IPN.
- Felldata indikerer at fisk selektert for den gunstige IPN-QTLen har god beskyttelse mot IPN i både ferskvann og sjøvann.
- atlantisk laks selekteres for økt IPN-resistens både ved tradisjonell avl basert på smittetester og ved hjelp av IPN-QTLen, og slike produkter er tilgjengelige både fra Aqua Gen og SalmoBreed.

## **5 Kontroll av IPN ved vaksinering, bruk av helsefôr og endrede driftsrutiner**

**Paul J Midtlyng, Norges veterinærhøgskole**

### **5.1 Innledning**

I rapporten «IPN in salmonids - a review» som ble utarbeidet på oppdrag av FHF i 2003 (11) oppsummerte man at det var påfallende få kvalitetssikrede vitenskapelige publikasjoner om vaksinering mot IPN i moderne lakseoppdrett. Dette til tross for høy forskningsaktivitet i legemiddelindustrien og at IPN-vaksiner var kommet i alminnelig bruk. Kartleggingen av feltefaringene bekreftet at det var stor usikkerhet blant oppdrettere og fiskehelsetjenester om hvorvidt IPN-vaksinene hadde god effekt (78). Kun 9 av 32 fiskehelsetjenester og 12 % av smoltprodusentene trakk fram vaksine som et effektivt tiltak mot IPN. Likevel hadde flertallet av fiskehelsetjenestene forventning om at IPN-vaksiner ville bli sentrale i bekjempelsen av IPN-problemet i framtida.

I samme spørreundersøkelse kom det fram at få trodde på helsefôr som forebyggende tiltak mot IPN. Det fantes nesten ikke studier om fôrtilsetninger og IPN, ei heller om feltforsøk med bruk av helsefôr i forbindelse med IPN-utbrudd. anbefalingene som ble gjort på grunnlag av den vitenskapelige gjennomgangen og næringas praktiske erfaringer påpekte derfor et stort behov for holdbar faglig dokumentasjon om hva helsefôr kan bidra med i kampen mot IPN.

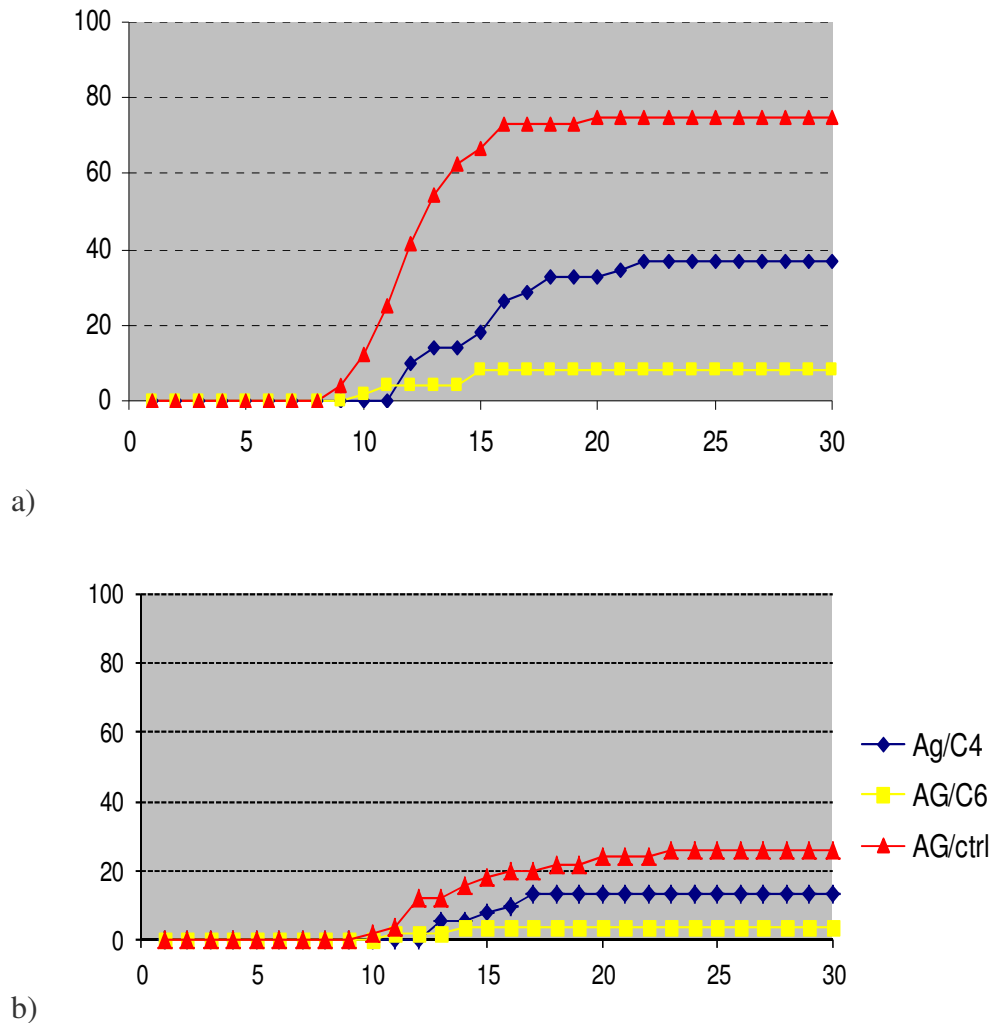
Svarene i spørreundersøkelsen viste også at næringsaktørene i stor grad mente at IPN-viruset kunne være tilstede hvor som helst i settefiskanlegg eller sjø, og at det var driftsforholdene og smoltkvaliteten som avgjorde om det ble sykdomsutbrudd eller ikke. Hele 30 % mente at bruk av sjøvann i settefiskproduksjonen ga større risiko for IPN-utbrudd. Det var imidlertid usikkerhet om hvor mye man kunne oppnå ved konkrete driftstiltak for å kontrollere IPN-utbrudd, selv om noen påpekte at temperaturøkning kunne «ta toppen» av kliniske utbrudd i yngel og parr-fasen.

### **5.2 Forskning om vaksinebeskyttelse mot IPN**

Selv om vaksinering mot IPN har en lang historikk (79), var det vaksineselskapet Norbio AS i Bergen som brakte den første vaksinen mot IPN til laksefisk på markedet da en stikkvaksine med IPN-virus komponent ble lansert i 1995 (80). For å dokumentere vaksinens effekt vaksinerte Frost og Ness (81) 20-30 grams pre-smolt og stikksmittet dem med IPN-virus. Fiskene ble ikke klinisk syke, men man gjenfant IPN-viruset i bare 2 av 50 fisk i den IPN-vaksinerte gruppen mot i 28 av 50 uvaksinerte kontrollfisk, og i 16 av 50 av en kontrollgruppe som hadde fått vaksine uten IPNV-komponent. En eksperimentell badsmittmodell (60) ble tatt i bruk for uttesting av kommersielle vaksiner i 1998. Denne viste at Intervets vaksine gav god beskyttelse etter IPNV-smitte, sammenlignet med uvaksinerte kontroller og også grupper vaksinert med vaksiner uten IPNV-komponent (35). Også andre fagmiljøer konkluderte med at smitten måtte gis indirekte (via vannet) for å gi forutsigbar IPN-dødelighet (59). Mange IPNV-smitteforsøk ble gjennomført både for å undersøke miljøets betydning for å utløse klinisk IPN (82), konsekvensene av IPNV-infeksjon (60, 83) og som konfidensielle oppdrag for vaksineindustrien. Ramstad og medarbeidere ved VESO Vikan viste at en kommersielt tilgjengelig IPN-vaksine ga ca.70 % spesifikk beskyttelse hos laksesmolt, sammenliknet med en vaksine som manglet IPNV-komponent. For første gang ble et eksperimentelt testresultat bekreftet i et parallelt feltforsøk, hvor IPN-vaksinen ga 81 % relativ beskyttelse i et naturlig



IPN-utbrudd hos sjøsatt smolt (84). Basert på erfaringene fra flere år med metodeutvikling konkluderte Ramstad & Midtlyng (85) at utfallet av slike IPNV-smitteforsøk er svært avhengig av forsøksfiskens nedarvede genetiske motstandskraft mot sykdommen. Genetisk mottakelig fisk som ble utsatt for IPNV-smitte fikk konsekvent høy dødelighet i kontrollgruppen og viste god vaksinebeskyttelse. Igjen ga den ovennevnte IPN-vaksinen over 75 % relativ overlevelse i forhold til samme vaksine uten IPNV-antigen (figur 1a). Beskyttelsen var imidlertid langt mindre tydelig hos fisk som hadde blitt avlet for IPN-resistens (figur 1b).



Figur 1 Dødelighetskurver i IPN-smitteforsøk: a) hos laksesmolt med høy genetisk mottakelighet for IPN; b) hos laksesmolt med delvis resistens mot IPN (AquaGen Standard). C4 (blå): vaksine uten IPNV-komponent, C6 (gul): vaksine med IPNV-komponent, ctrl (rød): uvaksinert kontrollgruppe. (Etter(85)).

Vellykket såkalt «genetisk immunisering» mot IPN har blitt gjennomført av forskere ved Norges veterinærhøgskole (86). I et eksperiment med ulike prototyper ga én av de testede DNA-vaksinene relativt høy overlevelse, mens andre var uten virkning. Også utenlandske forskere har nylig rapportert om vellykket DNA-vaksinering mot IPN gjennom fôret, gjennomført på 1-2 grams yngel av regnbueørret og brunørret. Yngelen var beskyttet mot dødelighet og viste lavere virusmengder enn kontrollfisk da den ble smittet 30 dager etter immunisering (87). Så vidt vites er ingen av disse resultatene hittil forfulgt videre av vaksineindustrien. Det samme gjelder også lovende resultater som viser at man kan produsere rekombinant protein til bruk i IPN-vaksiner i gjærsopp (114).

I 2006 ble en fôrbasert vaksine mot IPN registrert i Chile, anbefalt til bruk på frisk lakseyngel ([www.spaquaculture.com/default.aspx?pageid=661](http://www.spaquaculture.com/default.aspx?pageid=661); tilgang 2. desember 2009 og 20. oktober 2011). Ifølge produsentens hjemmeside ga vaksinen nøytraliserende antistoffer fra dag 4 og relativt god beskyttelse i kontrollerte smitteforsøk. Felteforsøk med denne vaksinen er gjennomført både i Norge og andre land, men dessverre har resultater fra forskning om denne vaksinen hittil ikke blitt offentliggjort i seriøse fagtidsskrifter.

### **5.2.1 Tolkning av felldata**

Flere forfattere har i årenes løp forsøkt å analysere hvor god beskyttelse IPN-vaksinasjon gir mot sykdomsutbrudd under feltforhold. Bruken av IPNV-holdige vaksiner til laksesmolt nådde over 90 % i 2001-2002 og har vært tilnærmet 100 % i nesten 10 år i norsk oppdrettsnæring. Påfallende nok har man likevel ikke sett noen tydelig reduksjon i antallet rapporterte IPN-utbrudd, som har variert rundt ca. 180 pr år siden 2002 (88). Hvor mye IPN-vaksiner reduserer dødeligheten under IPN-utbrudd er vanskelig å estimere, ettersom man har få gode data fra felten. Ovenfor nevnte vel kontrollerte feltstudie hvor man i to merder kunne sammenlikne med IPN-uvaksinert kontrollfisk (84), viste ca 80 % spesifikk IPN-beskyttelse. I en feltstudie som ble presentert muntlig på en europeisk fiskesykdomskonferanse i 2003 var det henholdsvis 51 og 53 % høyere relativ overlevelse etter IPN-utbrudd i to IPN-vaksinerte grupper enn i annen fisk som var vaksinert uten IPN. Det var ingen sikker forskjell vaksinene imellom (89), og resultatene er så vidt vites ikke blitt publisert i noe nasjonalt eller internasjonalt fagtidsskrift. Om det er forskjell mellom de enkelte IPN-vaksinene lar seg ikke fastslå på grunnlag av utbruddsstatistikken, ettersom bruken av ulike produkter varierer betydelig fra ett år til et annet. Andre pålitelige data for å klarlegge dette er heller ikke framkommet i de siste 8 år.

Siden 2003 har det altså blitt vist at nåværende IPN-vaksiner gir spesifikk beskyttelse mot tap under sykdomsutbrudd, og dermed synes å være lønnsomme rent økonomisk. IPN-vaksiner basert på dødt virusantigen kan tydeligvis likevel ikke forhindre kliniske utbrudd av sykdommen eller at smittet fisk blir virusbærere, og hindrer derfor verken horisontal eller vertikal smitteoverføring av viruset på en effektiv måte. Å utvikle IPN-vaksiner som kan beskytte laksefisk effektivt i den mest mottakelige livsfase (som yngel og settefisk) er fortsatt en stor utfordring.

## **5.3 Medikamentell behandling og «helsefôr» mot IPN**

Ingen har hittil funnet legemidler som realistisk sett kan brukes for å behandle fisk som er syk av IPN. Dette er relativt naturlig, ettersom det de færreste virussykdommer (også hos landdyr og mennesker) lar seg behandle medikamentelt. Det har imidlertid blitt gjort forsøk på å forebygge IPN-utbrudd med immunstimulanter og andre ingredienser som inngår i ulike «helsefôr» til laksefisk. Således rapporterte Siwicki et al (90) om at regnbueørret som ble fôret med et lysozympreparat ("KLP-602") viste redusert dødelighet i forhold til kontrollfôret

fisk (30 % mot 65 %) under et naturlig IPN-utbrudd. Leonardi et al. (91) hevdet at nukleotidanriket fôr kunne beskytte regnbueørret etter stikksmitte med IPN-virus. Konklusjonen fra det sistnevnte forsøket var imidlertid basert på kun 8 fisk per gruppe. I et IPN-smittforsøk beskrevet av Johnsen (2002) (92) var dødeligheten 35 % hos smolt som fikk kontrollfôr, mens den var 26 % i gruppen som fikk fôr tilsatt et norskprodusert  $\beta$ -1, 3/1,6-glukan pluss nukleotider. Dødeligheten i en tredje gruppe som fikk et konkurrerende fôr tilsatt bare nukleotider var 38 %. Dette ifølge brosjyrer og et faglig magasin utgitt av leverandøren av glukanproduktet respektivt fôrproduzenten. Det er derfor fortsatt tynt med gode faglige bevis for hvor godt helsefôr tilsatt immunstimulanter og/eller nukleotider virker mot IPN-utbrudd.

#### **5.4 Effekt av endring i driftsrutiner**

Selv om klinisk IPN antas å utløses av ugunstige driftsforhold og stress, har det vist seg vanskelig å framprovosere IPN-utbrudd ved å stresse fisken eller manipulere med miljøet. Flere norske miljøer (33, 52, 93) har dog lyktes med å indusere IPN-utbrudd hos latente smittebærere. Det motsatte er imidlertid ikke like lett, og man savner fortsatt studier som viser at man bevisst kan unngå IPN-utbrudd ved å gjennomføre bestemte driftstiltak. Det synes heller ikke å være noen god sammenheng mellom fisketetthet og dødelighet under IPN-utbrudd (94), ei heller mellom IPN dødelighet og dårlig smoltifisering eller ugunstig timing før sjøsetting (82). I en studie fra 2007 fant man signifikante sykdomsforskjeller mellom IPN-smittede grupper av laksesmolt som hadde blitt utsatt for lave oksygennivå og dårlig vannutskiftning, en simulering av forholdene i intensive oppdrettsforhold i ferskvannsfasen (95). Selv om man kunne påvise forhøyet kortisolnivå og endringer i tarmslimhinnen hos gruppene som hadde blitt utsatt for lavt oksygen, var det imidlertid ingen sikker forskjell i IPN-dødelighet i et påfølgende forsøk med liknende oppsett (96). Andre har for øvrig vist at intensive driftsforhold i form av lavt oksygennivå og høy tetthet i kombinasjon i ferskvann gav signifikant forøket dødelighet etter IPN-virussmitte i sjøvann (97).

En drøfting av erfaringene med ulike driftstiltak for å hindre eller dempe utbrudd av IPN i Norsk Fiskeoppdrett (98) oppsummerte at korttids økning av vanntemperaturen (opp til 20- 21 °C) har blitt brukt for å «ta toppen av» («koke ut») IPN-utbrudd hos startfôringsyngel. At vanntemperaturen har en virkning på IPN-utbrudd er kjent fra tidligere japanske og amerikanske studier (99, 100). Slik temperaturøkning synes også å hindre tilbakefall seinere i oppdrettssyklus. I samme artikkel ble det også rapportert at stikkvaksinering syntes å kupere IPN-utbrudd hos pre-smolt, og at man så redusert IPN-dødelighet hos smoltgrupper som var vaksinert kort tid før sjøsetting, sammenliknet med grupper som hadde lengre immuniseringsperiode bak seg. En plausibel forklaring på dette er at fiskens uspesifikke immunforsvar aktiveres ved slike tiltak, formidlet via et signalstoff som kalles interferon (se kap.3), og at dette hjelper fisken å overvinne pågående virusutbrudd raskere.

#### **5.5 Oppfølging av anbefalingene fra prosjektet «IPN-kunnskap»**

I oppsummeringen av IPN-utredningen i 2003 ble gode vitenskapelige studier om effekten av IPN-vaksinene som brukes i norsk laksenæring etterspurt. Selv om det har kommet to artikler som dokumenterer virkningen av en av de kommersielt tilgjengelige IPN-vaksinene både eksperimentelt og under naturlig feltutbrudd, er tilgangen på kvalitetssikret vitenskapelige data fortsatt ganske begrenset. To fagartikler om nye vaksineprinsipper mot IPN (DNA-vaksinering og rekombinant antigenproduksjon i gjærsopp) endrer ikke dette bildet. Dette

særlig når man tar hensyn til at det er gjennomført et utall industrielle FOU-forsøk, og at vaksineindustrien ble spesielt oppfordret til å offentliggjøre tilgjengelige data i vitenskapelige media eller å samarbeide med oppdrettsnæringa om å gjøre kvalitetsdata tilgjengelig. Man har ikke funnet noen plausibel årsak til at det tross vaksinerings rapporteres mange kliniske IPN-utbrudd fra felten. Man har heller ikke fått fram hvordan tapene som i dag forårsakes av IPN-utbrudd utvikler seg på landsbasis. For å komme videre her trengs det godt planlagte epidemiologiske studier, som trolig må foregå med innslag av små IPN-uvaksinerte og merkede fiskegrupper på mange lokaliteter.

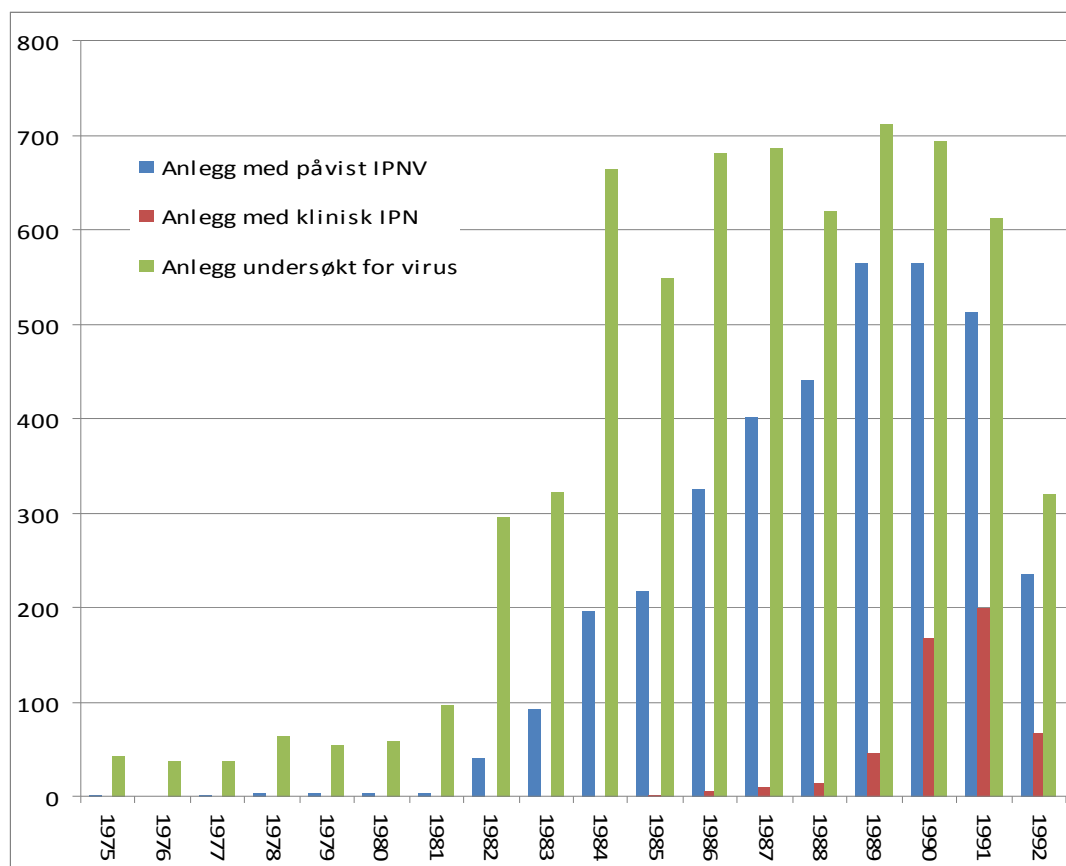
Selv om det siden 2003 har vært betydelig forskningsaktivitet om hvilke miljø- og driftsfaktorer som kan utløse IPN-utbrudd, har det vært lite forskning for å identifisere hvilke miljø- og driftstiltak som med sannsynlighet kan forhindre IPN-utbrudd. I så måte har forskningshypotesene kanskje ikke vært «anvendte» eller matnyttige nok, sett fra oppdrettsindustriens og fiskehelsetjenestens ståsted. Heller ikke oppfordringen om å gjennomføre høykvalitets feltforsøk for å vurdere såkalte «helsefôr», og å kvalitetssikre informasjon om effekten av tilsetningsstoffer til fôr mot IPN ved å publisere dem i vitenskapelige tidsskrifter, har funnet stor gjenklang. Etersom fôringen er en faktor oppdretter selv har all kontroll over (i motsetning til mange andre faktorer som kan påvirke IPN-risikoen) er det all grunn til å fjerne eventuell tvil om alle kontrolltiltak som viser seg kostnadseffektive.

## 6 Har forvaltningsmessige tiltak hatt betydning for (manglende) kontroll av IPN?

Eirik Biering, Tore Håstein og Brit Hjeltnes – Veterinærinstituttet

### 6.1 Forvaltningsregimet har variert mye gjennom 40 år

I utgangspunktet hadde Norge en svært streng forvaltning av IPN, og sykdommen ble gjort meldepliktig i 1969 som en Gruppe B sykdom. IPN-virus (IPNV) (serotype Ab), ble første gang påvist i 1975 hos regnbueørret i forbindelse med en rutinemessig helsekontroll i et settefiskanlegg på Sør-Vestlandet (101). Settefiskanlegget hadde både laks og regnbueørret, men IPN-viruset ble bare påvist hos regnbueørreten. Anlegget ble pålagt restriksjoner i henhold til fiskeesykdomsloven av 1968, og all regnbueørreten ble destruert. Etter gjentatte virusundersøkelser av laksesmolten med negativt resultat, fikk anlegget tillatelse til å selge laksesmolten til matfiskanlegg som tidligere hadde fått leveringer fra settefiskanlegget. Forutsetningen var at fisken gikk til slakt etter endt oppfôring. Kilden til viruspåvisningen forble ukjent. Klekkeriene som hadde levert rogn til settefiskanlegget ble sjekket uten at virus ble påvist i disse anleggene. Fra denne påvisningen i 1975 og fram til 1985 da klinisk IPN ble påvist for første gang, var den registrerte IPN-relaterte dødeligheten minimal.



Figur 1 Oversikt over antall anlegg hvor IPN-virus ble påvist, med diagnostisert klinisk IPN og anlegg som ble undersøkt for IPN-virus i årene 1975-1992

I 1977 ble serotype Sp påvist på Havforskningsinstituttets forsøksstasjon i Matre i forbindelse med en rutinehelsekontroll. Anlegget ble pålagt restriksjoner i henhold til fiskesykdomsloven, men fikk tillatelse til å levere utsettingsklar fisk til matfiskanlegg som allerede hadde mottatt fisk fra dette anlegget. Året etter ble virus isolert fra fire av disse anleggene. Det var ikke signifikant dødelighet forbundet med påvisningene, men restriksjonene på anleggene ble opprettholdt. Matre forsøksstasjon ble derfor totalt tømt for fisk og desinfisert før nytt materiale ble satt inn, men IPN-virus ble reisolert i 1983.

Inntil 1982 var det kun sporadiske påvisninger av IPN-virus. Da ble det registrert en kraftig økning som fortsatte utover 1980-tallet (Figur 1). Denne økningen i påvisninger ble fulgt av en økning i tilfeller med klinisk IPN-sykdom. I samme tidsrom ble virusundersøkelsene intensivert på grunn av eksport av fisk til USA. USA hadde krav om helseattest for VHS og dreiesyke. Klinisk sykdom på laks som følge av IPN-virus ble første gang registrert i Norge i 1985 (102), og i 1989 ble viruset isolert fra piggvar og kveite i forbindelse med fiskedødelighet (103).

Til å begynne med ble samtlige anlegg hvor virus ble påvist pålagt restriksjoner etter fiskesykdomsloven. Det var da ikke lov å omsette levende fisk eller ta stamfisk for produksjon av rogn fra slike anlegg, og det var kun lov til å slakte fisk for konsum. Settefiskanlegg som hadde fått påvist IPN-virus fikk selge smolt til rene matfiskanlegg i sjø, forutsatt at disse hadde forpliktet seg til å slakte fisken til konsum og ikke benytte den i stamfiskproduksjon. På grunn av den sterke økningen i påvisninger av IPN-virus både i ferskvann og i sjøvann uten at man samtidig registrerte sykdomsproblemer av betydning, endret Landbruksdepartementet i 1984 (Rundskriv M-73/84) praksis angående båndlegging ved IPNV-påvisning. Som en følge av dette skulle båndlegging bare skje dersom det også ble registrert dødelighet som kunne relateres til påvisningen av IPN-virus.

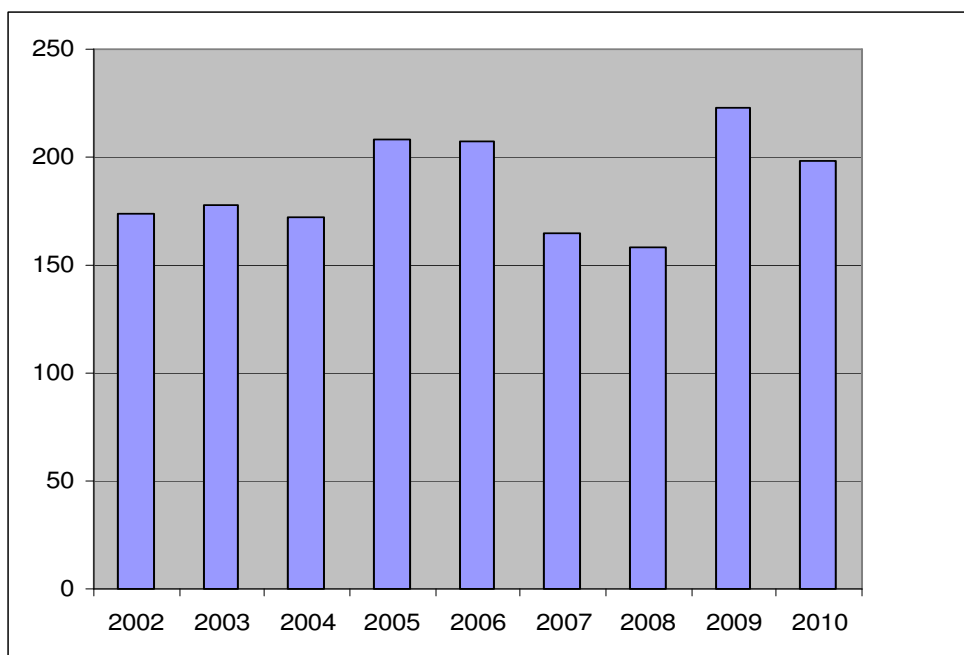
En intern arbeidsgruppe i Dyrehelsetilsynet leverte i 1995 en rapport som foreslo følgende (Martin Binde, personlig kommunikasjon):

- IPN-testing av stamfisk med restriksjoner på stryking av bærere og stamfisk med IPN-historikk.
- Restriksjoner på omsetning av yngel med IPN-historikk.
- Redusert bruk av restriksjoner i forbindelse med påvisning av IPN i sjøanlegg.

De foreslåtte tiltakene ble ikke offisielt iverksatt, men de to siste kulepunktene, og spesielt da det siste, ble i stor grad retningsgivende for den interne forvaltningspraksisen i Dyrehelsetilsynet. I 1990-årene og tidlig på 2000 tallet ble det dessuten praktisert et forbud mot å flytte sjøvannsekspontert fisk, uavhengig av smittestatus. Det var i den perioden vanlig å gi dispensasjon for sjøutsett av klinisk frisk smolt med IPN-historikk (i praksis fra smoltgrupper som ikke hadde forøket dødelighet). I forbindelse med implementering av EUs nye fiskehelse direktiv ble listen over nasjonale sykdommer (Liste 3) revidert, og det ble konkludert med at IPN ikke lenger oppfylte kriteriene for listeføring (104). For at en sykdom skal listeføres, må den være gjenstand for offentlige tiltak. I praksis betyr dette en bekjempelsesplan, og det har man ikke for IPN. Den eneste restriksjonen som finnes i lovverket er det generelle kravet om at fisk til utsett skal være klinisk frisk. Det betyr at man ikke kan sette ut smolt med pågående IPN-sykdom eller smolt som kommer fra anlegg med uavklart, forhøyet dødelighet. Det har vært spekulert i om at man ved å fjerne IPN fra listen vil få en underrapportering av sykdommen, men så langt ser ikke dette ut til å være tilfelle.

Årene 2008, 2009 og 2010 ser ikke ut til å skille seg nevneverdig fra foregående år i Veterinærinstituttets tallmateriale (Fig. 2). Veterinærinstituttet har ikke gjennomført noen fullstendig undersøkelse av dette, men har tidligere hatt tilbakemeldinger fra fiskehelsetjenestene om at de ikke har endret praksis. Veterinærinstituttets statistikk over IPN er basert på registrering av syk fisk. Denne statistikken skiller ikke mellom tilfeller av IPN med liten dødelighet og meget alvorlige sykdomsbrudd med høy dødelighet. En kan derfor ikke bedømme IPN-situasjonen bare ut fra dette tallmaterialet, men må i stor grad trekke inn erfaringsdata fra felt. Veterinærinstituttet har fra 2002 vurdert IPN til å være en viktig fiskesykdom både når det gjelder utbredelse og tap (105).

IPN er heller ikke listeført i EU (106), og situasjonen i Storbritannia er tilsvarende som i Norge. I 2003 ble det ferdigstilt en rapport som beskrev situasjonen i Skottland og kom med en rekke forslag til fremtidig håndtering av sykdommen (107). I begynnelsen av 2005 ble alle offentlige reguleringer av sykdommen opphevet, og IPN er ikke lenger meldepliktig i Storbritannia. Begrunnelsen for dette var delvis den høye prevalensen av viruset i sjø, samt at det ble antatt at det var et betydelig marint smittereservoar. Enn videre mente man at det ville koste for mye i form av myndighetspålegg å bringe sykdommen under kontroll. Det er nå opp til næringen og det enkelte selskap å håndtere sykdommen. Imidlertid er det fremdeles mulig med frivillig testing for IPN i forbindelse med utstedelse av helsesertifikat for eksport av rogn eller fisk. Enkelte settefiskprodusenter praktiserer testing av stamfisk for å unngå at positive individer blir brukt i produksjonen. Det har vært hevdet at dette resulterer i et redusert IPN-problem i settefiskfasen, men dette er ikke vitenskapelig dokumentert og det foreligger ikke oppfølgende data fra sjøvannsfasen.



*Figur 2 Oversikt over lokaliteter med IPN-utbrudd i årene 2002-2010. Statistikken omfatter både ferskvanns- og sjøvannslokaliteter og både laks og regnbueørret. Hovedtyngden av utbruddene er på laks i sjø. For mer detaljert informasjon, se Veterinærinstituttets Fiskehelse rapporter.*

## **6.2 Villfanget stamfisk blir testet for IPN**

I henhold til norsk lovgivning er det bare villfanget stamfisk som skal brukes i Genbank for villaks som må testes for IPN (115). Veterinærinstituttet har gjennom sin aktivitet i Helsetjenesten for kultiveringsanlegg og Genbank for villaks, årlig testet villfanget stamfisk (både laks og sjøørret) for IPN-virus. For stamfisk fanget til ordinær kultivering er det lovpålagt med testing for BKD, mens stamfisk som skal brukes i Genbank for villaks også må testes for IPNV og furunkulose. De fleste kultiveringsanlegg som er medlem av Helsetjenesten velger imidlertid også å teste for IPN-virus og furunkulose. Rogn eller melke fra individer som tester positivt blir ikke brukt. Antall testede individer per år har variert fra rundt 200-300 (108) til opp mot 500 de siste år, men det er aldri funnet mer enn et par positive fisk hvert år. Dette kan synes noe rart med den store utbredelsen IPN-virus har i oppdrettsnæringen. Forklaringene kan være at det er liten smitteutveksling mellom oppdrett og villfisk, at villfisk ikke er mottakelig for IPN fra oppdrettsfisk eller at infisert smolt i stor grad dør eller kvitter seg med viruset før de vender tilbake til elvene. Det er ikke undersøkt nærmere om villfiskisolatene stammer fra oppdrettsfisk eller om villfisk har sine egne isolater som sirkulerer.

## **6.3 Vi har gode verktøy for påvisning av virus og for å stille en diagnose**

De diagnostiske metodene som brukes på IPN i dag er svært gode, og man har i dag også svært følsomme påvisningstester som egner seg for bruk i stor skala. Virus påvisning blir vanligvis gjort ved PCR, men man kan også dyrke og kvantifisere virus i cellekultur (109). Påvisning av virus er ikke en diagnose, men dersom virusmengden er stor, kan det indikere klinisk sykdom. Selve diagnosen blir vanligvis stilt ved histologi og immunhistokjemi, og det kreves både karakteristiske vevsskader i bukspyttkjertel (eksokrin pankreas) og identifikasjon av viruset i disse skadene. Undersøkelsen gjøres på formalinfikserte vevsprøver fra syk fisk ("svimere"). Vevsprøver undersøkes histologisk i lysmikroskop. Snitt av samme prøve undersøkes immunhistokjemisk ved bruk av polyklont antistoff mot IPN-virus, serotype Sp. I mange tilfeller finnes også karakteristiske vevsskader i levervev der IPN-virus også kan påvises ved hjelp av immunhistokjemi (110). Dette er en svært sikker måte å stille diagnose på. Ved utbrudd kan man også bruke IPN-hurtigtest for å stille diagnosen. Denne testen kan utføres i felt, og den gir i liten grad falske positive svar. Imidlertid er ikke testen spesielt følsom, og den vil ikke påvise friske smittebærere. Ved nye utbrudd anbefales det fortsatt at diagnosen verifiseres ved hjelp av histologisk og immunhistokjemisk undersøkelse av formalinfiksert materiale.

## **6.4 Hva skal vi gjøre framover?**

Utover de generelle tiltak i lovverket som skal ivareta biosikkerheten, gjør det offentlige ingen spesifikke tiltak for å begrense utbredelsen av IPN. Dette betyr at arbeidet med å begrense sykdommen stort sett er overlatt til næringa i vid forstand, og disse tiltakene (vaksinasjon, avl, screening med mer) er nevnt andre steder i rapporten. Om Norge og næringen er tjent med at man gir opp en aktiv bekjempelse av en så tapsbringende sykdom som IPN er et åpent spørsmål. Det vanlige argumentet mot myndighetspålagte eller selvpålagte restriksjoner er at sykdommen "finnes overalt", og at det derfor vil være både dyrt og virkningsløst å innføre tiltak.



#### **6.4.1 Testing av stamfisk**

Testing av stamfisk med påfølgende fjerning av positive individer har aldri vært gjennomført fullstendig i Norge. Argumentene mot har vært kostnader, analysekapasitet, analyse sensitivitet, usikkerhet rundt betydningen av vertikal overføring av sykdommen og betydningen av et marint smittereservoir. Tidligere testing var basert på dyrking i cellekultur. Denne teknikken er kostbar og tidkrevende. Med dagens svært følsomme PCR tester er det mulig å teste et høyt antall fisk til en overkommelig pris, og eventuelle falske positive prøver vil i denne sammenheng ha liten eller ingen betydning. Dersom ny forskning viser at vertikal overføring er av betydning for spredning av IPN, vil det være fullt mulig å innføre et kontrollregime hvor testing av stamfisk inngår (se kap. 2).

#### **6.4.2 Sanering i ferskvannsfasen**

I et nyhetsbrev hevder Patogen Analyse at resultater fra deres forskning viser at det er mulig å begrense IPN problemet kraftig ved å angripe det i ferskvannsfasen (24). Dette arbeidet har sitt utgangspunkt i et prosjekt finansiert gjennom Norges forskningsråd, og hovedfunnene er at det er lite smitte mellom anlegg i sjø, samtidig som hovedoverføringsveien er via settefiskanleggene. Virusene i settefiskanleggene kan hovedsakelig beskrives som etablerte husstammer, men sporadisk får man introdusert ny smitte via rogn. Dersom denne modellen er korrekt, følger det at man ved å gjennomføre en omfattende smittesanering av settefiskanleggene, samtidig som man kontrollerer overføringen av smitte via rogn ved screening av stamfisk, skal ha en mulighet til å stoppe overføringen av smitte til sjø (se også kap. 2). Denne måten å forklare smittespredningen på støttes i all hovedsak av modelleringsstudier fra Skottland og Irland (111, 112) som viser at det mest effektive biosikkerhetstiltaket vil være å kutte smitten fra ferskvann til sjøvann, tiltak i sjøen vil ha mindre betydning. Prinsippet testes nå ut ved at flere kommersielle aktører har startet screeningundersøkelser i sine settefiskanlegg. Ferskvannsavdelingen til Marine Harvest i Norge kombinerer dette med smittesanering (vask, desinfeksjon og brakklegging) og høynet standard for renhold i settefiskanleggene. Screening av stamfisk kan gjennomføres der man vurderer det som nødvendig/ønskelig (Pål Haldorsen, Marine Harvest, personlig kommunikasjon). IPN-virus er et svært motstandsdyktig virus, og et saneringsarbeid vil derfor være svært krevende både når det gjelder desinfeksjonsmidler/metode og ikke minst sette store krav til gjennomføring og oppfølging. I dag tas resirkulasjonsanlegg i større grad i bruk i settefiskproduksjon. En desinfeksjon av et slikt anlegg kan være svært krevende. Ikke minst vil dette gjelde sentrale enheter som biofilter.

#### **6.4.3 Avl**

Laks som er spesielt motstandsdyktig mot IPN er nå på full fart inn i norske anlegg (se kap. 4). Resultatene så langt er lovende, men ennå er det er for få data fra felt til å kunne konkludere. Dersom dette produktet innfrir forventningene, vil IPN-situasjonen kunne bli kraftig forbedret.

#### **6.4.4 Miljøforhold.**

Det er vel kjent at miljøforhold kan påvirke sykdomsutvikling ved virusinfeksjoner. Fra ca. 2005/2006 ble det vanlig blant en del næringsaktører å heve temperaturen for å kontrollere IPN-infeksjon i settefiskanlegg. Det foreligger ingen vitenskapelig dokumentasjon på effekten og bivirkningene av denne metoden, og det har vært hevdet at denne strategien bidrar til at problemet overføres til sjøvannsfasen. Dette baseres på muntlige rapporter fra fiskehelsepersonell om IPN-utbrudd med høy dødelighet i sjøvannsfasen på fisk som er blitt behandlet med temperaturheving i settefiskanlegget. Imidlertid finnes det også andre, tidligere erfaringsoppsummeringer som ikke har registrert dette.

#### **6.4.5. Vaksiner**

Kommersielle IPN-vaksiner har vært brukt i Norge siden 1995. Virkningen er begrenset, og det har ikke vært mulig å kontrollere IPN-situasjonen med dagens vaksiner (se kap. 5). Det har aldri vært noen pålegg eller anbefalinger fra forvaltningen når det gjelder bruk av vaksiner mot IPN.

#### **6.4.6. Utvikling av virulens og bekjempelsesstrategi**

Historien har vist oss at IPN-virus har stort potensiale for utvikling. Historiske data kan tyde på at de isolatene som finnes i næringen i dag er mer virulente for laks enn de var den gangen sykdommen ble introdusert. Generell teori tilsier at når et virus (eller en annen parasitt) har lett for å infisere nye verter, vil parasitten utvikle seg slik at reproduseringshastigheten blir høyere og virulensen kan øke fordi det ikke lenger koster noe særlig for parasitten å drepe verten sin (diskutert i (113)). Spredningen av parasitten stopper ikke opp selv om verten dør. Sannsynligvis har dette skjedd med IPN-virus, som i løpet av relativt kort tid har fått mange nye, lett tilgjengelige verter å herje med. Hver gang det produseres et nytt virus er det en liten mulighet for at nettopp dette viruset er en ny variant med nye egenskaper (som for eksempel å kunne forårsake sykdom hos resistent fisk). Dersom den nye varianten formerer seg mer effektivt enn tidligere varianter kan den ta over, og resultatet blir et endret sykdomsbilde. Dersom man ønsker at nye tiltak som forbedrede vaksiner eller resistent fisk skal ha lengst mulig levetid, kan man bidra til dette ved å kutte smitteveier for å minske antall virusreplikasjoner i oppdrettsnæringen. Det kan ikke utelukkes at det norske forvaltningsregimet som har pålagt restriksjoner ved klinisk sykdom men ellers latt viruset ”flyte fritt”, har øket muligheten for utvikling av virulente varianter fordi man ikke har tatt evolusjon av viruset med i betraktningene.

#### **Takk**

Takk til Rob Raynard for informasjon om situasjonen i Storbritannia, og til Martin Binde for informasjon om arbeidet til Dyrehelsetilsynet og Mattilsynet.

## 7 Kartlegging av tiltak mot IPN

### 7.1 Bakgrunn

Den forrige kartleggingen utgitt i rapporten ”Erfaringer med IPN i norsk oppdrettsnæring” (okt. 2003), stadfestet utgangspunktet for at den ble gjennomført: *”IPN oppleves som et av de største helseproblemene i norsk oppdrettsnæring og alle deler av næringen er berørt. Problemet vurderes som økende eller i beste fall stabilt – ikke avtagende.”*

I de 8 årene som er gått siden dette er det gjort en betydelig innsats for å kontrollere IPN, uten at problemet er nevneverdig redusert. Hvorfor? Hvilke IPN-relevante kontrolltiltak er det snakk om, og på hvilket nivå utøves disse tiltakene? For å kunne evaluere innsatsen mot IPN er det nødvendig å få oversikt over de viktigste tiltakene som faktisk har vært anvendt i perioden etter 2003. Det synes også viktig å få kartlagt hvilke tiltak som er gjort med ”produksjonsslidelsen” IPN i tankene, eller som tiltak mot ”infeksjonssykdommen” IPN. Dette prosjektet er mindre omfattende og ikke en reprise på forrige undersøkelse. Formålet nå er å undersøke i hvilken grad de viktigste tiltak identifisert i forrige rapport er blitt gjennomført, og hvilke som i dag vurderes som viktigst av næringen. En forenklet spørreundersøkelse er benyttet til å belyse dette.

### 7.2 Informasjon om spørreskjemaet og besvarelser:

Spørreundersøkelsen ble utarbeidet av Nofima i samarbeid med fagpersoner tilknyttet næringen for å sikre en praktisk relevans. Det ble sendt ut et spørreskjema til medlemmer av Akvaveterinærenes forening og Fiskehelseforeningen/Tekna. Oppfordring om å delta gikk til de som jobber som fiskehelsepersonell i næringa eller i andre relevante posisjoner i forhold til undersøkelsen. Dette var en enkel form for distribusjon, og skjemaet gikk ikke som forrige gang ut til oppdretterne også. Det ble antatt at skjemaet ville nå fagpersoner knyttet både til fiskehelsetjenester og større næringsaktører, og med godt kjennskap til valg av prosedyrer. Formålet var å få flest mulige tilbakemeldinger rundt tiltak mot IPN de siste 5 - 10 år, og mange nok til å gi et bilde av hvilke tiltak som ble mest benyttet. Spørsmålene var delt inn i IPN-tiltak for stamfisk, settefisk og matfisk-anlegg, slik at hver kunne besvare det som var relevant for deres erfaringsområde/anleggstype og la resten stå åpent. Helt til slutt i skjemaet ble det bedt om en generell vurdering og kommentarer, som vi ønsket besvart av alle uansett anleggstype-erfaring.

Valg av spørsmål bygde i stor grad på de viktigste anbefalte tiltak som var resultatet av forrige erfaringskartlegging i regi av FHF. I tillegg ble det inkludert spørsmål knyttet til offentlig forvaltning og nye områder, som bruk av IPN-resistent QTL-fisk. Undersøkelsen var ment å kunne besvares raskt, og benyttet stort sett valg av oppgitte alternativer til avkryssing. Det ble i tillegg åpnet for kortfattede utdypninger og andre forslag der det følte nødvendig. Resultatene er ikke knyttet opp mot de som svarte, men hver deltager ble bedt om å oppgi antall konsesjoner for stam-, sette- og matfiskanlegg de har tilsyn med, og fylket hvor erfaringene er gjort. Dette var nødvendig for å kunne vite omfanget av konsesjoner som resultatene bygger på, og geografisk dekning.

### 7.3 Dekningsgrad og geografisk fordeling av besvarelsene

Oppgitt antall konsesjoner fra undersøkelsen er relatert til oversikt over lakse- og ørretkonsesjoner i Norge (kilde: Norsk Fiskeoppdrett 09/2011 og Fiskeridirektoratets statistikkdatabase 090611). Opplysningene i besvarelsene tillot ikke alltid rene fylkesvise fordelinger og er da angitt som regioner med 2 eller 3 fylker samlet.

Tabell 1 Oppgitt antall per registrerte stamfiskkonsesjoner

<b>Totalt i Norge:</b>	<b>11/29 (38 %)</b>
Troms og Nordland	0/4
Sør-Trøndelag og Møre & Romsdal	8/13 (62 %)
Sogn & Fjordane	0/3
Hordaland og Rogaland	3/9 (33 %)

Tabell 2 Oppgitt antall per registrerte settefiskkonsesjoner

<b>Totalt i Norge:</b>	<b>99/212 (47 %)</b>
Finnmark og Troms	14/14 (100 %)
Nordland	13/31 (42 %)
Nord- og Sør-Trøndelag, Møre & Romsdal	53/66 (80 %)
Hordaland og Rogaland	16/67 (24 %)
Sogn & Fjordane	0/22
Telemark (reg. under øvrige fylker, totalt 12)	1
Agder (reg. under øvrige fylker)	0

Tabell 3 Oppgitt antall per registrerte matfiskkonsesjoner

<b>Totalt i Norge:</b>	<b>487/934 (52 %)</b>
Finnmark, Troms og Nordland	199/347 (57 %)
Nord- og Sør-Trøndelag, Møre & Romsdal	208/271 (77 %)
Hordaland og Rogaland	80/213 (38 %)
Sogn & Fjordane	0/86
Agder	0/17

Svarene for både settefisk og matfisk dekker ca 50 % av konsesjonene på landsbasis, noe som bør kunne gi et godt inntrykk av hva som gjøres av de tiltak mot IPN som det ble spurt om. For stamfisk er 38 % av konsesjonene dekket, og det var noe mindre enn ønskelig, men regionen S-T og M&R er godt representert med 62 %.

Det fremgår av tabellene at ikke alle regioner er like godt dekket, men av vestlandsfylkene er det kun S&F som det mangler besvarelser fra. Det er vanskelig å si om dette vil påvirke resultatene, som ikke er presentert fylkesvis, men på landsbasis. Tabellene gir ellers opplysning om hvor tyngepunktet for denne undersøkelsens besvarelser ligger geografisk.

## 8 Resultater fra spørreundersøkelsen

### 8.1 Stamfisk

Besvarelsene dekker 38 % av landets stamfiskkonsesjoner med tyngdepunkt på Sør-Trøndelag, Møre & Romsdal, Hordaland og Rogaland (se Tabell 1).

#### 8.1.1 Avl

*Avl for økt genetisk resistens ble i forrige rapport fremhevet som et langsiktig og ønskelig tiltak med effekt mot IPN. Det var da beskrevet tradisjonell avl ved seleksjon av IPN-resistente familier. I perioden etter har man gjennom forskning identifisert en QTL for økt IPN-resistens i atlantisk laks. Denne IPN-QTLen ser ut til å være et nyttig verktøy for å kunne produsere en fisk som er mer resistent mot IPN, og rogn med denne gunstige QTL-en tilbys nå som et nytt produkt til næringa (se kap. 4).*

I besvarelsene fra spørreundersøkelsen angir alle at det foretas spesielle tiltak for å sikre stamfisk med høy genetisk resistens mot IPN. Tradisjonell avl med seleksjon av stamfisk hvor avkom er testet mot IPN i smitteforsøk benyttes fortsatt av flere. Imidlertid svarer samtlige at det også brukes markørassistert seleksjon for IPN QTL både ved produksjon av elitepopulasjoner, produksjonsrogn og i noen grad avlskjerner. Det framkommer at ønsket om sikring av høy genetisk resistens mot IPN og troen på QTL-fisk som en mulig løsning på IPN-problemet, er stor.

#### 8.1.2. Vertikal IPN-virusmitte eller kontaminering av rogn og melke

*Resultater fra nyere forskning viser at vertikal overføring med stor sannsynlighet har en rolle i spredning av IPN-virus hos atlantisk laks, selv om ingen studier er helt konklusive på dette. Feltstudier i Norge har for eksempel vist at samme IPNV-stamme finnes i mange settefiskanlegg på tvers av ulike regioner og oppdrettsselskap. Eneste fellesnevner så ut til å være stamfisk eller stamfiskanlegg, noe som i høy grad sannsynliggjør vertikal smitteoverføring (se kap. 2). Det fremkom i forrige rapport at det i Norge ble brukt fiskegrupper som har hatt IPN, som stamfisk. Testing for IPNV-bærere hos stamfisk var lite utbredt, og det forelå ikke krav om at rogn fra positive bærere skulle kastes. Dette ser ikke ut til å ha endret seg nevneverdig.*

Besvarelsene viser at mye av praksisen i dag gir mulighet for smittespredning. Fiskegrupper som det er kjent har hatt IPN enten i ferskvann eller sjø benyttes fortsatt som stamfisk. Det foretas ikke saneringstiltak på stamfiskpopulasjoner i ferskvannsfasen. Stamfiskpopulasjoner vaksineres mot IPN, og testes som regel for IPN-virus bærerstatus før stryking. Likevel oppleves det sjelden eller aldri at stamfisken er IPN-virusfri ved testing. Dette kan være en av årsakene til at individuell stamfisktesting sjelden etterspørres av kunder. Påvisning av mange bærere fører ikke til særskilte tiltak med stamfisken før stryking, mens det i noen grad medfører tiltak med avlsproduktene etter stryking. Rognvæsken skylles bort før befruktning, men rognbatcher fra ulike stamfiskgrupper blandes etter befruktning. Rogna leveres ellers med dokumentasjon på overlevelse.

#### 8.1.3. Forvaltningsspørsmål

*Testing med påfølgende fjerning av IPNV-positive individer har aldri vært gjennomført fullstendig i Norge. Argumentene mot har vært kostnader, analysekapasitet, analysesensitivitet, usikkerhet rundt betydningen av vertikal overføring av sykdommen og*

*betydningen av et marint smittereservoir. IPN-testing av stamfisk med restriksjoner på stryking av bærere og stamfisk med IPN-historikk har vært foreslått, men aldri offisielt iverksatt (se kap. 6).*

Besvarelsene viser at det er delte meninger om det er praktisk mulig å unngå bruk av stamfisk med kjent IPNV-historikk, men tallmaterialet er noe begrenset her. Det argumenteres også mot at forvaltningsmessige føringer behøves i denne sammenheng, og det hevdes at næringen selv er best skikket til å handtere dette. Noen mener at avgjørelsen ligger hos kunden.

## **8.2 Settefisk og yngel**

Besvarelsene dekker omtrent halvparten (47 %) av landets settefiskkonsesjoner. Alle de viktigste regioner er representert, med unntak av Sogn & Fjordane (se Tabell 2).

### **8.2.1. Smitekilder og hygiene**

*Allerede i forrige rapport var de fleste opptatt av risikoen for inntak av IPN-virus ved innkjøp av rogn og yngel. Rogn og yngel kan enten være smittet av IPN-virus fra foreldre, eller fra andre infiserte egg/yngelbatcher ved bruk av flere leverandører, eller av "husstammer" med IPN-virus i anlegget. Ny forskning har vist at en del settefiskanlegg har husstammer av IPN-virus, men også at disse anleggene får påfyll med nye stammer, slik at enkelte anlegg har flere IPNV-stammer. Spesifikke IPNV-typer kan følges gjennom hele ferskvannsfasen og videre ut i sjø, noe som tyder på at fisken smittes før eller på yngelstadiet (kap. 2).*

Undersøkelsen slår fast at det i stor grad brukes rogn eller yngel fra flere leverandører (14/19), men samtidig holder de fleste rogn og yngel fra ulike leverandører smittehygienisk adskilt fra hverandre (12/16). Kun en mindre andel (4 av 16) rapporterer at yngelbatcher fra ulike leverandører blandes. På spørsmål om det innhentes informasjon om IPN-historikk og status hos foreldre og i anlegg det kjøpes fra, svarer 10/18 ja og 8/18 nei. Det er likevel relativt vanlig å kjøpe rogn og yngel fra stamfisk med IPN-historikk eller påviste IPNV-bærere (11/17). Årsaken til at dette skjer er i hovedsak vansker med å skaffe informasjon om IPNV-status, og mangel på tilgang på rogn/yngel fra IPNV-frie foreldre. Kun 2 av 17 mener IPN-historikk hos stamfisk ikke har betydning for seinere IPN.

De fleste gjør ikke testing for IPNV-bærerstatus etter innkjøp av yngel (13/18), men i de tilfeller dette gjennomføres benyttes Real Time PCR. Ganske mange holder ikke yngelgrupper med kjent og ukjent IPNV-bærerstatus smittehygienisk adskilt fra andre yngelgrupper (7/17). Ulike rogninnlegg blandes oftest i påvekstavdelingen, blanding i startfôringsavdelingen praktiseres i noen grad, mens blanding i klekkeriet gjøres i liten grad.

Det kommenteres av flere at ulike anlegg opererer med forskjellige hygieniske retningslinjer og også har ulike praktiske muligheter til å holde grupper av rogn og yngel adskilt. Flere nevner at de så langt det er mulig holder ulike yngelgrupper adskilt, men likevel skjer det en blanding pga produksjonsmessige eller plassmessige hensyn. Ønsket om å følge anbefalingene om atskilte grupper er tilstede, men er foreløpig ikke alltid mulig å følge i praksis.

### **8.2.2. Miljø, vannkvalitet og helse**

*Det er anbefalt at yngel i den kritiske perioden (yngre enn 1500 døgngrader) bør skånes for stress i form av dårlig vannkvalitet, sortering, flytting, høy tetthet med mer. Innblanding av sjøvann brukes i varierende grad i mange settefiskanlegg for å bedre vannkvaliteten, noe som er forbundet med økt risiko for IPN og desinfeksjon av sjøvann er påbudt. Klinisk IPN antas å*

*utløses av ugunstige driftsforhold og stress, noe som også er vist gjennom nyere forskning. Intensive driftsforhold i ferskvann i form av kombinasjonen lavt oksygennivå og høy tetthet har gitt signifikant forøket dødelighet etter IPN-virusmitte i sjøvann (kap. 5).*

Det kan variere hva de enkelte legger i begrepet intensiv drift, og følgende grenseverdier ble derfor definert i spørsmålene: Redusert vannforbruk under 0,3 l/kg/min, høyere tetthet enn 80 kg/kubikk, superoksygenering med høyere enn 100 % oksygen målt i karet, mer enn 15 mg karbondioksid i vannet og en oppholdstid for vannet i karet på mer enn 100 minutter.

Mange svarer at det drives intensiv drift i form av en eller flere av de definerte vannparametre. Oksygen, karbondioksyd, pH og temperatur måles jevnlig av de aller fleste (kontinuerlig logging eller daglig til ukentlig). Metallstatus måles av færre og også sjeldnere. Når det gjelder intensiv drift og måling av parametre, angir flere at dette praktiseres svært ulikt på forskjellige anlegg og at muligheter til overvåking og logging varierer. Noen kommentarer går på at de mener nitrogenovermetning kan være en risikofaktor og at dette burde følges opp bedre. Det anmerkes også at utstyret for måling som finnes på markedet er for dårlig.

Besvarelsene viser at få bruker sjøvann i kritisk periode (4/19), og etter kritisk periode angir 11 av 13 at det brukes i liten eller ingen grad. Halvparten har svart på spørsmål om desinfeksjonsmetode, og samtlige sier at UV benyttes. Lufting av vannet før bruk gjennomføres i noen grad (8/14).

Når det gjelder kortvarig temperaturheving til over 20 °C for å stoppe IPN-utbrudd, varierer bruken. Mens 5 av 17 benytter denne behandlingen ofte, bruker resten den sjelden eller aldri. Det anmerkes av noen at en del anlegg ikke har mulighet til å heve temperaturen til over 20 °C, noe som kanskje tilsier at flere ville benyttet denne behandlingen om de hadde hatt muligheten? Noen få sier at de ikke har hatt IPN-problemer, så dette er derfor uaktuelt. Det foreligger ingen vitenskapelig dokumentasjon på effekten og bivirkningene av denne metoden, og det hersker derfor en viss uenighet om dette kan bidra til overføring av problemet til sjøvannsfasen.

### **8.2.3. Smoltifisering og leveranse**

*At laksen er sjøvannsdyktig og fullstendig smoltifisert før den forlater settefiskanlegget er vesentlig for videre trivsel og overlevelse.*

Alle har svart at tester på sjøvannstoleranse/smoltvinduet avgjør når fisken er klar for overføring til sjøvann og leveranse. Ganske mange (11/17) opererer med en nedre grense på snittevekt av fisk til leveranse, og det utføres også en del sortering for å minske vekstspredning i grupper som skal leveres (11/19). Skrapfisk destrueres i ganske stor grad etter sortering (16/23), men ikke alle gjør dette (7/23). Det er gjerne ved mangel på nok smolt at utsortert fisk senere blandes inn i grupper av høyere kvalitet. Mer enn halvparten (10/16) angir at det gjøres tiltak for å redusere temperatursjokk ved overføring fra ferskvann til sjø. Her anmerkes det at dette ikke er en reell problemstilling i enkelte regioner lenger sør i landet.

### **8.2.4. IPN-resistens**

*Av feltdata ser IPN QTL-en ut til å gi god beskyttelse mot IPN i både ferskvann og sjøvann. Det produseres og tilbys stadig mer IPN-resistent QTL-fisk til næringen, som det stilles store forhåpninger til skal begrense IPN-problemet (se kap. 4).*

I undersøkelsen svarer svært mange at IPN-resistent QTL-fisk har vært benyttet i egne tilsynsanlegg (13/16), og at erfaringene i hovedsak er svært gode eller gode (13/15). De aller fleste vil benytte slik fisk igjen når muligheten byr seg. Det er kun et par som ikke vil ta i bruk QTL-fisk, enten fordi IPN ikke er et problem eller på grunn av kostnadene.

#### **8.2.5. Vaksinerings**

*Vaksiner mot IPN er vist å ha god effekt i smittetester hvor vaksineringsprosedyrer og forhold er optimale, men man har ikke funnet noen plausibel årsak til at det tross tilnærmet 100 % vaksinerings, rapporteres mange kliniske IPN-utbrudd fra felten. Hvor mye IPN-vaksiner reduserer dødeligheten under IPN-utbrudd er vanskelig å estimere, men det har blitt vist i feltforsøk at IPN-vaksiner gir spesifikk beskyttelse mot tap under sykdomsutbrudd, og dermed synes å være lønnsomme rent økonomisk (se kap. 5).*

I undersøkelsen svarer alle at IPNV-komponenten alltid er inkludert ved vaksinerings, med unntak av én som oppgir ”som regel”. Resultatene viser også at de aller fleste vil fortsette å bruke IPNV-komponenten ved vaksinerings av IPN-resistent QTL-fisk, men noen få er usikre (4/17).

I undersøkelsen svarer bare 2 av 16 at de alltid tar hensyn til vaksineprodusentenes anbefaling om vaksinerings et gitt antall døgngader før sjøsetting. De fleste (11/16) sier at de følger disse anbefalingene av og til, mens et fåtall aldri gjør det (3/16). Det anmerkes av flere at det er vanskelig å få nok antall døgngader etter vaksinerings og før sjøsetting, grunnet lave temperaturer i vannet. Kun et fåtall sier at de alltid følger anbefalte antall døgngader i kombinasjon med en minimumstemperatur, som er nødvendig for effektiv immunisering. De fleste (10/17) oppgir at de tar hensyn til disse anbefalingene av og til, mens 3 aldri gjør det. I nord er det nevnt at råvann kan være nede i 0,5 grader ved vaksinerings. Det bemerkes også at informasjon om anbefalt minimumstemperatur er ganske ny, og at det tar tid å få dette implementert i driften. Derimot følges anbefalingene om nedre vektgrense på fisken før vaksinerings i mye større grad (12/15). Det er en utbredt oppfatning (14/16) at driftsmessige hensyn ofte eller av og til går foran anbefalingene fra vaksineprodusentene.. Kun to besvarelser angir at praktisk drift ikke går foran disse anbefalingene. Det er tydelig ut i fra kommentarene at man ønsker å ta hensyn til anbefalingene, men at det er vanskelig å få til i praksis.

#### **8.2.6. Forvaltningsspørsmål**

*Restriksjoner på omsetning av yngel med IPN-historikk har tidligere vært diskutert og foreslått som tiltak, men ikke blitt offisielt iverksatt (se kap. 6).*

Det er delte meninger (50-50) om det bør innføres restriksjoner på omsetning av yngel med IPN-historikk. For de som mener ja, ønsker 10 av 12 et forbud mot å blande grupper med og uten IPN-historikk. Blant de som svarer nei, er begrunnelsene at det vil bli for lite yngel tilgjengelig og for kostbart, og flere tror ikke det vil ha noen positiv effekt på IPN-problemet. Det etterlyses bl.a. interne rutiner hos næringen, ikke myndighetsrestriksjoner. Ellers kommenteres det at hovedproblemet heller ligger på driftsmessige forhold i ferskvannsfasen, og at gode vann- og miljøforhold vil kunne redusere IPN problemene kraftig.



### 8.3 Matfisk

Besvarelsene dekker halvparten (52 %) av landets matfiskkonsesjoner. Alle regioner er representert, med unntak av Sogn & Fjordane og Agder (se Tabell 3)

#### 8.3.1. Smittekilder

*De fleste er nå enige om at viruset følger med fisken fra ferskvannsfasen, men horisontal smitte i sjø er også mulig, og har særskilt vært rapportert ved blanding av fiskegrupper fra forskjellige leverandører. Symptomfrie IPNV-bærere er svært utbredt hos laks, og de kan utgjøre en risiko både for vertikal, horisontal smitte og nytt utbrudd ved reaktivering av den "sovende" virusinfeksjonen. Hvor alvorlig denne trusselen er, vil avhenge av flere faktorer. Det er vist at både høy- og lavvirulent virus kan etablere en bærertilstand, men IPN-problemet er forventet å være størst ved reaktivering av en infeksjon med et høyvirulent virus (se kap. 3).*

Det går frem av spørreundersøkelsen at smolten blir levert fra settefiskprodusent med vaksineringsinformasjon (17/18). Videre blir den ofte levert fra settefiskprodusent med oppgitt IPN-historikk (13/20), men 6 av 20 bemerker at det er kun ved forespørsel. Smoltgrupper med og uten IPN-historikk blandes på samme lokalitet (17/18), og også grupper med ukjent IPN-historikk fra ulike leverandører blandes (12/15). Dette skjer til tross for at så og si alle svarer at blanding av grupper synes å øke risikoen for IPN-utbrudd (15/16). Det bemerkes at det er en tendens til uheldig blanding av grupper med ulik status på grunn av mangel på smolt. Det hevdes også at det er sjelden å ha fiskegrupper uten kjent IPN-historikk, men det prøves å unngå blanding av ulike grupper selv om det blir gjort i enkelte tilfeller.

Når det gjelder risikoen ved reaktivering av bærervirus med høy virulens og smittefare er det verdt å merke seg en kommentar fra spørreundersøkelsen, om at sekvensanalyser ved IPN-utbrudd har påvist IPN-virus karakterisert som lavvirulente. Det understreker igjen at virulens bare er en risikofaktor ved utbrudd.

Ellers viser spørreundersøkelsen at faren for IPN-utbrudd ansees å være størst om sommeren, dernest likt fordelt på høsten og våren. Det er ingen tydelige regionsvise forskjeller på når utbruddene forekommer i dette materialet.

#### 8.3.2. Smoltkvalitet

*Det er blitt vektlagt at smoltens kvalitet (optimal smoltifisering og størrelse bl.a.) ved utsett har betydning for forekomsten av IPN i sjø. I forrige IPN-rapport ble det anbefalt å innhente mest mulig informasjon om smolten og settefiskanleggets "IPN-historie".*

Spørreundersøkelsen viser at smolten i stor grad blir levert fra settefiskprodusenten med smoltifiseringsdata (15/19), og mange mottakere kontrollerer selv at utsett skjer innenfor smoltvinduet (12/16). De fleste bestiller også smolten med en nedre grense for snittvekt før utsett (11/15). Når det gjelder bestilling av smolt med mindre vektspredning i gruppen, svarer halvparten (11/21) at dette gjøres mens andre halvpart ikke gjør dette (10/21). Leveranse av skrapfisk aksepteres ikke (5/17), eller i liten grad (9/17).

#### 8.3.3. Stress

*Det er erfart at transport, håndtering og behandling (for eksempel avlusing), kan være en sykdomsutløsende årsak. Transport fra settefisk- til matfiskanlegg regnes som en kritisk fase der stress og skader kan forringe smoltens kvalitet. God velferd og helse hos smolt betyr et mer velfungerende immunforsvar i møte med IPN-viruset. Forskning har vist at stress kan utløse utbrudd når laksen bærer på IPN-virus (se kap 3 og 5).*

Undersøkelsen viser at det i stor grad gjøres spesielle stressreduserende tiltak (14/17), særlig ved tegn på sykdom (10/15), men få tar spesielle hensyn ved kjent IPN-virus bærertilstand (4/15). Anbefalingen om minimum oppholdstid på 6 timer i brønnbåt for å minske transportstress, følges av 10 av 18. Derimot gjør alle (17/17) spesielle tiltak for å få fisken raskt og godt i gang på før etter sjøsetting. Det nevnes også bruk av overgangsfôr og periodevis immunstimulerende fôr. Av særskilte tiltak som ellers er kommentert er rene nøter, god vanngjennomstrømming og nok oksygen. Avlusing med medisinpellets ved sykdom, hvis appetitten tillater det. Minst mulig håndtering, særlig ved lave temperaturer i sjøen, og redusert antall fisk per merd.

#### **8.3.4. Bærertesting og diagnostikk av IPN - valg av metodikk**

*Det finnes gode verktøy for påvisning av virus og for å stille en IPN-diagnose. Viruspåvisning blir vanligvis gjort ved PCR, men man kan også dyrke og kvantifisere virus i cellekultur. Selve diagnosen blir vanligvis stilt ved immunhistokjemi (se kap. 6.3). Påvisning av IPNV-bærere kan være et nyttig redskap ved vurdering av tiltak for å begrense IPN, men det krever tilstrekkelig følsomme metoder. Mengden av virus varierer og er mye lavere i en bærertilstand enn ved akutt sykdom, og det forskes stadig for å finne gode metoder som ikke krever avlivning før prøvetaking. Foreløpig synes ikke disse å være sensitive og pålitelige nok til å erstatte letal prøvetaking for eksempel ved stamfisktesting (se kap. 2).*

Besvarelsene viser at de fleste (15/17) sender prøver til analyser med immunhistokjemi ved mistanke om IPN. I noen grad benyttes IPN-hurtigtest (9 svarer ja på dette). Annen metodikk, som dyrking i cellekultur og påvisning ved Real Time PCR, brukes i mindre grad. Kun et mindretall (4) svarer at IPN-utbrudd innrapporteres/registreres. Men all den tid 15 svarer at immunhistokjemi benyttes ved mistanke om utbrudd, antas det at denne analysen skjer ved et offentlig laboratorium (Veterinærinstituttet) og at eventuelle positive funn registreres.

Oppdretterne synes ikke å være opptatt av IPNV-bærerstatus i sjøvannsfasen, da dette testes i liten grad (5/17). Det gjøres ikke rutinemessig, kun sporadisk, noe som begrunnes i den store utbredelsen av IPNV-bærere og at det dermed ikke er noe poeng med screening. Det nevnes likevel om forsøk med testing og sekvensering av virus, for å se sammenhenger og tolke utbrudd i forhold til spredning i anleggene, men med begrenset utbytte ifølge noen.

#### **8.3.5. Forvaltningsspørsmål**

*Redusert bruk av restriksjoner i forbindelse med påvisning av IPN i sjøanlegg har i stor grad vært retningsgivende forvaltningspraksis siden 1990-årene, og det ble vanlig å gi dispensasjon for sjøutsett av klinisk frisk smolt med IPN-historikk. I 2008 ble IPN tatt ut av den nasjonale sykdomslisten (liste 3) i forbindelse med EU-tilpasning. Sykdommen er ikke lenger varslingspliktig, og mistanke eller påvisning utløser ikke lenger restriksjoner fra myndighetene (se kap 6).*

På spørsmål om fjerning av meldeplikten i 2008 har ført til et endret syn på IPN, svarer de fleste nei (11/15). Likeså svarer de fleste at dette heller ikke har medført endrede rutiner ved IPN-utbrudd (14/16). Meningene er delte om sykdommen fortsatt burde vært listeført. Kommentarene går fra mistro til at myndighetenes restriksjonspraksis har hatt eller vil ha effekt på IPN – til at det er en skam at IPN ikke lenger er en meldepliktig sykdom. Noen tror det kan ha ført til lemping på tiltak for bekjempelsen av IPN i settefiskanlegg. Flere anmerker at fortsatt listeføring kunne medført mer forskning og større fokus på sykdommen fra oppdretternes side, og at behovet for kunnskap og kompetanse er stort.

#### **8.4 Kommentarer fra besvarelsene**

På spørsmål om hva som ansees som de mest effektive tiltak mot IPN, svarer mange god drift i settefiskanleggene og IPN-resistent QTL-fisk. For øvrig nevnes svært mange forskjellige forslag til tiltak både i settefisk- og sjøvannsfasen, og det synes å være ganske ulike meninger om hva de mest effektive enkelttiltakene er.

I undersøkelsen opplever de fleste at IPN-situasjonen generelt har vært uendret eller at det har vært en nedgang de siste 10 år. Veterinærinstituttets tallmateriale (kap.6, Fig. 2) viser noe variasjon, men totalt sett ikke nedgang i IPN i Norge de siste 10 år. Statistikken er basert på registrering av syk fisk, men skiller ikke mellom tilfeller av IPN med liten dødelighet eller meget alvorlige sykdomsbrudd.

På spørsmål om vurdering av forekomst og alvorlighetsgrad oppleves forekomsten hos settefisk å ha gått ned (8/14) eller er uendret (5/14). I alvorlighetsgrad har det også vært en nedgang hos 7 av 14, mens resten fordeler seg på ingen endring eller en økning. Meningene er delte om forekomsten av IPN har økt eller er redusert i sjøvann, og også om alvorlighetsgraden har økt eller gått ned. Dette kan i noen grad relateres til regionsvise forskjeller: I Troms og Finnmark oppfattes både forekomst og alvorlighetsgrad hos matfisk som økende, mens i andre regioner dominerer oppfattelsen av en uendret situasjon eller en nedgang de 10 siste år. Det samme gjelder for alvorlighetsgrad hos settefisk. Både en økning og nedgang rapporteres i Troms og Finnmark, i motsetning til de andre regionene hvor en uendret situasjon eller en nedgang er inntrykket.

Tre fjerdedeler av de som har svart på undersøkelsen har kjennskap til IPN-rapportene med de tiltak som ble anbefalt i 2003-2005. Halvparten oppgir å ha lest rapportene, mens ¼ bare delvis har lest de. Noen av de resterende har opplyst at de har kortere tid i bransjen enn 6-8 år.

## 9 Oppsummering

Virussykdommen IPN er et problem både i ferskvann og sjøvann, og har gitt norsk oppdrettsnæring de største økonomiske tapene siden starten på 70-tallet. Røster fra næringen selv har etter hvert uttrykt bekymring for de store fiskevelferdsmessige utfordringene som IPN påfører norsk oppdrettsfisk. Dette er også aspekter som blir stadig viktigere å ta hensyn til når det gjelder oppdrettsnæringens omdømme.

Det utføres tiltak som er rettet både mot IPN som en produksjonsslidelse og mot IPN som en smittsom virussykdom. De førstnevnte er knyttet til optimalisering av driftsforhold og sikring av god fiskehelse, mens de sistnevnte er tiltak med formål å bekjempe viruset. Felles for alle er at de er sykdomsbekjempende tiltak. Den utbredte bærertilstanden av IPN-virus i fisk uten sykdomstegn har medvirket til en skjult virusspredning, og utgjør kanskje den største utfordringen i dag. Det synes også som det i lang tid ikke har vært lagt nok vekt på å hindre IPN-viruset i å spre seg fritt. Dette kan være i ferd med å snu, men det krever vilje og mulighet til bruk av ressurser - med inntjening som mål på noe lengre sikt.

Oppsummert har rapportens gjennomgang av ny kunnskap kombinert med resultatene fra spørreundersøkelsen, løftet fram følgende 5 områder som de viktigst i bekjempelsen av IPN:

### 9.1 Optimalisering av driftsforhold og fiskehelse

Forutsetningen for et sykdomsutbrudd ligger i samspillet mellom virus, vert og miljø, og fiskens generelle helsetilstand vil blant annet påvirkes av driftsformer og miljøet rundt. Noen studier er gjort for å identifisere negative driftsforhold som kan utløse IPN eller øke IPN-dødeligheten, og gir anvendbare råd om hvilke grenser som ikke må overskrides av helse og velferdshensyn (kap. 5).

Når det gjelder intensiv drift og måling av vannparametere, angir flere i undersøkelsen at dette praktiseres svært ulikt på forskjellige settefiskanlegg, og at mulighetene til overvåking og logging varierer. Dette synliggjør utfordringene dersom fisken skal gis optimale miljøforhold gjennom hele produksjonssyklusen. Det virker å være så store variasjoner i de viktigste produksjonsbetingelsene som brukes i settefiskanleggene, at det kanskje burde etableres standardiserte verdier av miljøparametre knyttet til disse. Her trengs det bedre måleutstyr og mer forskning og kompetanse for å finne betingelser som kan forsvares både i forhold til fiskevelferd og en lønnsom produksjon.

At laksen er sjøvannsdyktig og fullstendig smoltifisert før den forlater settefiskanlegget er vesentlig for videre trivsel og overlevelse, men det har vært hevdet at det settes fisk ut i sjøen som ikke er godt nok smoltifisert. Hvor stort problemet er vites ikke, men i denne undersøkelsen svarte samtlige at tester på sjøvannstoleranse/smoltvinduet avgjør når fisken er klar for overføring til sjøvann og leveranse. Det er tidligere blitt vektlagt at smoltens kvalitet ved utsett har betydning for forekomsten av IPN i sjø, og i forrige IPN-rapport ble det anbefalt å innhente mest mulig informasjon om smolten og settefiskanleggets "IPN-historie". Denne spørreundersøkelsen viser at smolten nå stort sett blir levert fra settefiskprodusenten med smoltifiseringsdata, og mange mottakere kontrollerer selv at utsett skjer innenfor smoltvinduet. God velferd og helse hos smolt betyr et mer velfungerende immunforsvar i møte med IPN-viruset. Forskning har vist at stress, men også selve smoltifiseringsprosessen og overføringen til sjøvann, kan utløse utbrudd når laksen bærer på IPN-virus (kap 3 og 5). Undersøkelsen viser at næringen er klar over utfordringene og det er vanlig å gjøre spesielle

stressreducerende tiltak, særlig ved tegn på sykdom, men at få tar spesielle hensyn ved kjent IPN-virus bærertilstand.

## **9.2 Vaksiner mot IPN**

Vaksiner mot IPN er vist å ha god effekt i smittetester hvor vaksineringsprosedyrer og forhold er optimale, men til tross for tilnærmet 100 % vaksineringsprosedyrer rapporteres fortsatt mange kliniske IPN-utbrudd fra felten. I hvilken grad IPN-vaksiner reduserer dødeligheten under IPN-utbrudd er vanskelig å estimere, men det har blitt vist i feltforsøk at IPN-vaksiner gir spesifikk beskyttelse mot tap under sykdomsutbrudd, og de synes dermed å være lønnsomme (kap. 5).

Undersøkelsen bekrefter at tilnærmet alle vaksinerer mot IPN, og viser også at de aller fleste vil fortsette med det ved bruk av IPN-resistent QTL-fisk. Noen få er usikre og det peker på et nytt område som bør studeres.

Ikke mange valgte vaksiner som det viktigste tiltaket i denne spørreundersøkelsen, men flere etterlyser gode vaksiner. Nødvendige prosedyrer for å få optimal effekt av vaksinene oppgis av produsentene, men deres anbefaling om vaksineringsprosedyrer og gitt antall døgngader før sjøsetting følges i liten grad. Kun et fåtall sier at de alltid følger anbefalte antall døgngader i kombinasjon med en minimumstemperatur, som er nødvendig for effektiv immunisering. Det anmerkes av flere at lave temperaturer i vannet byr på vansker i denne sammenheng. Det er også en utbredt oppfatning at driftsmessige hensyn relativt ofte går foran anbefalingene fra vaksineprodusentene. Her foreligger kunnskap som det vanskelig kan tas hensyn til i praktisk drift, eller på grunn av naturgitte forhold. Dette kan være med på å forklare noe av forskjellene i vaksineeffekt observert i felt og i testforsøk, hvor alle anbefalingene følges.

IPN-vaksiner er vist å redusere sykdomsutbrudd, men fjerner ikke viruset, og dagens vaksiner er derfor ikke et effektivt virusbekjempende tiltak. Studier har også vist at vaksiner av fisk som allerede er IPNV-bærere beskytter mot IPN som skyldes reaktivering etter sjøsett, men fjerner ikke viruset (kap. 3)

Det knyttes håp til utvikling av IPN-vaksiner som kan beskytte laksen effektivt i den tidlige, mest mottakelige livsfase. Dette er fortsatt en stor utfordring, også i lys av kunnskapen om at IPN-viruset ofte introduseres svært tidlig og følger fisken.

## **9.3 IPN-resistent QTL-fisk**

I perioden etter forrige IPN-rapport er det gjennom forskning identifisert en QTL for økt IPN-resistens i atlantisk laks. Denne IPN QTL-en ser ut til å være et nyttig verktøy for å kunne produsere en fisk som er mer resistent mot IPN. Av felldata ser IPN QTL-en ut til å gi god beskyttelse mot IPN i både ferskvann og sjøvann. (kap. 4). Det produseres og tilbys stadig mer IPN-resistent QTL-fisk til næringen, som stiller store forhåpninger til at dette skal begrense IPN-problemet.

Atlantisk laks selekteres for økt IPN-resistens både ved tradisjonell avl basert på smittetester og ved hjelp av IPN QTL-en. Det framkommer i undersøkelsen at tradisjonell avl fortsatt benyttes av flere for å sikre stamfisk med høy resistens mot IPN, men samtlige svarer at det også brukes markørassistert seleksjon for IPN-QTL ved produksjon av rogn. Svært mange

svarer også at IPN-resistent QTL-fisk har vært benyttet i egne tilsynsanlegg, og at erfaringene i hovedsak er svært gode eller gode.

I kommentarene er tiltaket med QTL-fisk ellers nevnt som et kvantesprang i kampen mot IPN, og at resultatene så langt er meget overbevisende. Derfor bemerker noen at dette fort kan bli en "sovepute" for anlegg med IPN-problemer på grunn av dårlige driftsforhold, som det dermed kan unnlates å gjøre noe med. Andre røster har tidligere uttrykt bekymring for samspillet mellom IPN-resistent QTL-fisk og IPN-viruset, og muligheten for utvikling av mer virulente virusstammer i fisken. Et viktig spørsmål i denne sammenhengen har vært om IPN-viruset fortsatt bæres i den friske QTL-fisken etter smitte? De studiene som så langt er presentert viste en klar reduksjon i antall IPNV-bærere i QTL-fisk sammenlignet med standard fisk etter smitte, men den genetiske resistensen mot IPN fjernet ikke viruset helt.

Bruk av QTL-fisk som tiltak mot IPN er nytt, og reiser derfor en del spørsmål: Hvordan er robusthet mot andre sykdommer i dagens multifaktorielle sykdomsbilde? Hvis QTL-fisken ikke kvitter seg med IPN-viruset og blir bærere, vil den genetiske IPN-resistensen likevel minske faren for reaktivering og nye utbrudd? Hvordan er motstanden mot IPN-virus av forskjellig virulens? Dette er oppgaver for forskningen å gi svar på, men likevel er bruk av QTL-fisk det tiltaket flest spurte har mest tro på vil ha betydning for å løse IPN-problemet.

#### **9.4 Smittekilder og virussanering**

Resultater fra nyere forskning viser at rogn og yngel enten kan være smittet av IPN-virus fra foreldre, eller fra andre infiserte egg/yngelbatcher ved bruk av flere leverandører, eller av "husstammer" med IPN-virus i anlegget. De fleste er nå enige om at viruset følger med fisken fra ferskvannsfasen, men horisontal smitte i sjø er også mulig, og har spesielt vært rapportert ved blanding av fiskegrupper fra forskjellige leverandører. Symptomfrie IPNV-bærere er svært utbredt hos laks, og de kan utgjøre en risiko både for vertikal og horisontal smitte, og nytt utbrudd ved reaktivering av den "sovende" virusinfeksjonen (kap. 2).

Det fremkom i forrige IPN-rapport at det som stamfisk ble brukt fiskegrupper som har hatt IPN. Testing for IPNV-bærere hos stamfisk var lite utbredt, og det forelå ikke krav om at rogn fra positive bærere skulle kastes. Dette ser ikke ut til å ha endret seg nevneverdig. Besvarelsene viser at mye av praksisen i dag gir mulighet for smittespredning. Fiskegrupper som det er kjent har hatt IPN enten i ferskvann eller sjø, benyttes fortsatt som stamfisk. Det foretas ikke saneringstiltak på stamfiskpopulasjoner i ferskvannsfasen, antagelig fordi det sjelden eller aldri oppleves at stamfisken er IPN-virusfri ved testing. Derfor er det relativt vanlig å kjøpe rogn og yngel fra stamfisk med IPN-historikk eller påviste IPNV-bærere. Ganske mange holder heller ikke yngelgrupper med kjent og ukjent IPNV-bærerstatus smittehygienisk adskilt fra andre yngelgrupper. Det er likevel nesten ingen som mener at dette er uten betydning for senere IPN.

Det kommenteres av flere at ulike anlegg opererer med forskjellige hygieniske retningslinjer, og har også ulike praktiske muligheter til å holde grupper av rogn og yngel adskilt. Ønsket om å følge anbefalingene er tilstede, men det er foreløpig ikke alltid mulig i praksis. Smoltgrupper med og uten IPN-historikk blandes også på samme lokalitet, dette til tross for at så og si alle svarer at blanding av grupper synes å øke risikoen for IPN-utbrudd. Hva er det da som styrer dette? I svarene grunngis uheldig blanding av grupper med ulik status blant annet med smoltmangel, eller at fiskegrupper uten kjent IPN-historikk er sjeldne.

Fokus på tiltak i ferskvannsfasen er økende, og troen på at det vil få IPN-problemet under kontroll styrkes av nyere forskning og erfaringer. Smitte mellom anlegg i sjø tillegges stadig mindre vekt. Dersom dette er riktig kan en omfattende smittesanering av settefiskanleggene, samtidig som man kontrollerer overføringen av smitte via rogn ved screening av stamfisk, være veien å gå for å minske overføringen av smitte til sjø. Et saneringsarbeid vil likevel være krevende fordi IPN-virus er svært motstandsdyktige, og mer forskning trengs for å finne gode metoder for viruspåsvining som ikke krever avlivning før prøvetaking av stamfisk.

At næringen også har utfordringer i dilemmaet mellom ønsket om å følge smittehygieniske anbefalinger, og de praktiske og økonomisk hensyn, kommer klart frem her (og for så vidt på flere andre områder). Dette er spesielt viktig å løse, siden sanering og kontroll med smitte er de eneste direkte virusreducerende tiltak i næringen. De andre er tiltak som bekjemper sykdommen, men ikke alltid viruset.

## **9.5 Restriksjoner og bekjempelsesplaner for IPN**

Testing med påfølgende fjerning av IPNV-positive individer har aldri vært gjennomført fullstendig i Norge. IPN-testing av stamfisk med restriksjoner på stryking av bærere og stamfisk med IPN-historikk har vært foreslått, men aldri offisielt iverksatt. Det har heller aldri vært restriksjoner på omsetning av yngel med IPN-historikk. I 2008 ble IPN tatt ut av den nasjonale sykdomslisten (liste 3) i forbindelse med EU-tilpasning. Sykdommen er ikke lenger varslingspliktig, og mistanke eller påvisning utløser ikke lenger restriksjoner fra myndighetene. For at en sykdom skal listeføres, må den være gjenstand for offentlige tiltak. I praksis betyr dette en bekjempelsesplan, og det har man ikke for IPN (kap. 6).

Besvarelsene viser at det er delte meninger om det er praktisk mulig å unngå bruk av stamfisk med kjent IPNV-historikk. Det argumenteres også mot at forvaltningsmessige føringer behøves i denne sammenheng, og det hevdes at næringen selv er best skikket til å håndtere dette. Meninger om det bør innføres restriksjoner på omsetning av yngel med IPN-historikk er også delt. Blant de som mener ja, ønsker de fleste et forbud mot å blande grupper med og uten IPN-historikk. Blant de som svarer nei, er begrunnelsene at det vil bli for lite yngel tilgjengelig og for kostbart, og flere tror ikke det vil ha noen positiv effekt på IPN-problemet. Det etterlyses også her interne rutiner hos næringen, ikke myndighetsrestriksjoner.

Av svarene framgår det ikke at fjerning av meldeplikten i 2008 har ført til endrede rutiner eller syn på IPN. Meningene er likevel delte om sykdommen fortsatt burde vært listeført. Kommentarene går fra mistro til at myndighetenes restriksjonspraksis har hatt eller vil ha effekt på IPN – til at det er en skam at IPN ikke lenger er en meldepliktig sykdom. Noen tror imidlertid det kan ha ført til lemping på tiltak for bekjempelsen av IPN i settefiskanlegg. Flere mener at fortsatt listeføring ville medført mer forskning og større fokus på sykdommen fra oppdretternes side.

Det synes ikke som om fjerning av IPN fra listen har gitt en underrapportering av sykdommen, selv om kun et mindretall svarer at IPN-utbrudd innrapporteres/registreres. De fleste sier likevel at prøver sendes til immunhistokjemi (Veterinærinstituttet) ved mistanke om utbrudd, og det antas derfor at eventuelle positive funn registreres. Veterinærinstituttet har også tidligere fått tilbakemeldinger fra fiskehelsetjenestene om at de ikke har endret praksis, og årene 2008 - 2010 ser ikke ut til å skille seg nevneverdig fra foregående år (kap.6, Fig. 2).

Det offentlige gjør ingen spesifikke tiltak for å begrense utbredelsen av IPN i dag, og det betyr at arbeidet med å begrense sykdommen stort sett er overlatt til næringa gjennom de tiltak som er beskrevet i rapporten. Det er urealistisk å forvente at tiltak som forbedrede vaksiner eller resistent fisk alene skal fjerne eller kontrollere IPN-viruset. Kontroll med smitteveier og reservoarer er derfor nødvendig dersom man ønsker at disse nye tiltakene skal ha mer varig effekt. Om det er myndighetspålagte eller selvpålagte restriksjoner som trengs for å oppnå dette er et åpent spørsmål.

**Takk til:** Ellef Blakstad og Karianne Jakobsen, Akvaveterinærenes forening og Iver Hille og Lilly K. Langnes, Fiskehelseforeningen/Tekna for hjelp til distribuering av spørreskjema til sine medlemmer – og ikke minst takk til de som tok seg tid til å svare. Uten velvillig bistand fra næringen selv kunne ikke dette prosjektet vært gjennomført.



## 10 Referanser

1. Evensen, Ø. and N. Santi, *Infectious pancreatic necrosis virus*, i *Encyclopedia of Virology*, B.W.J. Mahy and M.H.V. Van Regenmortel, Editors. 2008, Elsevier: Oxford. p. 83-89.
2. Noguera, P.A. and D.W. Bruno, *Liver involvement in post-smolt Atlantic salmon, *Salmo salar* L., infected with infectious pancreatic necrosis virus (IPNV): a retrospective histopathological study*. *Journal of Fish Diseases*, 2010. 33(10): p. 819-832.
3. Santi, N., V.N. Vakharia, and Ø. Evensen, *Identification of putative motifs involved in the virulence of infectious pancreatic necrosis virus*. *Virology*, 2004. 322(1): p. 31-40.
4. Shivappa, R.B., H. Song, et al., *Molecular characterization of Sp serotype strains of infectious pancreatic necrosis virus exhibiting differences in virulence*. *Diseases of Aquatic Organisms*, 2004. 61(1-2): p. 23-32.
5. Song, H.C., N. Santi, Ø. Evensen, and V.N. Vakharia, *Molecular determinants of infectious pancreatic necrosis virus virulence and cell culture adaptation*. *Journal of Virology*, 2005. 79(16): p. 10289-10299.
6. Mutoloki, S. and Ø. Evensen, *Sequence similarities of the capsid gene of Chilean and European isolates of infectious pancreatic necrosis virus point towards a common origin*. *Journal of General Virology*, 2011. 92: p. 1721-1726.
7. Santi, N., H. Song, V.N. Vakharia, and Ø. Evensen, *Infectious pancreatic necrosis virus VP5 is dispensable for virulence and persistence*. *Journal of Virology*, 2005. 79(14): p. 9206-9216.
8. Coulibaly, F., C. Chevalier, B. Delmas, and F.A. Rey, *Crystal structure of an Aquabirnavirus particle: insights into antigenic diversity and virulence determinism*. *Journal of Virology*, 2010. 84(4): p. 1792-9.
9. Julin, K., L.H. Johansen, and A.I. Sommer, *Reference genes evaluated for use in infectious pancreatic necrosis virus real-time RT-qPCR assay applied during different stages of an infection*. *Journal of Virological Methods*, 2009. 162(1-2): p. 30-39.
10. Skjelstad, B., *Fakta om IPN*. 2005, VESO. p. 1-11.  
<http://www.fiskerifond.no/files/projects/attach/faktaomipn1.pdf>
11. Skjelstad, B., E. Brun, et al., *IPN in salmonids - a review*. 2003, VESO: Oslo. p. 1-115.  
<http://www.fiskerifond.no/files/projects/attach/ipnsalmonids.pdf>
12. Chaves-Pozo, E., J. Montero, A. Cuesta, and C. Tafalla, *Viral hemorrhagic septicemia and infectious pancreatic necrosis viruses replicate differently in rainbow trout gonad and induce different chemokine transcription profiles*. *Developmental and Comparative Immunology*, 2010. 34(6): p. 648-658.
13. Chaves-Pozo, E., J. Zou, C.J. Secombes, A. Cuesta, and C. Tafalla, *The rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) interferon response in the ovary*. *Molecular Immunology*, 2010. 47(9): p. 1757-1764.
14. Evensen, Ø., *IPN virus hos stamfisk av regnbueørret. Sluttrapport FHF prosjektnr 552044*. 2009.
15. Bowers, R.M., S.E. Lapatra, and A.K. Dhar, *Detection and quantitation of infectious pancreatic necrosis virus by real-time reverse transcriptase-polymerase chain reaction using lethal and non-lethal tissue sampling*. *Journal of Virological Methods*, 2008. 147(2): p. 226-234.
16. Murray, A.G., *An Epidemiological Model Of A Pathogen Affecting Aquaculture: Infectious Pancreatic Necrosis Virus In Scottish Farmed Salmon*. Modsim 2005: International Congress on Modelling and Simulation: Advances and Applications for Management and Decision Making: Advances and Applications for Management and Decision Making, ed. A. Zenger and A.R. M. 2005. 2595-2601.
17. Munro, E.S., C.P. Millar, and T.S. Hastings, *An analysis of levels of infectious pancreatic necrosis virus in Atlantic salmon, *Salmo salar* L., broodstock in Scotland between 1990-2002*. *Journal of Fish Diseases*, 2010. 33(2): p. 171-177.
18. Smail, D.A. and E.S. Munro, *Isolation and quantification of infectious pancreatic necrosis virus from ovarian and seminal fluids of Atlantic salmon, *Salmo salar* L.* *Journal of Fish Diseases*, 2008. 31(1): p. 49-58.
19. Munro, E.S. and A.E. Ellis, *A comparison between non-destructive and destructive testing of Atlantic salmon, *Salmo salar* L., broodfish for IPNV - destructive testing is still the best at time of maturation*. *Journal of Fish Diseases*, 2008. 31(3): p. 187-195.
20. Lopez-Jimena, B., E. Garcia-Rosado, et al., *Detection of infectious pancreatic necrosis virus (IPNV) from asymptomatic redbanded seabream, *Pagrus auriga Valenciennes*, and common seabream, *Pagrus pagrus* (L.), using a non-destructive procedure*. *Journal of Fish Diseases*, 2010. 33(4): p. 311-319.
21. Storset, A., Ø. Evensen, and P.J. Midtlyng, *A user's inter-laboratory comparison of broodfish screening for infectious pancreatic necrosis virus using molecular and conventional diagnostic methods*. *Dev Biol (Basel)*, 2006. 126: p. 101-5; discussion 325-6.
22. Taksdal, T., *Overføring av IPN virus fra stamfisk til avkom. Sluttrapport FHF prosjektnr 150783/120*. 2003.

23. Evensen, Ø., *Vertikal overføring av IPN virus hos Atlantisk laks. Faktaark, Forskningsrådsprosjekt nr 159737/S40*. 2005.
24. Anonymous, *IPN - et ferskvannsprøblem, Pathos* 2011. 2.  
[http://project.vbook.no/project.asp?version\\_id=838#b1](http://project.vbook.no/project.asp?version_id=838#b1)
25. Evensen, Ø. (2005) *Studies of factors related to susceptibility or resistance to IPN virus infection in Atlantic salmon throughout the production cycle-with focus on virulence*. Sluttrapport FHF projektnr 152043/120.
26. Midtlyng, P.J., *IPN-virustesting av stamfisk av laks: Metode-evaluering og forsøk på forbedring. Faktaark, Forskningsrådsprosjekt nr 168438/S40*. 2008.
27. Wallace, I.S., A. Gregory, A.G. Murray, E.S. Munro, and R.S. Raynard, *Distribution of infectious pancreatic necrosis virus (IPNV) in wild marine fish from Scottish waters with respect to clinically infected aquaculture sites producing Atlantic salmon, Salmo salar L*. Journal of Fish Diseases, 2008. 31(3): p. 177-186.
28. Bebak, J. and P.E. McAllister, *Continuous exposure to infectious pancreatic necrosis virus during early life stages of rainbow trout, Oncorhynchus mykiss (Walbaum)*. Journal of Fish Diseases, 2009. 32(2): p. 173-181.
29. Urquhart, K., A.G. Murray, et al., *Estimation of infectious dose and viral shedding rates for infectious pancreatic necrosis virus in Atlantic salmon, Salmo salar L., post-smolts*. Journal of Fish Diseases, 2008. 31(12): p. 879-887.
30. Muller, M., P. Ilardi, and R. Avendano-Herrera, *Efficacy of a commercial disinfectant against Vibrio ordalii, Vibrio anguillarum, Francisella sp and Infectious Pancreatic Necrosis Virus (IPNV) pathogens of Atlantic salmon (Salmo salar) farmed in Chile*. Archivos De Medicina Veterinaria, 2011. 43(1): p. 73-78.
31. Liltved, H., C. Vogelsang, I. Modahl, and B.H. Dannevig, *High resistance of fish pathogenic viruses to UV irradiation and ozonated seawater*. Aquacultural Engineering, 2006. 34(2): p. 72-82.
32. Verner-Jeffreys, D.W., C.L. Joiner, et al., *Development of bactericidal and virucidal testing standards for aquaculture disinfectants*. Aquaculture, 2009. 286(3-4): p. 190-197.
33. Johansen, L.-H., G. Eggset, and A.-I. Sommer, *Experimental IPN virus infection of Atlantic salmon parr; recurrence of IPN and effects on secondary bacterial infections in post-smolts*. Aquaculture, 2009. 290(1-2): p. 9-14.
34. Jarpe, J., A.G. Gjevre, A.B. Olsen, and T. Bruheim, *Risk-Factors for Furunculosis, Infectious Pancreatic Necrosis and Mortality in Post-Smolt of Atlantic Salmon, Salmo-Salar L*. Journal of Fish Diseases, 1995. 18(1): p. 67-78.
35. Sommer, A.I., D.H. Knappskog, and O.M. Rødseth, *Ny smittemodell for IPN- et viktig bidrag i kampen mot sykdommen, Norsk Fiskeoppdrett*. 1998. 18: p. 30-32.
36. Evensen, Ø., N. Santi, A.I. Sommer, and S. Mjaaland, *Virulensmekanismer, i Havbruksforskning: Fra merd til mat*, M. Thomassen, et al., Editors. 2006, Norges Forskningsråd. p. 163-175.
37. Sommer, I. and A.I. Sommer, *Bør en vaksinere laks som allerede er bærere av IPN-virus?. Norsk Fiskeoppdrett*. 2010. 11: p. 54-56.
38. Robertsen, B., *Expression of interferon and interferon-induced genes in salmonids in response to virus infection, interferon-inducing compounds and vaccination*. Fish Shellfish Immunol, 2008. 25(4): p. 351-7.
39. Robertsen, B., V. Bergan, T. Røkenes, R. Larsen, and A. Albuquerque, *Atlantic salmon interferon genes: cloning, sequence analysis, expression, and biological activity*. J Interferon Cytokine Res, 2003. 23(10): p. 601-12.
40. Kileng, Ø., M.I. Brundtland, and B. Robertsen, *Infectious salmon anemia virus is a powerful inducer of key genes of the type I interferon system of Atlantic salmon, but is not inhibited by interferon*. Fish Shellfish Immunol, 2007. 23(2): p. 378-89.
41. Larsen, R., T.P. Røkenes, and B. Robertsen, *Inhibition of infectious pancreatic necrosis virus replication by Atlantic salmon Mx1 protein*. Journal of Virology, 2004. 78(15): p. 7938-7944.
42. Skjesol, A., T. Aamo, M.N. Hegseth, B. Robertsen, and J.B. Jørgensen, *The interplay between infectious pancreatic necrosis virus (IPNV) and the IFN system: IFN signaling is inhibited by IPNV infection*. Virus Res, 2009. 143(1): p. 53-60.
43. Jørgensen, J.B., L.H. Johansen, K. Steiro, and A. Johansen, *CpG DNA induces protective antiviral immune responses in Atlantic salmon (Salmo salar L.)*. Journal of Virology, 2003. 77(21): p. 11471-9.
44. Lockhart, K., A.J.A. McBeath, B. Collet, M. Snow, and A.E. Ellis, *Expression of Mx mRNA following infection with IPNV is greater in IPN-susceptible Atlantic salmon post-smolts than in IPN-resistant Atlantic salmon parr*. Fish & Shellfish Immunology, 2007. 22(3): p. 151-156.

45. Ellis, A.E., A. Cavaco, et al., *Histology, immunocytochemistry and qRT-PCR analysis of Atlantic salmon, Salmo salar L., post-smolts following infection with infectious pancreatic necrosis virus (IPNV)*. Journal of Fish Diseases, 2010. 33(10): p. 803-818.
46. McBeath, A.J.A., M. Snow, C.J. Secombes, A.E. Ellis, and B. Collet, *Expression kinetics of interferon and interferon-induced genes in Atlantic salmon (Salmo salar) following infection with infectious pancreatic necrosis virus and infectious salmon anaemia virus*. Fish & Shellfish Immunology, 2007. 22(3): p. 230-241.
47. Skjesol, A., I. Skjæveland, et al., *IPNV with high and low virulence: host immune responses and viral mutations during infection*. Virology Journal, 2011. 8: p. 396.
48. Garcia, I., A. Galiana, A. Falco, A. Estepa, and L. Perez, *Characterization of an infectious pancreatic necrosis (IPN) virus carrier cell culture with resistance to superinfection with heterologous viruses*. Veterinary Microbiology, 2011. 149(1-2): p. 48-55.
49. Rodriguez Saint-Jean, S., A.I. de las Heras, and S.I. Perez Prieto, *The persistence of infectious pancreatic necrosis virus and its influence on the early immune response*. Veterinary Immunology and Immunopathology, 2010. 136(1-2): p. 81-91.
50. Marjara, I.S., N. Bain, and Ø. Evensen, *Naive Atlantic salmon (Salmo Salar L.) surviving a lethal challenge with infectious pancreatic necrosis virus (IPNV) shows upregulation of antiviral genes in head-kidney, including Vig-2*. Aquaculture, 2011. 318(3-4): p. 300-308.
51. Roberts, R.J. and I.J. McKnight, *The pathology of infectious pancreatic necrosis virus. II. Stress-mediated recurrence*. British Vet J, 1976. 132: p. 209-213.
52. Taksdal, T., A. Ramstad, K. Stangeland, and B.H. Dannevig, *Induction of infectious pancreatic necrosis (IPN) in covertly infected Atlantic salmon, Salmo salar L., post smolts by stress exposure, by injection of IPN virus (IPNV) and by cohabitation*. Journal of Fish Diseases, 1998. 21(3): p. 193-204.
53. Melingen, G.O., F. Nilsen, and H.I. Wergeland, *The Serum Antibody-Levels in Atlantic Salmon (Salmo-Salar L) after Vaccination with Vibrio-Salmonicida at Different Times during the Smolting and Early Post-Smolt Period*. Fish & Shellfish Immunology, 1995. 5(3): p. 223-235.
54. Muona, M. and A. Soivio, *Changes in Plasma Lysozyme and Blood Leukocyte Levels of Hatchery-Reared Atlantic Salmon (Salmo-Salar L) and Sea Trout (Salmo-Trutta L) during Parr Smolt Transformation*. Aquaculture, 1992. 106(1): p. 75-87.
55. Pettersen, E.F., M. Ulvenes, G.O. Melingen, and H.I. Wergeland, *Peripheral blood and head kidney leucocyte populations during out-of-season (0+) parr-smolt transformation and seawater transfer of Atlantic salmon (Salmo salar L.)*. Fish & Shellfish Immunology, 2003. 15(5): p. 373-385.
56. Weyts, F.A.A., N. Cohen, G. Flik, and B.M.L. Verburg-van Kemenade, *Interactions between the immune system and the hypothalamo-pituitary-interrenal axis in fish*. Fish & Shellfish Immunology, 1999. 9(1): p. 1-20.
57. Das, B.K., K.K. Nayak, et al., *Expression of Mx protein in tissues of Atlantic salmon post-smolts--an immunohistochemical study*. Fish Shellfish Immunol, 2007. 23(6): p. 1209-17.
58. Rønneseth, A., H.I. Wergeland, M. Devik, Ø. Evensen, and E.F. Pettersen, *Mortality after IPNV challenge of Atlantic salmon (Salmo salar L.) differs based on developmental stage of fish or challenge route*. Aquaculture, 2007. 271(1-4): p. 100-111.
59. Bowden, T.J., D.A. Smail, and A.E. Ellis, *Development of a reproducible infectious pancreatic necrosis virus challenge model for Atlantic salmon, Salmo salar L.* Journal of Fish Diseases, 2002. 25(9): p. 555-563.
60. Johansen, L.H. and A.I. Sommer, *Infectious pancreatic necrosis virus infection in Atlantic salmon Salmo salar post-smolts affects the outcome of secondary infections with infectious salmon anaemia virus or Vibrio salmonicida*. Diseases of Aquatic Organisms, 2001. 47(2): p. 109-117.
61. Johansen, L.H. and A.I. Sommer, *Multiplication of Infectious Pancreatic Necrosis Virus (Ipnv) in Head Kidney and Blood Leukocytes Isolated from Atlantic Salmon, Salmo-Salar L.* Journal of Fish Diseases, 1995. 18(2): p. 147-156.
62. Johansen, L.H. and A.I. Sommer, *In-Vitro Studies of Infectious Pancreatic Necrosis Virus-Infections in Leukocytes Isolated from Atlantic Salmon (Salmo-Salar L)*. Aquaculture, 1995. 132(1-2): p. 91-95.
63. Novoa, B., A. Figueras, and C.J. Secombes, *Effects of in vitro addition of infectious pancreatic necrosis virus (IPNV) on rainbow trout Oncorhynchus mykiss leucocyte responses*. Veterinary Immunology and Immunopathology, 1996. 51(3-4): p. 365-376.
64. Rønneseth, A., E.F. Pettersen, and H.I. Wergeland, *Neutrophils and B-cells in blood and head kidney of Atlantic salmon (Salmo salar L.) challenged with infectious pancreatic necrosis virus (IPNV)*. Fish & Shellfish Immunology, 2006. 20(4): p. 610-620.
65. Wetten, M., T. Aasmundstad, S. Kjøglum, and A. Storset, *Genetic analysis of resistance to infectious pancreatic necrosis in Atlantic salmon (Salmo salar L.)*. Aquaculture, 2007. 272(1-4): p. 111-117.

66. Houston, R.D., C.S. Haley, et al., *The susceptibility of Atlantic salmon fry to freshwater infectious pancreatic necrosis is largely explained by a major QTL*. Heredity, 2010. 105(3): p. 318-27.
67. Moen, T., M. Baranski, A.K. Sonesson, and S. Kjøglum, *Confirmation and fine-mapping of a major QTL for resistance to infectious pancreatic necrosis in Atlantic salmon (Salmo salar): population-level associations between markers and trait*. BMC Genomics, 2009. 10: p. 368.
68. Ozaki, A., T. Sakamoto, et al., *Quantitative trait loci (QTLs) associated with resistance/susceptibility to infectious pancreatic necrosis virus (IPNV) in rainbow trout (Oncorhynchus mykiss)*. Molecular Genetics and Genomics, 2001. 265(1): p. 23-31.
69. Drangsholt, T.M., B. Gjerde, et al., *Quantitative genetics of disease resistance in vaccinated and unvaccinated Atlantic salmon (Salmo salar L.)*. Heredity, 2011. 107(5): p. 471-7.
70. Kjøglum, S., M. Henryon, T. Aasmundstad, and I. Korsgaard, *Selective breeding can increase resistance of Atlantic salmon to furunculosis, infectious salmon anaemia and infectious pancreatic necrosis*. Aquaculture Research, 2008. 39(5): p. 498-505.
71. Guy, D.R., S.C. Bishop, J.A. Woolliams, and S. Brotherstone, *Genetic parameters for resistance to Infectious Pancreatic Necrosis in pedigreed Atlantic salmon (Salmo salar) post-smolts using a Reduced Animal Model*. Aquaculture, 2009. 290(3-4): p. 229-235.
72. Guy, D.R., S.C. Bishop, et al., *Analysis of the incidence of infectious pancreatic necrosis mortality in pedigreed Atlantic salmon, Salmo salar L., populations*. Journal of Fish Diseases, 2006. 29(11): p. 637-647.
73. Storset, A., C. Strand, M. Wetten, K. Sissel, and A. Rarnstad, *Response to selection for resistance against infectious pancreatic necrosis in Atlantic salmon (Salmo salar L.)*. Aquaculture, 2007. 272: p. S62-S68.
74. Houston, R.D., C.S. Haley, et al., *Major quantitative trait loci affect resistance to infectious pancreatic necrosis in Atlantic salmon (Salmo salar)*. Genetics, 2008. 178(2): p. 1109-15.
75. AquaGen (2009) *Først i verden på gentestet lakserogn*. Aqua Gen Kunnskapsbrev 2. <http://aquagen.no/filestore/02-2009Frstiverdenpgentestetlakserogn.pdf>
76. Isdal, E., *150 millioner QTL-rogn i felt- Hvordan tåler de presset? Status fra feltundersøkelser 2009-2011*. Aqua Gen fagseminar, Aqua Nor. 2011: Trondheim. <http://aquagen.no/filestore/AquaNor2011EivindIsdal.pdf>
77. Santi, N., *Utvikling og implementering i det praktiske arbeidet- Hvordan ny kunnskap blir anvendt og gjort tilgjengelig for lakseindustrien*. Aqua Gen Fagseminar Aqua Nor. 2011: Trondheim. <http://aquagen.no/filestore/AquaNor2011NinaSanti.pdf>
78. Aunsmo, A., K. Holten, and B. Skjelstad, *Erfaringer med IPN i norsk oppdrettsnæring - rapport fra en spørreundersøkelse*. 2003, VESO: Oslo. [http://www.fiskerifond.no/files/projects/attach/ipn\\_i\\_norge.pdf](http://www.fiskerifond.no/files/projects/attach/ipn_i_norge.pdf)
79. Munro, E.S. and P.J. Midtlyng, *Infectious Pancreatic Necrosis and Associated Aquatic Birnaviruses*, i *Fish Diseases and Disorders - Viral, Bacterial and Fungal Infections*, P. Woo and D.B. Bruno, Editors. 2011, CAB: p. 1-65.
80. Christie, K.E., *Immunization with viral antigens: infectious pancreatic necrosis*. Dev Biol Stand, 1997. 90: p. 191-9.
81. Frost, P. and A. Ness, *Vaccination of Atlantic salmon with recombinant VP2 of infectious pancreatic necrosis virus (IPNV), added to a multivalent vaccine, suppresses viral replication following IPNV challenge*. Fish & Shellfish Immunology, 1997. 7(8): p. 609-619.
82. Eggset, G., A. Mortensen, L.H. Johansen, and A.I. Sommer, *Susceptibility to furunculosis, cold water vibriosis, and infectious pancreatic necrosis (IPN) in post-smolt Atlantic salmon (Salmo salar L.) as a function of smolt status by seawater transfer*. Aquaculture, 1997. 158(3-4): p. 179-191.
83. Johansen, L.H., G. Eggset, and A.I. Sommer, *Experimental IPN virus infection of Atlantic salmon parr; recurrence of IPN and effects on secondary bacterial infections in post-smolts*. Aquaculture, 2009. 290(1-2): p. 9-14.
84. Ramstad, A., A.B. Romstad, D.H. Knappskog, and P.J. Midtlyng, *Field validation of experimental challenge models for IPN vaccines*. Journal of Fish Diseases, 2007. 30(12): p. 723-731.
85. Ramstad, A. and P.J. Midtlyng, *Strong genetic influence on IPN vaccination-and-challenge trials in Atlantic salmon, Salmo salar L.* Journal of Fish Diseases, 2008. 31(8): p. 567-578.
86. Mikalsen, A.B., J. Torgersen, et al., *Protection of Atlantic salmon Salmo salar against infectious pancreatic necrosis after DNA vaccination*. Diseases of Aquatic Organisms, 2004. 60(1): p. 11-20.
87. de las Heras, A.I., S.I. Perez Prieto, and S. Rodriguez Saint-Jean, *In vitro and in vivo immune responses induced by a DNA vaccine encoding the VP2 gene of the infectious pancreatic necrosis virus*. Fish & Shellfish Immunology, 2009. 27(2): p. 120-129.
88. Bornø, G. and C. Sviland, *Helsesituasjonen hos laksefisk I: Fiskehelsesrapporten*. 2010, Veterinærinstituttet: Oslo. <http://www.vetinst.no/Forskning/Publikasjoner/Fiskehelsesrapporten/Fiskehelsesrapporten-2010>

89. Erdal, J., B. Skjelstad, and K. Solheim, *Evaluation of protection from vaccination against infectious pancreatic necrosis (IPN) in a GCP field trial in Norway. 11th International Conference of the EAAP*. 2003: Malta.
90. Siwicki, A.K., M. Morand, P. Klein, and W. Kiczka, *Treatment of infectious pancreatic necrosis virus (IPNV) disease using dimerized lysozyme (KLP-602)*. *Journal of Applied Ichthyology-Zeitschrift Fur Angewandte Ichthyologie*, 1998. 14(3-4): p. 229-232.
91. Leonardi, M., A.M. Sandino, and A. Klempau, *Effect of a nucleotide-enriched diet on the immune system, plasma cortisol levels and resistance to infectious pancreatic necrosis (IPN) in juvenile rainbow trout (Oncorhynchus mykiss)*. *Bulletin of the European Association of Fish Pathologists*, 2003. 23(2): p. 52-59.
92. Johnsen, M., *Kampen mot IPN. Norsk Fiskeoppdrett*. 2002. 17: p. 42-44.
93. Stangeland, K., S. Hoie, and T. Taksdal, *Experimental induction of infectious pancreatic necrosis in Atlantic salmon, Salmo salar L, post-smolts*. *Journal of Fish Diseases*, 1996. 19(4): p. 323-327.
94. Bowden, T.J., K. Lockhart, D.A. Smail, and A.E. Ellis, *Experimental challenge of post-smolts with IPNV: mortalities do not depend on population density*. *Journal of Fish Diseases*, 2003. 26(5): p. 309-312.
95. Fridell, F., K. Gadan, et al., *Effect of hyperoxygenation and low water flow on the primary stress response and susceptibility of Atlantic salmon Salmo salar L. to experimental challenge with IPN virus*. *Aquaculture*, 2007. 270(1-4): p. 23-35.
96. Sundh, H., R.E. Olsen, et al., *The effect of hyperoxygenation and reduced flow in fresh water and subsequent infectious pancreatic necrosis virus challenge in sea water, on the intestinal barrier integrity in Atlantic salmon, Salmo salar L*. *Journal of Fish Diseases*, 2009. 32(8): p. 687-698.
97. Sommer, A.I., L-H Johansen, H. Toften, *Sammenhenger mellom intensivt drift og IPN-ubrudd hos smolt*. *Norsk Fiskeoppdrett*. 2001. 12: p 60-62.
98. Bakke Jøssund, T., *Muligheter for å begrense IPN i ferskvann og sjø*, in *Norsk Fiskeoppdrett*. 2007. 32: p. 50-53.
99. Lapierre, J., D. Larrivee, and L. Berthiaume, *Influence of Water Temperature and Fish Age on Mortality in Brook Trout (Salvelinus-Fontinalis Infected with Infectious Pancreatic Necrosis Virus (Ipnv)*. *Aquaculture*, 1986. 59(2): p. 81-92.
100. Okamoto, N., R. Yasutomi, H. Shibazaki, S. Hanzawa, and T. Sano, *The Influence of Immersing Temperature for Inoculation with Ipnv and or Rearing Temperature on Mortality of Rainbow-Trout Fry Postinfection*. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 1987. 53(7): p. 1125-1128.
101. Håstein, T. and J. Krogsrud, *Infectious Pancreatic Necrosis - 1st Isolation of Virus from Fish in Norway*. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 1976. 17(1): p. 109-111.
102. Krogsrud, J., T. Håstein, and K. Rønning, *Infectious pancreatic necrosis virus in Norwegian fish farms, i Viruses of lower vertebrates*, W. Ahne and E. Kurstak, Editors. 1989, Springer-Verlag: Berlin. p. 284-291.
103. Mortensen, S.H., B. Hjeltnes, O.M. Rødseth, J. Krogsrud, and K.E. Christie, *Infectious pancreatic necrosis virus, serotype N1, isolated from Norwegian halibut (Hippoglossus hippoglossus), turbot (Scophthalmus maximus) and scallops (Pecten maximus)*. *Bulletin of The European Association of Fish Pathologists*, 1990. 10: p. 42.
104. *Omsettingsforskriften*, F.o. kystdepartementet 2008.  
<http://www.lovdata.no/cgi-wift/ldles?doc=/sf/sf/sf-20080617-0819.html>
105. *Fiskehelse rapporten (2003-2011)*. <http://www.vetinst.no/Forskning/Publikasjoner/Fiskehelse rapporten>
106. *COUNCIL DIRECTIVE 2006/88/EC of 24 October 2006 on animal health requirements for aquaculture animals and products thereof, and on the prevention and control of certain diseases in aquatic animals*. 2006.  
<http://eurlex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2006:328:0014:0056:EN:PDF>
107. Anonymous, *Final report of the Aquaculture Health Joint Working Group - subgroup on infectious pancreatic necrosis in Scotland*. 2003, Fisheries Research Services: Aberdeen. p. 90.
108. Garseth, A.H., H. Lo, and T. Bruheim, *Occurrence of infectious pancreatic necrosis virus (IPNV) and Renibacterium salmoninarum in broodfish of wild Atlantic salmon in Norway*, in *14th EAAP International Conference - Diseases of fish and shellfish*. 2009: Prague.
109. Hansen, T., I.S. Marjara, and Ø. Evensen, *Sammenlignende studie av deteksjonsmetoder for IPNV*, in *Fiskehelse*. 2010.
110. Veterinærinstituttet, *Brukerhåndboken*.  
[http://www.campec.net/brukerhandboka/Fisk/F001\\_fisk\\_ram.htm](http://www.campec.net/brukerhandboka/Fisk/F001_fisk_ram.htm)
111. Murray, A.G., *Persistence of infectious pancreatic necrosis virus (IPNV) in Scottish salmon (Salmo salar L.) farms*. *Preventive Veterinary Medicine*, 2006. 76(1-2): p. 97-108.

112. Ruane, N.M., A.G. Murray, F. Geoghegan, and R.S. Raynard, *Modelling the initiation and spread of Infectious Pancreatic Necrosis Virus (IPNV) in the Irish salmon farming industry: The role of inputs*. Ecological Modelling, 2009. 220(9-10): p. 1369-1374.
113. Mennerat, A., F. Nilsen, D. Ebert, and A. Skorping, *Intensive Farming: Evolutionary Implications for Parasites and Pathogens*. Evolutionary Biology, 2010. 37(2-3): p. 59-67.
114. Allnutt, FC, R.M Bowers, CG, rowe, VN Vakharia, S.E LaPatra, A.K. Dhar. *Antigenicity of infectious pancreatic necrosis virus VP2 subviral particles expressed in yeast*. Vaccine, 2007. 25(26):p. 4880-4888.
115. Fiskeri og kystdepartementet 2008. *Akvakulturdriftsforskriften*. <http://www.lovddata.no/cgi-wift/ldles?doc=/sf/sf/sf-20080617-0822.html>

