

KUNNSKAP OM FISKEHELSE

I denne spalten vil Veterinærinstituttet i hvert nummer bidra med oppdatert kunnskap om fiskehelse. Ansvarlig for spalten er fiskehelseansvarlig Anne-Gerd Gjevre anne-gerd.gjevre@vetinst.no



Veterinærinstituttet
Norwegian Veterinary Institute

Av plasshensyn har vi valgt å utelate kildehenvisninger. Ta kontakt med spalteansvarlig dersom du ønsker opplysninger om dette.

Laks med HSMB

(hjerte og skjelettmuskelbetennelse) er mer følsom for lave oksygennivåer i vannet



Morten Lund er veterinær, ansatt på Veterinærinstituttet og har jobbet i et team av forskere fra Norges miljø- og biovitenskapelige universitet (NMBU), Veterinærinstituttet, PatoGen AS og Nofima for å få mer kunnskap om en av de store utfordringene for norsk oppdrettsnæring: virus sykdommen hjerte- og skjelettmuskelbetennelse (HSMB). Doktorgradsarbeidet til Morten Lund ble finansiert av to prosjekter fra hhv Norsk Forskningsråd (NFR#235788/E40) og Fiskeri- og Havbruksnæringens Forskningsfond (FHF#901001).



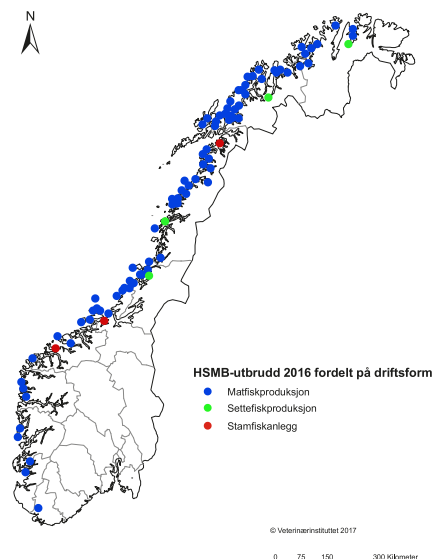
Maria K. Dahle var hovedveileder for Morten Lund og er seniorforsker ved Veterinærinstituttet i Oslo.

I en fersk doktorgrad ved Veterinærinstituttet og NMBU har Morten Lund studert de immunologiske og fysiologiske konsekvensene av en infeksjon med *Piscine orthoreovirus* (PRV) i atlantisk laks. I et kontrollert smitteforsøk undersøkte Lund hvordan PRV-infisert og HSMB-syk laks håndterte lave oksygennivåer (hypoksi) i vannet. Resultatene fra forsøket viste at den infiserte fisken har lavere toleranse for hypoksisk stress, men at tidligere kontrollert eksponering for hypoksi forbedrer denne toleransen.

Morten Lund og Maria Dahle

Fakta om HSMB

- Første gang beskrevet i 1999 på oppdrettslaks i Norge
- Utbrudd forekommer langs hele kysten
- Antall lokaliteter med utbrudd har variert mellom 101-180 per år siden 2007
- I 2010 ble viruset PRV assosiert med HSMB
- I 2014 ble det vist at PRV infiserer laksens røde blodceller
- Viruset PRV er påvist i oppdrettslaks i Norge, Skottland, Canada og Chile
- PRV er også påvist i vill laks og i sjøørret
- HSMB-utbrudd varierer i alvorlighetsgrad (inntil 20% dødelighet)
- Utbruddene karakteriseres med redusert appetitt og økt følsomhet for håndtering/stress
- I 2013 ble HSMB påvist i settefiskanlegg i forbindelse med forhøyet dødelighet
- HSMB er hovedsakelig et problem i norsk lakseoppdrett, men har også blitt beskrevet i Skottland (2005), Chile (2016) og BC Canada (2017)



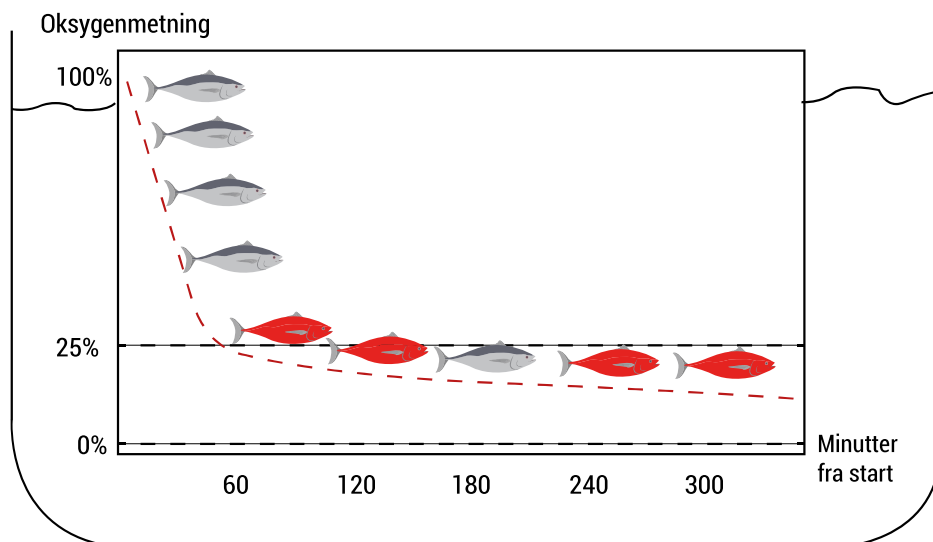
I 2010 ble det vist at viruset PRV var til stede i all HSMB-syk fisk. I 2017 ble årsakssammenhengen mellom PRV og HSMB slått fast av forskere ved NMBU.

HSMB er en tapsbringende virusssykdom i norsk lakseoppdrett som hovedsakelig er karakterisert av kraftig betennelse i hjertet. Sykdommen opptrer vanligvis i sjøfasen av produksjonen, men antallet HSMB-utbrudd i settefiskanlegg har økt siden 2013. Dette kan tyde på en økning av HSMB-problemet hos norsk oppdrettslaks.

Dødeligheten ved HSMB-utbrudd varierer og PRV blir også påvist i laks uten tegn til HSMB. Dette tyder på at tilleggsfaktorer påvirker sykdomsutviklingen etter en PRV-infeksjon. Økt dødelighet har i en del tilfeller vært knyttet til stress og håndtering av fisken, noe som kan tyde på at HSMB-syk fisk er mer sensitiv for slike påkjenninger. Men dette har tidligere ikke vært vist eksperimentelt.

Hva er sammenhengen mellom PRV-infeksjon og redusert toleranse for hypoksisk stress?

PRV infiserer over halvparten av de røde blodcellene i fisken. Den viktigste oppgaven til de røde blodcellene er å transportere oksygen fra gjellene til fiskens organer. En viktig forskjell mellom



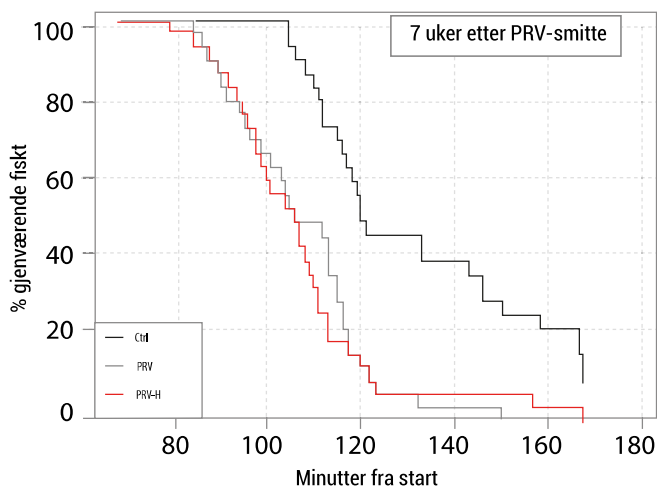
Figur 1. Hypoksi-toleranse testen. Etter hvert som O₂-metningen (den rød stiplede linjen) sank mistet fisken likevekt og besvimte (her indikert med rød fisk som har buket opp).

de røde blodcellene i fisk og pattedyr, er at fiskens røde blodceller har cellekjerne og har derfor en aktiv produksjon av proteiner som bl.a. hemoglobin. Det at de røde blodcellene hos fisk har en cellekjerne gjør også at de kan infiseres av virus. Et virus tar kontroll over cellene og benytter deres maskineri til å produsere nye virus. Virusinfiserte celler forsøker å motvirke dette ved å hemme sine normale funksjoner inntil den enten dør eller bekjemper infeksjonen. Hypotesen vi testet i denne undersøkelsen var om

PRV-infeksjonen i de røde blodcellene hemmer deres normale funksjon, nemlig oksygentransporten og hemoglobinproduksjonen. Konsekvensen av dette vil kunne gi redusert toleranse for hypoksisk stress ved lave oksygenverdier i vannet. Dette testet vi ved å gjennomføre en hypoksi-toleranse test (HCT) 4, 7 og 10 uker etter PRV-smitte. Tidspunktene ble valgt ut for å teste fisken i nøkkelfaser av infeksjonen og sykdomsutviklingen; uke 4 ved begynnende infeksjon i blod, uke 7 ved høyest nivåer av PRV i blod og begynnende betennelse i hjertet og i uke 10 når betennelsen i hjertemuskulaturen er som mest alvorlig. For å teste om moderat hypoksi påvirket PRV-infeksjonen, ble en av de PRV-infiserte gruppene utsatt for 40% oksygenmetning (O₂-metning) i fire timer ved uke 4, 7 og 10 etter PRV-smitte. Denne gruppen ble kalt PRV-H i forsøket.

Hypoksi-toleranse testen

Dagen før HCT-testen ble gjennomført, ble 30 fisk fra hver fiskegruppe (smittefri, PRV-infisert og PRV-H gruppe) håvet over i en felles tank (HCT-tanken). Testen startet ved at vi skrudde av vanntilførselen til tanken og målte O₂-metningen som gradvis sank på grunn av fiskens oksygenforbruk (Figur 1). Oksygenmetningen nådde ca 25% etter en time. Deretter reduserte



Figur 2. Overlevelseskurve (Kaplan-Meier kurve) fra hypoksi-toleranse testen (HCT) gjennomført 7 uker etter PRV-smitte. Figuren viser at den smittefrie gruppen (Ctrl, svart linje) har bedre toleranse for lave oksygenivåer sammenlignet med PRV-gruppen (PRV, grå linje) og PRV-gruppen som ble utsatt for perioder med 40% hypoksi (PRV-H, rød linje).

vi reduksjonen i O₂-metningen til 2-4% per time ved å boble inn nitrogengass i vannet. Etter hvert som O₂-metningen sank begynte fisken å miste likevekt og bikket til siden, dvs. den besvimte. Når dette skjedde, ble fisken håvet ut og O₂-metningen og tid fra start ble registrert. All fisken var merket med PIT-tagget i bukula. Ved å skanne denne når fisken ble håvet ut fra HCT-testen fant vi hvilke fiskegruppe den tilhørte.

Dette fant vi

Toleransen for hypoksisk stress var signifikant lavere hos den PRV-infiserte fisken ved uke 7 og 10 etter smitte sammenlignet med den smittefrie gruppen. På dette tidspunktet har virusinfeksjonen nådd det høyeste nivået i blod og hjerte i fisken. **Figur 2** viser resultatene fra hypoksitesten utført i uke 7 og den viser at PRV-gruppen har signifikant lavere toleranse for hypoksisk stress sammenlignet med den smittefrie gruppen. Dette tyder på at PRV-infeksjonen påvirker fiskens evne til å håndtere stress påført ved lave oksygenivåer.

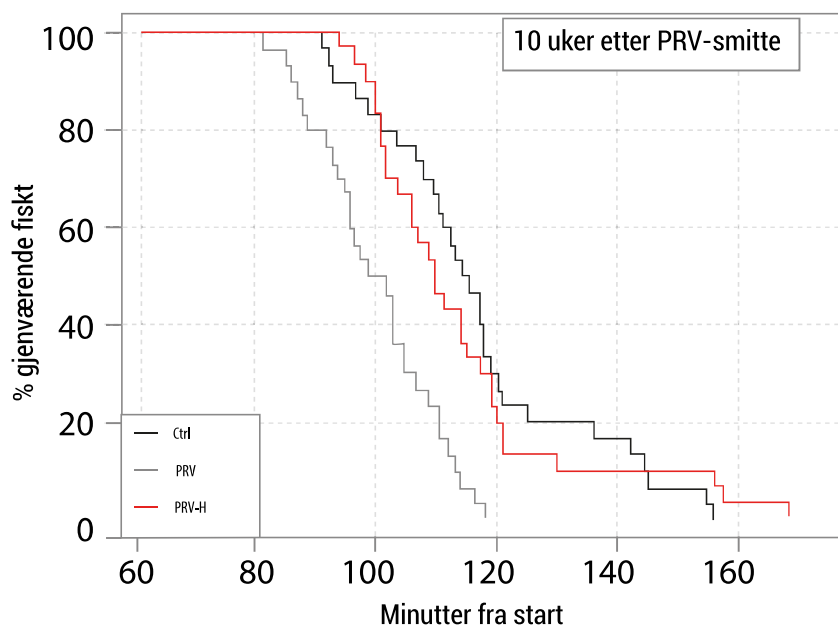
PRV-gruppen har fortsatt signifikant lavere toleranse for hypoksi 10 uker etter PRV-smitte sammenlignet med den smittefrie gruppen (Figur 3). På dette tidspunktet er virusnivåene i blodet og hjertet på vei ned mens betennelsen i hjertemuskel er på det mest alvorlige. Dette viser at HSMB-syk atlantisk laks har redusert toleranse for hypoksi og stress i en fase hvor hjertebetennelsen er på sitt kraftigste. Videre viser Figur 3 at PRV-H gruppen har signifikant forbedret toleransen for hypoksi sammenlignet med PRV-gruppen. På dette tidspunktet har PRV-H gruppen blitt utsatt for to perioder med 40% hypoksi ved uke 4 og 7. Dette tyder på at eksponeringen for disse nivåene av oksygen i en kort periode har forårsaket en toleranse/motstandsdyktighet hos fisken mot hypoksisk stress. Videre studier er nødvendige for å finne ut hvilke molekylære mekanismer som forklarer dette.

Vi fant ingen forskjell i utviklingen av PRV-infeksjonen eller HSMB i gruppen som hadde opplevd 40% hypoksi gjennom infeksjonen (PRV-H gruppen) sammenlignet med den PRV-infiserte

gruppen som ikke hadde opplevd hypoksi.

Konklusjon

Vi har vist at PRV-infisert og HSMB-syk atlantisk laks har redusert toleranse for hypoksisk stress. Denne toleransen ble forbedret etter at den infiserte fisken ble utsatt for perioder med lave oksygenivåer, noe som kan tyde på en trenings- eller tilpasningseffekt hos fisken. Disse resultatene kan forklare høy dødelighet i HSMB-utbrudd i forbindelse med lave oksygenivåer og håndteringsstress. Resultatene ble publisert i PLoS One i 2017 (www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28700748).



Figur 3. Overlevelseskurve (Kaplan-Meier kurve) fra hypoksi-toleranse testen (HCT) gjennomført 7 uker etter PRV-smitte. Figuren viser at den PRV-frie gruppen (Ctrl, svart linje), har bedre toleranse for lave oksygenivåer sammenlignet med PRV-gruppen (PRV, grå linje). PRV-gruppen som ble utsatt for perioder med 40% hypoksi (PRV-H, rød linje) har en forbedret toleranse for hypoksi sammenlignet med PRV-gruppen.