



# Nye histopatologiske observasjoner ved *Moritella viscosa*-sepsis

Veterinærinstituttet har så langt i år diagnostisert fire tilfeller fra ulike sjølokaliteter, med systemisk infeksjon med *M. viscosa* hos laks hvor de patologiske funnene skiller seg fra det så langt kjente, typiske sykdomsbildet. I denne artikkelen presenteres disse observasjonene.

Julie Christine Svendsen, Synne Grønbech, Miroslava Hansen (Veterinærinstituttet)

Sårutvikling i sjøfasen er et sammensatt problem, hvor flere agens kan gi sykdomsforandringer enten alene eller som blandingsinfeksjon. Utvikling av sår kan forekomme hele året, men er et typisk høst- og vinterproblem.

«Vintersår» tilskrives først og fremst infeksjon med bakterien *Moritella viscosa*, men bakterien sees relativt ofte i blandingsinfeksjon med *Tenacibaculum* spp. Ved dyrking fra sår påvises også gjerne andre bakterier som *Aliivibrio wodanis*, *Vibrio splendidus* og *Aliivibrio logei*. De ytre forandringene kjennetegnes av sår av varierende størrelse, som trenger gjennom huden og også kan involvere underliggende skjelettmuskulatur (4).

Mens infeksjon med *Tenacibaculum* spp. hovedsakelig settes i sammenheng med overflatiske lesjoner, er det ikke uvanlig med systemiske (påvirker et helt organsystem eller hele kroppen) infeksjoner med *M. viscosa* (7). Studier peker mot at hud, samt også gjeller kan være mulige inngangsportaler for bakterien (3, 5, 6).

Systemisk bakterieinfeksjon kan påvirke organsystemer ved bl.a. vevsskade i blodkar som fører til væskelekkasje og blødningsbilde. Immunceller/betennelsesceller vil komme til i forsøk på å bekjempe infeksjonen. Som følge av trombedannelser og reparasjonsprosesser i blodkar, kan mindre blodkar bli tilstoppet. Dette kan føre til at celler og områder av vevet som får sin blodforsyning fra det aktuelle blodkaret ikke får tilstrekkelig oksygen som er

nødvendig for overlevelse, noe som videre leder til nekrose (vevsdød). Det er også indikasjoner på at bakterielle giftstoffer kan være årsak til endringer i indre organer som observeres i forbindelse med vintersår (1, 9).

Typiske funn i indre organ, som er beskrevet ved infeksjon med *M. viscosa*, omfatter ofte lever med blødningsbilde eller utspilte, blodfylte kar og i enkelte tilfeller nekroser, varierende forekomst av erytrofagocytose (røde blodceller tatt opp/ «spist» av fagocytterende celler), sirkulasjonsforstyrrelser i andre organ, økt mengde betennelsesceller i sirkulasjonssystemet (blodkar, hjerte), varierende grad av endokarditt (betennelse i indre lag som kler hjertemuskulaturen eller hjerteklaffer) og i noen tilfeller sees endringer i nyrets ekskretoriske komponenter (står for filtrering av avfallsstoffer og urinproduksjon) (2, 6).

## Bakteriell infeksjon og vevsforandringer i hjerte

I 2023 har det ved Veterinærinstituttet vært diagnostisert fire tilfeller fra ulike sjølokaliteter, med systemisk infeksjon med *M. viscosa* hos laks hvor de patologiske funnene (vevsforandringer forårsaket av sykdom eller skade) skiller seg fra det så langt kjente, typiske sykdomsbildet. To av disse sakene stammet fra nabolokaliteter. Det har også vært et par ytterligere saker med lignende, men noe mer usikre funn.

Hovedfunnet i disse tilfellene har vært betennelsesforandringer som omfatter

hertet, hos flere med kraftig væskeutsiving med fibrinavleiring og pusslignende materiale i betent hjertehinne (fibrinøs/fibrinopurulent epikarditt) med bakterieinfiltrasjon i ulikt omfang.

I sak nr. 1 ble det ikke påvist bakteriell sårinfeksjon på individene i saken, men innsender beskrev sår på fisken på lokaliteten og det ble påvist bakteriell sårinfeksjon med rikelige mengder *M. viscosa* på flere individer en måned tidligere. Ved histopatologisk undersøkelse ble det observert kraftig fibrinøs epikarditt og rikelig forekomst av korte stavbakterier både i hjertehinna og i hulrom av hjertets forkammer hos ett individ. Det ble gjort immunhistokjemisk undersøkelse (IHK) med antiserum rettet mot *M. viscosa*, *Aeromonas salmonicida* subsp. *salmonicida* og *Pasteurella* sp. Analysene var negative for de to sistnevnte bakterieartene, men det var uttalt positiv merking som for *M. viscosa* i områdene hvor lesjoner og bakterier kunne observeres på hematoksylin-eosin (HE)-fargede snitt. Utover disse funnene var det moderate betennelsesforandringer og noe nekrose i hjertemuskulaturen. Øvrige patologiske forandringer i andre organ inkluderte områder med nekrose i lever, samt kraftige vevsforandringer i gjelle med funn av *Neoparamoeba peruans* (AGD) og *Ichthyobodo* sp. («Costia»).

Sak nr. 2 stammet fra nabolokaliteten, hvor det i sykdomshistorien ble skildret forhøyet dødelighet og ytre skader. Det var påvist *M. viscosa* ved dyrkning fra kultur fra byll, hjerte og nyre en måned tidligere. I denne saken ble det ved den histopatologiske undersøkelsen observert bakteriell sårinfeksjon hos et av individene. Det var en blandingsinfeksjon med både korte stavbakterier, samt lengre, filamentøse *Tenacibaculum*-lignende bakterier. Lignende vevsendringer som i sak 1 kunne observeres i hjertet hos ett individ. Her var det i tillegg større områder med blødning i epikard, hvor det også var betennelse og nekrose av hjertemuskel (myokard) i tilstøtende, ytre, kompakte del av hjertekammeret. Også her ble det utført IHK rettet mot *Pasteurella* sp. og *M. viscosa*, og sistnevnte gav uttalt positiv merking i områder hvor bakterielle strukturer og vevsendringer kunne observeres på HE-fargede snitt (Figur 1).

Utover disse funnene var det sparsomme betennelsesforandringer i hjertet, men det ble påvist forandringer forenelig med kardiomyopatisyndrom (CMS) på andre individ på lokaliteten.

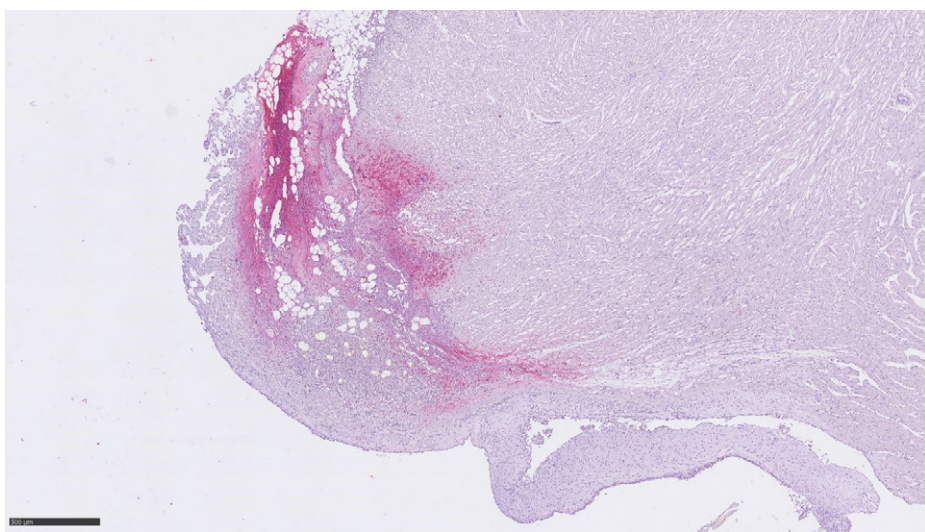
Sak nr. 3 kom fra en annen lokalitet i geografisk nærliggende område til de to foregående. Fiskehelsetjenesten beskrev her et sår ved basis av brystfinnen og ved åpning av fisken var hjertehuleveggen hyperemisk (makroskopisk tegn på økt blodtilførsel). Det ble ellers skildret noe blek muskulatur og organpakke. Ved histopatologisk undersøkelse ble det avdekket fibrinøs/fibrinopurulent epikarditt med blødninger og trombelignende masser, og i hjertets forkammer var det områder der de ytre betennelsesforandringer spredte seg innover i hjertemuskulaturen. I lesjoner i ytre lag av forkammeret ble det observert bakterier. IHK viste positiv merking for *M. viscosa* her, og også i epikard i andre områder av hjertet. I lever var det mindre områder med nekroser. Hos andre fisk fra lokaliteten ble det avdekket sårinfeksjoner der det ved histopatologi ble påvist dobbeltinfeksjon med korte staver og lengre *Tenacibaculum*-lignende bakterier. De korte stavene var positive ved IHK for *M. viscosa*.

Sak nr. 4 er fra ytterligere en annen lokalitet, relativt nært lokaliteten fra sak nr. 3. Også her beskrev fiskehelsetjenesten

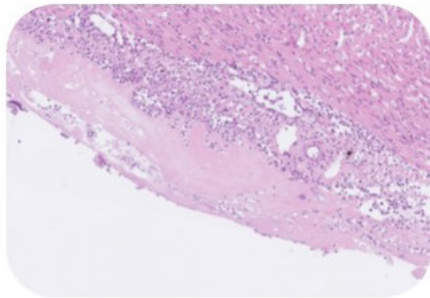
sår ved finnebasis. Såret var åpent inn til hjertehulen, og det ble observert betennelsesforandringer i hjertehinnen og i bukhule. Histopatologisk undersøkelse av hjerte viste lignende vevsforandringer som i de andre sakene. Funnene omfattet oppløst vev med stedvis bakteriellignende strukturer, samt blødninger og utspilte blodkar i epikard, og tegn på sirkulasjonsforstyrrelse (blødning eller blodopphopning) i hjertekammer. I lever var det områder med betydelig nekrose og blødning. IHK rettet mot *M. viscosa* ga merking i både hjerte og lever. I hjertet omfattet dette både epikard og noe i overgangen mellom kompakt og spongiøs muskulatur i hjertekammer. I lever var det sparsom merking i områder med nekrotisk vev, stedvis av bakteriellignende strukturer. Det ble observert sirkulasjonsforstyrrelser i flere andre organ. Det var ikke funn av sår hos andre fisk som ble prøvetatt.

## Diskusjon

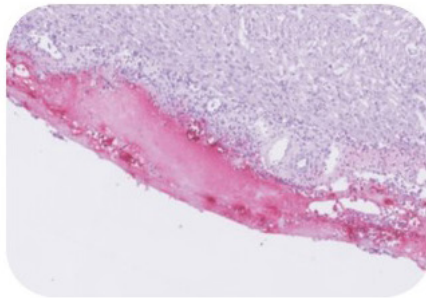
Utbrudd av sårtilstander kan ofte settes i sammenheng med tidligere håndtering av fisken som f.eks. ved avlusning, og oppstår særlig ved kalde sjøvannstemperaturer, selv om sårutvikling med *M. viscosa* også påvises ved varmere årstider. Det blir også observert utbrudd av vintersår uten forutgående håndtering. I senere år har infeksjon med *M. viscosa* vært et økende problem, til tross for at det vaksineres



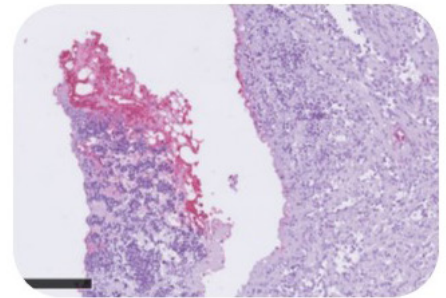
Figur 1: Sak 2, hjerte, epikard, immunhistokjemisk undersøkelse for *Moritella viscosa*. Sterk positiv merking i område hvor bakteriellignende strukturer og vevsendringer ble observert på HE-farget snitt.



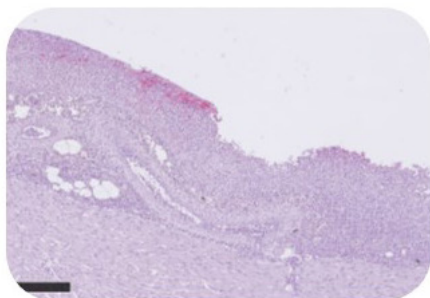
Sak 1, hjertekammer/epikard, HE-fargemetode. Kraftig fibrinøs epikarditt med moderat til rikelig forekomst av korte stavbakterier.



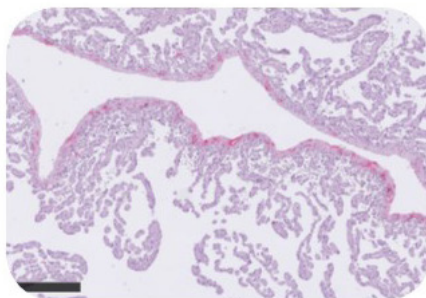
Sak 1, hjertekammer/epikard, IHK *Moritella viscosa* (samme vevsutsnitt som bilde t.v.). Sterk positiv merking (rød farge) i samme område som lesjoner observeres på HE-farget snitt, også av bakterielle strukturer.



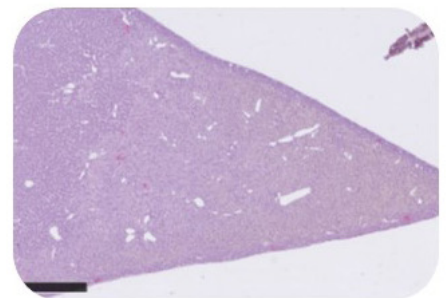
Sak 3, forkammer/epikard, IHK *Moritella viscosa*. Område med lesjon og funn av bakterier som merkes positivt.



Sak 3, hjertekammer/epikard, IHK *Moritella viscosa*. Fibrinopurulent epikarditt med merking i ytre områder.



Sak 4, forkammer, IHK *Moritella viscosa*. Merking i oppløste områder av epikard hvor det observeres bakteriellignende strukturer.



Sak 4, lever, IHK *Moritella viscosa*. Større område med nekrose og blødning i vevet mot spissen av biopsien. Spredte mindre områder med merking i nekrotisk vev, stedvis av bakteriellignende strukturer.

Figur 2: Viser et utvalg av de patologiske funnene i de forskjellige sakene. Felles for alle sakene er positiv merking av lesjoner og/ eller bakterielle strukturer i hjertet ved immunhistokjemisk undersøkelse (IHK) rettet mot *Moritella viscosa*. Merk kraftig fibrinøs epikarditt i sak 1, samt positiv merking ved IHK for *M. viscosa* i tilknytning til lesjoner i lever i sak 4.

rutinemessig mot bakterien. I 2022 ble bakterien påvist på 296 lokaliteter med laks, samt fire lokaliteter med regnbueørret, ved Veterinærinstituttet (7). Det må antas at dette er et underestimat siden det ikke sendes prøver for laboratorieundersøkelse fra alle sårutbrudd.

Genetiske analyser viser at *M. viscosa* kan deles i flere nært beslektede subpopulasjoner, såkalte klonalkomplekser (CC). Frem til rundt tusenårskiftet var isolater i CC1 (også kjent som 'typisk' *M. viscosa*) eksklusivt dominerende ved sykdomsutbrudd hos norsk laks. Så fulgte en tiårs-periode med en betydelig andel tilfeller som kunne tilskrives bakterier i CC2, etterfulgt av en ny tiårs-periode sterkt dominert av enda en ny variant, CC3, før CC1 igjen har kommet

mer tilbake siden ca. 2021, og nå ser ut til å dominere sammen med CC3. Utbrudd der flere *M. viscosa* klonalkomplekser kan påvises samtidig på samme lokalitet, eller sågar i samme fisk, er ikke uvanlig. I flerkomponent vaksiner som eksisterer på markedet i dag, faller komponenten for *M. viscosa* etter all sannsynlighet inn i CC1, hvilket kan tenkes å ha bidratt til fremvekst av andre genotyper(8).

Det foreligger ikke bakterieisolater fra fiskene som er beskrevet og det tas forbehold om at det i den immunhistokjemiske testen er brukt et polyklonalt antiserum mot *M. viscosa*, som påviser *M. viscosa*, men i teorien også bakteriersom er svært nærbeslektet. Det er derfor foreløpig uvisst om de patologiske forandringene som er beskrevet over kan knyttes spesifikt til enkelte klonalkomplekser

eller varianter av *M. viscosa*. Dersom en slik kobling foreligger, kan det muligens indikere stammeforskjeller mtp. virulenssegenskaper (virulens: grad av sykdom et agens kan forårsake) til bakterien. Det er per i dag manglende kunnskap om eventuelle forskjeller i virulens mellom ulike klonalkomplekser, og dette er ett av flere felt som vil studeres gjennom et kommende FHF-prosjekt (FHF-nr. 901838) ledet av Veterinærinstituttet.

Med hensyn til differensialdiagnoser er purulent betennelse i bukhinne og hjertehinne vanlig ved infeksjon med *Pasteurella* sp. Det ble derfor gjort IHK rettet mot bakterien i enkelte av sakene, uten funn som indikerte infeksjon.

I et par av tilfellene som er beskrevet i sakene over er det indikasjon på at forandringer observert i hjertet kan knyttes til sårutvikling nær hjertehulen (ved brystfinner), som kan ha fungert som inngangsport for systemisk infeksjon. Ved uttak av prøver til histologi anbefaler vi at vev fra eventuelle sårlesjoner nær hjertehule inkluderes, samt at det tas ut prøver til bakteriologisk dyrkning også fra hjertet ved makroskopiske hjerteforandringer. Genotyping av isolater ved sykdomsutbrudd med lignende vevsforandringer kan videre bidra til mer kunnskap om eventuelle sammenhenger mellom *M. viscosa*-varianter og patogenitet.

Takk til: Anne Berit Olsen, Hanne Nilsen, Snorre Gulla, Duncan Colquhoun, Karoline Sveinsson og Toni Erkinharju ved Veterinærinstituttet for verdifulle faglige innspill og hjelp til utforming av artikkelen •

#### Kilder:

- 1) Bjornsdottir, B., Fridjonsson, O. H., Magnusdottir, S., Andresdottir, V., Hreggvidsson, G. O., & Gudmundsdottir, B. K. (2009). Characterisation of an extracellular vibriolysin of the fish pathogen *Moritella viscosa*. *Veterinary microbiology*, 136(3-4), 326-334.
- 2) Bruno, D. W., Griffiths, J., Petrie, J., & Hastings, T. S. (1998). *Vibrio viscosus* in farmed Atlantic salmon *Salmo salar* in Scotland: Field and experimental observations. *Diseases of Aquatic*

- 3) Karlsen, C., Sørum, H., Willassen, N.P., Åsbakk, K., 2012. *Moritella viscosa* bypasses Atlantic salmon epidermal keratocyte clearing activity and might use skin surfaces as a port of infection. *Vet. Microbiol.* 154, 353-362.
- 4) Lunder, T., Evensen, Ø., Holstad, G., & Håstein, T. (1995). 'Winter ulcer' in the Atlantic salmon *Salmo salar*. Pathological and bacteriological investigations and transmission experiments. *Diseases of Aquatic Organisms*, 23(1), 39-49.
- 5) Løvoll, M., Wiik-Nielsen, C. R., Tunsjø, H. S., Colquhoun, D., Lunder, T., Sørum, H., & Grove, S. (2009). Atlantic salmon bath challenged with *Moritella viscosa*-pathogen invasion and host response. *Fish & shellfish immunology*, 26(6), 877-884.
- 6) MacKinnon, B., Groman, D., Fast, M. D., Manning, A. J., Jones, P., MacKinnon, A. M., & St-Hilaire, S. (2020). Transmission experiment in Atlantic salmon (*Salmo salar*) with an Atlantic Canadian isolate of *Moritella viscosa*. *Aquaculture*, 516, 734547.

- 7) Sommerset I, Wiik-Nielsen J, Oliveira VHS, Moldal T, Bornø G, Haukaas A og Brun E. *Fiskehelse rapporten 2022*, Veterinærinstituttets rapportserie nr. 5a/2023, utgitt av Veterinærinstituttet 2023
- 8) Sørgaard, M., Sveinsson, K., Patel, S., Nilsen, H. K., Olsen, A. B., Vaagnes, Ø., Colquhoun, D. J., & Gulla, S. (2023). MLVA genotyping of *Moritella viscosa* reveals serial emergence of novel, host-specific clonal complexes in Norwegian salmon farming. *Journal of Fish Diseases*, 00, 1-9.
- 9) Tunsjø, H. S., Wiik-Nielsen, C. R., Grove, S., Skjerve, E., Sørum, H., & L'Abée-Lund, T. M. (2011). Putative virulence genes in *Moritella viscosa*: activity during in vitro inoculation and in vivo infection. *Microbial pathogenesis*, 50(6), 286-292.



**SPILL RETT –  
VELG SLAB**



**WWW.SLAB.NO**