



Nærings- og fiskeridepartementet
Postboks 8090 Dep
0032 Oslo
postmottak@nfd

Ullevålsveien 68
Postboks 750 Sentrum · 0106 Oslo
Tlf.: 23 21 60 00 · Faks: 23 21 60 01
Epost: postmottak@vetinst.no

Deres ref.: 17/1113-18

Vår ref.: 17/52108

Dato: 17. oktober 2017

Vurdering av diagnostiske metoder knyttet til PD

Viser til brev fra departementet av 10. september og brev fra Veterinærinstituttet av 15. og 27. september 2017 der det ble informert om planlagte aktiviteter for å komme med en vurdering av optimal prøvetaking for diagnostikk av PD i henhold til ny PD-forskrift. Nedenfor gis det en orientering om resultatet av arbeidet og instituttets vurdering.

Departementets bestilling

1. Departementet ønsket at VI i egenskap av nasjonalt referanselaboratorium gjorde en vurdering av hva som er optimal prøvetakning og hva som er hensiktsmessig gitt det omfanget prøver som skal analyseres. Det forutsatte at dette ble gjort i dialog med de akkrediterte laboratoriene som vil utføre hoveddelen av analysene når det gjelder PCR.
2. Departementet ønsket videre å få belyst hvordan en vaksinerings kan påvirke utfallet av de diagnostiske testene som angis i forskriften.

1. Optimalt vev for påvisning av PD ved sykdom og screening

Veterinærinstituttet oppfatter at målet med rutinemessig prøvetaking i hht. forskriften er å oppdage infeksjon med SAV så tidlig som mulig. Instituttet har derfor gjort en vurdering av om vev fra hjertespiessen kan være tilstrekkelig for å avdekke tidlig SAV-infeksjon.

OIE-manualen anbefaler å teste vev fra både hjerte og nyre når en ønsker å undersøke om et sykdomsutbrudd hos fisk skyldes infeksjon med SAV. Begrunnelsen er at det sent i sykdomsforløpet er lettere å påvise viruset i nyrevev enn i hjertevev. Dessuten trenger en nyrevev for å teste for andre agens i de tilfeller der det viser seg å ikke være SAV som er årsaken til dødeligheten.

Gjennomgang av egne og andres studier referert til i OIEs manual (Andersen et al. 2007, Jansen et al. 2010a,b) viser at det er tatt ut vev fra *hjertets ventrikkelen* i forbindelse med påvisning av SAV-infeksjon hos laks. Ventrikkelen inneholder både kompakt og spongiøst vev. Det spongiøse vevet inneholder rikelig med endotel som er godt eksponert for blod, og derfor tidlig vil kunne fange opp SAV-smitte. Uttak av vev fra hjertespiessen kan medføre at det kun kommer med kompakt muskelvev som inneholder lite endotel, spesielt på større fisk.

Veterinærinstituttet mottok data fra Patogen Analyse 9.oktober 2017. Datasettet inneholdt resultater fra separate SAV-analyser av vev fra hjerte og nyre fra i alt 93 fisk. I tillegg var det analyseresultater fra en samleprøve av begge disse organene fra noen av fiskene. I prøver fra 34 fisk var SAV påvist i ett eller begge vev.

• Resultatet av undersøkelsen

Vevsprøven av hjerte var positiv i alle 34 fisk som testet positivt for SAV, mens kun 24 av nyreprøvene fra samme fisk var positive. Beregningen instituttet har gjennomført viser at det er 99% sikkert at sannsynligheten for å få en positiv nyreprøve og en negativ hjerteprøve fra samme fisk er under 5,5%.

Differansen mellom Ct-verdiene for visuspåvisning i hjerte og nyre hadde et observert gjennomsnitt på 8,7. Hjertevæv har lavere Ct-verdier enn korresponderende nyrevæv, dvs. mer virus. Dersom begge vevsprøver er positive, vil sannsynligheten for at virusmengden i nyreprøven er lavere enn i hjertet være 99,7%.

Data-analysen indikerer at PCR-analyse av nyre i tillegg til hjerte ikke gir noen økt sannsynlighet for å påvise SAV ved screening.

2. Analyse av samleprøve av hjerte- og nyrevæv fra samme individ

Det er få studier som dokumenterer effekten av å analysere samleprøver av vev fra hjerte og nyre på PCR-metodenes sensitivitet. Veterinærinstituttet har derfor gjennomført en undersøkelse av dataene fra Patogen for å belyse dette.

- Resultat av undersøkelsen og konklusjon

Hos alle fisk der positivt nyrevæv var blandet med positivt hjertevæv, ble analysen av samleprøven også positiv. Den gjennomsnittlige differansen mellom Ct-verdi for hjerte og samleprøve var 2,81 og viste at det ble påvist mer virus i hjerte enn samleprøven. Sannsynligheten for at samleprøven vil vise lavere virusmengde enn hjertepøven er 90,3%.

Hos 9 fisk var hjertepøven positiv og korresponderende nyreprøve negativ. I seks av disse fiskene ble samleprøven positiv for SAV, og hos tre fisk ble den negativ. Dette indikerer at sensitiviteten av testen kan bli redusert om man blander vev fra nyre og hjerte i forhold til om man analyserer kun hjertevæv.

3. Vil vaksinstatus påvirke utfallet av agensanalysen?

Veterinærinstituttet har deltatt på møter med Pharmaq og MSD som produserer de to PD-vaksinene som nå er tilgjengelige på det norske markedet. Pharmaqs vaccine er basert på et inaktivert SAV3-isolat. SAV3 er årsaken til de fleste utbrudd av PD i Norge, og vaksinstammen kan ikke skilles fra infeksjon med «vill-typen» av SAV3. MSDs vaccine er basert på et SAV1-isolat. SAV1 er hittil ikke påvist i Norge, og vaksinstammen kan skilles fra infeksjon med SAV2 og SAV3 vha. PCR.

Begge vaksineprodusenter har utført studier som viser at det finnes vaksinerester i bukhulen som kan påvises ved PCR i inntil 6-12 uker etter vaksinasjon. Forsøkene ble avsluttet etter 12 uker.


Pharmaq har i tillegg gjennomført en undersøkelse der hjertet fra vaksinert fisk ble delt i to, og den ene biten ført inn i bukhulen før PCR-analyse, mens den andre ble analysert uten å komme i kontakt med bukhulen. Resultatene viste at hjertevæv som hadde vært i kontakt med bukhulen ble positiv for SAV3 i noen av tilfellene. Alle prøver av hjertevæv som ikke hadde vært i kontakt med bukhulen var imidlertid negative. Dette tyder på at kontaminasjon med vaksinerester kan unngås dersom man tar ut hjertevæv uten å åpne opp til bukhulen.

Veterinærinstituttets vurdering

- Hjertet er et gunstig organ for å gjøre et mest mulig aseptisk prøveuttak. Med en pålagt månedlig prøvetaking, der hensikten er å avdekke tidlig SAV-infeksjon (screening), mener instituttet det vil være mest hensiktsmessig å kun ta ut vev fra hjertets ventrikkel. Prøven må tas ut uten å åpne inn til bukhulen, og må behandles så aseptisk som mulig. Dette er spesielt viktig ved uttak av prøver fra fisk vaksinert med SAV3 basert vaccine. Det er svært viktig å opplyse om vaksinstatus ved innsending av prøven for analyse.
- Ved mistanke om PD skal det alltid tas ut vev fra midtnyre og hjerteventrikkel fra 10 fisk både for agenspåvisning (RNAlater™ eller tilsvarende) og histopatologi (formalin). I slike tilfeller kan vev fra nyre og hjerte legges på samme rør.
- Ved innsending av vev på RNAlater™ eller tilsvarende, anbefaler Veterinærinstituttet at hver enkelt vevsbit er mindre enn 0,5 cm tykk, mens lengden kan være opptil 1 cm. Dette er for å sikre god fiksering og tilstrekkelig mengde vev for å påvise og karakterisere virus. Krav til størrelse på vevsbiter vil variere mellom ulike laboratorier som tilbyr screening for SAV. Instituttet anbefaler derfor at man følger det enkelte laboratories spesifikasjoner. Ved uttak av betydelig mindre vevsbiter enn spesifisert over, anbefales det å ta ut to eller flere like prøver på samme rør (ofte kalt A- og B-prøver). Dette for å sikre mulighet til bekreftelse av eventuelle funn av virus.

- Veterinærinstituttet arbeider forøvrig med å avklare den diagnostiske sensitiviteten og spesifisiteten av ulike tester for SAV og påvisning av PD under forskjellige forhold. Resultater fra disse studiene vil bli løpende publisert.

Med hilsen



Arne Flåøyen
Avdelingsdirektør fiskehelse



Anne-Gerd Gjevre
Fiskehelseansvarlig

Kopi til:

Nina Eriksen Vinje, Nina-Eriksen.Vinje@nfd.dep.no

