

# ILA sykdomsutvikling

## Opptak og spredning av virus i fisken



Workshop for kontroll med ILA på Radisson Blu, Værnes, 3-4 april 2017

Maria Aamelfot



**Veterinærinstituttet**  
Norwegian Veterinary Institute



# ILA sykdomsutvikling

## Opptak og spredning av virus i fisken

Sykdomsutviklingen – hva vet vi?

ILAV og ILA



Tropisme

Virusforekomst  
– etter utbrudd

Virusforekomst i fisk

Sykdom vs infeksjon

Opptak og spredning

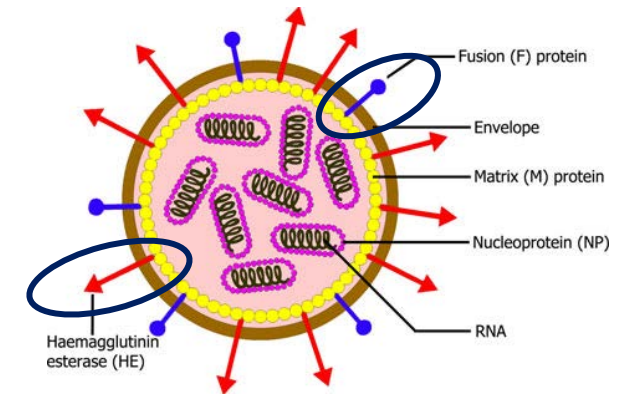


**Veterinærinstituttet**  
Norwegian Veterinary Institute



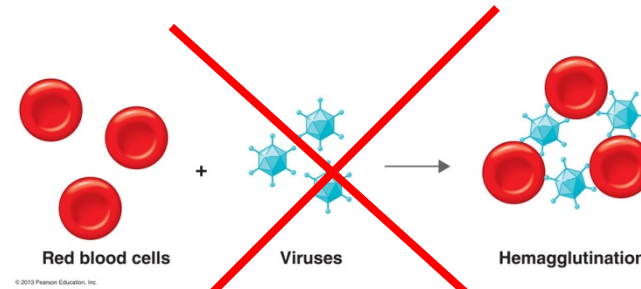
# Infeksiøs lakseanemi virus, ILAV

- ssRNA virus - 8 RNA segmenter som koder for 10 proteiner
  - Overflateproteinene HE og F: infeksjon!
    - Reseptorbinding - HE binder til overflatereseptorer på vertscellen
    - Fusjon med vertscellen
    - Reseptor-ødelegging (frigjør nye partikler)
- HPR regionen i HE-proteinet
  - markør for virulens
  - stor genetisk variabilitet - hyper polimorf region (HPR)
  - HPR0 - Full-lengde HPR

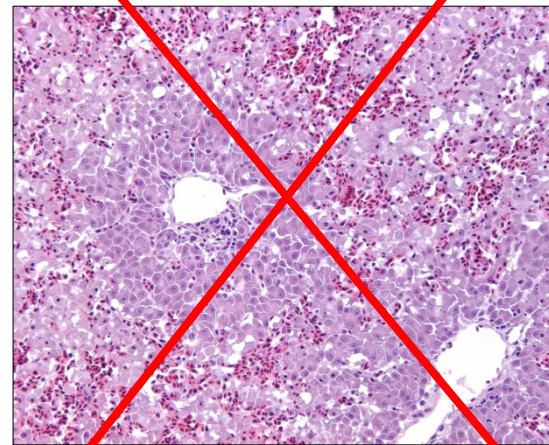


# Infeksiøs lakseanemi virus, ILAV

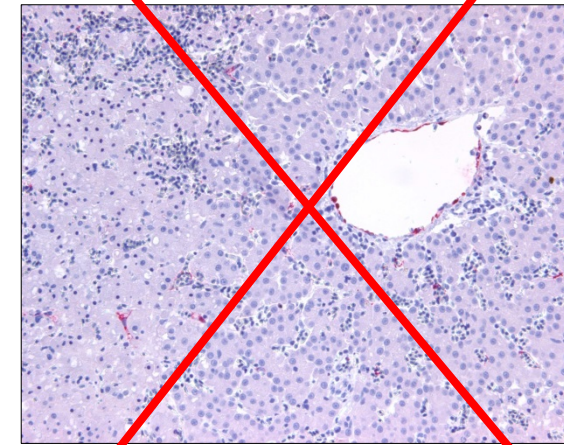
HPRO



Hudblødninger



Hemorragiske levernekroser



ILA immunohistokjemi (rødt=positive celler)

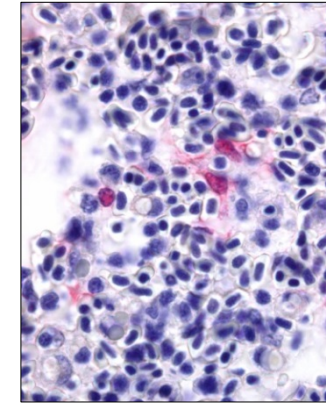
# ILA sykdomsutvikling - hypotese

1. ILAV tas opp i fisken (ingen tegn på sykdom) ?
2. ILAV replikerer i endotelceller i blodkar ?
  - Primær virusindusert endotelskade (ingen tegn på sykdom)
  - Virus frigjøres til lumen av blodkaret
3. Viruset fester seg på RBC ?
  - Sekundær skade (tegn på sykdom):
    - Ubalanse - reseptorbinding og reseptorødeleggende aktivitet
    - Ødeleggelse av RBC
  - → Hypovolemisk sjokk - Alvorlig mangel på oksygen i fisken
4. Anemi, ødemer, acites – død ?
  - Overlevere: skille ut virus (hud, slim, avføring, urin, blod)
    - Opp til en måned etter smitte

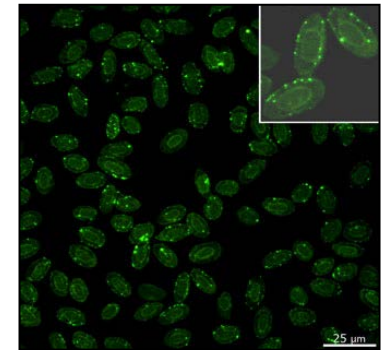


<http://www.istockphoto.com>

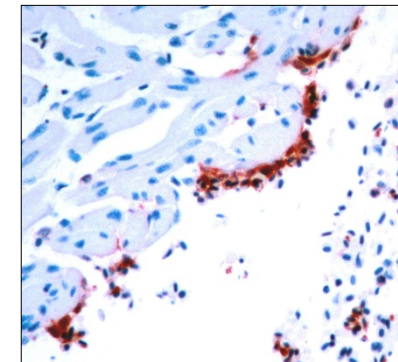
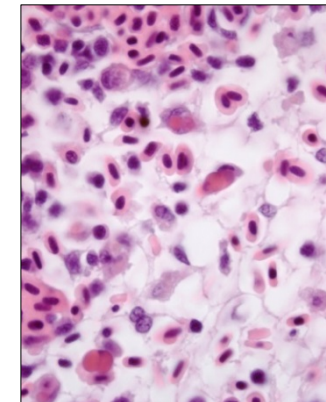
Endotelinfeksjon



Hemofagocytose i milt og andre organer



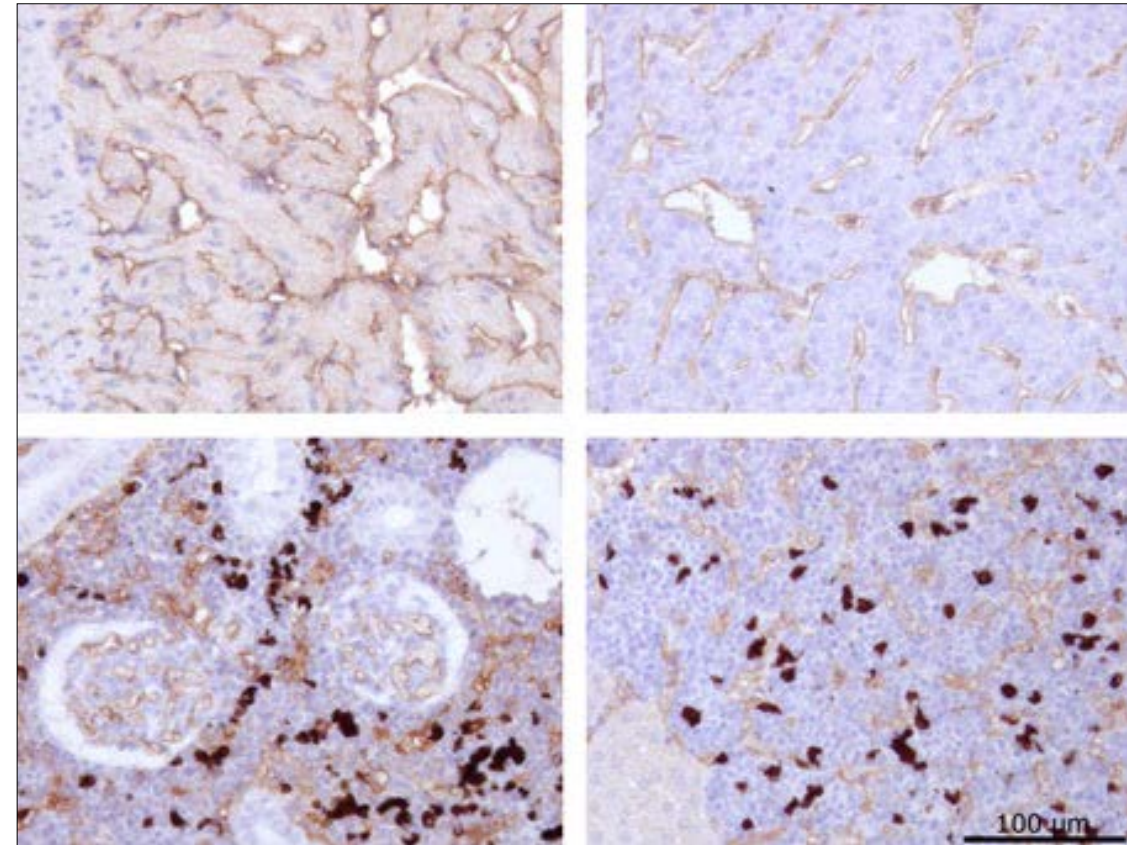
ILAV festes på RBC



In situ haemadsorption and haemagglutination

# ILAV tropisme

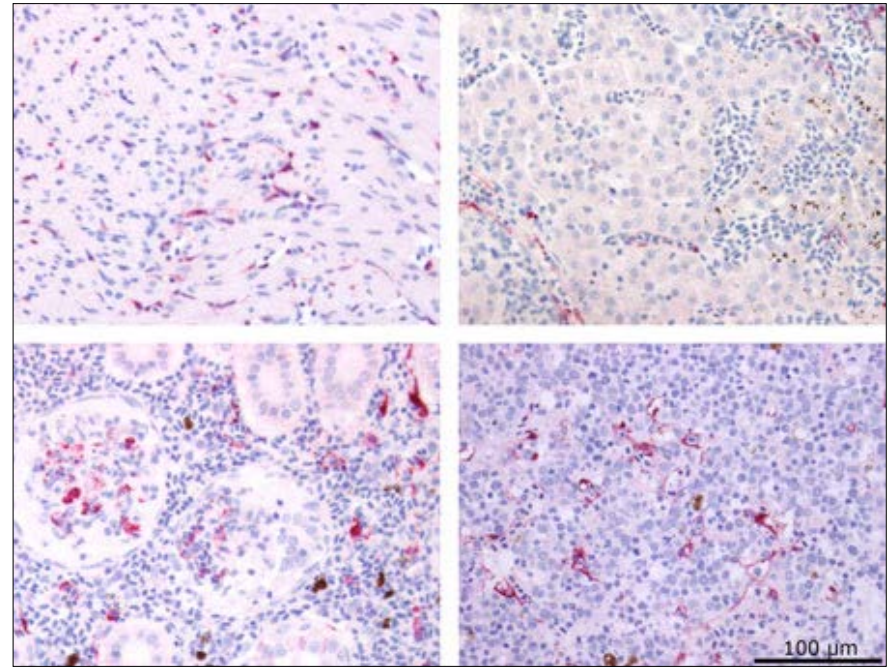
- ILAV binder spesifikke reseptorer (4-*O*-acetylerede sialinsyrer) på cellenes overflate
  - Nøkkel i lås
  - Nødvendig, men ikke tilstrekkelig
- Forekomst av reseptor bestemmer tropisme
  - Endotel
    - celler som kler innsiden av alle blodkar i alle organer
  - Røde blodceller
  - Epitel i slimhinnen (ytterste cellelaget)
    - Hud
    - Gjeller
    - GI-kanal (tarm)
    - Øye



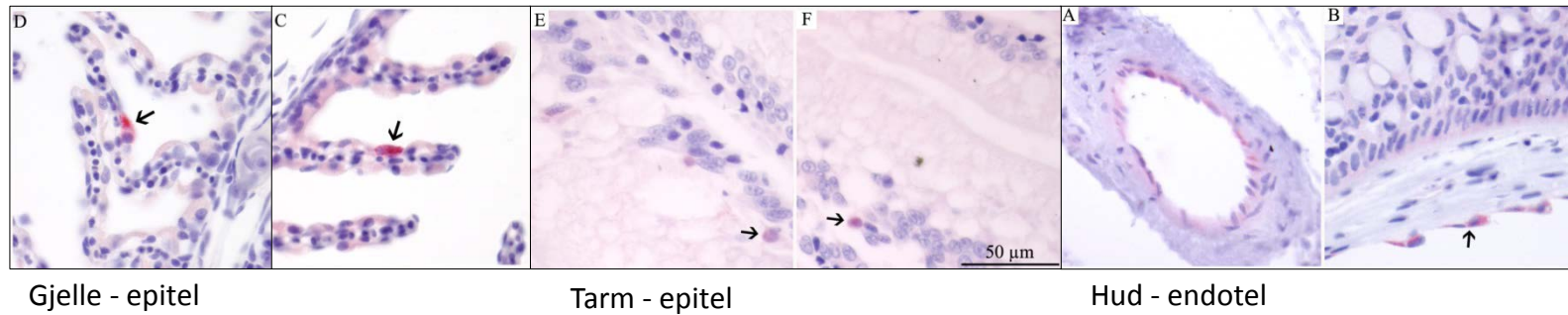
Immunfarging: Forekomst av ILAV reseptor i endotel i hjerte, lever, nyre og hodenyre Brunt= virusreseptor

# ILAV forekomst i fisken

- Feltutbrudd
  - Endotel (innsiden av blodkar) i alle organer
  - Blod, slim, avføring, urin
- Smitteforsøk
  - Som feltutbrudd
  - Epitel (ytterste cellelag) i hud, gjeller, tarm og øye
- Reseptor vs virusforekomst!

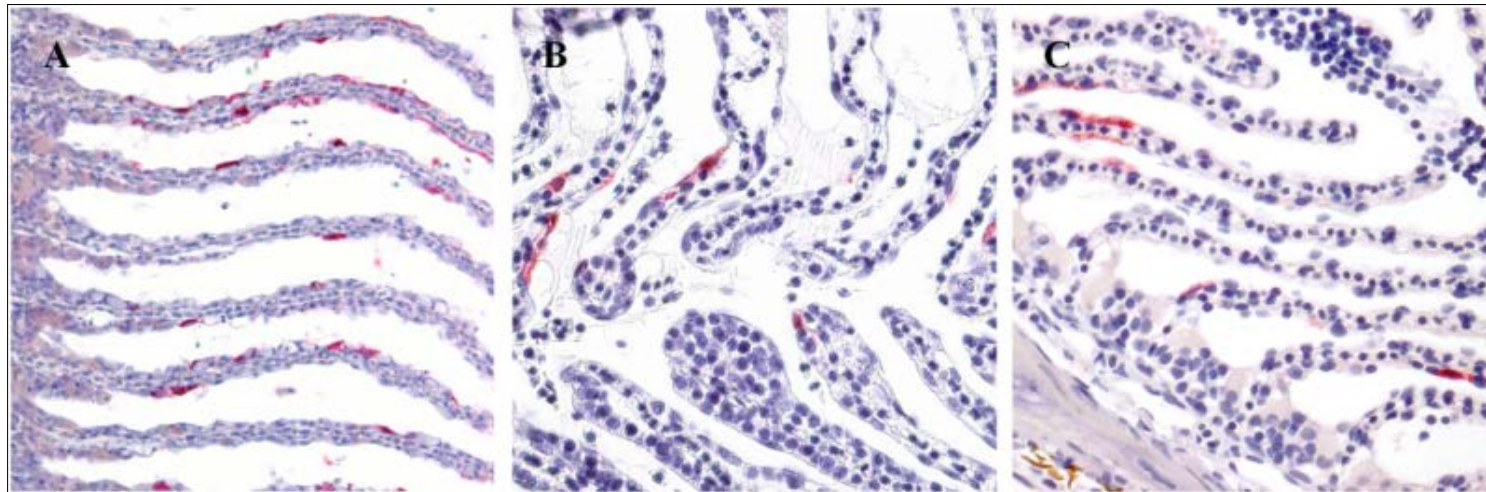


Immunfarging (IHC): Hjerne, lever, nyre og hodenyre – endotel. Rødt= virusproteiner tilstede



# ILAV forekomst i fisken

- HPRO
  - epitel (cellene utenpå) i gjeller (IHC) og hud (svaber)

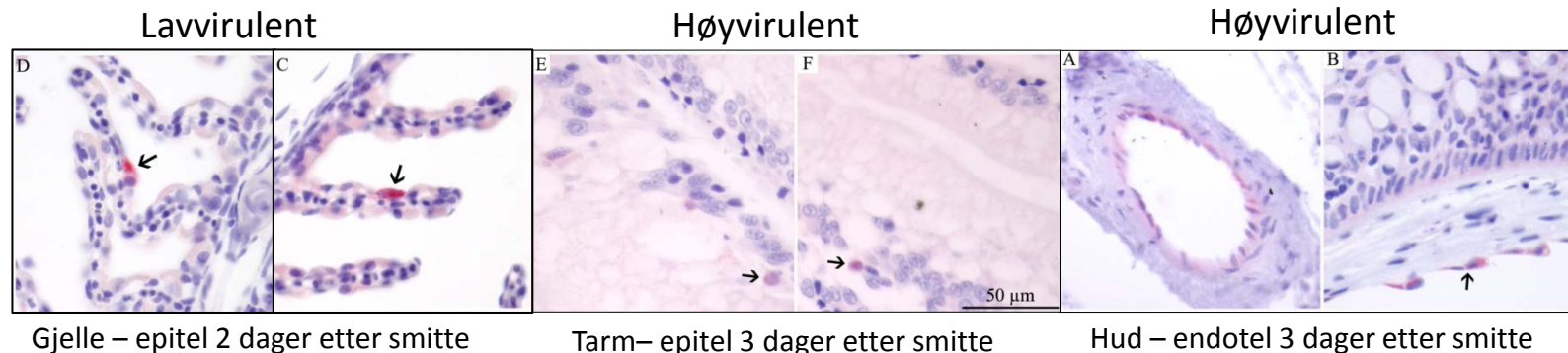
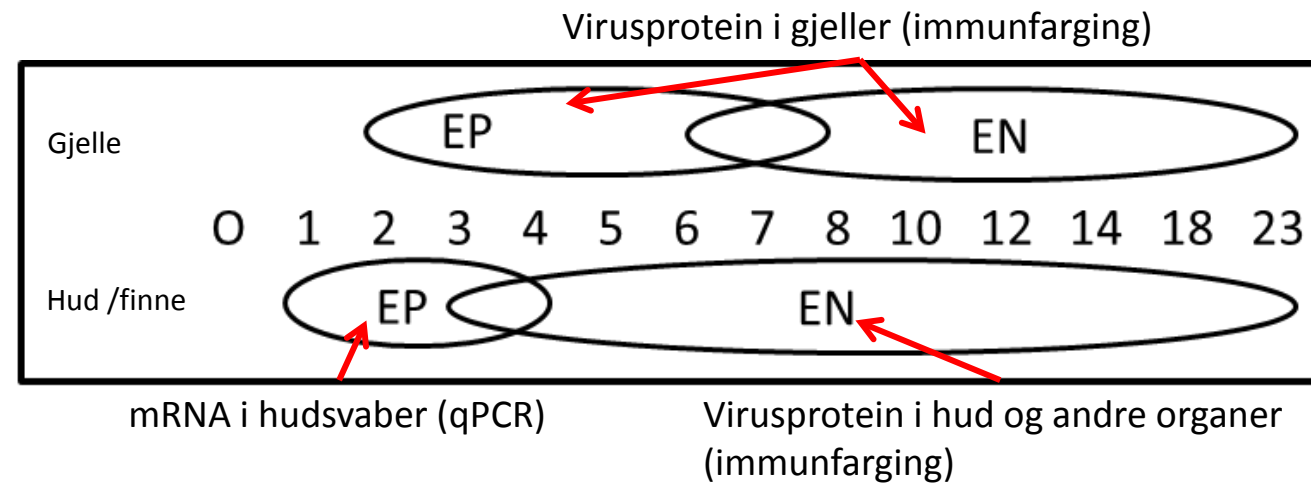


Immunfarging (IHC): Gjellerl. Rødt= virusproteiner tilstede



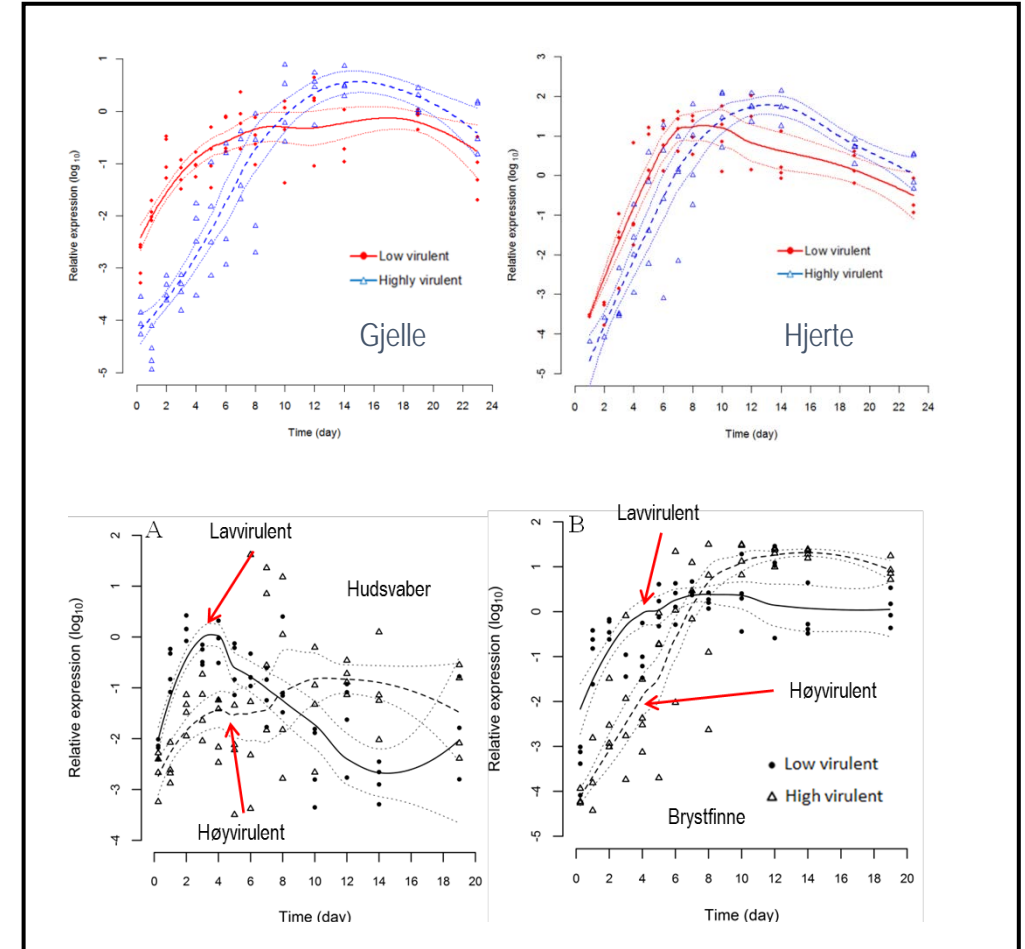
# Opptak og spredning - I

- Badesmitte
  - Lavvirulent – dødelighet ca 20%
  - Høyvirulent – dødelighet 100%
- Tidlig uttak av prøver (6t, dag 1-8)
  - Opptak av virus og infeksjon av slimhinner
- ILAV positive celler kort tid etter smitte:
  - Epitel (EP) i hud (svaber), gjeller (IHC), tarm (IHC) og øye (IHC)
  - Endotel (EN) i alle organer
    - Først i hud, så i nyre, så i andre organer



# Opptak og spredning - II

- Hudsvaber:
  - Lavvirulent – oppformeres raskt, men synker også raskt
  - Høyvirulent – treg, men holder et visst nivå lenge
- Gjelle, hjerte og brystfinne:
  - Lavvirulent – raskere
  - Høyvirulent – høyere maksimal mengde virus

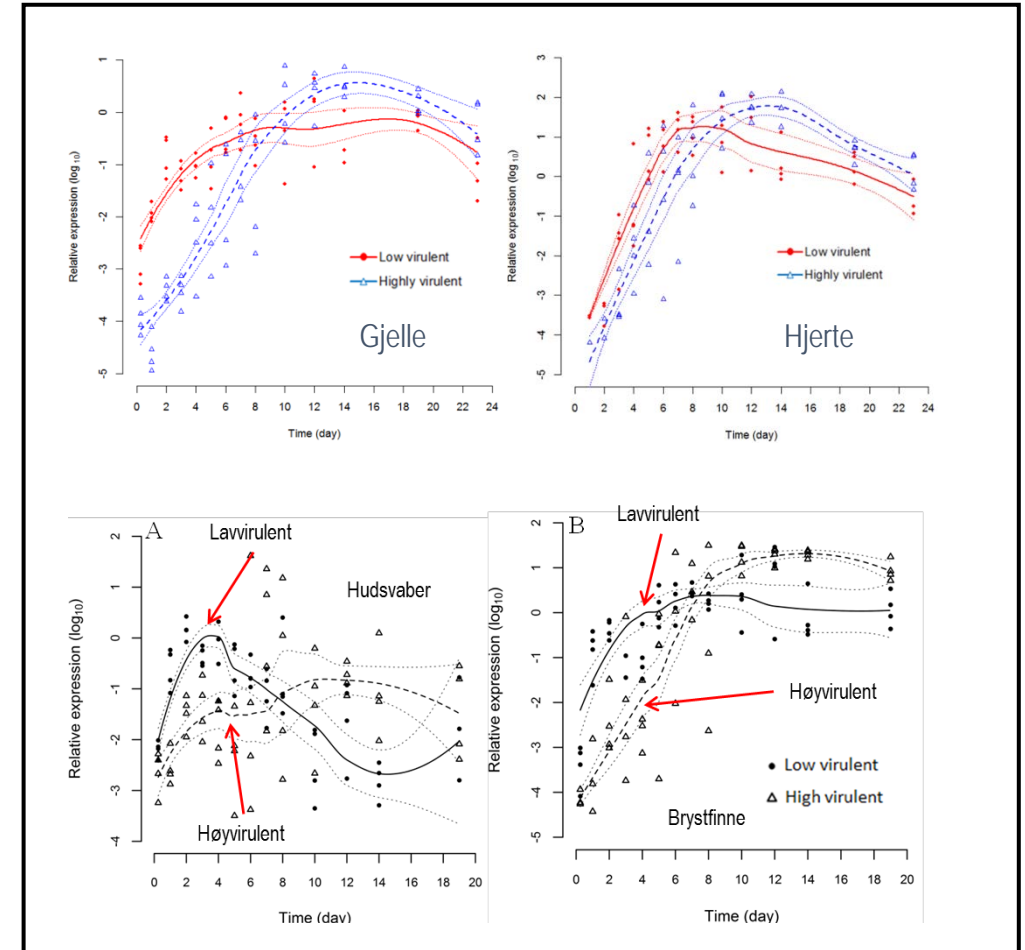


Resultater fra badesmitteforsøk

Mengde virus per dag - gjennomsnitt av 4 fisk

# Opptak og spredning - III

- HPR0 – lav-virulent – høy-virulent
- HPR0
  - Bare epitel i gjeller og hud
- Lav-virulent
  - Lengre epitelial fase, raskt inn i fisken
  - Høyere maksimal virusmengde i hudsvaber, mengden faller raskt
  - Mer aktiv i gjeller
- Høyvirulent
  - Kort epitelial fase, raskt inn i endotel
  - Mer aktiv i endotel – høyere maksimal virusmengde i gjelle, hjerte og brystfinne

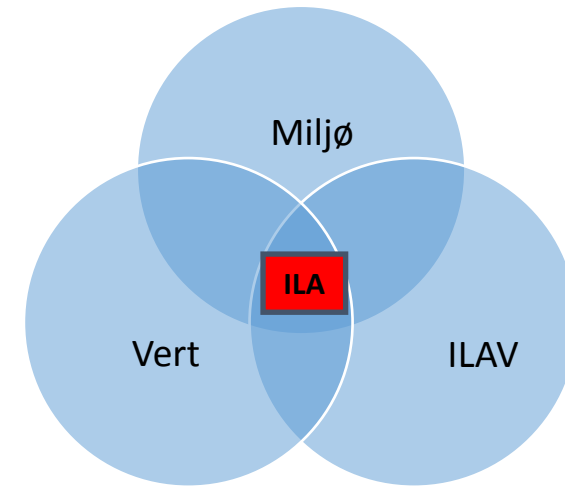


Resultater fra badesmitteforsøk

Mengde virus per dag - gjennomsnitt av 4 fisk

# Infeksjon vs. sykdom

- Vertstropisme for ILAV
  - Sykdom bare hos Atlantisk laks
  - Infeksjon med virus i andre arter – bærere?



ILAV vertstropisme		
Atlantisk laks	Endotel og røde blodceller	Epitel i gjelle, hud og tarm
Berggyllt	-	Epitel i tarm
Bergnebb	-	Epitel i gjelle, epitel og slimceller i tarm og epitel i nyre
Grønngyllt	Endotel og røde blodceller	-
Regnbueørret og andre stillehavslaks	Endotel og røde blodceller	Epitel i gjelle, hud og tarm
Rognkjeks	-	-
Torsk	Endotel og røde blodceller	-

# ILAV forekomst – fra 4 anlegg med ILA



- Arbeid på gang
  - Svaber fra ulike områder på fisken
  - Sammenligne med tradisjonelle prøver (feks nyre)

30 fisk fra hver gruppe	Nyre			Svaber, brystfinne		
	A - fisk fra frisk merd	B - “friske” fisk fra “syk” merd	C - “svimere” fisk fra “syk” merd	A - fisk fra frisk merd	B - “friske” fisk fra “syk” merd	C - “svimere” fisk fra “syk” merd
Anlegg 1	0 (28 fisk)	7	8	0 (28 fisk)	17	17
Anlegg 2	0	0	0 (8 fisk)	0	0	0 (8 fisk)
Anlegg 3	0	6	29	0	3	29
Anlegg 4	0	0	11	0	0	12

- Flere svimere (C) enn «friske» (B)
- Flere svaber enn nyre
- Ikke letal prøvetaking
- Vanskelig å finne ILAV

# Oppsummering

- ILAV liker endotel (innsiden av blodkar) og røde blodceller
- Forekomst av ILAV i fisken bestemmes av forekomst av reseptor
- Hypotese: Sykdom pga ødeleggelse av RBC
- ILAV kommer seg inn via epitelceller som kler gjeller og hud
  - HPR0 stopper her
  - Lav-virulente trives godt i epitel, men går også videre til endotel (blodkar)
  - Høy-virulente går raskt gjennom epitel og trives best i endotel (blodkar)
- Skille mellom infeksjon og sykdom – andre arter som verter?
- Vanskelig å finne virus



**RESEARCH** Open Access

## Low virulent infectious salmon anaemia virus (ISAV) replicates and initiates the immune response earlier than a highly virulent virus in Atlantic salmon gills

Alastair J A McBeath<sup>1†</sup>, Yee Mai Ho<sup>1</sup>, Maria Aamelfot<sup>2</sup>, Malcolm Hall<sup>1</sup>, Debes H Christiansen<sup>3</sup>, Turhan Markusen<sup>2</sup>, Knut Falk<sup>2</sup> and Iveta Matejusova<sup>1</sup>

## Immersion challenge with low and highly virulent infectious salmon anaemia virus reveals different pathogenesis in Atlantic salmon, *Salmo salar* L.

A McBeath<sup>1,\*</sup>, M Aamelfot<sup>2,\*</sup>, D H Christiansen<sup>3</sup>, I Matejusova<sup>1</sup>, T Markusen<sup>2</sup>, M Kaldhusdal<sup>2</sup>, O B Dale<sup>2</sup>, S C Welii<sup>2</sup> and K Falk<sup>2</sup>

1 Marine Scotland Science, Marine Laboratory, Aberdeen, UK  
2 Norwegian Veterinary Institute, Oslo, Norway  
3 Food and Veterinary Authority, Tórshavn, Faroe Islands

## Host tropism of infectious salmon anaemia virus in marine and freshwater fish species

M Aamelfot<sup>1</sup>, O B Dale<sup>1</sup>, A McBeath<sup>2</sup> and K Falk<sup>1</sup>

1 Norwegian Veterinary Institute, Oslo, Norway  
2 Marine Scotland Science, Aberdeen, UK

**RESEARCH ARTICLE** Open Access

## Infectious salmon anaemia virus (ISAV) mucosal infection in Atlantic salmon

Maria Aamelfot<sup>1†</sup>, Alastair McBeath<sup>2†</sup>, Debes H. Christiansen<sup>3</sup>, Iveta Matejusova<sup>2</sup> and Knut Falk<sup>1\*</sup>

## Expression of the Infectious Salmon Anemia Virus Receptor on Atlantic Salmon Endothelial Cells Correlates with the Cell Tropism of the Virus

Maria Aamelfot<sup>1\*</sup>, Ole Bendik Dale<sup>1</sup>, Simon Chioma Welii<sup>2</sup>, Erling Olaf Koppang<sup>2</sup> and Knut Falk<sup>1\*</sup>  
Norwegian Veterinary Institute, Oslo, Norway<sup>1</sup> and Norwegian School of Veterinary Science, Oslo, Norway<sup>2</sup>

**RESEARCH** Open Access

## Infectious salmon anaemia virus infection of Atlantic salmon gill epithelial cells

Simon Chioma Welii<sup>1†</sup>, Maria Aamelfot<sup>1</sup>, Ole Bendik Dale<sup>1</sup>, Erling Olaf Koppang<sup>2</sup> and Knut Falk<sup>1</sup>

RESEARCH ARTICLE

## Localised Infection of Atlantic Salmon Epithelial Cells by HPRO Infectious Salmon Anaemia Virus

Maria Aamelfot<sup>1</sup>, Debes H. Christiansen<sup>2</sup>, Ole Bendik Dale<sup>1</sup>, Alastair McBeath<sup>3</sup>, Sylvie L. Benestad<sup>1</sup>, Knut Falk<sup>1\*</sup>

1 Norwegian Veterinary Institute, Oslo, Norway, 2 Food and Veterinary Authority, Tórshavn, Faroe Islands, 3 Marine Scotland Science, Marine Laboratory, Aberdeen, Scotland

Review

## Infectious salmon anaemia – pathogenesis and tropism

M Aamelfot, O B Dale and K Falk

Norwegian Veterinary Institute, Oslo, Norway

Takk for oppmerksomheten

Maria.Aamelfot@vetinst.no