

Zakażenie *Aeromonas hydrophila* przyczyną padnięć dzikich kaczek

ARTUR ŻBIKOWSKI, PIOTR SZELESZCZUK, EWA KARPIŃSKA,
MAGDALENA RZEWUSKA*, ELŻBIETA MALICKA, MARIAN BINEK*

Katedra Nauk Klinicznych, *Katedra Nauk Przedklinicznych Wydziału Medycyny Weterynaryjnej SGGW,
ul. Ciszewskiego 8, 02-786 Warszawa

Żbikowski A., Szeleszczuk P., Karpińska E., Rzewuska M., Malicka E., Binek M.

Epidemic deaths of mallard ducks after *Aeromonas hydrophila* infection

Summary

During the summer heat wave of July 2004, a large number of mallard ducks (*Anas platyrhynchos*) were found dead in Skaryszewski Park in Warsaw. Simultaneously, in the park's lake a massive wave of dead fish were discovered. Gram negative oxydase positive rods were isolated from the following organs of the dead ducks: kidneys, liver, pancreas and intestine, as well as in a pure culture. These bacteria caused a strong haemolysis on blood agar plates. Using API, NE test isolates were identified as *Aeromonas hydrophila*. The tested strain was proven susceptible, among others, to neomycine, streptomycine, gentamycine, tetracycline, flumequine, and norfloxacin, but resistant to amoxicilline, amoxycillin and clavulanic acid as well as to polymyxin.

Keywords: *Aeromonas hydrophila*, *Anas platyrhynchos*

Pałeczka *Aeromonas hydrophila* jest drobnoustrojem, który najczęściej występuje w środowisku wodnym (10, 13). Zarazek ten może być izolowany od ludzi (25), ssaków (20), ptaków (9-11, 22), ryb, gadów, płazów i skorupiaków (1, 13, 25), a także z produktów żywnościowych oraz, co stanowi duży problem epidemiologiczny, z systemów i urządzeń rozprowadzających wodę pitną – nawet chlorowaną (6, 19). *Aeromonas hydrophila* izolowana jest zarówno od zdrowych, jak i od chorych ludzi i zwierząt, jednak rzadko w czystej kulturze bakteryjnej, częściej wraz z bakteriami z rodziny *Enterobacteriaceae* lub/i z rodzajów *Staphylococcus*, *Streptococcus* (10, 14, 22). Bakteria ta występuje w glebie, na roślinach, także w wodzie słodkiej i morskiej (1, 13). Okres lata, wysoka temperatura powietrza i wody sprzyja jej namnażaniu się w środowisku. Chorobotwórczość *Aeromonas hydrophila* związana jest przede wszystkim z wytwarzaniem enterotoksyn, wśród których wyróżnia się dwa typy: enterotoksyny cytotoniczne oraz cytotoksyczne. Toksyny cytotoksyczne, takie jak np. aerolizyna oraz alfa hemolizyna uszkadzają komórki nabłonka przewodu pokarmowego, a ich obecność stanowi o zjadliwości szczepów *Aeromonas hydrophila* (5, 7, 24). U ptaków, szczególnie u gatunków związanych ze środowiskiem wodnym, *Aeromonas hydrophila* powoduje zakażenia miejscowe lub uogólnione. U ptaków padłych najczęściej stwierdzane jest zapalenie worków powietrznych oraz uogólniona posocznica. U dorosłych samic, w okresie rozrodczym, zarazek może powodować zapalenie jajowodu (4). Wymienia się tę bakterię również jako przyczynę choroby wenerycznej u gęsi oraz *cellulitis* u indyków (3).

Rodzaj *Aeromonas*, który aktualnie obejmuje 15 gatunków, wraz z rodzajem *Vibrio* i *Plesiomonas* należy do rodziny *Vibrionaceae*. *Aeromonas hydrophila* jest Gram-ujemną, ruchliwą pałeczką o długości 1-4,4 μm , która nie ma dużych wymagań wzrostowych. Namnaża się na zwykłych podłożach bakteriologicznych w temperaturze od 2°C do 41°C i pH 5,4-9,0 (13). Różnicowanie i identyfikację izolatów przeprowadza się na podstawie cech wzrostu oraz właściwości biochemicznych.

W piśmiennictwie podkreśla się, że mięso drobiu może ulegać zanieczyszczeniu tym drobnoustrojem, najczęściej w rzeźni, w czasie obróbki tuszek i z tego względu może stanowić źródło zagrożenia dla człowieka (2). U ludzi, po zakażeniu szczepami *Aeromonas hydrophila* o wysokiej zjadliwości dochodzi do zaburzeń żołądkowo-jelitowych, wyniszczających biegunek – objawów szczególnie silnie wyrażonych u dzieci (7, 14, 16). Dlatego diagnostyka zakażeń wywołanych przez *Aeromonas hydrophila* u ludzi jest bardziej szczegółowa i oprócz izolacji drobnoustroju polega ona na określeniu rodzaju toksyny produkowanej przez dany izolat. W tym celu wykorzystuje się technikę PCR, przy pomocy której wykrywa się obecność genów kodujących aerolizynę lub hemolizynę A (7, 25). W przypadku ptaków rutynowa diagnostyka oparta jest na badaniach bakteriologicznych, które pozwalają na identyfikację czynnika etiologicznego, co stanowi podstawę prawidłowego rozpoznania (13, 22).

Mimo powszechnego występowania tego drobnoustroju w środowisku bytowania ptaków (10, 11), mało jest informacji w piśmiennictwie światowym, a w krajowym brak ich zupełnie, o naturalnych przypadkach zakażeń

ptaków pałeczką *Aeromonas hydrophila*. W związku z tym uznano za celowe opisać przypadek masowych zachorowań i padnięć kaczek krzyżówek z powodu zakażenia pałeczką *Aeromonas hydrophila* w jednym z warszawskich ogrodów miejskich, latem 2004 roku.

Materiały i metody

Opis przypadku. Kaczka krzyżówka (*Anas platyrhynchos*) jest najpopularniejszym gatunkiem dzikiej kaczki występującym w kraju. Według Nowickiego (17), jednym z miejsc, w którym najliczniej przebywają krzyżówki w Warszawie, jest jezioro Kamionkowskie w Parku Skaryszewskim. Pod koniec lipca 2004 r., w okresie upałów, do Oddziału Chorób Ptaków SGGW w Warszawie dotarły informacje od straży miejskiej o licznych padnięciach kaczek bytujących na terenie tego parku. W tym samym czasie w jeziorze Kamionkowskim obserwowano również masowe śnięcia ryb. Śmierć ptaków występowała nagle, przyżyciowo nie obserwowano charakterystycznych objawów klinicznych. Z informacji przekazanych przez pracowników straży miejskiej wynikało, że rok wcześniej, w lecie 2003 r., w tym samym miejscu notowano podobne, niezidentyfikowane przypadki, które dotyczyły zarówno kaczek, jak i ryb.

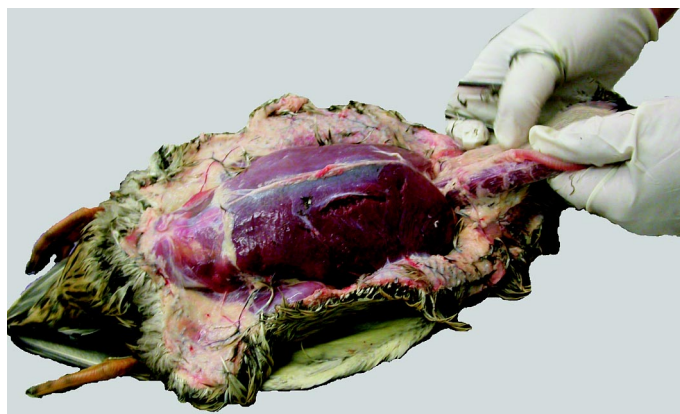
Ptaki. Do badań dostarczono 8 padłych kaczek krzyżówek, z których większa część była w stanie rozkładu gnilnego. Do szczegółowych badań bakteriologicznych i histopatologicznych przeznaczono jedynie 3 ptaki.

Badanie bakteriologiczne. Do badania pobrano wycinki: nerki, śledziony, wątroby, trzustki oraz jelit. Z materiału wykonano preparaty bezpośrednie barwione metodą Grama oraz posiewy na podłoża: agar z krwią, MacConkey agar, SS agar, SF, a także na bulion Schaedlera pod parafiną. Inkubację posiewów prowadzono przez 48 godzin w temperaturze 37°C oraz równoległe w 30°C. Wyizolowane szczepy bakteryjne zidentyfikowano przy użyciu testu API NE (Bio Merieux, Francja). Lekowrażliwość izolatów oznaczono metodą krążkowo-dyfuzyjną.

Badanie histopatologiczne. Do badania przeznaczono wycinki wątroby, śledziony, nerek, trzustki, tchawicy i mózgu. Materiał utrwalano w 10% zbuforowanej formalinie, zatapiało w parafinie, a skrawki mikrotomowe barwiono hematoksyliną i eozyną (H-E).

Wyniki i omówienie

Padłe kaczki były w dobrej kondycji, o prawidłowym umięśnieniu i upierzeniu (ryc. 1). Skóra sekcjonowanych ptaków była mało elastyczna, trudna do odpreparowania, tkanka podskórna dobrze otłuszczona, zażółcona a naczynia krwionośne podskórne nasycone krwią, z przeciętych naczyń wypływała niewielka ilość nieskrzeplonej krwi. U jednej sztuki w jamie dziobowej, przełyku i wolu rzekomo zgromadzona była duża ilość żółtawej, papkowatej treści o obojętnym zapachu. W sercu i dużych naczyniach krwionośnych znajdowała się nieskrzeplona krew, która po odpreparowaniu serca i przerwanu ciągłości naczyń znalazła się w klatce piersiowej (ryc. 2). Wątroba ich była powiększona, na brzegach obu płatów występowały wybroczyny. U części ptaków w niepowiększonej wątrobie obserwowano kilka ognisk martwicowych wielkości główki szpilki (ryc. 2). Śledziona była mała, przekrwiona, a nerki o prawidłowym zarysie i barwie ciemnobrązowej. Błona śluzowa jelit na całej długości



Ryc. 1. Zwłoki padłej kaczki (widoczne uszkodzenie powstało w trakcie odpreparowywania skóry)



Ryc. 2. Zwłoki padłej kaczki – widoczne skrzepy krwi w okolicy płuc oraz przekrwienie trzustki

ci była miernie przekrwiona. U jednej sztuki w trzustce stwierdzono wybroczyny oraz liczne, szarobiałe ogniska martwicze, u innych – przekrwienie tego narządu (ryc. 2).

W badaniu bakteriologicznym ze wszystkich badanych próbek wyhodowano w czystej kulturze Gram-ujemne, okydzadododatnie pałeczki, zdolne do wzrostu w temperaturze 30°C, wywołujące na podłożu z krwią silną hemolizę typu beta. Ich obecność w materiale potwierdzono również w mikroskopowym badaniu preparatów bezpośrednich. Wyizolowane bakterie zidentyfikowano przy użyciu testu API NE jako *Aeromonas hydrophila*. Badane szczepy wykazały wrażliwość na: neomycynę, streptomycynę, gentamycynę, tetracyklinę, flumechinę, norfloksacynę, cefuroksym, sulfadiazynę z trimetoprimem, a oporność na: amoksyliny, amoksyliny z kwasem klawulanowym oraz na polimyksynę.

Badanie histopatologiczne wykazało: przekrwienie i pobudzenie grudek chłonnych śledziony (ryc. 3), w wątrobie przekrwienia znacznego stopnia z naciekami komórkowymi zapalnymi w okolicy naczyń krwionośnych, a także ogniskową martwicę hepatocytów (ryc. 4). W trzustce stwierdzono przekrwienie, ogniskowe nacieki komórek jednojądrowych w okolicy naczyń krwionośnych oraz początki autolizy narządu. W nabłonku tcha-

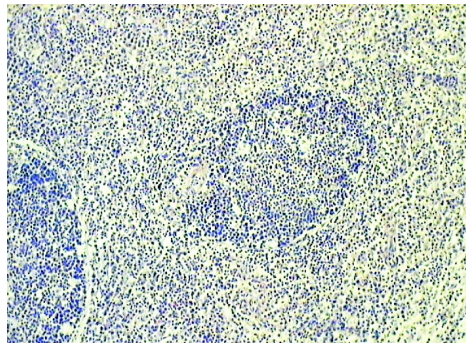
wicy oraz w nerkach widoczne były przekrwienia. Nie stwierdzono zmian mikroskopowych w mózgu.

Izolacja licznych pałeczek *Aeromonas hydrophila* w czystej hodowli z wszystkich próbek wątroby, śledziony, nerek, trzustki oraz jelit jest dowodem uogólnionego zakażenia ptaków tym drobnoustrojem. Z danych piśmiennictwa wynika, że przyżyciowo, od zakażonych ptaków bakterie te można izolować ze szpary podniebiennej, z wymazów z kloaki lub z kału, natomiast od padłych, w przypadku posocznicy z większości narządów wewnętrznych (18, 21), analogicznie jak stwierdzono to w opisanym przypadku własnym. Brak było innej, towarzyszącej flory bakteryjnej, co w naturalnych przypadkach zakażeń *Aeromonas hydrophila* zdarza się bardzo rzadko (9, 10), a jest dowodem, że przyczyną zachorowań i padnięć kaczek było ich zakażenie pałeczką *Aeromonas hydrophila*. W diagnostyce różnicowej, szczególnie w przypadku ptactwa wodnego, należy uwzględnić botulizm ptaków (8, 12, 15, 23). Jest to choroba o gwałtownym przebiegu z wysoką śmiertelnością, najczęściej dotycząca ptaków dzikich, żyjących wokół zbiorników wodnych. Wywołuje ją toksyna (A, B, C) produkowana przez laseczki *Clostridium botulinum*, ale objawy kliniczne są z reguły wystarczająco charakterystyczne, aby rozróżnić obie te jednostki chorobowe. Botulizmowi najczęściej towarzyszą: skręty szyi, zaburzenia w poruszaniu się oraz będące objawem patognomicznym porażenia wiotkie mięśni szyi, skrzydeł, kończyn, bezgłos, duszność, a więc objawy, których nie obserwuje się przy zakażeniach *Aeromonas hydrophila* czy innych chorobach, którym towarzyszą stany porażenne.

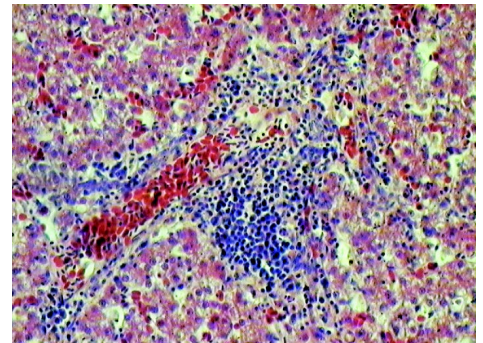
W opisanym przypadku ze względu na ostry przebieg infekcji i trudności z wyszukaniem chorych ptaków nie prowadzono terapii. Według danych piśmiennictwa, leczenie zakażeń *Aeromonas hydrophila* jest możliwe (16). Zaleca się rozpoczęcie terapii od zbilansowania równowagi wodno-elektrolitowej oraz zniesienia ewentualnej hipotermii. Podaje się preparaty zawierające elektrolity (np. Duphalyte w dawce 2 ml na kg m.c., podskórnie w bezpierzkę szyjną) oraz chemioterapeutyk (np. enrofloksacynę w dawce 10 mg/kg m.c. lub doksycyklinę w dawce 100 mg/kg m.c.). W przypadku podejrzenia zatrucia toksyną botulinową leczenie polega na zapewnieniu dostępu do czystej wody, podaniu soli glauberkiej – (3 g/sztukę), węgla lekarskiego (½ tab./sztukę) oraz ewentualnie antybiotyku (np. amoksycyliny – Beta-mox L.A. 01, ml na 1 kg m.c.).

Piśmiennictwo

1. Aguilera-Arreola G., Hernández-Rodríguez C., Zúñiga G., Figueras M., Castro-Escarpulli G.: *Aeromonas hydrophila* clinical and environmental ecotypes as revealed by genetic diversity and virulence genes. *FEMS Microbiol Lett.* 2005, 242, 231-240.
2. Akan M., Eyigor A., Diker K.S.: Motile aeromonads in the faeces and carcasses of broiler chickens and turkey. *J. Food Prot.* 1998, 61, 113-115.
3. Barnes H. J.: *Miscellaneous and sporadic bacterial infections*, [w:] Saif Y. M. (red.): *Diseases of Poultry*. Iowa State Press, Ames 2003, 845-862.



Ryc. 3. Przekrwienie w obrębie grudek w śledzionie po zakażeniu *Aeromonas hydrophila* (barw. HE pow. 40 ×)



Ryc. 4. Zmiany w wątrobie – przekrwienie znacznego stopnia, nacieki komórkowe zapalne w okolicy naczyń krwionośnych, przerost ścian naczyń krwionośnych, ogniskowa martwica hepatocytów (barw. HE pow. 40 ×)

4. Bisgaard M.: Salpingitis in web-footed birds: prevalence, aetiology and significance. *Avian Dis.* 1995, 24, 443-452.
5. Brook I., Rogers J., Rollins D. M., Coolbaugh J. C., Walker R. I.: Pathogenicity of *aeromonas*. *J. Infect.* 1985, 10, 32-37.
6. Burke V., Robinson J., Gracey M., Peterson D., Partridge D.: Isolation of *Aeromonas hydrophila* from a metropolitan water supply: seasonal correlation with clinical isolates. *Appl. and Environ. Microbiol.* 1984, 34, 361-366.
7. Chopra A. K., Houston C. W.: Enterotoxins in *Aeromonas*-associated gastroenteritis. *Microbes Infection.* 1999, 1, 1129-1137.
8. Galvin J. W., Hollier T. J., Bodinnar K. D., Bunn C. M.: An outbreak of botulism in wild water birds in southern Australia. *J. Wildl. Dis.* 1985, 21, 347-350.
9. Gerlach H., Bitzer K.: Infection with *Aeromonas hydrophila* in young turkeys (preliminary communication). *Dt. Tierärztl. Wschr.* 1971, 15, 606-608.
10. Glünder G.: The occurrence of *Aeromonas hydrophila* in birds. *Zbl. Vet.-Med. B.* 1988, 35, 331-337.
11. Glünder G., Siegmund O.: Occurrence of *Aeromonas hydrophila* in wild birds. *Avian Pathol.* 1989, 18, 685-695.
12. Goulden S.: Botulism in water birds. *Vet. Rec.* 1995, 137, 328.
13. Jakubczak A.: Diagnostyka laboratoryjna chorób wywołanych przez pałeczki z rodzajów *Vibrio*, *Aeromonas* i *Plesiomonas*. [w:] Malicki K., Binek M. (red.): *Zarys klinicznej bakteriologii weterynaryjnej*. Wyd. SGGW Warszawa 2004, 180-186.
14. Janda J. M., Bottone E. J., Reitano M.: *Aeromonas* species in clinical microbiology: significance, epidemiology, and speciation. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 1983, 1, 221-228.
15. Korbel R., Kösters J.: Epidemic deaths of wild birds after *Aeromonas hydrophila* infection. *Tierärztl. Prax.* 1989, 17, 297-298.
16. Menge H., Wagner J., Skubis R., Simes G., Hahn H., Riecken E. O.: *Aeromonas hydrophila* as an autochthonous causative agent of infectious enteritis in Germany. *Dtsch. Med. Wschr.* 1987, 112, 1134-1136.
17. Nowicki W.: *Ptaki Śródmieścia Warszawy*, Muzeum i Instytut Zoologii PAN, Warszawa 2001, 14-15.
18. Ocholi R. A., Kalejaiye J. O.: *Aeromonas hydrophila* as cause of hemorrhagic septicemia in a ground-hornbill (*Bucorvus abyssinicus*). *Avian Dis.* 1990, 34, 495-496.
19. Picard B., Ariet G., Goulet P.: *Aeromonas hydrophila* septicemia. Epidemiologic aspects. 15 cases. *Presse Med.* 1984, 5, 1203-1205.
20. Pierce R. L., Daley C. A., Gates C. E., Wohlgemuth K.: *Aeromonas hydrophila* septicemia in a dog. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 1973, 162, 469.
21. Shane S. M., Gifford D. H.: Prevalence and pathogenicity of *Aeromonas hydrophila*. *Avian Dis.* 1985, 29, 681-689.
22. Shane S. M., Harrington K. S., Montrose M. S., Roebuck R. G.: The occurrence of *Aeromonas hydrophila* in avian diagnostic submissions. *Avian Dis.* 1984, 28, 804-807.
23. Shayegani M., Stone W. B., Hamnett G. E.: An outbreak of botulism in waterfowl and fly larvae in New York State. *J. Wildl. Dis.* 1984, 20, 86-89.
24. Shimada T., Sakazaki R., Horigome K., Uesaka Y., Niwano K.: Production of cholera-like enterotoxin by *Aeromonas hydrophila*. *Jpn J. Med. Sci. Biol.* 1984, 37, 141-144.
25. Ullmann D., Krause G., Knabner D., Weber H., Beutin L.: Isolation and characterization of potentially human pathogenic, cytotoxin-producing *Aeromonas* strains from retail seafood in Berlin, Germany. *J. Vet. Med. B Infect. Dis. Vet. Public Health* 2005, 52, 82-87.

Adres autora: dr hab. Piotr Szeleszczuk, prof. nadzw. SGGW, ul. Ciszewskiego 8, 02-786 Warszawa; e-mail: szeleszczuk@alpha.sggw.waw.pl