

Synspunkt og innhold i denne artikkelen er ikke nødvendigvis sammenfallende med Intervet/ Schering-Plough Animal Health sine synspunkter. Artikkelforfatteren er selv ansvarlig for innhold og synspunkter i artikkelen.

# Nodavirus – et virus fisken må leve med?

Kjetil Korsnes, Forskningsgruppe Akvatisk Helse og Velferd, Høgskolen i Bodø  
Kjetil.Korsnes@hibo.no

Et samarbeidsprosjekt mellom Havforskningsinstituttet, Universitetet i Bergen og Høgskolen i Bodø har sett på risiko for spredning av nodavirus i oppdrett av laks og torsk. Fokus har vært på mottakelighet og vurdering av risiko for overføring av viruset mellom ulike fiskeslag. På bakgrunn av resultatene fra prosjektet og gjennomgang av tilgjengelig litteratur foreslås tiltak som kan gjennomføres for å unngå at nodavirus gir et stort sykdomsproblem. Prosjektet var en del av PhD graden "Nervous necrosis virus (NNV) in farmed Norwegian fish species" ved Universitetet i Bergen.

## Nodavirus og VNN

Nodavirus, betanodavirus og nervøst nervevevsnekrosevirus; "kjært" barn har mange navn, og her er det snakk om det samme sykdomsfremkallende fiskeviruset som gir problemer på kveite og torsk i oppdrett. Sykdommen det forårsaker har også flere navn, men for å rydde i rekkene brukes her viral nervevevsnekrose (VNN) om sykdommen og nodavirus om viruset. VNN har først og fremst vært et problem i oppdrett av kveite og piggvar, men i 2006 kom det første utbruddet av sykdommen på oppdrettstorsk.

## Mottakelighet hos laks?

Da prosjektet ble startet var den første oppgaven å undersøke mottakelighet for nodavirusinfeksjon hos den viktigste oppdrettsarten i Norge, Atlantisk laks. Bakgrunnen for dette var tidligere rapporter, blant annet funn av nodavirus-lignende partikler i hjerte hos laks. For å undersøke om laks kunne bli smittet, ble smolt på rundt 100 gram testet ved at det ble injisert et kveitenodavirus i buken på fisken. Dette viruset var tidligere isolert fra et VNN utbrudd på kveite, og hensikten med smitteforsøket var å undersøke om viruset ville føre til sykdom hos laks. Hypotesen var at viruset ikke ville gi

sykdomsutvikling, men overraskelsen var stor da den smittede laksen både utviklet kliniske tegn til sykdom og etter hvert døde som følge av smitten. Dette resultatet tyder på at viruset er i stand til å frembringe sykdom dersom det infiserer laks. Men, en bukinjeksjon er en kunstig smittevei, slik at det ble klart at et nytt forsøk måtte gjøres for å se om viruset smitter på en naturlig måte.

Det andre smitteforsøket brukte kohabitanter, det vil si at smittede og friske individer ble satt i samme tank, for å undersøke om viruset ville være i stand å trenge inn i laks på egenhånd. Til dette forsøket ble piggvar brukt som smittekilde, der bukinjiserte piggvar ble satt i samme tank som frisk laks. I tillegg ble bukinjisert laks satt i samme tank som frisk laks, for å se om virus i smittet laks ville bli overført til de friske individene. I dette forsøket ble ikke nodavirus overført fra smittet fisk til frisk laks, noe som kan tyde på at laks kan ha en naturlig barriere mot infeksjon mot dette viruset. Men, det er grunn til forsiktighet med hensyn til mulig smitteoverføring. En mulig naturlig beskyttelse kan ødelegges hos laks ved for eksempel skader på de ytre overflater (luseangrep, slitasjeskader, sårutvikling, stress), noe som kan medføre at nodaviruset får lettere tilgang. Er viruset først kommet inn i fisken, har forsøk vist at det kan medføre sykdomsutvikling. Derfor er det en klar anbefaling at laks og marine arter ikke samlokaliseres.

## Torsk og nodavirus

I tillegg til laks ble også torsk undersøkt med hensyn til overføring av nodavirus. Fra litteraturen var det kjent at torsk er mottakelig, men i dette prosjektet ønsket en å undersøke om et kveitevirus kunne smitte torsken. Oppdrett av torsk er i rivende utvikling, og da prosjektet ble igangsatt var det ingen rapporter om nodavirus på torsk i Norge. Derfor ble det utført tilsvarende smitteforsøk som for laks, der hensikten var å se om et bukinjisert kveitenodavirus ville medføre sykdomsutvikling og bli overført på en naturlig måte. Den virusinjiserte torsken, med snittvekt på 100 gram, utviklet ikke kliniske tegn og ingen fisk døde i forsøket, men nodavirus ble påvist i store mengder ved hjelp av sanntids PCR (real-time PCR) i hjerne og

Order	Art	Navn	Geografisk lokalisering	Vill/ Oppdrett
Gladiformes	<i>Gadus morhua</i>	Atlantisk torsk	Norge	Vill
			Norge	Oppdrett
			Canada	Oppdrett
			UK	Oppdrett
	<i>Gadus macrocephalus</i>	Stillehavstorsk	Japan	Ukjent
	<i>Melanogrammus aeglefinus</i>	Hyse	Canada	Oppdrett
	<i>Pollachius virens</i>	Sei	Norge	Vill*
<i>Pollachius pollachius</i>	Lyr	Norge	Vill*	
Pleuronectiformes	<i>Pleuronectes americanus</i>	Winter flounder	USA	Vill
	<i>Solea solea</i>	Tunge	UK	Oppdrett
	<i>Hippoglossus hippoglossus</i>	Atlantisk kveite	UK	Oppdrett
	<i>Hippoglossus hippoglossus</i>	Atlantisk kveite	Norge	Oppdrett
	<i>Pleuronectes platessa</i>	Rødspette	Norge	Vill*
	<i>Verasper moseri</i>	Barfin flounder	Japan	Ukjent
Perciformes	<i>Scomber scombrus</i>	Makrell	Norge	Vill*

TABELL 1

Oversikt over kaldtvannsfisk der nodavirus har blitt påvist. Vill/ oppdrett = om nodaviruset er påvist på villfisk eller oppdrettsfisk, \*= kun påvisning med real-time PCR der genotype er ukjent. Genotyper av nodavirus fra kaldtvannsfisk er alle samlet i en fylogenetisk gruppe, som er forskjellig fra nodavirusisolater fra varmtvannsfisk

øye. Flere ulike vevstyper ble undersøkt for tilstedeværelse av virus, for å se hvordan nodavirus fordeler seg i torsk etter smitte. Hensikten med dette var å få en pekepinn på hvilke organer som kan egne seg for virusundersøkelser i mulig smittet torsk. Spesielt viktig er det å identifisere mulige organer for undersøkelser av stamfisk, der prøvetakningen ikke må medføre at fisken dør. Derfor ble i alt 12 ulike vevstyper undersøkt 25 og 130 dager etter injisering av viruset. I dette forsøket ble nodavirus først påvist i hjerte, nyre, milt og lever etter 25 dager, og etter 130 dager ble viruset påvist i store mengder i hjerne og øye. Viruset ble påvist i alle organer som ble undersøkt, noe som tyder på at viruset kan transporteres til mange organer. Undersøkelse av klinisk syk torsk med VNN diagnose viste samme bilde på vevsfordeling av virus, noe som tyder på at bukinjiseringen brukt i forsøket er representativ for en naturlig smittet torsk. Selv om resultatene fra vevsundersøkelsen ikke gav noen entydige svar, ser det ut til

at hodenyre kan være en kandidat for undersøkelser (biopsi) av stamfisk eller stamfiskrekrutter. Bruk av hodenyre til virusundersøkelser er ikke uten problemer, ettersom det reiser en del etisk spørsmål rundt hvordan prøvetakningen gjøres. Andre forsøk vil kunne gi svar på hvor god egnetheten er, og hvordan en eventuell prøvetakning kan utføres for å møte dyrevelferdskrav.

Det ble også utført et kohabitant forsøk tilsvarende som for laks, der smittet piggvar ble satt i samme tank som frisk torsk. Hensikten med dette var å undersøke om kveitenodaviruset kunne overføres naturlig fra piggvaren. I dette forsøket ble viruset påvist i torsken etter 90 og 125 dager. Det var ingen kliniske tegn til sykdom hos torsken, og resultatet kan tyde på at torsk er en mer mottakelig art en laks. Torsk ser ut til å bli lettere smittet, men den videre skjebnen til nodaviruset i den smittede torsken er ukjent ettersom forsøket ble avsluttet etter 125 dager.

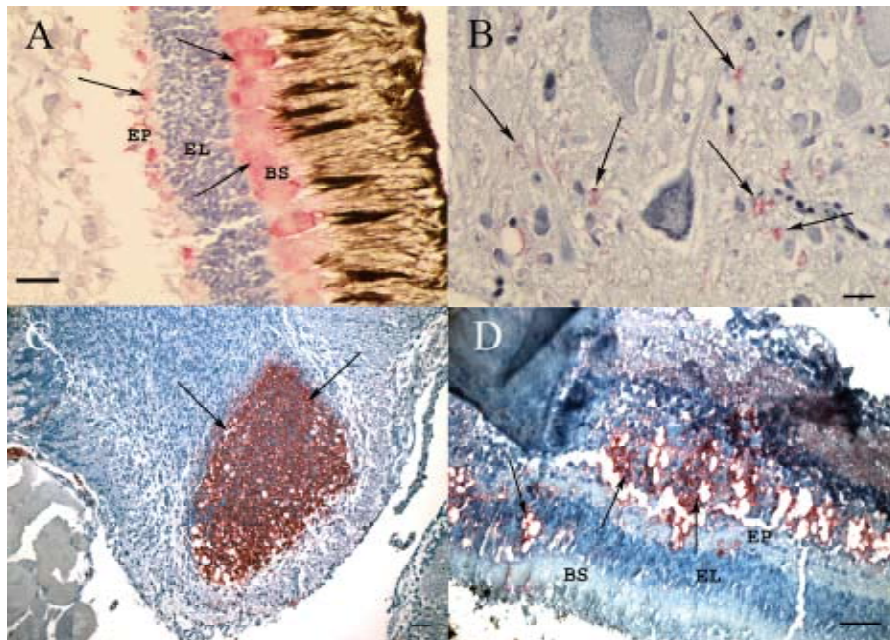
### Konklusjoner fra forsøkene

Hovedkonklusjonene fra forsøkene i prosjektet er: 1) Laks er en potensiell mottakelig vert for viruset, og samlokalisering med kjente mottakelige verter som kveite og torsk bør unngås. 2) Nodavirus isolert fra kveite er i stand til å formere seg i torsk, og dette viruset ble også overført gjennom vannmassene fra eksperimentelt smittet piggvar til frisk torsk. Samlokalisering av oppdrett av kveite og torsk bør derfor unngås for å redusere risiko for overføring av viruset mellom ulike fiskeslag. 3) Undersøkelse av hvordan viruset fordeler seg i fiskens ulike vevstyper i eksperimentelt smittet torsk tyder på at hodenyre kan være en kandidat for viruspåvisning. En slik undersøkelse kan være utgangspunktet for en seleksjon av virusfri stamfisk til bruk i oppdrett.

### Konsekvenser for oppdrett av fisk

Med utgangspunkt i resultatene fra de eksperimentelle forsøkene i prosjektet, ble tilgjengelig litteratur brukt for å vurdere mulige konsekvenser for oppdrett av fisk. Hensikten med dette var å identifisere risiko og skissere konkrete tiltak for å motvirke at nodaviruset blir et problemvirus. For å gjøre dette må en se på hvordan viruset blir overført, vertsspesifisitet, villfisks betydning og mulige økologiske aspekter.

For å forstå hvordan nodaviruset påvirker fisken, må en undersøke nærmere samspillet viruset har med sine mottakelige verter. Dette er basert på hvilke overlevelsesstrategier viruset har, som igjen er bestemt gjennom det evolusjonære samspillet med vertene. Sentralt her er spredningsmekanismene (infisering av nye verter), som i stor grad bestemmer egenskapene viruset må ha. I hovedsak kan spredning foregå horisontalt (mellom individer) eller vertikalt (mellom foreldre og avkom) eller som en kombinasjon av begge. Hvordan nodavirus overføres er bestemt av samspillet (eller balansen) mellom viruset og bestander av mottakelig fisk i naturen. For nodavirus er det vist både horisontal og vertikal overføring i flere fiskeslag, og spørsmålet er hvilken betydning disse spredningsmekanismene har? Dette kan være vanskelig å vurdere, noe som kan eksemplifiseres med diskusjonene rundt vertikal versus horisontal spredning av ILA-virus i oppdrett. Men, generelt er betydningen av horisontal eller vertikal spredning knyttet til virulens (evnen til å frembringe sykdom), der horisontal spredning ofte gir høyere virulens enn vertikal spredning. Dette fordi horisontal spredning favoriserer sykdomsorganismer med stor evne til å øke i antall i verten (frembringe sykdom), og som igjen kan infisere nye friske verter. Dette i motsetning til vertikal spredning, som favoriserer lav virulens for ikke å utrydde de nye vertene som blir infisert (avkommet), som igjen medfører mer langvarige infeksjoner (persistens) hos vertene. Resultatet av en infeksjon kan derfor betraktes som en



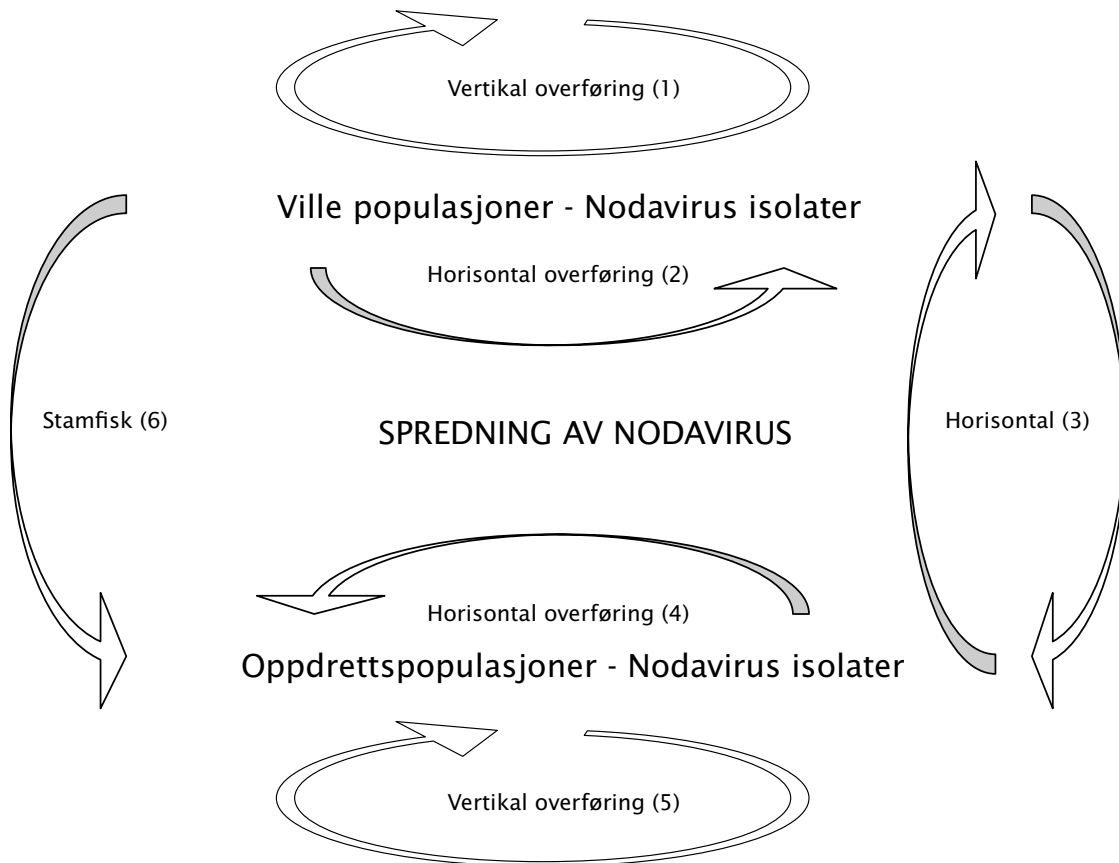
Figur 1  
Histologiske snitt av Atlantisk torsk (A), Atlantisk laks (B) og piggvar (C,D) som er farget med et spesifikt antistoff mot nodavirus (rød farge). A) sterk farging (piler) i et snitt av øye (retina) i eksperimentelt smittet torsk. B) Snitt av hjerne i eksperimentelt smittet laks, med nodavirus positive områder (piler) fordelt utover i vevet. C) Sterk farging i et større område (piler) av hjerne til eksperimentelt smittet piggvar. I dette området kan også patologiske forandringer som vakuolisering av celler sees. D) Immunfarging av et område av øye til eksperimentelt smittet piggvar. Målestokk = 20 µm.

lokalitet (oppdrett, levendelagring) eller etablerer nye lokaliteter i nærheten av bestander av villfisk.

For å forstå samspillet mellom nodavirus og mottakelige verter, kan en forenklet modell være nyttig å ha som bakgrunn for videre diskusjoner. Selv om den er forenklet, kan den illustrere hvilke tiltak som kan iverksettes for forebygging i oppdrett. Nodavirus kan betraktes som et vanlig virus i populasjoner av mange kaldevannsfisker, der mange ulike isolater tyder på en stor genetisk variasjon. I bestander av torsk har en detektert mange slike genetisk forskjellige isolater, noe som oppstår hovedsakelig som følge av mutasjoner og genetisk rekombinasjon. Et slikt bilde tyder på at mange virusisolater

er spredt og tilstedeværende i torskebestander, noe som er best forklart med at vertikal spredning er den viktigste overføringsmekanismen.

Vertikal overføring vil selektere for virusisolater med lav virulens og høy prevalens (antall smittede fisk) i en vertpopulasjon. Dersom horisontal spredning var det viktigste, ville dette selektere for lav genetisk variasjon (antall ulike virusisolater) etter som de virusisolatene med høyest spredningspotensiale (virulente) ville ha dominert. I en slik situasjon (horisontal spredning) ville det være en seleksjon for mer virulente isolater over tid. Hos torsk ser det ut til at spredningen av nodavirus forekommer etter kjønnsmodning og gyting, der fiskens immunsystem er dårligere som følge av de fysiologiske prosessene som er involvert i torskens



Oversikt over mulige smitteveier for nodavirus. Ulike spredningsmåter kan være; 1) vertikal overføring i ville bestander av fisk, 2) horisontal overføring mellom villfisk, 3) horisontal overføring mellom vill og oppdrettet fisk, 4) horisontal overføring mellom oppdrettsfisk, 5) vertikal overføring i oppdrett og 6) vertikal overføring gjennom bruk av nodavirusinfisert stamfisk. Se tekst for beskrivelse av hvordan samspillet mellom viruset og mottakelige verter kan forgå.

reproduksjon. Dette kan medføre at nodavirus i persistent infisert torsk (fisk som er smittet uten at det er utviklet sykdom) vil begynne å øke i antall når immunsystemet til torsken blir nedregulert (motstandsevnen blir dårligere). Når torsken gyter er et stort antall individer samlet på gytefeltet, der virus som frigis vil kunne infisere nye mottakelige torsk eller andre mottakelige arter i nærheten. På denne måten vil en ha både vertikal og horisontal spredning av nodavirus i naturen. En kan da se på livssyklusen til nodavirus som tilpasset livssyklusen til den mottakelige verten. I oppdrett vil en slik tilpasning bli brutt, ettersom en endrer seleksjonskriteriene gjennom økt tetthet av individer,

endring i miljøbetingelser (suboptimale betingelser for torsken), fysiologiske begrensninger (stress) og selve driftsprosedurene (f.eks. flytting av fisk) i oppdrett. Dersom nodavirus overføres både vertikalt og horisontalt i oppdrett, vil konsekvensene for økende virulens hos viruset bli redusert ettersom det i oppdrett vil være en kontinuerlig påfylling av nye mottakelige verter. I naturen vil en situasjon der utvikling av virulente virusisolat som overutnytter eller utrydder vertene bli selektert bort. Derfor kan en anta at det i oppdrett, over tid, vil medføre en seleksjon for mer virulente nodavirusisolater og dermed øke betydningen av horisontal spredning kraftig.

#### Forebyggende tiltak

Ut fra dagens kunnskap om nodavirus, bør en systematisk bekjempelsesplan bestå av følgende hovedelementer: A) Seleksjon av virusfri stamfisk for å unngå vertikal spredning, B) hold av stamfisk og yngel i et lukket og beskyttet akvakultursystem for å unngå horisontal spredning til sårbare individer, og C) utvikling av en vaksinasjonsstrategi der marin fisk vaksineres før transportering fra et lukket til et åpent oppdrettssystem der horisontal spredning kan forekomme. Slike forebyggende tiltak vil redusere risiko for spredning av nodavirus, og gjøre både fiskeoppdrettsnæringen og fisken i stand til å leve med viruset.