

4.4

Smitteoverføring i oppdrett

Oppdrett handler ikke kun om lakseproduksjon. Næringen er i ferd med å få bredde: Noen kveiteanlegg er på plass, torskeoppdrettet er voksende, og etter en tøff start ser det også ut til at blåskjellnæringen er i vekst. De “nye” artene gir oss nye utfordringer – ikke minst knyttet til avstand mellom anlegg med ulike oppdrettsarter og kontakt mellom oppdrettsartene og ville fisk og skjell utenfor anleggene. Vi må regne med transport av sykdomsfremkallende organismer begge veier.

Øivind Bergh
oivind.bergh@imr.no

Stein Mortensen
stein.mortensen@imr.no

Overlevelse av sykdomsfremkallende organismer i vann

Sykdomsfremkallende mikroorganismer vil ha ulik overlevelsessevne i de frie vannmasser. Frie viruspartikler vil bli mer eller mindre inaktivert av UV-stråler, mens virus som er bundet i organiske partikler i større grad vil kunne bli stabilisert. Det vil også være stor forskjell i overlevelsestid mellom ulike typer virus, siden virus er “konstruert” svært forskjellig fra naturens side.

De fleste bakterier som kan forårsake sykdom hos fisk er såkalt opportunistisk sykdomsframkallende, og kan overleve og formere seg utenfor verten. Slike bakterier kan overleve i vann i lengre tid. Omkring 1990 ble det publisert flere arbeider som omhandlet bakteriers evne til å tåle sulting, og de konkluderte med at mange slike bakterier kan overleve lenge, både i vannmasser og i sedimenter. I dag vet vi at bildet er mer sammensatt. Omsetningen av bakterier i naturen kan være høy, og det betyr at bakterier som ikke formerer seg raskt kan minke i antall.

Oppportunistisk sykdomsframkallende bakterier har et mye videre sett av overle-

velsesstrategier enn det vi finner hos virus eller obligat patogene bakterier (bakterier som ikke kan overleve på andre måter enn ved å framkalle sykdom hos en vert). Opportunister kan ikke bare overleve uavhengig av verter, de kan ofte utgjøre en del av vertenes normalflora. Det betyr at de er til stede hos friske individer, og først utløser sykdom når verten svekkes, for eksempel som følge av temperaturendringer, ekstrem sult eller andre former for stress. Mange slike bakterier, for eksempel *Listonella (Vibrio) anguillarum*, *Vibrio splendidus* og atypiske *Aeromonas salmonicida*, er kjent fra mange arter av fisk og virvelløse dyr.

Opptak i filtrerende organismer

En mulig distribusjonsvei for viruspartikler i sjøvann er via opptak i filtrerende organismer, hvor viruset kan bli akkumulert. Filtrerende organismer er derfor vurdert som en potensiell risiko for akkumulering og spredning av fiskepatogene mikroorganismer. Disse mikrobenes skjebne i filtrene er imidlertid avhengig av deres følsomhet for normale fordøyelsesprosesser etter opptak. Ulike mikrober har ulike egenskaper, og det er derfor sannsynlig at noen akkumuleres, mens andre blir hurtig inaktivert i filtrerende organismer. Bakterier utgjør for eksempel ofte en del av den naturlige kosten til skjell. På den annen side er det kjent at flere bakterier som kan forårsake sykdom hos mennesker kan overleve i skjell over en viss tid. Også

Figur 4.4.1
Nyreutstryk fra leppefisk.
Bacterial sampling from kidney of wrasse.



Foto: Lars Magne Haram

Foto: Yvonne Bonéte



Figur 4.4.2
Asiatisk teppe-
skjell fra Seløy-
pollen, Tysnes i
Sunnhordland.
Manilla clam,
Ruditapes
philippinarum
fra Seløy-
pollen, Tysnes,
Sunnhordland.

virus tas opp i skjell. Uten at de utløser sykdom hos skjellet kan de utgjøre en trussel for dem som spiser skjellene. Det er for eksempel veldokumentert at viruset som forårsaker hepatitt A kan smitte via østers, noe som understreker betydningen av god hygiene omkring dyrking og oppbevaring av skjell.

Sykdom hos leppefisk

I flerartskulturer må vi være ekstra oppmerksomme på en eventuell smitteoverføring. Et spesielt eksempel på flerartskultur er bruken av leppefisk mot lakselus, der en eller flere arter av leppefisk brukes innenfor oppdrettsmerkene. Dette er svært vanlig både i norsk, skotsk og irsk oppdrett, og representerer en miljøvennlig metode for å bekjempe lakselus. Hvis det finnes muligheter for smitteoverføring, kan vi tenke oss at sykdom hos leppefisk også kan være en potensiell trussel mot laksen. Det finnes etter hvert noen publiserte vitenskapelige arbeider om sykdom hos leppefisk. Foreløpig er det ikke funnet noen sykdomsframkallende organismer hos leppefisk som utgjør noen konkret trussel mot laksen. Her må det understrekes at virussykdommer hos leppefisk er svært lite kjent. Parasitter er bedre undersøkt, og parasitter som er beskrevet hos leppefisk er neppe en trussel mot laksen. Når det gjelder bakterielle sykdommer er bildet mer sammensatt. Kunnskapstilfanget har økt de siste årene, blant annet gjennom flere prosjekter ved Havforskningsinstituttet.

De ulike artene av leppefisk ser ut til å ha ulik mottakelighet for forskjellige bak-

terielle sykdommer. Bergnebb er utsatt for atypisk furunkulose, og sykdommen utløses vanligvis i forbindelse med stress. Grønnlyt synes å være mer utsatt for ulike sykdomsframkallende bakterier i slekten *Vibrio*. Begge disse gruppene av bakterier kan utløse sykdom på bergnebb, men en hovedoppgave i fiskehelse som ble utført ved Havforskningsinstituttet i 2004 konkluderte med at bergnebb er relativt lite følsom for stress, og at dette i relativt liten grad utløser sykdom hos arten. Sannsynligvis kan forhold knyttet til utsetting av leppefisk i merd utløse stress og føre til dødelighet. Det finnes i dag tilgjengelige manualer og kvalitetssikringsprosedyrer for bruk av leppefisk. De gjør det mulig å dempe sykdomsrisikoen og øke effekten av leppefisk som "middel" i kampen mot lakselusa. De bakteriene som er kjent fra leppefisk har ikke gitt sykdom hos laks i smitteforsøk. Det gir grunn til å se optimistisk på en fortsatt bruk av leppefisk.

Finnes det beslektede bakterier i skjell og fisk?

Vi isolerte i 2000–2001 bakteriene *Vibrio splendidus* og *Vibrio tapetis* fra grønnlyt med symptomer på vibriose. *Vibrio splendidus* er kjent fra en lang rekke fiske- og skjellarter. *Vibrio tapetis* ble isolert for første gang i Norge, og for første gang fra et virveldyr overhodet. Hittil var denne bakterien kun isolert fra teppefisk, først og fremst arten asiatisk teppefisk eller "Manilla clam", *Ruditapes philippinarum*, der den forårsaker sykdommen "Brown Ring Disease" (BRD). Dette er den dominerende sykdommen på denne arten, som

i Europa blir oppdrettet i Spania og Frankrike. Seint på åttitallet og fram til 1991 ble det gjort utsetningsforsøk med denne arten ved flere ulike lokaliteter i Norge.

Det ble etablert kontakt med et forskningsmiljø ved Université Bretagne Occidentale i Brest i Frankrike, ledet av Dr. Christine Paillard. Gjennom det norsk-franske AURORA-programmet ble det innvilget reisemidler i 2002–2005, som har muliggjort relativt omfattende norsk-fransk forskerutveksling. Det norsk-franske prosjektet har studert vertsspekteret for *Vibrio tapetis*, og hadde basis i feltarbeid ved to lokaliteter, Glenan-øyene ved sydkysten av Bretagne, og Seløy- og Espevikpollene i Tysnes i Hordaland. Det ble gjennomført omfattende prøvetakinger av ulike skjell- og leppefiskarter. Leppefisk ble valgt fordi vi visste at bakterien fantes hos grønnlyt, og at leppefisk spiser skjellyngel.

Ett av resultatene var isolering av *V. tapetis* og påvisning av BRD på asiatisk teppefisk ved lokaliteten i Seløypollen. Dette er første påvisning av sykdommen BRD i Norge. Fra før var det beskrevet at skjellene ikke hadde formert seg ved de norske lokalitetene, og funnene fra feltarbeidet i 2003 og 2004 bekreftet dette bildet. Det ble kun funnet store individer, som sannsynligvis ble satt ut omkring 1990. Små individer av asiatisk teppefisk ble ikke funnet. Det ble tatt prøver fra et vidt spekter av andre mulig infiserte fiske- og skjellarter i området. Det ble funnet en rekke bakterieisolater som likner *Vibrio tapetis*. Likevel viste en omfattende genetisk undersøkelse

av isolatene, basert på bakterienes 16 S ribosomale DNA, som er et vanlig brukte gen i taksonomiske undersøkelser, at isolatene var forskjellige fra isolatene fra asiatiske teppeskjell. Dette gjaldt også isolatene fra grønngylt, inklusiv isolatene fra 2000–2001. Vi kunne derfor konkludere med at en overføring av smitte ikke så ut til å ha funnet sted.

Kan ILA-virus overleve i blåskjell?

En av de mest problematiske sykdommene i norsk lakseoppdrett de siste årene er infeksøs lakseanemi, som er forårsaket av infeksøs lakseanemi-virus (ILAV). Det er viktig å kunne vurdere mulige smitteveier for dette viruset. Vi har villet belyse om blåskjell kan fungere som vektor for ILAV. Studier av dynamikken i virusdistribusjonen er avhengig av følsomme og pålitelige påvisningsmetoder. Det har derfor vært en viktig oppgave å utvikle diagnostikk basert på moderne molekylærbiologiske teknikker, som kan fange opp svært små mengder ILAV i blåskjellvev. Metoden er basert på såkalt PCR-teknologi, og gjenkjenner genetisk materiale fra viruset. Denne deteksjonsmetoden er deretter brukt som analyseverktøy både i eksperimentelle studier i smittelaboratorier, og ved forsøk der vi har sett om vi kan detektere ILAV i feltmateriale, det vil si blåskjell samlet inn ved utbrudd av ILA i lakseanlegg. I forbindelse med samlokaliseringprosjektet HASUT i Trøndelag ble det samlet inn en rekke prøver av blåskjell ved ILA-utbrudd hos laks og sendt til Veterinærinstituttet i Bergen. Prøvene ble analysert ved bruk av to forskjellige PCR-baserte metoder; én metode analysert på individnivå (ved Havforskningsinstituttet) og én basert på samleprøver (utført av Veterinærinstituttet). Det ble ikke påvist ILAV i noen av disse prøvene.

De eksperimentelle studiene er basert på en modell hvor blåskjell eksponeres for en kjent virusmengde under standardiserte betingelser. Det er deretter gjennomført en serie eksponeringsforsøk med påfølgende PCR-basert påvisning av ILAV i blåskjellvevet. Resultatene tyder på at ILAV brytes hurtig ned i blåskjell etter optak, da det

ikke er mulig å påvise ILAV få døgn etter smitte. Det er viktig å være klar over at PCR-baserte metoder ikke sier noe om ILAV eventuelt er infeksøs, og det ble derfor utført kontrollforsøk hvor materiale fra ILA-infiserte skjell ble injisert i mottakelig laksesmolt. Kun fisk som ble injisert med materiale fra nylig infiserte skjell ble virus-positive. Dette bekrefter at ILA-viruset har en meget kort "levetid" i skjellene. En samlet konklusjon fra dette arbeidet er altså at blåskjell ikke ser ut til å representere et reservoar eller fungerer som vektor for ILA-virus.

Det er imidlertid viktig å unngå generaliseringer ut fra forsøk med ett enkelt virus. ILAV er ikke regnet som et spesielt "tøft" virus, og det er meget mulig at for eksempel nodavirus eller IPNV vil oppføre seg annerledes. Derfor arbeider vi nå med forsøk der også andre sykdomsfremkallende mikroorganismer inngår, og vi samler inn data som kan legges til grunn for en mer helhetlig analyse av skjell som mulige vektorer for fiskepatogene mikroorganismer.

Nodavirus og IPNV – kjent fra mange fiskeslag

Nodavirus og infeksøs pankreasnekrose-virus (IPNV) er kjent fra en rekke fiskearter. I Norge har nodavirus vært kjent som den viktigste årsaken til sykdom i kveiteoppdrett. Sykdommen kalles Viral Encephalopati og Retinopati, og angriper sentralnervesystemet til fisken. Hjernen, ryggmargen og netthinnen blir etter hvert ødelagt, og fisken får en atypisk atferd. Bildet er stort sett det samme i de mer enn tjue fiskeartene som hittil har vært kjent som verter for dette viruset. En kanadisk forskergruppe har nylig påvist sykdommen hos torsk, og det er all grunn til å være oppmerksom på muligheten for at oppdrettstorsk kan få denne sykdommen. Også IPNV har et vidt vertsspekter. Viruset er viktig hos laks, og har også vært en viktig dødelighetsårsak i oppdrett av kveite og piggvar. Vi vet lite om disse virusene hos villfisk, men det er ikke usannsynlig at de har en vid utbredelse i ville fiskebestander.

Summary

Farming is no longer only about salmon production. The aquaculture industry in Norway is starting to show diversity: Some halibut farms are in place, farming of cod is on the rise and after a rather hard start the growing of blue mussels show promise. These "new" species give us new challenges – especially concerning distance between farming sites of different species and contact between the farmed organisms and wild populations outside the farms. One must expect transport of diseases both ways. Survival of disease inducing organisms in sea water, especially bacteria like *Listonella (Vibrio) anguillarum*, *Vibrio splendidus* and atypical *Aeromonas salmonicida*, is known from many species of fish and invertebrates. Shellfish can take up and in some cases concentrate bacteria and virus through their filter feeding. In duo culture like with wrasse kept in salmon pens to clean off salmon lice one could expect a transfer of disease. The search for common pathogens for shellfish and fish are coordinated through the Norwegian–French programme AURORA.