

Patogenność *Serratia plymuthica* dla ryb łososiowatych

EDWARD GRAWIŃSKI, JERZY ANTYCHOWICZ*

Zakład Higieny Weterynaryjnej, ul. Kaprów 10, 80-316 Gdańsk-Oliwa,

*Zakład Chorób Ryb Państwowego Instytutu Weterynaryjnego, Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy

Grawiński E., Antychowicz J.

The pathogenicity of *Serratia plymuthica* for salmonid fish

Summary

The purpose of the investigation was to show the presence of *Serratia plymuthica* in salmonid fish in Poland and to confirm the pathogenicity of Polish isolates for this fish. Since 1996 in Poland in 42 fish farms, bacteria have been isolated and identified as *Serratia plymuthica* from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), sea trout (*Salmo trutta morpha trutta*) and Atlantic salmon (*Salmo salar*) with symptoms of the disease. After experimental infection the isolates of *S. plymuthica* appeared to be highly pathogenic for rainbow trout (8-12 g), with a density of 2×10^4 microorganisms (according to the scale of Mc Farland) in 0.2 ml physiologic salt solution injected intraperitoneally. On the basis of experimental infection and field observation it was proved that *S. plymuthica* is a serious pathogen of salmonid fish in Poland. The most numerous cases of serratiosis were observed in rainbow trout up to 12 g. The appearance of numerous cases of *S. plymuthica* infection in salmonid fish in Poland shows that the salmonid fish farms are endangered by serratiosis and it also provides evidence that in the aquatic environment in which the salmonid fishes are bred unfavourable ecological changes stemming among others from the growth of the organic pollution has ensued.

Keywords: fish diseases, *Serratia plymuthica*, salmonid fish

Bakterie rodzaju *Serratia* należą do rodziny *Enterobacteriaceae*. Są to gramujemne, okolorzese pałeczki o długości 0,9-2 μm i grubości 0,5-0,8 μm (3, 4). *S. marcescens* i *S. plymuthica* wytwarzają czerwony barwnik – prodigiozynę. Na uwagę zasługuje fakt, że niektóre szczepy *S. liquefaciens* dają krzyżowe reakcje serologiczne ze szczepami innej patogennej dla ryb bakterii *Yersinia ruckeri* (11).

Bakterie rodzaju *Serratia* występują w wodzie i glebie (2); izolowano je także od płazów i gadów (5). *S. marcescens* może powodować groźne infekcje u ryb i u ludzi (2). U ludzi bakterie rodzaju *Serratia* mogą wywoływać posocznicę lub stany zapalne dróg moczowych (3, 4). Od chorych ryb najczęściej izolowano *S. plymuthica* (1, 2, 10). Szczególnie wrażliwy na zakażenie tą bakterią jest pstrąg tęczowy oraz inne ryby łososiowate (1, 2, 7, 8, 10).

Dane dotyczące przypadków seracjozy u ryb są nieliczne ale autorzy tych publikacji podkreślają, że bakterie rodzaju *Serratia* mogą powodować poważne śnięcia ryb hodowlanych, a niekiedy nawet ryb wolno żyjących.

Bakterie rodzaju *Serratia* jako czynnik etiopatologiczny chorób ryb izolowano w Hiszpanii (9, 10), USA (2), Australii (5) i Szkocji (8). W Polsce Grawiński (6) jako pierwszy stwierdził, że *S. plymuthica* może wywoływać objawy chorobowe u ryb łososiowatych. Od 1996 r. w Polsce u pstrąga tęczowego (*Oncorhynchus mykiss*), troci (*Salmo trutta m. trutta*) i łosiosia

atlantyckiego (*Salmo salar*) z 42 obiektów hodowlanych wyizolował on *S. plymuthica* i stwierdził związek przyczynowy pomiędzy występowaniem tej bakterii w narządach wewnętrznych ryb a objawami chorobowymi; potwierdził on przy tym obserwacje Baya i wsp. (2), że egzotoksyny wytwarzane przez patogenne szczepy *Serratia* działają podobnie na organizm ryby jak proteolityczne toksyny wytwarzane przez patogenne bakterie rodzaju *Aeromonas* i *Vibrio*.

Celem badań było określenie: a) właściwości biochemicznych i chorobotwórczych izolatów *S. plymuthica* pochodzących z przypadków chorobowych, które wystąpiły u hodowlanych ryb łososiowatych w woj. pomorskim, b) objawów klinicznych i zmian anatomopatologicznych występujących w przebiegu eksperymentalnego zakażenia tą bakterią pstrągów tęczowych oraz c) przeanalizowanie warunków, w których występuje seracjoza u ryb.

Materiał i metody

Chore ryby łososiowate pochodzące z obiektów, w których badania rutynowe wykazały obecność *Serratia plymuthica* poddano badaniom bakteriologicznym, klinicznym i anatomopatologicznym. Do badań użyto: wylęg pstrąga tęczowego i troci (0,2-0,5 g), narybek pstrąga tęczowego i łosiosia (3-70 g) i pstrągi handlowe (150-200 g). Łącznie zbadano 84 ryby z 42 obiektów. Posiewy bakteriologiczne sporządzano ze skóry z okolic ubytków łusek oraz narządów wewnętrznych: wątroby, nerek, żołądka i jelita. Ce-



Ryc. 1. Kolonie *S. plymuthica* na agarze wg Waltman, Shotts



Ryc. 2. Objawy chorobowe u pstrąga tęczowego wywołane naturalną infekcją *S. plymuthica*

lem namnożenia bakterii stosowano bulion sojowy TSA, który po posiewie inkubowano w temperaturze 25°C przez 24 godziny. Z bulionu TSA dokonywano przesiewu na stałe podłoże wybiórcze wg Waltman i Shotts (12), które inkubowano w temperaturze 25°C przez 48-72 godzin. Rosnące na tym podłożu czerwono-różowe kolonie poddawano dalszej identyfikacji (ryc. 1). Bakterie z tych kolonii barwiono metodą Grama, ich ruch badano mikroskopowo w kropli wiszącej, wytwarzanie oksydazy cytochromowej badano metodą Kovacs-Geyer, a właściwości biochemiczne izolatów określano przy użyciu testów API20E i EPL21. Testy te służyły do różnicowania bakterii gramujemnych, a także do badania reakcji bakterii *S. plymuthica* na wybrane alkohole i cukry.

Do badania chorobotwórczości *S. plymuthica* dla ryb wybrano losowo 10 izolatów. Każdym z izolatów zakażono dootrzewnowo 8 pstrągów tęczowych o masie 8-12 g. Do zakażenia każdej ryby stosowano 0,2 ml zawiesiny *S. plymuthica* o gęstości 2×10^4 w skali McFarlanda. Zakażenie przeprowadzono przy temperaturze wody 12-14°C.

Wyniki i omówienie

Posiewy sporządzane z okolic ubytków łusek wykazywały dominujący wzrost *S. plymuthica*, natomiast w posiewach z narządów wewnętrznych wzrost tej bakterii był albo dominujący, albo jednolity (rosły jedynie kolonie *S. plymuthica*). Kolonie *S. plymuthica* w trakcie wzrostu na agarze wg Waltman i Shotts wyróżniały się wytwarzaniem czerwono-różowego barwnika (ryc. 1). Cechy 84 izolatów pochodzących z przypadków seracjozy, które wystąpiły w województwie pomorskim przedstawia tab. 1. Właściwości tych izolatów były zgodne z cechami *S. plymuthica* wg Bergey's Manual (3, 4).

Po 5-8 dniach od dootrzewnowego zakażenia zawiesiną *S. plymuthica* obserwowano u narybku pstrąga tęczowego objawy letargu, zaburzeń barwnikowych, wypadanie łusek, podbiegnięcia i punkcikowate wybroczyny pod naskórkiem. Sekcyjnie stwierdzono obecność przezroczystego lub mętnego płynu wysiękowego w jamie ciała koloru żółtawego. Oprócz tego obserwowano powiększenie wątroby, nerki i śledziony. Żółtawy płyn surowiczy występował również w żołądku i jelicie. Po kolejnych 3-5 dniach zaczęły

występować pojedyncze śnięcia. Objawy kliniczne i zmiany anatomopatologiczne występujące w przebiegu seracjozy przedstawia ryc. 2.

Izolaty *S. plymuthica* pochodzące od chorych ryb łososiowatych hodowanych w Polsce oraz izolaty tej bakterii opisane w innych krajach (1, 10) wykazywały identyczne właściwości morfologiczne i biochemiczne oraz charakteryzowały się wysoką patogennością dla zakażonych eksperymentalnie pstrągów tęczowych.

Wyniki badań własnych dotyczących patogenności *S. plymuthica* były zbliżone z wynikami przedstawionymi przez innych autorów (1, 2, 10). Objawy kliniczne i zmiany anatomopatologiczne występujące po zakażeniu eksperymentalnym oraz w przebiegu przypadków terenowych seracjozy były całkowicie porównywalne.

Straty notowane w przypadkach seracjozy w Polsce i w innych krajach były podobne. Nieto i wsp. (10) opisali przypadek śnięcia narybku pstrąga tęczowego w Hiszpanii wskutek infekcji *S. plymuthica*, w którym śnięcia dochodziły do 35% obsad. W USA Baya i wsp. (2) stwierdzili, że seracjoza może być przyczyną śnięć wolno żyjących ryb rzecznych (różnych gatunków) dochodzących do 20%. W środowisku naturalnym *S. marcescens* i *S. plymuthica* okazały się szczególnie patogenne dla ryb basowatych oraz dla pstrągów tęczowych. Lewellyn (7) notował wysoką śmiertelność ryb łososiowatych w Australii wskutek infekcji *S. liquefaciens*, natomiast McIntosh i Austin (8) stwierdzili, że bakteria ta może być przyczyną poważnych śnięć łososi atlantyckich hodowanych w sadzach morskich u wybrzeży Szkocji.

Według Austin i Stobe (1) infekcje *Serratia* wywołują rozległe zmiany w powłokach zewnętrznych pstrąga tęczowego, które penetrują mięśnie na głębokości około 1 mm. Autorzy ci stwierdzili również obecność wybroczyn w gałce ocznej, u podstawy płetw oraz w mięśniach ryb, a oprócz tego martwicę ogona oraz zapalenie przewodu pokarmowego u tych zwierząt.

W odróżnieniu od innych autorów Austin i Stobe (1) stwierdzali w przebiegu seracjozy jedynie nieliczne śnięcia ryb. Przedstawiony przez nich przypadek miał cechy przewlekłej formy choroby. Wystąpienie tej formy tłumaczyć można tym, że infekcja bakterii rodzaju *Serratia* wystąpiła w tym przypadku u pstrągów tęczowych o masie 100 g, u których układ odpornościowy był już w pełni rozwinięty i wykazywał dużą efektywność. W przypadkach seracjozy w Polsce śnięcia występowały zwykle u ryb młodych o osłabionej odporności, a mianowicie u narybku o ciężarze od 1 do 10 g. Straty były zwykle znaczne i szacowano je od 20 do 80% obsad hodowlanych w poszczególnych podchowalnikach i stawach.

Na podstawie obserwacji terenowych oraz wyników zakażeń eksperymentalnych uważamy, że objawy kliniczne i zmiany anatomopatologiczne występujące w przebiegu infekcji *S. plymuthica* są charakterystyczne dla enterotoksemii wywołanych przez inne drobnoustroje u ryb.

Na uwagę zasługuje fakt, że infekcje *S. plymuthica* u ryb występują zwykle po obfitych opadach deszczu powodujących spływy wód niosących ze sobą substancje organiczne z terenów przyległych do rzek zasilających obiekty hodowlane z wodą (10). Według Baya i wsp. (2) bakterie te występują zwykle w zbiornikach wodnych zanieczyszczanych ściekami organicznymi. Związek pomiędzy zanieczyszczeniem zbiornika substancjami organicznymi a występowaniem infekcji *S. plymuthica* potwierdzają również obserwacje własne. Stwierdziliśmy mianowicie, że seracjoza występuje przede wszystkim w obiektach zasilanych wodą z rzek zanieczyszczanych obficie odpadami ptaków wodnych oraz napływem ścieków komunalnych i bytowych.

Wnioski

1. Pojawienie się licznych przypadków infekcji *Serratia plymuthica* u ryb łososiowatych w Polsce zwraca uwagę na zagrożenie hodowli tych ryb przez seracjozę, a równocześnie wskazuje, że w środowisku wodnym, w którym hoduje się ryby łososiowate zaszły w ostatnim okresie niekorzystne zmiany ekologiczne polegające między innymi na wzroście zanieczyszczeń organicznych.

2. Patogenne szczepy *S. plymuthica* są szczególnie groźne dla wylęgu i narybku pstrąga tęczowego (do 10 g), u którego wywołują poważne śnięcia przy wystąpieniu objawów klinicznych i zmian anatomopatologicznych charakterystycznych dla enterotoksemii wywołanych u ryb przez inne bakterie wytwarzające silnie proteolityczne toksyny.

3. Należy zwrócić większą niż dotychczas uwagę na diagnostykę *S. plymuthica* u ryb łososiowatych oraz prowadzić terapię ukierunkowaną na eliminację tej bakterii, w przypadku wystąpienia seracjozy.

Piśmiennictwo

1. Austin B., Stobe M.: Recovery of *Serratia plymuthica* and presumptive *Pseudomonas pseudoalcaligenes* from skin lesion in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), otherwise infected with enteric redmouth. J. Fish Dis. 1992, 15, 541-543.
2. Baya A. M., Toranzo A. E., Lupiani B., Santos Y., Hetrick F. M.: *Serratia marcescens* a potential pathogen for fish. J. Fish Dis. 1992, 15, 15-26.
3. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Williams & Wilkins, Baltimore 1984, Wyd. 8 tom I.
4. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. Wyd. 9 Williams & Wilkins, Baltimore 1994.
5. Clausen H. J., Duran-Reynalds F.: Studies on the experimental infection of some reptiles, amphibia and fish with *Serratia anolium*. Am. J. Pathol. 1937, 13, 441-541.
6. Grawiński E.: Występowanie w Polsce choroby „redmouth” u pstrąga tęczowego (*Salmo gairdneri* Richardson). Medycyna Wet. 1990, 46, 183-185.
7. Llewellyn L. C.: A bacterium with similarities to the redmouth bacterium and *Serratia liquefaciens* (Grimes, hennerty) causing mortalities in hatchery reared salmonids in Australia. J. Fish Dis. 1980, 3, 29-39.

Tab. 1. Właściwości morfologiczne i biochemiczne 84 izolatów *Serratia plymuthica* pochodzących z 42 obiektów rybackich

Cechy izolatu	reakcja
Kształt bakterii	drobne pałeczki
Wytwarzanie barwników	czerwony barwnik
Ruch	+
Rozkład glukozy w warunkach tlenowych	+
Rozkład glukozy w warunkach beztlenowych	+
Odczyn MR	+
Odczyn VP	+
Odczyn ONPG	+
Rozkład cytrynianu (w podłożu Simmons)	+
Upłynnianie żelatyny	+
Redukcja azotanów	+
Fermentacja:	
mannitolu	+
sacharozy	+
sorbitolu	+
rafinozy	+
melibiozy	
maltozy	+
laktazy	-
adonitolu	-
arabinozy	-
Wytwarzanie:	
H ₂ S	-
ureazy	-
tryptofanui	-
melionianu	-
Dezaminacja:	
fenyloalaniny	-
dehydroazy argininy	-
dekarboksylazy lizyny	-
dekarboksylazy ornityny	-

8. McIntosh D., Austin B.: Recovery of an extremely proteolytic form of *Serratia liquefaciens* as a pathogen of Atlantic salmon, *Salmo salar*, in Scotland. J. Fish. Biol. 1990, 36, 765-772.
9. Nieto T. P., Toranzo A. E., Baria J. L.: Comparison between the bacterial flora associated with fingerling rainbow trout cultured in two different hatcheries in the North-West of Spain. Aquaculture 1984, 42, 193-206.
10. Nieto T. P., Lopez L. R., Santos Y., Numez S., Toranzo A. E.: Isolation of *Serratia plymuthica* as an opportunistic pathogen in rainbow trout *Salmo gairdneri* Richardson. J. Fish Dis. 1990, 3, 175-177.
11. Stevenson R. M. W., Airdie D. W.: Serological variation among *Yersinia ruckeri* strains. J. Fish Dis. 1984, 7, 247-254.
12. Waltman W. D., Shotts E. B.: A medium for the isolation and differentiation of *Yersinia ruckeri*. J. Fish. Aquat. Sci. 1984, 41, 804-806.

Adres autora: dr Edward Grawiński, ul. II Morskiego Pułku Strzelców 12/11, 81-661 Gdynia