

Atypowe bakterie rodzaju *Aeromonas* i wywoływane przez nie choroby ryb

MARIA PROST

Lublin

M. Prost

Atypical bacteria of genus *Aeromonas* and their role in causing specific fish diseases

Summary

The paper describes the newest data on so-called atypical subspecies of bacteria belonging to the *Aeromonas salmonicida* species. These are *Aeromonas* s. subsp. *achromogenes*, subsp. *masoucida* and *A. s.* subsp. *smithia*. This review presents their taxonomy, their rate of occurrence in different species of fish, geographical distribution, the factors deciding their pathogenicity and the control of the fish diseases caused by these bacteria.

Keywords: atypical *Aeromonas*, *Aeromonas salmonicida* subsp. *achromogenes*, *A. s.* subsp. *masoucida*, *A. s.* subsp. *smithia*.

Bakterie rodzaju *Aeromonas* są czynnikiem etiologicznym wielu chorób ryb, a także niektórych płazów i ssaków. Występują też w wodach słodkich i ściekach. U hodowlanych ryb łososiowatych najczęściej pojawiająca się i znana jeszcze od zeszłego stulecia jednostką chorobową jest wrzodzienica łososiowatych wywołana przez *Aeromonas salmonicida* (8).

U ryb karpiovatych, głównie u karpia, częstą jednostką chorobową wywołaną przez te bakterie jest *erythrodermatitis*, dawniej włączana do posocznicy karpia. Inne gatunki rodzaju *Aeromonas* są ponadto czynnikiem przyczynowym wielu infekcji ryb karpiovatych.

Taksonomia

Według obecnie obowiązującej systematyki (3, 4) gatunki bakteryjne rodzaju *Aeromonas* zaliczane są do rodziny *Vibrionaceae*. Według niektórych poglądów winna to być osobna rodzina pn. *Aeromonaceae*. Taka sugestia została wysunięta w 1992 r. przez Podkomitet Taksonomii *Vibrionaceae*, Międzynarodowego Komitetu ds. Systematyki Bakterii (17). U bakterii rodzaju *Aeromonas* rozrózniono dotychczas 14 różnych typów DNA (9).

Gatunki rodzaju *Aeromonas* winny być podzielone, według aktualnego stanu wiedzy (3), na dwie grupy. Do jednej z nich zalicza się bakterie mezofilne zaopatrzone w polarną wic i mające zdolność ruchu, a do drugiej psychrofilne, nie mające wici i tym samym możliwości poruszania się. Do pierwszej grupy należą gatunki: *A. hydrophila*, *A. caviae*, *A. sobria*, *A. eucrenophila*, *A. media*, *A. veronii* i *A. schuberti* (4). Do drugiej natomiast gatunek *A. salmonicida* i jego podgatunki.

Gatunek *Aeromonas salmonicida* znany jest od dawna, a jego pierwszy opis pochodzi z 1896 r. Dopiero jednak w latach pięćdziesiątych i sześćdziesiątych XX w., po dokładniejszej analizie jego cech, wyobiono szereg podgatunków, a mianowicie: *A. salmonicida* subsp. *salmonicida* (12) wywołujący wrzodzienicę łososiowatych, *A. salmonicida* subsp. *achromogenes* (25) syn. *Necromonas achromogenes* wywołujący *erythrodermatitis* u karpia i *A. salmonicida* subsp. *masoucida* (29). W 1989 r. został opisany jeszcze jeden podgatunek pn. *A. salmonicida* subsp. *smithia* (2). Wszystkie te bakterie są gramujemne, najczęściej proste pałeczki o zaokrąglonych końcach, długości 1-3,5 μm .

Podział podgatunków *A. salmonicida* na typowe i atypowe zaproponowano w 1971 r. (10). Jako typowy uznano podgatunek *A. salmonicida* subsp. *salmonicida*, zaś pozostałe podgatunki uznano za atypowe i taki ostatecznie podział przyjął się w piśmiennictwie.

Atypowe podgatunki różnią się od typowego *A. salmonicida* subsp. *salmonicida* szeregiem cech, z których należy przede wszystkim wymienić: powolny wzrost na pożywkach, opóźnioną produkcję pigmentu lub jej brak, ujemną reakcję na oksydazę cytochromową, kwaśną fermentację sacharozy, brak rozkładu eskuliny, produkcję siarkowodoru oraz u niektórych wzrost w wyższej temperaturze, nawet do 37°C (2, 5, 19, 20, 23, 25, 27-28).

Nie wszyscy autorzy podzielają poglądy o istnieniu podgatunków atypowych *A. salmonicida*. Wiele bowiem wyizolowanych szczepów *A. salmonicida* trudno jednoznacznie zaliczyć do jednego z wymienionych podgatunków. W niektórych pracach uznano homologię *A. salmonicida* subsp. *achromogenes* i *A. salmonicida* subsp. *masoucida* (21) lub też opisano nowy pod-

gatunek *A. salmonicida subsp. nova* (21), którego odrębności nie uznano jednak w kluczu Bergeya z 1994 r. Niektórzy autorzy (1, 2) dzielą gatunek *A. salmonicida* na pięć grup: cztery z nich są równoznaczne z wyżej podanymi podgatunkami, zaś do piątej grupy zaliczają nierozpoznane dotychczas podgatunki, które charakteryzują się wzrostem w temperaturze 37°C.

Niejednoznaczność i rozbieżność poglądów na pozycję taksonomiczną podgatunków *A. salmonicida* wskazują, że ich systematyka nie jest ostatecznie ustalona i wymaga jeszcze dalszych badań.

Diagnostykę podgatunków opierano dotychczas nie tylko na charakterystyce cech biochemicznych, ale i badaniu homologii DNA oraz zawartości w nim nukleotydów guaninowych i cytozynowych. Użycie tych metod nie dało jednak ostatecznego rozstrzygnięcia. Badane podgatunki *A. salmonicida* charakteryzują się dużą różnorodnością zarówno cech biochemicznych jak i molekularnych. Zawodne okazało się również ustalenie profilów plazmidowych i porównanie ich z typowymi dla *A. salmonicida subsp. salmonicida*, aczkolwiek ta cecha diagnostyczna jest często użyteczna w badaniu taksonomii innych bakterii. Okazało się, że profile plazmidowe atypowych *A. salmonicida* mogą być zmienne nawet u szczepów pokrewnych. Niektórzy autorzy (6, 22, 24, 26) uważają, że do identyfikacji podgatunków *A. salmonicida* może być przydatne badanie sekwencji nukleotydowych w rybosomalnym RNA. Sekwencje te są konserwatywne i charakterystyczne dla gatunku.

Występowanie atypowych *A. salmonicida*

Bakterie te izolowano dotychczas z kilkudziesięciu gatunków ryb żyjących zarówno w naturalnych zbiornikach słodkowodnych i morskich, jak i u ryb wędrujących z wód słodkich do morskich (węgorze) lub z mórz do rzek (łososie), a nawet u niektórych gatunków ryb z hodowli akwariowej (29).

Infekcje i choroby wywołane przez atypowe podgatunki *A. salmonicida* stwierdzono u następujących gatunków hodowlanych ryb łososiowatych: *Salmo salar*, *Salvelinus fontinalis*, *Salvelinus alpinus*, *Salmo trutta m. fario*, *Salmo trutta m. lacustris*, *Oncorhynchus keta*, *O. masou*, *O. gorbusha*, *O. mykiss* i *Thymallus thymallus*. U wolno żyjących łososiowatych atypowe *A. salmonicida* izolowano z *Salmo salar*, *Thymallus thymallus*, *Salmo trutta m. trutta* i *Oncorhynchus nerka*. Wśród karpowatych ryb hodowlanych bakterie te stwierdzono u *Cyprinus carpio* oraz *Carassius auratus*. U karpowatych wolno żyjących stwierdzono je u *Abramis brama*, *Carassius carassius*, *C. auratus*, *Leuciscus leuciscus*, *L. cephalus*, *Phoxinus phoxinus*, *Rutilus rutilus*, *Scardinius erythrophthalmus* i *Blicca bjoerkna*. Infekcje te wystąpić mogą również u kilku gatunków węgorzy oraz u wielu gatunków płastug morskich (29).

Rozprzestrzenienie geograficzne tych ryb jest bardzo duże. Stwierdzono je bowiem w wodach Kanady, USA, Japonii, Centralnej i Północnej Europy, Austr-

lii i Południowej Afryki. Brak doniesień o występowaniu wym. bakterii u ryb w Południowej Ameryce i Północnej Azji (29).

Izolowanie i hodowla

U ryb klinicznie zdrowych bakterie te mogą być izolowane ze skóry i nerek. Po pojawieniu się zmian skórnych (często w wyniku działania stresu) atypowe *A. salmonicida* mogą być z nich łatwiej izolowane, ale tylko we wczesnym stadium wystąpienia tych procesów. Później dołączają się inne drobnoustroje jak ruchome *Aeromonas*, *Pseudomonas* i grzyby *Saprolegnia* (29). Hodowla tych bakterii na pożywkach nie zawsze jest łatwa, ale uważa się, że najbardziej przydatny jest agar z krwią lub surowicą.

Czynniki decydujące o patogenności atypowych *A. salmonicida*

Aktualny stan wiedzy na temat czynników decydujących o patogenności atypowych *A. salmonicida* jest dość ograniczony. Dotychczasowe badania wskazują, że są one podobne do występujących u typowych *A. salmonicida subsp. salmonicida*. Chorobotwórczość tych bakterii związana jest bowiem z toksycznymi produktami wydzielanymi pozakomórkowo (ECP), z obecnością dodatkowej, zewnętrznej warstwy A w błonie komórkowej bakterii oraz ze zdolnością pobierania żelaza z podłoża.

Toksyny zewnętrzne (ECP), to głównie metaloproteazy o masie cząsteczkowej około 20 kDa. Po eksperymentalnym podaniu tych egzotoksyn wyizolowanych z atypowych *A. salmonicida*, powstają u ryb zmiany skórne, a nawet śnięcia. Niektóre badania wskazują, że można wśród nich wyróżnić co najmniej pięć różnych egzoproteaz. Ich zróżnicowanie jest w dużym stopniu zależne od geograficznego występowania, a w mniejszym od gatunku ryby (13). Należy podkreślić, że egzoproteazy wydzielane przez typowe *A. salmonicida subsp. salmonicida* stanowią znacznie mniej zróżnicowaną, homogenną grupę.

Znaczenie dodatkowej, zewnątrzkomórkowej warstwy A u patogennych szczepów *A. salmonicida* (typowych i atypowych) zostało doświadczalnie udowodnione (18). Warstwa A jest złożona z białek o masie cząsteczkowej 49 kDa (18). Stwierdzono, że działaniem wyższej temperatury niż optymalna dla bakterii *A. salmonicida* można pozbawić ich błonę komórkową warstwy A i powstają wtedy szczepy niepatogenne. U szczepów naturalnie niepatogennych, awirulentnych warstwa A nie występuje.

Zdolność pobierania żelaza, koniecznego dla normalnego metabolizmu jest typowa dla bakterii *A. salmonicida*. Szczepy patogenne charakteryzują się szczególnie sprawnym mechanizmem umożliwiającym pobieranie żelaza. Podłożem, z którego bakterie te zapoatrują się w żelazo jest surowica i zewnętrzne, płynne związki wydzielane przez rybę, w których znajdują się białka wiążące żelazo (np. transferyna). Pobieranie żelaza przez atypowe *A. salmonicida* jest prawdopo-

dobnie związane z proteolityczną degradacją transferyny. Uczestniczą w tym zewnątrzkomórkowe metaloproteazy (14).

Chorobotwórczość

Niewiele wiadomo o samym procesie zakażenia i mechanizmach przenoszenia infekcji z ryb chorych na zdrowe. Niektóre obserwacje (27) wykazały, że atypowe *A. salmonicida* mogą przeżywać przez dłuższy czas w osadach dennych. Najdłużej przeżywalność tych bakterii trwa w osadach wód słonawych i wynosi 60 dni. Osady denne mogą w ten sposób stanowić źródło infekcji. Na temat przeżywalności tych bakterii w wodzie brak jest dokładnych danych. W warunkach eksperymentalnych przeniesienie infekcji z jednych gatunków ryb na inne często nie udaje się, a z ryb zakażonych w ten sposób nie można reizolować bakterii.

U chorych ryb karpowatych, węgorzowatych i u płastug choroba objawia się przede wszystkim zmianami zapalnymi skóry. W miejscach tych pojawiają się następnie ubytki (owrzodzenia). Występować one mogą w różnych miejscach ciała. Czasami, oprócz zmian skórnych, można obserwować stany zapalne mięśni w okolicach owrzodzeń, w jamie gębowej oraz zmiany w gałkach ocznych. Bardzo rzadko mogą pojawić się stany zapalne w śledzionie, nerkach i wątrobie. Najczęściej jednak u chorych ryb brak jest zmian w narządach wewnętrznych (29).

U ryb łososiowatych atypowe *A. salmonicida* mogą być przyczyną zmian bardzo podobnych do wrzodzeniicy wywołanej przez typowe *A. salmonicida*. Stąd też w przeszłości przypuszczalnie choroby łososiowatych wywołane przez atypowe *A. salmonicida* diagnozowano wielokrotnie jako wrzodzeniicę. Zmiany te to owrzodzenia skóry oraz stany zapalne w wielu narządach wewnętrznych (wątroba, serce, przewód pokarmowy, otrzewna). Czasem stany zapalne dotyczą również tkanek skrzeli. Ogólnie jednak wyraźne zmiany w narządach wewnętrznych występują rzadziej niż przy wrzodzeniicy. Najczęściej są to jedynie niewielkie przekrwienia (29).

Atypowe *A. salmonicida* mogą wywołać śnięcia ryb. Są one rzadsze u ryb żyjących w środowisku naturalnym niż u ryb hodowlanych. Najwięcej strat (do 65%) notowano u hodowlanych ryb łososiowatych, mniejsze (do 25%) u karpia (29).

Profilaktyka i leczenie chorób wywołanych przez atypowe *A. salmonicida*

Badania nad skutecznym zapobieganiem chorobom wywołanych przez atypowe *A. salmonicida* skupiają się głównie na aktywacji procesów immunologicznych ryb. Stwierdzono, że u karpia zakażonych powtórnie przez *A. salmonicida subsp. achromogenes* występuje pamięć immunologiczna, która może utrzymywać się przez pięć miesięcy (7). Istnieje więc możliwość wywołania odporności przeciw tym bakteriom po zastosowaniu szczepienia. Badania eksperymentalne (11) wykazały, że egzotoksyny ECP mogą być skutecznym

antygenem stymulującym odporność typu humoralnego u szczepionych ryb.

Badania nad czynnym uodpornieniem ryb łososiowatych przeciw atypowym *A. salmonicida* nie dały dotychczas pozytywnych efektów. Stwierdzono, że białka regulujące pobieranie żelaza przez te bakterie mają silne właściwości antygenowe i mogą być użyte do produkcji szczepionek (14, 15). Te pierwsze, nieliczne próby zastosowania immunoprofilaktyki przeciw atypowym *A. salmonicida* wskazują na możliwość skutecznych szczepień przeciw chorobom wywołanym przez te bakterie, ale sprawa ta wymaga jeszcze dalszych badań.

Leczenie chorób wywołanych przez atypowe *A. salmonicida* może być przeprowadzone przy użyciu potencjonowanych sulfamidów, chloramfenikolu, neomycyny, nitrofurantoiny i oksytetracykliny. Skuteczność tych środków leczniczych jest na ogół dobra. Możliwe jest jednak powstawanie oporności u tych bakterii (przypuszczalnie mediacji plazmidowej), zwłaszcza po stosowaniu sulfamidów (16).

Przedstawiony aktualny stan wiedzy na temat infekcji ryb wywołanych przez gatunek *Aeromonas salmonicida* i jego podgatunki powinien być pomocny w dokonywaniu właściwej diagnozy chorób przez nie powodowanych i odróżnieniu ich od jedynej dotychczas rozpoznawanej wrzodzeniicy łososiowatych.

Piśmiennictwo

1. Austin B.: J. Fish Dis. 16, 165, 1993.
2. Austin D. A., Mc Intosh D., Austin B.: System. Appl. Microbiol. 11, 277, 1989.
3. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Williams and Wilkins, Baltimore, 1984.
4. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. Wyd. 9. Williams and Wilkins, Baltimore, 1994.
5. Chapman P. F., Cipriano R. C., Teske J. D.: J. Wildl. Dis. 27, 61, 1991.
6. Dalsgaard I.: Balt. Mar. Biol. 15, 35, 1994.
7. Daly J. G., Wiegertjes G. F., van Muiswinkel W. B.: J. Fish Dis. 17, 67, 1994.
8. Emmerich R., Weibel C.: Arch. Hyg. Bact. 21, 1, 1894.
9. Esteve C., Gutiérrez M. C., Ventosa A.: Int. J. Syst. Bacteriol. 45, 390, 1995.
10. Evelyn T. P. T.: J. Fish Res. Bd. Can. 28, 1629, 1971.
11. Evenberg D., de Graaff P., Lugtenberg B., van Muiswinkel W. B.: J. Fish Dis. 11, 337, 1988.
12. Griffin P. J., Nieszko S. F., Friddle S. B.: Trans. Am. Fish Soc. 82, 129, 1953.
13. Gudmundsdóttir B. K.: J. Appl. Bacteriol. 80, 105, 1996.
14. Hirst I. D., Ellis A. E.: Fish Shellfish Immunol. 4, 29, 1994.
15. Hirst I. D., Ellis A. E.: Microbiology 142, 1543, 1996.
16. Hirvelä-Koski V., Koski P., Niiranen H.: Dis. Aquat. Org. 20, 191, 1994.
17. International Committee on Systematic Bacteriology, Subcommittee on the Taxonomy of Vibrionaceae 1992, s. 42.
18. Ishiguro E. E., Trust T. J.: W Internat. Symp. Fish Biol.: Serodiagnostics and Vaccines, Leetown, W. Va., USA, 1981, Develop. biol. Stand. 49, 163, 1981.
19. Kimura T.: Fish Pathol. 19, 34, 1969.
20. Kimura T.: Fish Pathol. 19, 113, 1969.
21. Mc Carthy D. H., Roberts R. J.: W Drogs M. R., Jannash H. W. (wyd.). Advances in Aquatic Microbiology. Academic Press, London 1980, s. 293.
22. Mc Cormick W. A., Stevenson R. M. W., Mac Innes J. I.: Can. J. Microbiol. 36, 24, 1990.
23. Mc Intosh D., Austin B.: J. Gen. Microbiol. 137, 1341, 1991.
24. Pedersen K., Dalsgaard I., Larsen J. L.: J. Appl. Bacteriol. 80, 37, 1996.
25. Smith I. W.: J. Gen. Microbiol. 33, 263, 1963.
26. Whittington R. J., Djordjevic S. P., Carson J., Callinan R. B.: Dis. Aquat. Org. 22, 185, 1995.
27. Wiklund T.: Dis. Aquat. Org. 21, 137, 1995.
28. Wiklund T., Bylund G.: Dis. Aquat. Org. 17, 165, 1993.
29. Wiklund T., Dalsgaard I.: Dis. Aquat. Org. 32, 49, 1998.