

EDWARD GRAWIŃSKI

## Występowanie w Polsce choroby „redmouth” u pstrąga tęczowego (*Salmo gairdneri* Richardson)

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

### Summary

#### The occurrence of redmouth disease in the rainbow trout (*Salmo gairdneri* Richardson)

Rainbow trout weighing from 40 to 100 g suspected to be afflicted with redmouth disease were tested in the period from April to November, 1988. Suspected bacteria, i.e. *Y. ruckeri* were isolated from internal organs (liver, kidneys, intestines) and blood. On the basis of biochemical examinations using 30 different tests 27 strains of *Y. ruckeri* were determined. They fermented sorbitol, mannitol, mannose, maltose and also other substrates. Taking into account biochemical properties of *Y. ruckeri* the bacterium was classified as belonging to the phenotype 2. Its pathogenicity was confirmed on the fry of rainbow trout weighing approx. 70 g.

Czynnik etiologiczny choroby redmouth został po raz pierwszy wyosobniony przez Ruckera w 1950 r. ze śnących pstrągów kalifornijskich w dolinie Hagerman w Stanie Idaho (USA).

Jest nim pałeczka Gram-ujemna, ruchliwa i urzęsiona peritrichalnie o wymiarach  $1,0 \times 2,0-3,0 \mu\text{m}$ , nie wytwarzająca oksydazy, którą ze względu na podobieństwo morfologiczne i biochemiczne, a także kliniczne zaseregowano do rodziny *Enterobacteriaceae* (19), ponieważ objawy kliniczne tej choroby u pstrągów wiązały się z zapaleniem jelitowym (18). Dopiero w roku 1978 zmieniono klasyfikację tej bakterii, zaliczając do rodzaju *Yersinia* i od tej pory określana jest jako *Yersinia ruckeri* (8).

Na świecie znanych jest dotychczas 6 typów serologicznych bakterii *Y. ruckeri*. Ostatni 6 serotyp *Y. ruckeri* został wyosobniony u ryb łososiowatych z kanadyjskiej części jeziora Ontario (7). Do najbardziej chorobotwórczych u pstrągów tęczowych w USA i Kanadzie należy serotyp 1 zwany serotypem Hagerman, natomiast u łososi większą patogennością odznacza się serotyp 2.

Poza USA choroba redmouth stała się w latach 1950—1978 przyczyną epizootii pstrąga tęczowego w Kanadzie (24) i w Australii (2, 14), a od niedawna przywędrowała na kontynent europejski (11, 13). W 1981 r. stwierdzono ją u pstrąga tęczowego hodowanego w południowo-zachodniej Francji (13), w Niemczech Zachodnich (11), Anglii (17), a nieco później w Danii (6), Szkocji 10) oraz u łososi w Norwegii (23). Chorobę redmouth stwierdzono również na kontynencie afrykańskim, gdzie w 1985 r. bakterię *Y. ruckeri* wyizolowano z chorych pstrągów tęczowych w Prowincji Transvaal w Republice Południowej Afryki (1). W ostatnim czasie zarazek tej choroby został wykazany również u chorych ryb gatunku *Pimephales promelas* importowanych do Europy ze stanów Missouri i Arkansas (USA) jako przynęta do połowów (15).

Badania eksperymentalne wykazały, że chore na redmouth pstrągi tęczowe z wód słonych są zdolne zakażać w tych samych warunkach ryby morskie, takie jak turboty, sole, dorady (25) i jesiotry (26).

Przenoszenie zarazków *Y. ruckeri* następuje w wodzie poprzez wydaliny chorych zwierząt. Wybuch choroby w hodowlach zamkniętych u pstrągów tęczowych i innych

gatunków ryb łososiowatych spowodowany jest najczęściej stresem transportowym, sortowaniem i przesadzaniem ryb oraz przegęszczeniem obsad w basenach. Niemały wpływ na występowanie choroby ma podniesienie się temperatury wody w basenie hodowlanym do 10—15°C.

Najbardziej charakterystyczne objawy choroby redmouth u pstrągów — to zwolnienie ruchów pływania, skupianie się stada ryb tuż pod powierzchnią lustra wody w basenie, wytrzeszcz oczu, pociemnienie skóry, czerwono-fioletowe zabarwienie u nasady płetw, pokryw skrzelowych, szczęk, przekrwienie podniebienia i gardzieli, a w obrazie sekcyjnym wybroczyny w wątrobie i nerkach, zaś w końcowym odcinku jelit — oprócz punkcikowatych wybroczyn — gromadzi się zazwyczaj żółty płyn wysiękowy (1, 10).

Ponieważ w Polsce od kilku lat obserwuje się zachorowania pstrągów tęczowych z objawami charakterystycznymi dla choroby redmouth podjęto badania mikrobiologiczne zmierzające do wyizolowania bakterii *Y. ruckeri*.

### Materiał i metody

Badania przeprowadzono od kwietnia do listopada 1988 r. Próby pochodziły z czterech ośrodków hodowli ryb łososiowatych z rejonu Północnej Polski. Do badań pobierano po 10 sztuk chorych ryb z każdego basenu hodowlanego. Materiał stanowiły śnące pstrągi tęczowe o wadze 40—100 g z objawami wytrzeszczu oczu, przekrwieniem pokryw skrzelowych, otworu gębowego, podniebienia i gardzieli. Wątroba była biała barwy jasnooliwkowej, woreczek żółciowy powiększony, wypełniony żółcią barwy jasnozielonej, śledziona i nerka powiększona i przekrwiona, wyrostki pyloryczne i jelita pokryte punkcikowatymi wybroczynami, zaś w końcowym odcinku jelit zalegał gęsty płyn surowiczy o barwie kremowej.

Do pobierania i zabezpieczenia materiału z chorych ryb, przeznaczanego do analiz laboratoryjnych wykorzystano podłoże SBL (prod. Biomed Kraków). Do badań bakteriologicznych z zachowaniem warunków jałowości pobierano próbki z wątroby, nerki, jelit i krwi. Dostarczony do analiz materiał posiewano na bulion sojowy (TSB prod. Difco), który inkubowano w temp. 22°C przez 24 godz. Z podłoża płynnego TSB dokonywano przesiewu materiału na stałe podłoża Mc Conkeya i agar AH do izolacji pałeczek Gram — ujemnych (1), które inkubowano w temp. 22°C przez 24—48 godz. Wyrosłe na podłożach podejrzone kolonie przesiewano na skosy agarowe zabezpieczając w ten sposób szczepy do dalszej identyfikacji.

Morfologię podejrzanych szczepów bakteriologicznych określano metodą Grama, ruch badano w kropli wiszącej obserwując ją pod mikroskopem oraz na agarze półpłynnym (3). Następnie określano wytwarzanie przez szczepy katalazy (20) i oksydazy (22) metodą Kovacsza.

Wstępna charakterystyka biochemiczna szczepów wykonywana na podłożu screeningowym (27) obejmowała fermentację tlenową i beztlenową glukozy, wytwarzanie  $\text{H}_2\text{S}$ , rozkład mocznika, laktozy, mannitolu i sacharozy. Dalsze różnicowanie drobnoustrojów obejmowało odczyn VP, MR, wykrywanie indolu, redukcję azotanów, rozkład cytrynianu (Simmons), wykrywanie beta — galaktozydazy, upłynnianie żelatyny, wytwarzanie dwuhydrolazy argininy, dekarboksylazy lizyny i ornityny, fermentację cukrów i alkoholi: maltozy, dulcitolu, melibiozy, inozytolu, rąmnozy, sorbitolu, adonitolu, mannozy, trehalozy, salicyny i eskuliny (12, 22).

Po potwierdzeniu zgodności cech biochemicznych wyizolowanych szczepów bakteriologicznych z właściwościami *Y. ruckeri*

keri przeprowadzono badanie eksperymentalne nad zjadliwością tych zarazków w stosunku do narybku pstrąga tęczowego. W tym celu wybranej grupie pstrągów tęczowych o średniej wadze ciężaru ciała 70 g, przetrzymywanych w basenie o pojemności 4 m<sup>3</sup> z bieżącym przepływem wody o temp. 5°C, wprowadzano dootrzewnowo strzykawką po 0,2 ml zawiesiny zawierającej bakterie szczepu *Y. ruckeri* o stopniu gęstości odpowiadającej  $3,0 \times 10^8$  bakterii wg skali Mc Farlanda. Pochodziły one z 24 godz. hodowli z wątroby, nerek i krwi pstrągów podejrzanych o chorobę redmouth. Codziennie od dnia iniekcji obserwowano ryby i rejestrowano ich reakcje na zakażenie.

### Wyniki i omówienie

Poznanie właściwości biochemicznych szczepów *Y. ruckeri*, które wywołują w Polsce poważne straty w hodowlach pstrągów tęczowych, oparte zostało na 30 testach różnicujących. Stosunkowo szeroki zakres użytych substratów umożliwił przeprowadzenie porównania ze szczepami *Y. ruckeri* izolowanymi w innych krajach. Pozwolił również na stwierdzenie, czy szczepy wyizolowane w naszym kraju można zaliczyć do któregośkolwiek ze znanych już biotypów *Y. ruckeri* (tab. 1). Krajowe szczepy *Y. ruckeri*, w liczbie 27, użyte do różnicowania biochemicznego odznaczały się 100% zgodnością reakcji w stosunku do poszczególnych substratów. Wykazują one dobry wzrost na agarze Mc Conkeya. Posiadają wymiary  $1,0 \times 2,2-2,9 \mu\text{m}$ .

Porównanie biochemiczne testowanych szczepów *Y. ruckeri* (tab. 1) ze szczepem z podręcznika Bergeya (23) wy-

każały odmienną reakcję jedynie w trzech testach, gdzie szczep z podręcznika Bergeya wykazuje dodatnią reakcję na MR, rozkłada żelatynę i nie fermentuje sorbitolu. Również cechy biochemiczne trzech szczepów *Y. ruckeri* pochodzących z pstrągów tęczowych z Anglii, Szkocji (10) i Republiki Południowej Afryki (1), a także szczepu izolowanego z jesiotra (26) wykazywały dużą zgodność ze szczepem *Y. ruckeri* wyosobnionym w Polsce. Zasadniczą różnicą pomiędzy szczepem krajowym a pozostałymi jest rozkład sorbitolu przez szczep polski. Poza tym u wszystkich szczepów zachodzą niejednolite reakcje z żelatyną, VP i MR.

Badania właściwości biochemicznych szczepów *Y. ruckeri* wykazały, że sorbitol jest ważnym czynnikiem różnicującym ten drobnoustrój. Podział izolowanych szczepów *Y. ruckeri* na grupy serologiczne został ustalony między innymi na podstawie ich reakcji z sorbitolem. Szczepy fermentujące sorbitol zaliczone zostały do serotypu 2, natomiast sorbitolo-ujemne do serotypu 1. Oba typy serologiczne są wysoce chorobotwórcze dla pstrągów i łososi (4, 5).

Podczas biochemicznej identyfikacji nowych gatunków i biogrów z rodziny *Enterobacteriaceae* w przypadkach klinicznych chorób u ludzi kilkakrotnie zostały wyizolowane sorbitolo-dodatnie szczepy, które są tożsame z serotypem 2 *Y. ruckeri* patogennym dla ryb (9).

Analiza cech biochemicznych bakterii *Y. ruckeri* opisanych w poszczególnych krajach wskazuje na występowanie w Polsce serotypu 2 tego drobnoustroju; jego zjadliwość w stosunku do narybku pstrąga tęczowego została potwierdzona eksperymentalnie. Po dootrzewnowym wprowadzeniu zawiesiny bakterii *Y. ruckeri* śnięcia pstrągów występowały w okresie 18–28 dni po iniekcji. Stwierdzone zmiany patologiczne narządów zewnętrznych i wewnętrznych pstrągów tęczowych podanych doświadczeniu są w większości takie same, jakie stwierdza się w przebiegu choroby redmouth u ryb w warunkach hodowlanych w niektórych gospodarstwach pstrągowych w kraju.

W badaniach mikrobiologicznych pstrągów doświadczalnych we wszystkich narządach chorobowo zmienionych wykazano pałeczki *Yersinia* o cechach biochemicznych określonych uprzednio z przypadków klinicznych u pstrągów w 1988 r.

Tab. 1. Charakterystyka biochemiczna szczepów *Yersinia ruckeri*

Test	Pochodzenie szczepów <i>Y. ruckeri</i>					
	P	B	PA	A	S	Fr
Mc Conkey	+		+			+
Oksydaza	—	—	—	—	—	—
Katalaza	+	+	+	+	+	+
Fermentacja glukozy O/F	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+
Ruch	+	76–89%+	+	+	+	+
Beta-galaktozydaza	+			+	+	+
Dehydrolaza argininy	—			—	—	—
Dekarboksylaza lizyny	+	76–89%+		+	+	+
Dekarboksylaza ornityny	+	+		+	+	+
VP	+	26–75%+		—	+	—
MR	—	+	+	—	—	—
Indol	—	—	—	—	—	—
Mocznik	—	—	—	—	—	—
H <sub>2</sub> S	—	—	—	—	—	—
Cytrynian	+		+			—
Zelatyna	—	26–75%+		—	+	+
Azotany	+	76–89%+	+	+	+	+
Fermentacja: Mannitol	+	+	+	+	+	+
Inozytol	—	—	—	—	—	—
Sorbitol	+	—	—	—	—	—
Ramnoza	—	—	—	—	—	—
Sacharoza	—	—	—	—	—	—
Laktoza	—	—	—	—	—	—
Mannoza	+	+	—	—	—	—
Maltoza	+	+	+	—	—	—
Trehaloza	+	+	+	—	—	—
Adonitol	—	—	—	—	—	—
Dulcytol	—	—	—	—	—	—
Eskulina	—	—	—	—	—	—
Salicyna	—	—	—	—	—	—
Galaktoza		+				

Objaśnienia: O — fermentacja tlenowa glukozy, F — fermentacja beztlenowa glukozy, P — szczep polski, B — szczep system. Bergeya, PA — szczep z Republiki Południowej Afryki, A — szczep angielski, S — szczep szkocki, Fr. — szczep francuski.

### Wnioski

1. Zastosowana metodyka badań biochemicznych pozwala na określenie czynnika etiologicznego choroby redmouth u ryb lososiowatych.

2. Na podstawie badań biochemicznych wykazano, że szczepy *Y. ruckeri* wyosobnione z przypadków klinicznych choroby redmouth w Polsce należą do serotypu 2 wysoce patogennego dla ryb lososiowatych.

### Piśmiennictwo

1. Bragg R. R., Henton M. M.: Bull. Eur. Ass. Fish Pathol. 6, 5, 1986.
2. Bullock G. L., Stuckey H. M., Shotts.: Fish Health News 6, 96, 1977.
3. Burbianka M., Piłszka A.: Mikrobiologia żywności. PZWL, Warszawa, 1977.
4. Cipriano R. C., Schil W. B., Pyle S. W., Horner R.: J. Wild Dis. 22, 488, 1986.
5. Cosarini — Dunier M.: J. Fish Dis. 9, 27, 1986.
6. Dalsgaard I., From J., Horlyck V.: Bull. Eur. Ass. Fish Pathol. 4, 10, 1984.
7. Daly J. G., Lindvik B., Stevenson R. M. W.: Dis. aquat. Org. 1, 151, 1986.
8. Ewing W. H., Ross A. J., Bremer D. J., Fanning G. B.: Int. J. Syst. Bacteriol. 28, 37, 1978.
9. Farmer J. J., Davis B. B., Hickman F. W., McWhorter A., Huntley — Carter G. P., Asbury M. A., Riddle C., Wathen-Grady H. G., Elias C., Fanning G. R., Steigerwalt A. G., O'Hara C. M., Morris G. K., Smith P. B., Brenner D. J.: J. Clin. Microbiol. 21, 46, 1985.

10. *Frerichs G. N., Stewart I. A., Collins O.*: J. Fish Dis. 8, 383, 1985.
11. *Fuhrmann H., Bohm K. H., Schlotfeldt H. J.*: J. Fish Dis. 6, 309, 1983.
12. *Lachowicz K.*: Wykrywanie i różnicowanie drobnoustrojów rodziny Enterobacteriaceae; cz. 4, 6, 1, Wyd. Metod. PZH, 1963.
13. *Lesel R., Leel M., Gavini F., Vuillaume A.*: J. Fish Dis. 6, 385, 1983.
14. *Llewellyn L. C.*: J. Fish Dis. 3, 29, 1980.
15. *Michel C., Faivre B., Dekinkelin P.*: Bull. Eur. Ass. Fish Pathol. 6, 97, 1986.
16. *O'Leary D. J., Rohovec J. S., Sanders J. E., Fryer J. L.*: Sea Grant College Program Publication No. ORESU-T-82-001, Oregon State Univ. Corvallis, Oregon, 1, 1982.
17. *Roberts M. S.*: J. Fish Dis. 6, 551, 1983.
18. *Ross A. J., Rucker R. R., Ewing W. H.*: Can. J. Microbiol. 12, 768, 1966.
19. *Rucker R. R.*: Bull. Off. int. Epizoot. 65, 825, 1966.
20. *Shaw B. G., Latty J. B.*: J. Appl. Bact. 52, 219, 1982.
21. *Shotts E. B., Rimler R.*: Appl. Microbiol. 26, 550, 1973.
22. *Sneath B. H. A., Collins V. C.*: Antonie v. Leeuwenhoek 40, 481, 1974.
23. *Sparboe O., Hastein T., Poppe T. T., Koren H., Steuwig H.*: Norsk Veterinaertidsskrift 98, 189, 1986.
24. *Wobeser G.*: J. Fish Res. Board. Can. 30, 571, 1973.
25. *Vionelle M.*: Piscic. Fr. 77, 14, 1984.
26. *Vuillaume A., Brun R., Chene P., Sochon E., Lesel R.*: Bull. Eur. Ass. Fish. Pathol. 7, 18, 1987.
27. *Zaręba M.*: Diagn. lab. 13, 231, 1977.

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

## HIGIENA ŻYWNOSCI

STEFAN KOSSAKOWSKI, ADOLF DZIURA, EUGENIUSZ WIELBO \*

### Promieniotwórczość paszy i mięsa pochodzącego od świń karmionych tą paszą

Pracownia Ochrony Radiologicznej i Badań Izotopowych Instytutu Weterynarii,  
Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy  
\* Zakład Hodowli Trzody Chlewnej Wydziału Zootechnicznego AR,  
ul. Akademicka 13, 20-033 Lublin

#### Summary

#### Radioactivity of fodder and meat derived from pigs fed this fodder

The studies were carried out on 70 pigs fed a modified „PP-prestarter” concentrate for about 127 days. Feeding this fodder took place in young pigs weighing 25,5 kg and lasted until they reached a bodyweight = 109 kg. The assessment of radioactivity concerned the fodder and its components and the following parts of muscles and internal organs: the back of the neck, joint of pork, sirloin, liver, kidneys, heart, lungs, spleen and brain. It was found that the total radioactivity of the fodder was 235,0 Bq/kg; the radioactivity of the meat and internal organs was lower at 57,0—60,7% and 60,6—73,4% respectively.

Promieniotwórcze pierwiastki skażające środowisko są zaliczane do bionegatywnych czynników ekologicznych, które mogą kumulować się w różnych ogniwach łańcucha żywnościowego, szczególnie w roślinach i u zwierząt. Specyficzną cechą toksycznego działania tych radioizotopów jest emisja promieniowania jonizującego, którego skutkom nie potrafimy dotychczas skutecznie przeciwdziałać. Skutki te mogą charakteryzować się wielokierunkowymi zaburzeniami czynnościowymi i uszkodzeniami popromiennymi, z somatycznymi i genetycznymi włącznie.

Z punktu widzenia radioekologicznego istotne znaczenie posiadają badania nad promieniotwórczością poszczególnych ogniw łańcucha żywnościowego z określaniem zależności skażeń pomiędzy odpowiednimi ogniwami. Z tego też względu uznano za celowe określenie promieniotwórczości paszy stosowanej w żywieniu świń, a następnie mięsa i narządów wewnętrznych pochodzących od świń karmionych tą paszą.

#### Materiał i metody

Badania przeprowadzono na 70 svinach następujących ras: puławskiej, wielkiej białej polskiej i polskiej białej zwisłouchej. Świnie karmiono przez około 127 dni zmodyfikowaną mieszanką paszową PP-prestarter, której skład po-

dano w tab. 1. Karmienie tą mieszanką rozpoczęto u warchlaków o masie 25,5 kg ( $\pm 1,25$ ) do masy ciała około 109,0 ( $\pm 5,0$ ) kg. Zużycie paszy na 1 kg przyrostu wynosiło 3,7 ( $\pm 0,5$ ) kg. Po ukończonym tucz svinie poddawano ubojowi w Zakładach Mięsnych w Lublinie, pobierając próby następujących partii mięsnych i narządów wewnętrznych: karkówki, schabu, poledwicy, wątroby, nerek, serca, płuc, śledziony, i mózgu. Pobierano również 2-krotnie po 3 próby wody pitnej używanej w tuczarni.

Mieszanka paszowa została przygotowana jednorazowo na zlecenie Zakładu Hodowli Trzody Chlewnej AR w Lublinie przez Wytwórnice Pasz w Motyczu w ilości wystarczającej na cały okres tuczu. Do badań pobierano 3-krotnie próby komponentów i paszy z losowo wybranych miejsc.

Badanie radiometryczne 1986 pób wykonano wg metody opracowanej przez CLOR (4). Próby mieszanki i jej komponentów oraz próby mięsa i narządów o masie 100 g spiecalo w sposób frakcjonowany w temperaturze 710 K. Następnie ważono ogólną ilość popiołu z próby i odważano na wadze analitycznej do aluminiowych naczynek pomiarowych 0,25 g popiołu, który ugniatano do równej, cienkiej warstwy i utrwalano za pomocą kolodiu.

Pomiary promieniotwórczości prób popiołów wykonywano przy użyciu zestawu pomiarowego ZM-701 z sondą SSU-70 zawierającą detektor promieniowania Geigera-Müllera typu BOH-45. Sonda pomiarowa, celem zmniejszenia tła promieniowania, była umieszczona w domku osłonnym typu CLOR. Każdą próbę mierzono 3-krotnie w ciągu 100 minut; w identycznych warunkach mierzono wzorzec KCl i tło. Średni błąd pomiarów wynosił  $\pm 7,6\%$ . Wyniki zapisywano w imp./min. po odjęciu tła, a następnie obliczano globalną promieniotwórczość każdej próby w Bq/kg.

#### Wyniki i omówienie

Wyniki pomiarów globalnej promieniotwórczości mieszanki paszowej PP-prestarter i jej komponentów przedstawiono w tab. 1. Wskazują one, że promieniotwórczość globalna mieszanki PP-prestarter wynosiła 235,0 Bq/kg, natomiast promieniotwórczość komponentów była zróżnicowana; najniższą stwierdzano w soli pastwowej 10,4 Bq/kg, znacznie wyższą w komponentach pochodzenia roślinnego, a mianowicie w śrucie jęczmiennej 118,0 Bq/kg, w sусu z zielonek 603,0 Bq/kg i pochodzenia zwierzęcego o promieniotwórczości od 242,0 Bq/kg (mączka rybna) do 519,0 Bq/kg (mleko w