

Faglig sluttrapport – oppnådde resultater
NFR 146845: Infeksiøs lakseanemi virus. Molekylær epidemiologi og karakterisering av virusets glykoproteiner. (1/1-2002 – 31/12-2004)

Prosjektet var et samarbeidsprosjekt mellom Institutt for fiskeri og marinbiologi, Universitetet i Bergen (UiB) og Seksjon for Fiskehelse, Veterinærinstituttet Oslo (VI). Ansvarlig for prosjektet ved de to institusjonene var henholdsvis professor Curt Endresen, UiB og forsker Knut Falk, VI. Ved Institutt for fiskeri og marinbiologi, Universitetet i Bergen var universitetsstipendiat Vidar Aspehaug tilknyttet prosjektet. Audny Hellebø var ansatt ved prosjektet i Bergen som forskningsassistent fra 1/1-02 til 30/10-02 og ved Veterinærinstituttet i Oslo som forsker fra 1/11-02 til 30/11-04. Etter skriftlig avtale med prof. Curt Endresen UiB ble det i løpet av prosjektperioden totalt overført kr 323.000, - til UiB som ble benyttet til å dekke Audny Hellebø sitt engasjement der samt driftsmidler til universitetsstipendiat Vidar Aspehaug. Avdelingsingeniør Jannicke Wiik gjennomførte sin hovedfagsoppgave knyttet til prosjektet (delprosjekt 3) ved Veterinærinstituttet/NTNU.

Dette samarbeidprosjektet var en del av videreføringen av ILA samarbeidsgruppen som ble etablert i prosjektperioden 1999-2001. Foruten dette prosjektet omfattet samarbeidsgruppen NFR-prosjektene "Polymorfisme og evolusjon av infeksiøs lakseanemi virus (ILAV)" (NFR 146777; ansvarlig Are Nylund, UiB) og "Infeksiøs lakseanemi - utvikling av en rekombinant markervaksine" (NFR 150091; brukerstyrt; Intervet Norbio; prosjektansvarlig Eirik Biering).

Prosjektet hadde 3 delmål/delprosjekter knyttet til:

- 1) Molekylær epidemiologi (etablering av metoder/kompetanse og utprøving med tanke på anvendelse)
- 2) Identifisering og karakterisering av virusets strukturelle proteiner med hovedvekt på overflate glykoproteiner.
- 3) Fenotypisk karakterisering av ILA-virus med tanke på identifisering av virulens faktorer- og markører.

Oppsummering av resultater

Delprosjekt 1: Molekylær epidemiologi

Målsetting ved dette delprosjektet var å praktisk etablere genotyping basert på HE-genet og gp50 (F)-genet, samt å evaluere dette typesystemet for praktisk bruk i forbindelse med sykdomsoppklaring og diagnostiske utredninger. Dessuten ønsket vi å komplettere fylogenen for ILA-virus ved å forsøke å inkludere mer sekvensinformasjon fra gamle ILA-utbrudd, dvs. fra utbrudd under den første store ILA-epidemien som varte fra 1984 inntil den ble brakt under kontroll i 1993.

I første omgang ble det etablert opplegg for sekvensering og fylogenetisk analyse basert på eksisterende informasjon. En stor del av ILA-virus isolatsamlingen vår som etter hvert besto av mer enn 150 isolater både fra Norge og fra andre land der ILAV var påvist, ble først sekvensert med hensyn på HE-genet og siden for F-genet når denne sekvensen forelå. Selv om vi hadde inkludert sekvenser fra en del gamle isolater, fant vi ingen vesentlige avvik i forhold til tidligere publiserte fylogenetiske analyser. Vi fant imidlertid noen nye HPR-varianter. Når det gjelder F-genet, fant vi at den totale sekvens-variasjonen var omkring den samme som for HE-genet blant de europeiske isolatene, dvs. omkring 2-3%. Vi fant videre at F-genet på mange isolater hadde et kort innskudd umiddelbart oppstrøms for proteinets antatte proteolytiske aktiveringssete og at dette innskuddet forekom i 4 ulike varianter. Tre av disse variantene har senere blitt beskrevet av andre forskere.

Ved å lete gjennom gammelt materiale som var lagret i våre fryser, lyktes det oss å finne organer, isolere og sekvensere virus fra 5 utbrudd i 1988 slik at vi totalt hadde 15 isolater fra perioden 1986-1993 i isolatsamlingen vår. For å komplettere dette forsøkte vi å isolere virus RNA fra formalinfiksert parafininnstøpt materiale (dvs. vevsblokker som var benyttet til å lage histologiske preparater) fra ytterligere 12 utbrudd fra samme periode. Her lyktes vi i å påvise ILA-virus RNA ved hjelp av RT-PCR, imidlertid var RNA-kvaliteten for dårlig til at vi med en rimelig ressursinnsats kunne sekvensere HE- og F-genet. I forbindelse med arbeidet med historisk materiale fra Veterinærinstituttets blokkarkiv fikk vi også hjelp av Tore Håstein til å identifisere mulige ILA-utbrudd fra perioden før det første kjente utbruddet i 1984. Undersøkelse av dette vevsmaterialet vha immunhistokjemi og RT-PCR ga negativt resultat.

Genotyping og fylogenetiske analyser av ILA-virus er et nyttig verktøy for å generelt kunne vurdere epidemiologien og spredningsmønsteret til ILA og ILA-virus i norsk oppdrettsnæring. Genotyping av virus sammen med annen epidemiologisk informasjon, vil også kunne bidra til å spore smitteveier i forbindelse med enkeltutbrudd eller små lokale endemier. Imidlertid vil anvendelse i forbindelse med konkrete saker kreve at man har kjennskap til hvordan sekvensene varierer innen enkeltfisk (dvs. forekomst av quasispecies), mellom fisk innen et utbrudd på enkeltlokaliteter, og mellom lokaliteter i tid og rom. Slik kunnskap er viktig fordi den genetiske variasjonen mellom ulike norske (og europeiske) isolater er svært liten. For å starte undersøkelsene av ulike typer genetisk variasjon mellom ILA-virus, samlet vi inn og undersøkte fisk fra en lokal endemi i ytre Nordfjord og fra lokaliteter knyttet til "Rotsundsaken" i Nord-Troms i 2002/2003. "Rotsundsaken" var en lokal endemi som etter hvert omfattet 6 lokaliteter og som startet ved at en oppdretter holdt et ILA-utbrudd skjult og dumpet en hel merd med syk/død fisk i sjøen utenfor lokaliteten sin. Vi anså derfor i utgangspunktet denne saken som et punktutbrudd. Det ble samlet inn materiale fra 2-9 fisk fra alle 6 lokalitetene, til sammen 32 fisk. ILA-virus ble påvist både ved dyrkning og RT-PCR direkte fra vev i 30 fisk. Sekvensering av HE- og F-genet ble gjort på alt materialet, både med utgangspunkt i RNA fra isolert virus (3. passasje) og i RNA ekstrahert direkte fra vevsprøver. Resultatene viste at sekvenser fra vev og isolert virus var 100% like. Ved sammenligning av HE-sekvenser fant vi en variasjon på opp til 4 mutasjoner både innen- og mellom anlegg/lokaliteter. Videre viste fylogenetiske analyser vha. Neighbour Joining og Maximum Likelihood at sekvenser fra alle utbruddene samlet seg i en distinkt gruppe. Bortsett fra 4 fisk på en lokalitet som avvek med én mutasjon, var alle F-gen sekvensene 100% like. Den samlede konklusjonen for undersøkelsene av materialet fra "Rotsundsaken" var at vi ikke kunne utelukke et felles opphav til smitte eller at det hadde foregått horisontal smitte mellom anleggene (Falk og Brun 2005).

Delprosjekt 2: Identifisering og karakterisering av virusets strukturelle proteiner med hovedvekt på overflate glykoproteiner.

Målet med dette delprosjektet var å identifisere og videre karakterisere de 4 hovedstrukturelle proteinene (vp22, vp42, vp50 og vp66) som vi hadde observert ved SDS-PAGE analyse av rensert virus (Falk et al 1997) med spesielt vekt på funksjonell karakterisering av virusets overflateprotein(er).

I prosjektet ble det vist ILA-viruset hadde 2 glykosylerte overflateproteiner, vp42 og vp50, mens vp22 og vp66 representerer henholdsvis virusets matrix (M) - og nukleoprotein (NP) (Falk et al 2004). Våre undersøkelser viste også at matriksproteinet blir kodet av første leseramme på gensegment 8 (Biering et al. 2002) noe som var forskjellig fra det man til da hadde antatt ut fra sammenligning med andre orthomyxovirus der matrix-proteinets kodes av

gensegment 7. Når det gjelder nukleoproteinet viste vi at det var et fosfoprotein som kodes av gensegment 3, at det ble produsert tidlig i infeksjonssyklusen der det ble akkumulert i cellekjernen (på samme måte som hos influensavirus), at det var et RNA-bindende protein og at det hadde 2 kjerne lokaliseringssignaler (Aspehaug et al. 2004). Antistoffer som ble produsert mot virusets nukleoprotein har senere vist seg å være svært anvendelig i forbindelse med etablering av en diagnostisk immunhistokjemisk metode for påvisning av ILAV i vevspreparater.

Analyse av overflateproteinene og identifisering av genene som koder for disse er viktig både i forbindelse med vaksineutvikling og når det gjelder typing av virusisolater. Vi hadde tidligere vist at ILA-viruset, på samme måte som andre orthomyxovirus/influensavirus, har 3 funksjonelle aktiviteter knyttet til overflateproteinene, hemagglutinerende- eller reseptorbindende aktivitet, reseptorødeleggende aktivitet (RDE) og fusjonsaktivitet (Falk et al. 1997). Disse 3 aktivitetene antas å være viktige for virusets evne til å gi sykdom. Vi hadde videre vist at mens den reseptorødeleggende aktiviteten hos influenza A og B virus er en neuraminidase, så er den reseptorødeleggende aktiviteten hos ILA-virus en esterase. I prosjektet viste vi at til forskjell fra influenza A og B virus, så var den reseptor bindende- og reseptor ødeleggende aktiviteten knyttet til samme glykoprotein (vp42), hemagglutinin-esterase (HE) proteinet. Denne konklusjonen bygger vi på påvisning av esteraseaktivitet knyttet til 42 kD glycoproteinet på Western blots, påvisning av at esteraseaktiviteten følger hemagglutinet ved sekvensiell presipitering vha et monoklonalt antistoff, demonstrasjon av at tritert DFP (diisofluorofosfat), som er en spesifikk esterasehemmer, binder seg til hemagglutinet, og ved sekvenslikheter med andre hemagglutinin-esteraseproteiner fra influenza C og type II coronavirus (Falk et al. 2004). Vi påviste dessuten at proteinet trolig forekommer som en trimer-struktur og vi fant ingen indikasjoner på at dette proteinet ble proteolytisk aktivert, noe som indirekte viste at det andre glykoproteinet, vp50, representerer fusjon (F)-proteinet (Falk 2004). Dette ble senere bekreftet og videre karakterisert av Aspehaug et al. (2005).

Vi undersøkte også spesifisiteten til det reseptorødeleggende enzymet ved hjelp av revers fase HPLC (High Pressure Liquid Chromatography) og fant ut at virus esteraset hydrolyserte 4-O-acetylerede sialinsyrer noe som var forskjellig fra influenza C esteraset som hydrolyserer 9-O-acetylerede sialinsyrer (Hellebø et al. 2004). I samsvar med dette viste vi også vha. hemagglutinasjons bindingstest og ved en solid phase binding assay, at viruset benytter 4-O-acetylerede sialinsyrer på celleoverflaten som reseptor når det identifiserer målcellene sine (Hellebø et al. 2004).

Delprosjekt 3: Fenotypisk karakterisering av ILAV

Målet for dette delprosjektet var å undersøke for variasjon i uttrykte (fenotypiske) karaktertrekk hos virus med tanke på å identifisere virulenssegenskaper og virulensmarkører hos virus. Slik informasjon vil utgjøre viktig basiskunnskap for videre arbeide med tanke på å avdekke funksjonell patogenese ved ILA, for utvikling av diagnostikk og for utvikling av effektive vaksiner.

Arbeidet inkluderte undersøkelser av variasjon i funksjonelle egenskaper, av vekstegenskaper og av antigen variasjon.

Europeiske- og Nord-Amerikanske ILA-virus kan skilles i 2 serotyper vha nøytraliserende kaninantistoff produsert mot rensert virus. Vi hadde tidligere etablert 7 monoklonale

antistoffer mot ILAV overflateproteiner. Gjennom et samarbeide med amerikanske forskere fikk vi i tillegg tilgang på ytterligere 2 monoklonale antistoff mot ILAV overflateprotein. Dette panelet av monoklonale antistoff ble benyttet IFAT-farging av cellekulturer infisert med alle isolatene i vår samling (ca 160 isolat). Basert på antistoffenes evne til å binde eller ikke binde til ulike isolater ble det påvist 9 ulike profilmønstre eller serogrupper (Wiik 2005). Ved å sammenholde profilmønstre og aminosyresekvenser som var etablert under delprosjekt 1, var det mulig å identifisere 3 mulige bindings-epitoper på hemagglutininnet. De monoklonale antistoffenes funksjonelle egenskaper ble også undersøkt mht. evne til å hemme infeksjon i cellekulturer (nøytralisasjonstest), hemme reseptorbinding eller hemagglutinasjon (hemagglutinasjons hemningstest) og hemme esteraseaktivitet. Resultatene viste at antistoffene i varierende grad hemmet disse aktivitetene og dermed representerer de 3 identifiserte epitopene områder på HE-proteinet som kan være viktige for utvikling av beskyttende immunitet (Wiik 2005).

Virusets vekstegenskaper/evne til replikasjon er en av faktorene som kan påvirke virulensen. Vi undersøkte vekstkaraktistika til ca. 40 utvalgte isolater i cellukultur og fant både forskjeller mhp produsert virusmengde (virus titer) og hvordan cellene ble infisert (grad og type cytopatogen effekt).

I delprosjekt 2 viste vi at ILA-virusets overflateproteiner var glykosylerte, dvs. at det var knyttet sukkerkjede(r) til disse 2 proteinene. Glukosylering er kjent for å være viktig for proteinenes funksjon. Ved analyse av ulike ILA HE aminosyresekvenser finner man fra 1 til 3 potensielle glykosyleringssteder hos ulike isolater. Vi undersøkte utvalgte virus-isolater med forskjellig antall potensielle glykosyleringssteder ved hjelp av radio immunopresipitasjon (RIPA) kombinert med SDS-PAGE og ved hjelp av 2-dimensjonal gelelektroforese og kunne fastslå at alle de potensielle glykosyleringssetene var i bruk. Vi har imidlertid foreløpig ikke kunnet fastslå om antallet sukkerkjeder har noen betydning for virulens.

Vi har foreløpig undersøkt en rekke isolater både vha radioimmunopresipitasjon (RIPA) kombinert med SDS-PAGE og Resultatene viser at det til dels er betydelig variasjon mellom isolatene.

Som redegjort for under delprosjekt 2, har ILA-viruset 3 funksjonelle aktiviteter knyttet til overflateproteinene, hemagglutinerende eller reseptorbindende aktivitet, reseptorødeleggende aktivitet (RDE) og fusjonsaktivitet (Falk et al. 1997). Disse 3 aktivitetene har nøkkelroller i forbindelse med infeksjon av celler, opptak og produksjon og frigjøring av nye infektive viruspartikler og er således viktige for virusets evne til å etablere seg i verten og gi sykdom. Det er kjent fra litteraturen at virulens av orthomyxo- og paramyxo virus bl.a. er påvirket av balansen mellom reseptor bindende (dvs. hemagglutinerende) - og ødeleggende (RDE) aktivitet. Ved undersøkelse av HA-aktivitet og RDE av utvalgte isolater, fant vi 2 isolater som hadde en avvikende balanse mellom disse aktivitetene. Ved hemagglutinasjon av lakseblodlegemer med ILA-virus, vil kryssbinding av blodlegemer vanligvis ikke løse seg opp ved forlenget inkubasjon slik det er vanlig med andre ortho- og paramyxovirus (som resultat av virusets RDE-aktivitet). Imidlertid, ved hemagglutinasjon med de nevnte 2 isolatene, løste hemagglutinasjonen seg opp ved forlenget innkubering. Disse isolatene viste ved senere smittforsøk lavere virulens, noe som ikke er i overensstemmelse med et man ser hos andre orthomyxovirus- og paramyxovirus der en funksjonell RDE er en forutsetning for virulens. Disse resultatene tyder på at samspillet mellom reseptor bindende- og ødeleggende aktivitet kan være viktig for å forstå og forklare patogenesen ved ILA.

Samlet konklusjon/egen vurdering av prosjektgjennomføring og ressursbruk

- Samlet sett ble det i løpet av dette prosjektet etablert en solid plattform både mhp. kunnskap, publikasjoner, reagenser, samling av virusisolat, metoder for videre undersøkelse av virusets virulensegenskaper med tanke både for å avdekke sykdommens patogenese, for å etablere en robust diagnostikk og en plattform for utvikling av effektive vaksiner
- Et geneotypingssystem ble etablert inkludert utprøving på feltmateriale
- ILA-virusets strukturelle proteiner ble identifisert, karakterisert.
- Det ble funnet variasjon mhp virusets fenotypiske karaktertrekk som kan ha betydning for forståelse av virulens og patogenese
- Virus ble typet vha monoklonale antistoffer og det ble identifisert 9 serogrupper. Tentativt identifiserte vi også 3 mulige nøytraliserende epitoper på HE-proteinet.
- Resultat av samarbeide med nasjonale og internasjonale partnere ga åpenbare synergieffekter.
- Unversitetsstipendiat Vidar Aspehaug forsvarte sin doktorgrad, "Characterization of Major Structural Proteins of the Infectious Salmon Anemia Virus (ISAV)" som innholdt 3 arbeider knyttet til prosjektet ved UiB, våren 2005
- Avdelingsingeniør Jannicke Wiik forsvarte våren 2005 sin MSc-oppgave basert på et arbeide knyttet til prosjektet, "Monoklonale antistoffer mot infeksjøs lakseanemivirus (ILAV) - etablering karakterisering og serotyping"
- Totalt sett vurderer vi selv gjennomføringen som god og at resultatene var gode og i overkant av forventet.
- Det ble etablert viktig erfaring og kunnskap som styrker Veterinærinstituttets evne til å gi råd og bidra til en god forvaltning av ILA/denne sykdommen

Publikasjoner og rapporter knyttet til prosjektet

Falk, K., Aspehaug, V., Vlasak, R., Endresen, C. (2004) Identification and characterisation of viral structural proteins of infectious salmon anemia virus. *J.Virol.* 78; 3063-3071

Hellebø, A., Vilas, U., Falk, K., Vlasak, R. (2004) Infectious Salmon Anemia Virus Specifically Binds to and Hydrolyzes 4-O-Acetylated Sialic Acids. *J.Virol.* 78; 3055-3062
Biering, E., Falk, K., Hoel, E., Jegatheswaran, T., Joerink1, M., Nylund, A., Endresen, C.

Aspehaug, V., Mikalsen, A.B., Snow, M., Biering, E., Villoing, S. 2005 Characterization of the Infectious Salmon Anemia Virus Fusion Protein. *J.Virol* 79; 12544-12553

Aspehaug, V., Falk, K., Krossøy, B., Jegatheswaran, T., Sanders, L., Moore, L., Endresen, C., Biering, E. (2004) Infectious Salmon Anemia Virus (ISAV) Genomic Segment 3 Encodes the Viral Nucleoprotein (NP), an RNA-Binding Protein With Two Monopartite Nuclear Localization Signals (NLS). *Virus.Res.* 106; 51-60

Biering, E., Falk, K., Hoel, E., Jegatheswaran, T., Joerink1, M., Nylund, A., Endresen, C., Krossøy, B. (2002) Segment 8 encodes one of the major structural proteins of infectious salmon anaemia virus (ISAV); the co-linear transcript from segment 7 probably encodes a non-structural or minor structural protein. *Dis.Aquat.Org.* 49; 117-122

Vidar Theis Aspehaug (2005) Characterization of Major Structural Proteins of the Infectious Salmon Anemia Virus (ISAV). PhD thesis UiB 2005

Jannicke Wiik 2005 Monoklonale antistoffer mot infeksjons lakscanemivirus (ILAV): Etablering, karakterisering og serotyping. MSc. thesis

Knut Falk og Edgar Brun (2005). Sakkyndig uttalelse til Nord-Troms tingrett: Den offentlige påtalemyndighet mot Kåre Alvin Pedersen, Hans Otto Larsen, Finn Antonsen og Akva Ren AS ("Rotsund-saken")

Dale, O.B., Falk, K., Kvellestad, A. 2005 Informasjon om Infeksjons lakseanemi (ILA) til oppdrettere og andre aktører i akvakultur Sammensatt for Mattilsynet av, Seksjon fiskehelse, Veterinærinstituttet.
http://www.mattilsynet.no/portal/page?_pageid=54,40083&_dad=portal&_schema=PORTAL&_piref54_40088_54_40083_40083.artSectionId=2610&_piref54_40088_54_40083_40083.articleId=19818&navigation1_parentItemId=2027&navigation2_parentItemId=2027&navigation2_selectedItemId=2427

Møtepresentasjoner knyttet til prosjektet

Falk, K., Aspehaug, V., Biering, E., Endresen, C. (2002) Identification, characterisation and functional aspects of ISA virus structural proteins. 5th International Symposium on Viruses of Lower Vertebrates, Seattle, Washington, USA

Dale, O.B., Falk, K. (2002) ISA in Atlantic salmon: pathology and Immunohistochemistry. 5th International Symposium on Viruses of Lower Vertebrates, Seattle, Washington, USA

Aspehaug, V., Falk, K., Krossøy, B., Jegatheswaran, T., Sanders, L., Moore, L., Endresen, C., Biering, E. (2002) Infectious salmon anemia virus (ISAV) genomic segment 3 encodes the viral nucleoprotein, an RNA-binding protein. 5th International Symposium on Viruses of Lower Vertebrates, Seattle, Washington, USA

Biering, E., Falk, K., Hoel, E., Thevarajan, J., Joerink, M., Nylund, A., Endresen, C., Krossøy, B. (2002) Segment 8 encodes a structural protein of infectious salmon anemia virus (ISAV); The co-linear transcript from segment 7 probably encodes a non-structural or minor structural protein. 5th International Symposium on Viruses of Lower Vertebrates, Seattle, Washington, USA

Aspehaug, V., Falk, K., Krossøy, B., Jegatheswaran, T., Sanders, L., Moore, L., Endresen, C., Biering, E. (2002) ILAV segment 3 koder for virusets nukleoprotein, et RNA-bindende protein med to kjernelokaliseringer sekvenser. HAVBRUK 2002, Tromsø

Wiik, J., Falk, K. (2002) Serotyping av ILA-virus ved hjelp av monoklonale antistoffer. HAVBRUK 2002, Tromsø

Hellebø, A., Vilas, U., Falk, K., Vlasak, R. (2003) The hemagglutinin of Infectious Salmon Anaemia virus is an acetyltransferase specific for 4-O-acetylated sialic acids. 1st International Congress on Viruses and Glycans, Göteborg

Falk, K. (2003) Infectious salmon anaemia – Aspects of pathology and epidemiology. Foredrag/seminar Westren Fisheries Research Center, Seattle, USA

Wiik, J., Clouthier, S.C., Falk, K. (2003) Monoclonal antibodies to the ISAV Haemagglutinin: Characterisation and typing of different isolates using indirect immunofluorescence. EAAP XIth International Conference on Diseases of Fish and Shellfish, Malta

Hellebø, A., Vilas, U., Falk, K., Vlasak, R. (2003) The receptor-destroying activity of Infectious Salmon Anaemia virus: Current developments. EAAP XIth International Conference on Diseases of Fish and Shellfish, Malta

Falk, K. (2003) Pågående ILA virksomhet og prosjekter. Fellesmøte om ILA-forskning, Oslo, nov 2003

Falk, K., Wiik, J., Clouthier, S. (2004) Antigenic Variation- and Preliminary Identification of Antigenic Determinants on the ISAV Haemagglutinin-Esterase (HE) Protein. 6th International Symposium on Viruses of Lower Vertebrates, Hakodate, Japan

K.Falk, A.Hellebø, R.Vlasak, V.Aspehaug, C.Endresen (2004) Lokalisering og karakterisering av ILA-virus reseptorødeleggende aktivitet NFR programkonferanse Havbruk 2004, Gardermoen

G.Knudsen, K.Falk, O-M.Rødseth, J.Thevarajan, E.Biering (2004) Infeksiøs lakseanemi - utvikling av en rekombinant markørvaksine. NFR programkonferanse Havbruk 2004, Gardermoen

Falk, K. & Dale, O.B. (2006) Experimental evidence indicating that lack of viral receptor destroying enzyme (RDE) activity is a major factor for infectious salmon anaemia (ISA) pathogenesis. 5th International Symposium on Aquatic Animal Health, San Francisco.

Dale, O.B., Kvellestad, A., Falk, K. (2006) An overview of infectious salmon anaemia pathology and suggested pathogenesis. 5th International Symposium on Aquatic Animal Health, San Francisco

Andre referanser:

Falk, K., Namork, E., Rimstad, E., Mjaaland, S., Dannevig, B.H. (1997) Characterization of infectious salmon anaemia virus, an orthomyxo-like virus isolated from Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *J.Virol.* 71: 9016-9023.

Falk, K. & Dale, O.B. (2006) Experimental evidence indicating that lack of viral receptor destroying enzyme (RDE) activity is a major factor for infectious salmon anaemia (ISA) pathogenesis. 5th International Symposium on Aquatic Animal Health, San Francisco.