

Strategier for å begrense spredning av virus mellom sjølokaliteter med laksefisk

FHF prosjekt: 901005



Fokus på Salmonid Alphavirus (SAV) og Pancreas Disease (PD)

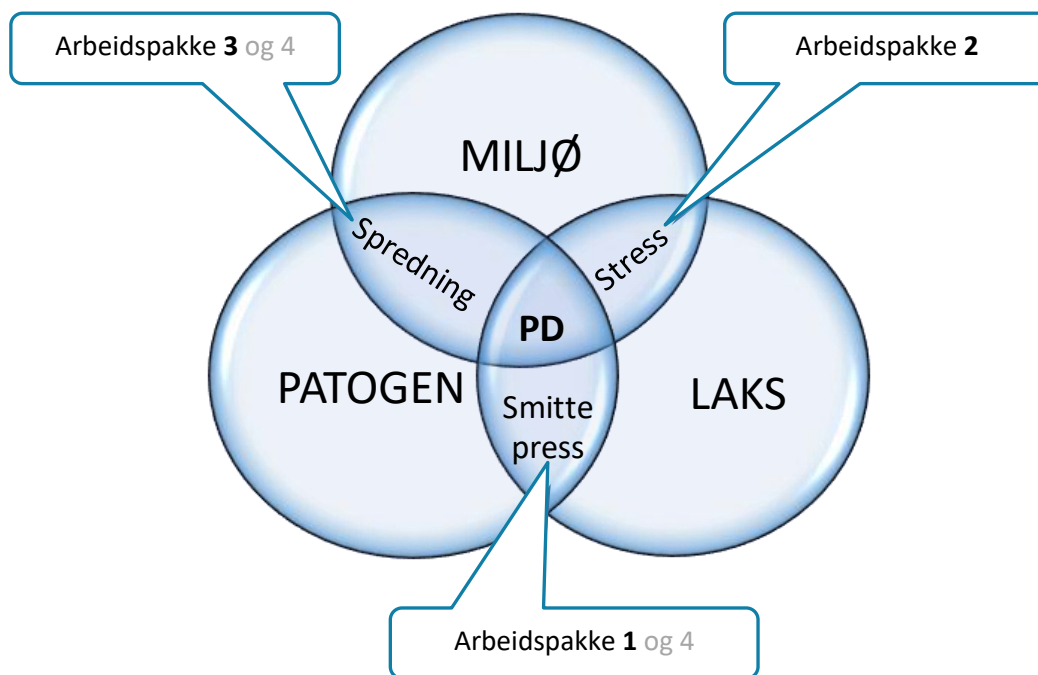
ANNE STENE, LARS GANSEL OG MONA DVERDAL JANSEN

1. mars 2018

Sammendrag

Prosjektet startet høsten 2014 da SAV3/PD var et stort problem i Sør-Norge og SAV2 spredde seg raskt nordover i Midt-Norge. Flere relevante prosjekter var i gang som omhandlet smitteveier, diagnostikk og forskjeller mellom de to ulike sub-typene. Forvaltningen svarte med å utarbeide nye regelverk for å bekjempe sykdommen, spesielt stoppe spredning av SAV2 nordover og organisere lokalitetene på en måte som gjorde næringa mer robust i for hold til å bekjempe eksisterende og nye problemer. Likevel er PD fortsatt et stort problem og behovet for mer kunnskap om nye strategier for å bekjempe sykdommen var fortsatt tilstede.

Sykdom opptrer i skjæringspunktet mellom patogen, vert og miljø. I dette prosjektet har vi fokusert på eksisterende relevant forskning og prøvd å fylle identifiserte kunnskapshull. Resultatene er satt inn i en bred tverrfaglig tilnærming for å fokusere på PD i et drifts- og forvaltningsmessig perspektiv. Hovedmålsettingen med prosjektet var å identifisere miljømessige, biologiske og organisatoriske faktorer som innvirker på spredning, sykdomsutbrudd og smitterisiko. Prosjektets arbeidspakker er sentrert i skjæringspunktene mellom virus, patogen og miljø som figuren under viser:



Arbeidspakke 1 fokuserte på SAV2 og faktorer som bidrar til økt smittepress og sykdom. Resultatene fra statistiske analyser av havbruksdata indikerte at SAV2 er mer smittsomt enn SAV3, da SAV2 spres over lengre avstander og smitter i et lengre tidsrom. En av årsakene til høyere smittepress fra en SAV2 infisert laksefiskpopulasjon kan være at symptomene er svakere og færre fisk dør av sykdommen. Det er dermed flere infiserte fisk som skiller ut virus over lengre. Grunnet svake symptomer kan SAV2 infeksjoner være vanskeligere å oppdage, også med PCR, spesielt seint i sykdomsforløpet. Resultatene våre viste at metoden for PCR påvisning av SAV2 ikke direkte kan overføres fra metoden basert på analyse av hjertevev, utviklet for SAV3. Uregistrerte tilfeller av SAV2 kan vanskeliggjøre arbeidet med å forstå og bekjempe smittespredning. Vevsanalyser indikerer at SAV smitta laks skiller ut mest virus før selve PD utbruddet. Krav om utslakting først ved påvist PD, kan derved være lite hensiktsmessig i forhold til å begrense videre spredning.

Arbeidspakke 2 fokuserte på samspeillet mellom stress og sykdom. Det primære fokus var å finne et reproduserbart verktøy for å evaluere stress/velferd hos laks i oppdrettsanlegg. Kortisolanalyser i laksens avføring med ELISA teknologi viste seg å være en, skånsom, objektiv og rask metode for å identifisere stress hos oppdrettslaks. Kontinuerlige stressende opplevelser kan innvirke på fiskens immunforsvar og øke faren for sykdomsutbrudd. Vi fant tydelig korrelasjoner mellom økning i kortisol, immunrespons og sykdomsutbrudd. Verdiene gikk tilbake etter sykdomsutbruddet, men nivået av SAV-spesifikt antistoff ble opprettholdt. Dette indikerer en viss grad av ervervet immunitet mot viruset. Tilslutt ble den validerte metoden for feceskortisol brukt for å evaluere stress under notspyling. Resultatene viste en tydelig stressrespons hos laksen under driftsoperasjonen og indikerer at vi her har identifisert et verktøy for å bedre fiskevelferd under generell produksjon og for velferdsmessige forbedringer av teknologi til notspyling, pumping, avlusning, transport m.m.

Arbeidspakke 3 fokuserte på hvordan lokaliteter og generasjonssoner bør organiseres for å få bedre kontroll med eksisterende og eventuelt nye smittestoff og sykdommer. Smittespredning er en funksjon av faktorer i driftsmiljøet og i det marine miljøet rundt anlegget. Den menneskelige faktor kan man gjøre noe med for å unngå sykdom. I åpen merdproduksjon må næringa organiseres i forhold til naturlige spredningsfaktorer. Her er vanntransporten sentral. Strømmodellen SinMod var tilgjengelig for områdene vi jobbet i ved prosjektstart og ble benyttet til å vurdere mer optimal organisering av aktive lokaliteter i forhold til vanntransport. Vi fant at enkelte lokaliteter og generasjonssoner var svært sentrale i å spre smitte. Slike nøkkelokaliteter bør ikke benyttes i perioder med smittebekjempelse, eventuelt bør fisk fjernes fra slike lokaliteter hvis den blir smitta.

I områder med et forutsigbart ensretta strømbilde, ofte innerst i fjordarmer, går det an å planlegge utsett og utslakting for å fjerne sykdom i forhold til dette. I områder med et komplekst og varierende strømbilde er det vanskelig å planlegge og lite hensiktsmessig med en inndeling i generasjonssoner som i dag. Her må store arealer brakklegges og forvaltes som en generasjonssone. Dette vil kreve stor fleksibilitet og innsats både hos oppdrettere i området og hos forvaltningen. Gevinsten er at virussykdommene forsvinner og smittepresset fra lakselus reduseres til et minimum. Miljøindikatorer for videre vekst kan dermed oppnås ved at villsmolten kan vandre ut i havet uten for store påslag av luselarver.

Arbeidspakke 4 fokuserte på vanntransport. For å undersøke relevans og samsvar mellom tilgjengelige strømmodeller, ble 4 ulike modeller evaluert. Vanntransport er en viktig men uforutsigbar faktor i forhold til smittespredning. Presise strømmodeller kan dermed bli et verktøy for beslutningsstøtte i forbindelse med å begrense smittespredning og sykdomsutbrudd. To aspekter ble sammenliknet. Først selve vanntransporten i form av strømretning og strømstyrke basert på samme input data (Nordkyst 800). Deretter ble biologiske modeller av SAV koblet til strømmodellene som bakgrunn for smitematriser mellom oppdrettsanlegg.

Resultatene viste overenstemmelse mellom modellene i gjennomsnittlig strømbilde, men det var forskjeller i detaljer. Det var imidlertid forskjeller i beregninger av smittenettverk mellom modellene. Foreløpige forklaringer på avvikene kan være at inputdataenes format ikke er fullt kompatibel med alle modellene, ellers kan det være ulikheter i de biologiske modellene for viruset. Resultatene indikerer at modellene kan utvikles til et sanntids verktøy for oppdrettsnæringa. Dette krever identifisering av årsaker til forskjeller i modellresultat og verifisering av modellresultater mot reelle miljømålinger.

I dette prosjektet ble det for første gang brukt flere store modellsystemer for strøm og smittetransport til sammenligning og evaluering av vanntransport i case områder. Prosjektet har bidratt til kunnskapsbygging i prosjektgruppen. I prosjektet ble det videre jobbet fram viktige resultat om spredning av virus i sjøen og bruksområder for modellsystemene. Følgende punkter fremheves spesielt:

Hovedfunn

- **Bekjempelse av virus, bakterier og parasitter i oppdrettsnæringa krever muligheten til objektivt å måle fiskens velferd. Kunnskap om vanntransport er nødvendig for smartere organisering av lokaliteter, generasjonssoner og brakklegging. Tilgang til ulike former for lukka produksjon i bør eksistere i kritiske perioder.**

Innholdsfortegnelse

Innhold

SAMMENDRAG	1
HOVEDFUNN	3
INNHALDSFORTEGNELSE	4
INNLEDNING	7
MÅLSETTING MED PROSJEKTET:	8
PROSJEKTETS OMFANG OG ORGANISERING	9
ARBEIDSPAKKE 1 SMITTESPREDNING OG SMITTEPRESS	10
BAKGRUNN	10
MÅLSETTING MED ARBEIDSPAKKE 1:	10
HOVEDFUNN:	10
A. FAKTORER SOM PÅVIRKER SPREDNINGSMØNSTERET TIL SAV2	10
GJENNOMFØRING	11
RESULTATER	12
DISKUSJON	12
B. MILJØFAKTORER SOM UTLØSER UTBRUDD HOS LAKS MED LATENT SAV2 INFEKSJON	12
GJENNOMFØRING	13
RESULTAT	13
DISKUSJON	14
C. UNDERSØKE OM SAV2 ER TILSTEDE I LAKS UTEN POSITIV PCR I HJERTET	16
GJENNOMFØRING	16
RESULTATER	16
DISKUSJON	18
ARBEIDSPAKKE 2: REPRODUSERBARE VELFERDSINDIKATORER	19
BAKGRUNN	19
MÅLSETTINGEN MED ARBEIDSPAKKE 2	20
HOVEDFUNN	20
A. ETABLERE METODIKK FOR KORTISOLANALYSER AV AVFØRING FRA LAKS	20
GJENNOMFØRING	21
RESULTATER	21
DISKUSJON	22
B. ANALYSERE KORTISOL I LAKS MED ANTATT LAVT, HØYT OG MER KRONISK STRESSNIVÅ I FELT.	23
GJENNOMFØRING	23
RESULTATER	24
DISKUSJON	26
C. IDENTIFISERE SAMMENHENG MELLOM KORTISOL OG IMMUNFORSVAR	27
GJENNOMFØRING	27
RESULTATER	28
DISKUSJON	30
ARBEIDSPAKKE 3. SMITTEFOREBYGGENDE DRIFT OG FORVALTNING	32
BAKGRUNN	32
MÅLSETTING MED ARBEIDSPAKKE 3:	32

HOVEDFUNN:.....	32
A. AREALAVSETNING FOR HAVBRUK I KYSTZONEPLANER I MØRE OG ROMSDAL OG NORDLAND.....	32
GJENNOMFØRING	33
RESULTAT	34
DISKUSJON	36
B. AREALAVSETNING FOR Å BEGRENE SMITTESPREDNING	36
GJENNOMFØRING	36
RESULTATER.....	37
DISKUSJON	42
C. STRATEGIER FOR Å BEKJEMPE SYKDOM	43
STRATEGIER RELATERT TIL LOKALISERING	44
STRATEGIER RELATERT TIL SONEINDELING.....	45
STRATEGIER RELATERT TIL DRIFT.	47
ARBEIDSPAKKE 4. KUNNSKAP, VERKTØY OG MOTIVASJON FOR OPTIMAL SMITTEBEGRENSNING.	49
BAKGRUNN	49
MÅLSETTING MED ARBEIDSPAKKE 4	49
HOVEDFUNN A.....	49
A. STRØMMODELLERING	50
STRØM OG BETRAKTNINGER FOR VESTLANDET	50
PARTIKKELSPREDNING OG VURDERING AV SMITTERISIKO	51
GJENNOMFØRING	52
MODELLSYSTEMER OG CASE OMRÅDER	52
PARAMETERE OG DATAGRUNNLAG	56
MODELLOPPSETT	56
DRIVKREFTER	57
PARTIKKELSPREDNING.....	58
ANALYSE AV SMITTESPREDNING	59
SAMMENLIGNING AV STRØM- OG PARTIKKELMODELLER.....	64
SAMMENLIGNING AV STRØM	64
GJENNOMSNITTSSTRØM OG VARIABILITET	66
SAMMENLIGNING AV VIRUSSPREDNING.....	67
CASEOMRÅDE 1: ROMSDALSFJORDEN	68
CASEOMRÅDE 2: NORD-TRØNDELAG OG HELGELAND	70
SAMMENLIKNING REELLE SYKDOMSDATA.....	72
VIRUSSPREDNING.....	73
PARTIKKELTRANSPORT OG SMITTENETTVERK	73
CASEOMRÅDE 1: ROMSDALSFJORDEN	73
CASEOMRÅDE 2: NORD-TRØNDELAG OG HELGELAND	76
BRUKSOMRÅDER OG BEGRENSNINGER TIL MODELLENE I FORBINDELSE MED SMITTEFOREBYGGING.....	80
B. ØKONOMIMODELLERING (DELRAPPORT).....	80
IDENTIFISERING AV KUNNSKAPSHULL SOM GRUNNLAG FOR VIDERE FORSKNING	81
LEVERANSER	84
OVERSIKT	84
PRESENTASJON PÅ KONFERANSER /SAMLINGER	84
PRESSEOPPSLAG.....	85

POPULÆRVITENSKAPELIGE PUBLIKASJONER	85
VITENSKAPELIGE PUBLIKASJONER	85
KONKLUSJON.....	86
HVORDAN BEGRENSE SYKDOM HOS OPPDRETSLAKS I SJØ?	86
SLUTTORD.....	86
REFERANSER	87
VEDLEGG	90

Innledning

Problemer med sykdommer hos oppdrettslaks og tap under produksjonen er økende. Årsaken til dette kan være at fisken i merdene er stressa grunnet blant annet infeksjoner og stadig forstyrrende driftsoperasjoner. Kronisk stress og co-infeksjoner øker mottakelighet for patogener, samtidig som det er mye laksefisk i sjøen. Stressa fisk blir lettere syk, mye syk fisk gir høyt smittepress i det marine miljøet der sjøvannet selv er en relevant smittevei. I dette prosjektet har vi fokusert på disse sammenhengene i forbindelse med spredning av Salmonid Alpha-Virus (SAV) subtype 2 (SAV2) og Pancreas disease (PD) hos laksefisk. Resultatene er overførbare til andre arter og patogener og gir grunnlag for nye verktøy for å forbedre fiskehelse, fiskevelferd, produksjonsplanlegging, forvaltning og bærekraft i norsk oppdrettsnæring.

SAV synes å ha god overlevelse i kaldt, reint sjøvann (Graham et al., 2007) og har dermed spredd seg raskt i norsk kystvann etter at den ble etablert i sjøbasert lakseoppdrett på Sør-Vestlandet. Viruset oppkonsentrerer seg i smitta laksefisk. Kort avstand mellom anlegg, flytting av fisk og eierskapsnettverk anses som risikofaktorer for smittespredning av SAV (Aldrin et al., 2010; Kristoffersen et al., 2009). Den viktigste risikofaktoren for spredning av PD i sjø synes imidlertid å være vanntransport/havstrømmer (Stene et al., 2014b; Viljugrein et al., 2009).

Det har vært stort fokus på risikofaktorer for spredning av SAV, mindre på risikofaktorer for sykdom. Spredning av virus påvirkes av transportveier, men også av smittepress eller konsentrasjonen av virus i sjøen. Fisk som nærmer seg et PD-utbrudd vil oppkonsentrere store mengder virus. Subklinisk SAV-infeksjon er også rapportert (Graham et al., 2010a). Hvis dette kan unngås, kan smittepress i sjøen kanskje reduseres. For SAV3 synes PD utbrudd å være knytta til stress over lengre tid (Stene et al., 2013; Torgersen et al., 2009). Vi vet ikke om PD fra SAV2 utløses på samme måte. Kunnskap som gir sikker påvisning av SAV2 i laksen er også viktig for å identifisere spredningsrisiko og utbruddsrisiko for denne subtypen. Dette er nødvendig for planlegging av smitteforebygging drift og forvaltning.

Fisk står fjernt fra oss i systematikken. Det er derfor vanskelig å tolke dens respons på oppdrettsmiljøet. Få objektive, reproducerbare velferdsindikatorer eksisterer for fisk i oppdrett. Stresshormonet kortisol kan måles i de fleste organismer. Økt kortisolnivå i fisken kan ha negativ innvirkning på vekst, kvalitet og overlevelse. Kortisol kan også dempe immunforsvaret og dermed utløse en latent infeksjon (Tort, 2011). For å utvikle næringa i riktig retning, bør man objektivt og enkelt kunne identifisere fiskens respons på miljøet og korrigere produksjon, håndtering og forvaltning i forhold til hva fremmer fiskevelferd, fiskehelse og dermed produksjonsresultat.

Kommunal kystsoneplanlegging pågår langs kysten for å avsette hensiktsmessige arealer til næringsutvikling inkludert fiskeoppdrett, for å sikre aktivitet og begrense interessekonflikter. Oppdrettsnæringa står også foran endringer i forbindelse med nye nasjonale kriterier for vekst. Der inndeling av kysten i produksjonsområder er en av endringene. Målsettingen med dette er bedre kontroll med sykdom og lakselus. Hygiene under drift, håndtering og transport av laksefisk er svært viktig for å begrense smittespredning. Dette er faktorer vi i kan gjøre noe med. Vi vet mindre om hvordan lokaliteter og soner bør organiseres for å begrense smitte.

Vanntransporten er sentral i forbindelse med smittespredning og ulike strømodeller tilbys oppdrettsnæringa som verktøy for å forstå og begrense spredning av patogener. Dette kan være et

godt verktøy i arbeidet med smittebegrensning, men modellene er forskjellig og har sine begrensninger og mangler som bør identifiseres og kommuniseres. Det er derfor viktig at både de som bruker og de som tilbyr modellene er klar over dette når nye sjøarealer skal modellere. Ved å identifisere svakheter i modellene kan de videreutvikles og forbedres.

Vi kan ikke gjøre noe med vanntransporten. Alternativet er å planlegge drifta i forhold til den eller redusere virusmengden i sjøen. Fjerning av smitta fisk, omrokering av lokaliteter for økt avstand, etablering av større soner og produksjonsområder samt innkjøp av ekstra utstyr for økt smittehygiene, gir økte produksjonskostnader (Aunsmo et al., 2010; Pettersen et al., 2015). Lønnsomhetsaspektet ved ulike strategier bør utredes for å vurdere beste beslutning på lang sikt. På den måten er det lettere å motivere til tiltak som i utgangspunktet kan virke svært kostnadskrevende på kort sikt.

Seks ulike tilnærminger har blitt skissert for å kontrollere sykdom og smittespredning hos laksefisk i oppdrett (understreket) (Amend, 1976):

1. Hindre kontakt mellom patogen og vert: For å hindre introduksjon av patogen i naive områder har strenge lover og nye forskrifter blitt utviklet. I sjø dreier dette seg om soneforskrifter, transportrestriksjoner, screeningprogram, fjerning av smitta fisk samt områdevis brakklegging.
2. Miljømessig manipulering: I klekkerier og smoltanlegg er full desinfisering og brakklegging praktisert før innsetting av nytt materiale som er fritt for smitte. I sjø blir manipulering av temperatur og saltholdighet benyttet til kontroll av parasitter som AGD og lakselus.
3. Immunisering og seleksjons-avl for sykdomsresistens: Laksefisk kan utvikle immunrespons mot ulike virus, som gir grunnlag for vaksineutvikling. Immunforsvaret kan også utvikles gjennom avl der enkelte stammer synes mer resistente mot virus som IPNV og SAV (Houston et al., 2008).
4. Redusere stressende driftsoperasjoner utløser sykdom hos smitta fisk: Stress kan bidra til å utløse sykdom i fisk med latent infeksjon. Det er mange ulike driftsoperasjoner som bidrar til en akutt og kronisk stressrespons som påvirker immunforsvar, fiskevelferd og produksjonsresultat.

Kjennskap til disse faktorene som også er nedfelt i nasjonale retningslinjer om brakklegging, transport og områdevis soneetablering, har ikke ført til kontroll med PD som sprer seg nordover langs kysten. Stadig nye virus, bakterier og parasitter gir problem i sjøbasert oppdrett av laksefisk. I dette prosjektet har vi hatt en bred og helhetlig tilnærming, der de viktigste aspektene angående sykdomsproblemer hos oppdrettsfisk er inkludert. Vi har fokusert på relevante forskningsresultater og forvaltningsprosesser og prøvd å fylle noen av kunnskapshullene som er identifisert.

NTNU, Patogen Analyse og Veterinærinstituttet danner prosjektgruppa har tidligere samarbeidet i flere prosjekter om bedre forståelse av spredningsveiene til ulike patogener og fiske sykdommer. I tillegg til disse institusjonene har Havforskningsinstituttet, Sintef Ocean, Akvaplan-niva og DHI/ProActima bidratt med strømodellering til prosjektet.

Målsetting med prosjektet:

- Identifisere biologiske og miljømessige faktorer som innvirker på spredning, sykdomsutbrudd og smittepress av SAV i sjøen.
- Identifisere tiltak av betydning for forebygging av sykdom og rangere tiltakenes kostnader i henhold til potensiell lønnsomhet på kort og lang sikt.
- Øke kunnskapsgrunnlag for hensiktsmessig smitteforebyggende regelverk og driftsstrategi i samarbeid med forvaltning, oppdrettere og forskningsinstitusjoner.

Prosjektets omfang og organisering

FHF-prosjekt 901005: «Strategier for å begrense spredning av PD på sjølokaliteter med laksefisk» startet høsten 2014 og ble delvis avsluttet 1. mars 2018. Et delprosjekt omhandler forholdet mellom kostnader ved å ha PD og kostnader med tiltak for å begrense sykdommen. Økonomimodellen som utvikles til dette formål har tatt lengre tid enn forutsatt. Denne delen av prosjektet vil derfor bli avsluttet og innrapportert innen 1. august.

Prosjektleder: Anne Stene, NTNU i Ålesund

Prosjektmedarbeidere:

- AP 1: Britt Bang Jensen (leder, Veterinærinstituttet; VI), Mona Dverdal Jansen VI, Britt Bang Jensen, Anja Kristoffersen, Anne Stene (NTNU), Magnus Devold (PatoGen)
- AP2: Yanran Cao (leder, NTNU) Ann Kristin Tveten (NTNU), Stig Tuene (NTNU), Anne Stene (NTNU), Lars Gansel (NTNU)
- AP3: Anne Stene (leder, NTNU). Mona Gilstad (Hydra Vega), Arne Håkon Sandnes (Møre og Romsdal Fylke), Øyvind Knutsen (Sintef Ocean: SO)
- AP 4: Lars Gansel (leder, NTNU), Anne Stene NTNU, Mona Dverdal Jansen (VI), Mads Birkeland (DHI), Jahred Ekroth (Proactima), Øyvind Knutsen (SO), Lars Asplin (Havforskningsinstituttet), Ole-Anders Nøst (Akvaplan-NIVA), Jostein Mulder Pettersen (PatoGen)

Styringsgruppe:

Kasper Tangen (Deloitte (Lingalaks)),
Marit Stormoen (Marine Harvest),
Bård Skjelstad (SalMar)

Referansegruppe:

- Første periode:
Jon Arne Grøttum (FHL),
Britt Tørud (Nærings- og Fiskeri departementet),
Paul Nergård (Mattilsynet)
- Siste periode:
Alf Jostein Skjærvik (Sjømat Norge),
Steinar Høie (Nærings- og Fiskeri departementet),
Bjarne Falck (Mattilsynet)

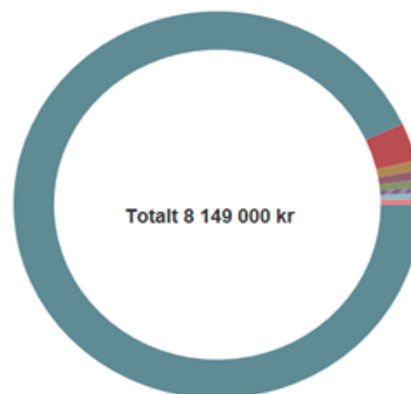
Ansvarlig hos FHF:

- Første periode: Merete Bjørgan Schrøder
- Siste periode: Sven Martin Jørgensen

Prosjektgruppe:

Anne Stene (NTNU i Ålesund, tidl. Høgskolen i Ålesund),
Mona Dverdal Jansen (VI)
Magnus Devold (PatoGen).

Her vises den totale ressursinnsatsen i prosjektet, dvs. tilskudd fra FHF og andre kilder. Hvis aktuelt vises egeninnsats fra FoU-institusjoner og bedrifter.



Arbeidspakke 1 Smittespredning og smittepress

Bakgrunn

Vanntransport i overflaten, avstand til smitta anlegg og eiere med flere smitta anlegg gir økt risiko for å bli smittet med SAV3 (Kristoffersen et al., 2009). Det samme gjelder for transport/flytting av laks (Murray et al., 2002). Vi antar, men vet ikke sikkert, om spredningsfaktorene er de samme for SAV2. Undersøkelser har påvist ulik sykdomsdynamikk mellom SAV-subtyper (Graham et al., 2011). PD forårsaket av SAV2 er mer diffus og dermed vanskelig å identifisere. Dette kan vanskeliggjør også forståelse av smittespredning og dermed muligheten for smittebekjempelse.

Viruset oppkonsentrere seg i laksen i forkant av sykdomsutbruddet. Dette øker smittepresset til miljøet rundt anlegget. Faktorer i oppdrettsmiljøet som kan utløse PD utbrudd i fisk med latent infeksjon kan være tetthet, temperatur, vaksinasjonsstatus, andre sykdommer og håndtering (Bang Jensen et al., 2012; Stene et al., 2013). Kunnskap om årsaker til utbrudd av PD kan bidra til tiltak og uttak som reduserer smittepresset og dermed smittespredning til andre lokaliteter i nærområdet.

Tilgjengelige tropismedata fra SAV2 smittet laks er opparbeidet via prosjekter ved NTNU, Veterinærinstituttet og via et internprosjekt hos Patogen vil bli undersøkt. Tropisme hos fisk som tidligere har fått påvist SAV2/PD i merd vil bli undersøkt for å se om virus er tilstede i laks som ikke har fått viruset påvist i hjertevev ved kvantitativ revers transkripsjon-polymerase chain reaction (heretter PCR).

Målsetting med Arbeidspakke 1:

Hovedmål: Identifisere faktorer i oppdrettsmiljøet som bidrar til spredning og utbrudd av SAV2.

Følgende delmål er skissert for å oppnå målsettingen:

- A. Identifisere faktorer som bidrar til spredning av SAV2 (VI).
- B. Identifisere faktorer som utløser utbrudd hos laks med latent SAV2 infeksjon (VI).
- C. Undersøke om SAV2 kan være tilstede i fisk uten positiv PCR i hjertevev (NTNU).
- D.

Hovedfunn:

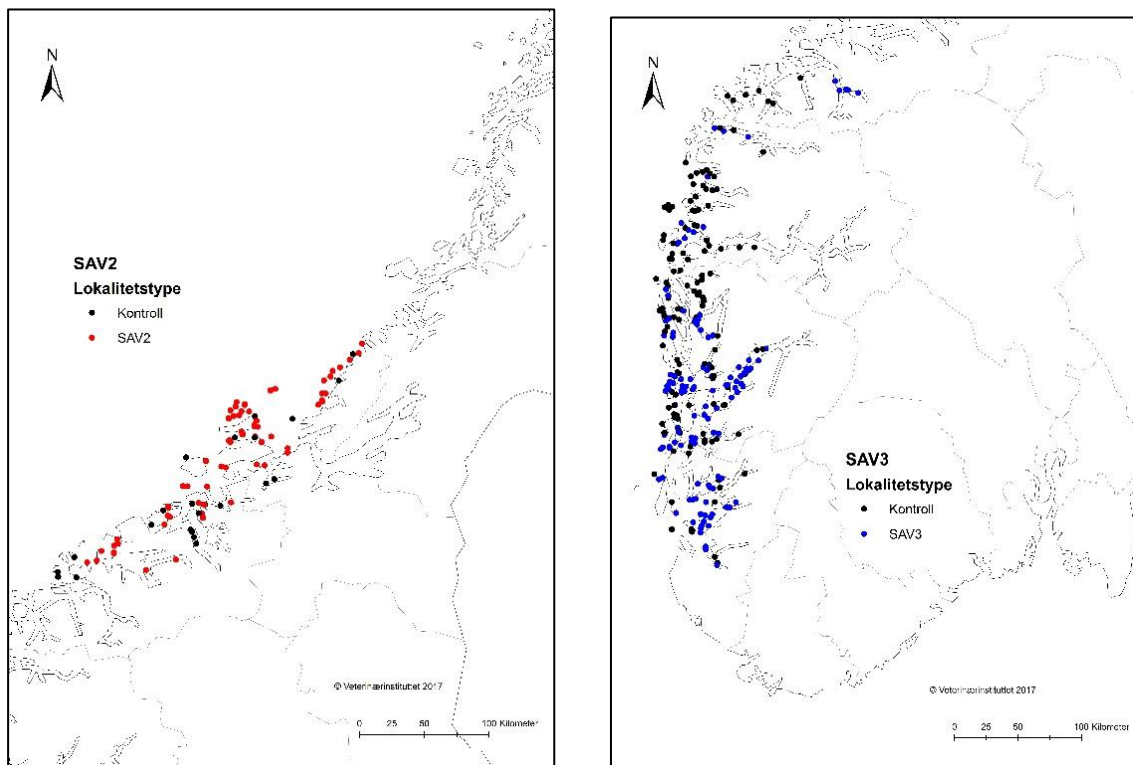
- **SAV2 er mer smittsomt enn SAV3 og spres lengre i tid og rom fra lokaliteter som er smitta. Færre laks dør av PD med SAV2. Flere syke fisk skiller dermed ut virus i sjøen og gir større smittepress fra SAV2 infiserte lokaliteter. SAV2 infeksjon forårsaker dessuten en annen vevstropisme hos laksen enn SAV3. Dette kan gjøre SAV2 vanskeligere å påvise med eksisterende påvisningsmetoder.**

A. Faktorer som påvirker spredningsmønsteret til SAV2

For å undersøke spredningsmønster for SAV og risikofaktorer for PD utbrudd ble det generert et datasett bestående av alle utsett (kohorter) i SAV2- og SAV3 områdene som ble sjø satt i eller etter august 2012 og som var utslaktet innen utgangen av 2015. Dette ble basert på informasjon tilgjengelig i Havbruksdata. Totalt inkluderte datasettet 362 kohorter, hvorav 100 kohorter var i SAV2-området og 262 kohorter var i SAV3 området (Figur 1). De 362 kohortene (Tabell 1) var fordelt på 348 lokaliteter.

Tabell 1: Oversikt over inkluderte kohorter, fordelt på utsett år.

Utsett år	SAV2 case	SAV2 kontroll	SAV3 case	SAV3 kontroll
2012	8	4	20	33
2013	39	10	65	78
2014	24	13	42	24
Totalt	71	29	127	135



Figur 1. Oversikt over inkluderte lokaliteter for SAV2 (røde punkter), SAV3 (blå punkter) og kontroller (sorte punkter).

Gjennomføring

For hver kohort ble informasjon om utsett år, vekt ved utsett (g), kohort type (vårsmolt/høstsmolt), kohort størrelse (maksimalt antall fisk før PD-utbrudd eller slakt), brakklagging i minst to måneder før utsett (ja/nei), avstand til nærmeste slakteri (km), art (laks/ørret – kun for SAV3) og sjøtemperatur innhentet fra Havbruksdata. Informasjon om eventuell PD-diagnose på lokaliteten i løpet av de siste to kalenderårene (ja/nei) ble innhentet fra Veterinærinstituttets prøvejournalssystem og Mattilsynets PD-oversikt. I tillegg ble informasjon om HSMB og/eller IPN diagnose før PD (HSMB ja/nei; IPN ja/nei) innhentet fra Veterinærinstituttets prøvejournalssystem. For å undersøke potensielle risikofaktorer for spredning mellom SAV-infiserte lokaliteter ble regresjonsanalyse benyttet

Månedlig dødelighet (%) ble kalkulert for hver kohort basert på informasjon i Havbruksdata. I tillegg ble data på antall lusebehandlinger før PD eller slakt innhentet fra Havbruksdata. Fra PatoGen AS ble data på prøveinnsendinger og SAV-RNA kopi-tall innhentet for de inkluderte kohortene der dette var tilgjengelig. Utbrudd av CMS ble ikke tatt med som risikofaktor da de fleste av disse tilfellene forekom sent i produksjonsperioden, etter PD-utbrudd. Ulike varianter av variabelen «Smittepress» ble kalkulert for å finne den varianten som best forklarte PD utbruddene. Tre datatyper danner grunnlaget for variabelen: infeksjons periode, størrelse på kohort og invers sjøavstand til PD-positive lokaliteter.

Resultater

Smittepress: For hver av de tre datatypene ble ulike varianter testet: Infeksiøs periode ble definert som «fra to måneder før PD diagnose» til enten «to måneder etter PD diagnose», «seks måneder etter PD diagnose» eller «fram til utslakting». Størrelsen på kohort ble angitt av enten «antall fisk», «biomasse» eller «en konstant», mens avstand til lokalitetene var innen «5 kilometer (km)», «10 km», «25 km», «50 km» eller «100 km». Komponentene som utgjorde den beste smittepress-variabelen var forskjellig for de to ulike SAV-subtypene (Tabell 2). Tabellen viser at er smittepresset størst i tid og rom for SAV 2. For begge subtypene øker smittepresset med antall fisk på smitta lokaliteter.

Tabell 2: Smittepress-variablene som ga best forklaringsgrad

Subtype	Avstand km	Antall fisk	Måneder før/etter PD
SAV2	100	+	2 før og 6 etter
SAV3	25	+	2 før og 2 etter PD

Diskusjon

Infeksjon er avhengig av kontakt mellom virus og vert. Kontakt oppstår via vannet, via ulike menneskelige faktorer og eventuelle vektorer i miljøet. Økende smittepress mot friske populasjoner øker sannsynligheten for smittespredning og sykdom.

En spredningsavstand på «100 km» for SAV2 tyder på at SAV 2 transporteres lengre enn SAV3. Det er imidlertid flere faktorer som kan påvirke resultatet. SAV2 synes mindre virulent mhp vevskader, vektneidgang og dødelighet (Taksdal et al., 2015). I studieperioden var SAV2 en nyetablert infeksjon, som ga PD med mildere sykdomsuttrykk enn SAV3 som oppdrettere og fiskehelsepersonell var vant til. Dette kan gjøre sykdommen vanskeligere å oppdage, slik at det går lengre tid før tiltak iverksettes.

SAV 3 og SAV 2 infeksjon gir tilsvarende prevalens og Ct-verdier i en laks (Taksdal et al., 2007). Dette indikerer at like mengde virus blir produsert i en populasjon, uavhengig av subtype, men avhengig av antall fisk på lokaliteten som analysen viser. Flere infiserte laks overlever PD med SAV2 sammenliknet med SAV3. Dette kan forklare at smittepresset fra en SAV2 populasjon er større og varer lengre, fordi flere fisk oppkonsentrerer og skiller ut virus over lengre tid.

Faktorer som ulike hydrodynamiske og geografiske forhold, ulik lokalitetstetthet og kontaktmønster kan også påvirke resultatet. Manglende vaksiner i områder med SAV2 kan også bidra til økt smittepress. Selv om vaksiner mot virussykdommer ikke så effektive, kan de gi lavere smittepress og mildere infeksjoner (Bang Jensen et al., 2012).

B. Miljøfaktorer som utløser utbrudd hos laks med latent SAV2 infeksjon

Først ble faktorer som var av betydning for utvikling av klinisk sykdom hos SAV-infisert fisk undersøkt. Erfaringer i felt viser at utbrudd forårsaket av SAV2 og SAV3 arter seg ulikt. Det ble derfor kjørt separate analyser for hver av SAV-subtypene i et forsøk på å identifisere eventuelle viktige forskjeller i risikofaktorer for utbrudd. Erfaringer fra felt har også vist at dødeligheten assosiert med utbrudd av SAV2 og SAV3 opptrer ulikt. Derfor undersøkte vi forskjeller i dødelighet mellom SAV2 og SAV3 forsøkte å identifisere risikofaktorer som var assosiert med forøket dødelighet.

Gjennomføring

Datasettet for denne studien var det samme som for undersøkelse av smittepress. Sammenlikningsgrunnlaget med SAV2 lokaliteter var aktive lokaliteter uten SAV2 påvisning og eksisterende data fra kontrollerte smitteforsøk på VESO. Datagrunnlaget vil være basert på Havbruksdata, screeningdata fra og relevante databaser hos Veterinærinstituttet.

For å undersøke potensielle risikofaktorer for PD-utbrudd på SAV-infiserte lokaliteter ble regresjonsanalyse benyttet og følgende potensielle risikofaktorer inkludert: «Smittepress», «Kohort type», «Kohort størrelse», «Vekt ved utsett», «Avstand til slakteri», «Brakklegging i minst 2 måneder før utsett», «PD på lokaliteten de 2 siste årene», «HSMB før PD/slakt», «IPN før PD/slakt», «Utsett år» og «Art» (kun for SAV3) (Tabell 2 og Tabell 4). Det ble kjørt separate analyser for SAV2 og SAV3.

Endring av sjøtemperatur ble ikke analysert i forbindelse med risikofaktorer for PD-utbrudd da det ikke finnes noe å sammenligne kontrollkohortene med siden disse har blitt eksponert for både temperaturøkning og temperaturminking. Risikofaktoren «Antall lusebehandlinger før PD/slakt» kunne heller ikke inkluderes i disse analysene da den hadde forskjellig tidsperiode for caser og kontroller. Det at det ofte var flere lusebehandlinger mot slutten av utsettet ga en ytterligere skjevhet i variabelen.

Resultat

Risikofaktorer assosiert med PD-utbrudd: For SAV2 viste de univariate analysene at variablene «Smittepress», «Avstand til slakteri», «HSMB før PD/slakt» og «Kohort størrelse» hadde en p-verdi ≤ 0.2 (Tabell 1 Vedlegg) og ble dermed inkludert i den multivariate analysen. I sluttmodellen var det kun «Smittepress» som var en signifikant faktor (Tabell 3).

For SAV3 viste de univariate analysene at variablene «Smittepress», «PD de to siste årene», «Avstand til slakteri», «Kohort størrelse», «Kohort type» og «Vekt ved utsett» hadde en p-verdi ≤ 0.2 og er dermed inkludert i den multivariate analysen. I sluttmodellen var det variablene «Smittepress», «Kohortstørrelse» og «PD de to siste årene» som var signifikant. Smittepress den viktigste faktoren.

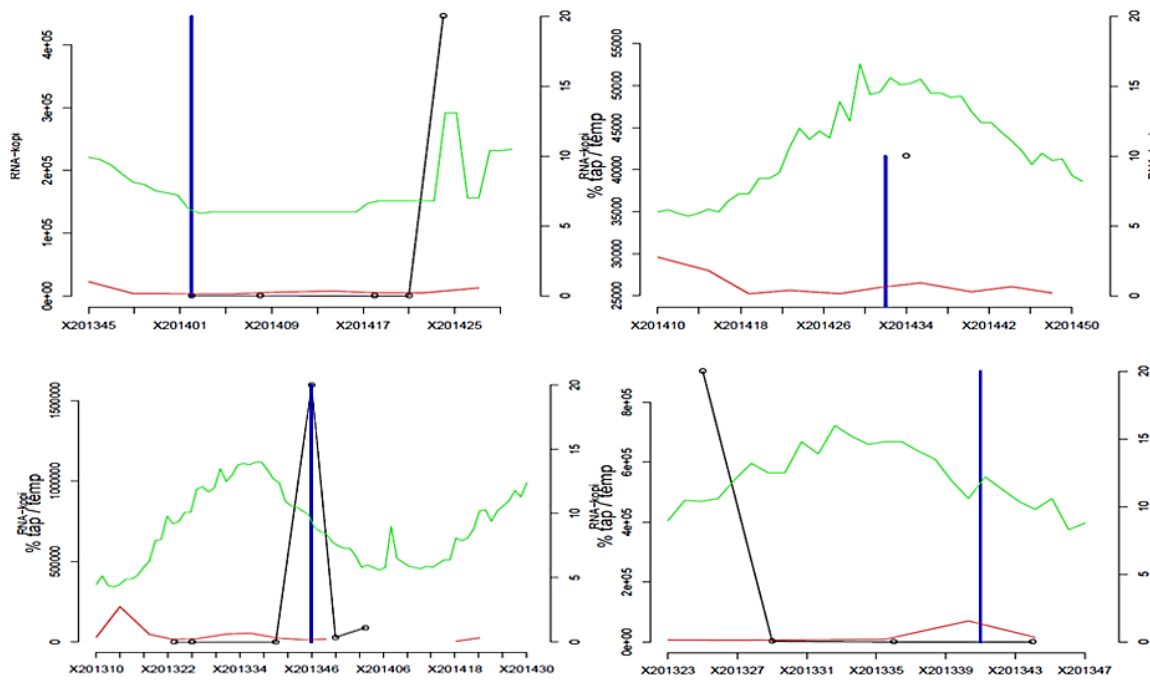
Tabell 3: Sluttmodell for risikofaktorer for PD utbrudd forårsaket av SAV2 (nullmodell AIC = 109).
OR = odds ratio, KI = konfidensintervall

SAV2, PD utbrudd (sluttmodell)				
	Estimat	Standardavvik	OR (95% KI)	p-verdi
Intercept	1.295	0.324		<0.001
Smittepress	1.542	0.539	4.67 (1.62, 13.44)	0.004

Risikofaktorer som var assosiert med forøket dødelighet. For å ytterligere undersøke utbruddsdynamikk ved SAV-infeksjon ble data på tidspunkt for PD diagnose, sjøtemperatur, prosent dødelighet og SAV RNA-kopi tall sammenstilt i grafer for hver kohort (der tilgjengelig). Grafene ble deretter sammenlignet. Det ble ikke avdekket noen systematiske mønstre i grafene for SAV2 eller SAV3. Noen eksempler på grafer fra lokaliteter med SAV2 er gitt i Figur 2.

Noen lokaliteter har dødelighetstopp før PD-diagnose, noen etter og noen hadde ikke en identifiserbar dødelighetstopp. Tilsvarende hadde noen høye virustiter før PD-diagnose, andre etter. Analysene av grafene med SAV-RNA dynamikk viste at disse dataene ikke var særlig godt egnet til dette formålet da det var ulikt antall og/eller ulikt intervall på prøveinnsendinger (observasjoner). Naturlig nok manglet

det også ofte prøvetakinger etter en PD-diagnose. Grunnlaget for registrert «PD-status» varierte også i materialet – noen hadde bare SAV-påvisning (særlig i SAV2-området) mens andre hadde både viruspåvisning og histopatologiske forandringer. Dette vanskeliggjorde avdekking av systematiske mønstre.



Figur 2. Eksempler på grafer for lokaliteter med PD forårsaket av SAV2. Blå vertikal strek indikerer dato for PD-påvisning i Veterinærinstituttets prøvejournalssystem eller Mattilsynets PD-oversikt. Grønn graf viser vanntemperatur (skala på høyre y-akse), rød graf viser månedlig tap i prosent (skala høyre y-akse), sort graf indikerer antall SAV RNA-kopier (skala venstre y-akse). Sorte sirkler indikerer tidspunkt for PCR-prøveuttak for SAV. X-aksen angir Xår og uke.

Diskusjon

Resultatene viser at smittepress på en lokalitet er den viktigste faktoren for utbrudd av PD, uavhengig av SAV-subtype. Dette er i samsvar med tidligere publisering som har identifisert smittepress som den viktigste faktoren for utvikling av PD forårsaket av SAV3 (Kristoffersen et al. 2009). Smittepresset vil øke på en lokalitet hvor smitta fisk befinner seg etter hvert som flere og flere fisk blir infisert og syk.

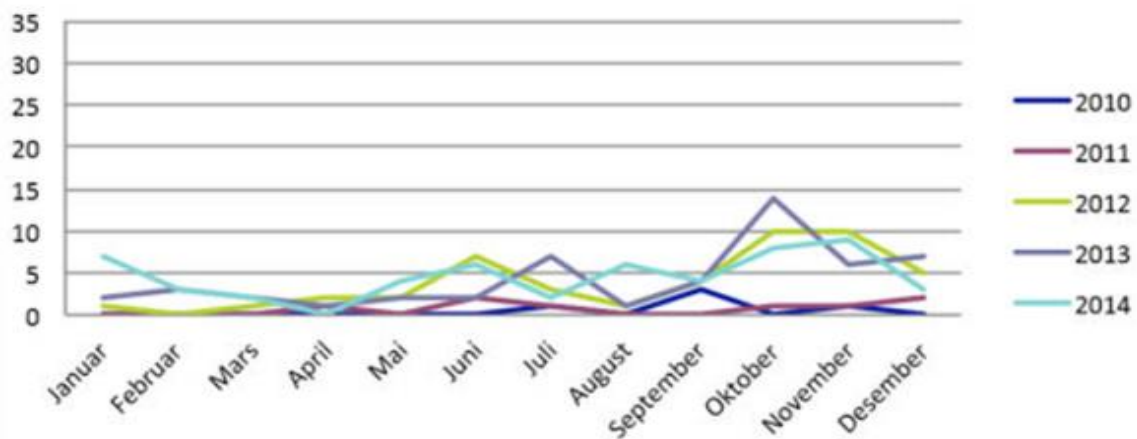
Tidligere risikofaktorer for PD utbrudd forårsaket av SAV3 som høstsmolt var ikke signifikant i dette materialet, eller hadde ikke tilgjengelig informasjon for inkludering (smoltstamme) (Brun et al., 2006; Kristoffersen et al., 2009; McLoughlin et al., 2006; Rodger and Mitchell, 2007). Det har tidligere blitt vist at økende sjøtemperatur kan utløse PD-utbrudd og gi en kortere inkubasjonsperiode for PD enn ved synkende vanntemperatur (Stene et al., 2014a; Torgersen et al., 2009). I undersøkelsen til Stene et al 2014a fikk vårmolt utsatt i SAV3 områder mye raskere PD enn høstsmolt. PD utbruddet var her basert på SAV3 der utbruddet kunne identifiseres i en tydelig dødelighetstopp. Et slikt uttrykk for PD er vanskelig å identifisere for SAV2.

Risikofaktoren «PD siste to år» var signifikant for SAV3-modellen. All tilgjengelig informasjon tyder på at dagens brakkleggingsrutiner er effektiv til å forhindre smitte mellom etterfølgende kohorter på

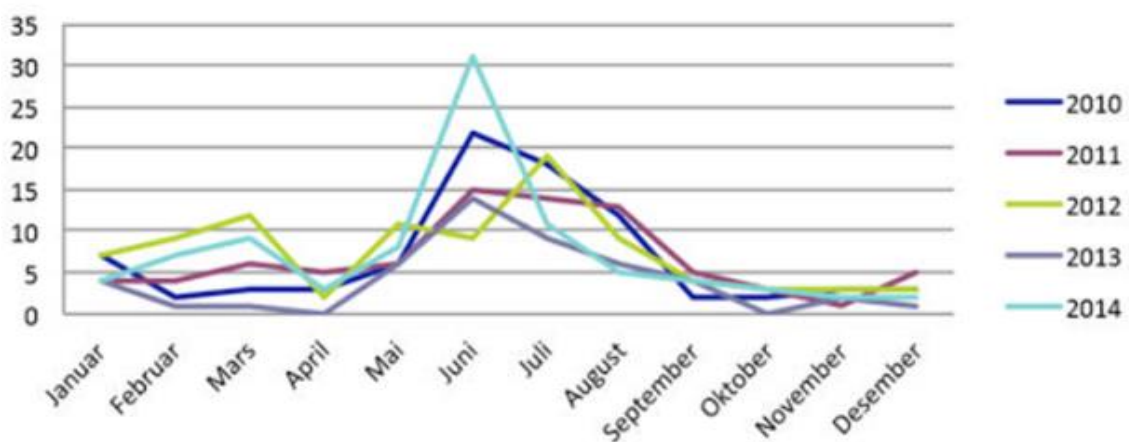
samme lokalitet (Aldrin et al., 2010; Stene et al., 2010). Dette indikerer at variabelen «PD siste to år» fanger opp noe ved lokalitetene som «Smittepress» eller andre variabler ikke gjør. Nøyaktig hva dette er har ikke latt seg identifisere, men det kan skyldes re-utsetting i områder der andre lokaliteter er smitta.

Distinkte topper i dødelighet er vanskelig å identifisere på SAV2 smitta laks sammenliknet med laks smitta med SAV3 (Figur 3). Prevalens og Ct-verdier i laksepopulasjoner smitta med SAV2 eller SAV3 er ikke vesentlig forskjellig, men det tar lengere til å utvikle/identifisere PD fra SAV2 (Taksdal et al 2015). Månedlig insidensrate basert på innmeldte tilfeller av SAV2/PD viser en topp senhøstes mens innmeldte tilfeller av SAV3-PD viser en topp om sommeren (Figur 3). Analyser av dødelighet hos SAV3 smitta laks viste at PD bryter ut vår/sommer når temperaturen i sjøen er stiger, uavhengig av hvor lenge fisken antas å være smittet (Stene et al 2013a). Utbruddet av SAV2-PD kan utløses av de samme forholdene som SAV3 men SAV2-PD utvikler seg seinere, gir mindre skader i indre organer (Taksdal et al., 2015) og er vanskeligere å oppdage tidlig for driftspersonell og veterinærtjeneste.

SAV2 månedlig insidensrate 2010-2014



SAV3 månedlig insidensrate 2010-2014



Figur 3: Månedlig insidensrate for SAV2 (over) og SAV3 (under). Gjennomsnitt fra 2010-2015

C. Undersøke om SAV2 er tilstede i laks uten positiv PCR i hjertet.

For å identifisere smitte tidlig, er det viktig at påvisningsmetodene er sensitive og spesifikke for det smittestoffet som skal påvises. Flere undersøkelser har sett på vevstropisme hos SAV3 infisert laks (Andersen et al., 2007; Graham et al., 2010b). Vi har ikke klart å identifisere tilsvarende undersøkelser for SAV 2. Ulike påvisningsmetoder er i stor grad basert på erfaringer og forskning fra SAV3. På bakgrunn av egne undersøkelser og tilgjengelig og litteratur (Taksdal et al. 2015) synes det som om de to virus-subtypene har ulik distribusjon i ulike vev i en smitta laks. Hvis SAV2 er vanskelig å registre generelt og spesielt i det vevet som vanligvis brukes til påvisning med PCR og histopatologi, kan mange smitta fisk på mange lokaliteter ikke bli identifisert.

Gjennomføring

Ti laks fra tre ulike oppdrettsanlegg i Møre og Romsdal ble analysert. SAV2 var påvist i anleggene henholdsvis 2 uker (lokalitet nr 1), 5 måneder (lokalitet nr 2) og 14 måneder lokalitet nr 3) etter SAV2/PD var registrert. Individene veide 3- 4kg. Vevsprøver (2x2mm) tatt sterilt fra hjerte, gjeller og rød muskulatur, ble fiksert i RNA-later, inkubert ved 4°C i 48 timer før nedfrysing ved -20°C frem til PCR-analysering hos PatoGen AS. Vevsprøver på ca. 1 gram fra gjeller og rød muskulatur ble homogenisert i en en stomacher (Lab-Blender) i 3 x 1 min, sentrifugert ved 2500rpm ved 4°C i 10 minutter, pipettert over til 1,5mL eppendorfrør og fryst ned til -80°C inntil ekstraksjon for kultivering av virus i cellekultur (i 15mL sentrifugerør på is med 9mL celledyrkningsmedium uten FBS).

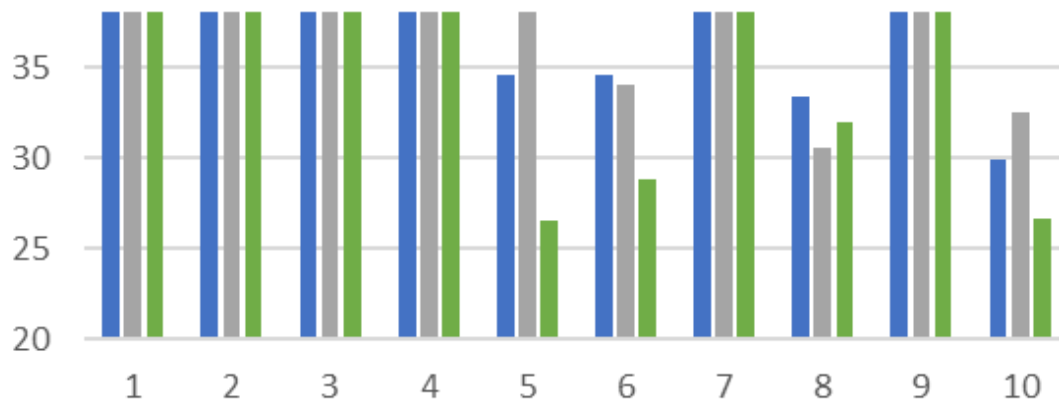
Et cryorør med 1mL CHSE-celler i frysemedium ble tatt opp fra flytende nitrogen, tint i vannbad ved 20°C, tilsatt 1mL celledyrkningsmedium (Leibovitz's L-15 Medium (Thermo Fisher) med 10mL L-glutamin (Corning), 25mL føtalt kalveserum (FBS, BioWhittaker) og 5mL Antibiotic-Antimycotic (100x)) og overført til en (25cm²) celledyrkningsflaske med 5mL celledyrkningsmedium. Flaskene ble inkubert ved 20°C i 48 timer før bytte av medium. Kulturen ble regelmessig inspisert frem til vekst ble observert, og deretter splittet. Splitting ble gjort ved å fjerne gammelt celledyrkningsmedium, skylle cellene med 2 x 3,5mL Hanks' Balanced Salt. Et Motic AE31 inversmikroskop med fasekontrast ble brukt til inspeksjon av cellekulturene.

Seks ml celledyrkningsmedium ble tilsatt ved tilfredsstillende trypsinering (>80%) og 3,5mL celleløsning fordelt i hver celleflaske som så ble inkubert ved 20°C. Inspeksjon og splitting av cellekultur hver 7. dag, eventuelt når vekst ble observert. Cellekulturene ble fordelt på små (25cm²), medium (75cm²) og store (175cm²) celleflasker etter behov. En mL vevsekstrakt fra hver positiv vevsprøve ble tint i romtemperatur, overført til cellekultur og satt til absorpsjon i 3 timer ved 15°C før celledyrkningsmediet med vevsekstrakt ble helt av og ferskt medium tilsatt. Celleflaskene ble satt til inkubering ved 15°C i tre uker før analyse og videre passering av 1ml supernatant til ny cellekultur. Cellekulturer ble inspisert hver 7. dag for tegn til CPE.

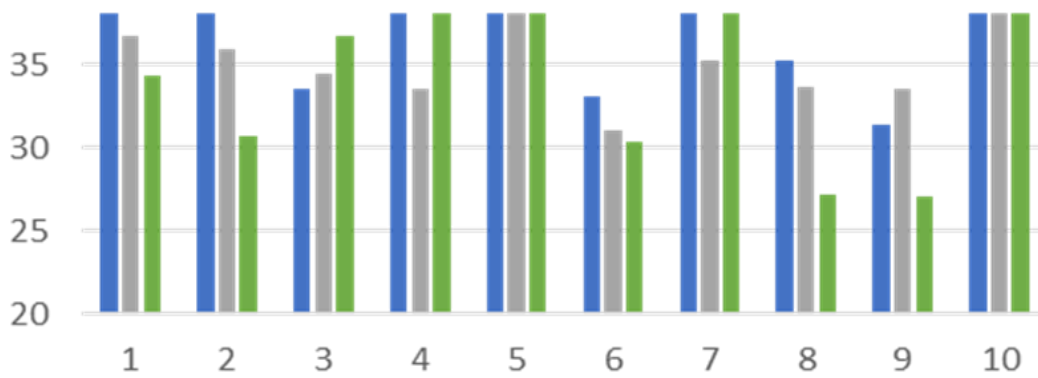
Resultater

Hos alle 3 gruppene av laks, ble de laveste Ct verdiene registrert i rød muskel. I begynnelsen av PD utbruddet (lokalitet 1) var 4 av 10 fisk positive på bakgrunn av analyse av hjertevev og rød muskel (Figur 4 øverst). Fem måneder etter PD påvisning (lokalitet 2) var 4 av 10 fisk positive, basert på analyser av hjertevev, mens 6 av 10 var positive basert på analyser av rød muskel (figur 4 midten). 14 måneder etter PD påvisning (lokalitet 3) var ingen fisk positive basert på analyse av hjertevev, mens 4 av 10 var positive basert på analyse av rød muskel (figur 4 nederst).

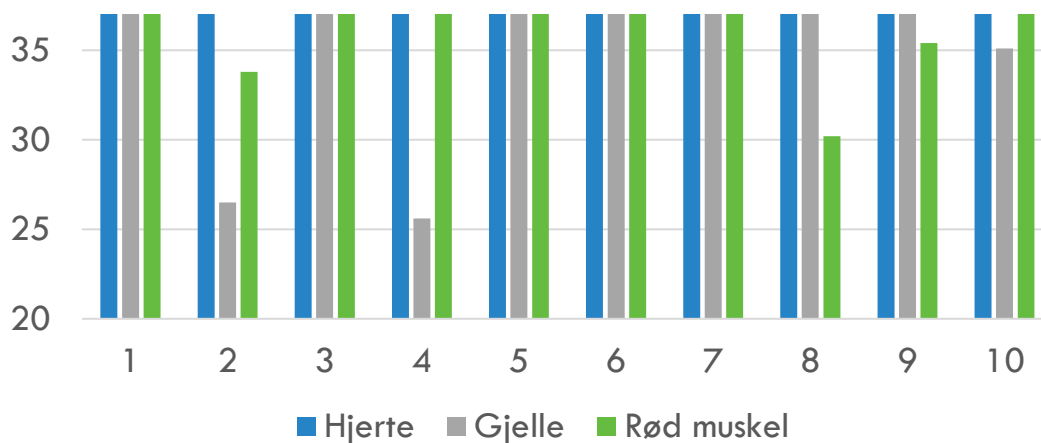
SAV2 Ct-verdier 0,5 mnd etter PD påvisning



SAV2 Ct verdier 5 mnd etter PD påvisning



SAV 2 Ct verdier 14 mnd etter PD påvisning



Figur 4: Ct-verdier i 10 fisk fra PCR analyser av ulike vev på ulike tidspunkt i forbindelse med PD-påvisning for SAV2 infeksjon 0,5, 5 og 14 måneder etter PD påvisning.

Dyrking av SAV2 i cellekultur viste at infektive virus var tilstede i rød muskulatur i fisk i akutt fase av sykdommen (2 uker etter PD påvisning). Dyrking indikerte også infektive virus i rød muskel 5 måneder etter påvisning (Tabell 4).

Tabell 4: PCR-resultater fra virusdyrking cellekultur for fisk nr 6 med lavest Ct verdier, fra anlegg B.

Prøve	Paralleller	Positive prøver	Ct-verdier
6B (R) – Primært inokulat	6	2	37.5
6B (R) – 1. passering	6	1	37.1
6B (R) – 2. passering	6	1	36.5

Gjellevev har variabel Ct-verdi i forhold til hjertet og rød muskel, og kan være lav eller manglete i alle faser av sykdomsforløpet. I sykdomsforløpet finner vi at fisk som er SAV negativ basert på PCR analyser av hjertevev, kan være SAV positiv basert på analyser av rød muskel. Våre resultater indikerer at SAV2 kan være hensiktsmessig å påvise ved analyse av rød muskel.

Diskusjon

Figur 2 i denne rapporten antyder varierende sykdomsdynamikk til SAV2 i forhold å registrere sykdomstegn og påvise SAV med PCR. Dette vanskeligheter med presis påvisning av sykdommen. Skader i hjertet, pancreas og hvit muskulatur er mest omfattende hos SAV3 smitta laks. Skader i rød muskulatur er imidlertid størst hos laks med SAV2 (Taksdal et al., 2015). Dette tyder på mye virus i rød muskel hos laks smitta med SAV2.

Dette underbygger våre funn, kan påvirke virulens og mulighetene til å oppdage SAV2/PD med PCR. Gjellevev har variabel Ct verdi uavhengig av tid i sykdomsforløpet. Vann med virus filtreres gjennom gjellelamellene som gir gjellene en stor overflate mot miljøet. Her kan virus-partikler bli sittende. Positiv PCR trenger derfor ikke si så mye om virusmengde i selve gjellevevet, men kan kanskje heller si noe om det er virus i miljøet.

Hjertevev gir gode PCR-signal for begge subtyper tidlig i sykdomsforløpet, men synes mindre egnet for å oppdage SAV2 seinere. Når hjertevev benyttes til å påvise SAV2 og prøver av laks med mistanke om SAV2 blir innsendt seint i sykdomsforløpet, kan viruset være vanskelig å identifisere. Rød muskulatur synes å gi best indikasjon på smitte med SAV2. Rød muskel har høyt fettinnhold sitter nær huden på laksen og vil fort eksponeres mot vannet hvis død fisk ikke blir fjernet fort (Stene et al., 2015). Viruset kan dermed spres med fettceller i overflaten til nye anlegg

Ifølge statistikken til Veterinærinstituttet hadde man i midten av desember 172 PD-påvisninger /mistanker i 2017, noe som er det høyeste antallet noen sinne. Mange påvisninger kom sein på høsten. Dette er uventet og en forklaring kan være innføringen av nye PD-screening-rutiner. Med dagens krav til screening en gang i måneden, vil en SAV2 infeksjon bli oppdaget, uavhengig om det er hjertevev eller rødt muskelvev som blir analysert. Rødt muskelvev har imidlertid de lavest Ct-verdiene på alle stadier i sykdomsforløpet (0,5, 5 og 14 mnd etter PD påvisning).

Arbeidspakke 2: Reproduerbare velferdsindikatorer

Bakgrunn

Sykdom er en funksjon av patogene organismer og allmentilstanden til verten som blir infisert. For å evaluere oppdrettsfiskens velferd i relasjon til robusthet mot sykdom trenger vi gode verktøy som kan gi raske og reproduerbare resultater. Mange operative velferdsindikatorer for oppdrettslaks er skissert (Martins et al., 2012; Pettersen et al., 2014; Stien et al., 2013). I den nye håndboka: «Velferdsindikatorer for oppdrettslaks: Hvordan vurdere og dokumentere fiskevelferd» (Nobel, et al. 2017) er en rekke miljørelaterte, fysiologiske og morfologiske operative velferdsindikatorer (OVI) skissert (Figur 5 hentet fra Handboka).



Figur 5: Oversikt over OVI i merdanlegg med laksefisk i sjø (Nobel et al. 2017).

Silke målinger er tidkrevende og observasjoner vil være basert på observatørens subjektive vurderinger. Det er dessuten vanskelig å vite om f.eks. moderate skjelett- og finneskader virkelig påvirker fiskens oppfattelse av velferd.

I dette prosjektet valgte vi å utforske analyser av kortisol som velferdsindikator for laksefisk i oppdrett. Vi ville prioritere analyser av avføring fordi slike prøver raskt kan samles inn under f.eks. lusetelling. Prøvetakingen vil i liten grad skade fisken sammenliknet med å ta ut blodprøver, som vanligvis benyttes til å analysere kortisol i organismer. Kortisol vil dessuten raskt frigjøres i blodet på laksen når den tas ut av vannet og håndteres. Dette vil forstyrre effekten av den påvirkningen man ønsker å vurdere.

Det er sammenheng mellom økning i stress og redusert immunforsvar. Den naturlige immunresponsen skjerpes under akutt stress. Dette er utviklet for å bekjempe betennelser i f.eks. sårskader. Forskning har vist at kronisk stress har en mer negativ effekt på immunitet enn akutt stress gjennom en forlenget utskillelse av kortisol. Dette fører til at cellens kapasitet til å dempe betennelser reduseres. Resultatet blir oppkonsentrering av smittestoff i kroppen og økt sannsynlighet for sykdom hos organismer med latent infeksjon (Ebrect. et al. 2004). Sykdom bidrar også til økt utskillelse av patogener i miljøet (Figur 5).

Kortisol utskilles umiddelbart i blodet ved akutt stress. Prøvetaking er stressende og gir rask økning av kortisol i blodet, noe som forstyrrer prøveresultatet i forhold til de stressfaktorene man ønsker å evaluere. I tillegg kan fisken lett skades hvis den skal tilbakeføres til merd. Det er viktig å finne enkle, skånsomme metoder for å evaluere velferd objektivt og reproducerbart. Kortisol skiller også ut i fordøyelseskanalen og avsettes i avføring i etterkant av stresspåvirkningen. Dette gir mulighet for å samle inn prøver for velferdsanalyser uten å ta livet av laksen og uten at stress knyttet til selve prøvetakingen vil forstyrre resultatet (Bertotto et al., 2007; Palme, 2005).

Vi trenger reproducerbare velferdsindikatorer som et verktøy for å utvikle optimal drift, optimal forvaltning, optimal teknologi og bærekraftig vekst i oppdrettsnæringa.

Målsettingen med Arbeidspakke 2

Hovedmål: Utvikle skånsomme, objektive velferdsindikatorer for oppdrettslaks for å utrede sammenheng mellom velferd og fiskehelse. Følgende delmål er skissert for å oppnå dette:

- A. Etablere metodikk for kortisolanalyser i avføring fra laks i merd/felt.
- B. Analysere kortisol i laks med antatt lavt stressnivå (bakgrunnsnivå), høyt stressnivå (driftsoperasjoner) og mer kronisk stress i felt.
- C. Identifisere sammenheng mellom stress, kortisolnivå og immunforsvaret.

Hovedfunn

- **Registrering av kortisol i fecses kan være en reproducerbar, enkel, rask og skånsom metode for å måle velferd hos oppdrettslaks. Det er sammenheng mellom stress, PD og immunforsvar. Måling av fecseskortisol kan et nyttig verktøy for å utvikle bedre teknologi for pumping, avlusning, notspyling mm.**

A. Etablere metodikk for kortisolanalyser av avføring fra laks

Stressevaluering av ulike organismer ved kortisolanalyser har hovedsakelig vært basert på blodprøvetaking. Prøvetaking, ekstraksjonsmetoder og metoder er hovedsakelig tilpasset påvisning i blod. Fecses kan inneholde andre kortisolkomponenter i og med at kortisol er utskilt i tarm og dermed metabolisert. Analyse-kit som er tilgjengelig for kortisolanalyser er dermed ikke utviklet for påvisning av kortisolsteroider i fecses (FCM). Det er derfor nødvendig å optimalisere prøvetaking og ekstraksjonsmetoder for dette og teste om kommersielt tilgjengelige analyse-kit egner seg for FCM og gir sammenliknbare resultater med kortisol i blodet.

Enzyme-linked immunosorbent assay, heretter ELISA, vil bli brukt for å analysere kortisolnivået. For å validere resultatene fra fecesanalysene vil vi også måle kortisol i blodserum for sammenlikning. Metodikken for måling av kortisol i avføring er utprøvd og publisert for mange dyr inkludert produksjonsdyr på land. Enkelte undersøkelser er også gjort på fisk (Lupica and Turner, 2009) og laksefisk (Bertotto et al., 2007).

Gjennomføring

Blodprøver (4 ml) ble tatt fra 14 laks umiddelbart etter avliving. Prøven ble tilsatt heparin og transportert på is før sentrifugering ved 4°C. Plasma ble separert ut ved sentrifugering og overført til små prøverør før lagring ved -20°C inntil analysering. Fecses fra samme laks ble strøket forsiktig ut og lagret i små prøverør og transportert på is inntil separering av fraksjoner som ble lagret ved 20°C inntil analysering.

Tre forskjellige metoder for preparering av avføringsprøver for ELISA analyser ble utprøvd og sammenliknet: 1) Ikke ekstrahert flytende del av avføringen, 2) Ekstraksjonsproduktet fra flytende del av avføring 3) Ekstraksjonsprodukt av fast del av avføring.

Plasma kortisol fra blod ble ekstrahert ut etter standard prosedyre for kortisol analyser med enzyme immunoassay (EIA)/ELISA kit (Neogen, Lexington, KY) for ytterligere sammenlikning. Metoden er anbefalt av leverandøren av ELISA kit og er basert på relevant forskning (Afonso et al., 2003). Metoden anbefaler ekstraksjon av kortisol fra blodplasma med 100 µl dietyleter (Sigma, St. Louis, MO, USA).

FCM ble først forsøkt ekstrahert ut med dietyleter som protokollen for ELISA-analyser av plasmakortisol anbefaler. Dette synes lite egnet for ekstraksjon av FCM. Deretter ble FCM forsøkt ekstrahert ut med metanol i ulike konsentrasjoner og mengdeforhold i forhold til mengde fecses. Dette på bakgrunn av tidligere undersøkelser og antagelsen om at metabolittene hadde en mer polar karakter (Huber et al., 2003; Palme, 2005).

Kortisolnivåene ble bestemt i duplikater etter oppsett av standardkurver. Først ble prøvene fortynnet 5 til 50 ganger. Standarden som tilbys med kittet ble serielt fortynnet i EIA-buffere (fra settet) og sentrifugert. Deretter ble 50 µl fortynnete prøver og standardene, samt tomme prøver (bare buffer), tilsatt i duplikater til analysebrettet som var belagt med anti-kortisol kanin antistoffer. Kryss-reaktivitet med kortisolantistoff ble registret. Den analytiske følsomheten for kortisolanalysen var 0,04 ng / ml (McConnachie et al., 2012). En standardkurve ble plottet ved bruk av resultater av kortisolstandardene. Konsentrasjonene i prøvene ble estimert fra denne grafen.

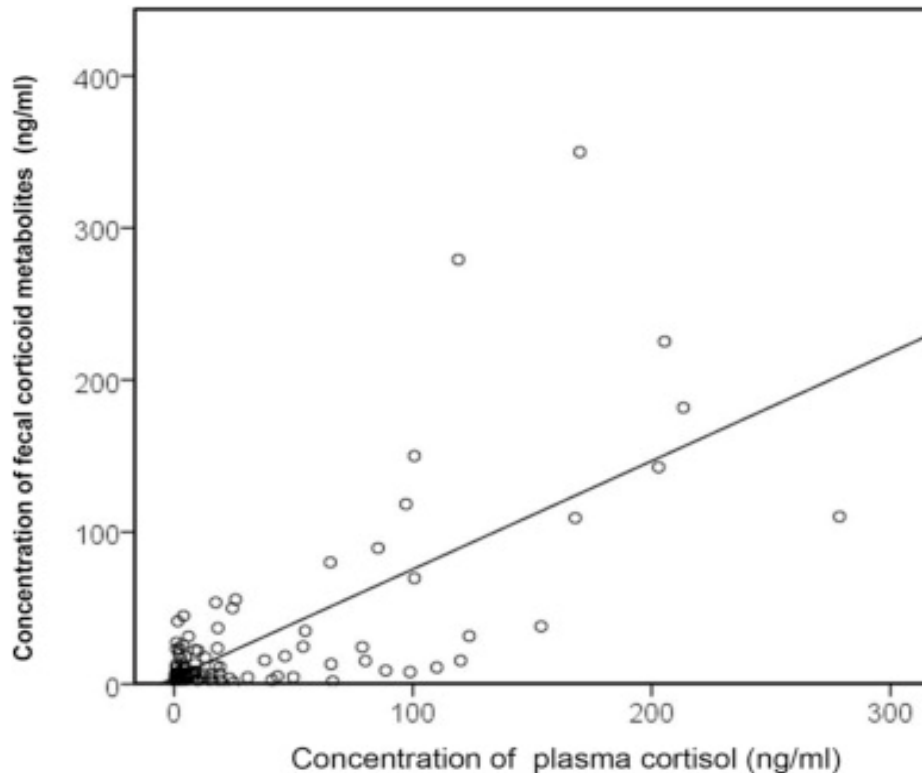
Deretter ble 50 µl av kortisol-enzymkonjugatet tilsatt og brettet inkubert ved romtemperatur (RT) i 1 time. Etter inkubering ble brettet vasket med 3 x 300 µl / brønnvaskebuffer og tilsatt 150 µl substrat i hver brønn og inkubert i en halv time ved RT. Til slutt ble 50 µl 1 N saltsyre (HCL) tilsatt hver brønn for å stoppe enzymreaksjonen. Absorbansen ble målt med en Synergy HTX Microplate Reader (BioTek Instruments) ved 450 nm. Endpoint-målinger ble bestemt ved bruk av Gen5 (Versjon 2.06).

Resultater

Ulike ekstraksjonsmetoder og ELISA kit ble evaluert. Metanol ble identifisert som best til ekstraksjon av FCM fra fecses. Optimalt blandingsforhold mellom fecses og metanol ble bestemt til 1 ml med 100% metanol brukt til ekstraksjon av 100 µl væske fra fecses eller 100 mg av fast fecses. ELISA –kit fra Neogen, Lexington, KY, USA ga best reproducerbarhet for analysene.

Analysene viste god korrelasjon mellom kortisolmetabolitter fra fast fecses, ekstrahert fecses-væske og ikke ekstrahert væske/supernatant fra fecses ($p < 0,05$). Analyse av fecses-supernatant direkte,

var enklest, ga raskest svar og var reproducerbart. Figur 6 viser dessuten at det også var liten forskjell mellom kortisol nivå i plasma og FCM i fecses ($p < 0,05$).



Figur 6: Sammenheng mellom blodkortisol og FCM

Diskusjon

Resultatene viser at FCM analyser kan være en rask, reproducerbar og skånsom metode for å si noe om stress og dermed velferd hos oppdrettslaks. Metoden er utprøvd ved NTNU for rensefisk og visert at den kan også utvikles for rognkjeks og berggyllt i oppdrettsmerder. Fecsesprøver kan enkelt opparbeides av driftspersonell på anlegget, f.eks. i forbindelse med lusetelling, uten avlaving av fisk.

Med mulighet til å måle velferd på en objektiv måte, blir det enklere å forbedre driftsrutiner og driftsteknologi. Analyser av fecseskortisol kan gi rask, reproducerbar tilbakemelding til oppdrettere, forvaltning og teknologileverandører angående stressrespons på ulike påvirkninger.

Vi brukte metoden for å undersøke effekten av sulting før slakting. I disse periodene bestod tarminnholdet av mucus med gule tråder. Analysene av dette tarminnholdet indikerer at mange dagers sutling før slakting i seg selv ikke er særlig stressende for fisken. Uansett vil fôropptak påvirke mengden av FCM i prøven i forhold til fortykning av konsentrasjonen (Palme, 2005). Dette vil vi se mer på i nye prosjekt. Vi har testet kortisol i mucus hos laks, blod og avføring hos rensefisk og sett på sammenhengen mellom stress og PRV, CMS i sjø, samt lakspox i settefiskanlegg. Foreløpige resultater viser at vi her har en velferdsindikator som bør videreutvikles.

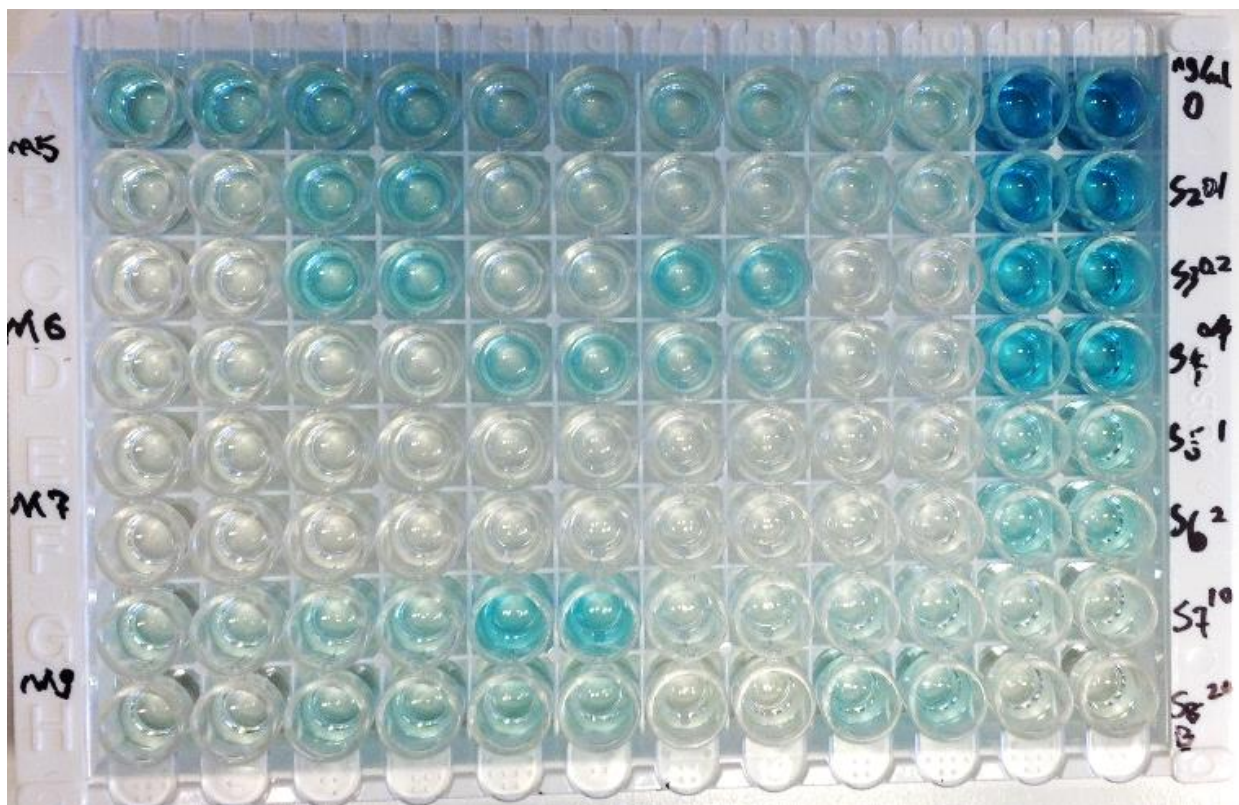
B. Analysere kortisol i laks med antatt lavt, høyt og mer kronisk stressnivå i felt.

Kortisol er en lett målbar komponent av det primære stressresponsystemet som påvirker fysiologiske og psykologiske funksjoner, atferd og følsomhet for sykdommer. Kortisolproduksjon er derfor relevant for avl og velferd i oppdrett (Palme et al 2005). Rask økning i kortisol indikerer en akutt stressrespons.

Vi vet ikke hva som er bakgrunnsnivå av kortisol hos ustressa oppdrettslaks. Kjenner vi til normalnivået, blir det lettere å identifisere stress og det som stresser fisken. Bakgrunnsnivå kan benyttes til å overvåke kronisk stress som avvik fra en normaltilstand. For å identifisere bakgrunnsnivå av stresshormonet kortisol, samt virkningen av stressende hendelser som sykdom og driftsoperasjoner ble fisk fra samme merd og lokalitet fulgt gjennom ett år.

Gjennomføring

For identifisere bakgrunnsnivå av kortisol ble det samlet inn blod og fecses fra oppdrettslaks i et oppdrettsanlegg i Midt-Norge. Smolt ble utsatt i februar 2014 og lokaliteten var tømt i februar 2016. Fra mars 2015 til februar 2016 ble 10 fisk tatt ut hver måned fra samme merd med orkastnot for uttak av blod- og fecsesprøver. Prøvene ble analysert etter metodikken som ble utviklet i forrige delmål med basis i ELISA (Figur 7).



Figur 7: Bilde viser et 96 brønners Brett etter analyse/fargereaksjon med ELISA av fecses. Til høyre er standardprøvene der sterk farge indikerer lav kortisol konsentrasjon. Til venstre er prøveresultat fra FCM analyser fra ulike måneder i produksjonen (M5=juli, M6=august, M7=september, M9=desember).

Helsestatus til fisken ble overvåket hver måned i samme periode av veterinær og med PCR-screening. Fra august til november ble flere ulike infeksjoner registrert på lokaliteten (Tabell 4). Stressresponsen på disse infeksjonen ble analysert i samme periode.

Tabell 5: Oversikt over helsestatus til forsøksfisken basert på screening med PCR av PatoGen.

Date	PD %	AGD %	HSMB%
11.02.2015	0	0	
12.05.2015	0	0	+
03.06.2015	0	0	
02.07.2015	0	0	
18.08.2015	52	0	
15.09.2015	75	100	
16.10.2015	38	100	
17.11.2015	50	NA	
09.12.2015	50	NA	
12.01.2016	43	NA	

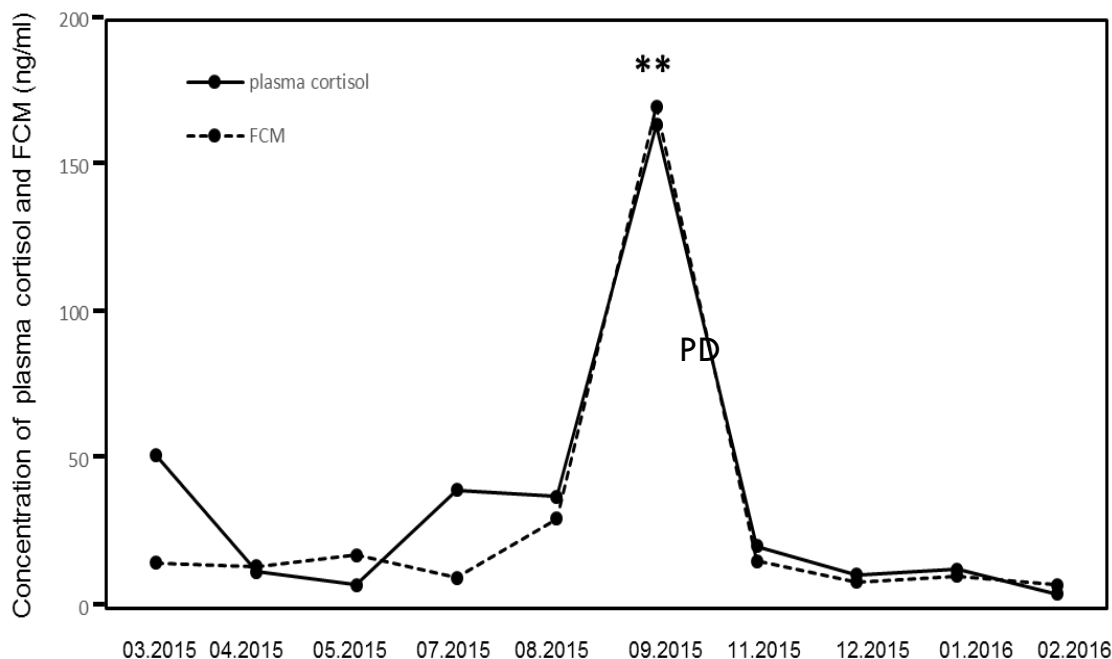
For å identifisere akutt stressende hendelser, ble blod og fecses-prøver samlet inn og analysert for kortisol før og etter notvask. For å identifisere mer kronisk stress ble resultatene opparbeidet gjennom året analysert i forhold til sykdomsutbruddene høsten 2015. Alle fiskene ble avlivet før prøvetaking og utstryking. Kortisol i plasma og fecses ble analysert etter prosedyre beskrevet over. Materiale og metoder er detaljert beskrevet i relatert publikasjon (Cao et al., 2017)

Resultater

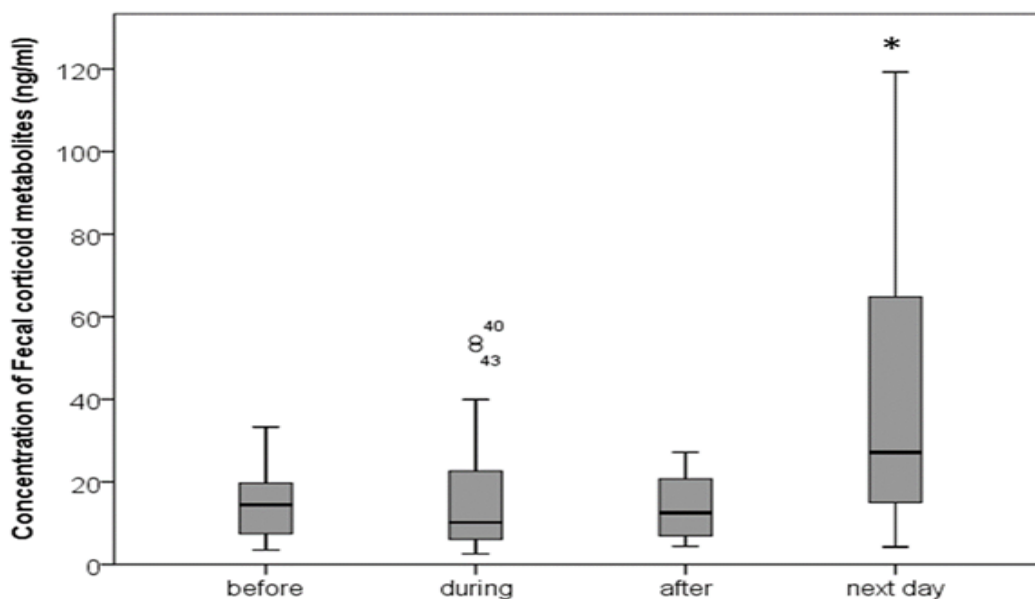
Normaltilstand - stress: Analyseresultatene fra de månedlige prøveuttakene er presentert i figur 8. Det var god korrelasjon mellom plasmakortisol og FCM i hele perioden ($p < 0,01$). Det var likevel større variasjon i blodkortisol innenfor samme gruppe sammenliknet med FCM. Den gjennomsnittlige konsentrasjonen av FCM i fecses med var $14,4 \pm 13,3$ ng/ml før og etter sykdomsutbrudd. Konsentrasjonen i plasma var høyere og hadde som forvente større spredning og lå på 28 ± 40 ng/ml før og etter sykdomsutbrudd. Dette kan anses som bakgrunnsnivå for stresshormonet kortisol for lasken vi analyserte.

Sykdom - kronisk stress: Fra august, i forbindelse med sykdomsutbrudd, var det en signifikant økning i FCM konsentrasjonen til $170,7 \pm 89,7$ ng/ml. Dette var nesten 12 ganger høyere og signifikant forskjellig fra bakgrunnsnivåene ($P < 0,01$). Kortisolnivå i plasma hadde også en signifikant økning til $164,4 \pm 62,5$ ng/ml (Figur 8).

Driftsoperasjoner - akutt stress: For å undersøke om det var mulig å identifisere akutt stress knytta til driftsoperasjoner ble 20 laks i samme merd prøvetatt i forbindelse med notspyling. Blodprøver og fecsesprøver ble tatt før, under og på to tidspunkt (3 og 16 timer) etter notspyling. Analysene viser at FCM nivået før, under og rett etter notspyling avviker lite fra det som anses som normalnivå. Det er variasjoner i FCM mellom individene. Et døgn etter spyling stiger FCM-konsentrasjonen i fisken signifikant (Figur 9), noe som indikerer at notspyling er stressende for fisken.



Figur 8: Plasma kortisol og FCM før, under og etter et PD utbrudd. Stjernene indikerer signifikant forskjell mellom månedene med sykdom og de andre månedene.



Figur 9: FCM før (before), under (during) og etter notspyling (after + next day) Stjernene indikerer signifikant forskjell fra FCM konsentrasjonen i forkant.

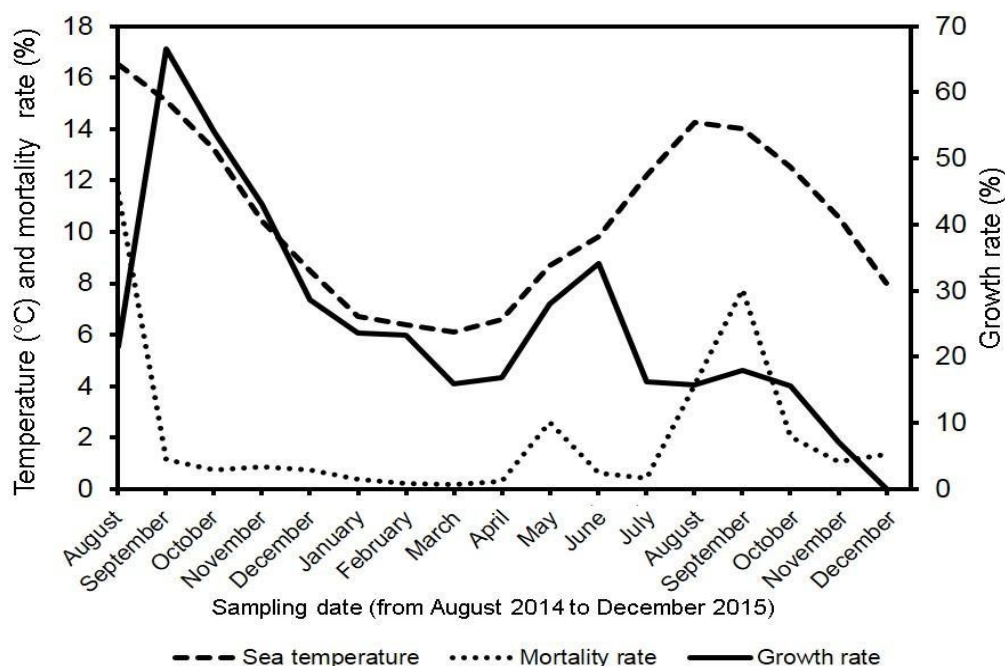
Kortisol-nivået i plasma fulgte et annet mønster. Her stiger kortisol-nivået fra basis allerede under notspyling og går gradvis og signifikant tilbake etterpå. Den individuelle variasjonen i plasma kortisol-nivå i gruppen er større enn for FCM-nivå. Dette er som forventet i og med at kortisol utskilles i blodet umiddelbart under stressende hendelser. Hvor lenge det tar før fisken er tilbake til normalnivå er vanskelig å si, da prøvetakingen opphørte 16 timer etter notspyling. Da var nivået av FCM på topp mens plasmakortisol nærmet seg basis

Diskusjon

Prøvetaking av fecses krever liten spesialkunnskap, og kan lett utføres under lusetelling når fisken er føret og blir bedøvd. Prøven må videresendes for analyse, men analysen er rask og enkel å utføre da væskefasen fra fecses kan benyttes direkte uten å gå veien om ekstraksjon. Problemet med FCM er at det kan være vanskelig å få tak i prøver når fisken er syk eller under sulting. Vi vil jobbe videre med mucus og fiskeskjell som kilde for stressanalyser hos oppdrettsfisk.

Våre analyser gir indikasjon på et normalnivå av kortisol hos oppdrettslaks. Dette vil seinere bli sammenholdt med analyser fra innvandrende villaks som vi samler inn i andre prosjekt. Hvis vi kjenner bakgrunnsnivået eller normaltstand av kortisol, kan dette brukes til å evaluere stressresponser hos fisken knytta til drift, sykdom og forbedre ulike typer teknologi (f. eks. avlusning) som tilbys næringa. Det kan også si noe om stress hos fisk i fangenskap i forhold til fisk i naturen.

Det var store variasjoner/høyt standard avvik i kortisol-konsentrasjon mellom individer og måneder. Uregistrert stress og sykdom kan påvirke dette. Det var en svært tydelig økning i kortisolnivå knytta til PD-utbruddet. Variasjonene var størst ved starten og slutten av sykdomsforløpet. Dette skyldes nok store variasjoner i helsestatus på fisken og variasjoner i fordelingen av syke og friske individer i disse periodene. Hvis vi sammenlikner målingene med produksjonsdata (Figur 10), ser vi at økningen i dødelighet i august-oktober sammenfaller godt med toppen i FCM/blodkortisol. Det er også en økning i dødelighet i mai, men den har liten sammenheng med målingene av kortisolnivå eller vekstrate.



Figur 10: Sjøtemperatur og produksjonsutvikling på forsøkslokaliteten

Større variasjon i blodkortisol, sammenliknet med FCM, støtter vår teori om at håndteringsstress under prøvetaking fører til raskere økning i konsentrasjonen av kortisol i blodet, enn i fecses. Dette kan påvirke reproduserbarheten til analysen da man registrerer stress knytta til prøvetaking, ikke til produksjonsforholdene.

Resultatene indikerer også at ulike driftsoperasjoner kan være stressende for laksen. Vi fant likevel forskjeller mellom fiskene i kortisolnivå. Dette kan skyldes ulik stress-påvirkning og individuelle forskjeller i reaksjon på disse påvirkningene i forkant av notspyling. Hvis disse ulikhetene er genetisk relatert, kan våre metoder benyttes i avlsarbeid mot en mer «psykisk» robust fisk»

Det vil være interessant å undersøke hvor lenge en driftsrelatert økning i kortisol varer. Utfra plasmakortisol-nivåene synes stressresponsen å gå tilbake i blodet ca et døgn etter spyling. Resultatene indikerer imidlertid at analyse av FCM kan være en viktig og reproduserbar velferdsindikator for laksefisk i merd. Det finnes sikkert mange driftsoperasjoner, fartøyanløp og ulike teknologiske løsninger på problemer som stresser fisken i mer eller mindre grad. Med et slik verktøy som vi her presenterer kan vi eksempelvis utvikle mer optimale driftsrutiner, drifts- og behandlingsteknologi og transportsystemer der fiskens velferd er mer i fokus.

Oppdrettslaks er en art som står fjernt fra oss i systematikken. Det er derfor vanskelig å tolke dens respons på oppdrettsmiljøet. Nivået av stresshormoner i fisken kan indikere velferd. Få objektive, reproduserbare velferdsindikatorer eksisterer for fisk i oppdrett. Velferden til oppdrettslaks er viktig å dokumentere med hensyn på produksjonsresultat, omdømme og ikke minst som et verktøy for å utvikle optimal drift og forvaltning (Ganga et al. 2011, Tort 2011).

C. Identifisere sammenheng mellom kortisol og immunforsvar.

Faktorer i oppdrettsmiljøet som handtering/driftsoperasjoner, infeksjoner og miljøforhold i sjøen kan stresser fisken. Stress i korte tidsperioder kan fisken tolerere. Langvarig stress kan derimot ha negativ innvirkning på fiskens immunforsvar, vekst og helse (Lupica & Turner 2009). Et dårlig immunforsvar vil fremme utbrudd av infeksjonssykdommer.

Når virveldyr infiseres med virus eller bakterier, vil de som regel svare på dette ved produksjon av antistoffer som binder seg til mikroben. Dette fører til nøytralisering og eliminering av patogener. Antistoff er derfor en viktig del av immunforsvaret. Fisk kan produsere antistoffer med høy affinitet for spesifikke patogener (antigener).

Mens pattedyr har flere ulike antistoff-klasser, har beinfisk primært antistoff av IgM-typen. Grunnleggende kunnskap om immunsystemet hos fisk er avgjørende for å utvikle effektive vaksiner og dermed kunne forebygge infeksjonssykdom hos oppdrettsfisk på en rasjonell og effektiv måte.

Gjennomføring

Blodprøver fra laks ble innsamlet månedlig fra mars 2015 til februar 2016. Blod ble fjernet med en kanyle i ryggvenen etter forskriftsmessig avliving. Utstrykning av blod på rene objektglass ble gjort umiddelbart for blodcelle-analyser. Prøvene ble tilsatt heparin som anti-koagulant. Plasma ble separert fra blodet ved sentrifugering og lagret ved -20°C inntil analysering. Infeksjonsstatus til laksen i innsamlingsperioden ble identifisert ved PCR.

Dekkglass med blod-utstryk ble lufttørket før de ble fiksert med metanol og farget med Hemacolor-løsning (Merck, Tyskland) ifølge produsentens anbefaling. Prøvene ble inspisert visuelt i mikroskop under 40-60X forstørrelse og hvite blodlegemer (WBCs) ble registrert. Minst 100 WBC ble talt på hvert objektglass.

Immunoglobuliner er de viktigste komponentene i immunresponsen mot patogene organismer (Uribe, Folch, Enriquez, & Moran, 2011). Fisk har tre hovedtyper: IgM, IgD og IgT / IgZ. Det overordnede

immunoglobulinet i fisk er av IgM-klassen, mens IgT (lite i laksfisk) er spesialisert på immunresponser i mucus (Hordvik, 2015). IgM ble analysert for å identifisere laksens immunrespons.

Den generelle antistoff-responsen (IgM) på SAV2 infeksjonen bestemt med ELISA-analyse. For å undersøke eventuell SAV spesifikk immunrespons hos laksen, ble laboratorieprodusert E2-protein fra kappen til SAV3 (levert fra Pharmaq) brukt. Halvparten av brønnene i 96-brønners microtiter plater (Corning Costar, Lowell, MA) ble kledd med rensert E2 protein i fosfat-bufferet saline (PBS) ved 4 °C over natten. Platene ble vasket med PBS og deretter blokkert 2 timer ved romtemperatur (RT). Plasma fra laks fortynnet 1:10 i blokkeringsbuffer ble tilført plater med 30 µl brønner og inkubert ved RT i 2 timer. Platene ble vasket og inkubert med «mouse anti-salmonid Ig (H chain) antibody» (Cedarlane, CA) fortynnet 1:500 i en time før vasking.

For registrering av antigen-spesifikk antistoff respons, ble «alkaline fosfatase (AP)- antibody goat anti-mouse IgG, fortynnet 1:3000 i blokkeringsbuffer og tilsatt brønnene for inkubering i 1 time ved RT. Etter ny vasking ble platene tilsatt identifiseringsreagens (para-nitrofenyl fosfate (PNPP, Southern Biotech, USA)) i 30 minutter, før prosessen ble stoppet med 3N NaOH. Absorbansen ved 405 nm ble målt med Synergy HTX Microplate Reader (BioTek, USA) som OD-verdier. Endpoint-avlesning ble utført ved hjelp av Gen5 (Version 2.06).

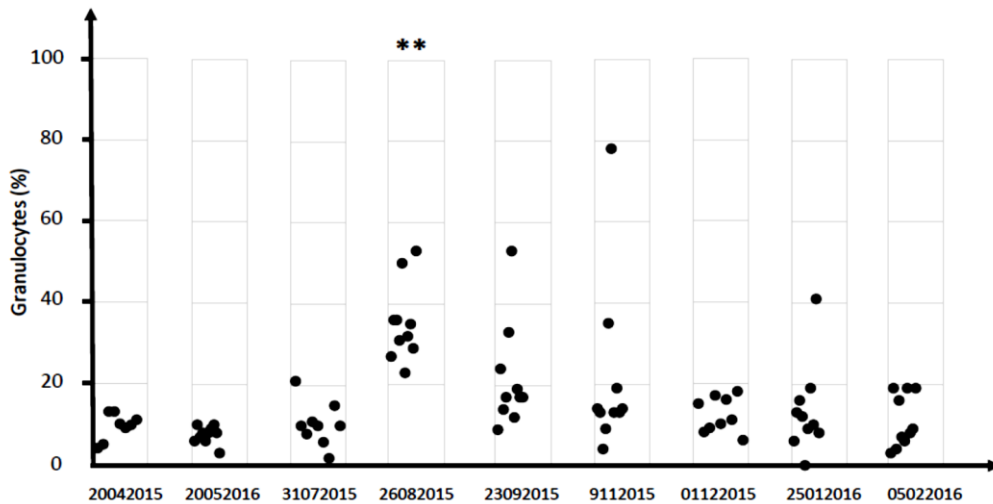
For å verifisere binding mellom antistoffer i plasma fra laks og E2 antigen fra viruset ble western blot-test (WB) benyttet. E2 protein eller inaktivert helvirus SAV3 (levert av Parmaq) ble fortynnet i Laemmli prøvebuffer (Bio-rad, CA) med 5% β-merkaptto-ethanol og oppvarmet ved 95 °C i 5 minutter før lasting på geler. Antigener ble separert av SDS-PAGE gjennom 4-20% Mini-PROTEAN TGX Precast Protein Gel (Bio-rad, CA) og overført til en polyvinyliden-difluorid membran (PVDF, Bio-rad). PVDF-membranen var inkubert i 25 ml 3% TBS-T blokkeringsbuffer ved 4 °C i minst 12 timer før 1:20 fortynnet fiskeserum i blokkeringsbuffer ble tilsatt.

Plasma fra laks med E2-antistoffer som tidligere var identifisert ved ELISA ble påført. De bundne antistoffene ble detektert med 1: 500 fortynnet mus anti-laks Ig (H kjede) antistoff (Cedarlane, CA) og vasket 4x i TBS-T. Deretter ble membranen inkubert med 1: 2000 fortynnet alkalisk fosfatase (AP) - konjugert geit-anti-mus IgG2a (SouthernBiotech, USA), før vasking 4 x i TBS-T. Alle inkubasjons- og vasketrinn ble utført ved romtemperatur. Kjemiluminescensen ble detektert ved ChemiDoc MP imaging system (Bio-Rad). Et referanse-protein ble brukt som negativ kontroll.

Resultater

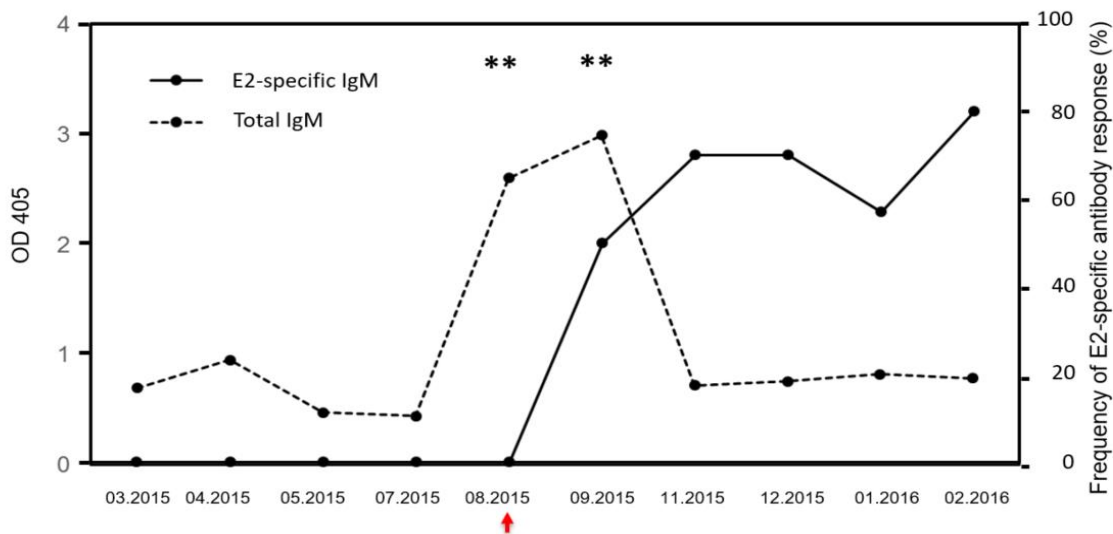
Ingen sykdom var registrert på oppdrettslaksen før eksperimentet startet. I juli ble SAV2 påvist ved PCR på lokaliteten. I løpet av august og september 2015 var PD registrert. Resultatene viste tydelig immunrespons mot sykdommen.

Blodcellerespons. Mikroskopiundersøkelsene av blodutstryk viste liten forskjell mellom de ulike hvite blodcellene (WBC). Figur 11 viser hvordan WBC øker signifikant under sykdomsutbruddet for så å minke ned mot normalnivå etterpå.



Figur 11: Prosent hvite blodlegemer i laksens blod fra april 2015 til februar 2016. Stjernene indikerer signifikant forskjell mellom månedene med sykdom og de andre månedene.

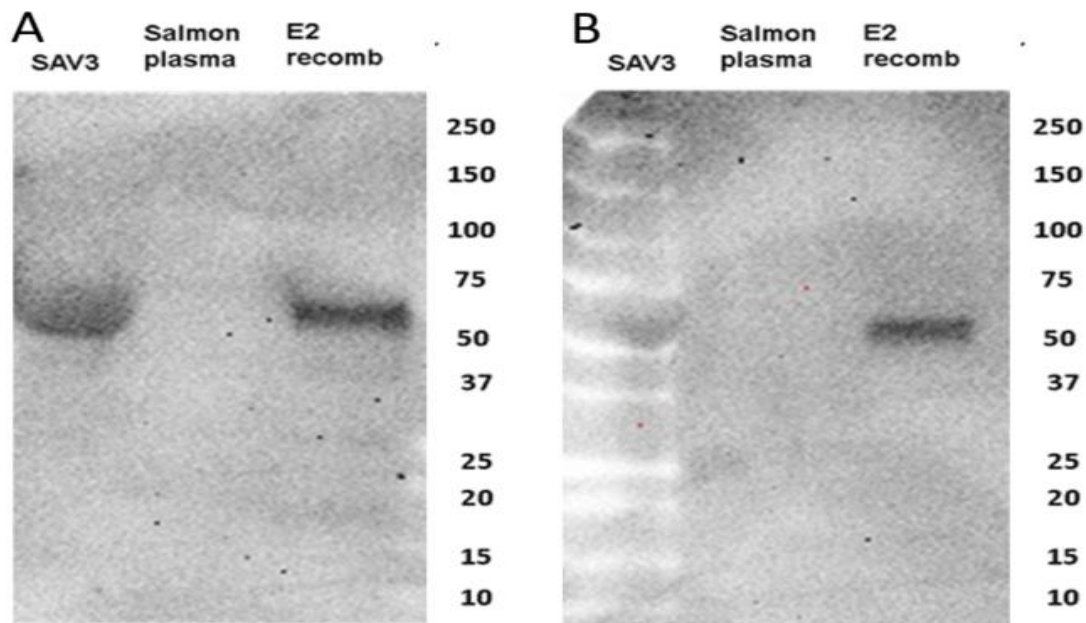
Total IgM respons. I forbindelse med infeksjonssykdommer hos laksen, økte nivået av totalt IgM-antistoff signifikant ($P < 0,01$) fra august og var tre ganger så høyt sammenliknet med månedene før utbruddet. Etter sykdomsutbruddet, returnerte IgM-nivåene til samme nivå som før sykdommen (Figur 12). Det var ingen signifikant forskjell i totalt IgM-nivå før august og etter september.



Figur 12: Antistoff-respons mot SAV2 i den studerte laksegruppen. Totalt IgM-nivå er presentert som gjennomsnittlig OD-verdi av prøvene (stiplet linje). E2-spesifikk IgM er presentert som prosent av seropositive prøver (heltrukket linje). Rød pil er måned for PD påvisning. Stjernene indikerer signifikant forskjell mellom månedene med sykdom og de andre månedene.

SAV spesifikk IgM respons. E2-spesifikt antistoff er en del av totalt IgM og ble først registrert i september. Dette var to måned etter at SAV smitte ble identifisert med PCR på lokaliteten og en måned etter at totalt IgM-nivå var på sitt høyeste (Figur 12). Antistoffnivået økte fram til november og holdt seg på et relativt stabilt nivå fram til utslakting i februar 2016. Det var signifikant forskjell i spesifikk antistoffrespons før og etter PD utbruddet ($P < 0,001$).

Western blot verifisering. Teknikken bekreftet binding mellom SAV3 antigen og antistoffer i plasma fra laks med naturlig SAV2 infeksjon. Dette bekrefter ELISA resultatene og viser at det er kryssimmunitet mellom SAV3 og SAV2 siden SAV2 infeksjonen induerte en immunrespons mot inaktiverede SAV3 helvirus og E2 protein fra kappen på SAV3. Det var ingen binding mellom antistoffer i plasma til infisert laks og proteinet som var brukt til negativ kontroll. Dette viser at antistoffene i blodet til laksen gjenkjente SAV E2 proteinet (Figur 13).



Figur 13 Western blot viser spesifisiteten til antistoffresponsen i laksen mot SAV.

Diskusjon

Binding mellom SAV E2 antigen og antistoffer fra plasma til laksen ble verifisert med western blot. I denne studien identifiserte vi anti-E2 antistoffer i ca 70% av laksen etter SAV2 infeksjonen. Frekvensen av laks med antistoff økte parallelt med infeksjonsraten. Plasma fra laks med SAV2 infeksjon reagerte på antigenet produsert naturlig i SAV3 infisert fisk. E2 proteinet ligger i samme posisjon på begge subtypene og gir kryssreaksjonen mellom SAV2 og SAV3. Dette bekrefter at SAV3-vaksiner også gir beskyttelse mot SAV2.

Resultatene viser at en naturlig infeksjon av SAV2 induerte respons mot E2-protein, hvilket indikerer at E2-proteinet kan være et lovende mål for vaksiner og diagnosedesign. Videre studier er nødvendig for å undersøke lengde og styrke på den beskyttende effekten av E2- responsen. Det er også viktig å identifisere hvilke segmenter på E2-protein som gir best beskyttelse.

Mengden IgM i blodet varierer med alder, størrelse, vekt og kjønn, og kan i stor grad påvirkes av eksterne miljøfaktorer som temperatur, lys, vannkvalitet, saltholdighet og ulike stressinduktorer (Hordvik, 2015; Uribe et al., 2011). IgM nivået hos laks under et PD-utbrudd er fortsatt ikke kjent. I vår undersøkelse der fisk er samlet inn og undersøkt hver måned gjennom et år, fant vi ingen variasjon i det totale IgM-nivået med størrelse. Likevel synes liten smolt å være mer utsatt for sykdom etter sjøsetting enn stor (Jarungsriapisit et al., 2016b).

En økning i konsentrasjonen av totalt IgM i plasma er rapportert etter utsett i sjø (Melingen et al., 1995). Det totale IgM-nivået i fisk er også avhengig av infeksjon og vaksinasjonsstatus. Oppdrettslaks

vaksinert med oljeadjuvans-vaksiner, hadde to til fire ganger så høy IgM-konsentrasjonen som uvaksinerte fisk (Uribe et al., 2011).

En nylig studie av regnbueørret fant at IgM-konsentrasjonen økte 15 ganger under systemisk viral hemorragisk septikemivirus (VHSV) -infeksjon (Castro et al., 2013). Når det gjelder AGD-infeksjon, er det ikke observert signifikante forskjeller i plasma- eller hudslimnivået av IgM mellom usmittet og smittet fisk (Valdenegro-Vega et al., 2015).

Under sykdomsutbrudd observerte vi en tydelig økning i totalt IgM nivå som gikk ned til relativt normale nivåer etterpå. E2-spesifikt antistoff ble ikke detektert før PD utbruddet i august 2015. Det E2-spesifikke antistoffet ble først oppdaget en måned etter at PD ble identifisert. Antistoffnivået holdt seg på et relativt stabilt nivå til februar 2016, da fisken ble slaktet.

Det forhøyede totale plasma-IgM-nivået kan bli påvirket av at både PD og AGD var registrert på lokaliteten. Dette kan indikere en første linje naturlig immunrespons mot patogener før den adaptive responsen ble vekket. Ettersom gjellene er i direkte kontakt med miljøet og spesifikke antistoffer kan genereres i gjeller uten nødvendigvis å generere en systemisk respons, er det nødvendig å evaluere immunoglobulin-nivået i gjellevev i videre forskning (Uribe et al., 2011).

Vaksinasjon har allerede vist seg å være et viktig verktøy for forebygging og kontroll av smittsomme sykdommer i akvakultur. For tiden er det inaktivert helvirus vaksine mot PD som er kommersielt tilgjengelig i Norge, men effektiviteten i felt er begrenset (Bang Jensen et al., 2012). I de siste årene har vi sett betydelige fremskritt innen molekylærbiologi som har ført til utvikling av bedre vaksiner. E2-protein mot SAV er antatt å være bærer av SAV nøytraliserende gen-sekvenser som kan gjenkjennes av immunsystemet til laksen via spesifikke antistoffer til laksen. På denne måten representerer E2-protein en potensielt mål for vaksine-basert immunterapi mot SAV.

Arbeidspakke 3. Smitteforebyggende drift og forvaltning.

Bakgrunn

Kystsoneplanlegging og arealavsetting til oppdrettsvirksomhet pågår langs kysten. Det er viktig å komme med velbegrunnede innspill i forhold til å hindre interessekonflikter, utvikle oppdrettsnæringa, men også begrense sykdom hos oppdrettsfisken. Dette arbeidet bør skje i samhandling mellom politikere, forvaltning, oppdrettsnæring og forskning.

Næringa står foran endringer i forbindelse med nye nasjonale kriterier for vekst (St. meld. 16/2015). Inndeling/gruppering av oppdrettslokaliteter i 13 produksjonsområder skal bidra til å oppnå en mer forutsigbar og bærekraftig vekst. Det er ikke fastsatt hvor store avstander som må til for å begrense smitte mellom produksjonsområder, generasjonssoner og lokaliteter. Dette vil være avhengig av strømretning, strømstyrke, menneskeskapt smitteveier og hvilket smittestoff som skal bekjempes. I første omgang vil kriterier for vekst være basert på lusesituasjonen hos villaksen.

Den nye PD-forskriften (FOR-2017-08-29-1318) legger opp til en PD sone mellom Jæren og Nord-Trøndelag med en overvåkingszone herfra med strenge krav til screening, vaksinerings og eventuell destruering av smitta laks. Det legges videre opp til smittehygiene i forhold til driftsrutiner, produksjonsplanlegging, transport av laksefisk og driftsutstyr. I denne arbeidspakken fokuserer vi på lokalisering og driftsopplegg i forhold til miljøforhold og PD-situasjon i ulike case-områder.

Målsetting med arbeidspakke 3:

Hovedmål: Utrede smitteforebyggende forvaltnings- og driftsopplegg med basis i spredningsveier og utbruddsrisiko. Følgende delmål er skissert for å oppnå dette:

- Bidra inn mot arealavsetning for i kystsoneplanarbeid i Møre og Romsdal og Nordland
- Vurdere begrensning av smittespredning ut av og inn i områdene.
- Vurdere smitteforebyggende driftsopplegg for å bekjempe sykdom

Hovedfunn:

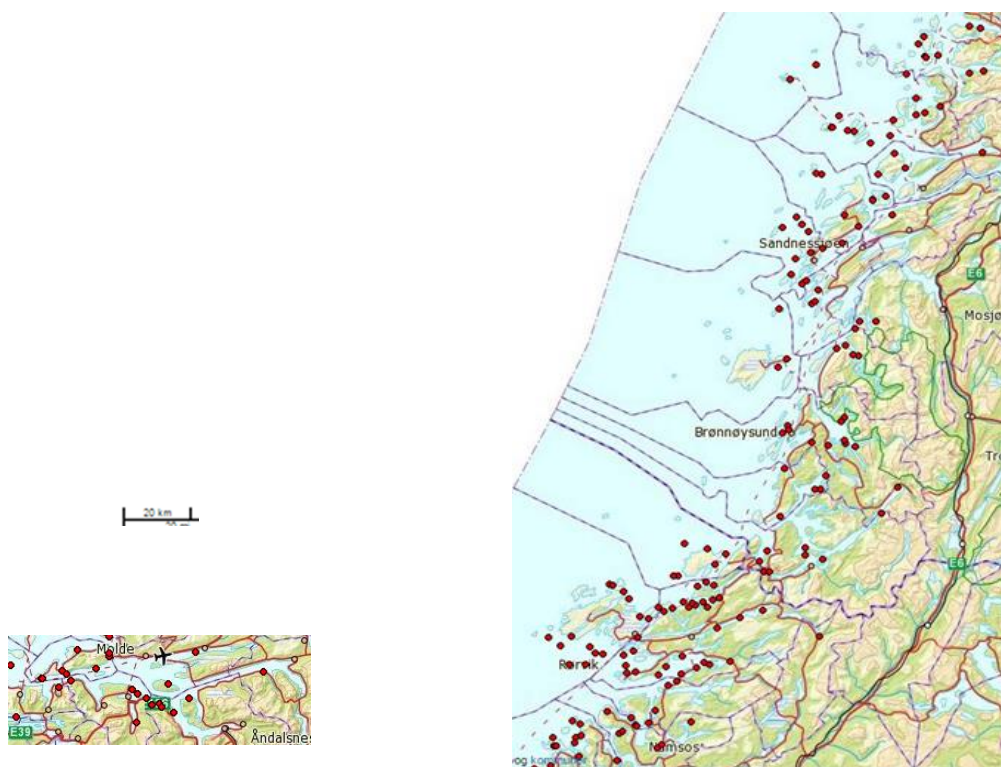
- Kystsoneplaner bør tilpasses de nye produksjonsområdene og utredes etter en enhetlig mal. Kunnskap om vanntransport må ligge til grunn for organisering av lokaliteter, generasjonssoner og branngater. Nye brakkleggingsregimer bør innføres i områder med komplekst strømbilde, sykdomsproblemer og stedege villaks-bestander. Tilgang på lukka systemer kan gi drifts-fleksibilitet kritiske perioder.**

A. Arealavsetning for havbruk i kystsoneplaner i Møre og Romsdal og Nordland

Kommunepolitikere har som planmyndighet full råderett over sin kystsone og dermed arealavsetning til oppdrett. De må likevel forholde seg til en nasjonal føring om at akvakultur skal sikres areal. Kystsonen i en kommune er påvirket av tilgrensende områder. Kystsoneplanleggingen har derfor endret seg fra kommunale til mer interkommunale prosesser. I områder som er aktuelle for sjøbasert fiskeoppdrett, må kommunene tilpasse seg nye behov for fleksibilitet og dynamikk i forhold til ny teknologi, nye driftsformer, nye patogen, nytt kunnskapsgrunnlag og nye offentlige prioriteringer og reguleringer (meld.-st.-16-2014-2015).

De siste tiårene er antall lokaliteter betydelig redusert, samtidig som produksjonen av laksefisk nærmest har fordoblet seg. Til tross for nedgang i antall lokaliteter så er det fysiske arealbeslaget til oppdrettsnæringa likevel stabilt. På havoverflata utgjør arealbeslaget maksimum 450 km². Kystareal er dermed tilgjengelig for næringsutvikling.

Ved prosjektstart var det to områder som hadde kommet lengst i sine planprosesser; Møre og Romsdal med prosjektet «Interkommunal plan for Romsdalsfjorden» og Nordland med prosjektet «Kystplan Helgeland» (kilde: Jon Arne Grøttum). Disse planarbeidene ble brukt som case (Figur 14). Prosjektlederne Arne Håkon Sandnes og Mona Gilstad ønsket samarbeid og planinnspill relatert til forskning på spredning av sykdom. Dette for å finne mer optimal sone- og lokalitetsstruktur i sine områder. Begge har vært bidragsytere i denne delen av arbeidspakke 3.



Figur 14: Planområdet i: a) Romsdalen, b) Helgeland med lokaliteter for oppdrett av laksefisk

Gjennomføring

Interkommunal plan for Romsdalsfjorden utreder arealdisponering av kystsonen i 5 kommuner; Vestnes, Rauma, Midsund, Molde og Nesset kommune. Bortsett fra Midsund, hvor de marine næringene er i en særstilling, kjennetegnes planområdet av by- og fjordkommuner med viktige næringer innen sjø- og petroleumsrettet industri, landbruk, turisme, friluftsliv, og villaksfiske. Planprosessen er administrativt styrt. Hovedaktøren som driver oppdrett i området har ikke lokal forankring, men bidrar med arbeidsplasser og ringvirkninger knyttet til virksomheten. Interessen for å legge til rette for vekst i oppdrettsnæringa varierer i kommunene, med en klar forutsetning om at utviklingen må skje innenfor bærekraftige rammer.

Nesten alle oppdrettslokalitetene i planområdet ligger i tilknytning til fjordbassenget, forholdsvis nær land. Lokalitetene er stort sett dype og strømsterke. Området er inndelt i 4 soner: vår- og høstutsett første år og vår- og høstutsett neste år. Planområdet har begrenset areal til oppdrett. Fjordarmen utenfor Raumavassdraget er fredet som laksefjord. Hvit fyr-sektor dekker mesteparten av fjorden i planområdet. I løpet av de siste årene er antall lokaliteter betydelig redusert. Oppdretterne i området har kommet med innspill i forhold til videre vekst i næringa. En eventuell produksjonsøkning i området er tenkt primært ved å utvide produksjonen på de beste lokalitetene i stedet for å etablere flere lokaliteter i selve fjorden (Tabell 6).

Kystplan Helgeland utreder arealdisponering av kystsonen i 13 kommuner; Rødøy, Lurøy, Træna, Nesna, Vefsn, Leirfjord, Dønna, Herøy, Vega, Vevelstad, Brønnøy, Sømna og Bindal og behandler et vesentlig større sjøareal enn Interkommunal plan for Romsdalsfjorden. Flertallet av kommunene har tradisjon i fiskeri og høsting fra havet, der oppdrett står sterkt med betydelig lokal forankring. Helgelandskysten er karakterisert av store grunne områder med mye skjær og øyer. I planområdet er det to nasjonale laksefjorder, to fjorder som er båndlagt til marine verneområder og et verdensarvområde i ytre kyststrøk. Flertallet av oppdrettslokalitetene finnes utenfor fjordene.

I planen er det ikke avsatt areal grunnere enn 20 meter til sjøbasert lakseoppdrett med dagens merdteknologi. Dette for begrense miljøproblemer fra oppdrett i områder der det biologiske mangfoldet og interessekonfliktene er størst. I områder dypere enn 20 m, der det ikke er nasjonale, regionale og lokale arealformål, er det tillatt å søke om etablering om oppdrett på lik linje med annen næringsaktivitet. Fiskere og oppdrettere i området har kommet med innspill, som er tatt hensyn til, i forhold til videre vekst i alle sjøbaserte næringer. Prosessen er politisk styrt (Tabell 6)

Tabell 6: Oversikt over planarbeidet og planområde

OMRÅDE	Helgeland	Romsdalsfjorden
Arealbeskrivelse	Kyst med fjordområder	Fjord med kystområder
Utstrekning sjøareal	13 kommuner 10 000 km ²	5 kommuner/ 740 km ²
Lokaliteter totalt	67	16
Nye foreslåtte lokaliteter	ca 25	ca 4
Lokaliter/Sjøareal	ca 1/110 km ²	ca 1/40 km ²
Styringsgruppe	Politisk	Administrativ

Resultat

Miljø. Vanntransporten er sentral i bærekraftig fiskeoppdrett, for å fjerne avfall i og under anlegget, tilføre oksygen og opprettholde god fiskevelferd. Kunnskap om vanntransport er også viktig for å forstå hvordan sykdomsfremkallende organismer forflytter seg mellom lokaliteter, soner og produksjonsområder. Den norske kyststrømmen beveger seg nordover langs Norskekysten. Strømstyrken svekkes inn mot land og bremses opp av skjær, øyer og etter hvert av grunne områder. Innover i fjordene er effekten av kyststrømmen svekket og i stor grad styrt av hvor mye ferskvannsom transporteres ut fjorden. Dette bestemmes av magasinert snø i nedslagsfeltet, vind, nedbør og temperatur.

Helgelandskysten er påvirket av kyststrømmen som vil bevege seg nordover i «gater» mellom skjær og øyer. Områdene i Romsdalsfjorden er mer nærdupe, der strømmens styrke og retning i overflaten hovedsakelig er bestemt av avrenningen fra elvene og vil dermed varierer med årstidene. Fordelen med god strøm gjennom anlegget er at uønskede substanser og organismer fraktes vekk fra

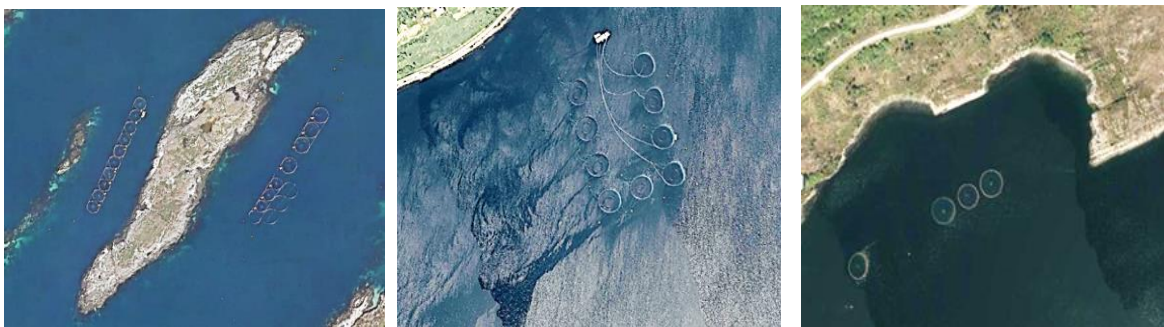
lokaliteten. Ulempen kan være økt tilførsel av smittestoff fra og til nærliggende lokaliteter. I mer beskyttede områder kan strømstyrken være tilfredsstillende på selve lokaliteten. Topografien rundt anlegget kan imidlertid fremme egensmitte selv om smittepresset til/fra nabolokalitetene er mindre.

Vekstmuligheter. Indikatoren for oppdrettsnæringas vekst er knytta til sykdom, bærekraft, og velferd hos fisken og skal primært måles via lakselussituasjonen på lokaliteter og i produksjonsområder. For videre vekst, er oppdrettsnærings avhengig av areal som gir grunnlag for å kontrollere og begrense sykdom og smittespredning. Dette bør reflekteres i kystzoneplanene, uavhengig av lokale naturforhold, arealtilgang, prosesser og holdninger.

Topografien på Helgelandskysten gjør at lokaliteter kan ligge forholdsvis nær hverandre uten å ha direkte vannkontakt. De 26 nye lokaliteter som er omsøkt i planområde trenger derfor ikke å føre til økt smittefare selv om avstanden mellom anlegg kan minke (Figur 15, til venstre). Topografi og dybdeforhold på eksisterende lokaliteter kan begrense produksjonsvekst her. Veksten bør derfor skje via nye tilgjengelige arealer og lokaliteter.

I Romsdalsfjorden er det sterk ensrettet strøm og få topografiske hindringer. Dette bidrar til god vanngjennomstrømming i merdene, men også til økt sannsynlighet for vannkontakt og dermed smittespredning mellom lokaliteter og utsettsoner. I stedet for å øke antall lokaliteter og dermed minske avstanden mellom dem, er det foreslått en produksjonsøkning på egnede enkeltlokaliteter (Figur 15, i midten). I Romsdalsfjorden er store arealer bundet opp av u hensiktsmessige brede hvite sektorer. Mer areal kan frigjøres ved å begrense hvit sektor i fyr og lykter. Kystdirektoratet sier dette er enkelt, men ikke prioritert.

I områdene er det lokaliteter som ikke er egnet for dagens merdteknologi og produksjonsvolum. Disse ligger ofte beskyttet, nært land (Figur 15, til høyre). På Helgelandskysten faller slike lokaliteter ut av A-områdene hvis dagens merdteknologi skal anvendes. Dette er lokaliteter med enkel tilgang og lite eksponering fra vær og vind. De kan dermed være godt egnet til en mer lukka produksjonsteknologi, eventuelt i kombinasjon med dagens merdteknologi.



Figur 15: Eksempel på nærliggende lokaliteter med liten vannkontakt (venstre), lokaliteter som har potensial for produksjonsøkning grunnet god vanngjennomstrømming (midten) og lokaliteter som kan egne seg til alternativ produksjonsteknologi (høyre).

Enkelte lokaliteter bidrar i større grad enn andre til vannkontakt mellom lokaliteter, generasjonssoner og potensielle produksjonsområder. Kunnskap om slike «nøkkellokaliteter» blir nøyere behandlet i arbeidspakke 4. Planen er at kunnskap om nøkkellokaliteter skal benyttes i areal- og driftsplanleggingen for å kontrollere sykdom.

Diskusjon

Til tross for at oppdrettsnæringa bidrar til stor nasjonal og regional verdiskaping, varierer holdningene til produksjon av laks og ørret. Noen kommuner mener de har lite igjen for å tilrettelegge sine sjøarealer til akvakultur. Dette kan skyldes reduserte ringvirkninger fra oppdrettsnæringa, redusert lokalt eierskap og økende fokus på næringas innvirkning på omgivelsene. Ulike holdninger, miljøforutsetninger og aktører som styrer planprosessen kan også påvirke tilnærminger til arealavsetning til oppdrettsnæringa.

Casene vi benyttet var valg fordi disse kystområdene var kommet forholdsvis langt i planprosessene. Likevel er Møre og Romsdal interessant, fordi fylket ligger i PD sonen og er nærmest er fritt for SAV3. Romsdalsfjorden kan anses som et av utgangspunktene for spredning av SAV2 nordover. Helgeland er interessant fordi det ligger i overvåkingssonen for PD og fungerer nærmest som en buffersone for spredning av PD videre nordover.

Undersøkelsen viser at kommunal arealavsetning til oppdrettsnæringa langs kysten ikke utredes etter én mal, men varierer i forhold til naturgitte forutsetninger, næringstradisjon og hvem som styrer planarbeidet. I fremtiden vil det være nødvendig å se planarbeidet i sammenheng med produksjonsområder som er av større utstrekning enn de interkommunale planarbeidene. Dagens interkommunale kystsoneplaner bør dermed utvides og sammenholdes i forhold til nytt forvaltningsregime.

Oppdrettslaksen er hovedreservoaret for PD viruset som oppkonsentreres i fisken og spres passivt i miljøet. Dette gjør viruset til et smittestoff som kan begrenses ved god driftshygiene, fjerning av syk fisk, kontroll av all transport til og fra anlegget, samt ved kunnskap om vanntransport i forhold til andre lokaliteter i området.

B. Arealavsetning for å begrense smittespredning

I denne studien har vi tatt utgangspunkt i Møre og Romsdal fra Stadt til Hustadvika der interkommunal kystplan for Romsdalsfjorden slutter. Nordland er ikke tatt med her fordi SAV kun opptrer sporadisk i området der kystplan Helgeland har utredet arealavsetning for oppdrettsnæringa. I Møre og Romsdal har SAV3 og SAV2 skapt omfattende problemer for oppdrettsnæringa i mange år. Vi har jobbet lenge med miljøforhold og smittespredning hos oppdrettslaks i dette området. På denne måten kan vi gå i dybden for å forstå sammenhengen mellom lokalitetsstruktur, eierstruktur og smitteveier. Resultatene vil være overførbare til andre kystområder.

Gjennomføring

I denne delen av prosjektet har vi undersøkt Storfjordssystemet i forbindelse med å begrense smitte sørfra. Dette fordi denne fjorden grenser mot Stadt som utgjør et oppdrettsfritt område og en mulig smittebarriere sørfra mellom Sogn og Fjordane og Møre og Romsdal. I forbindelse med å begrense smitte nordover har vi undersøkt Romsdalsfjorden. Dette fordi SAV2 har sitt utgangspunkt fjorden som grenser mot Hustadvika - et stort oppdrettsfritt område og en mulig smittebarriere nordover.

Kartmaterialet og opplysninger om lokaliteter og eierstruktur stammer fra Fiskeridirektoratet. Sykdomsdata benyttet i undersøkelsen stammer fra Veterinærinstituttet, PatoGen og oppdretterne i området. Vanntransportmodellen SinMod 2009 (<http://midtnorge.sinmod.com/>) var tilgjengelig for

området og ble brukt for skissere mulige bekjempelsesstrategier for SAV2 og SAV3. Transport av fisk, utstyr og personell kan også bidra til smittespredning. Dette er ikke inkludert i analysen pga manglende datagrunnlag.

I dette delprosjektet har vi fokusert på strategier for å begrense smitte inn og ut av et av de skisserende produksjonsområdene mellom Stadt og Hustavika. Resultatene bygger på analyser av sammenhenger, primært mellom vanntransport og spredning av SAV for å begrense PD i områdene. Resultatene bygger også på intervjuer/samtaler og møter med oppdrettere, forvaltning og involverte i arealavsetning i kystsonen.

Strategier for å bekjempe PD sørfra: Ved prosjektstart i 2014 var det PD-fritt mellom Nordfjord og Romsdalsfjorden, bortsett fra regnbueørret med SAV3 innerst i Storfjorden/Tafjord. I løpet av prosjektperioden ble SAV2 og SAV3 påvist andre deler av i Storfjorden. Mulige introduksjonsveier for denne smitten er ukjent.

Etter forespørsel fra Mattilsynet og oppdrettere i området, har Storfjorden blitt nøye gjennomgått for gi næring og forvaltning innspill til mulige strategier for smittebekjempelse i dette området.

Strategier for å begrense spredning av SAV2 i nordover: Ved prosjektstart i 2014 var Romsdalfjordssystemet nærmest gjennomsnittet av PD forårsaket av SAV2. Tiltros for fokus på smittebekjempelse, samarbeid og inndeling av området i utsett-soner er SAV2 var fortsatt et problem i dette området i slutten av 2017.

Etter forespørsel fra forvaltningen og oppdrettere i området, har Romsdalsfjorden blitt gjennomgått for gi næring og forvaltning innspill til mulige strategier for smittebekjempelse.

Resultater

Storfjorden – hindre smitte sørfra: I 2016 var 3 lokaliteter i midten av Storfjorden smittet med SAV2. I indre deler av Storfjorden; Tafjord var det 3 lokaliteter med regnbueørret som var smittet med SAV3 i tillegg til en stamfisklokalitet i Storfjorden med vannkontakt med anleggene i Tafjord (Figur 16). Fra 2012 hadde SAV3 spredd seg fra indre Tafjord (mørk blå sirkel) utover i fjordsystemet (lys blå sirkel).



Figur 16: Spredningsmønsteret til SAV3 innerst i Tafjord (mørk blå sirkel) og utover i fjordsystemet (lys blå sirkel). SAV2 var introdusert i Vardalsfjorden (rød sirkel) i 2015 og spredde seg utover i Storfjorden (lys rød sirkel). Rød trekant på lokalitetssymbolet indikerer PD påvisning.

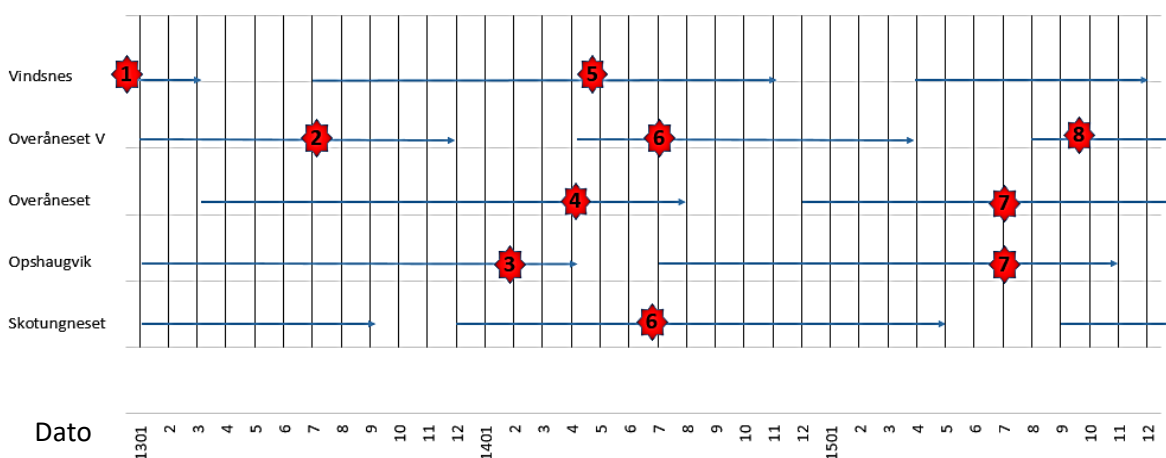
SAV2 var introdusert midtfjords i Vartdalsfjorden (rød sirkel) i 2015 og spredde seg sørvestover i Storfjorden (lys rød sirkel). Lokaliteten ligger ved et lakseslakteri. På bakgrunn av at SAV2 først ble påvist midtfjords, er det lite sannsynlig at smitte er innført med vanntransport sørfra over Stadt. Det videre spredningsmønsteret er i overensstemmelse med det vi forventet utfra vanntransporten i området. Det har vært sporadiske tilfeller av SAV3 i samme område. Lokalitetene i Tafjord har samme eier. Lokalitetene i midtre Storfjord er fordelt på to eiere. Stamfisklokaliteten utenfor Tafjord har en tredje eier.

Tafjord SAV3: SinMod 2009 viser graden av vannkontakt mellom Vindsneset (stor grønn sirkel) innerst i fjorden og de andre lokalitetene utover i fjordsystemet (Figur 17 og 18). Strømmodellen indikerer sterk og utadgående vanntransport store deler av året. Det vil si at hvis lokalitetene innerst i fjorden er smittet vil viruset kunne transporteres til lokaliteter lengre ut i fjorden.



Figur 17: Graden av vannkontakt (størrelse på grønn sirkler) mellom Vindsneset innerst i fjorden og de andre lokalitetene utover i Tafjord (Kilde: SinMod 2009).


På bakgrunn av dette tok vi utgangspunkt i første påvisning av SAV3 på lokaliteten: Vindsneset fra januar 2013. Denne lokaliteten ble slaktet ut i februar/mars 2013 og ny smolt ble satt ut igjen sommeren samme år. Figur 19 viser at PD snart opptrer på andre lokaliteter utover i fjorden inntil Vindsneset blir smittet på nytt. Stamfisklokaliteten rett utenfor Tafjord fikk SAV3 påvist i 2016.



Figur 18: Utsett (blå piler) på aktuelle lokaliteter i Tafjord i perioden. Røde stjerne viser smittekkefølgen i forhold til datoen SAV3/PD ble registrert.

Tabell 7 viser at spredningen kan forklares med vannkontakt. I og med at Vindsneset ikke har vannkontakt med de andre lokalitetene i fjorden, kan stadig tilbakevendende SAV-smitte ha blitt introdusert via eiernetverk, eller ved transport av fisk og annet driftsmateriell. Analysene indikerer at Vindsneset, lokaliteten innerst i fjorden, er sentral for spredning av SAV 3 og kan anses som en nøkkel-lokalitet. Dette fordi den påvirker mange lokaliteter men uten å motta virus fra disse, ifølge SinMod.

Tabell 7: Smitterekkefølge (røde stjerner i figur) og lokaliteter som er i vannkontakt i forsøksperioden.

LOKALITET	PD	Kommentar
Vindsnes	1 	index
Overåneset V	2	Vannkontakt med PD fisk på <u>Vindsnes</u> før registrering
Opshaugvik	3	Vannkontakt med PD fisk på <u>Vindsnes</u> før registrering
Overåneset Ø	4	Vannkontakt med PD fisk på <u>Overåneset V</u> før registrering
Vindsneset	5	Ingen vannkontakt med PD fisk
Overåneset V	6	Vannkontakt med PD fisk på <u>Overåneset Ø</u> og <u>Vindsnes</u>
Skotungneset	6	Vannkontakt med PD fisk på <u>Opshaugvik</u> , <u>Vindsnes</u> , <u>Overåneset</u>
Overåneset Ø	7	Vannkontakt med PD fisk på <u>Overåneset V</u>
Opshaugvik	7	Vannkontakt med PD fisk på <u>Vindsnes</u>
Overåneset V	8	Vannkontakt med PD fisk på <u>Overåneset Ø</u>

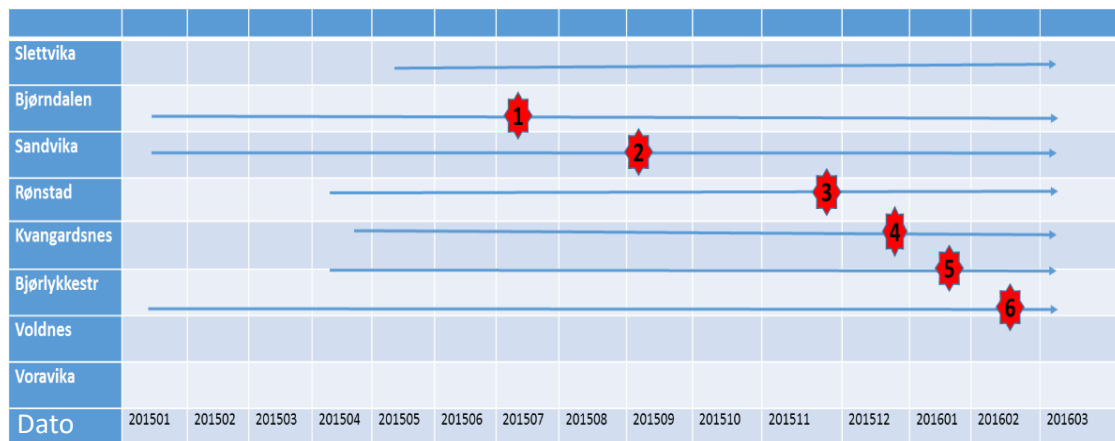
Midtre deler av Storfjorden, SAV 2: SinMod 2009 viser graden av vannkontakt (størrelse på sirkler) mellom Bjørndalen (stor grønn sirkel) der SAV2 først ble påvist og de andre lokalitetene utover i fjordsystemet (mindre grønne sirkler) (Figur 19). Modellen indikerer at vannet transporteres i vest-sørvestlig retning store deler av året. Der hvor det er utstrømmende vann fra mindre fjordarmer, blir strømbildet mer «rotete» og vanskelig å tolke.



Figur 19: Graden av vannkontakt (størrelse på grønne sirkler) mellom Bjørndalen i fjorden Vartdalsfjorden og de andre lokalitetene i midtre Storfjord (fra SinMod/midtnorge 2009).

Vi tok utgangspunkt i den første påvisning av SAV2 på lokaliteten Bjørndalen i juni 2016 etter at dette området hadde vært fritt for SAV i flere år. Figur 20 viser hvordan viruset sprer seg til nærliggende

lokaliteter med fisk i sjøen. Slettvika som ligger nord-øst for Bjørndalen blir ikke smittet i perioden vi undersøkte, til-tross for kort sjøavstand. Lokaliteten fikk mistanke om PD på neste utsett.



Figur 20: Utsett (blå piler) på aktuelle lokaliteter i midtre Storfjord. Røde stjerner viser smitterekkefølgen i forhold til datoen SAV3/PD ble registrert (nederste linje).

Tabell 8 viser at smittespredningen kan forklares med vanntransport. Figur 21 viser PD situasjonen i området i dag. Lokaliteter med påvist SAV3 er redusert og kun en lokalitet med regnbueørret er smittet. I ytre del av fjorden har antall lokaliteter med SAV2 økt.

Tabell 8: Smitterekkefølge (røde stjerner) og lokaliteter som er i vannkontakt i forsøksperioden.

LOKALITET	PD		Kommentar
Bjørndalen (AV)	2015 07	1	I vannkontakt med Vartdal slakteri før registrering
Sandvika (MH)	2015 09	2	I vannkontakt med Bjørndalen før registrering
Rønstad (MH)	2015 12	3	I vannkontakt med Sandvika og Kvangardsnes
Kvangardsnes (AV)	2016 01	4	I vannkontakt med Sandvika og Rønstad
Bjørlykkestranda (MH)	2016 02	5	I vannkontakt med Voldneset og Sandvika
Voldneset (MH)	2016 03	6	I vannkontakt med Bjørlykkestranda og Sandvika

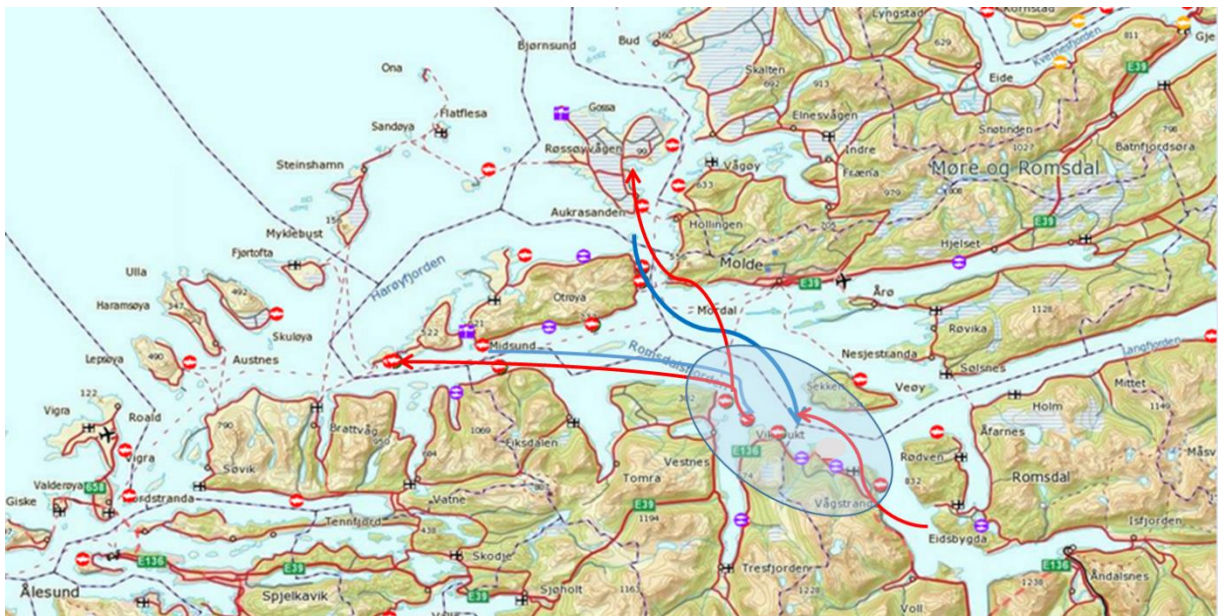


Figur 21: PD situasjonen (gul trekant; mistanke og røde trekanter; PD) i Storfjorden i dag (kilde Fiskeridirektoratet)

I og med at SAV2 først ble introdusert midt i Storfjorden, men mange lokaliteter på flere sider som ikke var smittet, er det lite sannsynlig at SAV er introdusert fra anlegg sør for Stadt. Bygging av Stadtskipstunnel kan begrense effekten av denne barrieren.

Romsdalsfjorden - hindre spredning Nordover. Strømbildet i fjorden er utgående og dominert av avrenning fra store elver i indre fjordområde og har en nord-nordvestlig hovedstrømretning. Om vinteren kan innstrømming av kystvann gi et motsatt strømbilde. Høst og vår kan det dannes store virvler i fjorden når kyst- og fjordvann blandes. Dette vil si at vanntransporten er kompleks og mange lokaliteter er i vannkontakt med hverandre i løpet av året (Figur 22).

Romsdalsfjorden grenser til Giske og Haram kommune som har oppdrettslokaliteter der noen er i vannkontakt med anlegg i fjorden. Når smittebegrensende tiltak skal vurderes bør disse lokalitetene inkluderes i en helhetlig strategi. Vi ser av figuren at aktive oppdrettsanlegg i den røde sonen har stor sannsynlighet for å spre virus til mange andre lokaliteter og generasjonssoner hvis fisken her er smittet. I dette området med sterk utgående strøm fra store avrenningssystemer lengre inn i fjorden, vil anlegg med smitta fisk fungere som «nøkkellokaliteter» for smittespredning.



Figur 22: Romsdalsfjorden med lokaliteter til oppdrett og skissert hovedstrømretning. Blå piler er antatt vanntransport om vinteren og røde piler er antatt vanntransport om sommeren (SinMod 2009)

Romsdalsfjorden ligger rett sør for Hustadvika som blir regnet for en effektiv barriere for spredning av SAV nordover. Dette området, inkludert Giske og Haram kommune kan danne en naturlig smittehygienisk sone med store oppdrettsfrie strekninger på begge sider. Hele dette området bør derfor ha en enhetlig forvaltning, driftsplanlegging og utsett-strategi for å få bedre kontroll med patogener og sykdommer og dermed spredning av patogener nordover.

Et alternativ er å identifisere og identifisere nøkkellokaliteter for å begrense smittespredning eller unngå produksjon på slike lokaliteter i perioder med sykdomsbekjempelse. Et annet alternativ å etablere hele område som en generasjonssone der alle lokalitetene brakklegges samtidig i korte perioder. Dette ville sannsynligvis fjernet PD og andre virusinfeksjoner fra Romsdalsfjorden. Et siste alternativ er å organisere utett og bruk av lokaliteter i forhold til å øke avstanden og dermed størrelsen på branngater mellom generasjonssoner og produksjonsområder.

Diskusjon

Den første reguleringen av PD kom i november 2007. Det ble da påbudt å slakte fisk som fikk påvist SAV3 nord av Hustadvika, mens fisk med sykdom syd av Hustadvika (Romsdalsfjorden) fikk stå i sjøen. Utslaktning viste seg å være et effektivt tiltak mot videre spredning nordover. Etter introduksjon av SAV2 i Romsdalsfjorden i 2009/10 spredde viruset seg raskt til områdene nord av Hustadvika der den først ble identifisert i 2011. Det store omfanget av infiserte lokaliteter resulterte i innføring av en ny PD-forskrift, der «stamping out» pålegges først når SAV 2 oppdages nord av Buholmråsa. Områdene mellom Hustadvika og Buholmråsa er stor sett gjennomsmittet

Storfjorden – hindre smitte sørfra: Vindsneset er sentral for smittespredning i utøver i Tafjord. Eiernettverk er én risikofaktor for smittespredning, vannkontakt er en annen. Tafjord har en forholdsvis forutsigbar, sterk, utgående, nordlig strøm store deler av året.

Våre anbefalinger til Mattilsynet og oppdretter er at Vindsneset kan brukes i en bekjempelsesperiode under forutsetning av at den er smittefri. Det må da være svært streng hygiene i forhold til kontaktsmitte med andre lokaliteter i samme eiernettverk. Smoltimport fra andre områder bør unngås, eventuelt kontrolleres nøye. Hvis SAV likevel blir registrert på lokaliteten bør fisken fjernes herfra, da dette er en nøkkellokalitet for smitte utøver i fjorden. Utsett av fisk på nabolokalitetene må planlegges slik at ny smolt settes ut på brakklagte lokaliteter sør for smittede og at de holdes hygienisk isolert fra andre lokaliteter i fjordarmen.

Generasjonssoner i denne fjordarmen kan være vanskelig å etablere på grunn av sterk utgående strøm i hele fjordens bredde. Likevel kan det synes som om vanntransporten ut Geirangerfjorden kan gi grunnlag for en sone innenfor fjordmunningen og en sone utenfor. Et annet alternativ er en inndeling med en sone med lokaliteter på venstre side av utgående strøm og en annen på høyre side.

SAV3 har i mange år kun vært påvist på regnbueørreten i denne fjorden. Denne arten synes å takle SAV3 bedre enn laksen, noe som kan indikere mindre virusproduksjon og konsentrasjon/skader i vevet (Boucher et al., 1995). SAV3 er registrert på en lokalitet i Storfjorden rett utenfor Tafjord. I og med at SAV3 har brukt mange år på å spre seg ut av fjorden, kan det tyde på at smittepresset fra regnbueørreten er lavt.

I Vartdalsfjorden hvor SAV2 ble reetablert i 2015, går hovedstrømmen mot vest-sørvest og er sterkest om sommeren. Dette stemmer overens med spredningsmønsteret til SAV2 fra lokaliteten som først ble smitta. I ettertid har SAV2 også spredd til lokaliteten nordøst for første påvisning og kommet tilbake på nye generasjoner på lokalitetene som ble først smitta – uavhengig av eiernettverk.

Med en hovedstrømretning mot vest-sørvest samt lang sjøavstand og liten vannkontakt med andre lokaliteter lengre inn i Storfjordsystemet, er det mindre sannsynlig at SAV2 skal spre seg denne veien med strømmen. Sannsynligheten er større for at den kan spres utøver mot kysten. Foreløpig utgjør Stadtlandet en barriere mot smitte sørfra.

Våre anbefalinger til Mattilsynet og oppdretterne i området er å begrense smitte fra nordøst. Videre vil det i munningene til andre fjordarmer være et «rotete» strømbilde. Det er dermed vanskelig å tenke vanntransport som verktøy for smittebegrensning i områder ved Voldafjorden, Dalsfjorden og Ørstafjorden. Her vil det være mest effektivt at hele områder ligger brakk en kort periode før nye utsett. Dette vil fjerne PD fra området. Vanntransport, transportkontroll og streng hygiene er viktig når lokalitetene reetableres i forhold til PD situasjonen andre steder i fjorden.

Romsdalsfjorden - hindre spredning nordover. Oppdrettslaksen er hovedreservoaret for SAV. Skal smittepresset fra Romsdalsfjorden begrenses nordover, må mengden av smitta fisk/lokaliteter også begrenses. Historien og strømodelleringen har vist at SAV spres med strømmen over Hustadvika når smittepresset sørfra er høyt. Historien har også vist at SAV spres videre fra Hustadvika, hvis sykdommen får først etablere seg og ved at smitta og syk fisk får stå i sjøen skille ut virus. Fjerning/utslakting av fisk synes dermed å være en viktig del i bekjempelse av PD. Hvis man skal hindre spredning av SAV2 nordover må man begynne med et område som er et gunstig startpunkt. Romsdalsfjorden er i liten grad påvirket av smitte sørfra men generer stort smittepress nordover.

Stømodelleringer har vist at både SAV 3 og SAV 2 kan spres over Hustadvika med vanntransport. For å hindre SAV 3 fra å spre seg nordover fra Hustadvika ble smitta laksefisk pålagt utslakting nord for denne barrieren. Laks med SAV2 og PD får nå stå i sjøen i dette området. Skal man klare å bekjempe PD må smitta fisk fjernes hvis den utgjør smitterisiko for spredning til andre lokaliteter. For å redusere dette smittepresset bør sjøavstand og vannkontakt mellom Romsdalsfjorden og lokalitetene på andre siden av Hustadvika bør følgende tilnærming vurderes:

- unngå bruk av lokaliteter nær branngater, på begge sider i perioder med smittebekjempelse for å øke avstanden mellom lokaliteter og øke effekten av smittebarrieren.
- Identifisere «nøkkellokaliteter» som i stor grad bidrar til smittespredning. Fjerne smitta fisk fra disse raskt og unngå bruk av dem i perioder med smittebekjempelse
- Brakklegge store områder i to måneder om vinteren før re utsetting av smolt for å fjerne SAV og andre laksevirus og lakselus fra fjorder med stedege laksestammer:

Området mellom Breisundet og Hustadvika som inkluderer Romsdalsfjorden er forholdsvis isolert fra andre områder med oppdrettsvirksomhet. Kontroll av SAV-smitte fra sør og SAV-spredning over Hustadvika burde derfor være mulig. Den siste tilnærmingen kan dermed være å gjøre Romsdalen (inkludert Vigra, Lepsøy og Longva) om til en generasjonssone innenfor det nye produksjonsområdet. Dette innebærer at hele området brakklegges i en kort periode. I og med at SAV finnes og oppkonsentreres i oppdrettslaksen og i liten grad er funnet andre steder (Stene et al., 2010) kan en kort periode der fjorden er fri for oppdrettet laksefisk være nok for å fjerne viruset fra miljøet. Dette vil også ha positiv betydning for å redusere problemene med lakselus i fjorden. (Se under i avsnitt: «Strategier relatert til soneinndeling»).

C. Strategier for å bekjempe sykdom

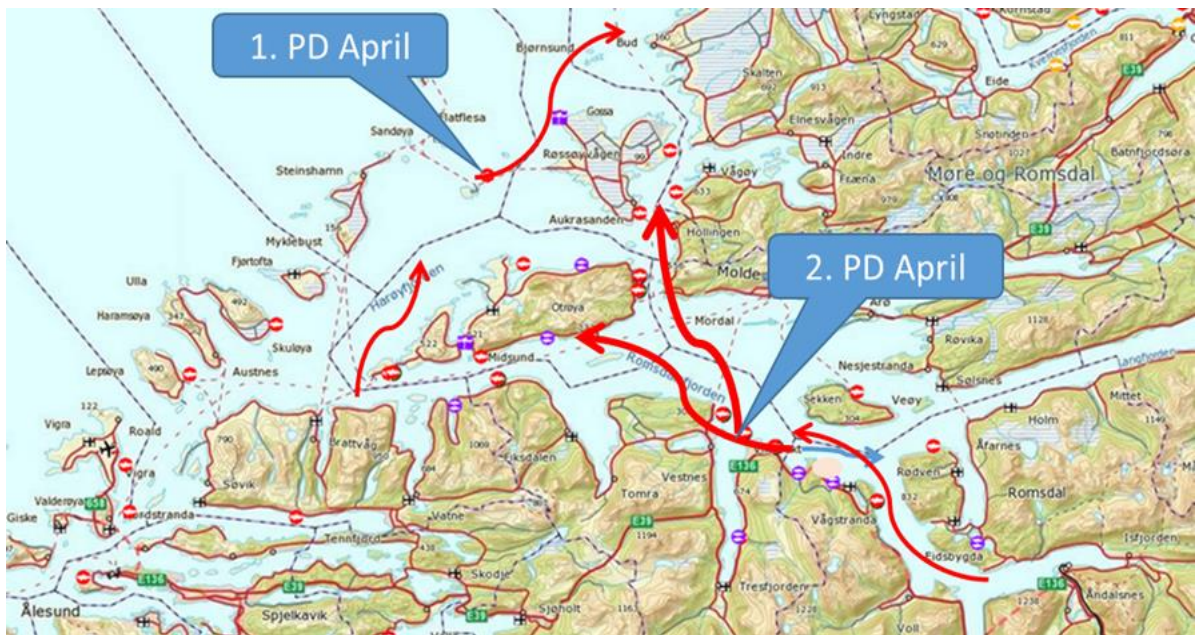
Hvis sykdom er indikatoren for vekst, bør lokalisering og gruppering av oppdrettsanlegg planlegges i henholdt til å begrense potensiell smittespredning. SAV transporteres primært med vannet til andre lokaliteter, avhengig av strømmretning og strømstyrke. Hvis generasjonssoner og produksjonsområder skal fungere som smittehygieniske enheter, må relevant kunnskap om vannkontakt mellom lokaliteter prioriteres. Streng hygiene må også opparbeides i alle ledd som er involvert i produksjonen. Vaksinerings bør gjøres for redusert smittepress. Ulike grader av landbasert produksjon bør vurderes for å korte ned produksjonstiden i sjø og for å ha større fleksibilitet i forhold til kritiske perioder.

Når det gjelder lokalisering av oppdrettsanleggene, blir forholdsvis dype strømssterke lokaliteter foretrukket. Fordelen med slike lokaliteter er god vannutskiftning på merdnivå og god selvrensingsevne på bunnen. På lokaliteter med god strøm vil imidlertid vannet bidra med spredning

av virus over store avstander fra smitta fisk. På mer beskytta lokaliteter med smitta fisk vil avbøying av strøm føre til høy egensmitte, mer enn spredning av virus over store avstander. Her kan imidlertid den nødvendige dose virus som er nødvendig for å indusere infeksjon raskere opparbeides hvis fisken først blir smitta (Jarungriapisit et al., 2016a).

Strategier relatert til lokalisering.

I Romsdalsfjorden finner vi overveiende strømsterke lokaliteter og et komplekst strømbilde. Figur 23 viser et eksempel på to lokaliteter som får PD i april: lokalitet 1 i ytre og lokalitet 2 i indre fjord-system. Pilene indikerer vanntransporten i grove trekk om våren og sommeren (basert på SinMod 2009).



Figur 23: Eksempel på virustransport på to lokaliteter som får PD samtidig. Røde piler indikerer strømretning i perioden

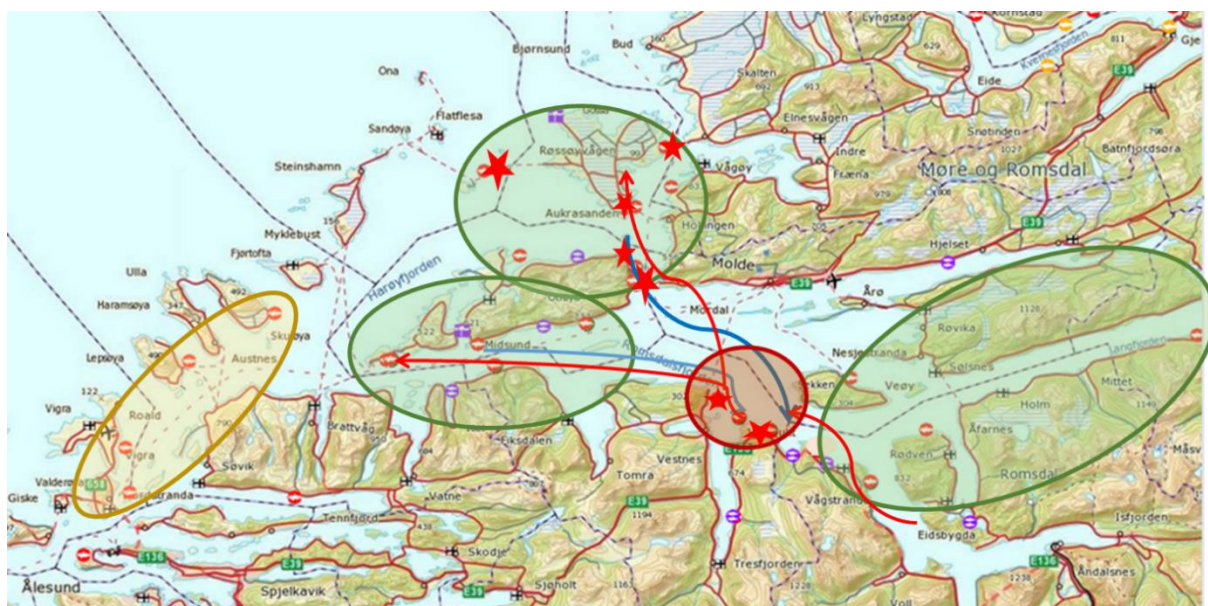
Med PD på lokalitet 1 i figuren er det mulig å sette ut smolt på mange lokaliteter inne i fjordsystemet uten at de kommer i vannkontakt med den smitta lokaliteten. Syk fisk på denne lokaliteten kan imidlertid bidra høyt smittepress og økt mulighet for spredning nordover med kyststrømmen. Med PD på lokalitet 2 er utsett av vårs smolt på de fleste andre lokaliteter problematisk i og med at ferskvannsavrenningen øker i denne perioden og transporterer masse vann og smittestoff nordover, og vestover. De tre østligste lokalitetene, eventuelt lokaliteter sør-øst for den smittede vil kunne vurderes for utsett.

For å frigjøre flere lokaliteter for utsett og hindre spredning av virus smitta fisk fjernes fra lokalitet 2 før ny smolt setter ut i fjorden. Utsett av høstsmolt kan vurderes i hele området hvis smitta fisk blir fjernet/flyttet før PD bidrar til høyt smittepress og nedsmitting av andre lokaliteter. Dette forutsetter en mulighet til å endre på allerede fastsatte drifts og utsett-planer.

Strategier relatert til soneinndeling.

For å ha bedre kontroll med produksjonen i fjorden er området i dag inndelt i 4 utsett-soner. Dette har ikke bidratt færre med PD påvisninger. I og med at strømbilde i fjorden er såpass komplekst, er det vanskelig å etablere generasjonssoner uten vannkontakt med hverandre. Noen av de 4 etablerte utsett-sonene i fjorden er forholdsvis isolert fra de andre, mens andre soner binder alle sammen.

I Figur 24 viser de grønne og den røde ellipsen soneinndelingen i fjorden i dag. Strømbildet som er skissert i figuren indikerer at smitta lokaliteter i den røde ellipsen vil spre smitte til de to sonene som ligger lenger ut i fjorden. Et alternativ til sonestruktur under sykdomsbekjempelse kan være å etablere en ny sone (den gule) ute ved kysten og fjerne den røde sonen som bidrar med vannkontakt til store deler av fjorden. En vil da ha fire sone som i liten grad sprer smitte mellom seg.



Figur 24: Dagens generasjons-soneinndeling (grønne og rød ellipser), hovedstrømretning (blå og røde piler; SinMod 2009), PD situasjonen i slutte av 2017 (røde stjerner) og alternativ sone (gul ellipse).

I «Produksjonsområde-forskriften» (NFD 2017): Kapittel3, §8 vil produksjonskapasiteten i produksjonsområder for akvakultur reguleres i samsvar med områdets miljømessige bærekraft. Påvirkningen fra akvakultur på miljøet overvåkes etter de til enhver tid gjeldende miljøindikator, som er påvirkningen av lakselus (*Lepeophtheirus salmonis*) på villfisk. Departementet vurderer om miljøpåvirkningen i et produksjonsområde er akseptabel, moderat eller uakseptabel i forhold til økning i produksjon av laksefisk.

Som tidligere skissert er Romsdalsfjorden en del av et produksjonsområde som strekker seg fra Stadt til Hustadvika. På sikt kan etablering og brakklegging av større generasjonssoner være veien å gå for å bli kvitt PD, andre virussykdommer og for å redusere smittepress av lakselus. Figur 25 gir et eksempel på en slik generasjonssone basert på vanntransport og branngater i dette området.



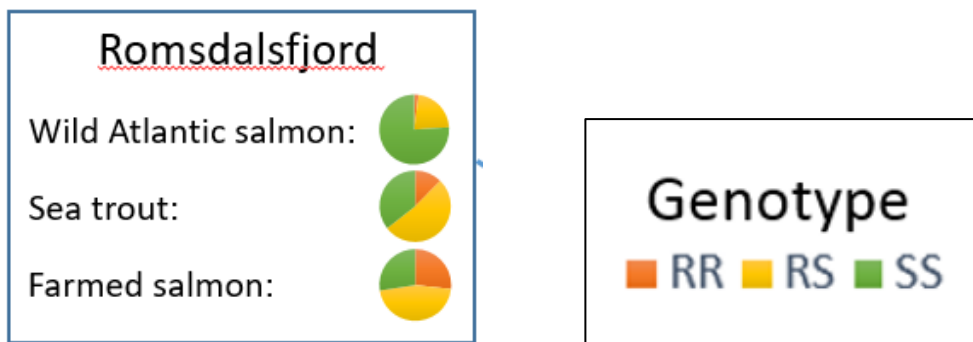
Figur 25: Oppdrettslokaliteter i området mellom Breisundet og Hustadvika innenfor samme vannkontaktnettverk. Rød ellipse indikerer en generasjonssone. Blå piler indikerer mulige branngater.

Hvis brakkleggingen av dette området skjer fra januar til mars vil oppdrettslaks, villaks og sjøørret som reservoar for virus og lakselus være ute av fjorden. SAV, andre uønskede laksevirus og lus vil være fjernet når laksefisk re-utsettes om våren. Smittepress fra lakselus bør være på et svært lavt nivå når smolt fra elvene vandrer ut i sjøen. Villsmolten vil dermed ha lave lusetall, bedre overlevelse og gi grunnlag for produksjonsøkning. Det kan også ta lengre tid før smittepresset fra lakselus igjen blir et problem i området.

Av vill laksefisk, er det sjøørreten som har tettest interaksjon med oppdrettsanleggene og lus med samme resistensstatus som oppdrettslaksen (Fjørtoft et al., 2017). Denne resistente lusa vil forsvinne når sjøørreten går opp i ferskvann og oppdrettslaksen blir slaktet ut i fjorden. Lakselus populasjonen som reetableres i fjorden kan komme fra områder lengre sør, men grunnet avstanden til annen oppdrettsvirksomhet vil kanskje mest komme fra villaksen som vandrer inn i fjorden om sommeren. Denne har en lav andel av resistente lus med seg. Figur 26 viser resistensstatusen i forhold til organofosfater, men resistensen synes å være forholdsvis lik for andre aktive substanser som brukes til kjemisk behandling av lakselus (Fjørtoft pers. med.).

Når lusenivået øker utover sommeren kan det dermed være mulig å bruke rensfisk og skjørt, i verste fall en kur med Slice for å holde lusenivået nede inntil slaktning. På denne måten kan PD fjernes samtidig som hyppige, stressende mekaniske behandlinger mot lakselus reduseres. Mye av disse behandlingene er velferdsmessig svært betenkelig.

En slik organisering av generasjonssoner vil kreve tett samarbeid og økt fleksibilitet mellom oppdrettere, men også mellom oppdrettere og forvaltning med hensyn på lokalitetsbruk og driftssystemer i perioden som trengs for å fjerne viruset og i produksjonsområdet som helhet. Et alternativ er å gå tilbake til opprinnelig soneinndeling etterpå. En slik brakklegging vil fjerne virus som SAV og ILAV. Skal lakselus kontrolleres på en bærekraftig måte, som også gir grunnlag for produksjonsvekst må store soner og omfattende brakkleggingsregimer kanskje bli regelen.



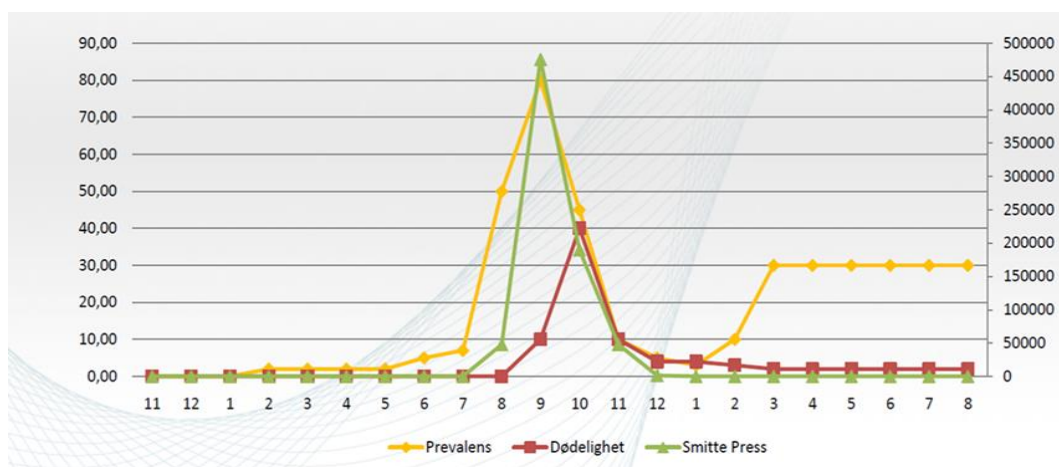
Figur 26: Andel av resistente lus (organofosfater) på vill og oppdrettet laksefisk i Romsdalsfjorden. RR: resistent, RS nedsatt følsomhet og SS full følsomhet i forhold til kjemisk behandling (Figur fra Fjørtoft et al., 2017)

En total, nøye planlagt brakklegging av store områder med utgangspunkt i vantransport innenfor produksjonsområdet mellom Stadt og Hustadvika kan være veien å gå for å fjerne PD. Dette innebærer en felles bruk av alle lokaliteter innenfor produksjonsområdet i perioder med smittebekjempelse. Etter en slik brakklegging er driftshygiene og kontroll av transport ut og inn av området viktig. Hvis virus blir påvist på oppdrettslaksen i områder der PD er bekjempet, må den fjernes.

Strategier relatert til drift.

Vaksinering mot SAV synes ikke å gi fullgod beskyttelse, men antas å redusere smittepresset fra smitta populasjoner (Bang Jensen et al., 2012). Fisk utsatt i områder med SAV2 blir sjelden vaksinert. Vaksinering er påbudt i SAV3 områdene. En viss infektiv dose er nødvendig for å smitte fisken (Jarungsriapisit et al., 2016a). Vaksinering kan derfor bidra til å begrense sykdom og virusutskillelse og dermed smittepress og smittespredning.

En annen faktor som kan bidra til spredning av PD, er at kun syk - ikke SAV2 smitta laks skal fjernes i overvåkningssonen fra Nord-Trøndelag (PD Forskriften: FOR-2017-08-29-1318). Vevsanalyser med PCR indikerer imidlertid SAV smitta fisk skiller ut mest virus i forkant av utbruddet (Kilde: PatoGen; Figur 27). Laksefisk som er smitta i overvåkningssonen burde derfor fjernes med en gang SAV blir påvist på en lokalitet, hvis målet er å hindre videre spredning.



Figur 27: Illustrert utvikling i smittepress fra en SAV infisert laksepopulasjon (kilde: PatoGen A/S)

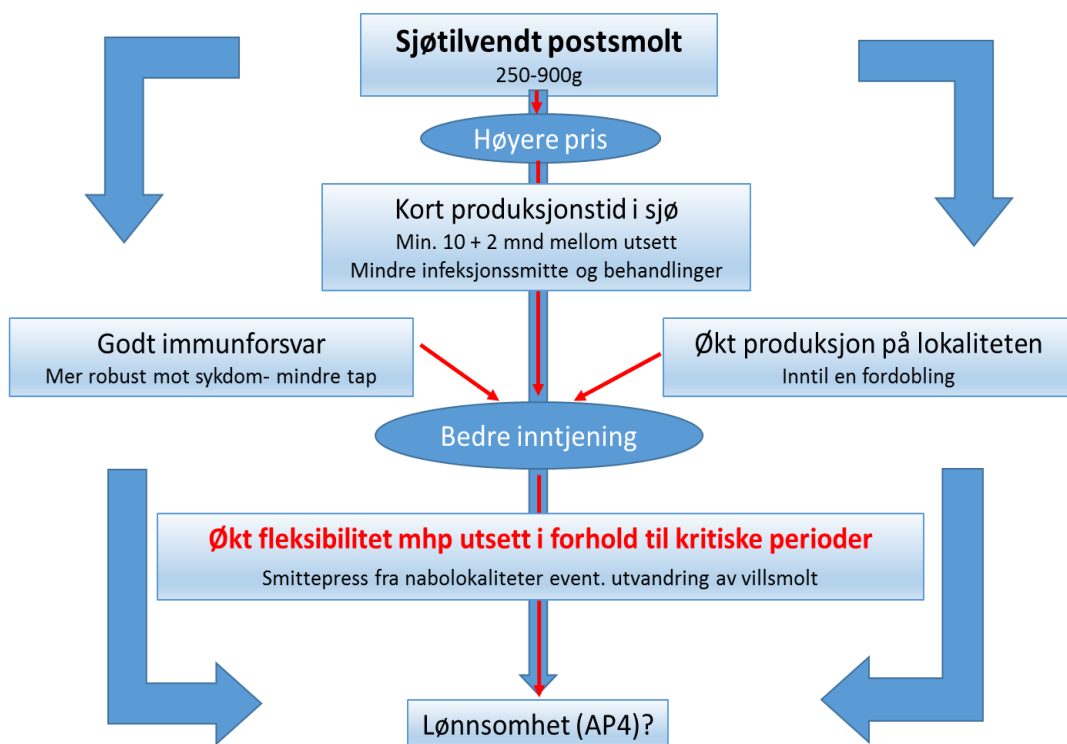
Smoltproduksjon og utsett av smolt må i økende grad kunne tilpasses og planlegges henhold til vanntransport og nærliggende lokaliteter med smittsomme sykdommer. Muligheten for å ha smolten lengre på land eller i lukka systemer burde i større grad være tilstede i kritiske perioder. En «karantenestasjon» burde etableres i hvert produksjonsområde for kortsiktig smittehygienisk oppbevaring av laksefisk som står i fare for å bli smitta, eller som kan bidra til å smitte andre.

Stor sjøvannstilvent smolt er mer robust mot sykdom (Jarungsriapisit et al., 2016b). Tilgang til slik smolt kan gi større fleksibilitet med hensyn på utsettstidspunkt på lokaliteter med smitterisiko, inntil smitta fisk er fjernet. Dette kan også bidra til økt produksjon og bedre utnyttelse av lokalitetens produksjonskapasitet

Jo lenger fisken får være i et smittefritt marint miljø før utsett i merd, desto mindre mottakelig er den for sykdom. I Møre og Romsdal er det oppdrettere som holder en del av postsmolten under kontrollerte betingelser fram til den er 500-1000g. Oppdretterne mener at det er mindre problemer med lus og virus under produksjonen.

I områder der inndeling i generasjonssoner er vanskelig pga strømbildet, kan det være et alternativ å etablere samme generasjon i et stort område; ha fisken i sjø i ca 10 måneder, brakkelegge i 2 og reutsette om våren. Dette vil også være spesielt gunstig i områder med stedegne laksestammer.

Figur 27 oppsummerer muligheter i forbindelse med utsett av stor smolt som er sjøvannstilvendt i et smittefritt miljø. Dette gir økte anleggskostnader og driftsutgifter. Spørsmålet om dette er veien å gå er markedet og betalingsvilligheten hos de som ønsker en slik smolt. Lønnsomhetsaspektene ved denne strategien vil bli behandlet i Arbeidspakke 4.



Figur 27: Ulike aspekter i forbindelse med produksjon av postsmolt.

Arbeidspakke 4. Kunnskap, verktøy og motivasjon for optimal smittebegrensning.

Bakgrunn

Vanntransporten er sentral for smittespredning. Strømmodeller kan være et verktøy i arbeidet med smittebegrensning, men modellene har likevel sine begrensninger som bør identifiseres og kommuniseres. Tilgjengelige modeller bør ses i sammenheng for videreutvikling og korrigerende slik at de blir mer hensiktsmessige for driftsplanlegging og forvaltning.

Næringa står også foran endringer i forbindelse med nye nasjonale kriterier for vekst. Det er satt i gang tiltak med målsetting om bedre kontroll med sykdom og lakselus, men vi vet lite om hvor stor avstanden mellom generasjonssonene bør være for å begrense smitte med SAV viruset i forskjellige områder. Vi vet heller ikke om branngater mellom ulike soner og produksjonsområder er hensiktsmessig i forhold til vanntransport og sykdomssituasjonen i området.

Identifisering av relevante smitteforebyggende tiltak er viktig. I utgangspunktet vil vi tro at gjennomføring av slike tiltak vil påvirke økonomien positivt. For å være sikre på at disse antagelsene er riktige og under hvilke forutsetninger de er riktige, er ulike lønnsomhetsaspekter undersøkt i samarbeid med oppdrettere. Identifisering av løsninger som i utgangspunktet kan virke krevende, kan likevel lønne seg på sikt. Dette kan motivere til økt samarbeid og innsats for smittebegrensning.

I denne arbeidspakken ble det modellert strøm og transport av virus i sjøen i de to case områdene fra AP3. Det ble brukt fire etablerte numeriske modell systemer, som opereres av Havforskningsinstituttet, SINTEF Ocean, Akvaplan-NIVA og DHI i samarbeid med ProActima. Modellene ble sammenlignet med hverandre og med reelle målinger, samt sykdomsdata i case områdene. Modellresultatene ble så analysert for smitterisiko i case områdene.

Målsetting med arbeidspakke 4

Hovedmål AP4: Vurdere tilgjengelige verktøy som kan bidra og motivere til optimal smittespredning. Følgende delmål er skissert for å oppnå dette:

- A. Vurdere tilgjengelige modeller for å beregne vanntransport mellom lokaliteter.
- B. Vurdere tap og gevinst ved smitteforebyggende tiltak via økonomimodellering.

I denne rapporten er hovedmål A presentert. Hovedmål B vil bli presentert senere i egen delrapport. Havforskningsinstituttet, Sintef Ocean, Akvaplan-niva og DHI/Proactima bidro med sine relaterte modellsystemer for strøm og smittespredning til å:

- Sammenholde og evaluere eksisterende vanntransportmodeller.
- Definere modellenes bruksområder og begrensninger i forbindelse med smitteforebygging.
- Benytte modellene til å identifisere nøkkellokaliteter av betydning for smittespredning.

Hovedfunn A

- **Ulike hydrodynamiske modeller for vanntransport er tilgjengelig. En analyse av 4 modeller viste godt samsvar når det gjaldt strømstyrke og strømretning, men det er nødvendig å validere modellene med måledata. Smittenettverkene som ble utarbeidet varierte mellom modellene. Dette kan skyldes forskjeller i biologiske modeller for viruset. Modellene må evalueres mot reelle målinger, årsaken til ulikheter må identifiseres og bedre biologisk modeller må utarbeides.**

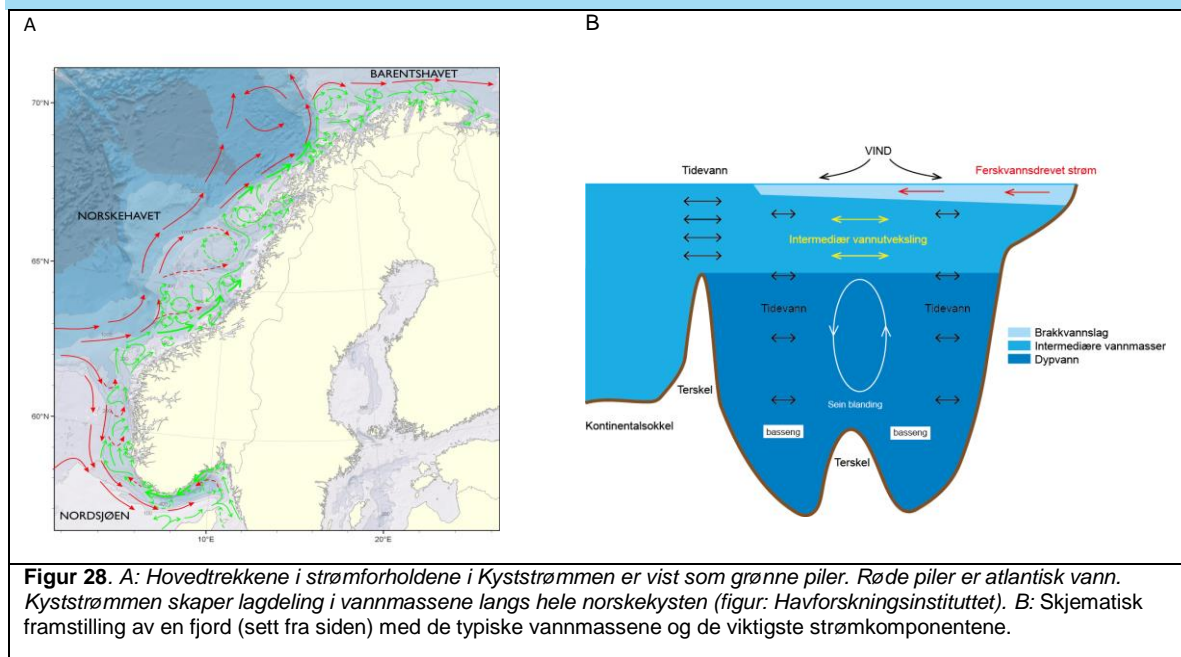
A. Strømmodellering

Strøm og betraktninger for Vestlandet

Helt sentralt i arbeidet med smittespredning i norske farvann er å forstå dynamikken omkring vanntransporten i fjordene. Selv om vi anvender numeriske beregningsmodeller som i prinsippet skal inneholde all relevant dynamikk, gitt de har tilstrekkelig god kvalitet i drivkrefter og grenseverdier, vil en forståelse av typiske forhold bidra til å tolke resultatene.

Det fysiske miljøet i fjordene varierer på mange tids- og lengdeskalaer siden det påvirkes av ulike drivkrefter som også opererer over mange skalaer (se referanseliste bakerst i notatet). Viktigst er vind og atmosfærisk stråling, tidevann, ferskvannsavrenning og koblingen med de lagdelte vannmassene i Den norske kyststrømmen. Typiske tidsskalaer for de viktigste endringene i det fysiske miljøet er fra time og lenger, ofte med episoder av timer til dagers varighet. Videre er sesong en viktig tidsskala, og en kan dessuten ha store mellomårlege variasjoner og i noen grad dekadiske variasjoner.

Ferskvannstilførsel, tidevann, vindforhold, atlantehavsvann og bunnforhold er med på å styre oppførsel og egenskaper til Den norske kyststrømmen (Figur 28; Sætre, 2007). Kyststrømmen har en vesentlig kilde i ferskvannstilførselene i Østersjøen og fastlands-Norge. Dette vannet blandes med Nordsjøvann og atlantisk vann, og driver nordover langs norskekysten som en kile-formet strøm med relativt lav saltholdighet. Saltholdigheten til Kyststrømmen øker gradvis etter hvert som mer og mer atlantehavsvann blandes inn. Kyststrømmen er hovedsakelig drevet av tetthetsforskjeller, som for det meste er bestemt av saltholdigheten. Der kan også være en betydelig strømkomponent som er styrt av vannstandsforskjeller.



Figur 28. A: Hovedtrekkene i strømførholdene i Kyststrømmen er vist som grønne piler. Røde piler er atlantisk vann. Kyststrømmen skaper lagdeling i vannmassene langs hele norskekysten (figur: Havforskningsinstituttet). B: Skjematisk framstilling av en fjord (sett fra siden) med de typiske vannmassene og de viktigste strømkomponentene.

Det er vanlig å dele vannmassene i fjordene inn i: Et overflatelag (0-5m tykt), et mellomlag (mellom overflaten eller bunnen av overflatelaget og fjordens terskeldyp) og et fjordbasseng (dypere enn terskelen).

Fjordene og det indre kystvannet mottar i varierende grad ferskvann fra elver og er kjennetegnet med et brakkvannslag (lav saltholdighet). Avrenningen har gjerne et klart sesongmessig signal, gjerne med et maksimum på våren og et minimum om vinteren. Vestlandet har også typisk et andre avrennings-maksimum om høsten grunnet økte nedbørsmengder. Mellomårlege variasjoner i avrenning kan også være store ettersom dette i stor grad avhenger av den lokale nedbøren.

Strømmene i fjordene er sterkest og varierer mest i de øverste 10 - 20 m av vannsøylen. I trange innløp, over terskler og i smale sund er det ofte sterk tidevannsstrøm, mens periodevis høye strømhastigheter i de åpne delene av fjordene og indre kystområder som oftest er forårsaket av lokal vind. Vinddrevet strøm har størst betydning i de øverste 10 - 20 m og er sterkest nær overflaten. Vinddrevet strøm kan utgjøre mellom 3 og 8 % av vindhastigheten og har størst effekt i situasjoner med sterk lagdeling i fjordene (brakkvann). I perioder med sterk vind kan overflatestrømmene i fjordene overstige 1 m/s. Under normale forhold er strømmene normalt mindre enn ca. 0,3 cm/s. I bukter, bakevjer og sidefjorder kan strømforholdene være betydelig svakere enn i åpne fjord - og kystområder.

Tidevannet langs norskekysten brer seg som en lang bølge fra sør mot nord, og vannstandsforskjellene er minst i sør og størst i nord. Denne bølgen forgrener seg innover fjordene med bare noen minutters forsinkelse mellom f.eks. høyvann på kysten og høyvann innerst i fjordene. Strømmen assosiert med tidevannet vil vanligvis ikke være så kraftig med unntak lokalt i trange farvann. Som transportmekanisme over lengre avstander for biologisk materiale er tidevannet beskjeden siden den ensrettede strømmen er kortvarig (5-6 timer). Den viktigste transportmekanismen for vannmasser i fjordene er strøm som oppstår fra trykkforskjeller mellom vannmassene i den lagdelte Kyststrømmen og vannmassene i fjorden. Dette kan skape relativt sterke strømmer både inn og ut fjorden i de øvre 10-50 m som kan vare i flere dager og på den måten frakte vannmasser i hele fjordens lengde (Asplin m.fl., 1999, 2014).

Partikkelspredning og vurdering av smitterisiko

Spredning av agens baseres på hydrodynamiske modeller og egen spredningsmodeller som tar hensyn til egenskaper og eventuell egenatferd avhengig av type agens som modelleres. Virus kan betraktes som passiv partikkel uten egen atferd og uten at det må tas hensyn til tetthet i forhold til vann. Blandingsprosesser utover forflytting med strømmen fra hydrodynamiske modeller modelleres gjerne gjennom en «random walk». Virus betraktes altså som en passiv tracer med noe (i hovedsak vertikal) diffusjon. Strømmen vil derfor bestemme i stor grad hvordan virus transporteres i sjøen. Når det skal vurderes transportrutene for virus ut fra strøm-informasjon alene vil det derfor ikke være tilstrekkelig å se på kun tidsgjennomsnitt av strøm i retning og hastighet. Korte perioder med sterk strøm eller episoder med miljøforhold forhold som fører til en sterk endring i strømbildet vil påvirke transport av virus. For eksempel er det øvre vannlaget sterkt påvirket av vind, som ofte er veldig variabelt over timer og dager.

Tidevannsbevegelsen kan i noen områder føre til en vannbevegelse som i gjennomsnitt, over en hel tidevannssyklus, gir nesten ingen netto vanntransport. Vannmassen kan likevel forflyttes flere kilometer i hver retning. Når strøm modelleres over lange tidsrom, og når det ikke kan jobbes med tidsserier alene, kan det likevel være nødvendig å lage strømkart som er basert på tidsgjennomsnitt av strømmen. Det er i så fall viktig å vurdere variabiliteten av strømmen samtidig. Det kan også være nyttig å identifisere episoder med liten og høy variabilitet for å se næyere på tidsrom der strømmen er veldig variabelt eller forskjellig fra et lengre tidsgjennomsnitt.

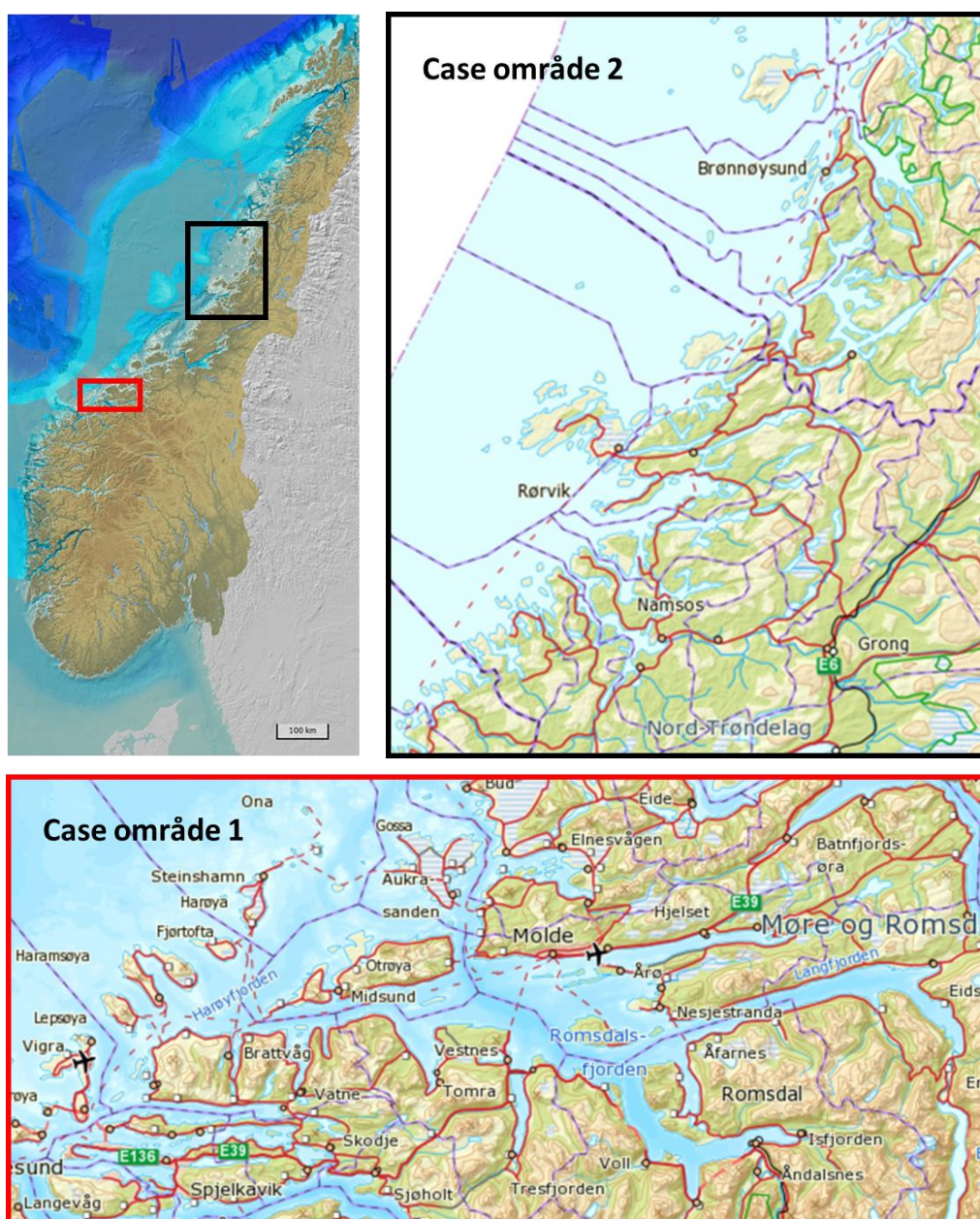
Når det skal vurderes smitterisiko for virus mellom oppdrettslokaliteter vil ikke kun transportveien være av interesse, men også tiden virus trenger for å forflytte seg fra lokalitet til lokalitet i forhold til levetid for viruset. Det er også viktig å vurdere hva som regnes som infektiv dose, altså antall virus som en fisk eller en populasjon må utsettes for før den kan anses som en latent smittebærer som skiller ut virus som smitter andre individer

Når transportmodellering av virus skal sammenlignes med reelle sykdomsdata er det viktig å skille mellom infeksjon og utbrudd. Fisk kan infiseres uten at resulterer i et sykdomsutbrudd, og et utbrudd skjer ofte i sammenheng med endringer i fisk eller miljø. Det antas at stress, for eksempel forårsaket av stigende vanntemperatur, driftsoperasjoner eller andre sykdom eller skader, kan føre til sykdomsutbrudd.

Gjennomføring

Modellsystemer og case områder

Fire etablerte numeriske modeller er sammenliknet. Disse opereres av Havforskningsinstituttet (ROMS/LADIM), SINTEF (SINMOD), Akvaplan-niva (FVCOM) og DHI i samarbeid med ProActima (MIKE-3) i to case områder, Romsdalsfjorden (case område 1) og Nord-Trøndelag og Helgeland (case område 2). Områdene er vist i figur 29. Case område 1 strekker seg fra Ulstein i sør til Hustadvika i nord. Området omfatter hele Romsdalsfjord-systemet, samt kystsonen utenfor fjorden. Fjordene er innrammet av fjell som kan akkumulere store snømasser om vinteren, men som er stort sett frie for snø og is om sommeren. Case område 2 omfatter kystsonen fra Buholmråsa i sør til Vega i Nord. Dette området er preget av flere fjorder og øyer som påvirker den Norske kyststrømmen, som er generelt nordgående. Case område 2 er mye større enn case område 1 og inneholder om lag tre ganger så mange oppdrettslokaliteter.



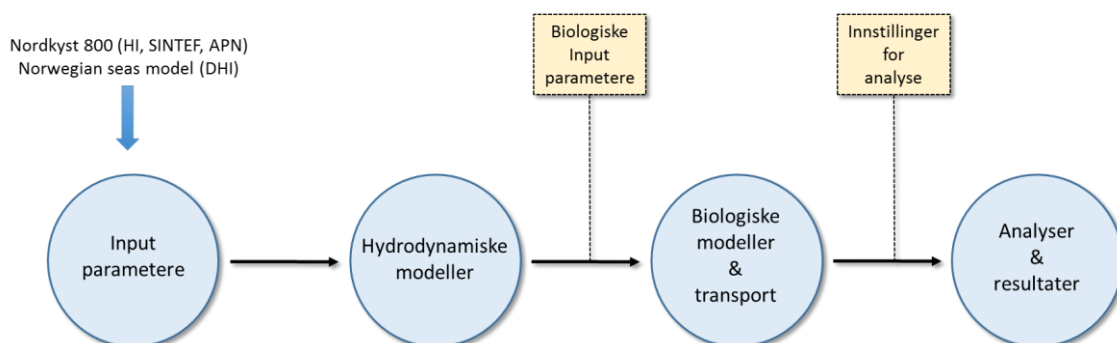
Figur 29. Oversikt over case områdene 1 (Romsdalsfjorden) og 2 (Nord-Trøndelag og Helgeland).

Tabellene A og B i vedlegg viser oppdrettslokalitetene som ble brukt i spredningsmodellene som kilde og potensielle mottaker for virus. Alle disse lokalitetene var aktive i 2014.

Hver modell er delt i to: en hydrodynamisk modell som simulerer vannstrømmen i case områdene og en spredningsmodell som simulerer fordeling av virus med strømmen (se figur 30). Modellene settes opp i ønsket område, slik at området er delt inn i mindre horisontale ruter. Hver rute er delt inn i flere vertikale dybdelag. I simuleringen beregnes det miljøforhold, som strømstyrke og retning, saltholdighet, temperatur, oksygen, virusmengde, eller andre parameteres av interesse i hver rute og dybdelag. Modellene trenger input data for å beskrive miljøet når simuleringen startes og for å gi informasjon om ytre påvirkninger som drivkrefter underveis. Denne informasjonen kan for eksempel inneholde topografi, vind, temperatur, salinitet, ferskvannsavrenning, og jo mer informasjon som er tilgjengelig jo bedre kan modellresultatet bli. Den hydrodynamiske delen av modellene beregner endringene i strømrøtning, strømhastighet og fysikalsk/kjemiske parametere som temperatur eller saltholdighet. Dette gjøres i hver modellrute og dybdelag ut fra drivkreftene. Resultatet fra denne modellen er en omfattende 3-dimensjonal beskrivelse av strømmen i hele case området. Oppløsningen i tid og rom er avhengig av innstillinger som brukes for horisontal og vertikal inndeling i ruter og dybdelag og for tidsperiode og tids steg til beregningene.

I transportmodellen blir det tilsatt partikler eller en konsentrasjon i en eller flere modellruter og dybder. Det kan her være ønskelig å undersøke transport av forskjellige agens, som kan oppføre seg forskjellig. Noen agens vil flyte på vannet, mens andre vil synke mens lakselus vil utvise egen atferd. Biologiske modeller inneholder derfor egne regler som beskriver egenskaper og atferd til akkurat det agens som skal undersøkes. I dette prosjektet skulle det undersøkes transport av salmonid alphavirus (SAV), som ble modellert som passiv tracer uten egen atferd og med egenvekt som var lik sjøvann.

Hydrodynamiske modeller kan generere store datamengder, alt i forhold til oppløsningen i tid og rom og til mengde og varighet på utslipp av agens i spredningsmodellene. I dette prosjektet ble det simulert to kystområder i hele 2014 med varierende oppløsning. Det ble generert flere milliarder datapunkter for strøm og nesten like mye informasjon om oppholdssted til virus. Det var derfor nødvendig å utvikle rett framgangsmåte for analyse av modelldata. Framgangsmåten og analyse beskrives i seksjon «Analyse for smittespredning».



Figur 30. Skjematisk oversikt over strøm- og spredningsmodellene.

SINMOD

SINMOD er et koblet fysisk-biologisk modellsystem som har vært i kontinuerlig utvikling og bruk hos SINTEF i over 30 år. Modellen drives av atmosfæriske krefter og varmeutveksling, tidevann,

ferskvannsavrenning fra land og strøm over grensene. Ytre påvirkninger ivaretas ved å kjøre modellen i flere omganger. Vi starter med et område som dekker store havområder med lav oppløsning. Denne produserer grensebetingelser for modeller som dekker mindre områder, men som har høyere oppløsning. Modellområdene som er brukt i disse prosjektene har 160 m horisontal oppløsning og det er inntil 32 vertikale lag i dette modellområdet, hvorav 20 lag dekker de øverste 100 m av vannsøylen. Dybdelagene i SINMOD er horisontale, slik at antall lag som brukes for et punkt er avhengig av det lokale bunndypet. SINMOD har vært brukt i om lag 90 vitenskapelige publikasjoner.

ROMS

"Regional Ocean Modelling System" (ROMS) er en tre-dimensjonal strømmmodell utviklet i USA (Shchepetkin and McWilliams, 2005) (<http://myroms.org>). ROMS løser de såkalte primitive hydrodynamiske ligningene med hydrostatisk antagelse. Horisontalt beregningsgitter er ortogonale kurvilineære firkanter, mens vertikalt er det terrengfølgende generaliserte s-koordinater. Simuleringene for Romsdal og Namsen benytter en horisontal gitteroppløsning på 160 m. Det er brukt 35 vertikale s-nivåer der avstanden mellom koordinatnivåene varierer, og den høyeste oppløsningen er i de øvre 10 m med oppløsning mindre enn 0,5 m i de øvre 3-4 lagene.

Modellens bunndyp er bearbeidet fra Sjøkartverket sine bathymetriske verdier, hentet fra Norge Digitalt (<http://www.norgedigitalt.no>). De opprinnelige bunndypene ble først interpolert til modellens 160m x 160m gitter, deretter ble kystlinjen justert manuelt og til slutt ble bunndypene glattet for å oppfylle ROMS sitt krav om ikke å bruke modellen med for bratte skråninger. Sistnevnte vil kunne forårsake at modellen går instabilt og/eller at den genererer betydningsfulle falske strømmer.

Langs 160m-modellens åpne grenseflater så ble det brukt timesverdier av vannstand, strøm og hydrografi fra en simulering med NorKyst800-modellsystemet, også basert på ROMS (Albretsen et al., 2011). Det vertikale gitteret til 800m-kjøringen er definert likt med det som ble brukt i ROMS-160m-kjøringene (de interne grid-parameterne til ROMS er $V_{transform}=V_{stretching}=2$, $\theta_s = 8,0$, $\theta_b=0,1$, $T_{cline}=20m$). Gjennom timesverdiene fra NorKyst800 ble også tidevannspådraget inkludert. Tidevann ble opprinnelig drevet via den åpne randa til NorKyst800-modellen, basert på TPXO7.2 (Egbert og Erofeeva, 2002).

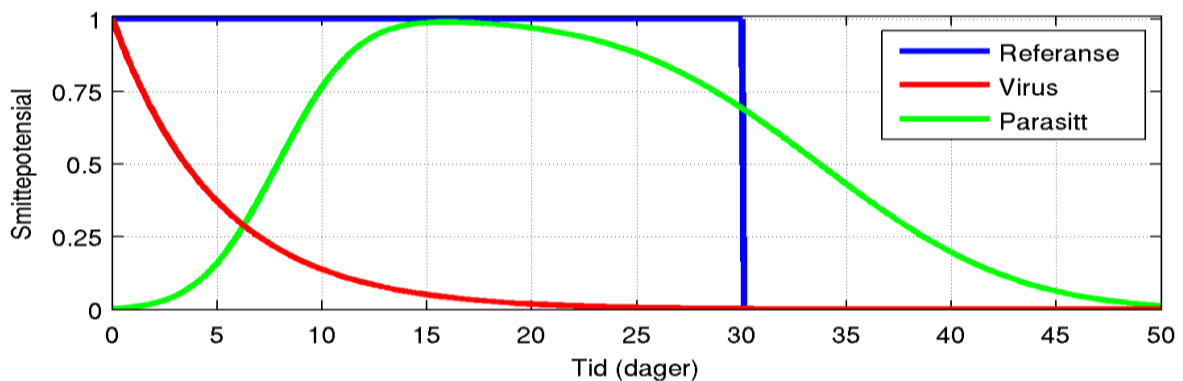
FVCOM

FVCOM (Finite Volume Community Ocean Model) er utviklet ved The Marine Ecosystem Dynamics Modeling Laboratory ved University of Massachusetts-Dartmouth (USA). I de to områdene som er i bruk i dette prosjektet er FVCOM satt opp med en oppløsning som varierer mellom 30 og 800 meter. Det er valgt høy oppløsning i trange sund fjorder samtidig som oppløsningen er lik NorKyst800 i de ytre grensene av domenet.

Simuleringene av drift av smittestoff ble utført med den Lagrangske trajektoriemodellen FISCAM. Det ble sluppet ut 60 partikler per time per lokalitet i et rektangulært område 600x600 meter rundt utslippslokaliteten. Det er antatt at partiklene ikke hadde noen aktiv egenbevegelse og fløt fritt med strømmen. Den horisontale posisjonen til hver partikkel ble lagret for hver 3. simulerte time og brukt for å lage en statistisk beskrivelse av spredningen fra lokalitetene.

Istedenfor å telle "treff" av enkeltpartikler ved anlegg har Akvaplan-niva utviklet en tidsensemblemetodikk som bruker statistiske partikkelkonsentrasjoner for å vurdere utveksling mellom anleggene og variabilitet av dette. For en gitt lokalitet slippes det kontinuerlig ut partikler gjennom. For analysen

deles modellområdet i like store felt (like stor som utslippsområdet, «binning», 600 x 600 m) og det telles hvor mange partikler som befinner seg innenfor hver felt. Tellingene foregår hver tredje time. Nedbrytningsraten for virus tas hensyn til under tellingen ved at en partikkel får en verdi mellom null og en avhengig av alder. Denne verdien hentes fra smittepotensialkurven vist i figur 4. Tellingene blir normalisert i forhold til det totale antall partikler som befinner seg i modellområdet. Resultatet er en partikkelkonsentrasjon som beskriver hvilken prosentandel av den totale mengden partikler som befinner seg til et gitt tidspunkt innenfor hvert 600x600 m felt i modellområdet. I et kunstig tilfelle hvor det ikke finnes noe strøm og alle partikler samler seg i utslippsområdet ville konsentrasjonen altså være lik en over utslippsarealet og null ellers i modellområdet. Konsentrasjonene blir midlet for hvert døgn slik at man får en tidsserie av daglige partikkelkonsentrasjoner som kan ansees som resultater av uavhengige eksperimenter (tids-ensemble), eller som utvikling av en "tracer" som kontinuerlig slippes ut ved anlegget. Denne tidsserien brukes deretter for en statistisk beskrivelse (prosentilberegning) av partikkelkonsentrasjonen som forekommer i hvert felt i modellområdet gjennom simuleringsperioden. Døgnmidler som minste tidsenhet i statistikken ble valgt for å være et representativt tidsrom over hvilken anlegget må være utsatt for smittestoff for å bli infisert.



Figur 31. Framstilling av smittepotensial-kurven for bruk for levetidsberegning for patogener.

MIKE-3

Den hydrodynamiske modellen MIKE-3 Flow Model FM (Flexible Mesh) simulerer variasjoner i tid og rom av parameter som:

- Vannstand
- Strøm hastighet og retning
- salinitet
- temperatur

I forbindelse med det aktuelle prosjektet ble MIKE-3 utviklet for case områdene Romsdalsfjorden og Nord-Trøndelag og Helgeland.

Modellen ble utviklet med fleksibel triangulær mesh (FM), slik at modellenes oppløsning kan varieres i forskjellige områder av modell domenen. Den horisontale oppløsningen varierte fra 120 - 200 m i fjordene til 1500 m i åpen hav. Vertikalt består modellene av 74 z-lag. Mesh design er optimalisert og testet slik at den grovere oppløsningen i åpen hav ikke har noen effekt på hydrodynamikken i kyst og fjord områder. Grenseverdiene er hentet fra DHI The Norwegian Seas model. Tids steg varierte under simulering, og ble beregnet internt for å samsvare med stabilitets-kriterier. Minimum tids steg var 0.01 s og maksimum tids steg var 300 s. Informasjon for ferskvannsavrenning ble hentet fra NVE.

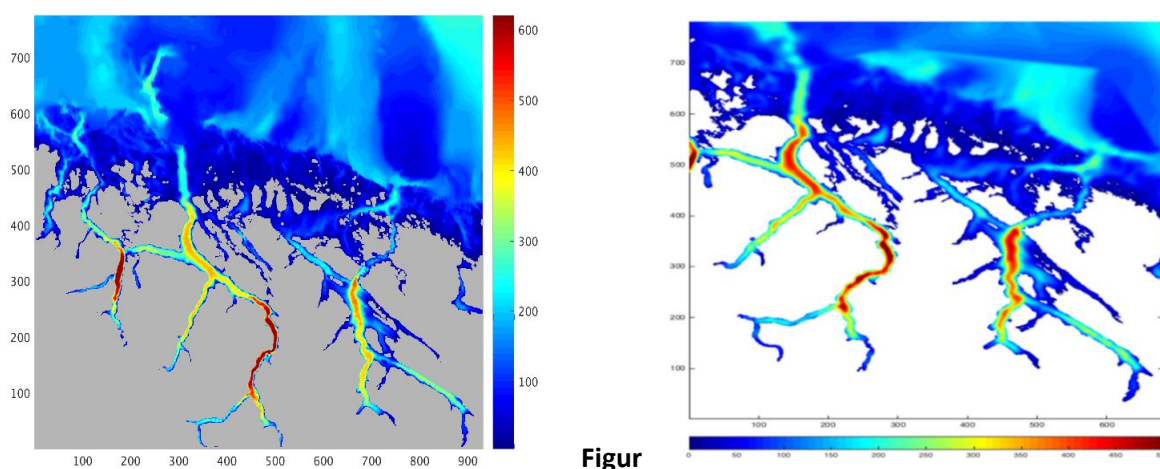
Avstandsmodell (VI)

Avstandsmodellen til Veterinærinstituttet baseres på faktisk avstand mellom lokaliteter. Det settes opp en matrise som viser sjøavstand mellom alle lokaliteter av interesse. Det tas ikke hensyn til en retningskomponent i forflytningen. Det antas risiko for smitteoverføring mellom lokaliteter øker med minkende avstand fra hverandre.

Parametere og datagrunnlag

Modelloppsett

Første steget for alle modellene var å sette opp case områdene med riktig topografi og det å dele inn områdene i modellruter og dybdelag. Datagrunnlaget var likt for alle de fire modellene, men det var brukt varierende grad av glatting i de enkelte modellene. Figur 32 viser to eksempler for bruken av topografisk data med mer glatting på høyre side.



Figur

32. Eksempler for implementering av bunntopografi i modellene. Venstre side: mindre glatting av rådata; høyre side: glatting av rådata.

I planleggingsfasen til arbeidspakke 4 var det i utgangspunktet tenkt å inkludere kun to strømmodeller, SINMOD og ROMS/LADIM, til modellering av smittetransport. Disse modellene bruker firekantgrid, som vil si at case områdene deles inn i rektangulære ruter. Oppløsningen i en slik inndeling kan varieres ved å etablere finere grid med mindre rutestørrelse, som settes inn i et større område med grovere inndeling. Etter forslag fra styringsgruppen ble arbeidspakken utvidet med to modellsystemer; FVCOM og MIKE-3, som bruker triangulære grid. I slike grid kan oppløsningen endres jevnt ved bruk av triangler med varierende størrelse.

Oppløsningen i rom var horisontalt faste 160 m for SINMOD og ROMS, mens den var varierende for FVCOM (30 – 800 m) og MIKE-3 (120 – 200 m). Det ble dermed rundt 600.000 til 800.000 ruter med hver sine dybdelag i modellene i det minste case område (Romsdalsfjorden). Modellene brukte mellom 32 og 74 vertikale dybdelag. Det var liten forskjell mellom dybdelag i det øvre vannsjiktet som var viktigst for spredning av PD virus. Jo høyere oppløsning som brukes i modellene, jo tyngre vil beregningene bli, og jo mer regnekraft trengs eller man må bruke lengre tid for strøm og spredningsmodellering. Det skal også nevnes at oppløsningen på bunnkart begrenser oppløsningen i modellene som ansees som hensiktsmessig. For veldig høyoppløsende modellinnstillinger på meter nivå vil også sediment type og eventuell planter og dyr på sjøbunnen ha betydning for modellresultat.

Oppløsninger ble valgt ut fra en vurdering av ønsket detaljnivå, tilgjengelig data, tilgjengelig regnekraft og tidsbruk. Regnetid for å modellere det minste case område var forskjellig. Mens noen modeller brukte omtrent 1/10 av sanntid, dvs. det måtte brukes om lag en måned for å simulere strøm og partikkelspredning for hele 2014, kunne andre gi resultat i løpet av 90 timer. Regnetid vil avhenge av flere faktorer og det kan variere mellom modeller og scenarier. Når det brukes større regnesentere vil regnetiden kunne kortes betydelig ned, men da må slik regnekraft være tilgjengelig og modellene må være satt opp for det.

SINMOD, ROMS og FVCOM brukte fast tidsoppløsning mellom 2 og 60 sekunder, mens MIKE-3 var satt opp med varierende tidsoppløsning mellom 0.01 og 300 sekunder. Tidsoppløsningen har ikke noe betydning for modellresultat i sammenheng med analysen i dette prosjektet, siden det betraktes resultat for strøm og virusspredning på en tidsskala på timer til måneder. Tabell 9 viser oversikt over viktige modellparametere.

Tabell 9. Oversikt over parametere for modelloppsett for hydrodynamiske modeller og for spredningsmodellene.

	SINTEF: SINMOD	IMR: Roms	Akvaplan-Niva: FVCOM	DHI: MIKE-3
Grid type	square	square	triangular	Triangular
Resolution [m]	160	160	30 – 800	120 – 200
Vertical layers	32	35	35	74
Time intervall [s]	30	60	2	0.01 – 300
Number of virus [h^{-1}]	60	60 (6)	32	concentration
Shedding depth [m]	2	2	2	2
Decay [d^{-1}]	0.528 * exp (0.287*Temp)			
Behaviour	passive			
«Hit» of prod. site	Closest 480 m			
Count of hits	Once (Hi: repeated), no removal			

* Based on: Graham, D. A., C. Staples, C. J. Wilson, H. Jewhurst, K. Cherry, A. Gordon and H. M. Rowley (2007). "Biophysical properties of salmonid alphaviruses: influence of temperature and pH on virus survival." *Journal of Fish Diseases* 30(9): 533-543.

Drivkrefter

De hydrodynamiske modellene drives av atmosfæriske felt, ferskvannsavrenning og åpne grenseverdier mot havet (inklusive tidevann). Drivkrefter fra atmosfæren ble generert fra en høyoppløselig simulering med atmosfæremodellen WRF (Weather Research and Forecasting model, www.wrfmodel.org) (Skamarock et al., 2008) som igjen benyttet seg av operasjonelle analyser fra den globale atmosfæremodellen fra ECMWF (European Centre for Medium Range Weather Forecasts). Elveavrenning er angitt med daglige verdier av volumflukser i alle hovedelver definert av NVE (Norges Vassdrags og Energi-direktorat). Avrenning fra alle vassdrag er først hentet fra NVE sin HBV-modell med 1km oppløsning (Beldring et al., 2003) før disse transportene ble distribuert til alle hovedelver ut fra hver elv sitt oppstrøms-areal. Transportene er ikke justert ut fra demnings-reguleringer. Åpne grenseverdier mot kysten er hentet fra resultatene til NorKyst800 med oppdatering hver time for SINMOD, ROMS og FVCOM, mens MIKE-3 brukte åpne grenseverdier hentet fra The Norwegian Seas model. Det ble lagret resultatene for strøm, saltholdighet, temperatur og vannstand, som benyttet til å simulere partikkelspredning.

Modellsystemene bruker vanligvis sitt eget sett med inngangsdata. I prosjektet ble det bestemt at alle skulle benytte data fra Nordkyst 800. Det viste seg at tilpasninger er nødvendig for å kunne sette opp modellene riktig med inngangsdata fra andre kilder. Dette på grunnnet annen formattering eller type data. Mens valgte inngangsdata var det som HI bruker for ROMS, måtte SINMOD og FVCOM sette opp sine modeller flere ganger på grunnnet bruken av andre inngangsdata. DHI valgte å bruke sin egen data siden det inneholdt tilleggsinformasjon som var viktig å få med i MIKE-3.

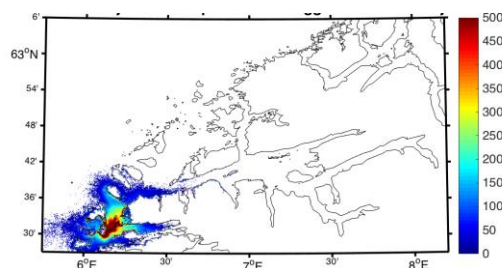
Partikkelspredning

Det er simulert spredning av partikler fra henholdsvis 20 (case område 1) og 64 (case område 2) lokaliteter for 2014 (Tabellene 7 og 8 i vedlegg). For SAV-virus ble det antatt en passiv oppførsel, og vertikal forflytning skjer kun gjennom en "random walk" blandingsprosess. Ved sykdomsutbrudd frigjøres et stort antall virus, og det er ikke mulig å simulere hver eneste viruspartikkel. Det ble derfor brukt to forskjellige tilnærminger for å simulere utslipp og spredning av virus: SINMOD, ROMS/LADIM og FVCOM brukte «superpartikler», mens MIKE-3 brukte konsentrasjon.

Der virus ble simulert som partikler ble partikler kontinuerlig sluppet ut og transportert med strømmen med grunnlag i de hydrodynamiske modellene (Figur 33). Ved sykdomsutbrudd vil det frigjøres millionvis av virus oppdrettslokalitet, og det er ikke mulig innenfor hensiktsmessig tidsramme å simulere hver enkel virus som separat partikkel. I stedet blir det simulert et mindre antall (virus-) superpartikler, som hver representerer mange virus. Siden partikler forflyttes i modellene avhengig av strømmen, som varierer i tid og rom, vil det være viktig å bruke et tilstrekkelig stor antall superpartikler for å kunne fange opp alle mulige partikkelbaner. Derfor må man bruke flere superpartikler for å dekke alle mulige transportveier.

Havforskningsinstituttet analyserte nødvendig antall superpartikler for å oppnå akseptabelt resultat for mulige transportveier. Basert på ønsket nøyaktighet i resultatene ble det simulert utslipp fra hver enkelt lokalitet 60 partikler er sluppet ut hver time i 2 m dyp i hver tidssteg gjennom hele 2014. Alle partikler følges og posisjonsbestemmes i hver tidssteg. Strøm og temperatur er hentet fra NorFjords 160m med nye verdier hver time. Resultatene lagres som partikkelposisjon (x,y,z) og alder (døgngrader) time for time. MIKE-3 brukte konsentrasjon for å beskrive spredning av virus, og det ble lagret konsentrasjon istedenfor antall partikler per modellrute.

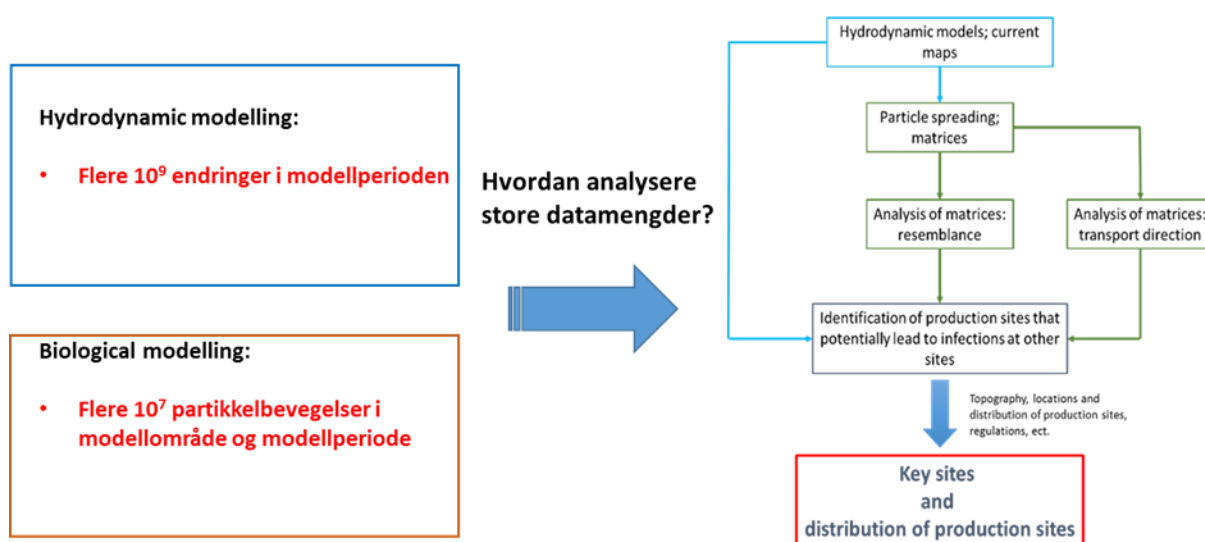
Modellering med konsentrasjon er ikke begrenset av partikkel antall og sikrer at modellen representerer alle mulige transportruter/modellruter, noe som kan være en utfordring ved modellering med superpartikler. SAV virus har en lang, men likevel begrenset levetid. Det ble brukt resultat for forventet levetid til viruset basert på tid i sjøen og temperatur, som beskrevet i (Graham et al., 2007). Figur 6 viser et eksempel for partikkelspredning fra lokaliteten med løpenummer 1 i Juli 2014 basert på ROMS/LADIM for å illustrere spredning fra et enkelt kilde. Alle partikler (virus) med alder mindre enn 150 døgngrader ble summert time for time. Figuren gir et kvalitativt bilde for hvor partiklene spres.



Figur 33. Spredning av virus fra lokalitet. Konsentrasjonen er fargekoder; høyest i rødt, og lavest i blått.

Analyse av smittespredning

Mer enn hundre tusen modellruter i titalls dybdelag og opp til flere millioner partikkelbevegelser i case områdene, genererer mye data (Figur 34). Det er utfordrende å analysere så pass store datamengder, og oppsett, lagring og analyse må planlegges med sikte på spørsmålene en ønsker å besvare, og hypotesene en skal teste.



Figur 34. Modellene akkumulerer store datamengder. Skjemaet til høyre viser oversikt over framgangsmåten for analyse av strøm- og spredningsdata.

I det følgende gis det en forklaring på framgangsmåten for analyse av strøm- og spredningsdata for å evaluere smitterisiko mellom oppdrettslokaliteter og for å identifisere potensielle nøkkellokaliteter for smittespredning. Figur 7 gir oversikt over bruken av data fra strøm og spredningsmodellene, og tabell 3 viser framgangsmåten stegvis.

De hydrodynamiske modellene gir grunnlaget for all virusspredning. Modellresultat på vannstrøm gir informasjon om hydrodynamiske forhold i områdene over tid og rom, inkludert dybdevariasjon. På grunn av den store datamengden fra strømmodellene ble resultat visualisert gjennom:

1. strømkart med tidsgjennomsnitt på strømrretning og hastighet
2. kart som viser variabiliteten i samme tidsrom. Eksempler er vist i tabell 3 under 1. og 2.

Denne informasjonen er grunnlaget for sammenligning av modellene og for evaluering av transportmønster og dens variasjon over tid på forskjellige romlige skaler. Episoder med endrete miljøforhold, som sterk vind, ferskvannsavrenning eller variasjoner i saltholdighet og/eller temperatur påvirker strømbildet og dermed mønster for smittetransport.

Korte perioder med strømtransport som avviker sterkt fra gjennomsnittlig strømbildet vil likevel ikke alltid fanges opp av kart som viser tidsgjennomsnitt av vannstrøm. Dette fordi gjennomsnittsverdier vil glatte ut hendelser på relativt korte tidsskala. Slike variasjoner i strømmen kan imidlertid ha stor betydning for transport av smittestoffer og dermed risiko for smitte fra en oppdrettslokalitet til en annen. Derfor ble det laget matriser som viser smittenettverk og smitterisiko mellom lokalitetene i case områdene.

Alle virus ble fulgt i modellene. For hvert virus blir det lagret 3-dimensjonale posisjoner og annen informasjon som er viktig for å kunne beregne levetid til virus, som for eksempel døgngrader. Virus ble fjernet fra modellene når de nådde sin forventede levetid, som var primært avhengig av temperaturen i sjøen i forhold til tid etter utslipp. Levetidsbergingen ble implementert i modellene som beskrevet i (Graham, Staples et al. 2007).

Virus som ble forflyttet inn i et oppdrettsanlegg innenfor forventet levetid ble registrert i matriser som viser hvor mange virus hvert aktive oppdrettsanlegg mottok og hvor virus kom ifra. Et eksempel for en slik matrise er vist i tabell 3 under punktene C og D. Disse matrisene oppsummerer effekten av havstrømmen på spredningen av virus mellom oppdrettsanlegg over tid. Resultatene tar også hensyn til all variasjon i strømmen, inkludert eventuelle korte perioder med sterkt varierende strømforhold. Matrisene brukes til kvantifisering av virusspredning imellom oppdrettsanlegg og kombineres med resultater fra de hydrodynamiske modellene til evaluering av transport ruter. Tabell 3 punkt D. viser et eksempel for hvordan matrisene leses:

Matrisene ble satt opp med alle lokalitetene i et case område i samme rekkefølge vertikalt og horisontalt, som vist i tabellen, punkt D. I vertikal retning vises det antall virus superpartikkel som transportertes til lokaliteten spesifisert til venstre med opphav i lokaliteten øverst. Under en lokalitet vises det altså hvor mange av superpartiklene som ble sluppet ut fra lokaliteten som treffer andre lokaliteter. Samtidig vises det for hver lokalitet i horisontal retning hvor mange superpartikler lokaliteten mottar fra alle de andre lokalitetene. Matriseverdiene i dette eksempel er prosent av antall virus superpartikkel sluppet ut fra hver lokalitet.

Vi tar fram to lokaliteter som eksempler for å forklare dette nærmere (rødt i tabell 10, D.): lokaliteten Furneset finnes øverst i matrisen. Ser vi på matrisen nedover finner vi at det transporteres ingen virus til Oksebåsen og Hellaren innenfor viruset's levetid. virus sluppet ut fra Furneset transporteres til Kråknes, 4 % til Setevika, 2 % til Juvika, 3 % til Terningen. 1 % til Rogne, ingen virus til Røysa, Sandnesbukta og Seterneset, osv. Siden alle lokaliteter er satt opp mot alle lokaliteter i matrisen, vises det også egensmitte, altså virus som enten ikke transporteres mer enn 480 m fra lokaliteten innenfor et tidssteg til lagring av spredningsdata, eller virus som transporteres ut fra lokaliteten, og så tilbake igjen. Ser vi på Furneset fra venstre side og i horisontal retning, finner vi andelen av virus som denne lokaliteten mottar fra alle andre lokalitetene i case området. Ser vi bort fra egensmitte, når virus Furneset kun fra fire lokaliteter i case området, nemlig Sandnesbukta, Seterneset, Gjermundnes og Lybergsvika, derav klart mest fra Gjermundnes. Eksempel matrisen er for hele året 2014, og store variasjoner ut over året kan forekomme. For en nærmere analyse er det fordelaktig å analysere matriser for kortere tidsrom.

Ser vi på data for lokaliteten Dryna i matrisen i likhet med eksempelet for Furneset, så ser vi at det er risiko for at Virus fra Dryna transporteres til fem andre lokaliteter, derav en lokalitet (Terningen) som har veldig høy risiko for smitte fra Dryna. Samtidig er det fare for at Dryna får smitte fra sju andre lokaliteter, og det er stor fare for smitte fra minst to andre lokaliteter, Juvika og Terningen. Siden matrisen er et årsgjennomsnitt kan det være også her være store variasjoner med tid, og større risiko for smitte til og fra andre lokaliteter kan forekomme i kortere perioder, for eksempel til forskjellige årstider og spesielle miljøforhold.

Ved å ta hensyn til relasjonen imellom infektiv dose nødvendig for å smitte laks og forårsake PD (Jarungriapisit, Moore et al. 2016) kan det så identifiseres nøkkellokaliteter. Dette er som

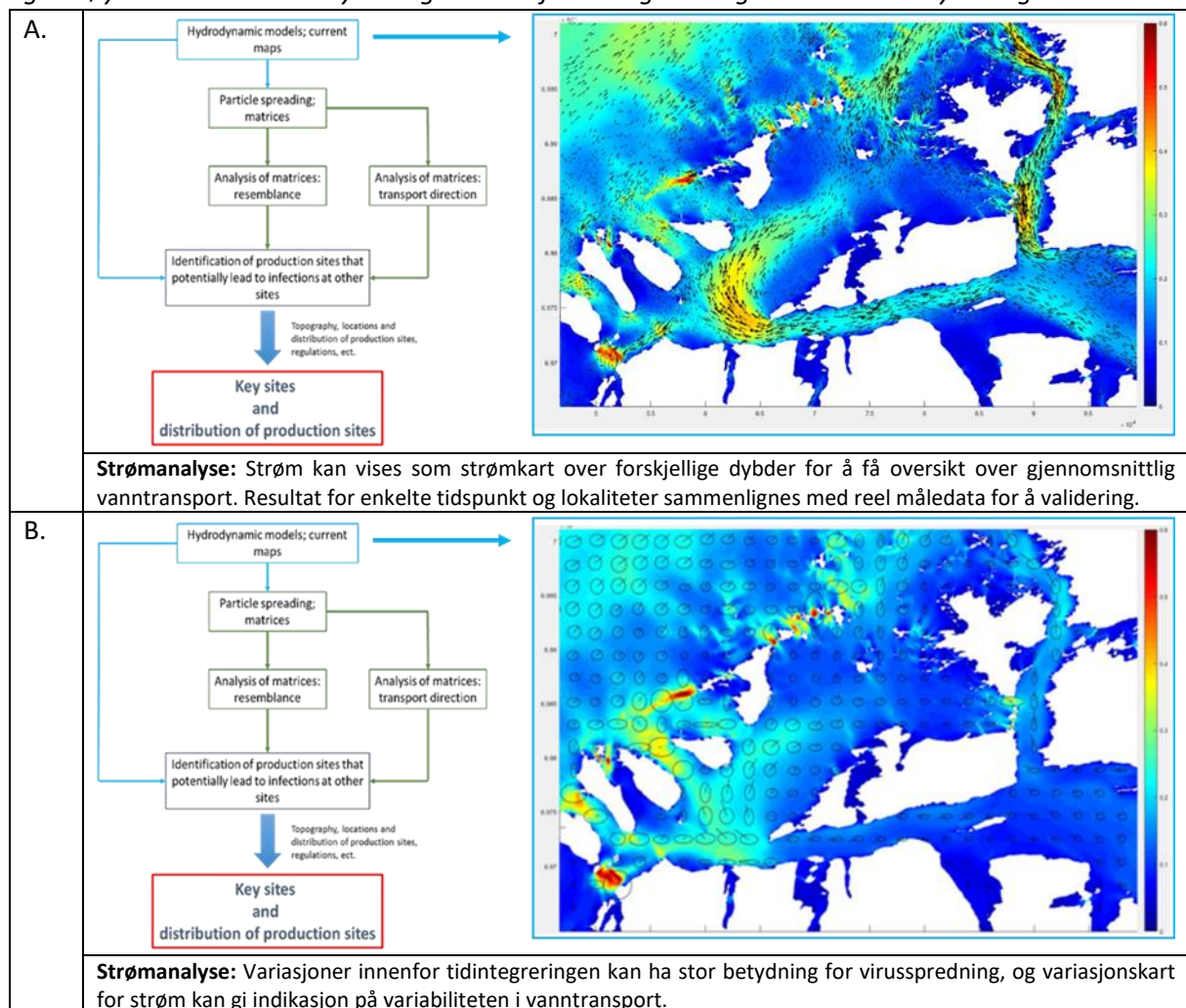
oppdrettslokaliteter med stort potensiale/risiko for å spre virus til mange andre lokaliteter, produksjons- og generasjonssoner.

Matrisene ble lagret for hver måned, og disse tar hensyn til all strømtransport, inkludert variabiliteten i strømbildet over tid. Selv om matrisene oppsummerer smittenettverk per måned, inneholder matrisene mye data, som kan være vanskelig å analysere. Matrisene ble brukt for en videre statistisk analyse basert på Bray-Curtis similarity (tabell 3, punkt E.). Denne analysen viser potensialet for smitteoverføring mellom lokaliteter, men den gir ikke en retningskomponent, altså i hvilken retning smitte transporteres mellom lokalitetene.

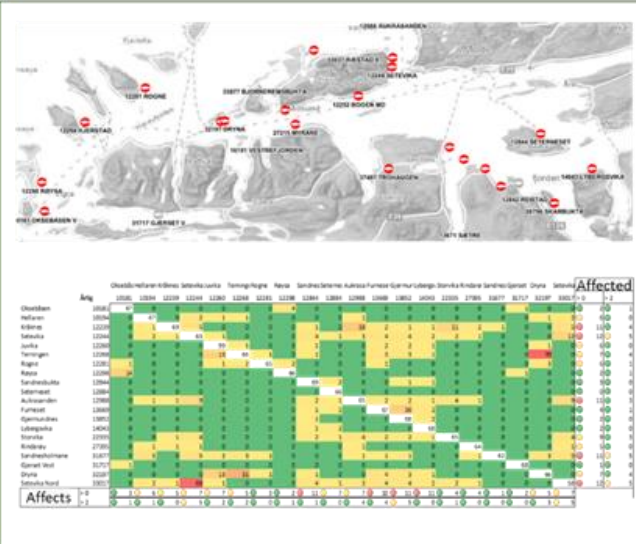
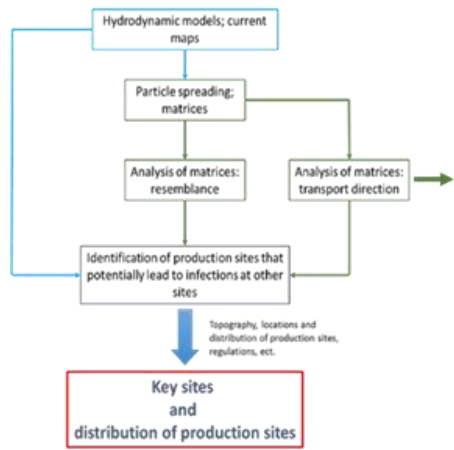
Som vist i tabell 3, punkt F. brukes det resultat fra statistiske analyser sammen med informasjon om transportretning fra matrisene og strøm og variabilitetskart for evaluering av smittenettverket i case områdene, eventuelle nøkkellokaliteter (se seksjon «Virusspredning») og funksjonelle branngater.

Videre lages det forskjellige typer kart som beskriver potensiale for sykdomsspredning imellom lokaliteter, og som kan brukes til evaluering og optimalisering av framtidige produksjonssoner og posisjonering av oppdrettslokaliteter. Disse resultatene vil også kunne brukes av oppdrettere og forvaltningen for å utvikle gode strategier for utsett og eventuell uttak og slaktning av fisk for å begrense smitteoverføring.

Tabell 10. Stegvis forklaring av analysen for strøm- og spredningsdata. Til venstre vises analyse skjema, og til høyre det aktuelle analyse steget. Korte forklaringer er lagt ved under analyse stegene.

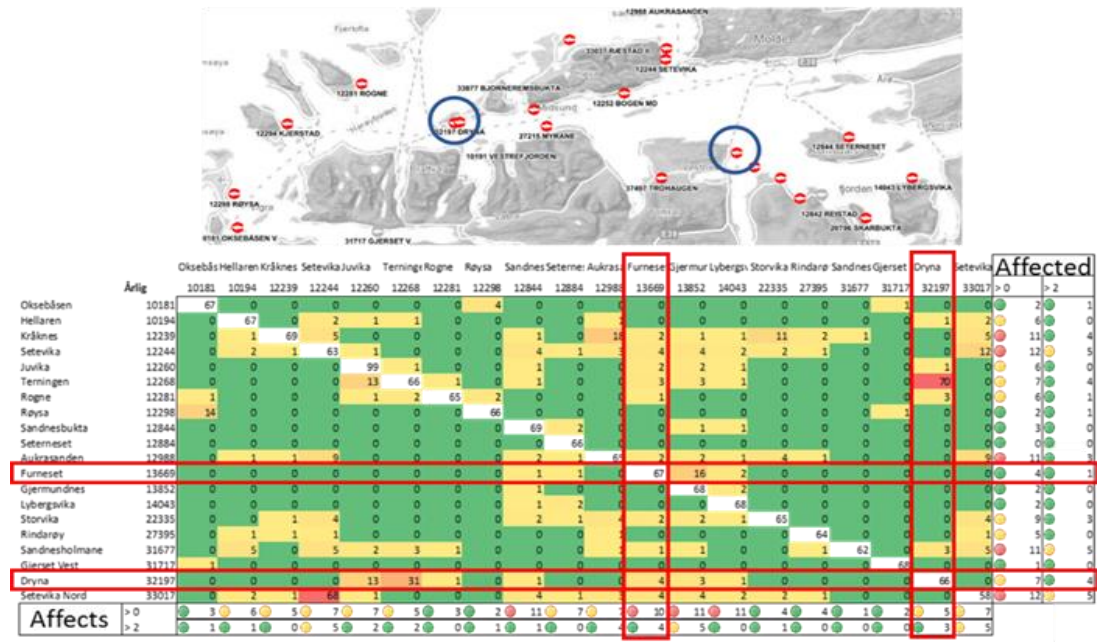


C.

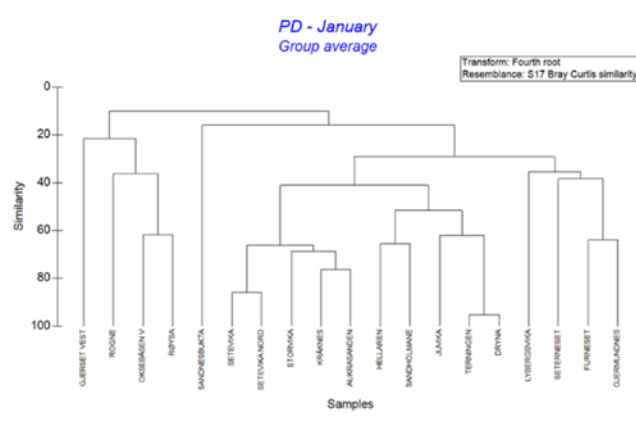
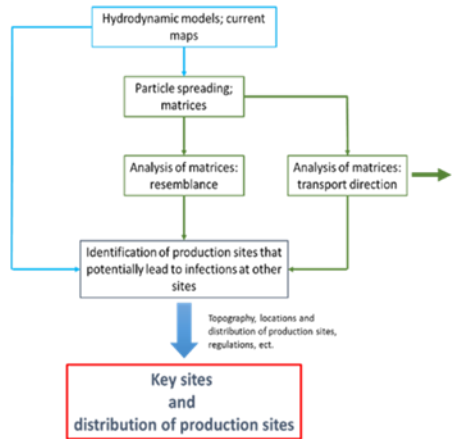


Matriser for smitterisiko: Når virus “treffer” et lokalitet vil den telles. Det registreres også viruset’s opprinnelig opphav. Matriser settes opp som viser risiko for smitte fra hver lokalitet til alle andre lokalitetene i modellområdene og for ønsket tidsrom. Resultat på denne formen tar hensyn til variasjon i strøm og andre miljøfaktorer.

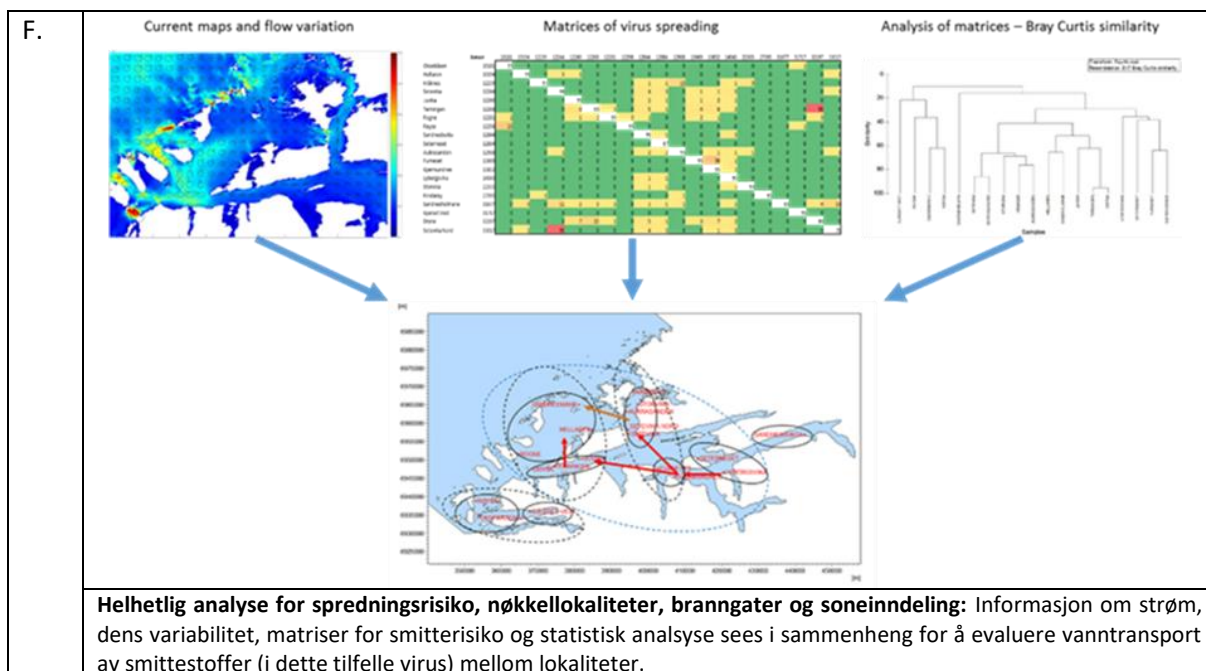
D.



E.



Bray-Curtis similarity: Innhold i matrisene for smitterisiko analyseres med statistiske metoder som Bray-curtis similarity, som forenkler analysen for spredningsnettverk og smitterisiko spesielt i områder med mange lokaliteter.



For å sammenligne resultat for smittespredning og vannkontaktnettverk mellom modellene, ble det i tillegg til en analyse av smittenettverket beregnet følgende for hver modell (se også tabell 11):

1. Antall lokaliteter som mottar virus fra hver enkelt lokalitet
2. Årsgjennomsnitt for antall lokaliteter som mottar virus fra andre lokaliteter de kommer i kontakt med basert på månedlig resultat (fra punkt 1).
3. Standardavvik til årsgjennomsnittet (fra punkt 2).
4. Minimum og maksimum for antall lokaliteter fra punkt 1 av alle måneder i 2014.
5. Summen av antall lokaliteter som kan smittes av andre (fra punkt 1) per måned.

Tabell 11. Oversikt over analyse stegene for sammenligning av smittenettverk mellom modellene.

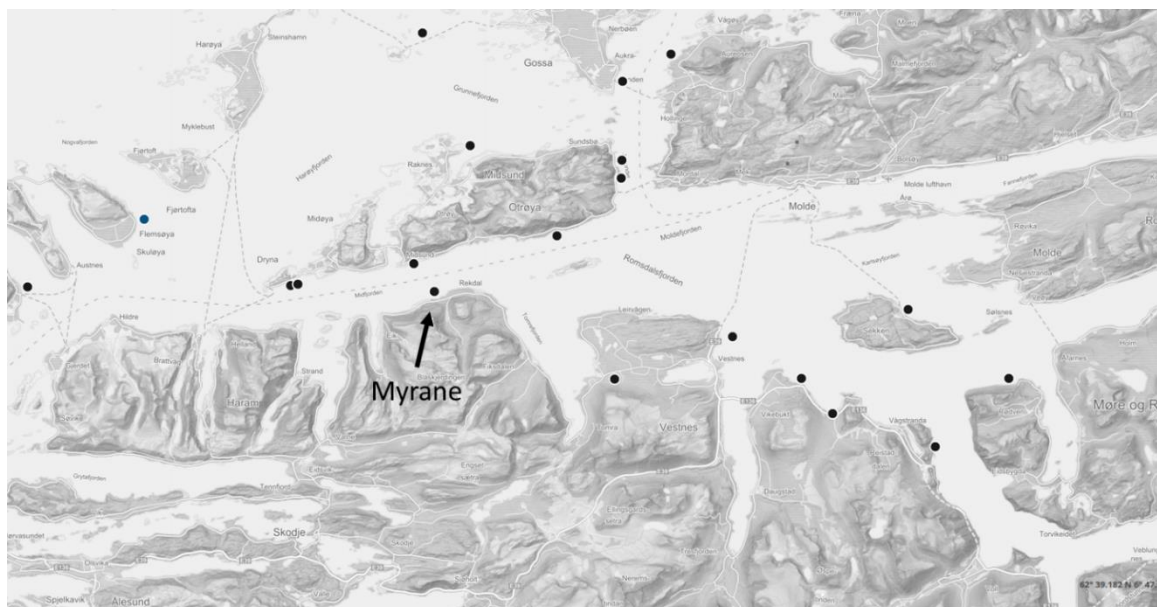
1	Antall lokaliteter som mottar virus fra annen lokalitet	Her identifiseres vannkontakt som fører til transport av virus fra en lokalitet til et annet, uten å ta hensyn til minste infektive dose for smitte.
2	Årsgjennomsnitt for antall lokaliteter som mottar virus annen lokalitet (1).	Årsgjennomsnittet viser hvor mange lokaliteter som kan motta virus fra den aktuelle lokaliteten.
3	Standardavvik for årsgjennomsnittet (2).	Standardavviket viser om det er store variasjoner over året 2014 i forhold til hvor mange lokaliteter den aktuelle lokaliteten kan spre virus til.
4	Minimum og maksimum til (1) av alle måneder i 2014.	Minimum viser om lokaliteten til tider kan ha lavt smittepotensialet med sikte på antall lokaliteter den kan spre virus til. Maksimum viser det største potensielle smittenettverk for hver lokalitet gjennom året 2014.
5	Summen av alle lokaliteter som kan smittes av andre (1) per måned.	Summen viser det maksimale smittenettverk i hele case område.

Sammenligning av strøm- og partikkelmodeller

Sammenligning av strøm

For å sammenligne de hydrodynamiske modellene ble strømkart for overflatestrøm og strømdynamikk over tid og dybde i et enkelt punkt sammenlignet. Dette punktet var på lokaliteten «Myrane» (se figur 35), siden det var tilgjengelig måledata for strøm og temperatur herfra i juni 2014. Modellresultat ble også sammenlignet med måledata i dette tidsrommet.

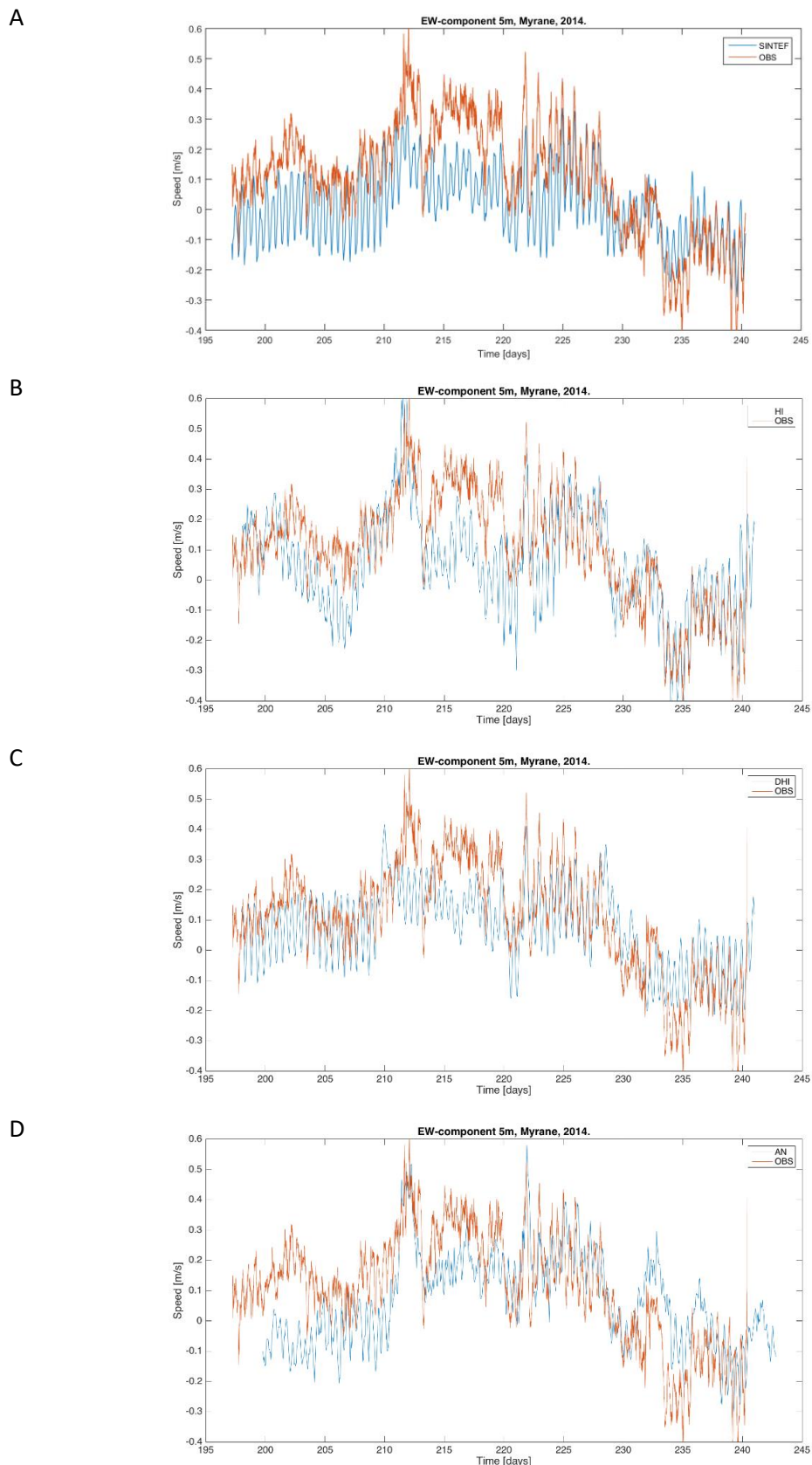
Det var generelt godt samsvar mellom strømodellene og med reelle måledata for strøm (figur 36), selv om gjennomsnittlig strømhastighet over tre uker i Juni 2014 var mindre i modellene enn det som målingene viser (tabell 12). Det er i denne sammenhengen viktig å huske at strømmåleren stod i et enkelt punkt, mens modellene beregner strøm som gjennomsnitt av større områder, avhengig av inndelingen av dybdelag og gridceller i de enkle modellene. Også temperaturutviklingen i modellen samsvarer godt med måleverdiene. Det er identifisering av riktige strømrørninger og -variasjoner mer enn gjennomsnittsstrømmen som er viktigst for mønstrene for forflytting av patogener i sjøen. Lavere gjennomsnittsstrøm fører muligens til redusert rekkevidde for virus før den mister evnen til å smitte, men siden dynamikken i strømmen gjenspeiles i simuleringene antas transportmønstrene å være realistisk i alle modellene.



Figur 35. Plassering av lokaliteten "Myrane" (kart hentet fra www.barentswatch.no).

Tabell 12. Observasjoner for strømhastighet i øst-vest retning (hovedstrømrørning) ved Myrane i Juni 2014, og resultat for strøm modellene. Verdiene er minimum, maksimum, middelvei over tid og standardavvik.

EW-comp	min (m/s)	gjennomsnitt (m/s)	maks (m/s)	std (m/s)
ROMS	-0.48	0.06	0.75	0.17
SINMOD	-0.29	0.01	0.34	0.11
MIKE-3	-0.22	0.07	0.42	0.13
FVCOM	-0.30	0.07	0.60	0.15
Obs	-0.47	0.11	0.62	0.18

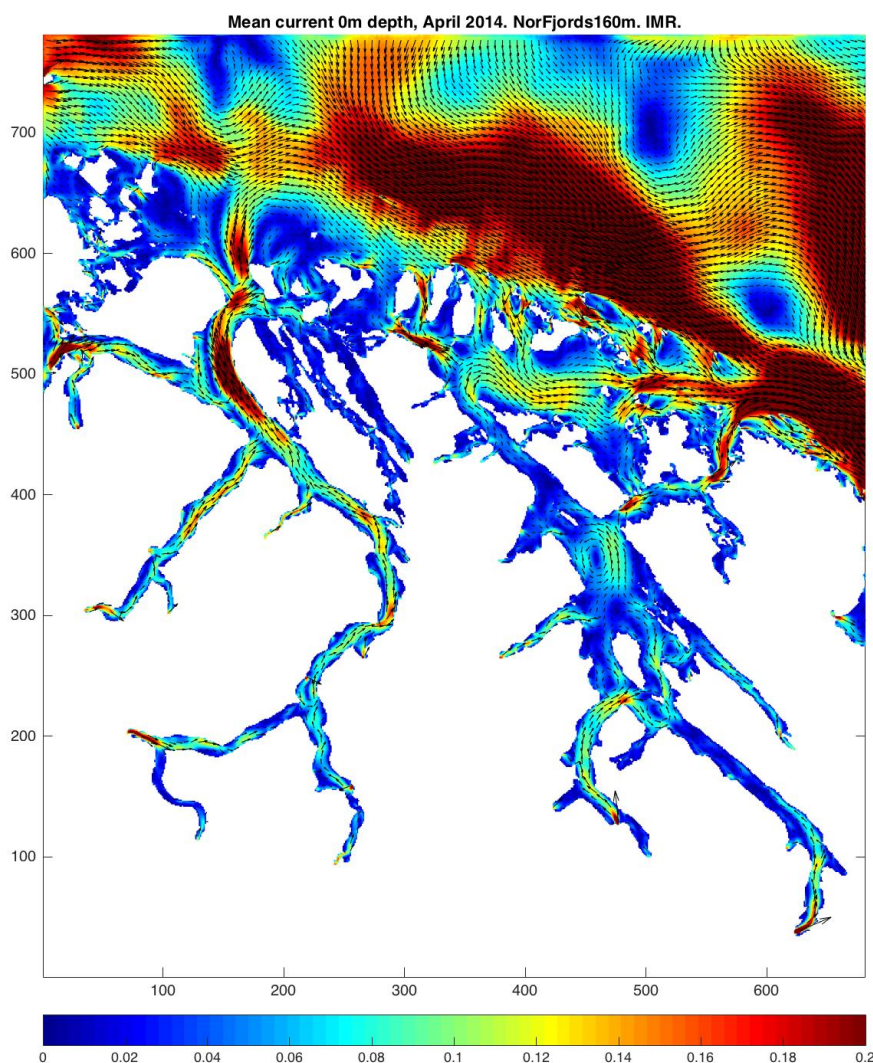


Figur 36. Sammenligning av strøm på Myrane fra observasjoner og SINMOD (A), ROMS (B), MIKE-3 (C) og FVCOM (D). OBS viser måledata og SINTEF, HI, DHI og AN viser resultater fra modellene til henholdsvis SINTEF, Havforskningsinstituttet, DHI/ProActima og Akvaplan-niva. All data vises for Øst-Vest strøm komponent.

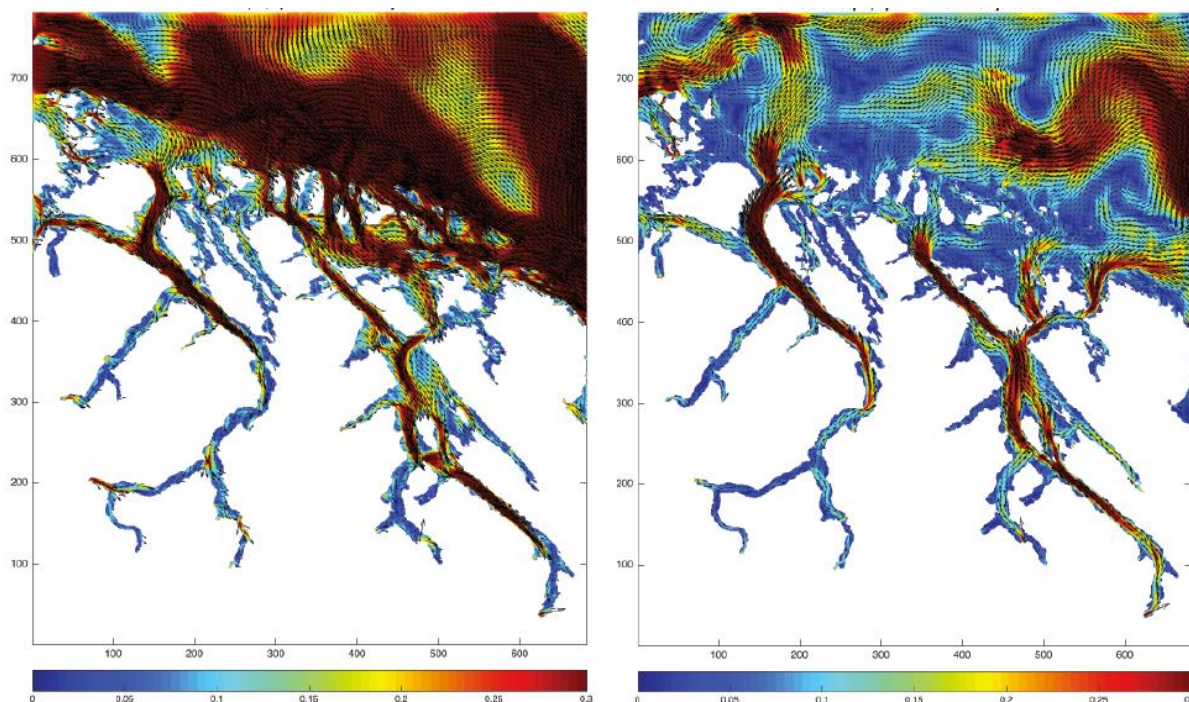
Gjennomsnittsstrøm og variabilitet

Siden strømmen foregår i episoder av timer til noen dagers varighet, vil ikke gjennomsnittsverdier for lengre tidsperioder alene være tilstrekkelig i forhold til å forstå resultatene fra partikkelpredningen. Eksempler på dette kan være forholdene i april 2014, der gjennomsnittet for hele måneden viser at det i Romsdalsfjordsystemet er en nokså beskjeden strøm (Figur 37). Dersom vi i stedet finner gjennomsnittsstrøm for periodene 10-14. april og 20-24. april er situasjonen annerledes med henholdsvis kraftig strøm inn og ut (Figur38). Fire dager med gjennomsnittlig strømfart på 0,2 m/s gir en potensiell forflytning av vannmassene på 70 km. Analyse for variasjon i strøm over en gitt tidsrom vil gi innsikt i mulig avvik fra et gjennomsnittlig strømbilde og kan brukes til å vurdere om strømmen må analyseres for kortere tidsperioder.

Det er viktig å vurdere strøm i hensiktsmessige tidsperioder, noe som vil variere i forhold til forskjellige problemstillinger. I denne arbeidspakken vil datainnsamlingen i form av matriser for vanntransport av virus ta hensyn til alle variasjoner i strømmen, og det vil dermed fanges opp effekten av kortvarige strømvariasjoner på transport av virus mellom lokaliteter.



Figur 37: Eksempel på gjennomsnittlig månedlig strømbilde i april 2014 fra ROMS.



Figur 38. Eksempel på gjennomsnittlig strømbilde fra ROMS for tidsperioder 10-14 april (venstre) og 20-24. april (høyre).

Det er dessverre liten måledata tilgjengelig for sammenligning med strømmodellingene. I dette prosjektet var det brukt data fra en målebøye på Bud og data fra lokaliteten Myrane i en kort periode. For å kunne kvalitetssikre strømdata fra modellene mot reelle miljødata, vil det være viktig å ha nok og riktige måledata tilgjengelig. Det anbefales derfor å planlegge parallelle strøm simulering og miljømålinger av relevante parametere (strøm, temperatur, salinitet) og sikre tilgang til nok og riktig data. Ikke alle punkt i et område er like egnet til en slik sammenlikning. Riktig planlegging vil resultere i bedre grunnlag for kvalitetssikring. Hvis måledata kan benyttes som input i modellene kan dette også gi bedre presisjon. Slike måledata vil også kunne benyttes til videre utvikling av modellene.

Sammenligning av virusspredning

Det er stort sett god overenstemmelse mellom strømsimuleringene i modellene og med måledata i enkeltpunkt. Grunnlaget for forflytting av virus med strøm er belagt med noe usikkerhet for SINMOD, grunnet utfordringer med implementering av inngangsdata (se seksjon «Drivkrefter» for detaljer). Strøminformasjonen fra SINMOD er oppdatert, men resultat i smittematrisene er basert på foreløpige strømrresultat. Vi velger likevel å vise resultatene fra SINMOD i rapporten, selv om det er med mer usikkerhet for dette modellsystemet sammenlignet med de andre modellene. Hydrodynamisk grunnlag for forflytting av virus er rimelig likt for alle modellene, men det kan ikke sees bort fra at små forskjeller kan ha betydning for virustransport over tid. I det følgende sammenlignes det derfor resultat fra virustransport mellom lokaliteter i case områdene basert på matrisene fra alle fire modellene:

- **Gjennomsnittlig smittepotensial per modell og lokalitet:** For hver lokalitet og måned ble det beregnet antall lokaliteter virus kan transporteres til innenfor virusets forventede levetid (se tabell 6 for eksempel). Deretter ble det beregnet et årsgjennomsnitt og standardavvik for dette. Resultatet vises som graf med lokalitetsnummer på x-aksen og gjennomsnittlig antall lokaliteter (årsgjennomsnitt) som mottar virus fra korresponderende lokalitet vist på y-aksen. Standardavvik ansees som et mål for variasjon rundt middelerdi ut året 2014.

- **Maksimalt smittepotensial som månedsgjennomsnitt per modell og lokalitet:** I likhet med forrige punkt ble det beregnet hvor mange andre lokaliteter virus kan transporteres til innenfor virusets forventede levetid (se tabell 6). For hver lokalitet (x-akse) ble det plottet maksimalt antall lokaliteter som potensielt kan smittes av den aktuelle lokaliteten i løpet av en kalender-måned (y-aksen). Med andre ord, for hver lokalitet ble det funnet måneden med maksimal smittepotensialet, som så ble plottet. Grafen viser hvor høyt maksimal smittepotensial hver av lokalitetene i case områdene har.
- **Smittenettverk per måned:** Fra samme tabellen som brukt i punktene over (tabell 13) ble det beregnet potensielle smittenettverk per måned som summen av alle enkeltresultat for lokaliteter som mottar virus fra andre lokaliteter. Det oppsummeres altså vertikalt i tabell 13 for hver måned.

Tabell 13. Eksempel for beregning av smittenettverk per lokalitet og måned, samt gjennomsnittlig smittenettverk per lokalitet (Average) samt standardavvik (standard dev), minimal (min) og maksimal (max) smittenettverk per lokalitet i 2014 og total smittenettverk i hele case område per måned (sum).

		Jan	Feb	Mars	April	Mai	Juni	Juli	Aug	Sept	Okt	Nov	Des		Average	Standard dev	min	max
Oksebåsen	10181	2	3	4	3	2	2	1	2	2	4	5	3		2.8	1.1	1.0	5.0
Hellaren	10194	2	2	7	6	4	5	4	4	4	4	6	6		4.5	1.5	2.0	7.0
Kråknes	12239	1	4	3	3	5	5	4	2	1	2	0	4		2.8	1.6	0.0	5.0
Setevika	12244	4	7	8	7	7	7	7	6	6	6	7	9		6.8	1.2	4.0	9.0
Juvika	12260	5	5	8	9	6	8	6	7	5	6	6	9		6.7	1.4	5.0	9.0
Terningen	12268	3	3	7	7	5	5	5	4	3	4	7	9		5.2	1.9	3.0	9.0
Rogne	12281	3	1	3	3	1	2	0	2	3	5	5	1		2.4	1.5	0.0	5.0
Røysa	12298	1	2	3	3	2	3	2	2	2	4	5	3		2.7	1.0	1.0	5.0
Seterneset	12844	11	9	11	11	11	8	9	9	8	8	6	5		8.8	1.9	5.0	11.0
Sandnesbukta	12884	11	10	8	11	6	4	5	5	7	7	7	2		6.9	2.7	2.0	11.0
Aukrasanden	12988	3	6	4	6	7	6	6	6	4	5	4	5		5.2	1.1	3.0	7.0
Furneset	13669	5	10	10	10	9	11	10	9	9	9	9	9		9.2	1.4	5.0	11.0
Gjermundnes	13852	8	12	11	11	10	9	12	10	10	11	11	10		10.4	1.1	8.0	12.0
Lybergsvika	14043	12	12	11	11	6	6	10	7	8	11	10	8		9.3	2.1	6.0	12.0
Storvika	22335	2	4	4	4	6	4	6	5	3	4	3	4		4.1	1.1	2.0	6.0
Sandnesholm	31677	0	3	5	1	1	0	1	3	2	0	1	5		1.8	1.7	0.0	5.0
Gjerset Vest	31717	2	3	3	2	0	1	1	0	0	0	0	3		1.3	1.2	0.0	3.0
Dryna	32197	3	3	7	7	5	5	5	4	3	4	7	9		5.2	1.9	3.0	9.0
Setevika Norc	33017	4	7	9	7	7	7	7	6	6	7	7	7		6.8	1.1	4.0	9.0
Sum		82	106	126	122	100	98	101	93	86	101	106	111					

Caseområde 1: Romsdalsfjorden

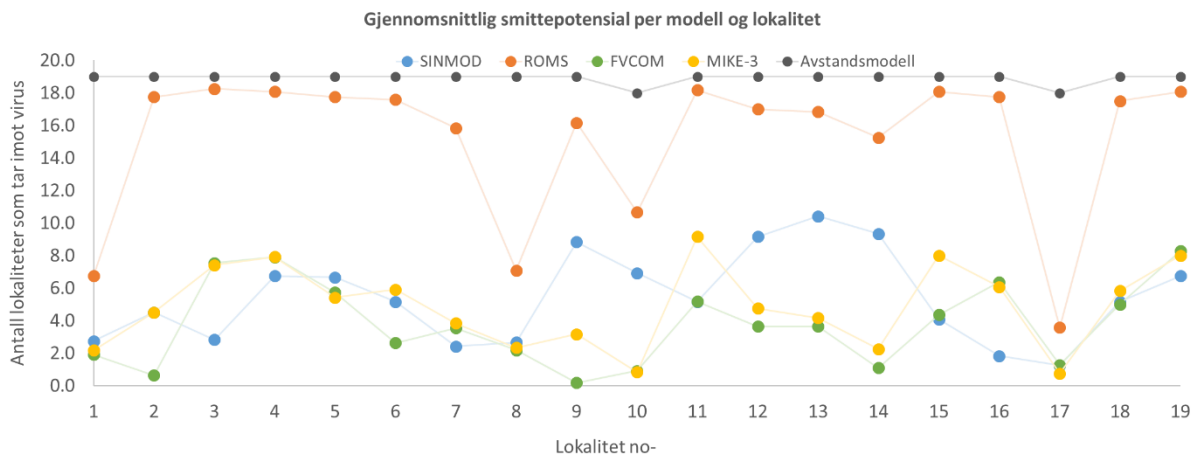
Potensielle smittenettverk i Romsdalsfjordområdet varierer mellom lokaliteter, men også mellom modellene (figur 39). FVCOM og MIKE-3 gir stort sett de samme trendene og gir nesten likt resultat på det fleste lokalitetene, med noe avvik på 5 av 19 lokaliteter. SINMOD avviker fra FVCOM og MIKE-3 i 7 av 19 lokaliteter, og indikerer større potensielle smittenettverk for lokalitetene 9, 10, 12, 13 og 14. ROMS/LADIM viser et betydelig større smittenettverk enn det andre modellene på nesten alle lokalitetene. Det var ingen tydelig forskjell i standardavvik mellom modellene totalt sett, men standardavvik varierte delvis betydelig mellom lokalitetene. Trendene for gjennomsnittlig smittenettverk gjenspeiles i maksimalt potensiell smittenettverk (figur 40), men med økte forskjeller mellom modellene og lokaliteter, med unntak av ROMS/LADIM, som når maksimalt mulig smittenettverk på flere lokaliteter.

Det er noen forskjeller i strøm modellert i det forskjellige modell systemene, som vist i seksjon «Sammenligning for strøm», og resultatene fra ROMS viser størst variabilitet ved målepunktet på Myrane. Det er ikke klart om forskjeller i strømmen alene kan forklare forskjeller i smittenettverk som vist i figur 12, eller om disse forskjellene også kan indikere viktige effekter av forskjeller i spredningsmodellene.

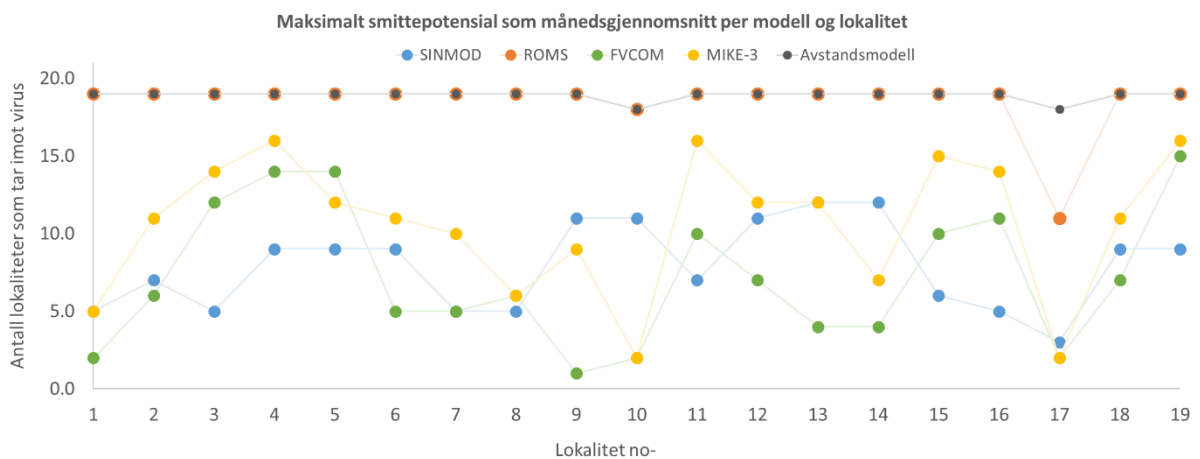
Avstandsmodellen gir tilsvarende maksimalt smittepotensial som ROMS/LADIM på alle lokaliteter unntatt lokalitet 17, der ROMS/LADIM viser et mindre smittenettverk (figur 40). Resultatene er basert på en analyse som ikke tar hensyn til mengde virus som transporteres mellom lokaliteter, kun

avstanden. Tidligere undersøkelser har vist at risiko for smitte øker med minkende avstand (Kristoffersen et al 2009).

Mike 3 tar hensyn til infektiv dose basert på Jarungsriapisit, Moore et al. 2016. Tar man hensyn til infektiv dose for smitteoverføring vil det være riktig å sette deres «cut off dose». Da vil resultatene være forskjellig grunnet at smittenettverk blir mindre. For å tyde resultatene må det også tas hensyn til oppsett av modellene. Deretter må det skaleres og vektet forskjellig for de forskjellige modellene. Det er likevel viktig å påpeke at smittenettverk mellom lokalitetene varierer delvis mellom modellene.



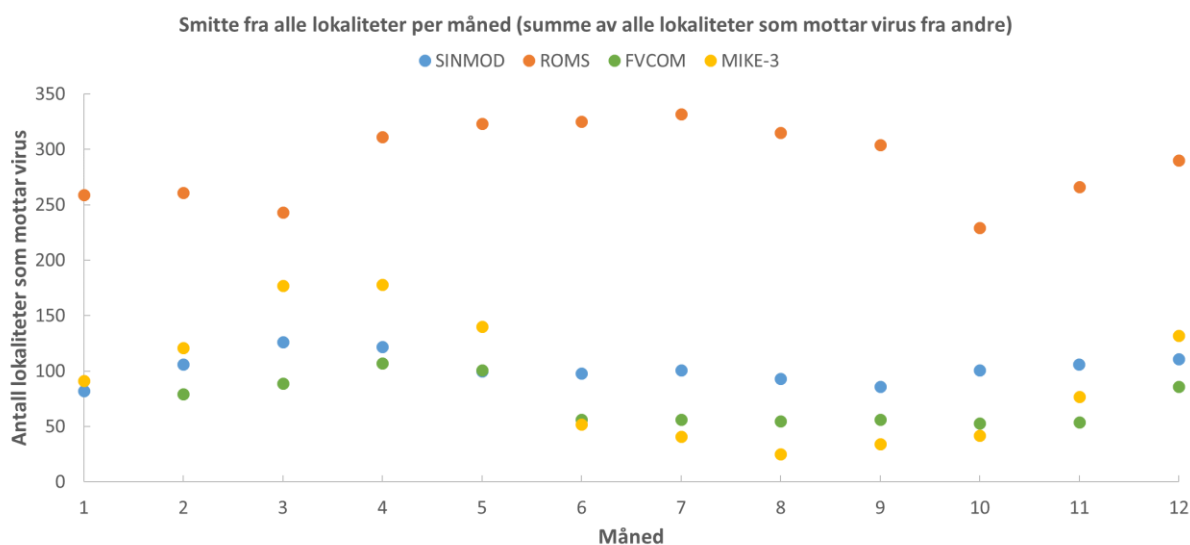
Figur 39. Gjennomsnittlige smittenettverk for alle lokalitetene i case område 1. Gjennomsnittet er årgjennomsnitt basert på tabeller lignende tabell 13. For lokalitetsnummer se tabell 13.



Figur 40. Maksimale smittenettverk for alle lokalitetene i case område 1. Verdiene baseres på tabeller lignende tabell 13. For lokalitetsnummer se tabell 13.

Årtidssvariasjonen i smittenettverk (figur 41) indikerer systematiske endringer ut over året, med større smittenettverk vinter og vår og noe mindre smittenettverk sommer og høst. Det er to mulige forklaringer for denne trenden. For det første er smittenettverket størst når sjøvann i relevante dybder er kaldest på grunn av at overlevelsestid til virus er størst ved lave sjøtemperatur. Dermed vil kaldere vann kunne bidra til større smittenettverk, siden virus vil kunne transporteres over lengre avstander innenfor forventet levetid under ellers samme forhold. For det andre kan værforholdene med stormer i seint høst, vinter og vår føre til rask vanntransport, og forflytte virus fort i perioder med sterk vind.

På en annen side kommer PD registreringene om sommeren, noe som indikerer utskillelse av store mengder virus. Siden risikoen for smittespredning og PD øker med smittepress skulle en forvente samme situasjon om sommeren. Forsterket ferskvannsavrenning kan eventuelt føre til relativt raskt vannbevegelse ut av fjordene. ROMS/LADIM avviker fra trenden i de andre modellene, men flere analyser av data fra modellene vil være nødvendig for å undersøke om forskjellene er begrunnet i forskjeller mellom de hydrodynamiske eller spredningsmodellene, eller en kombinasjon av disse. Det er betydelige forskjeller mellom maksimalt smittenettverk basert på Avstandsmodellen i forhold til SINMOD, FVCOM og MIKE-3, mens maksimalt smittenettverk for ROMS/LADIM samsvarer med avstandsmodellen for 18 av 19 lokaliteter.

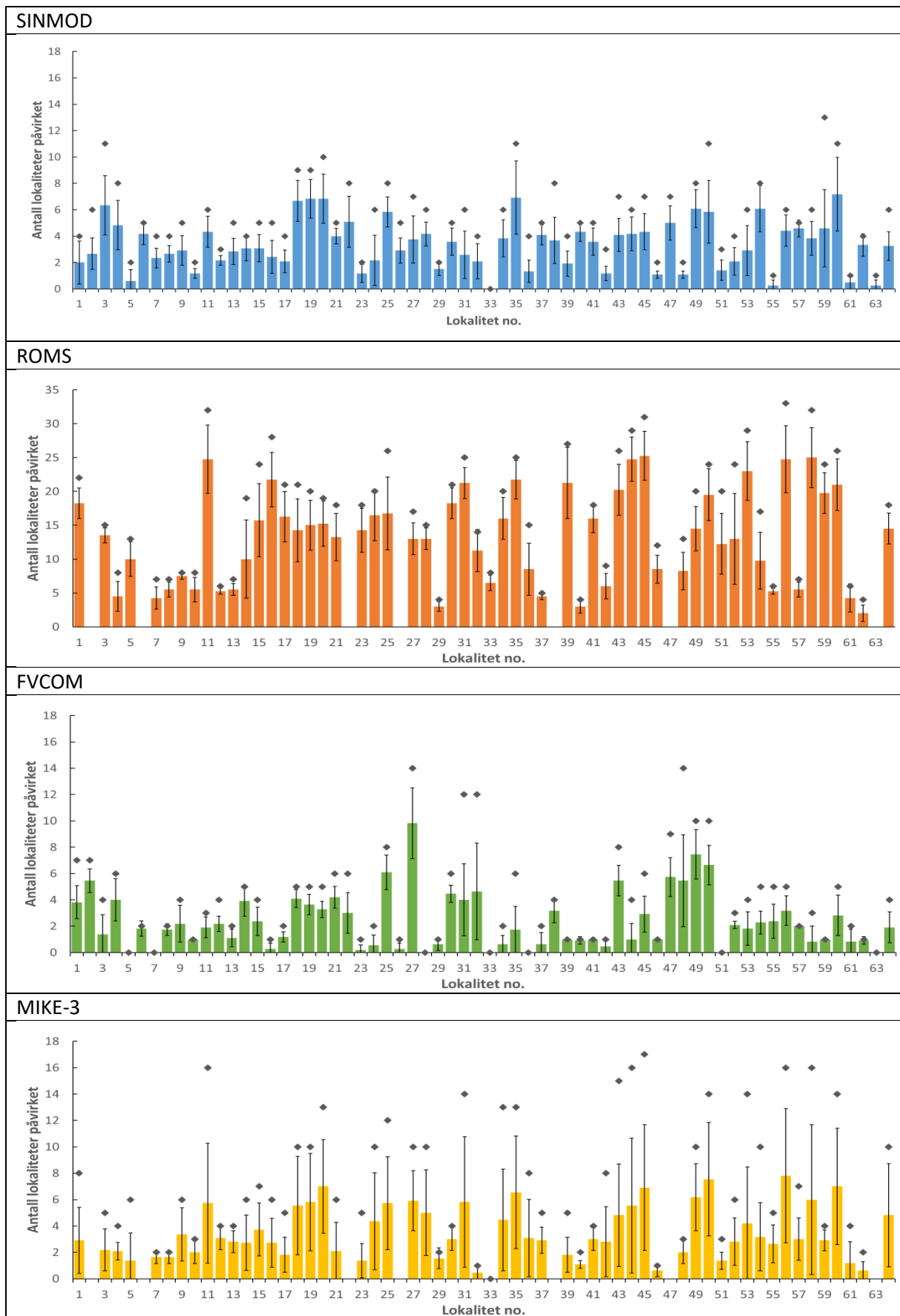


Figur 41. Total smittenettverk i hele case område 1 per kalender måned. Verdiene baseres på tabeller lignende tabell 6.

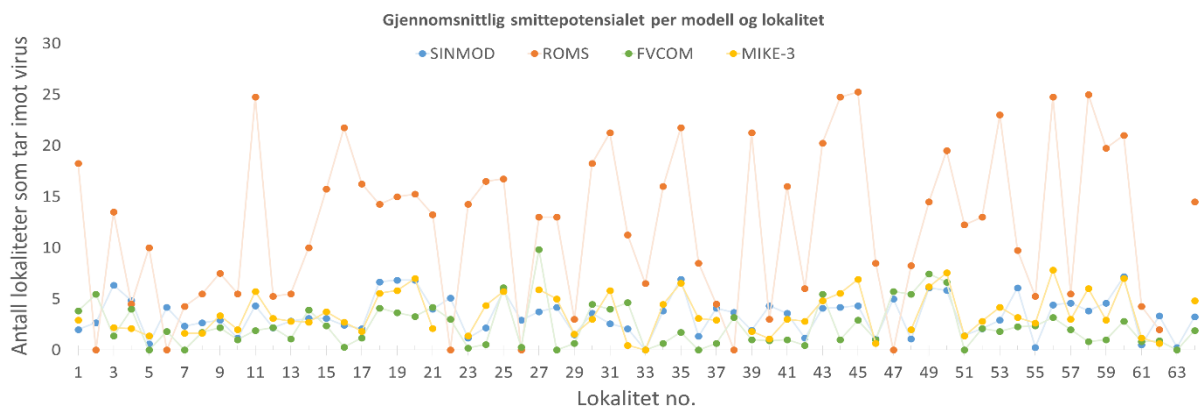
Caseområde 2: Nord-Trøndelag og Helgeland

Det er mange lokaliteter i case område 2 i Nord-Trøndelag og Helgeland, og sammenligning mellom modellene er basert på trender for å beskrive viktige likheter og forskjeller. Relative forskjeller mellom lokaliteter med lite og stort smittenettverk er rimelig likt mellom modellene. Gjennomsnittlig smittenettverk på alle lokalitetene varierer imidlertid mellom modellene. Som for case område 1 indikerer ROMS/LADIM større gjennomsnittlige smittenettverk, med i snitt på 13 lokaliteter pr anlegg. Modell systemet tok hensyn kun til fire måneder fra Juni til og med September. I case område 1 var smittenettverket i denne delen av året størst, og det er mulig at årgjennomsnittet for smittenettverket for case område 2 basert på ROMS/LADIM, hadde vært noe mindre. Det er lite variasjon mellom de andre modellene (snitt på 2,3 og 4 lokaliteter over alle lokalitetene for FVCOM, SINMOD og MIKE-3) (figurene 42 og 43). Maksimale smittenettverk i løpet av en måned i 2014 følger det samme trendene i alle modellene.

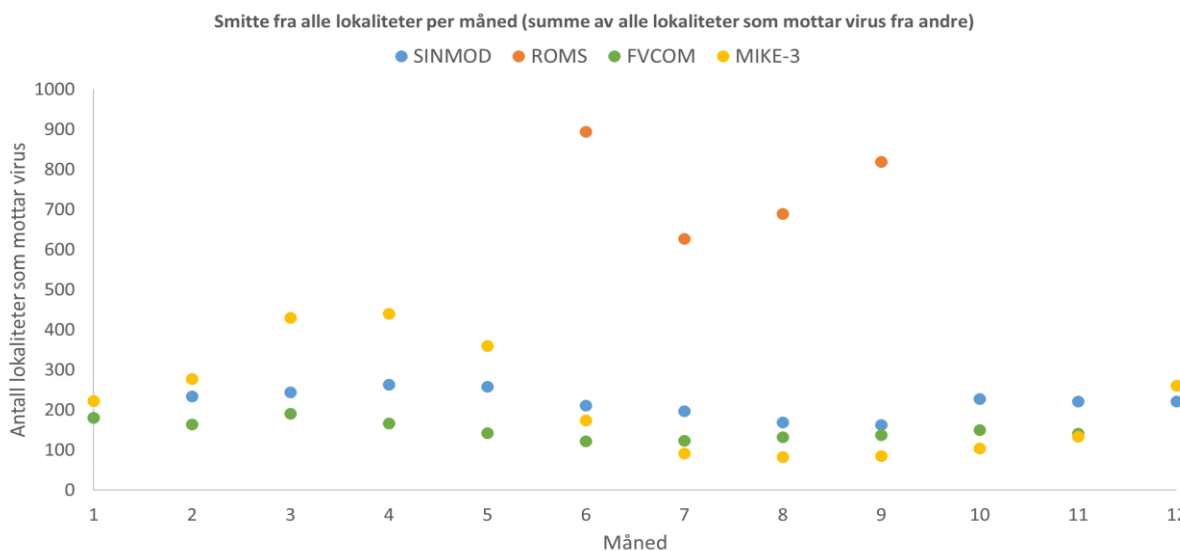
I likhet med det case område 1 indikerer FVCOM generelt de minste smittenettverk. MIKE-3 viser høyere standardavvik, altså større variasjon ut over året per lokalitet enn SINMOD og FVCOM (figur 42), noe som også reflekteres i samme trenden i årsvariasjonen til total (oppsummert) smittenettverk (figur 44). Som diskutert for case område 1, indikerer modellene systematiske endringer ut over året, med større smittenettverk i vinter og vår og noe mindre smittenettverk i sommer og høst. Mulige forklaringer er også i dette området årsvariasjonen i sjøtemperaturen og miljøforhold.



Figur 42. Gjennomsnittlig smittenettverk (årgjennomsnitt) for alle lokalitetene i case område 2 med standardavvik og maksimal smittenettverk (punktene). For lokalitetsnummer se tabell 7.



Figur 43. Gjennomsnittlig smittenettverk for alle lokalitetene i case område 2. Gjennomsnittet er årgjennomsnitt basert på tabeller lignende tabell 6. For lokalitetsnummer se tabell 7.

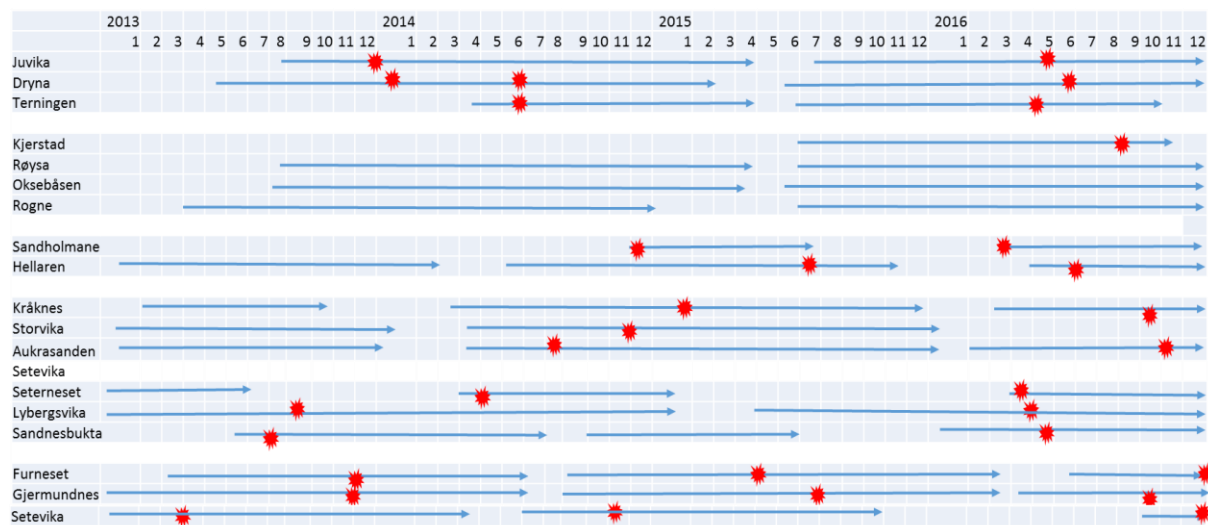


Figur 44. Total smittenettverk i hele case område 2 per kalender måned. Verdiene baseres på tabeller lignende tabell 6.

Sammenlikning reelle sykdomsdata

Figur 45 viser en oversikt over utsett og slakt av fisk på lokalitetene i case område 1 og påvisning av PD i samme området fra 2013 til 2016. I de fleste tilfeller kan rekkefølgen på PD-påvisningene forklares med overføring av smitte via vanntransport i sjøen. For eksempel følger påvisning på Juvika og Dryna tett etter påvisning på Furneset og Gjermundnes. Så følger påvisning på Seterneset som i liten grad er i vannkontakt med andre, men som kan ha fått tilført smitta fisk fra annen lokalitet (sannsynligvis Lybergsvika). I følge ROMS er det mulig at virus ble transportert hit fra Setevika, og ROMS og FVCOM indikerer muligheten for smitte fra Furneset og Gjermundnes. Det ble dog indikert kun liten risiko i første delen av året 2014 for smitteoverføring disse veiene, og andre smitteveier skulle ikke utelukkes. Så følger påvisning på Terningen og Aukrasanden om sommeren, og modellene viser risiko for smitte av disse fra infiserte lokaliteter, som Furneset og Gjermundnes. De siste påvisningene i 2014 var så Setevika etter ny utsett av fisk, Storvika og Sandholmane. Modellene indikerer stor risiko for transport til disse lokalitetene fra infiserte lokaliteter, som Aukrasanden Dryna, Terningen, eller mellom

hverandre. Det må anmerkes at andre faktorer kan ha bidratt til smitteoverføring, selv om rekkefølgen på påvisning av PD kan stort sett forklares med strømtransport ifølge strøm- og spredningsmodellene.



Figur 45. Skjema for påvisning av PD på lokalitetene i case område 1 fra 2013 til 2016. Påvisning av PD er markert med røde punkter og pilene markerer fisk på lokaliteten.

Virusspredning

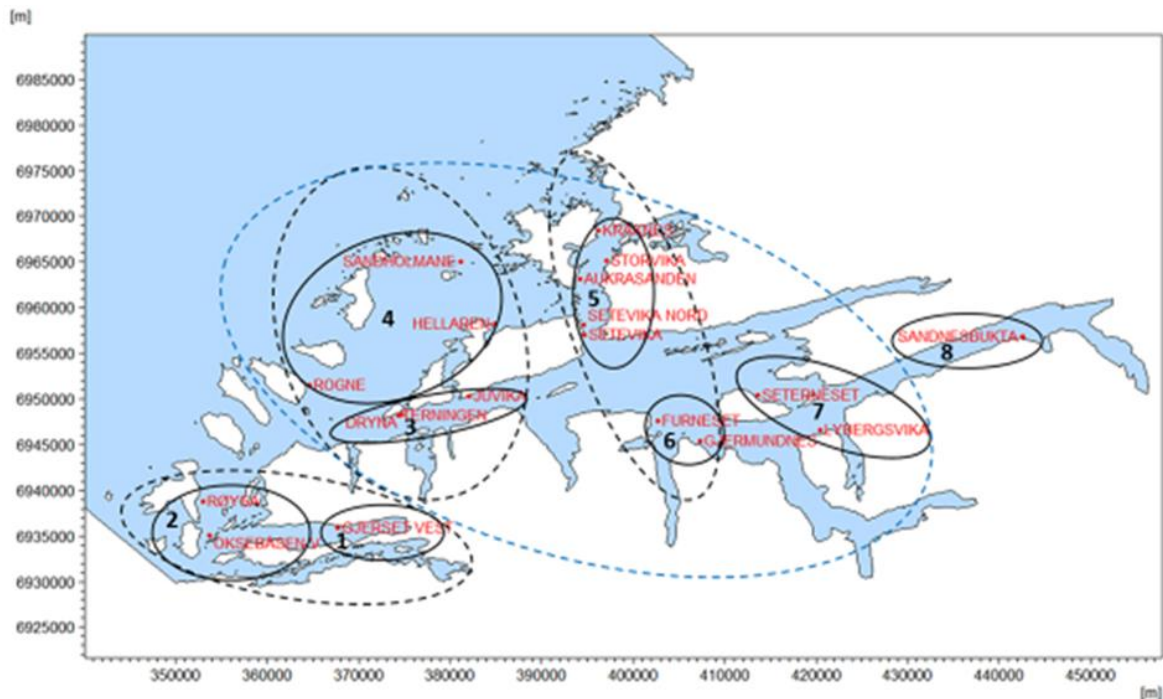
Analyse av virusspredning, smittenettverk, eventuelle nøkkellocaliteter og branngater baseres på årlige smitematrise. Detaljer bak variasjoner i smittenettverk over tid og mellom modeller vil kunne vises og evalueres med data som ble utarbeidet i dette prosjektet. Samtidig er det mulig å ta i bruk flere analysemetoder og mer avanserte statistiske metoder til databehandling, men dette ligger utenfor det aktuelle prosjektet. Mer detaljerte analyser vil tillate i større grad evaluering av driftsstrategier tilpasset produksjonen, miljøet og sykdomssituasjonen i områdene. Da kan en lage handlingsplaner basert på flere scenarier som kan gjennomgås før produksjonen settes i gang.

Partikkeltransport og smittenettverk

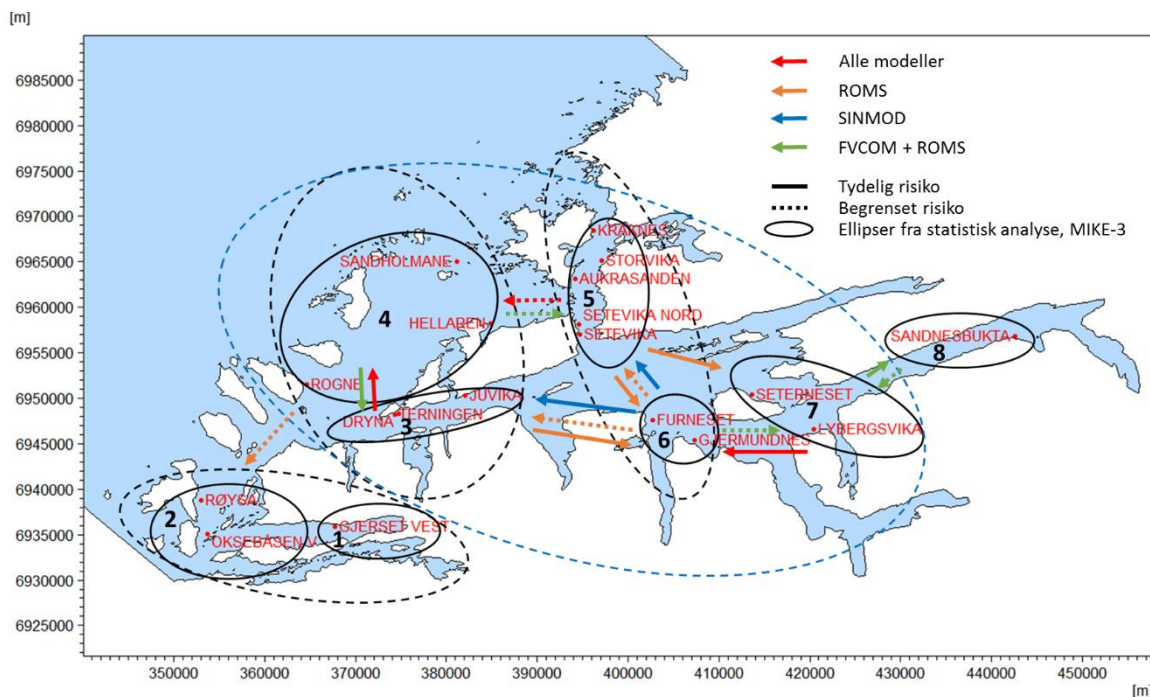
Caseområde 1: Romsdalsfjorden

Basert på statistisk analyse av matrisene over spredningsnettverk som årsgjennomsnitt for 2014, er områder identifisert som bidrar med høy innbyrdes risiko for smitte mellom localiteter. Til sammen ble det identifisert 8 områder med høy risiko for smitteoverføring, som vist i figur 19. I tillegg ble det identifisert tre større områder der det er noe mindre risiko for smitteoverføring også mellom disse områdene. I store deler av Romsdalsfjorden er det ifølge simuleringene mulig med smitteoverføring mellom localiteter (se også blå ellipse i figur 19), men denne risikoen er lavt og skjer sannsynligvis i forbindelse med kortvarige endringer som avviker fra langvarige strømmønster. Strømbildet, og dermed virustransport varierer for eksempel ved strek vindpåvirkning eller stor ferskvannsavrenning som har betydning for vanntransport i det øvre vannlaget.

Matrisene for smittenettverk tillater også en analyse for transportretning av virus. Resultat for en slik analyse for årsgjennomsnittet er vist i figur 46.



Figur 46: Resultater fra modellene for havstrøm og virusspredning kombineres, og risikoen for spredning av virus mellom oppdrettsanlegg og produksjonssoner evalueres. Ellipsene markerer områder med høy risiko for strømtransport av SAV-virus mellom lokaliteter innenfor dette området (basert på statistisk analyse av smittematrisene) Sorte ellipser viser svært høy risiko for smitteoverføring mellom oppdrettsanlegg, sorte stiplete ellipser viser relativ høy risiko, og den blåe stiplete ellipse viser noe risiko.



Figur 47: Resultater fra modellene for havstrøm og virusspredning kombineres, og risikoen for spredning av virus mellom oppdrettsanlegg og produksjonssoner evalueres. Ellipsene markerer områder med høy risiko for strømtransport av SAV-virus mellom lokaliteter innenfor dette området (basert på statistisk analyse av smittematrisene) og piler indikerer transportretning (basert på årsgjennomsnitt av smittematrisene). Sorte ellipser viser svært høy risiko for smitteoverføring mellom oppdrettsanlegg, sorte stiplete ellipser viser relativ høy risiko, og den blåe stiplete ellipse viser noe risiko. Pilene viser hovedretningen til spredning mellom lokale oppdrettsområder.

Generelt stemmer inndelingen med områder med høy risiko for smitte mellom anlegg basert på statistisk analyse godt overens med smittematrisene fra alle modellsystemene. Likevel er det forskjellige transportruter for virus mellom modellene, noe som også er reflektert i forskjeller i størrelsene på totalt smittenettverk i Romsdalsfjorden for enkelte lokaliteter som diskutert i seksjonen «Sammenligning for virusspredning». Alle modellene indikerer risiko for smitteoverføring mellom områdene 3 og 4, 4 og 5 og 6 og 7, mens transport av virus mellom andre områder varierer mellom modellene. For eksempel viser kun ROMS/LADIM strømkontakt mellom områder 4 og 2, og ROMS/LADIM og FVCOM indikerer strømkontakt mellom områdene 7 og 8, der de andre to modellene ikke indikerer risiko for smitteoverføring. I noen modeller er virus transport mellom områder kun i en retning, mens andre modeller indikerer transport i begge retninger.

Når resultatene skal tolkes må det tas hensyn til at analysen baseres på årsgjennomsnittet, og at det vil være betydelig variasjon i smittetransport i tid og rom. For eksempel indikerer kun SINMOD stor risiko for transport av virus fra område 6 og til områdene 3 og 5, der de andre modellene viser kun liten risiko. Grunnen kan være at SINMOD viser en tydelig utgående strømkomponent over større deler av året, enn de andre modellene. Likevel indikerer også ROMS/LADIM og MIKE-3 en viss risiko for transport av virus i samme retning i kortere perioder. Case område 1 er relativt lite, og virus kan transporteres raskt mellom lokaliteter. Likevel er det ikke i alle tilfeller god korrelasjon mellom avstand og smitterisiko mellom to lokaliteter. Strøm i fjorder er ofte kompleks og varierende med årstid, vind og side av fjorden eller for eksempel rundt øyer. For en detaljert sammenligning av resultat for smittetransport mellom modell systemene vil det være aktuell å se mer nøyaktig på tidsvariasjon og ikke minst på flere mindre områder eller punkter i case området. Det vil også være relevant å sammenligne modellresultat for strøm med reelle målinger.

Nøkkellokaliteter

Nøkkellokaliteter ble definert som lokaliteter med potensiale til spredning av patogener til andre områder, soner og mange andre lokaliteter. Det er høy risiko for transport av virus mellom anlegg innenfor områdene vist i figurene 46 og 47, og det er betydelig risiko for virus transport mellom områdene 3-8. Mellom områdene 3-5 kan nesten alle lokalitetene i områdene bidra til smitte av flere lokaliteter, mens det kun ligger to lokaliteter i område 6. Område 7 kan smittes fra område 5, men ingen spredningsmodell indikerte noe smitte i omvendt retning. Det er dermed område 6 som knytter sammen områdene 3 og 5 med området 7 i utgående retning: Fra områdene 7 og 8 kan virus overføres til området 6, som kan spre viruset videre i nettverket.

Risiko for spredningen går via kun to lokaliteter i området 6. Samtidig er det risiko for at lokalitetene i område 6 sprer SAV-virus til et flertall lokaliteter i forskjellige områder i perioder. Det er forskjeller i størrelsen og retning på smittenettverk for område 6 mellom spredningsmodellene. Basert på SINMOD kvalifiserer lokalitetene i område 6 som nøkkellokaliteter. Resultatene fra SINMOD er det knyttet til noe usikkerhet i simuleringen, men SINMOD resultater fra simuleringer i et annet prosjekt for 2008/09 viser lignende strømmønster. Også ROMS viser noe risiko for transport av virus fra området 6 til områdene 3 og 5, men kun i perioder. Området 6 kan være sentralt i smittespredningen i case området, i alle fall i perioder. Det er ikke sikker lokalitetene i området kan kalles for nøkkellokalitet uten å gjennomføre en mer detaljert analyse av variasjonen av strømbildet i tid og rom.

Branngater

Det er ikke blitt indikert tydelige branngater i case område 1, men tre av fire modeller viste ingen overføring av SAV virus til områdene 1 og 2 fra noen andre områder (men det ble indikert risiko for

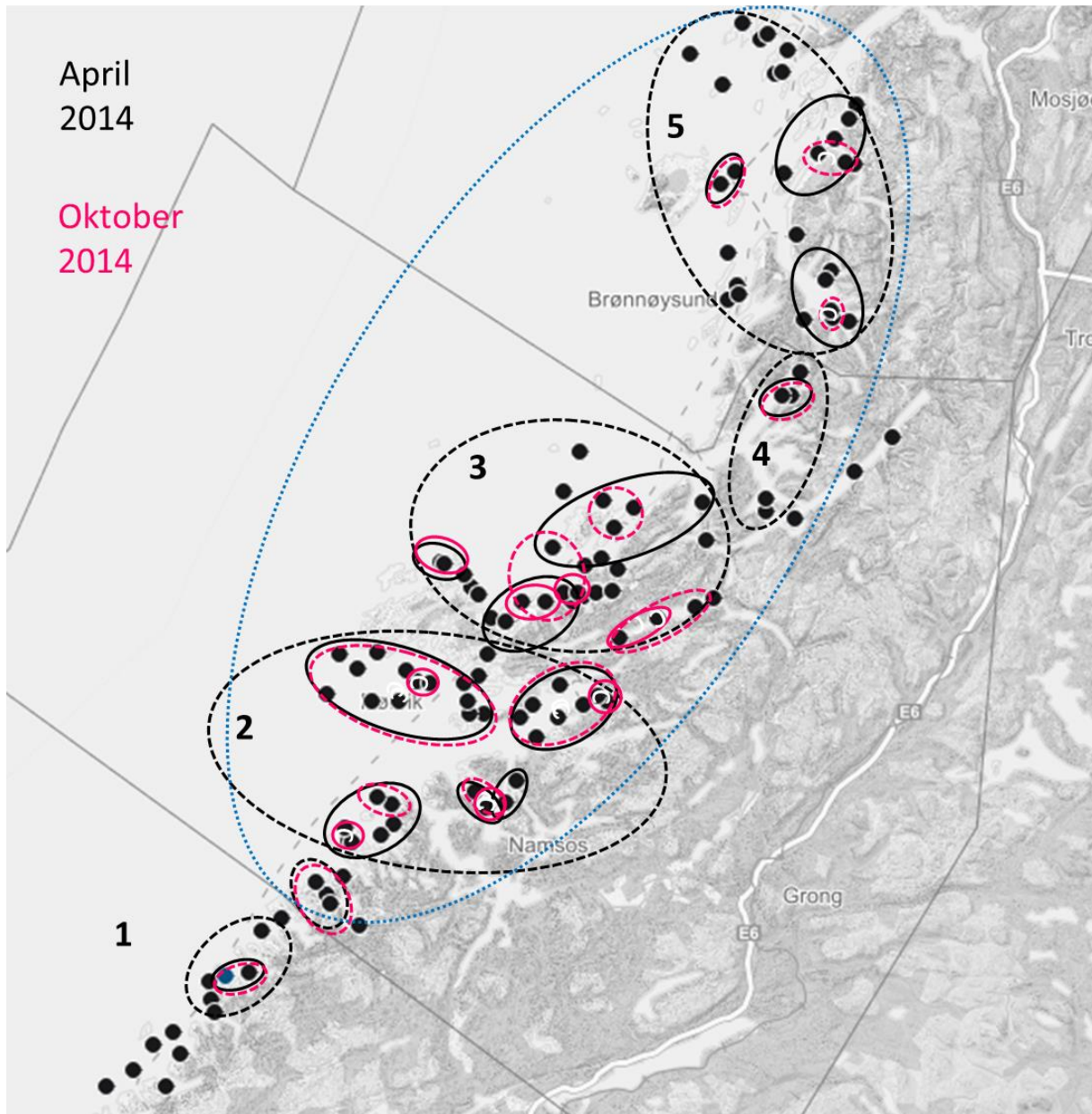
overføring mellom områdene 1 og 2). Kun avstandsmodellen indikerer risiko for vanntransport av SAV viruset til områdene 1 og 2 fra de andre områdene, og ROMS/LADIM viser noe risiko for virus transport fra områdene 3 og fire til område 2. Mellom sonene 2 og 4 ligger et lokalitet som ikke ble tatt hensyn til i modelleringen, siden den ikke var i bruk i 2014. Det er mulig at denne lokaliteten ville hatt betydning for overføring av virus mellom områdene.

Caseområde 2: Nord-Trøndelag og Helgeland

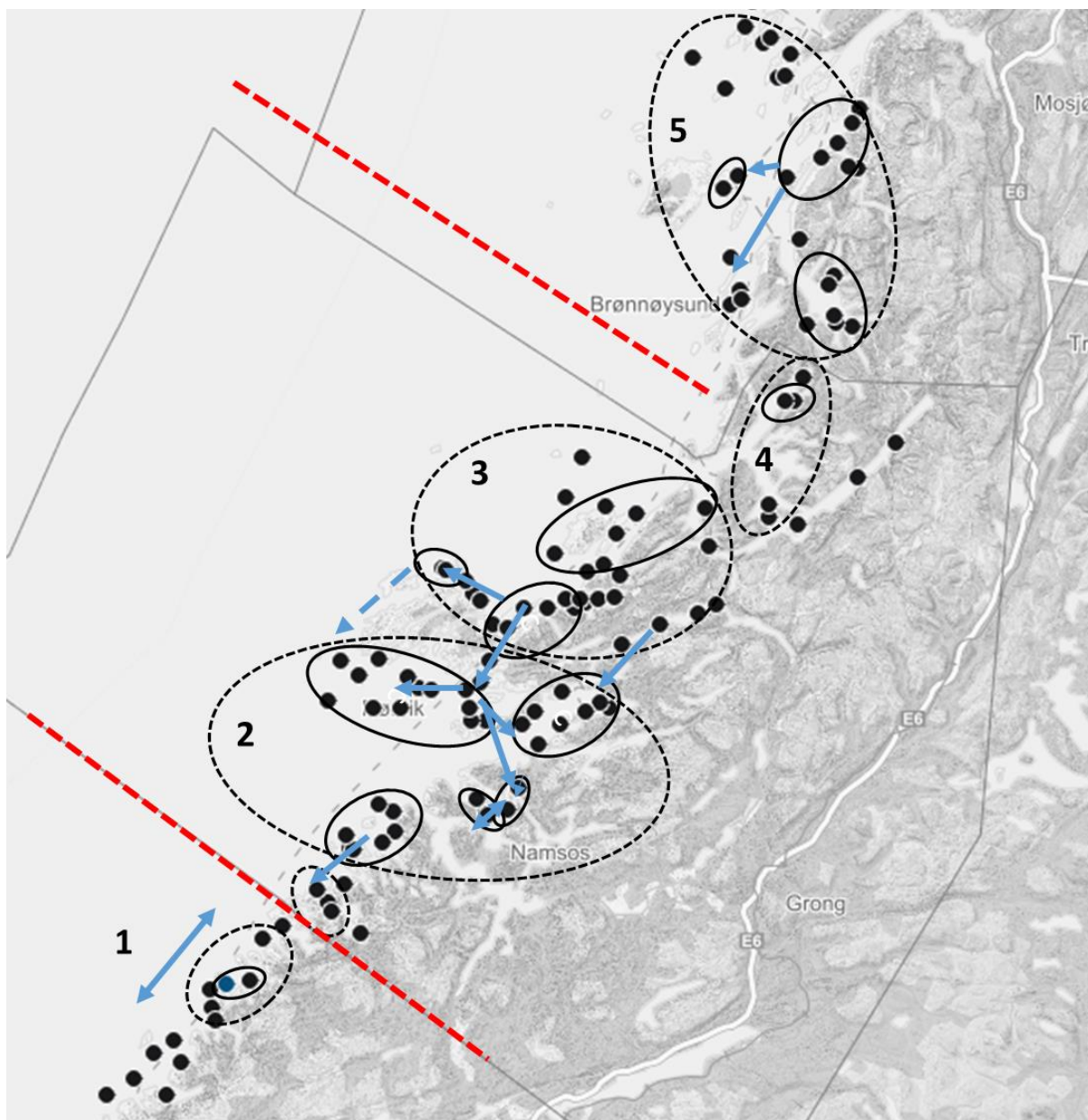
Case område 2 er betydelig større enn case område 1, og inneholder 64 oppdrettslokaliteter. Hydrodynamikken i case områdene varierte over tid, noe som førte til variasjoner av smittenettverk gjennom 2014 (figur 48), som også vist i figurene 15-17. Statistisk analyse av smittematriser fra DHI ble brukt for å illustrere variasjoner i smittenettverk. Figur 48 viser områder med høy risiko og områder med mindre, men fortsatt risiko for overføring av SAV virus mellom lokaliteter i to forskjellige måneder i 2014. Resultatet indikerer flere områder med risiko for overføring av SAV virus mellom lokaliteter. Disse er grovt sett sør for Buholmråsa (område 1 i figur 48), mellom Buholmråsa og Vikna (område 2), nord for Vikna til sør for Kvaløya (område 3), Tosenfjorden (område 4) og nord for Torghatten (område 5). I noen områder, som område 1, 2 og 4, er utformingen av smittenettverkene likt mellom månedene, men med mye mindre potensiell overføring av virus fra lokalitet til lokalitet i oktober. Områder med høy risiko for smitteoverføring i april 2014 (sorte ellipser) var likt områder med mindre risiko for smitteoverføring i oktober 2014 (stiplede røde ellipser). Til sammenlikning ble smittenettverkene i områdene 3 og 5 mindre, men i område 3 ble også utformingen av smittenettverk endret. I April 2014 kan det være noe risiko for transport av SAV virus mellom områdene 2 – 5, men det indikeres ingen virus transport over Buholmråsa. Dette kan tyde på at dette er en funksjonell smittebarriere.

Analysen for smittematrisene til de andre modellsystemene bekrefter resultatene fra den statistiske analysen. Transportmønstrene viser høy risiko for overføring av SAV virus innenfor de samme områdene som ble identifisert som høy-risiko områder av den statistiske analysen. Kyststrømmen er generelt nordgående, men i flere områder er det likevel høy risiko for virus transport i sørgående retning mellom oppdrettsanlegg (se også figur 49). Dette skyldes komplisert og skiftende strømmønster, spesielt i områder med kompleks topografi og selve utforming til fjordene. Spesielt sør og nord for Vikna er strømbildet komplekst og få anlegg kan potensielt smitte et stort antall andre anlegg. I tillegg viser simuleringene hvordan smitte kan fraktes fra anlegg til anlegg i en kjede rundt Vikna.

SINMOD, ROMS/LADIM og FVCOM indikerer noe risiko for smittetransport fra området 3 til området 4. Mulige transportveier er rundt Vikna, men også gjennom smale sund ved Rørvik og Kolvereid (figur 49).

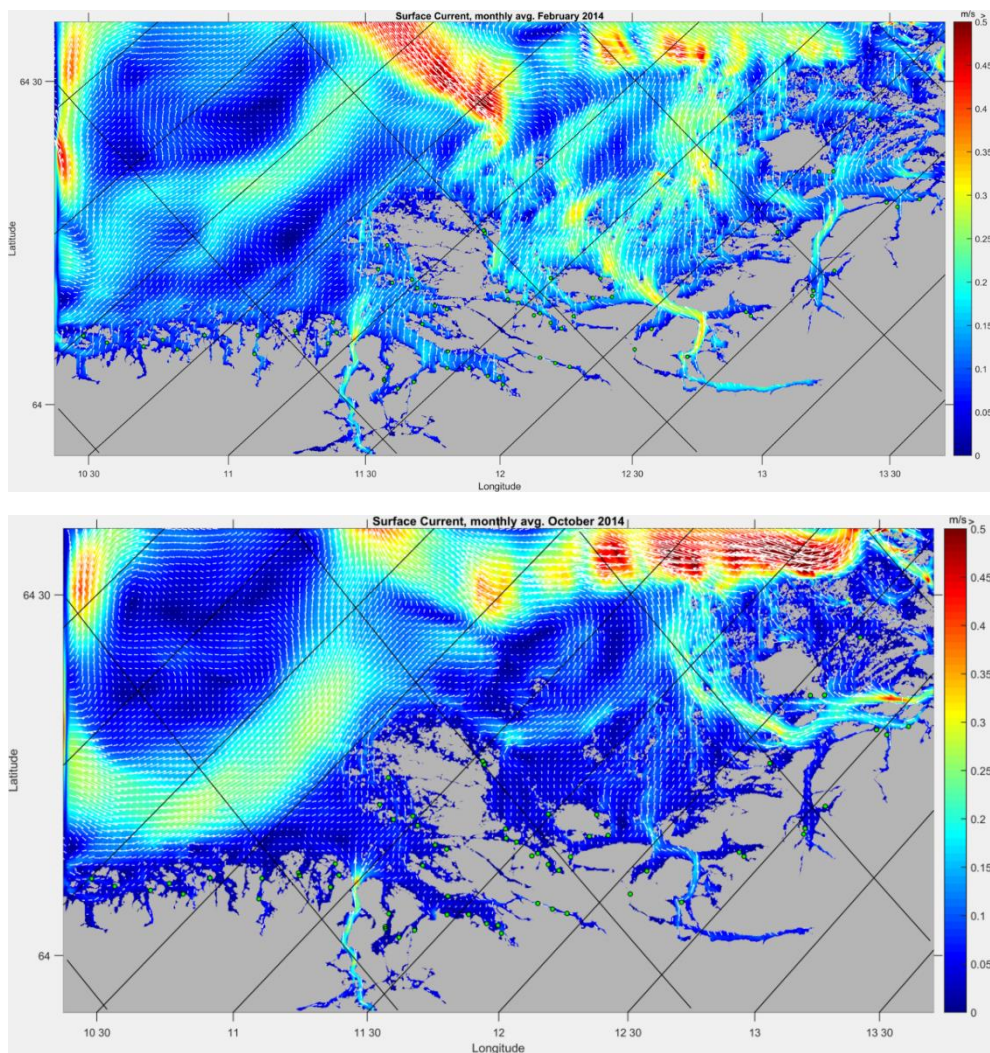


Figur 48: Resultater fra modellene for havstrøm og virusspredning kombineres, og risikoen for spredning av virus mellom oppdrettsanlegg og produksjonssoner evalueres. Ellipsene markerer områder med høy risiko for strømtransport av SAV-virus mellom lokaliteter innenfor dette området (basert på statistisk analyse av smittematrisene). Sorte (april 2014) og røde (oktober 2014) ellipser viser svært høy risiko for smitteoverføring mellom oppdrettsanlegg, stiplede ellipser viser relativt høy risiko i samme månedene, og den blå stiplede ellipse viser noe, men lavt risiko (oktober 2014).



Figur 49: Resultater fra modellene for havstrøm og virusspredning kombineres, og risikoen for spredning av virus mellom oppdrettsanlegg og produksjonssoner evalueres. Ellipsene markerer områder med høy risiko for strømtransport av SAV-virus mellom lokaliteter innenfor dette området (basert på statistisk analyse av smittematrisene). Sorte (april 2014) og røde (oktober 2014) ellipser viser svært høy risiko for smitteoverføring mellom oppdrettsanlegg, stiplete ellipser viser relativ høy risiko i samme månedene, og den blå stiplete ellipse viser noe, men lavt risiko (oktober 2014). Pilene viser transportruter for virus mellom områder med høy smitterisiko, basert på smittematriser for alle modellene. Røde stiplete linjer indikerer mulige branngater.

Strømmen ved Buholmråsa går i gjennomsnittlig mot vest og utfra land. Denne strømmen kan komme i kontakt med Vikna (figur 50), men virus med opphav sør for Buholmråsa ser ikke ut til å nå lokalitetene nord for Buholmråsa. En årsak kan være at transporttiden er for lang for at virus overlever. Dette selv om direkte avstand er kun 40-50 km. Med denne avstanden, som vannet kan bevege seg over i løpet av dager, vil det være relevant å avklare eventuell fare for overføring av smitte ved episoder med rask vannbevegelse.



Figur 50. Eksempler for strømbilde (månedsgjennomsnitt) for februar (øverst) og oktober (nederst) 2014 i case område 2.

Nøkkellokaliteter

Det har ikke vært identifisert tydelige nøkkellokaliteter i dette område. En mer detaljert analyse for smitteoverføring fra område 3 til område 2 anbefales gjennomført for å avklare om det er enkelte lokaliteter som fører til smitterisiko fra flere lokaliteter i område 3 til lokaliteter i område 2. Samtidig skulle det avklares om det er flere eller enkelte lokaliteter i område 2 som virus vil kunne nå med opphav i lokaliteter i område 3 innenfor viruset's foevnetet levetid. Dersom risiko for smitteoverføring mellom områdene kan minkes betydelig ved å ikke bruke enkelte lokaliteter vil disse kvalifiseres som nøkkellokaliteter.

Branngater

Det er ikke indikert risiko for smitte over Buholmråsa og forbi Torghatten og Kvaløya av noen av modellene. Disse områdene kan også ansees som mulige branngater, som indikert med røde stiplede linjer i figur 49 på Buholmråsa og nord for Kvaløya. Disse branngatene samsvarer med eksisterende soneinndeling, der grensene mellom sonene 6 (Nordmøre og Sør-Trøndelag), 7 (Nord-Trøndelag og Bindal) og 8 (Helgeland til Bodø).

Bruksområder og begrensninger til modellene i forbindelse med smitteforebygging

Alle de fire hydrodynamiske modellene har vist at de kan simulere strøm med en rimelig grad av troverdighet for norskekysten. Til nå har modellene blitt sammenlignet med observasjoner for strøm i ett punkt, og det er et beskjedent datagrunnlag. Forskjellene i strøm vil integreres i partikkeltransporten slik at smittenettverkene får dette inkludert. I tillegg er det litt forskjellige rutiner for å beregne partiklens levetid, slik at dette øker forskjellene i smittenettverk. DHI's modell brukte konsentrasjoner i stedet for partikler, og fikk likevel samsvarende resultat med FVCOM og til dels SINMOD. Dette indikerer at det ikke nødvendigvis har stor betydning hvilken tilnærming som velges for smittespredning, så lenge strøm er realistisk reproduisert.

Modellene kan brukes til å simulere strøm og dermed gi indikasjoner på smittespredning. Det siste fordi modellene vil gi noe forskjellige resultat for smittespredningen. Det er knyttet mer usikkerhet til implementeringen av smittespredning i modellene enn til strømmen. Dette bør testes ut i modeller. På det nåværende tidspunkt er det ikke mulig å avgjøre hvilken av modellene som gir det mest realistiske smittenettverket.

God informasjon om smittenettverk kan forbedre strukturen av lokaliteter, generasjonssoner og produksjonsområder, for å redusere risiko for smitteoverføring. I denne forbindelsen er identifisering av nøkkellokaliteter sentralt fordi de som kan være knutepunkt mellom soner. Det at det er brukt fire modeller er en styrke, for å få frem usikkerhet knyttet til smittenettverk og soner. Der hvor modellene er samstemte er man på tryggere grunn enn der hvor modellene spriker. Dette er også årsaken til at det brukes flere modeller samtidig i værvarsling, og flere simuleringer med hver modell med litt forskjellige startbetingelser.

Modeller kan ikke gi helt sikre svar. Det er ikke slik at man kan finne en perfekt modell som gjør alt rett, og det er heller ikke slik at man kan simulere et område en gang og "være ferdig med det". Som været, skifter også strømmen hele tiden. Og neste år vil være forskjellig fra dette. Modellene må derfor utvikles basert på «hindcast»-simulering, ikke av ett enkelt år, heller i et 5-10 års perspektiv. Kalibrering og validering av lengre modellperioder sikrer at modellen er i stand til å beskrive mange forskjellige forhold og eventuelle ekstremisituasjoner. Løsningen på sikt vil være å ha kontinuerlig oppdaterte modeller med prognoser for noen dager fremover. Disse bør helst være basert på flere modeller for å synliggjøre usikkerhet. Det er også sentralt at disse «forecast» modellene er basert på et solid validert «hindcast» grunnlag. Assimilering av sanntids overvåkingsdata i «forecast» modeller vil sikre at modellene kontinuerlig valideres og optimeres. Prognoser utover noen dager vil være mulig, men usikkerheten vil ofte øke ved lengere prognoser. Dette avhenger igjen av usikkerheten på drivdata (meterologi, elv avstrømming etc.). Med assimilering av sanntids overvåkingsdata og kontinuerlig validering, er det mulig å kvantifisere forecastens usikkerhet og dermed dens anvendelighet i forbindelse med smittebekjempelse.

B. Økonomimodellering (Delrapport)

Via lønnsomhetsanalyser kan man prise sykdomsforebyggende tiltak og rangere dem i forhold til tap og gevinst. Identifisering av løsninger som i utgangspunktet kan virke krevende, men som likevel kan lønne seg på sikt, kan motivere til økt samarbeid og innsats for smittebegrensning. Patogen og Veterinærinstituttet har jobbet med en modell for å identifisere kostnader ved SAV2/PD. Modellen vil slutføres i egen delrapport innen 1. august

Identifisering av kunnskapshull som grunnlag for videre forskning

AP 1.

- Vevsanalyser med PCR indikerer at laksefisk smitta med SAV skiller ut mest virus i forkant av utbruddet (Kilde: PatoGen). Laksefisk som er smitta burde derfor fjernes før PD blir påvist, ikke når den får PD, hvis målet er å hindre videre spredning. For å forstå bedre shedding fra smitta laks og ørret på ulike stadier i sykdomsforløpet, bør dette undersøkes i kontrollerte smitteforsøk. Effekten av vaksinerer på shedding bør også inkluderes.
- Det er viktig å identifisere forhold i miljøet som utløser sykdom i laks med latent infeksjon. Økt kunnskap om dette kan gjøre det lettere å planlegge utsett og utslakting i forhold til eksisterende og forventet sykdomssituasjon i området og risikoen for å smitte annen oppdrettsfisk i nærheten.
- Det mest optimale vevet for sykdomspåvisning ved PCR screening trenger ikke være likt for to subtyper av samme virus. For SAV 2 som ikke gir tydelige sykdomstegn, kan analyse av hjertevev seint i sykdomsforløpet gi negativ PCR. Smitta populasjoner ikke blir dermed ikke oppdaget. Dette øker problemet med å kontrollere/bekjempe PD. Det er derfor viktig med nye tropismestudier når nye sub-typer av eksisterende patogen dukker opp.

AP 2.

- Analyser av fecseskortisol (FCM) gir et enkelt, raskt og reproducerbart mål på velferd i laksefisk. Det er imidlertid vanskelig med fecsesprøver under sulting eller manglende appetitt. Metoden må derfor utvikles for andre deler av fisken som ikke er avhenger av føropptak, f eks mucus og skjell og verifiseres i forhold til fecses- og blodkortisol. HPLC_MS_MS bør også verifiseres som alternativ analysemetode i forhold til ELISA.
- Et slikt verktøy kan benyttes til forbedring av driftsoperasjoner for bedre fiskevelferd og driftsresultat og som styringsverktøy for de som utvikler ny teknologi for næringa (eksempel: pumping, avlusning og notspyling).
- Tilslutt kan denne metodikken benyttes til å analyserer hvor lang tid fisken bruker for å nå basisnivået for kortisol etter en eller gjentatte stresspåvirkning i forhold til å evaluerer mer kronisk stress.

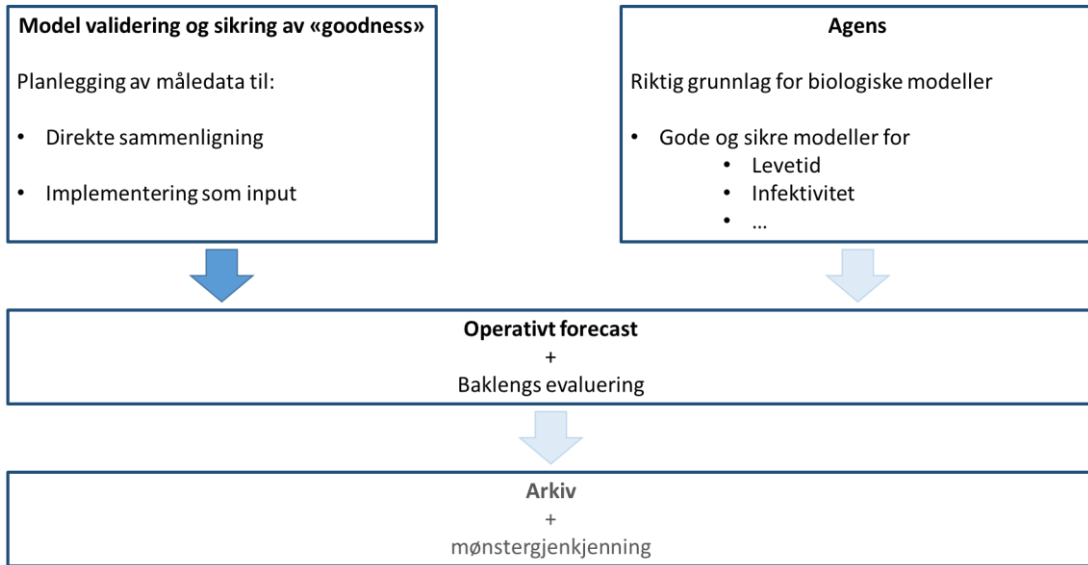
AP3.

- Undersøkelsen viser at kommunal arealavsetning til oppdrettsnæringa langs kysten ikke utredes etter én mal, men varierer i forhold til naturgitte forutsetninger, næringstradisjon og hvem som styrer planarbeidet. I fremtiden bør det utvikles et mer enhetlig system for planlegging. Det vil dessuten være nødvendig å se planarbeidet i sammenheng med produksjonsområder som er av større utstrekning enn de interkommunale planarbeidene i dag.
- Et av de nye produksjonsområdenes langs norskekysten strekker seg fra Stadt til Hustadvika. Det er usikkert hvordan introduksjon av SAV2 inn i området sørfra har skjedd. Eksisterende databaser på slaktefisk (Mattilsynet), brønnbåttransport og annen relevant skipstrafikk (AIS) bør analyseres videre for å se om det kan bidra til bedre forståelse av introduksjon av virus i nye områder.

- Noen lokaliteter og generasjonssoner er i større grad enn andre sentrale i forbindelse med smittespredning grunnet vannkontakt i løpet av året. Vi fant gode indikasjoner på nøkkellokaliteter som er sentrale i smittespredning til andre generasjonssoner, mange lokaliteter og eventuelt tilgrensende produksjonsområder. Det er viktig å identifisere slike nøkkellokaliteter i forhold til planlegging og effektiv smittebekjempelse.
- For å ha større fleksibilitet i driftsplanene i forhold til sykdomssituasjonen i området, bør det være bedre mulighet til å holde smolten på land til smitta fisk er slaktet ut, eller utvandrende villsmolt er ute av fjorden. Alternativt bør muligheten for lukkede karantenestasjoner utredes for bedre sykdomskontroll og større fleksibilitet. Det bør også være tilgang på stor smolt, for å kutte ned produksjonstiden i sjø.
- Næring, forskning og forvaltning må samarbeide tett for å finne nye fleksible løsninger på soneinndelinger, brakkleggingsregimer og lokalitetsbruk i framtiden hvis virussykdommer og lakselus skal kontrolleres. For å finne optimale brakkleggingsregimer og optimal størrelse på brakkleggingsområder må nettbaserte verktøy for sanntids vanntransport med prognoser og scenarier komme på plass i forbindelse med smittebegrensende driftsplanlegging.

AP4.

- Det var overenstemmelse mellom strømmodellene i gjennomsnittlig strømbilde, men det er forskjeller i detaljer, og det er usikker hvor sterkt betydning disse kan ha for smittetransport. Det er nødvendig å implementere reelle miljømålinger, for å kunne validere strømmodellene og identifisere eventuelle årsaker til målinger ikke samsvarer med modellresultatet. Måledataene vil også brukes som input i modellene for å forbedre presisjonen.
- Det var store forskjeller i beregninger av smittenettverk mellom modellene. Det er sannsynlig at forskjeller i de biologiske modellene for viruset bidro til dette. Det er nødvendig å validere og forbedre og utvikle biologiske modeller for alle aktuelle agens. Kunnskap om shedding, smittepress og sykdomsdynamikk fra SAV infiserte populasjoner er også mangelfull og bør i større grad implementeres. Slike data er viktig for å beregne riktig smittenettverk. Modellene må gjøres kompatible i forhold til ulike laks spesifiske virus, bakterier og parasitter.
- Gode og sikre/validerte biologiske modeller må utvikles og implementeres i forecast modell systemet for å også kunne operasjonalisere forecast på risiko for smittespredning. Det kan da bygges opp arkiver som tillater bruk av informasjon bak i tid til statistiske analyser og til vurdering av nåværende situasjon på strøm, miljøtilstand og sykdom i området. På denne måten for evalueres smitterisiko og eventuelle driftsbeslutninger (hadde vi miljøtilstand lignende nå-situasjonen før)? Da kan vi lære av historien for videre utvikling via simuleringer/forecast).
- En naturlig steg videre er å utvikle operasjonelle modeller som gir sanntids/on-line strøm- og spredningsvarsel likt værvarslingstjenester som finnes i dag. Dette krever testing av et stort antall scenarier. Det må kjøres sensitivitetsanalyser under implementering av biologiske modeller eller for å se hvordan utsett av fisk og eventuell sykdom vil påvirke risiko for smittespredning ved visse metrologiske forhold



Leveranser

Oversikt

AP	Leder	Foredrag	Invitert	Vit. publ	Pop. publ	Presse	Kand. Oppg. NTNU
1	VI	0	0	1; NTNU	0	0	1
2	NTNU	1n + 1i	0	3; NTNU	2	8	2
3	NTNU	8n + 1i	8	0	2	3	1
4	NTNU	1n + 2 i	1	2 Manus	2	1	1

AP= Arbeidspakke, n = nasjonal, i = internasjonal

Presentasjon på konferanser /samlinger

PROSJEKTET:

- FHFs fiskesamling 27.-28. oktober 2014, Værnes: «FHF prosjekt 901005: Strategier for å begrense spredning av PD i sjø!»

AP2:

- Havbruk 2016, 18. – 20- april, Bodø: Tveten m. fl. «Finnes enkle og objektive velferdsindikatorer for laks i merd?»
- Aquaculture Europe 16, 20-23 September, Edinburgh: Cao et al.; «Evaluation of cortisol in feces of farmed salmon—a promising non-invasive method for stress measurement in aquaculture».
- IEEE OCEANS 2017 19-22 June – «Aberdeen: Cao et al.; Natural Infection Induced Immune Response against Salmonid Alphavirus in Farmed Salmon»

AP3:

- Workshop FHL "Fremtidig sonestruktur i Midt-Norge" 11. august 2014, Værnes: «Smittespredning i norsk lakseoppdrett (PD)»
- Frisk fisk konferansen: 3. – 4. mars, Tromsø 2015: «Forvaltning for vekst i sjøbasert oppdrett av laks».
- Workshop med forvaltningen: «Havbruk i Romsdalsfjordsystemet» 13. mai 2015 Molde: «Smittebegrensning og soneinndeling»
- Workshop med næringsaktører: «Havbruk i Romsdalsfjordsystemet» 20. mai 2015 Molde: «Smittebegrensning og soneinndeling»
- Bransjegruppemøte FHL «Havbruk». 12-13 mai 2015, Skjerjehamn: «Kan nye forvaltnings- og driftsstrategier begrense smittespredning?»
- Seminar Miljødirektoratet: «Villaks-oppdrettslaks». 5. mai, 2016 Trondheim, «Smitte mellom oppdrettslaks og villaks?»
- Workshop med Mattilsynet 4. mars 2016: Hvordan begrense spredning av SAV3 mellom lokaliteter i indre Storfjord
- Workshop med Mattilsynet 7. april 2016: Hvordan begrense spredning av SAV2 mellom lokaliteter i ytre Storfjord
- Eco-intensive aquaculture, Ocean week NTNU Trondheim: 9-12. mai 2016: Management and operational strategies for a sustainable aquaculture growth
- Ocean Industry School Conference, Fosnavåg: 28. september 2016: Innovasjon for bærekraftig akvakultur

AP4:

- EAS 2017 Croatia 16. October 2017: Water transport models – decision support tools to control disease spreading? **Gansel et al.**
- EAS 2017 Croatia 16. October 2017: Potential strategies to control Pancreas disease (PD) in salmon aquaculture. **Stene et al.**
- 18th International Conference on Diseases of Fish and Shellfish Belfast, UK 4.-8. September 2017: The importance of current and environmental variability for dispersion of water borne pathogens along the Norwegian coast. **Asplin et al.**

Presseoppslag

Kyst.no:

- Leser fiskevelferd ut av fiskeskiten, 21.04.2016 (AP2)
- Langvarig stress kan gjøre oppdrettslaksen syk 04.07.2016 (AP2)
- PD kan spres i vannoverflaten 26.03.2015 (AP3)

I-laks:

- Fire millioner til forskning på laks 06.10.2014 (Prosjektstart)
- Kyststrømmen sprer virus. 21.10.2014
- Dødfisk – en potensiell smittebombe 21.05.2016 (AP3)
- En enkel og pålitelig metode for å måle stress 04.07.2016 (AP2)

Sunnørsposten:

- Ny metode for stressmåling 08.07.2016 (AP2)
- Høgskolen får 4 mill. til virus-forskning 02.10.2014 (Prosjektstart)

Forskningsmagasinet Gemini:

- Langvarig stress svekker immunforsvaret. Publisert 04.07.16 (AP2)
- Havstrømmene sprer sykdom hos oppdrettslaks. Publisert 31.01.18 (AP4)

Norsk fiskerinæring:

- Nr. 11 2016: «NTNU på Nytt – stress i tarmen» (AP2)

Populærvitenskapelige publikasjoner

Norsk Fiskeoppdrett:

- Nr 2, 2016: «Arealavsetning for vekst oppdrettsnæringa» (AP3) **Stene m. fl.**
- Nr 8, 2017: «Strømmodeller som verktøy for driftsplanlegging og forvaltning» **Stene m.fl.**
- Nr 8, 2017: Produksjonsstrategi basert på kunnskap, verktøy og motivasjon. **Stene m fl.**

Vitenskapelige publikasjoner

- **Cao et al., 2017.** Direct corticoid metabolites measurements for stress evaluation in farmed salmon in field. (AP2) Fish & Shellfish Immunology Volume 66, July 2017, Pages 317–324
- **Cao et al., 2017.** Natural Infection Induced Immune Response against Salmonid Alphavirus in Farmed Salmon. Oceans17; IEEE conference proceedings 2017 ISBN 978-1-5090-5278-3.
- **Cao, Y. & Stene, A. 2018.** In field salmon antibody response against SAV. Under review; Blue Ocean 2018. (accepted with changes)
- **Stene, A., Ingebrigtsen, D., Devold, M. & Tveten, A.K., 2018** Persistence of SAV2 in gills and red muscle tissue – implications for disease transmission and control. Under review; Blue Ocean 2018. (accepted with changes)
- **MANUS: Gansel, L.C., Asplin, L., Knutsen, Ø. Nøst, O.A., Birkeland, M.J., Eckroth, J. & Stene, A..** Transmission of virus (SAV2) in Norwegian salmonid cage-culture – a case study using four model systems

Konklusjon

Hvordan begrense sykdom hos oppdrettslaks i sjø?

Via valg:

Skal vi bekjempe eller leve med?

Via kunnskap om:

Smittesituasjonen og smittenettverk i området
Hygiene, vanntransport, vaksiner og miljø
Fiskevelferd
Faktorer som innvirker på fiskens velferd og immunforsvar

Via nye produksjonsformer:

Innarbeide en viss fleksibilitet i utsettings- og utslaktingsplaner i forhold til sykdomssituasjonen i området.
Bidra til at løsninger finnes i kritiske perioder
Tilgang til lukka produksjon
Kortere produksjonstid i åpen sjø

Via planlegging:

Etablere områder uten produksjon («branngater»)
Sette ut ny smolt «bak» smitta lokaliteter i forhold til hovedstrømretningen.
Brakklegge store områder samtidig der strømbilde er uforutsigbart.
Slakte smitta fisk i henhold til risiko for å smitte til nyutsatt og usmitta fisk i området.
Fjerne smitta fisk fra lokaliteter med stort spredningspotensial («nøkkellokaliteter»)

Via samarbeid:

Nært samarbeid mellom forvaltning og oppdrettere
Fleksibilitet i bruk av lokaliteter og utstyr innenfor brakkleggingsområder
Felles planlegging av robuste produksjonsområder

Sluttord

Stadig nye patogener forårsaker sykdom hos oppdrettsfisk. Fisken i merdene blir stadig forstyrret og handtert. Nye velferdsmessig betenkelige avlusningsmetoder tas i bruk. Et økende antall i fisk dør i merdene før slakting.

Nye effektive vaksiner mot PD er på trappene. Fjerning av SAV trenger likevel ikke bety at sykdomssituasjonen bedrer seg. Hvis fisken er stresset og har dårlig velferd, kan sannsynligvis andre ellers mindre virulente organismer raskt få innpass og skape nye problemer for næringa.

Det primære er derfor å fokusere på bedre velferd hos oppdrettsfisken i tillegg til en smartere organisering og bruk av sjølokalitetene langs kysten. Nye brakkleggingsregimer kan være veien å gå i forhold å beskytte villaksen samt å redusere eller fjerne laksevirus og lakselus. Hvis slike løsninger også kan bidra til bedre vekst og mindre dødelighet hos laksen i merdene, vil dette i seg selv gi en omfattende produksjonsvekst, uten økning i produksjonsvolum.

Ved å brakklegge større områder i tråd med villaksens og sjøørretens vandringsmønster, vil en kunne komme godt ut når indikatorer for videre vekst skal vurderes i produksjonsområdene.

Referanser

- Aldrin, M., B. Storvik, A. Frigessi, H. Viljugrein, and P.A. Jansen. 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 farms in Norway. *Preventive veterinary medicine*. 93:51-61.
- Albretsen, J., Sperrevik, A.K., Staalstrøm, A., Sandvik, A.D., Vikebø, F., Asplin, L., 2011. Norkyst-800 Report No. 1: User manual and technical descriptions. Fisken og havet 2/2011.
- Amend, D.F. 1976. Prevention and Control of Viral Diseases of Salmonids. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada*. 33:1059-1066.
- Andersen, L., A. Bratland, K. Hodneland, and A. Nylund. 2007. Tissue tropism of salmonid alphaviruses (subtypes SAV1 and SAV3) in experimentally challenged Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Archives of virology*. 152:1871-1883.
- Aunsmo, A., P.S. Valle, M. Sandberg, P.J. Midtlyng, and T. Bruheim. 2010. Stochastic modelling of direct costs of pancreas disease (PD) in Norwegian farmed Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Preventive veterinary medicine*. 93:233-241.
- Bang Jensen, B., A.B. Kristoffersen, C. Myr, and E. Brun. 2012. Cohort study of effect of vaccination on pancreas disease in Norwegian salmon aquaculture. *Diseases of aquatic organisms*. 102(1):23-31.
- Bertotto, D., C. Poltronieri, G. Radaelli, E. Negrato, B.M. Poli, E. Tibaldi, and C. Simontacchi. 2007. Beldring, S., Engeland, K., Roald, L.A., Sælthun, N.R., Voksø, A., 2003. Estimation of parameters in a distributed precipitation-runoff model for Norway. *Hydrol. Earth Syst. Sci.* 7, 304-316.
- Welfare and quality of farmed trout fed high plant protein diets. 3 alternative indicators to evaluate stress in fish. *Ital J Anim Sci*. 6:789-789.
- Boucher, P., R.S. Raynard, G. Houghton, and F.B. Laurencin. 1995. Comparative Experimental Transmission of Pancreas Disease in Atlantic Salmon, Rainbow-Trout and Brown Trout. *Diseases of aquatic organisms*. 22:19-24.
- Brun, E., A.B. Olsen, and L. Rørvik. 2006. Epidemiologiske forhold knyttet til pankreassykdom (PD) hos oppdrettslaks. *Norsk Fiskeoppdrett*. 7:50 -55.
- Cao, Y., A.K. Tveten, and A. Stene. 2017. Establishment of a non-invasive method for stress evaluation in farmed salmon based on direct fecal corticoid metabolites measurement. *Fish & shellfish immunology*.
- Fjortoft, H.B., F. Besnier, A. Stene, F. Nilsen, P.A. Bjorn, A.K. Tveten, B. Finstad, V. Aspehaug, and K.A. Glover. 2017. The Phe362Tyr mutation conveying resistance to organophosphates occurs in high frequencies in salmon lice collected from wild salmon and trout. *Sci Rep-Uk*. 7.
- Graham, D.A., E. Fringuelli, C. Wilson, H.M. Rowley, A. Brown, H. Rodger, M.F. McLoughlin, C. McManus, E. Casey, L.J. McCarthy, and N.M. Ruane. 2010a. Prospective longitudinal studies of salmonid alphavirus infections on two Atlantic salmon farms in Ireland; evidence for viral persistence (vol 33, pg 123, 2010). *Journal of fish diseases*. 33:623-623.
- Graham, D.A., P. Frost, K. McLaughlin, H.M. Rowley, I. Gabestad, A. Gordon, and M.F. McLoughlin. 2011. A comparative study of marine salmonid alphavirus subtypes 1-6 using an experimental cohabitation challenge model. *Journal of fish diseases*. 34:273-286.
- Graham, D.A., H.M. Rowley, and J. McConville. 2010b. Transmission routes and infection dynamics of salmonid alphavirus. *Project Progress Report, Agri-Food and Biosciences, Belfast*:12.
- Graham, D.A., C. Staples, C.J. Wilson, H. Jewhurst, K. Cherry, A. Gordon, and H.M. Rowley. 2007. Biophysical properties of salmonid alphaviruses: influence of temperature and pH on virus survival. *Journal of fish diseases*. 30:533-543.
- Houston, R.D., A. Gheyas, A. Hamilton, D.R. Guy, A.E. Tinch, J.B. Taggart, B.J. McAndrew, C.S. Haley, and S.C. Bishop. 2008. Detection and confirmation of a major QTL affecting resistance to

- infectious pancreatic necrosis (IPN) in Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Dev Biol (Basel)*. 132:199-204.
- Huber, S., R. Palme, W. Zenker, and E. Mostl. 2003. Non-invasive monitoring of the adrenocortical response in red deer. *J Wildlife Manage*. 67:258-266.
- Jarungsriapisit, J., L.J. Moore, S. Maehle, C. Skar, A.C. Einen, I.U. Fiksdal, H.C. Morton, S.O. Stefansson, G.L. Taranger, and S. Patel. 2016a. Relationship between viral dose and outcome of infection in Atlantic salmon, *Salmo salar* L., post-smolts bath-challenged with salmonid alphavirus subtype 3. *Vet Res*. 47:102.
- Jarungsriapisit, J., L.J. Moore, G.L. Taranger, T.O. Nilsen, H.C. Morton, I.U. Fiksdal, S. Stefansson, P.G. Fjellidal, O. Evensen, and S. Patel. 2016b. Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) post-smolts challenged two or nine weeks after seawater-transfer show differences in their susceptibility to salmonid alphavirus subtype 3 (SAV3). *Virology journal*. 13:66.
- Kristoffersen, A.B., H. Viljugrein, R.T. Kongtorp, E. Brun, and P.A. Jansen. 2009. Risk factors for pancreas disease (PD) outbreaks in farmed Atlantic salmon and rainbow trout in Norway during 2003-2007. *Preventive veterinary medicine*. 90:127-136.
- Lupica, S.J., and J.W. Turner. 2009. Validation of enzyme-linked immunosorbent assay for measurement of faecal cortisol in fish. *Aquac Res*. 40:437-441.
- Martins, C.I.M., L. Galhardo, C. Noble, B. Damsgård, M.T. Spedicato, W. Zupa, M. Beauchaud, E. Kulczykowska, J.-C. Massabuau, T. Carter, S.R. Planellas, and T. Kristiansen. 2012. Behavioural indicators of welfare in farmed fish. *Fish Physiol Biochem*. 38:17-41.
- McConnachie, S.H., K.V. Cook, D.A. Patterson, K.M. Gilmour, S.G. Hinch, A.P. Farrell, and S.J. Cooke. 2012. Consequences of acute stress and cortisol manipulation on the physiology, behavior, and reproductive outcome of female Pacific salmon on spawning grounds. *Horm Behav*. 62:67-76.
- McLoughlin, M.F., D.A. Graham, A. Norris, D. Matthews, L. Foyle, H.M. Rowley, H. Jewhurst, J. MacPhee, and D. Todd. 2006. Virological, serological and histopathological evaluation of fish strain susceptibility to experimental infection with salmonid alphavirus. *Diseases of aquatic organisms*. 72:125-133.
- Murray, A.G., R.J. Smith, and R.M. Stagg. 2002. Shipping and the spread of infectious salmon anemia in Scottish aquaculture. *Emerging infectious diseases*. 8:1-5.
- Palme, R. 2005. Measuring fecal steroids - Guidelines for practical application. *Bird Hormones and Bird Migrations: Analyzing Hormones in Droppings and Egg Yolks and Assessing Adaptations in Long-Distance Migration*. 1046:75-80.
- Pettersen, J.M., M.B.M. Bracke, P.J. Midtlyng, O. Folkedal, L.H. Stien, H. Steffenak, and T.S. Kristiansen. 2014. Salmon welfare index model 2.0: an extended model for overall welfare assessment of caged Atlantic salmon, based on a review of selected welfare indicators and intended for fish health professionals. *Rev Aquacult*. 6:162-179.
- Pettersen, J.M., T. Osmundsen, A. Aunsmo, F.O. Mardones, and K.M. Rich. 2015. Controlling emerging infectious diseases in salmon aquaculture. *Rev Sci Tech Oie*. 34:923-938.
- Rodger, H., and S. Mitchell. 2007. Epidemiological observations of pancreas disease of farmed Atlantic salmon, *Salmo salar* L., in Ireland. *Journal of fish diseases*. 30:157-167.
- Shchepetkin, A.F., McWilliams, J.C., 2005. The regional oceanic modeling system (ROMS): a split-explicit, free-surface, topography-following-coordinate oceanic model. *Ocean Modelling*. 9, 347-404.
- Skamarock, W., Klemp, J., Dudhia, J., Gill, D., Barker, D., Duda, M., Huang, X.Y., Wang, W., 2008. A Description of the Advanced Research WRF Version 3. NCAR Technical Note. NCAR/TN-475+STR.
- Stene, A., B. Bang Jensen, Ø. Knutsen, A. Olsen, and H. Viljugrein. 2013. Seasonal increase in sea temperature triggers Pancreas Disease outbreaks in Norwegian salmon farms. *Journal of fish diseases*.

- Stene, A., A. Hellebo, H. Viljugrein, S.E. Solevag, M. Devold, and V. Aspehaug. 2015. Liquid fat, a potential abiotic vector for horizontal transmission of salmonid alphavirus? *Journal of fish diseases*.
- Stene, A., A. Helleboe, V. Aspehaug, and M. Devold. 2010. Titak mot spredning av virussykdommer i norsk oppdrettsnæring. In Report to Moere and Romsdal county admnitrations. Vol. 2/10. A.U. college, editor, Aalesund, Norway. 17 pp.
- Stene, A., B.B. Jensen, O. Knutsen, A. Olsen, and H. Viljugrein. 2014a. Seasonal increase in sea temperature triggers pancreas disease outbreaks in Norwegian salmon farms. *Journal of fish diseases*. 37:739-751.
- Stene, A., H. Viljugrein, H. Yndestad, S. Tavoranpanich, and E. Skjerve. 2014b. Transmission dynamics of pancreas disease (PD) in a Norwegian fjord: aspects of water transport, contact networks and infection pressure among salmon farms. *Journal of fish diseases*. 37:123-134.
- Stien, L.H., M.B.M. Bracke, O. Folkedal, J. Nilsson, F. Oppedal, T. Torgersen, S. Kittilsen, P.J. Midtlyng, M.A. Vindas, O. Overli, and T.S. Kristiansen. 2013. Salmon Welfare Index Model (SWIM 1.0): a semantic model for overall welfare assessment of caged Atlantic salmon: review of the selected welfare indicators and model presentation. *Rev Aquacult*. 5:33-57.
- Taksdal, T., B.B. Jensen, I. Bockerman, M.F. McLoughlin, M.J. Hjortaas, A. Ramstad, and H. Sindre. 2015. Mortality and weight loss of Atlantic salmon, *Salmon salar* L., experimentally infected with salmonid alphavirus subtype 2 and subtype 3 isolates from Norway. *Journal of fish diseases*. 38:1047-1061.
- Torgersen, T., L.H. Stien, B.O. Kvamme, M. Remen, O. Folkedal, and K.T. S. 2009. How does the salmon cope with fluctuating sea cage environments? In *Fisken og Havet*. Norwegian Institute of Marine Reseach, Bergen. 164 - 167.
- Tort, L. 2011. Stress and immune modulation in fish. *Dev Comp Immunol*. 35:1366-1375.
- Viljugrein, H., A. Staalstrøm, J. Molvær, H.A. Urke, and P.A. Jansen. 2009. Integration of hydrodynamics into a statistical model on the spread of pancreas disease (PD) in salmon farming. *Diseases of aquatic organisms*. 88:35-44.

Vedlegg

Tabell A. Oversikt over Lokalitetene i case område 1.

Case område 1: Romsdalsfjorden				
Lokalitet løpenummer	Lokalitet nummer	Lokalitet navn	Lengdegrad	Breddegrad
1	10181	Oksebåsen V	62.5166	6.159
2	31717	Gjerset V	62.5314	6.3922
3	12298	Røysa	62.5484	6.1543
4	12268	Terningen	62.6406	6.5453
5	32197	Dryna	62.6426	6.558
6	12260	Juvika	62.6627	6.6964
7	12281	Rogne	62.6677	6.3559
8	13669	Furneset	62.646	7.1029
9	13852	Gjermundsnes	62.628	7.1858
10	14043	Lybergsvika	62.644	7.4488
11	12884	Sandnesbukta	62.7355	7.8996
12	12844	Seterneset	62.6761	7.3142
13	33017	Setevika	62.7265	6.9403
14	12244	Setevika N	62.7369	6.9376
15	10194	Hellaren	62.736	6.745
16	12988	Aukrasanden	62.7824	6.9241
17	22335	Storvika	62.8037	6.9869
18	12239	Kråknes	62.8291	6.9617
19	31677	Sandholmane	62.7959	6.6687
20	27395	Rindarøy	62.8458	6.777

Tabell B. Oversikt over Lokalitetene i case område 2.

Case område 2: Nord-Trøndelag og Helgeland				
Lokalitet løpenummer	Lokalitet nummer	Lokalitet navn	Lengdegrad	Breddegrad
1	10256	Bondøya	10.7425	64.81715
2	10264	Digermulen	11.728117	64.9774
3	10409	Kjelneset	11.388517	64.643917
4	10421	Storvikbukta	11.912917	64.928933
5	10425	Heggvika	12.071983	65.126583
6	10875	Storurdvika	12.5357	65.7337
7	10876	Istervika	12.560367	65.4468
8	10877	Mortenøy	12.549733	65.457233
9	10880	Forvik	12.475317	65.723233
10	10885	Jektvika II	12.4022	65.312733
11	12574	Edøya	10.9777	64.802667
12	12594	Breidvika	10.397483	64.295367
13	12599	Indre Skjervøy	10.30905	64.2858
14	12624	Feøyvika	10.91895	64.560733
15	12625	Bjørgan	10.908333	64.592683
16	12633	Lyrnesset	10.748133	64.5256
17	12652	Kråkøya	11.041483	65.003833
18	12659	Digerneset	11.727917	64.786567
19	12660	Kipholmen	11.689533	64.793867
20	12662	Ternskjæret II	11.639767	64.777133
21	12678	Vedøya	11.355178	64.606968
22	12695	Selvågen	11.844233	64.908217
23	12705	Skrosen	11.674517	65.122983
24	12712	Slokkholmen Ø	11.484783	65.040933
25	12714	Gjerdinga	11.4623	64.9464
26	12723	Gullholmen	11.724247	65.017158
27	12727	Kvitneset	11.665157	64.968025
28	12730	Båfjorden	11.5733	64.949883
29	13000	Slåttvika	12.546567	65.52425
30	13748	Saltkjelvika	11.266067	64.598517
31	13959	Oterholmen	11.2208	64.815782
32	14019	Øksningen	12.31975	65.139233
33	14076	Lismåsøy	12.169217	65.4933
34	14245	Jakobsteinsvika	11.792867	65.11265
35	18755	Klungset	11.394183	64.749967
36	18936	Igerøy Øst	12.138533	65.686217
37	19135	Sandøya III	10.26445	64.243383
38	21676	Kråkholmen	10.85345	64.602117
39	22775	Kvaløya	11.058617	65.001917
40	24575	Farmannsøya	10.1201	64.186367
41	24695	Årnes	11.273417	64.5961
42	24915	Bøbukta	12.083917	65.661633

43	25235	Humulen	11.372467	64.94605
44	26315	Nordgjæslingan	10.9128	64.7659
45	26335	Geitholmen	11.025933	64.79955
46	26795	Austvika	10.696033	64.418533
47	27536	Flatskjæret	11.409243	64.933875
48	27876	Olderbakken	12.368633	65.311183
49	29016	Båfjordstranda	11.592733	64.96465
50	29356	Smineset Nord	11.54245	64.755967
51	29537	Eldviktaren	10.630717	64.454633
52	29876	Flotaren	10.761667	64.523983
53	30076	Kyrøene	10.807333	64.7635
54	30177	Torgerhaugen	11.763017	64.89295
55	30817	Raudøya	10.439133	64.3646
56	30997	Skrubbholmen	11.162183	64.801733
57	31217	Stokkasjøen	12.592317	65.782717
58	31357	Geitryggen	11.189033	64.75085
59	31877	Barøya	11.233183	64.6206
60	32017	Ånholmen	11.461683	64.7198
61	33157	Skogsholmen	12.070533	65.831417
62	33537	Buholmen	10.008917	64.1569
63	33837	Møllebogen	12.088917	65.064983
64	34257	Lekafjorden II	11.724033	65.078783