

Sluttrapport

Prosjekt FHF 900799

Oslo 07.10.15

Hva betyr ny PD-virusvariant for norsk fiskeoppdrett? Karakterisering av virus, sykdomsutvikling og utbredelse.

Prosjektgruppe:

Veterinærinstituttet:

Torunn Taksdal

Monika J. Hjortaas

Mona Drevdal Jansen

Britt Bang Jensen

Magnus Vikan Røsæg

David E.L. Persson

Anne-Berit Olsen

Brit Hjeltnes

Hilde Sindre (prosjektleder)

PatoGen Analyse AS (delprosjekt 3):

Vidar Aspehaug

MSD Animal Health (delprosjekt 2b):

Dag Knappskog

Marine Harvest (delprosjekt 2b):

Olav Breck

Innhold

1. Sammendrag (norsk og engelsk).....	3
2. Innledning.....	5
3. Problemstilling og formål	7
4. Prosjektgjennomføring	10
5. Oppnådde resultater, konklusjoner	10
5.1. Delprosjekt 1 - Viruskarakterisering.	11
5.2. Delprosjekt 2 a - smitteforsøk, laks	12
5.3. Delprosjekt 2 b, smitteforsøk, berggylt.....	21
5.4. Delprosjekt 3: Geografisk spredning/smittepotensiale/virusreservoar	23
5.5. Delprosjekt 4: Dødelighet, risikofaktorer og tilvekst.	25
6. Leveranser	33
7. Kvalitetssikring av prosjektgjennomføring og resultater.....	34



1. Sammendrag

Innledning: Pancreas disease er et stadig økende problem for norsk fiskeoppdrett. Sykdommen er forårsaket av et alphavirus, Salmonid Alphavirus (SAV), og fram til 2011 var PD i Norge knyttet til en spesiell subtype, SAV3, som utelukkende er påvist her i landet. I 2011 ble det for første gang påvist PD forårsaket av en annen SAV subtype, kalt marin SAV2. I tiden etter dette har PD knyttet til denne subtypen spredt seg stadig mer og er nå utbredt fra Romsdal til Nord Trøndelag. Beslektede virusisolater har tidligere blitt påvist i Skottland og transport av laks derfra har blitt lansert som en mulig smittekilde.

Det var et stort behov for mer kunnskap om denne nye PD-varianten både i forvaltning og næring for å kunne sette inn målrettede tiltak for å begrense skadevirkningene. For å frambringe denne kunnskapen ble et ett-årig prosjekt ledet av Veterinærinstituttet og finansiert fra FHF igangsatt hvor betydningen av den nye SAV subtypen for norsk fiskeoppdrett skulle utredes. Prosjektet hadde fire delprosjekter, og Patogen Analyse A/S, MSD, Marine Harvest og AFBI, Belfast var samarbeidspartnere på ulike delprosjekter.

Delprosjekter: Delprosjekt 1 hadde som mål å fullengdesekvensere både norske og skotske marin SAV2 isolater. En slik omfattende karakterisering ville gi bedre svar på hvor nært slektskapet mellom norske og skotske isolater er. Dessuten ville en fullengdesekvensering av de norske isolatene gi en bedre oversikt over variasjon mellom isolater, og dermed gi ytterligere informasjon angående hvorvidt det er en eller flere uavhengige introduksjoner av marin SAV2 til norsk fiskeoppdrett.

Delprosjekt 2 hadde som hovedmål å kartlegge eventuelle virulensforskjeller mellom SAV3 og marin SAV2 i et smitteforsøk på laks. Et mindre delprosjekt fokuserte på leppefisk som mulig biologisk vektor for SAV, siden spredning av SAV2 sammenfaller i tid med en kraftig økning i bruk av leppefisk for å bekjempe lakselus.

I delprosjekt 3: Geografisk spredning/smittepotensiale/virusreservoar ble utbredelsen til marin SAV2 og SAV3 bestemt ved subtyping av virusvariant fra samtlige PD-utbrudd fra Møre og Romsdal og nordover fra 2008-2012 og dessuten et representativt utvalg utbrudd i Rogaland, Hordaland og Sogn og Fjordane fra 2011 og 2012.

I delprosjekt 4: Dødelighet, risikofaktorer og tilvekst var hovedmålsetningen å gi en epidemiologisk beskrivelse av forskjellene mellom marin SAV2 og SAV3 på lokalitetsnivå.

Resultater: Resultater både fra fullengdesekvensering og subtyping viste at samtlige undersøkte marin SAV2 isolater i Norge er nesten identiske, og dette indikerer en enkeltstående introduksjon til norsk lakseoppdrett for relativt kort tid siden. Dette støttes av resultatene fra subtypingen av eldre PD-utbrudd, hvor første funn av marin SAV2 var i Midsund i juni 2010. Viruset har så spredt seg lokalt i Midsund-området og deretter nordover i 2011-2012. I det gamle kjerneområdet for PD (Rogaland, Hordaland og Sogn og Fjordane) påvises kun SAV3. Resultater fra smitteforsøk viser høyere dødelighet knyttet til SAV3- enn SAV2-isolater. Disse resultatene støttes av data fra felt, som også viser signifikant høyere dødelighet i PD-utbrudd forårsaket av SAV3 enn SAV2. Smitteforsøket viser at begge SAV-gruppene gir betydelig reduksjon i tilvekst etter 12 uker sammenlignet med kontrollgruppen. Det er imidlertid ingen forskjell mellom SAV-gruppene, og dette er i samsvar med felldata.

Summary

Introduction: Pancreas disease is an increasing problem for the Norwegian aquaculture industry. The disease is caused by an alphavirus, Salmonid Alphavirus (SAV), and until 2011 the Norwegian PD outbreaks was connected to a specific subtype, SAV3, found exclusively in Norway. In 2011, PD caused by another subtype, marine SAV2 was reported. This subtype has spread rapidly from North Western to Mid-Norway. Previously, similar virus isolates have been detected in Scotland, and therefore transport of Scottish salmon has been considered as a possible source.

Following the initial detection and spread of marine SAV2, both the aquaculture industry and the authorities were in demand for more knowledge on this new subtype to be able to apply efficient measures to limit the harmful effect. To fill this knowledge gap rapidly, a one-year project led by the Norwegian Veterinary Institute and financed by The Norwegian Seafood Research Fund – FHF was initiated. The project had 4 work packages, with Patogen Analyse A/S, MSD, Marine Harvest and AFBI, Belfast as cooperation partner on selected work packages (WPs).

Work packages: WP1 aimed to characterise both Norwegian and Scottish marine SAV2 isolates by fulllength sequencing. This extensive characterization would provide data for more accurate estimations of kinship between Norwegian and Scottish isolates. In addition, data on the degree of variation between the Norwegian isolates could demonstrate whether there had been one or several independent introductions of marine SAV2 to the Norwegian aquaculture. The main goal of WP2 was to elucidate possible differences in virulence between SAV3 and marine SAV2 in an experimental trial on Atlantic salmon. A smaller part of this WP was to investigate wrasse as a possible biological vector for SAV, as spread of marine SAV2 partly has coincided with a substantial increase in the use of wrasse to combat sea lice.

In WP3 the distribution of marine SAV2 and SAV3 in Norway was investigated by subtyping virus from all PD outbreaks diagnosed from 2008 to 2012 from the county of Møre & Romsdal in south and to Finnmark in the north. In addition, virus from a representative selection of PD outbreaks in Rogaland, Hordaland og Sogn og Fjordane from 2011 and 2012 were subtyped. In WP4, the main goal was to describe the: focused on delivering an epidemiological description of the differences between marine SAV2 and SAV3 on a site level.

Results: Obtained results, both from full-length sequencing and subtyping demonstrated that all investigated Norwegian marine SAV2 isolates are genetically almost identical. This indicates one single introduction of marine SAV2 to Norwegian aquaculture quite recently, and is supported by the screening data, where the earliest detection of SAV2 was in the Midsund area in June 2010. The screening data also shows that marine SAV2 had spread locally with this area in 2010 and then further north in 2011-2012. In the original endemic area for the SAV3 subtype (Rogaland, Hordaland and Sogn & Fjordane) only SAV3 has been detected.

The experimental trial showed that the PD isolates belonging to the SAV3 subtype, caused a significant higher mortality in Atlantic salmon than the marine SAV2 isolates. These results are supported by the field data, also showing a higher reported mortality in PD-outbreaks caused by SAV3 than SAV2. The experimental trial demonstrated that both SAV2 and SAV3 cause substantial reduction in weight gain after 12 weeks compared to the control group. However, there were no significant differences between SAV2 and SAV3, and this observation is also supported by field data.

2. Innledning

Pankreassykdom (PD) er en listeført, meldepliktig, smittsom fiske sykdom som har vært rapportert i Norge siden andre halvdel av 1980-tallet. Sykdommen har en rekke studier fra tidlig på 2000-tallet og fram til 2011 vært knyttet til en variant av salmonid alphavirus subtype 3 (SAV3) som kun er påvist i Norge. PD ble oppført på nasjonal liste over meldepliktige sykdommer i 2007.

For å bekjempe sykdommen best mulig er Norskekysten i dag smittmessig delt i soner. Sør for Hustadvika er PD endemisk, og bekjempelsesarbeidet har som mål å minske den økonomiske betydningen av sykdommen. Kostnadene for næringen knyttet til PD er høye i dette området.

Nord for Hustadvika ble sykdommen fram til 2012 bekjempet med utslakting av all fisk i affiserte anlegg. Våren 2011 ble det for første gang i Norge påvist PD forårsaket av en annen variant av SAV. Denne nye norske varianten ligner genetisk på SAV subtype 2. En slik SAV 2-lignende variant, kalt marin SAV2, er også påvist ved PD-utbrudd på laks i sjø i Skottland. Siden den første påvisningen er marin SAV2 påvist i en rekke lokaliteter med PD-diagnose, hvorav mange nord for Hustadvika. Påvisningene er konsentrert i et geografisk område som dekker Romsdal, Nord-Møre og Sør-Trøndelag. Den nye situasjonen har ført til i en ny strategi i området nord for Hustadvika. PD forårsaket av SAV 3 bekjempes fortsatt med umiddelbar utslakting etter påvisning av smitte eller sykdom, og fra Nord-Trøndelag og nordover følges også samme strategi for PD forårsaket av SAV 2. PD forårsaket av SAV 2 blir i området mellom Hustadvika og Nord-Trøndelag håndtert med smitteforebyggende tiltak (kilde Mattilsynet).

Prosjektets omfang og prosjektorganisering

Prosjektet hadde oppstart 01.08.2012 og endelig sluttdato for rapportering 31.12.2013. (Se prosjektgjennomføring for detaljer angående endringer i sluttdato.)

Økonomisk ramme for prosjektet var opprinnelig 5,821 millioner og prosjektet fikk også en tilleggsbevilgning på inntil 350.000 til supplerende undersøkelser.

Prosjektet er et samarbeid mellom ulike seksjoner ved Veterinærinstituttet (VI) og dessuten Patogen AS (delprosjekt 3) og MSD Norge (delprosjekt 2).

Følgende personer deltok i prosjektgruppen fra VI:

Patologiske undersøkelser/smitteforsøk: Torunn Taksdal, NVH fordypningsstudentene Magnus Vikan Røsæg og David EL Persson, Hilde Sindre og Anne-Berit Olsen

Epidemiologiske undersøkelser: Britt Bang Jensen og Mona Drevdal Jansen

Viruspåvisning/karakterisering: Monika J. Hjortaas og Hilde Sindre (prosjektleder),

Kontakt mot næring/Mattilsyn: Fagdirektør for Fisk- og Skjellhelse Brit Hjeltnes

Patogen AS deltok i prosjektgruppen på delprosjekt 3 og Vidar Aspehaug/Magnus Devold var ansvarlig for deres aktivitet i prosjektet.

MSD Norge deltok i prosjektgruppen på delprosjekt 2b (smitteforsøk leppefisk) og Peter Frost/Dag Knappskog var involvert i planlegging/gjennomføring av smitteforsøket.

Marine Harvest deltok i prosjektgruppen på delprosjekt 2b (smitteforsøk leppefisk) med Olav Breck som kontaktperson.

Marine Harvest leverte berggylt til smitteforsøket, og Henriette Glosvik, næringsstipendiat på leppefisk hos Marine Harvest, bidro i starten av prosjektet med omvisning på Labrus og nyttig informasjon om prøvetaking av berggylt.

Arbeidet med slektskapstudiene på marin SAV2 (delprosjekt 1) ble utført i samarbeid med AgriFood and Biosciences Institute (AFBI) i UK, (kontaktperson Dr. Elena Fringuelli).

Styringsgruppe og referansegrupper:

Styringsgruppe*	Styringsgruppe: Arne Guttvik, SalMar (arne.guttvik@salmar.no), Olav Breck, Marine Harvest (Olav.Breck@marineharvest.com), Kristian Straume-Lie, Lerøy Seafood Group (kristian.straume-lie@leroyvest.no), erstattet av Ragnhild Aukan, Ragnhild.Aukan@leroymidt.no fra januar 2013
Referansegruppe* (som gir faglige innspill)	For hele prosjektet: Marian McLoughlin, Aquatic Veterinary Services, Belfast (marian@aquatic-veterinary.co.uk) For delprosjekt 1: MSD Norge: Dag Knappskog, dag.knappskog@merck.com Novartis Aqua Norge: Ragnar Thorarinsson, ragnar.thorarinsson@novartis.com Pharmaq: Marius Karlsen, Marius.Karlsen@pharmaq.no ScanVacc: Lars Speilberg, lars.speilberg@scanvacc.com
Observatører*	Merete Bjørgan Schrøder (FHF) merete.schroder@fhf.no



3. Problemstilling og formål

Effektmål

Det er stor usikkerhet både i næringen og hos Mattilsynet mhp om hvor aggressiv marin SAV2 er, sammenlignet med SAV3.

Derfor etterspør både næring og forvaltning mer kunnskap. Målet med dette ett-årige forskningsprosjektet som inneholdt smitteforsøk med de to variantene av SAV, epidemiologiske undersøkelser samt grundigere karakterisering av de forskjellige virusisolatene var å bidra med økt kunnskap om den nye virusvarianten knyttet til spredningspotensiale, virulens og forekomst. Denne typen kunnskap vil være svært verdifull når framtidig strategi skal legges for begrensning av PD forårsaket av SAV2.

Resultatmål

Delprosjekt 1: Viruskarakterisering

For å vurdere betydningen av funnene av marin SAV2 er det nødvendig å karakterisere den nye virusvarianten grundig. Til nå er korte genområder fra E2- og nsP3-genområdene sekvensert og subtype-plassering er foretatt i henhold til Fringuelli et al på lignende virusvarianter påvist på laks i Skottland. Imidlertid er genområdene som til nå er sekvensert ganske korte, og det kan derfor være ulikheter mellom marin SAV2 påvist i Norge og Skottland som til nå ikke er avdekket. Genomet til isolater av marin SAV2, utvalgt på bakgrunn av både patologi, dødelighet, geografisk lokalisering og tilgjengelige sekvensdata, skal fullengde-sekvenseres i dette prosjektet, slik at slektskapet mellom dette viruset og andre subtyper SAV-virus kan fastsettes endelig. I tillegg vil vi kunne fastsette mer nøyaktig innbyrdes likhet mellom norske varianter og derved kunne stipulere et mulig omtrentlig introduksjonstidspunkt inn i norsk fiskeoppdrett. I samarbeid med AgriFood and Biosciences Institute (AFBI) i UK vil vi deretter gjøre slektskapsstudier mellom norske og skotske virusvarianter. En sammenligning av lengre virussekvenser vil gi en langt sikrere slektskapsvurdering mellom varianten som er påvist i Norge og variantene fra Skottland.

Leveranser delprosjekt 1

- Kartlegge virusgenomet til marin SAV2 forekommende i Norge
- Klarlegge slektskap mellom norske og skotske virusvarianter

Delprosjekt 2: Smitteforsøk

Delprosjekt 2a: Virulensforskjeller mellom SAV2 og SAV 3?

Forskjeller i sykdomsframkallende evne mellom marin SAV2 og SAV3 må kartlegges. Vi planlegger derfor et sammenlignende oppsett hvor laks smittes med norske marin SAV2 og med SAV3. Vi vil sammenligne fiskens reaksjon på infeksjon vha undersøkelse av blodprøver (klinisk kjemi og/eller målinger av antistoff mot viruset) og ved hjelp av undersøkelser av vevssnitt med tanke på forandringer i indre organer (dvs histopatologisk undersøkelse slik det gjøres i rutinemessig diagnostiske undersøkelser). Resultatene fra smitteforsøket vil sammenholdes med det vi finner hos naturlig smittet fisk i forbindelse med PD-utbrudd.

Smitteforsøket skal utføres på VESO Vikan

Detaljert forsøksoppsett: se eget avsnitt nederst i prosjektforslaget.

Delprosjekt 2b: Kan leppefisk smitte laks med PD-virus (SAV)?



Leppefisk er nevnt som en mulig vektor/reservoar for PD-smitte. I sammenheng med flytting av leppefisk mellom lokaliteter, kan SAV overføres enten via aktiv smitte av leppefisk med SAV (eventuelt gjennom lakselus) eller passivt gjennom at infeksiosøst virus kan overleve f.eks. i gjellene. Vi ønsker å undersøke hvorvidt SAV kan replikere i leppefisk og derved fungere som vert for SAV med et smitteforsøk.

Smitteforsøket på leppefisk vil være et samarbeid mellom Veterinærinstituttet, MSD og Marine Harvest, hvor samtlige parter skyter inn betydelig egenfinansiering i form av fisk (Marine Harvest), arbeidskraft (Veterinærinstituttet, MH og MSD) og kar (MSD).

Smitteforsøket skal utføres i MSDs fasiliteter i Bergen.

Leveranser delprosjekt 2:

- Karakterisere sykdomsframkallende evne til marin SAV2 i laks
- Kartlegging av leppefisk som aktiv vektor for overføring av SAV-smitte

Delprosjekt 3: Geografisk spredning/smittepotensial/virusreservoar

Innsamlet materiale (biologisk og epidemiologiske data) fra PD-utbrudd over en lengre tidsperiode fra de områdene hvor marin SAV2 nå er påvist skal gjennomgå for om mulig å identifisere introduksjonssted og - tidspunkt. Ved sekvensering av flere genområder fra de ulike isolatene vil vi identifisere eventuelle ulikheter mellom de ulike norske påvisningene slik at modeller for molekylær epidemiologi kan benyttes for å se på spredning av virus. I denne sammenheng vil vi kunne benytte pilotmodeller vi har utviklet for spredning i sjø og dessuten vil muligheten for spredning via bl.a. brønnbåttransport undersøkes (dette vil delvis skje i samarbeid med MAROFF-brønnbåtprosjektet *Logifisk*).

I løpet av prosjektet skal virusvariant fra alle PD-utbrudd fra Møre og Romsdal og nordover fra 2007 og fram til utgangen av prosjektperioden karakteriseres. I tillegg vil et utvalg PD-utbrudd fra resten av landet, utvalgt i henhold til geografisk distribusjon, undersøkes i samme tidsrom. Skulle funn av marin SAV2 gjøres i andre geografiske områder enn de vi kjenner til i dag i løpet av prosjektperioden, vil selvsagt utvalget av lokaliteter for undersøkelse bli tilpasset til dette.

Dette delprosjektet vil være et samarbeid mellom Veterinærinstituttet og Patogen AS, hvor materiale og resultater fra Patogen AS vil supplere de resultater Veterinærinstituttet selv opparbeider fra ulike PD-utbrudd. Patogen AS har også utviklet en ny marin SAV2-spesifikk realtime RT-PCR og resultater fra bruk av denne metoden kan sammenholdes med resultater fra sekvenseringen. I tillegg vil Patogen AS undersøke mulige SAV2/SAV3-blandingsinfeksjoner ved bruk av spesifikke assays. En sum midler er derfor satt av til Patogens eget analysearbeid og til møter vi må ha for å sammenholde resultater.

Leveranser delprosjekt 3:

- Kartlegge utbredelse av marin SAV2
- Undersøke genetisk/geografisk sammenheng mellom ulike isolat
- Vurdere introduksjonstidspunkt/-sted og spredningspotensial

Delprosjekt 4: Dødelighet, risikofaktorer og tilvekst

Epidemiologisk sammenligning av PD-utbrudd forårsaket av SAV3 og marin SAV2 med fokus på dødelighet, risikofaktorer og produksjon. Månedlige innberetninger til Havbruksdata over dødelighet og andre produksjonsvariabler på lokaliteter som har fått påvist marin SAV2 og alle andre PD-lokaliteter vil bli sammenlignet med henblikk på å finne forskjeller og likheter. Et spørreskjema vil bli sendt ut til alle lokaliteter med bekreftet marin SAV2- subtype og til et sammenlignbart utvalg utbrudd med bekreftet SAV3-subtype. Dette spørreskjemaet vil bli brukt til å innhente utvidede opplysninger om risikofaktorer (for eksempel tilførsel av fisk, flytting osv.), forebygging (for eksempel vaksinasjonsstatus, screening, fôring med PD-fôr) og andre relevant produksjonsdata. Innsamlede data vil bli brukt i analyse og beskrivelse av forskjeller og likheter mellom marin SAV2- og SAV3 subtyper, til bruk i en basal økonomisk vurdering som kan videreutvikles til en bredere sosial-økonomisk evaluering av konsekvenser og kontrollstrategier.

Leveranser delprosjekt 4:

- Beskrive produksjonsrelaterte tap (eks. dødelighet, til vekst, fôrfaktor) ved forskjeller mellom utbrudd som skyldes SAV3 og marin SAV2 PD-virus
- Vurdere risikofaktorer for smitteintroduksjon og sykdomsutbrudd
- Få oversikt over tap på lokalitetsnivå forårsaket av marin SAV2



4. Prosjektgjennomføring

Forskningsmetoder er redegjort for under forutgående kapittel: Problemstilling og formål.
Avvik fra opprinnelig prosjektplan

Prosjektets opprinnelige sluttdato var satt til 31.07.2013. Imidlertid førte tekniske problemer hos VESO Vikan i tilknytning til smitteforsøk på laks, til at sluttdato for prosjektet måtte endres og utsettelse til 01.10.2013 ble innvilget. Det var vanskeligheter knyttet til å få booket inn sluttmøte for prosjektet innen denne datoen pga stramt tidsskjema for de ulike deltakerne, og sluttmøtet ble derfor avholdt først 01.11.2013. Endelig sluttdato for rapportering fra prosjektet ble så satt til 31.12.2013.

Prosjektet har holdt seg innenfor den totale budsjettrammen, men pga forsinkelser i tilknytning til smitteforsøket, ble midler overflyttet fra 2012 til 2013. Det har gått langt mer midler til lønnsutgifter enn opprinnelig planlagt, men samtidig har det vært noe mindre utgifter enn budsjettet til drift. Møtene med styringsgruppen har blitt holdt som video/telefonmøter og dette har redusert reiseutgiftene, og prosjektet har totalt derfor en ubrukt rest på ca 30.000 i forhold til budsjettet.

Egenandel:

Marine Harvest og MSD Norge har stilt med betydelig egenandel i form av berggylt til smitteforsøkene, arbeidsinnsats og smittelokaler til delprosjekt 2b. Verdien av denne egeninnsatsen er vanskelig å tallfeste nøyaktig, men beløper seg til minst 300.000.

Patogen AS har stilt med en egenandel på 100 000 kroner til deres analyser på delprosjekt 3.

Driftsutgifter			
seksjon for virologi/patologi			282 596,29
Smitteforsøk VESO Vikan			2 016 875,00
Leie Smittefasiliteter ILAB			179 879,23
sum			2 479 350,52
Lønnsutgifter			
seksjon for virologi			1 519 816,86
seksjon for patologi			877 144,00
seksjon for epidemiologi			629 925,40
Veterinærinstituttet Bergen			17 999,00
sum			3 044 885,26
Reiseutgifter			
seksjon for virologi			130 626,01
Seksjon for patologi			25 598,01
seksjon for epidemiologi			3 092,00
Veterinærinstituttet Bergen			7 475,35
Sum			166 791,37
Total forbrukt Veterinærinstituttet 01.08.12 - 31.10.13			5 691 027,15
Forbruk Patogen A/S (sender egen faktura/redegjørelse for sine utgifter)			350 000
Totalforbruk Prosjekt 900799			6 041 027,15
Resultat prosjekt:			
Total ramme for prosjektet med tilleggsbevilgning			6 071 000
Rest ubenyttet			29 972,90

5. Oppnådde resultater, konklusjoner

5.1. Delprosjekt 1 - Viruskarakterisering.

Genomet til fem norske og fire skotske marin SAV2 isolater er full-lenge sekvensert for å fastsette slektskap mellom norsk (se tabell 1) og skotsk SAV2 og andre SAV subtyper. Utvalget av norske og skotske isolater er gjort på bakgrunn av geografisk lokalisering og tidspunkt for PD utbrudd. En sammenligning av lengre virussekvenser gir en langt sikrere slektskapsvurdering mellom varianten som er påvist i Norge og variantene fra Skottland.

Leveranser delprosjekt 1

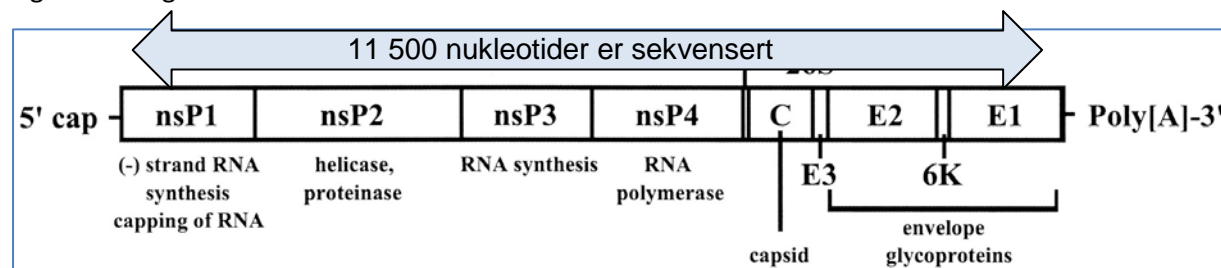
Leveranse 1): Kartlegge virusgenomet til marin SAV2 forekommende i Norge.

Tabell 1: Utvalgte norske marine SAV2 isolater

Lokalitetsnavn	År	Kommune	Fylke
Hellaren	2011	Midsund	Møre og Romsdal
Fætten	2011	Halsa	Møre og Romsdal
Singsholmen	2011	Hitra	Sør Trøndelag
Finnvik	2012	Tromsø	Troms
Bogen MD	2012	Midsund	Møre og Romsdal

Genomet til SAV består av omtrent 11 900 nukleotider (Figur 1), og 11 500 nukleotider er sekvensert. Kun korte sekvenser i begge endene mangler.

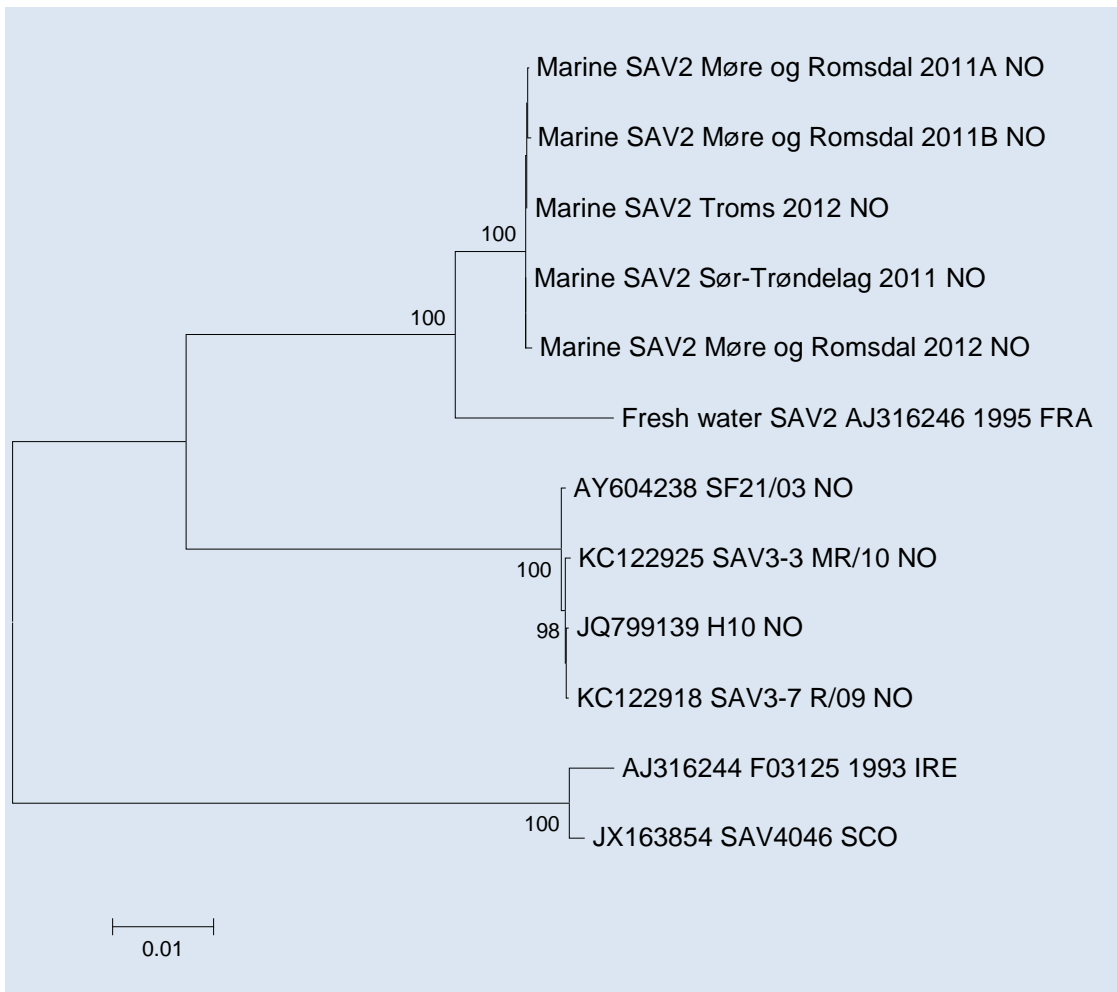
Figur 1: SAV-genomet



De fem norske marine SAV2 isolatene er 99,9 % identiske på nukleotidnivå, mens likheten mellom norske marine SAV2 og ferskvannsisolater av SAV2 er på 96,1 %.

Til sammenligning er det 93,8 % likhet mellom de norske marine SAV2 og SAV3 isolater.

Et slektskapstre basert på fullengdesekvensene er utarbeidet og presenteres i figur 2. Resultatene indikerer en isolert introduksjon av marin SAV2 til norsk fiskeoppdrett.



Figur 2: Slektskap mellom norske marin SAV2-, ferskvanns-SAV2 og SAV3-isolater

Resultatene er publisert i Hjortaas et al, 2013 og 2015.

Leveranse 2): Klarlegge slektskap mellom norske og skotske virusvarianter

Vi har fullengdesekvensert genomet til fire skotske marine SAV2 isolater, mottatt fra AFBI. Resultatene viser at det er nært slektskap mellom norske og skotske isolater. og vil inngå i en vitenskapelig artikkel i samarbeid med AFBI, Belfast. Detaljerte resultater blir derfor presentert sammen med resultater fra leveransen over. i Appendix1 som ettersendes og inkluderes i rapporten når den er akseptert for publikasjon.

5.2. Delprosjekt 2 a - smitteforsøk, laks

Forberedelser

Smitteforsøk med SAV har ikke alltid gitt ønsket tilslag. Ved planlegging av smitteforsøket ble derfor kolleger fra ulike forskningsmiljøer med ulike erfaringer med slike smitteforsøk kontaktet for innspill. Informasjonen vi fikk tilsa at det var viktig med smitemateriale som var passert så få ganger som mulig i laboratoriet. Denne typen lavpassasje SAV gir oftest relativt små mengder SAV i cellekultur og erfaringsmessig heller ingen synlig cytopatogen effekt (CPE), i motsetning til virus som er passert gjentatte ganger ved laboratorieforhold men som dermed kan ha redusert virulens i laks.

Det er også observert variasjon i dødelighet og patologi mellom ulike SAV 3-isolater, og det ble derfor ansett som viktig å velge flere av begge subtyper for å styrke muligheten til å konkludere på eventuelle forskjeller mellom marin SAV2 og SAV3 i smitteforsøk.

Test av smittemateriale (“pre-challenge”)

Et panel marin SAV2 og SAV3-isolater fra felt ble valgt ut for oppformering i cellekultur. Isolatene kom fra anlegg med ulik dødelighet og fra ulike geografiske områder. Som forventet ga ingen av isolatene tydelige skader på cellekulturen (CPE), og påvisning av virus ble gjort med immunfarging. Smittedose ble satt til 100µl 10⁴ TCID₅₀, og tre SAV 2- og tre SAV 3- isolater ble så testet i et forsøk (“pre-challenge”). Vi brukte 6 kar, ett for hvert virusisolat, der 25 laks ble injisert med SAV og ble satt sammen med 100 ubehandlede laks så ble smittet via vann.

SAV ble påvist hos nær 100% av de undersøkte kohabitant-fiskene fra 3, 4 og 7 uker etter forsøksstart. Vevsforandringer som ved PD kunne observeres ved minst ett prøveuttak hos nesten all laks i alle kar. Mellom 1 og 7 kohabitantfisk døde i de ulike karene i løpet av de 7 ukene som forøket varte. Vi konkluderte med at alle isolatene var virulente, men at det kunne være forskjeller mellom isolatene. Et større smitteforsøk med bruk av flere kar ville derfor kunne gi bedre statistisk grunnlag for å svare på spørsmålet om det er reelle og vesentlige forskjeller mellom infeksjon med de to variantene av SAV eller mellom ulike isolater innen samme variant av SAV.

Hovedforsøk

Som i “pre-challenge” ble forsøksfiskene i hovedforsøket smittet på naturlig måte, via vann. Dette ble gjort ved hjelp av injeksjon av smittemateriale i ca 20% av forsøksfiskene. De egentlige forsøksfiskene, kohabitantene, ble smittet av virus som var skilt ut i vannet fra injisert fisk. Det er prøver av kohabitantene som blir beskrevet i denne rapporten.

Vi brukte totalt 21 kar med nylig smoltifisert laks, tre for hvert av de seks virusisolatene. I hvert av disse 18 karene ble 28-30 laks injisert med SAV (0,1 ml av en virusløsning med titer ca 10⁴ TCID₅₀ som i pre-challenge) og satt sammen med 120 ubehandlede laks. I tre kontrollkar ble 30 laks injisert med ikke-smittet cellekulturmateriale og satt sammen med 120 ubehandlede laks. Det ble tatt blodprøver, vev på RNA^{later}® og vev på formalin fra 8-10 fisker fra hvert kar hver uke. Uke 4, 8 og ved avslutning på 12 uker ble det gjort større prøveuttak som bla inkluderte vev på transportmedium for dyrking av virus i cellekultur og måling og veiing av fiskene. Dødelighet ble registrert daglig, og prøver fra de ferskeste dødfiskene ble tatt ut for undersøkelse mhp dødsårsak.

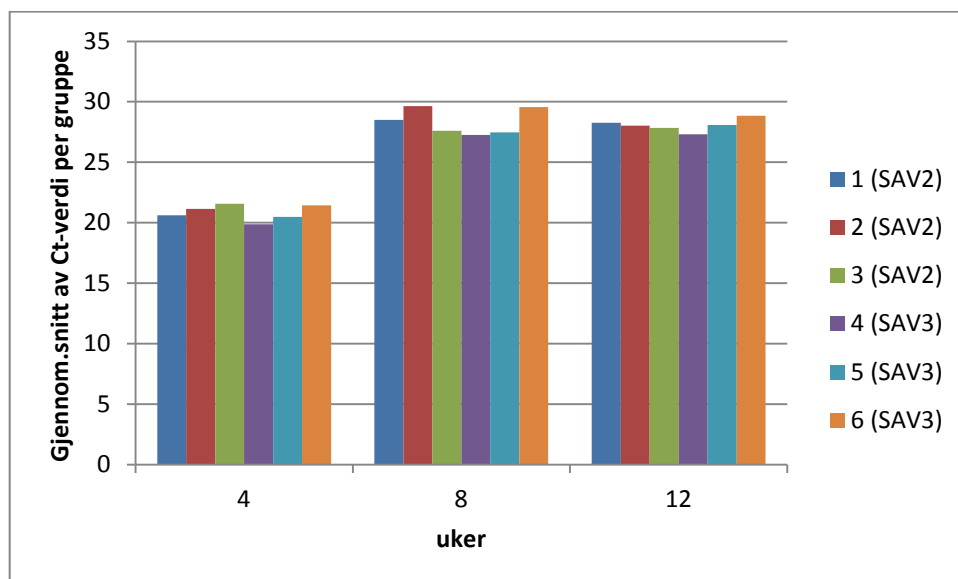
Både SAV 2 og SAV 3 smittet raskt via vann

To uker etter forsøksstart var et flertall av kohabitantene smittet via vann. Mengde virus (Ct-verdier) i en samleprøve fra hjerte + nyre fra hver fisk er forenlige med et tidlig stadium av infeksjonsforløpet, som forventet. Det var færre smittede fisk i SAV 2-karene (57%) enn i SAV 3-karene (86%) på dette tidspunktet.

Tre uker etter start ble SAV påvist hos 98% av fiskene i både SAV-2 og SAV-3-karene. Ct-verdiene indikerte jamt over mer virus i fiskene enn i uka før.

Fire uker etter start ble SAV påvist i hos alle individer i alle smittede grupper. Ct-verdier indikerte mer virus i prøvene enn i uke 2 og 3. Histopatologisk undersøkelse viste skadet pankreasvev (nekrose

og/eller tap av eksokrint vev) i nær 100% av prøvene fra både SAV2-og SAV3-smittet fisk. Åtte uker etter start ble viruset påvist i hjerte- og nyreprøver fra 79% av fiskene i SAV 2-karene og i 96% i SAV 3-karene. Etter 12 uker var andelen positive laks i SAV2-gruppen igjen økt til henholdsvis 97% i SAV2-karene og 98% i SAV3-karene. Figur 3 viser gjennomsnittlig Ct-verdi i de ulike gruppene etter 4, 8 og 12 uker og indikerer at mengden virus i positive laks er omtrent den samme etter 8 og 12 uker. Det er ikke statistiske forskjeller i Ct-verdier mellom SAV2- og SAV3-karene.



Figur 3: Gjennomsnitt av Ct-verdi hos SAV-positive laks i alle smittede grupper, hver av søylene viser gjennomsnitt fra 10 fisk fra hvert av 3 kar.

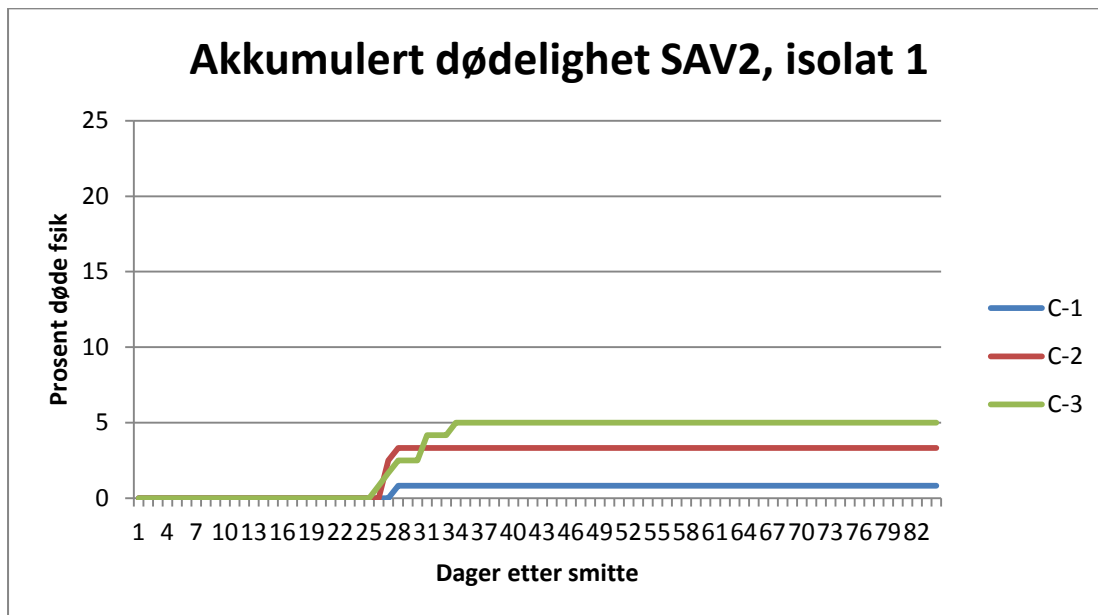
I tillegg til påvisning av SAV i hjerte og nyre, kunne virus også påvises med PCR i gjeller hos så å si samtlige undersøkte laks fra alle grupper på uke 4, 8 og 12. Virus kunne også detekteres med PCR fra vannprøver etter PEG-felling fra samtlige infiserte grupper både etter 4, 8 og 12 uker, noe som indikerer at det er virus i vannet gjennom hele forsøksperioden. Hvorvidt dette representerer infektivt virus, er ikke fastslått. Det var ikke mulig å fastslå forskjeller i virusutskillelse mellom de ulike gruppene på basis av resultatene, da uttak av vannprøver fra de enkelte kar ikke ble utført etter standardiserte kriterier.

185 laks døde av PD

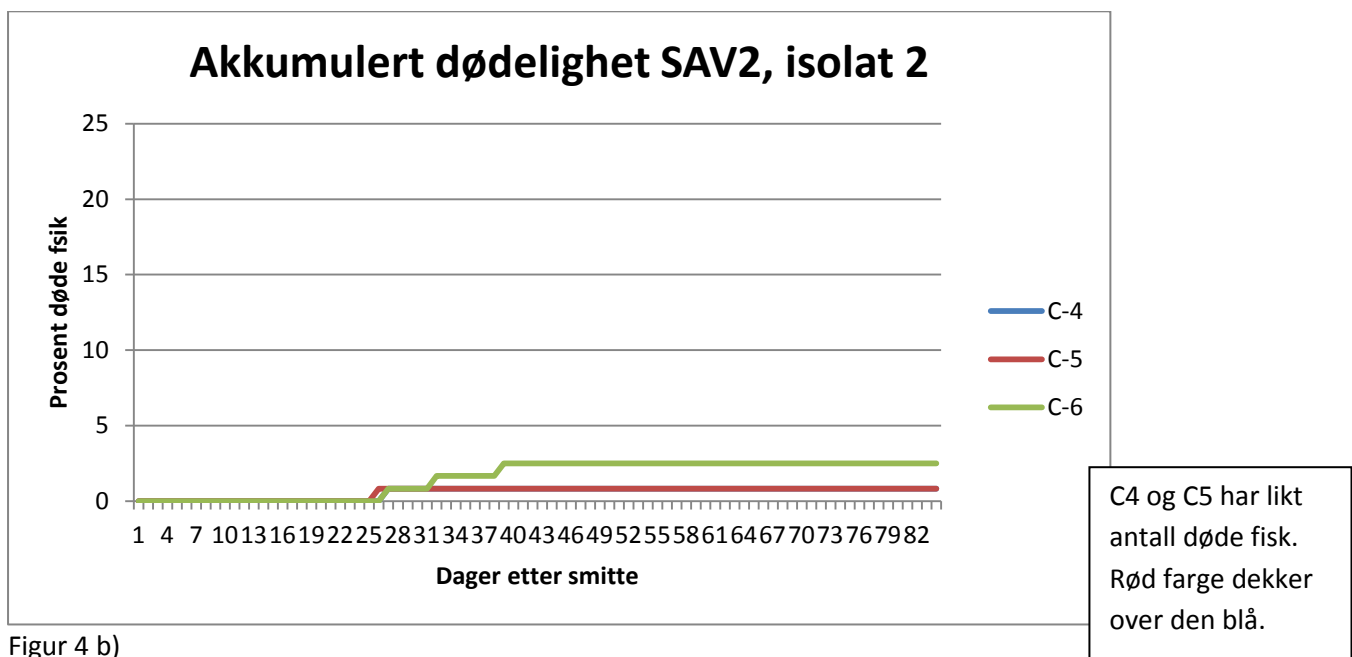
I forsøket døde totalt 187 fisk: 26 fra SAV 2-kar, 159 fra SAV-3-kar, og 2 fisk fra kontrollkar. Prøver fra 48 av de selvdøde fiskene var fiksert på formalin for histopatologisk undersøkelse, inklusive prøver fra en av de to selvdøde fiskene fra kontrollkar. Snitt av gjelle, hjerte, lever, milt, nyre og skjelettmuskel fra alle disse prøveuttakene ble undersøkt histopatologisk. Alle fiskene fra både SAV 2- og fra SAV-3- karene viste vevsforandringer typiske for PD. Ingen prøver viste forandringer som indikerte annen sykdom. Snitt fra den ene døde kontrollfisken viste heller ingen forandringer som kunne indikere sykdomsårsak. Real time RT-PCR av hjerte & nyre fra den andre selvdøde kontrollfisken var negativ for SAV, (ingen Ct-verdi). Vi konkluderer derfor med at dødeligheten i forsøket skyldes PD.

Dødelighet hos SAV-injisert fisk var ubetydelig: 1% i SAV3-injiserte grupper (9 kar), 1% i kontrollgruppe (3 kar) og ingen fisker i SAV2-injiserte grupper (9 kar).

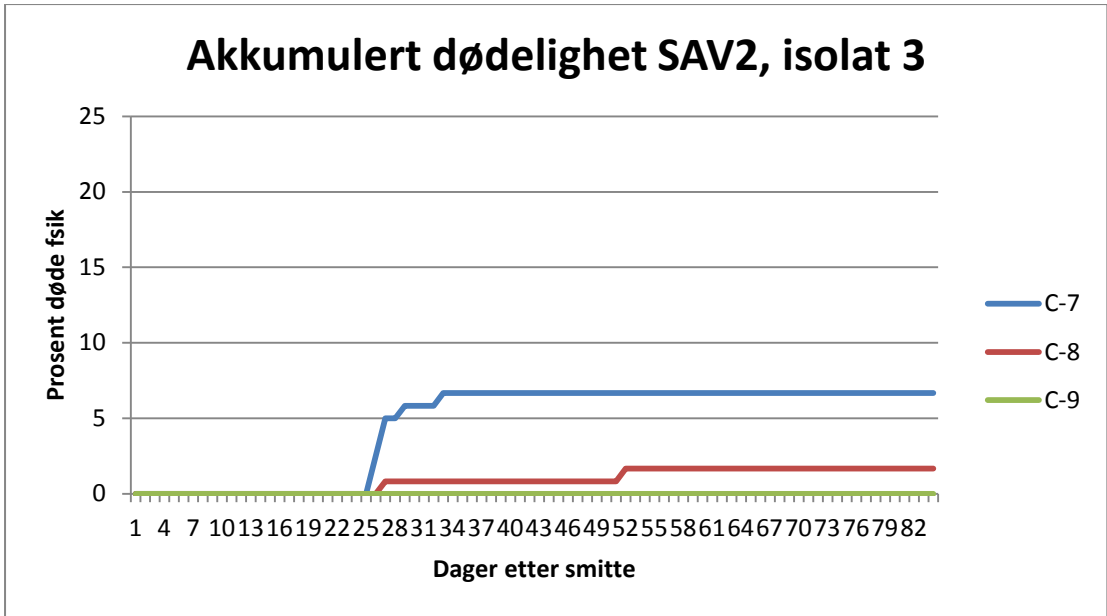
Nedenfor vises kurver over antall døde kohabitanter i alle smittede grupper (Figur 4). Legg merke til at oppstart av dødeligheten sammenfaller med prøveuttaket på 4 uker etter oppstart.



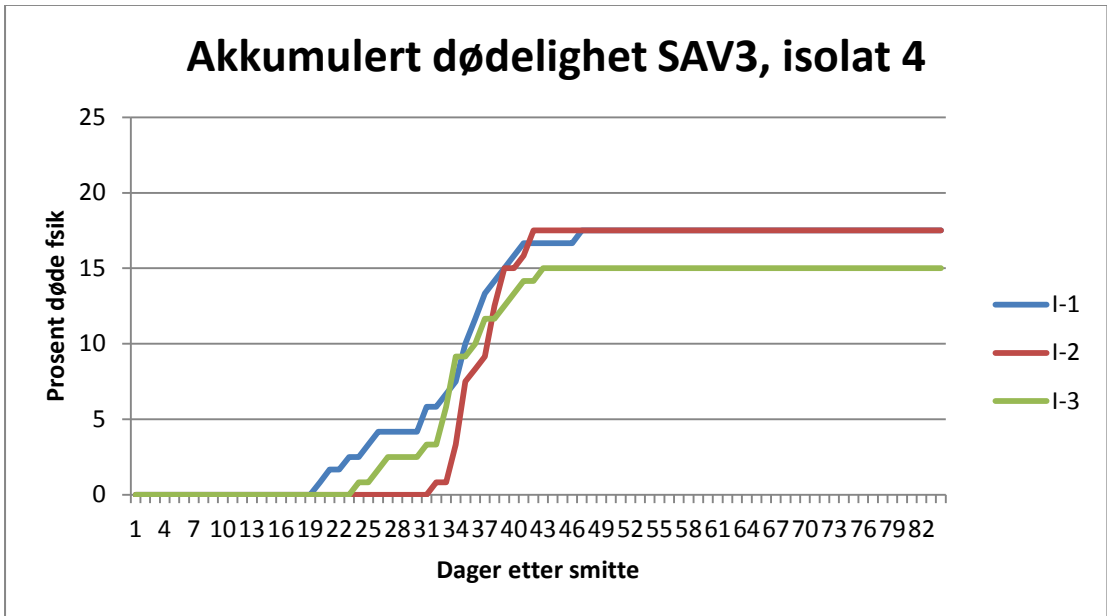
Figur 4 a)



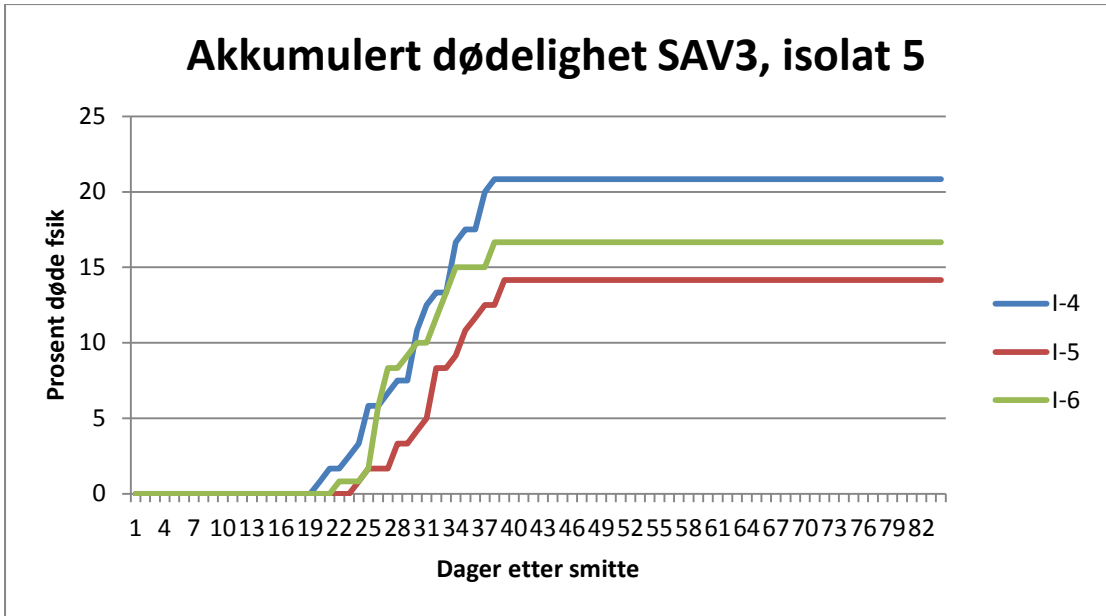
Figur 4 b)



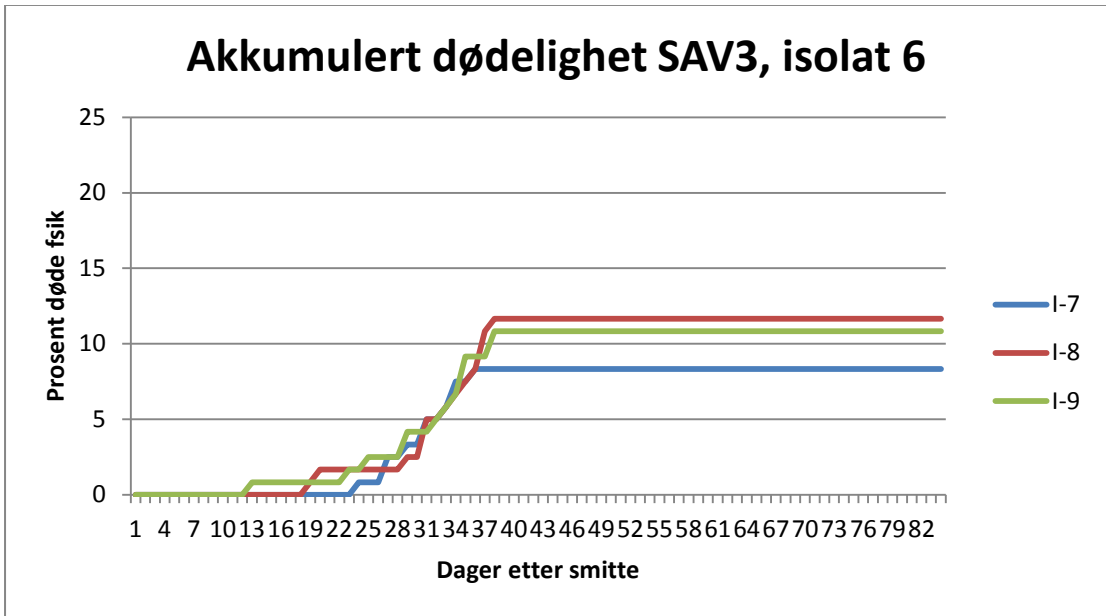
Figur 4 c)



Figur 4 d)



Figur 4 e)

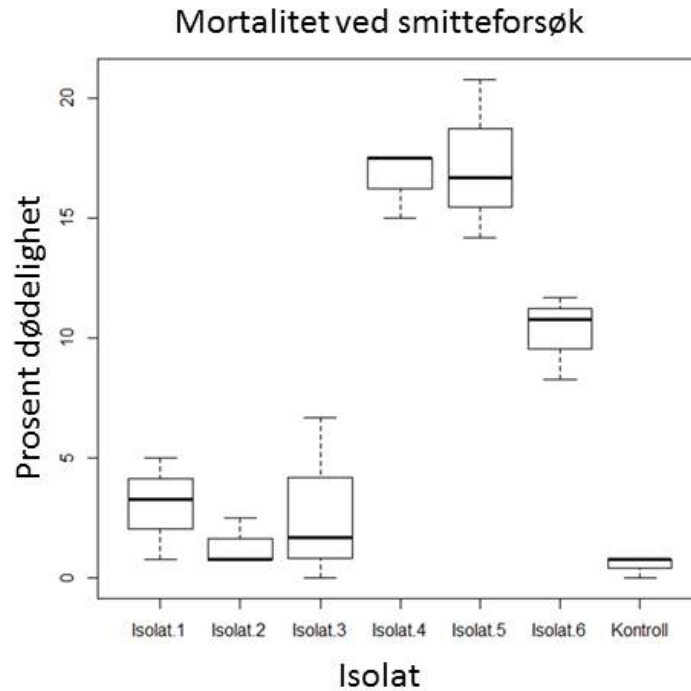


Figur 4 f)

Figur 4 a-f. Akkumulert dødelighet i ulike kar/grupper

Dødeligheten var lavere i SAV 2-smittet fisk enn i SAV 3-smittet fisk

Fordelingen av prosent dødelighet for hvert virusisolat vises nedenfor i figur 5, med median (svart strek) og spredning mellom de tre karene per isolat og for de tre kontrollkarene. Isolat 1-3 er SAV2, isolat 4-6 er SAV3. Boksene viser hhv øvre og nedre kvartil.



Figur 5: Mortalitet.

Resultat av statistisk analyse av forskjeller i dødelighet mellom de samme fiskegruppene vises i tabellen nedenfor. Analysen er utført som mixed effekt analyser med subtype av SAV som hovedeffekt og virusisolat som undereffekt. Forskjeller blir ansett som statistisk signifikante ved en p-verdi <0,05. Gjennomsnittlig dødelighet vises i tabell 2 i prosent for hvert isolat og for hver subtype av SAV.

Subtype	Isolat	Gjennomsnittlig dødelighet	Gj. Dødelighet Subtype	p-verdi
SAV2	1	3,1	2,4	0,482
	2	1,4		
	3	2,8		
SAV3	4	16,7	14,7	0,003
	5	17,2		
	6	10,3		
Kontroll	K	0,5	0,5	-

Tabell 2: Gjennomsnittlig dødelighet

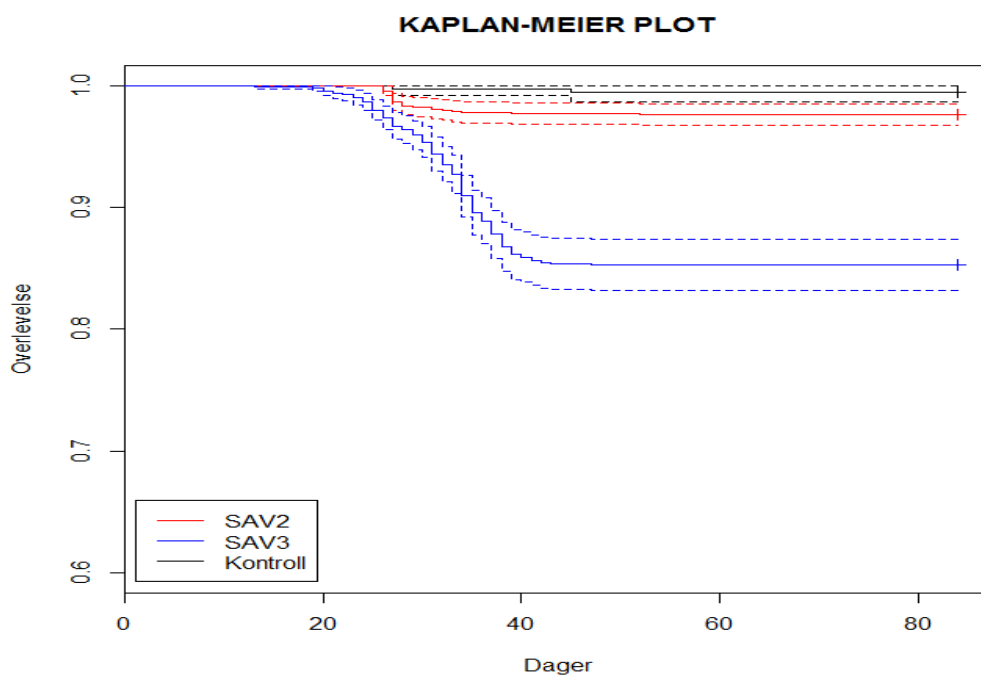
Statistisk analyse av SAV2 mot SAV3 viser, at det er signifikant forskjell på dødelighet mellom SAV2- og SAV3-smittet fisk (p=0,006).

Tilsvarende sammenligning mellom SAV2 og SAV3 og kontrollene viser, at bare dødeligheten i SAV3-gruppen er signifikant forskjellig fra kontrollkarene.

Analyse av forskjeller i dødelighet mellom isolater med forskjellig opprinnelse innen gruppene av SAV subtyper, viser signifikant forskjell mellom isolat 6 og de to andre SAV 3-isolatene ($p=0.015$ for isolat 4 mot 6 og $p=0.011$ for isolat 5 mot 6). Det finnes ingen signifikante forskjeller mellom SAV2-isolatene.

Overlevelseanalyse

Figur 6 viser overlevelse i hhv SAV 2- smittet fisk, SAV 3-smittet fisk og kontrollfisk. Stiplede linjer viser 95% konfidensintervaller.

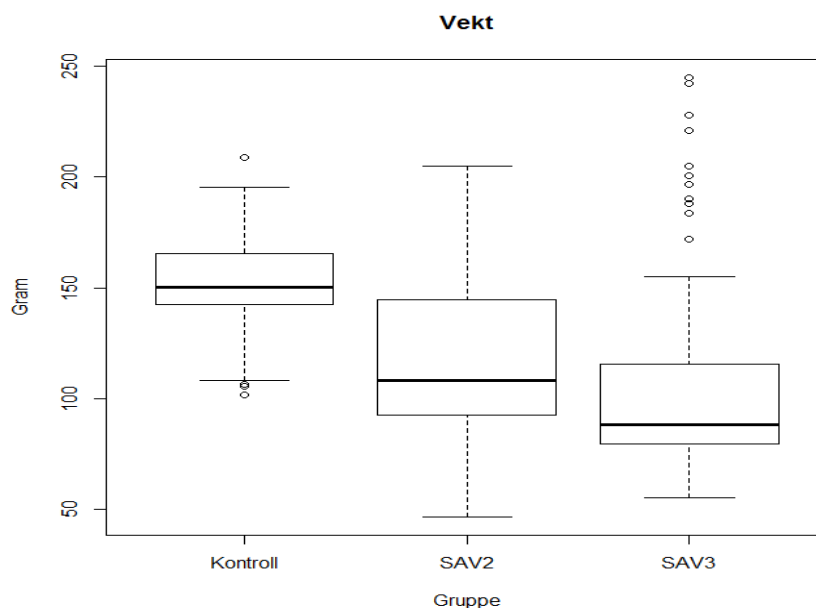


Figur 6: Overlevelse i SAV2- og SAV3-gruppen

Parvise kji-kvadrat tester mellom gruppene viser at det ikke er noen forskjell i overlevelse mellom SAV2 og kontroll (p=0,05), mens det er signifikant forskjell mellom SAV2 og SAV3 ($p<0,001$).

Både SAV 2 og SAV 3 ga redusert vekt ved avslutning av forsøket, men det var ikke signifikante forskjeller mellom de to smittegruppene

Gjennomsnittsvekt ved forsøksstart var 76,3 gram. Fordelingen av vekt ved avslutning av forsøket vises nedenfor. Svart linje viser median, og boksen viser hhv øvre og nedre kvartil.



Figur 7: Gjennomsnittlig vekt ved avslutning av forsøket

Resultat av statistisk analyse av forskjeller i vekt mellom de samme fiskegruppene vises i tabell 3 nedenfor. Analysen er utført som mixed effekt analyser med SAV subtype som hovedeffekt og isolat som undereffekt. Det er tatt høyde for variasjon mellom kar (replikater).

Tabell 3: Gjennomsnittlig vekt i ulike grupper.

Subtype	Isolat	Gjennomsnittlig vekt	Gj. vekt subtype	p-verdi
SAV2	1	124,7	118,5	0,020
	2	116,2		
	3	114,7		
SAV3	4	97,3	105,7	0,007
	5	111,5		
	6	107,6		
Kontroll	K	151,2	151,2	-

Resultat av sammenligning mellom SAV2 og SAV3 og kontrollene viser, at vekt i både SAV2- og SAV3 gruppen er forskjellig fra kontrollen.

En analyse av bare SAV2 mot SAV3 viser at ikke er noen signifikant forskjell på vekt mellom de to gruppene ($p=0,121$).

Redusert vekt har sammenheng med tapt pankreasvev

Histopatologisk undersøkelse av pankreasvev tatt ut ved avslutning 12 uker etter forsøksstart ble gradert fra 0 (=normalt) til 3 (=totalt tap av pankreasvev i undersøkt snitt). Alle pankreasprøver, dvs åtte til 10 fisk fra hvert av de 21 forsøkskarene ble undersøkt.

I SAV-2-karene hadde 56% av fiskene totalt tap av pankreasvev, og gjennomsnittsvekt for disse var 97,4 gram. Gjennomsnittsvekt for SAV 2-smittet fisk uten pankreasskade var 153,9 gram

I SAV-3-karene hadde 73% av fiskene totalt tap av pankreasvev, og gjennomsnittsvekt for disse var 86,6 gram. Gjennomsnittsvekt for SAV 3-smittet fisk uten pankreasskade var 192,8 gram.

Ingen kontrollfisk hadde pankreasskader, og gjennomsnittsvekt var 151,2 gram. Dette tyder på at infeksjon med begge SAV-varianter kan gi betydelige tap av slank taperfisk over lang tid etter infeksjon med SAV og at utviklingen av taperfisk har sammenheng med pankreasskadene.

Konklusjoner, delprosjekt 2a:

Både SAV 2 og SAV 3 smittet raskt via vann.

Dødeligheten var lavere hos SAV 2-smittet fisk enn hos SAV 3-smittet fisk.

Infeksjon med ett av de tre SAV3-isolatene ga lavere dødelighet enn de to andre SAV 3-isolatene, men likevel høyere dødelighet enn for alle SAV 2-isolatene. Det var ingen signifikante forskjeller mellom SAV2-isolatene.

Infeksjon med både SAV 2 og SAV 3 ga redusert vekt hos forsøksfisken, sammenlignet med kontrollfisk. Det var ikke statistisk signifikant forskjell i vekt mellom SAV 2 og SAV 3-smittet fisk ved avslutning av forsøket. Redusert vekt 12 uker etter forsøksstart kan ha sammenheng med tap av pankreasvev.

Resultatene er publisert i Taksdal et al, 2014.

Videre arbeid

Funn av vekttap hos all SAV-smittet fisk 12 uker etter forsøksstart indikerer at infeksjon med begge SAV-varianter kan gi betydelige tap av slank taperfisk ("pinner") over tid, uavhengig av om det registreres PD-relatert dødelighet direkte i tilknytning til infeksjon eller ikke. Epidemilogiske undersøkelser som i delprosjekt 4 kanskje derfor utvides til å inkludere tap over lengre tid etter infeksjon med SAV enn det som ble gjort i dette prosjektet.

I hvilken grad pankreas regenererer etter SAV-induserte skader er ikke kjent, men mye diskutert. Forskjellen mellom antall fisk med alvorlige pankreasskader på uke 4 og uke 12 tyder på at noe regenerasjon har skjedd mellom disse prøveuttakene. Videre undersøkelser av materiale fra smittforsøket vil sannsynligvis bringe mer fakta inn i denne diskusjonen. Vi tenker da spesielt i retning av undersøkelser av vevssnitt vha markører for proliferasjon av celler, kombinert med undersøkelser av blodprøver mhp pankreaszymer og andre komponenter. Vi er også nysgjerrige på om mer kunnskap om regenerasjon av pankreas, hjerte og skjelettmuskel i framtida kan anvendes for å forutsi sannsynlig framtidig PD-tap i SAV-smittete oppdrettsanlegg eller for å "tilbakedatere" årsaksforhold ved diagnostiske undersøkelser av "pinner". Det er som kjent flere tilstander enn PD som kan gi utvikling av slik taperfisk.

5.3. Delprosjekt 2 b, smittforsøk, berggylt

Innledning



Rensefisk (leppefisk og rognkjeks) brukes som biologisk avlusning ved bekjempelse av lakselus. Rensefisk blir flyttet mellom ulike geografiske områder og mellom lokaliteter. Det er derfor nødvendig å undersøke om SAV kan replikere i leppefisk og derved fungere som vert for SAV.

Fordi Marine Harvest tilbød seg å bidra med berggylt fra sitt oppdrettsanlegg, valgte vi å gjøre smitteforsøkene med berggylt, som er en av leppefiskartene. MSD bidro med leie av forsøkskar hos ILAB i Bergen. To studenter, Magnus Vikan Røsæg og David E.L. Persson ved Norges veterinærhøgskole utførte en betydelig del av arbeidet som en del av sin masteroppgave "Wrasse (*Labrida*) as a potential vector for viral pathogens in Norwegian Aquaculture".

Det planlagte smitteforsøket startet med fire kar, to kar der berggylt ble injisert med hhv SAV 2 og SAV 3 og satt sammen med ikke-behandlet laks og to kar der laks ble injisert med hhv SAV2 og SAV 3 og satt sammen med berggylt skilt av et metallgitter i karet.

Smittemateriale og virusundersøkelser

I begge forsøk brukte vi to av de samme smittebatchene som i lakseforsøket, SAV 2, isolat 1 og SAV 3, isolat 4.

Konklusjon delprosjekt 2b

Vi har ikke påvist oppformering av SAV i berggylt, verken etter injeksjon av virus eller etter vannbåren SAV-smitte fra PD-syk laks. Det er derfor lite sannsynlig at berggylt er biologisk vektor for SAV. Muligheten for at berggylt kan fungere som mekanisk vektor for SAV er fortsatt til stede. Men, negativt resultat av virusundersøkelsen av gjeller seks uker etter forsøksstart indikerer at gjeller ikke er noe reservoar for viruset. Men vi vet ikke om SAV kan være heftet til andre overflater på fisken eller om viruset kan bevare virulens ved passasje gjennom mage/tarm. Resultatene fra Delprosjekt 2b vil bli publisert snart i et vitenskapelig paper som er under ferdigstilling.



Figur 8: Bildet viser en berggylt som så ut som om den ønsket seg over skilleveggen og over til laksen (som sees som skygger på høyre side av skilleveggen).

5.4. Delprosjekt 3: Geografisk spredning/smittepotensiale/virusreservoar

Screening/Subtyping av historisk materiale og nye PD-utbrudd både sør og nord for Hustadvika er gjennomført som planlagt på Veterinærinstituttet. Samtlige PD-utbrudd fra 2008 og nyere fra Møre og Romsdal og nordover er nå subtypet. Første påvisning av marin SAV2 er i Midsundområdet i Romsdal i juni 2010. Det ser ut til at viruset har spredt seg lokalt i dette området i 2010, og videre nordover forbi Hustadvika til Nordmøre og Sør-Trøndelag i 2011-2012. SAV2 har imidlertid ikke spredt seg sørover til Sunnmøre. Det er gjort sporadiske påvisninger i Nord-Trøndelag og Troms. En omfattende screening av PD-utbrudd fra Sogn og Fjordane, Hordaland og Rogaland fra 2010-2012, viste utelukkende SAV3 i dette området. Det er i tillegg verdt å merke seg at SAV3, som forårsaket en rekke PD-utbrudd i laks på Sunnmøre og i Romsdal i 2008-2009, fra 2012 utelukkende kan påvises i regnbueørret i et begrenset geografisk område på Sunnmøre. Årsaken til denne tilbakegangen er ikke kjent, og flere forklaringsmodeller kan være aktuelle. Dette bør utredes videre. Resultatene er oppsummert i Tabell 6.

Tabell 6: Oppsummering av SAV2-subtyping, Veterinærinstituttet; historiske og nye PD-utbrudd

Fylke	2007	2008	2009	2010	2011	2012
Rogaland	1 SAV3	1 SAV3			7 SAV3	3 SAV3
Hordaland	1 SAV3			15 SAV3	12 SAV3	6 SAV3
Sogn & Fjordane				4 SAV3	6 SAV3	5 SAV3
Møre og Romsdal	1 SAV3	17 SAV3	6 SAV3	6 SAV2 2 SAV3	5 SAV2 5 SAV3(4 RØ)	12 SAV2 2 SAV3(2 RØ)
Sør-Trøndelag					1 SAV2	10 SAV2
Nord-Trøndelag					1 SAV2	2 SAV2
Nordland						
Troms			1 SAV3			1 SAV2
Finnmark		2 SAV3				1 SAV3

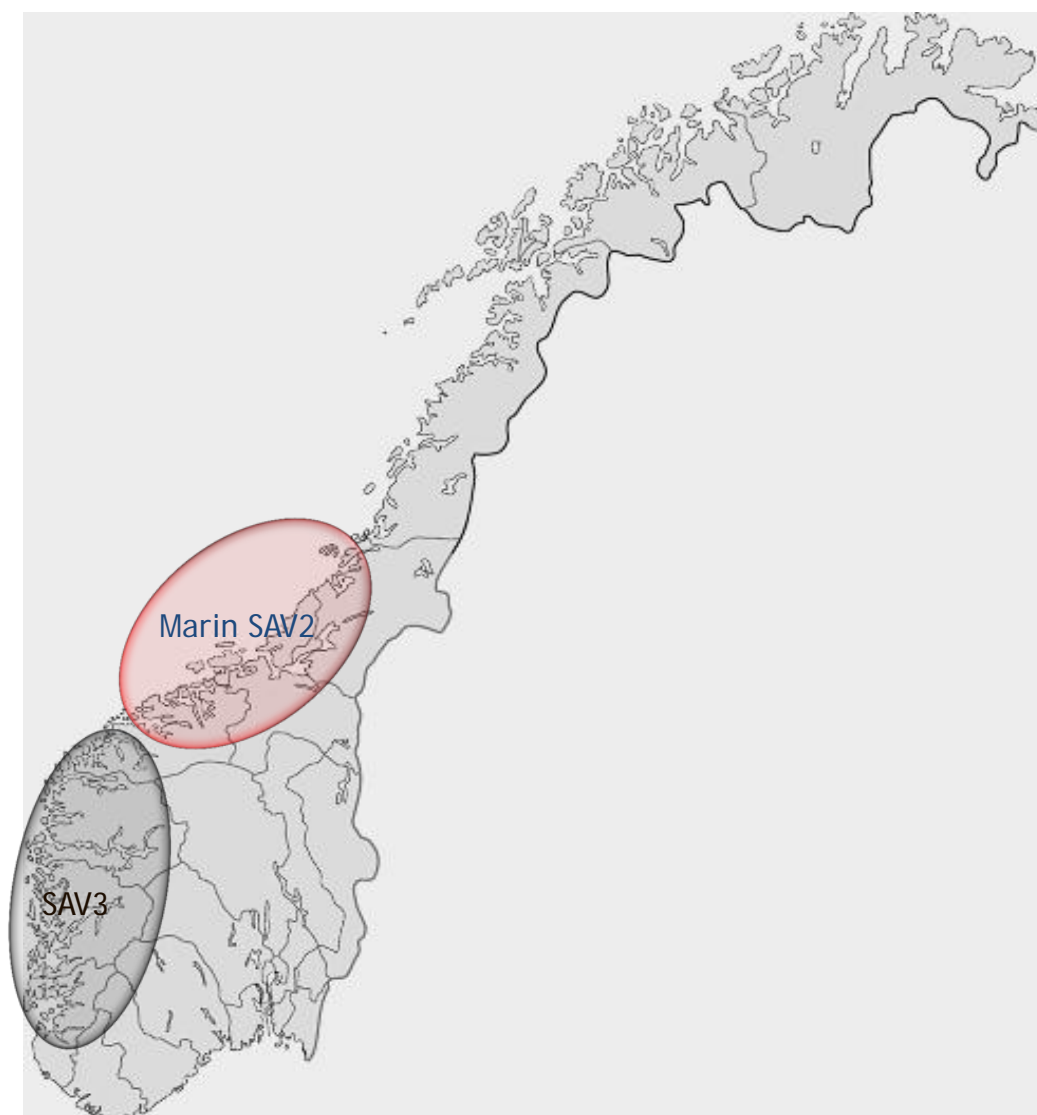
Patogen AS har etablert en subtype-spesifikk Real-Time PCR analyse for å skille mellom SAV3 og SAV2. Denne PCRen er benyttet til å screene 65 PD-virus positive lokaliteter i området sør for Hustadvika fra januar og fram til begynnelsen av august i 2012. I tillegg er enkeltlokaliteter med kjent SAV2- og SAV3-status inkludert. Som for analysene på Veterinærinstituttet ble SAV2 kun påvist i området hvor SAV2 hadde kjent utbredelse: Romsdalsfjorden, Nordmøre og noen lokaliteter lenger nord. Ingen tilfeller av dobbeltinfeksjon med både SAV2 og SAV3 ble påvist i det undersøkte

materialet. DResultatene er publisert i Patogens eget nyhetsbrev, Pathos 1_2012([pathos 01-2012](#))

Både Veterinærinstituttets og Patogens resultater viser at det for tiden er to uavhengige PD-epidemier i Norge; en epidemi forårsaket av SAV3 i Rogaland, Hordaland og Sogn og Fjordane, mens marin SAV2 gir PD i Romsdal, Nordmøre og Trøndelagsfylkene (Figur 9).

I tillegg påvises SAV3 i RØ i et begrenset geografisk område på Sunnmøre.

Resultatene fra delprosjekt 3 er publisert i Hjortaas et al, 2013 og Hjortaas et al, 2014.



Figur 9: Utbredelse av SAV3 og marin SAV2 i Norge

Delprosjekt 4: Dødelighet, risikofaktorer og tilvekst.

Målsetninger

Hovedmålsetningen var å gi en epidemiologisk beskrivelse av forskjellene mellom marin SAV 2 og SAV 3 på lokalitetsnivå.

Mer spesifikt var følgende problemstillinger ønsket besvart:

- 1) En beskrivelse av produksjonsrelaterte tap, slik som dødelighet og fôrfaktor, på lokalitetsnivå
- 2) En vurdering av risikofaktorer for smitteintroduksjon og sykdomsutbrudd

Risikofaktorer for smitteintroduksjon av SAV 3 og sykdomsutbrudd med PD har blitt godt studert i Norge (Aldrin *et al.* 2010, Brun *et al.* 2005, Jansen *et al.* 2010, Kongtorp *et al.* 2010, Kristoffersen *et al.* 2009, Tavorntpanich *et al.* 2012, Viljugrein *et al.* 2010). All tilgjengelig kunnskap om SAV tilsier at det er lite sannsynlig at dette risikofaktorbildet er annerledes for marin SAV 2 enn det som er funnet for SAV 3. Resultatene i denne rapporten fokuserer dermed på forskjellene i produksjonsrelaterte tap mellom marin SAV 2 og SAV 3 i Norge.

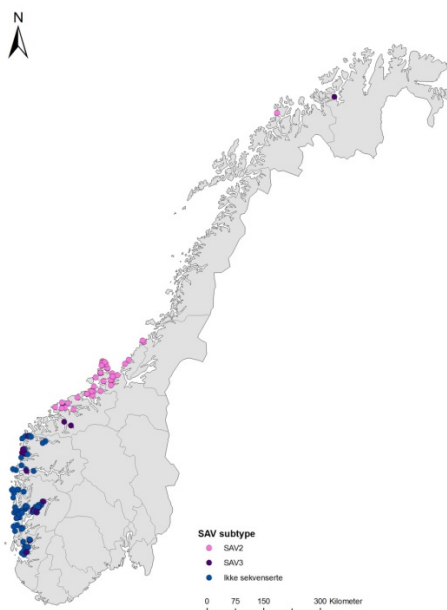
I tillegg til denne rapporten presenteres resultatene i en mer detaljert form i en vitenskapelig publikasjon (foreløpig arbeidstittel: "Site-level differences between marine SAV 2 and SAV 3 in Norway") som er under utarbeidelse for innsending til Journal of Fish Diseases.

Datagrunnlag

Inkluderte lokaliteter

Analysene tok utgangspunkt i de 137 lokalitetene som var registrert i Veterinærinstituttets oversikt over påviste eller mistenkte tilfeller av PD i 2012 (Figur 10).

Figur 10: Kart over mistenkte og påviste PD-tilfeller i 2012



Kriteriene for registrering som henholdsvis påvist eller mistenkt PD varierte med SAV-subtype (tabell 7).

Tabell 7: Oversikt over inkluderingskriterier etter SAV-subtype

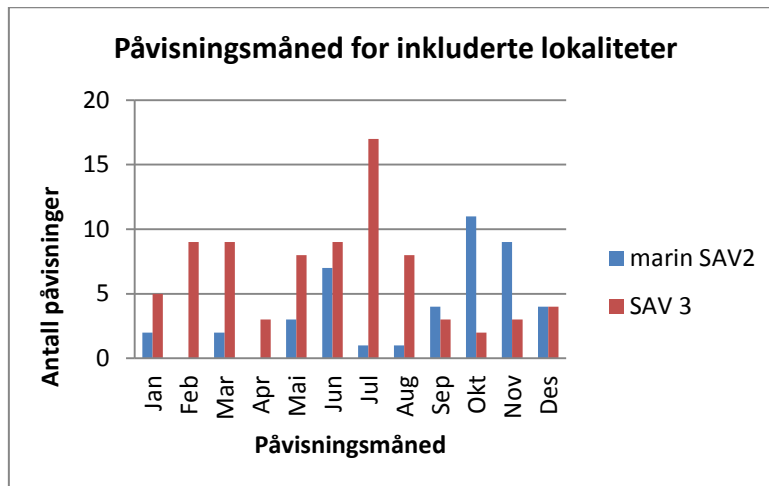
	Marin SAV 2	SAV 3
Påvist PD	<ul style="list-style-type: none"> Kliniske symptomer og/eller histopatologiske funn forenelig med PD Påvisning av SAV (typebestemt marin SAV 2 eller påvist marin SAV 2 i område der SAV 2 har blitt typebestemt) 	<ul style="list-style-type: none"> Kliniske symptomer forenelig med PD, inkludert forøket dødelighet Patologiske og histopatologiske funn forenelig med PD Påvisning av SAV
Mistanke PD	<ul style="list-style-type: none"> Histopatologiske funn forenelig med PD eller Påvist marin SAV 2 (typebestemt marin SAV 2) 	<ul style="list-style-type: none"> Kliniske symptomer forenelig med PD, inkludert forøket dødelighet Patologiske og histopatologiske funn forenelig med PD

Siden marin SAV 2 så langt ikke har vært registrert på regnbueørret i Norge ble de 10 regnbueørret-lokalitetene på listen ekskludert, sammen med tre lokaliteter med laks (to lokaliteter uten fisk i sjø i relevant periode og en landbasert lokalitet). Totalt ble 124 lokaliteter inkludert, 44 med marin SAV 2 og 80 med SAV 3. Den fylkesvise fordelingen av de inkluderte lokalitetene er vist i Tabell 8. Ekskluderte regnbueørretlokaliteter er årsaken til at ingen SAV 3 lokaliteter i Møre og Romsdal ble inkludert i studiet. Den registrerte påvisningsmåneden for de inkluderte lokalitetene er vist i Figur 11.

Tabell 8 Fylkesvis fordeling av inkluderte marin SAV2 og SAV3 lokaliteter

Fylke	marin SAV2	SAV3
Rogaland	-	17
Hordaland	-	46
Sogn og Fjordane	-	16
Møre og Romsdal	18	-
Sør-Trøndelag	23	-
Nord-Trøndelag	2	-
Troms	1	-
Finnmark	-	1
Totalt	44	80

Figur 11 Måned for påvisning ved inkluderte lokaliteter



Havbruksdata

Produksjonsdata for de inkluderte lokalitetene ble hentet fra innberetningene til Havbruksdata (MATS). Benyttede data inkluderte månedsvise tall for beholdning, tap og gjennomsnittsvekt, den gjennomsnittlige vanntemperaturen for diagnosemåneden, utsettmåned og antall måneder i sjø ved diagnosetidspunkt. Med få unntak var alle data tilgjengelig for alle lokalitetene.

Spørreskjemadata

I tillegg til de ovennevnte data ble et spørreskjema benyttet for å innhente tilleggsinformasjon direkte fra lokalitetene. Dette gjaldt informasjon om det kliniske bildet på lokaliteten (PD-relatert dødelighet, sviming og redusert fôropptak), forekomst av IPN diagnose/klinisk gjelleproblem, bruk av PD-vaksine, flytting før PD-/SAV-påvisning, stressituasjoner i forkant av PD/SAV-påvisning og gjennomføring av tiltak i forbindelse med SAV/PD-påvisning. I tillegg ble slaktedata innhentet for de lokalitetene der dette var tilgjengelig.

Den totale svarprosenten på spørreskjemaene var 79% (98 av 124 spørreskjemaer returnert). Svarprosenten varierte med SAV-subtype, og var 100% for marin SAV 2 lokalitetene (44 av 44) sammenlignet med 67.5% (54 av 80) for SAV 3 lokalitetene. Svarprosenten blant SAV 3 lokalitetene var lavest i Rogaland og Hordaland, de fylkene som er lengst unna kjerneområdet for forekomst av marin SAV 2.

Analyser

Alle analyser ble utført i R, versjon 2.14.0 (R Development Core Team, 2011). Forskjeller mellom marin SAV2 og SAV 3 lokalitetene ble evaluert ved hjelp av kji-kvadrat tester og t-tester. I tillegg ble regresjonsanalyser benyttet for å evaluere effekten av potensielle konfunderende faktorer på forholdet mellom SAV-subtype og dødelighet. Forskjeller ble ansett å være statistisk signifikante ved en p-verdi <0.05.

Resultater

Det kliniske bildet

For lokaliteter med besvart spørreskjema var informasjon angående forekomst, oppstartstidspunkt og varighet av PD-relatert dødelighet, sviming og redusert forinntak tilgjengelig.

Det kliniske bildet varierte med SAV-subtype (Tabell 9). Det var generelt høyere forekomst av PD-relaterte tegn på SAV 3 lokaliteter sammenlignet med marin SAV 2 lokaliteter. Resultatene var statistisk signifikante for alle sammenligninger. På SAV 3 lokalitetene var den gjennomsnittlige varigheten av kliniske tegn lenger enn på marin SAV 2 lokalitetene, med unntak av varigheten av PD-relatert sviming der det ikke var noen signifikant forskjell mellom subtypene.

Tabell 9: Variasjonen i det kliniske bildet mellom marin SAV 2 og SAV 3 lokaliteter

		marin SAV 2 (n=44)	SAV 3 (n=54)	
		Antall (%)	Antall (%)	p-verdi
Forekomst	Observert ett eller flere PD-relaterte tegn	30 (68.2)	51 (94.4)	0.001
	Observert PD-relatert dødelighet	11 (25.0)	39 (72.0)	<0.001
	Observert PD-relatert sviming	20 (45.5)	44 (81.5)	< 0.001
	Observert PD-relatert appetitttross	29 (65.9)	46 (85.2)	0.040
		Gjennomsnitt (min – maks)	Gjennomsnitt (min – maks)	
Varighet	Antall uker dødelighet	5.5 (2-10)	11 (2-31)	0.002
	Antall uker sviming	10.5 (2-25)	12 (2-40)	0.596
	Antall uker appetitttross	8 (3-17)	11 (2-35)	0.026

Den høyere forekomsten av kliniske tegn på SAV 3 lokalitetene sammenlignet med lokalitetene med marin SAV 2 kan særlig være påvirket av tre forhold: I inkluderingskriteriene for SAV 3 lokalitetene ble kliniske tegn forenelig med PD påkrevet, noe som ikke var tilfelle for marin SAV 2 lokalitetene. Det har også vært betydelig diskusjon rundt muligheten for at marin SAV 2 gir et mildere klinisk bilde enn SAV 3, og det kan ikke utelukkes at dette kan ha påvirket de rapporterte dataene rundt forekomst av kliniske tegn. I tillegg ble spørreskjema, der data på det kliniske bildet ble innhentet, ikke returnert av alle SAV 3 lokalitetene. Det er uvisst hvor representative SAV 3 lokalitetene med returnert spørreskjema er for de lokalitetene som ikke returnerte dette. Det er mulig at de SAV 3 lokalitetene som ikke returnerte spørreskjema har et mildere klinisk bilde slik at den reelle forskjellen mellom SAV-subtypene er mindre enn den som fremkommer her.

Når det gjelder varigheten av de observerte kliniske tegnene er det ingen grunn til å tro at resultatene er påvirket av inkluderingskriteriene, og det ser ut til at det er noe kortere varighet av PD-relatert dødelighet og appetitttross på lokaliteter med marin SAV 2 sammenlignet med SAV 3.

Subtype-variasjon i dødelighet

Månedlig dødelighet ble kalkulert for hver av de inkluderte lokalitetene. Variasjon i dødelighet ble analysert over tre ulike tidsperioder:

- Prosent dødelighet i den registrerte påvisningsmåneden
- Gjennomsnittlig prosent dødelighet over en periode på 4 måneder (fra måneden før påvisning til to måneder etter påvisning)
- Gjennomsnittlig prosent dødelighet over en periode på 7 måneder (fra to måneder før påvisning til fire måneder etter påvisning)

Disse periodene ble valgt på bakgrunn av informasjon fra spørreskjemaene om varighet av PD-relatert dødelighet. Den lengste perioden dekker hele tidsrommet med forøket dødelighet for lokalitetene med returnert spørreskjema.

Den gjennomsnittlige prosentvise dødeligheten for marin SAV 2 og SAV 3 lokaliteter er vist i Tabell 10. Når alle lokalitetene ble analysert samlet hadde marin SAV2 lokalitetene en signifikant lavere dødelighet enn SAV 3 lokalitetene for alle tidsperiodene. For å undersøke om den underliggende dødeligheten varierte ble dødelighetsanalysene gjennomført separat for lokaliteter med og uten observert PD-relatert dødelighet (kun for de med returnert spørreskjema). For lokalitetene med PD-relatert dødelighet hadde marin SAV 2 lokalitetene igjen en signifikant lavere dødelighet enn SAV 3 lokalitetene, mens det for lokalitetene uten PD-relatert dødelighet ikke var noen signifikant forskjell. Det var generelt større spredning i dødelighetstallene for SAV 3 lokalitetene sammenlignet med marin SAV 2 lokalitetene.

Tabell 10: Subtype-spesifikk dødelighet for alle lokalitetene samlet, samt etter status for observasjon av PD-relatert dødelighet

	Dødelighetsperiode	marin SAV2		SAV 3		p-verdi
		Antall lok	Gjennomsnittlig % død (min-maks)	Antall lok	Gjennomsnittlig % død (min-maks)	
Alle lokaliteter	Påvisningsmåneden	39	0.78 (0.08 – 2.92)	74	2.18 (0.12 – 10.71)	< 0.001
	Over 4 mnd	43	0.58 (0.07 – 2.04)	80	1.80 (0.02 – 8.76)	< 0.001
	Over 7 mnd	43	0.56 (0.05 – 2.24)	80	1.51 (0.14 – 7.16)	< 0.001
Lokaliteter med observert PD-død	Påvisningsmåneden	10	0.53 (0.20 – 1.16)	35	2.48 (0.23 – 10.71)	<0.001
	Over 4 mnd	11	0.66 (0.21 – 1.84)	39	1.70 (0.02 – 5.99)	0.001
	Over 7 mnd	11	0.58 (0.17 – 1.56)	39	1.51 (0.22 – 6.43)	<0.001
Lokaliteter uten observert PD-død	Påvisningsmåneden	29	0.87 (0.08 – 2.92)	14	1.13 (0.12 – 5.16)	0.591
	Over 4 mnd	32	0.55 (0.07 – 2.04)	15	1.11 (0.15 – 8.76)	0.350
	Over 7 mnd	32	0.56 (0.05 – 2.24)	15	0.89 (0.16 – 7.16)	0.491

Tilsvarende analyser har blitt gjort på variasjonen i dødelighet mellom lokaliteter med marin SAV 2 og SAV 3 for årene 2010 og 2011 (Lillehaug *et al.*, 2012). Her ble dødeligheten ved 13 lokaliteter med marin SAV 2 sammenlignet med dødeligheten ved 132 lokaliteter med SAV 3 og resultatene viste, som i denne studien, signifikant lavere dødelighet forbundet med marin SAV 2. Lav dødelighet

forbundet med marin SAV 2 er også i samsvar med observasjoner fra Skottland (Graham *et al.*, 2011). Det at det ikke er forskjeller i dødeligheten for lokaliteter uten observert PD-relatert dødelighet tyder på at den generelle bakgrunnsdødeligheten ikke varierte med SAV-subtype for de inkluderte lokalitetene, selv om forbehold må tas på at de SAV 3 lokalitetene som ikke returnerte spørreskjema kan avvike fra resten av SAV 3 lokalitetene. Det har tidligere blitt vist at bruk av PD-vaksine reduserte dødelighetsnivået ved utbrudd forårsaket av SAV 3 (Jensen *et al.*, 2012). Den lave vaksinedekningen blant marin SAV 2 lokalitetene (se påfølgende avsnitt) i forhold til SAV 3 lokalitetene gjør det mulig at den reelle forskjellen i dødelighet mellom SAV-subtypene er enda høyere enn det som kommer frem i dette materialet.

I de ovennevnte analysene ble det ikke tatt høyde for effekten av andre faktorer (såkalte konfunderende faktorer) på forholdet mellom dødelighetsnivå og SAV-subtype. Ytterligere analyser med regresjonsmodeller ble derfor gjennomført for lokaliteter med PD-assosiert dødelighet slik at effekten av viktige konfunderende faktorer, slik som for eksempel forekomst av HSMB og CMS på lokalitet, ble tatt med. Selv etter inkludering av konfunderende faktorer var det en signifikant lavere dødelighet blant marin SAV 2 lokalitetene sammenlignet med SAV 3 lokalitetene.

Bruk av tiltak

For lokaliteter med besvart spørreskjema ble bruk av forebyggende og sykdomsreduserende tiltak evaluert (Tabell 11). Det var planlagt separate analyser av bruk av tiltak ved SAV-påvisning, ved klinisk PD og ved SAV på nabolokalitet, men siden svarene stort sett var identiske ble kun en samlet analyse av tiltakene gjennomført. Bruken av tiltak varierte betydelig med SAV-subtype. Det var signifikant lavere vaksinedekning blant marin SAV 2 lokalitetene sammenlignet med SAV 3 lokalitetene, samt lavere bruk av tiltakene stopp i håndtering, redusert fôring og økt fjerning av dødfisk og svimere. Det var ingen forskjell i andelen lokaliteter som hadde slaktet ut enten lokalitet eller merd som følge av SAV/PD-påvisning eller i bruken av PD-fôr. Tilsvarende resultater ble funnet når analysene ble utført kun for de lokalitetene som rapporterte observasjon av ett eller flere kliniske tegn på PD.

Tabell 11: Variasjonen i bruk av forebyggende og sykdomsreduserende tiltak mellom marin SAV 2 og SAV 3 lokaliteter

	marin SAV 2 (n=44)	SAV 3 (n=54)	
	antall (%)	antall (%)	p-verdi
Utsett PD-vaksinert	8 (18 %)	51 (94 %)	<0.001
Lokalitet ble utslaktet	6 (13.6 %)	7 (13.0%)	0.987
Merd ble utslaktet	4 (9.1%)	6 (11.1%)	0.843
Stopp i håndtering	7 (15.9%)	22 (40.7%)	0.020
Økt fjerning av dødfisk og svimere	22 (50.0%)	44 (81.5%)	0.016
Redusert fôring som tiltak (utover kun pga redusert appetitt)	10 (22.7%)	35 (64.8%)	<0.001
PD-fôr benyttet	18 (40.9%)	28 (51.9%)	0.503

Den store forskjellen i vaksinedekning mellom lokaliteter med marin SAV 2 og SAV 3 må sees i lys av en endemisk situasjon for SAV 3 i kontrast til den nylige introduksjonen av marin SAV 2 i Norge. Som følge av etableringen av marin SAV 2 i Romsdal og Trøndelag er det mulig at bruken av PD-vaksine på nye utsett i dette området vil ta seg opp og dermed åpne for evaluering av subtype-spesifikke dødelighetsforskjeller i vaksinerte og uvaksinerte grupper, noe som ikke var mulig i dette studiet. Den praktiske betydningen av den observerte variasjonen i bruk av tiltak er uvisst.

Resultat ved slakt

Fra de returnerte spørreskjemaene var informasjon om slaktestatus tilgjengelig sammen med tall på fôrfaktor og prosentandelen av superior ved slakt. Blant de 44 marin SAV 2 lokalitetene var 23 utsett (52.3%) utslaktet, hvorav 19 (82.6%) hadde besvart spørsmålet om fôrfaktor og 20 (87.0%) hadde besvart andelen superior. For SAV 3 lokalitetene var 31 (57.4%) av de 54 lokalitetene som hadde besvart spørreskjemaet utslaktet, hvorav 30 (96.8%) hadde besvart spørsmålet om fôrfaktor og 28 (90.3%) hadde besvart andelen superior. I de tilfellene der en lav prosentandel superior var oppgitt med en annen årsak enn PD, slik som for eksempel sår, ble lokaliteten ekskludert fra analysene av andel superior ved slakt.

Det var ikke signifikant forskjell i gjennomsnittlig fôrfaktor eller andel superior for marin SAV 2 sammenlignet med SAV 3 lokalitetene (Tabell 12), og det ser ut til at kvaliteten ved slakt er lik for begge SAV-subtypene. Denne kunnskapen vil kunne integreres i økonomiske modeller for analyse av kostnader ved SAV smitte og PD-utbrudd.

Tabell 12: Resultat ved slakt

	Marin SAV 2		SAV 3		p-verdi
	Antall lokaliteter	Gjennomsnitt (min. – maks)	Antall lokaliteter	Gjennomsnitt (min. – maks)	
Fôrfaktor	19	1.18 (1.07-1.40)	30	1.19 (1.08-1.45)	0.769
Andel superior	20	91.4 (80.0-98.0)	28	90.9 (79.0-97.0)	0.724

Det er uvisst om slakteresultatene fra SAV 3 lokalitetene uten returnert spørreskjema tilsvarende resultatene som er rapportert for SAV 3 i Tabell 6. De tilnærmet identiske resultatene mellom SAV-subtypene, både for gjennomsnitts- og ekstremverdiene, gir likevel grunn til å tro at den reelle forskjellen mellom subtypene er liten. De jevne resultatene ved slakt indikerer at håndteringen av SAV-infeksjon og PD-utbrudd var tilsvarende god for begge SAV-subtypene, uavhengig av de miljø- og geografiforskjellene som er assosiert med disse.

Konklusjon , delprosjekt 4

Denne rapporten forsøker å belyse spørsmål omkring forekomst av forskjeller i produksjonsrelaterte tap mellom marin SAV 2 og SAV 3 på lokalitetsnivå i Norge. Hovedinntrykket er at infeksjon med marin SAV 2 gir et mildere klinisk bilde sammenlignet med SAV 3, med lavere forekomst av kliniske tegn og lavere dødelighet. Oppnådd resultat ved slakt ser imidlertid ut til å være det samme for begge SAV-subtypene, noe som indikerer at kostnadene ved utbrudd ikke varierer med SAV-subtype utover eventuelle forskjeller i kostnadsramme for implementerte tiltak i de to regionene. Resultatene fra delprosjekt 4 har blitt publisert i Journal of Fish Diseases: Jansen M.D., Bang Jensen B., Brun E. (2015)

Referanser, delprosjekt 4

Aldrin M., Storvik B., Frigessi A., Viljugrein H., Jansen P.A. (2010) A stochastic model for the assessment of the transmission pathways of heart and skeleton muscle inflammation, pancreas

disease and infectious salmon anaemia in marine fish in Norway, *Preventive Veterinary Medicine*, **93**, 51-61.

Brun E., Olsen A.B., Rørvik L. (2005) Factors associated with outbreaks of pancreas disease in farmed Atlantic salmon, Abstract O-147, 12th International Conference of the European Association of Fish Pathologists, September 2005.

Graham D.A., Frost P., McLaughlin K., Rowley H.M., Gabestad I., Gordon A., McLoughlin M.F. (2011) A comparative study of marine salmonid alphavirus subtypes 1–6 using an experimental cohabitation challenge model, *Journal of Fish Diseases*, **34**, 273-286.

Jansen M.D., Taksdal T., Wasmuth M.A., Gjerset B., Brun E., Olsen A.B., Breck O., Sandberg M. (2010) Salmonid alphavirus (SAV) and pancreas disease (PD) in Atlantic salmon, *Salmo salar* L., in freshwater and seawater sites in Norway from 2006 to 2008, *Journal of Fish Diseases*, **33**, 391-402.

Jensen B.B., Kristoffersen A.B., Myr C., Brun E. (2012) Cohort study of effect of vaccination on pancreas disease in Norwegian salmon aquaculture, *Diseases of Aquatic Organisms*, **102**, 23-31.

Kongtorp R.T., Stene A., Andreassen P.A., Aspehaug V., Graham D.A., Lyngstad T.M., Olsen A.B., Olsen R.S., Sandberg M., Santi N., Wallace C., Breck O. (2010) Lack of evidence for vertical transmission of SAV 3 using gametes of Atlantic salmon, *Salmo salar* L., exposed by natural and experimental routes, *Journal of Fish Diseases*, **33**, 879–888.

Kristoffersen A.B., Viljugrein H., Kongtorp R.T., Brun E., Jansen P.A. (2009) Risk factors associated with pancreas disease (PD) outbreaks in farmed Atlantic salmon and rainbow trout in Norway during 2003 – 2007, *Preventive Veterinary Medicine*, **90**, 127-135.

Lillehaug A., Jensen B.B., Sindre H., Brun E. (2012) Bekjempelsen av PD 2007 – 2011 – en evaluering. Veterinærinstituttets rapportserie, Rapport 9 -2012.

R Development Core Team (2008) R: a language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, URL <http://www.R-project.org>.

Tavornpanich S., Paul M., Viljugrein H., Abrial D., Jimenez D., Brun E. (2012) Risk map and spatial determinants of pancreas disease in the marine phase of Norwegian Atlantic salmon farming sites, *BMC Veterinary Research*, **8**:172

Viljugrein H., Staalstrøm A., Molvær J., Urke H.A., Jansen P.A. (2010) Integration of hydrodynamics into a statistical model on the spread of pancreas disease (PD) in salmon farming, *Diseases og Aquatic Organisms*, **88**, 35-44.

6. Leveranser

Datofestede leveranser:

01.09.2012	Referat fra møte i styringsgruppen	Leverert
31.12.2012	Referat fra møte i styringsgruppen -	Leverert
31.12.2012	Statusrapport	Leverert
15.02.2013	Presentasjon på Frisk Fisk-konferansen 2013 - avholdt	Leverert
31.12.2013*	Referat fra møte i styringsgruppen*	Leverert 02.01.13
31.12.2013*	Sluttrapport	Leverert 03.01.13
31.12.2013*	Populærvitenskapelig artikkel	Utarbeidet vår 2013 – utkast vedlagt sluttrapporten
31.12.2013*	Manuskript til vitenskapelig artikkel	1 vitenskapelig artikkel er allerede publisert, 3 manuskripter er under utarbeidelse.

* endret dato i forhold til opprinnelig leveranserplan, se kapittel 4. Prosjektgjennomføring for redegjørelse.

Gjennomførte relevante muntlige presentasjoner i løpet av prosjektperioden:

Tittel	Forum	Person/Tidspunkt/sted
Status marin SAV2 - PD, Sogn og Fjordane	Kontakt/Driftsplanmøte mellom forvaltning og laksefiskoppdretterne, Mattilsynet	H Sindre, 11. september 2012, Florø
SAV2 epidemic in Norway	PD TriNation meeting	MJ Hjortaas, 18-19. september 2012, Edinburgh,
Significance of marine SAV2 for Norwegian Fish Farming Industry,	PD TriNation meeting	H Sindre, 18-19. september 2012, Edinburgh,
PD agens - salmonid alphavirus (SAV)	AVF og Fiskehelseforeningens høstkurs	MJ Hjortaas, 29-30. oktober 2012, Gardermoen
Geografisk distribusjon av SAV i Norge	Frisk Fisk	Mj Hjortaas, 5 -6 februar 2013, Bergen
Status marin SAV2 - PD	Brukermøte Vetrinærinstituttet	H Sindre, 23 april 2013, Trondheim
Characterization and distribution of salmonid alphavirus subtype 2 (SAV2) in Norway	16th EAAP International Conference on Diseases of Fish and Shellfish,	MJ Hjortaas, 2-5. september 2013, Tampere, Finland
Mortality and weight loss of Atlantic salmon experimentally infected with SAV 2 and SAV 3 from Norwegian PD-cases.	PD TriNation- meeting	T Taksdal, 4.-5. februar 2014, Trondheim



Publikasjoner fra prosjektet:

1. Hjortaas MJ, Skjelstad HR, Taksdal T, Olsen AB, Johansen R, Bang-Jensen B, Ørpetveit I, Sindre H. (2013) The first detections of subtype 2-related salmonid alphavirus (SAV2) in Atlantic salmon, *Salmo salar* L., in Norway. *J Fish Dis.* 2013 Jan;36(1):71-4. doi: 10.1111/j.1365-2761.2012.01445.x
2. Jansen M.D., Bang Jensen B., Brun E. (2015) Clinical manifestations of pancreas disease outbreaks in Norwegian marine salmon farming - variations due to salmonid alphavirus subtype, *J Fish Dis.* Apr;38(4):343-53. doi: 10.1111/jfd.12238.
3. Taksdal T, Bang Jensen B, Böckerman I, McLoughlin MF, Hjortaas MJ, Ramstad A, Sindre H.(2014) Mortality and weight loss of Atlantic salmon, *Salmon salar* L., experimentally infected with salmonid alphavirus subtype 2 and subtype 3 isolates from Norway. *J Fish Dis.* Oct 17. doi: 10.1111/jfd.12312
4. Hjortaas MJ, Bang Jensen B, Taksdal T, Olsen AB, Lillehaug A, Trettenes E, Sindre H. (2015) Genetic characterization of salmonid alphavirus in Norway. *J Fish Dis.* Feb 16. doi: 10.1111/jfd.12353

Planlagte publikasjoner/presentasjoner

- 3) Leppfisk som vektor for virussykdommer; Smitteforsøk i tillegg til undersøkelser av allerede innsamlet materiale fra leppfisk fra feltutbrudd.
- 4) Fullengdesekvensering og sammenligning av norske og skotske isolater.

Når de resterende arbeidene er publisert, vil de ettersendes FHF.

7. Kvalitetssikring av prosjektgjennomføring og resultater

Resultater fra de ulike delprosjektene er gjennomgått internt i prosjektgruppa og også diskutert i fagmiljøet på de ulike seksjoner. Økonomirapporten er kvalitetssikret av Veterinærinstituttets økonomiseksjon i samarbeid med prosjektleder.