

MARIA PROST

Lublin

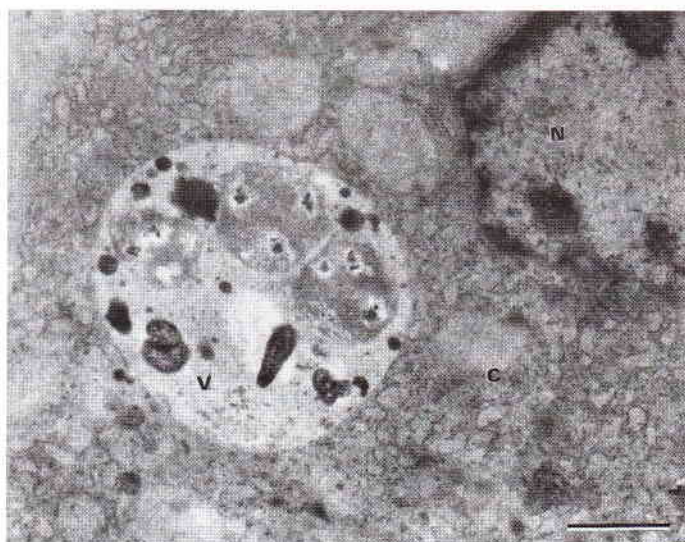
Choroby ryb wywołane przez riketsje

U zwierząt wodnych riketsje występują najczęściej u skorupiaków i mięczaków, rzadziej u ryb. Dotychczas izolowano te bakterie głównie z tkanek ryb łososiowatych hodowanych w wodzie morskiej, należących do następujących gatunków: *Oncorhynchus kisutch* (kizucz), *O. tshawytscha* (czawycza), *O. keta* (keta), *O. mykiss* (pstrąg tęczy) oraz *Salmo salar* (łosoś). Spośród ryb niełososiowatych stwierdzano je u *Dicentrarchus labrax*. W wodach słodkich izolowano je z tilapii nilowej (*Oreochromis niloticus*) odłowionej z rzek Tajwanu oraz z *Panaque suttoni*, pochodzących z rzek Kolumbii (8). Rozprzestrzenienie geograficzne ryb, u których stwierdzano infekcje riketsji jest szerokie. W wodach morskich były notowane u ryb wybrzeży Chile, Kolumbii, Kanady, Irlandii, Szkocji, Francji i Tajlandii.

Riketsje lokalizują się u ryb w komórkach następujących tkanek i narządów: w nerkach tułowiowych, śledzionie, wątrobie (ryc. 1), mięśniach, skórze, sercu, krwi, mózgu, jajnikach, płynie jajnikowym, jądrach, jelicie, tłuszczu jamy brzusznej i w skrzelach (3). Często bakterie te znajdują się w makrofagach tych narządów lub w krwi (ryc. 2 i 3).

Infekcjom riketsji u ryb towarzyszyć mogą zakażenia bakterii *Renibacterium salmoninarum* oraz *Vibrio* (2) lub niektóre inwazje pasożytnicze wywołane np. przez *Microsporea*, *Trypanosoma* (3), nicienie i kolcogłowy (8).

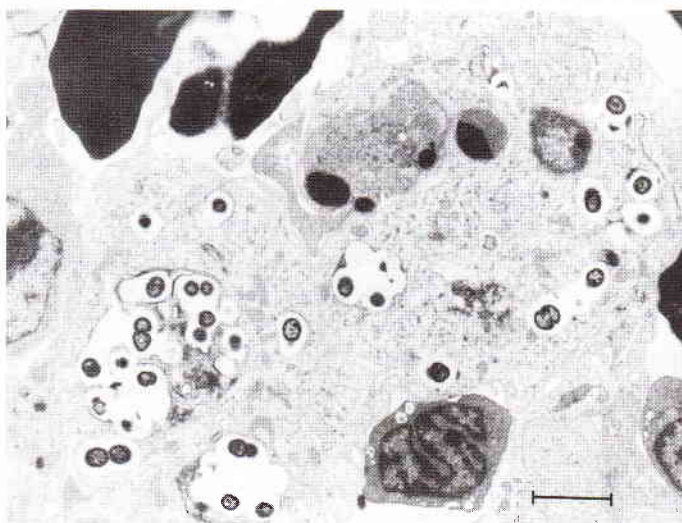
Riketsje izolowane z chorych ryb można hodować na stałych liniach ciągłych hodowli komórko-



Ryc. 1. Fragment komórki wątroby kizuczka (*Oncorhynchus kisutch*). W wakuoli cytoplazmatycznej (v) widoczne dwie riketsje w stanie podziału. C – cytoplazma, N – jądro komórki wątroby. Powiększenie 17 500 ×, podziałka = 1,0 μm. Wg Cvitanich J. D. i wsp., 1991

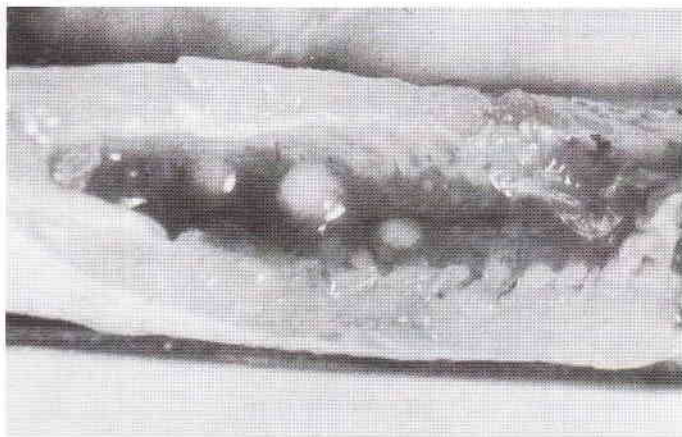


Ryc. 2. Trzy makrofagi w krwi *Oncorhynchus kisutch* zawierające riketsje w wakuolach cytoplazmatycznych. Powiększenie 1200 ×. Wg Cvitanich J. D. i wsp., 1991



Ryc. 3. Obraz elektromikroskopowy fragmentu makrofaga z mięszu nerki tułwiowej ryby słodkowodnej *Panaque suttoni*. W wakuolach komórki widoczne riketsje, niektóre w fazie podziału. Podziałka = 5,0 μm. Wg Khoo L. i wsp. 1995

wych, w których wywołują efekt cytopatyczny. Najczęściej stosowaną linią ciągłą jest CHSE-214 sporządzona z embrionów *Oncorhynchus tshawytscha*, ale również przydatne są hodowle: CHH-1, ATCC CRL 1680 z komórek serca *Oncorhynchus keta*, CSE-119 z embrionów *Oncorhynchus kisutch*, RTG-2, ATCC CCL 55 z gonad *Oncorhynchus mykiss* oraz FHM z komórek nabłonkowych ryb *Pimephales promelas*. Optymalną temperaturą dla hodowli riketsji izolowanych z ryb jest 15-18°C. W tych temperaturach bakterie te widoczne są w komórkach po 5-6 dniach. W niższej temperaturze



Ryc. 4. Białe guzki różnej wielkości w nerce tułowiowej zakażonej riketsjami tilapii nilowej (*Oreochromis niloticus*). Wg Chen S. C. i wsp., 1994

(4°C) stwierdza się je dopiero po 60 dniach (5). Nie rosną na pożywkach stosowanych w hodowli innych bakterii.

Riketsje są chorobotwórcze dla ryb. Chore osobniki wykazują osłabienie, pływanie przy powierzchni wody, skrzela są często blade, a skóra pociemniała. Na jej powierzchni czasami mogą być widoczne wybroczyny, szczególnie na brzusznej stronie ciała, utrata łusek oraz owrzodzenia (1, 3). Ryby mogą być wychudzone, z zapadniętymi powłokami brzusznyymi (8). Czasami występują zaburzenia równowagi.

W narządach wewnętrznych stwierdzane są następujące zmiany: śledziona i nerki blade i obrzmiałe, powiększony pęcherzyk żółciowy, w śledzionie, na osierdziu i w mięszu nerek występować mogą liczne, rozsiane gruźelki, czasami znacznych rozmiarów (ryc. 4). W jamie brzusznej często brak tkanki tłuszczowej. Wybroczyny mogą być widoczne w błonie śluzowej żołądka, jelit, wyrostkach pylorycznych, pęcherzu pławnym oraz w mięśniach szkieletowych. W sercu notowano czasami zmiany zapalne osierdzia oraz zwyrodnienie hialinowe w mięśniach. W jelicie zmiany zapalne dotyczą głównie *lamina propria*. W skrzelach może wystąpić przerost nabłonka, co powoduje zrosty sąsiednich blaszek skrzelowych. Zmiany zapalne mogą być również widoczne w mózgu, trzustce, jajnikach, tkance tłuszczowej i w kłębuszkach nerkowych. W komórkach wielu narządów chorych ryb występują liczne makrofagi. W ich wakuolach cytoplazmatycznych można znaleźć riketsje. W naczyniach krwionośnych mogą wystąpić zatory (1, 3, 10). Niekiedy w czasie łagodnego przebiegu choroby stwierdza się jedynie powiększenie śledziony (7). W obrazie mikroskopu elektronowego, w komórkach chorych ryb można obserwować obrzek błon mitochondrialnych (10).

W krwi notowano obniżony poziom hematokrytu o 66%, białka całkowitego o 36% oraz liczby monocytów o 42% (1, 5). W rozmazach krwi mogą być widoczne monocyty zawierające w cytoplazmie liczne, małe (0,5 μm), bazofilne ziarnistości odsu-

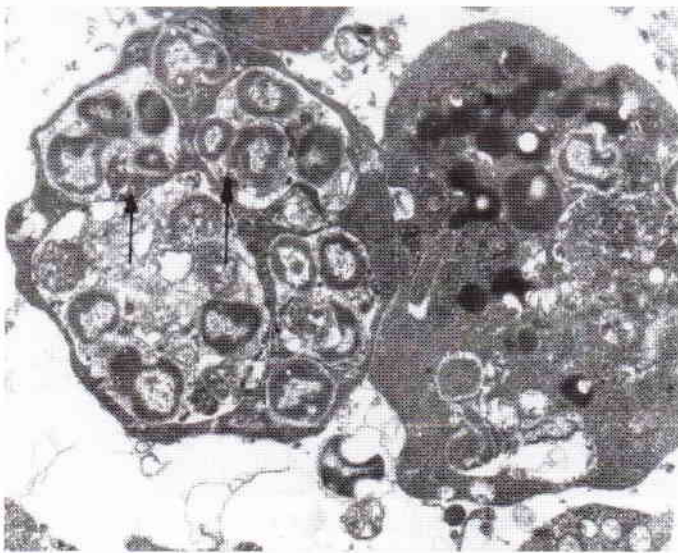
wające czasem jądro tych komórek na stronę peryferyjną (8). Liczba erytrocytów nie ulega zmianie (3).

W przeciwieństwie do ryb łososiowatych, u których można stwierdzić riketsje w komórkach różnych narządów, u ryby *Dicentrarchus labrax*, nie należącej do łososiowatych, bakterie te znajdowano wyłącznie w komórkach tkanki nerwowej lub w makrofach w tej tkance. Zmiany histopatologiczne występowały również tylko w centralnym układzie nerwowym. W przedniej części rdzenia przedłużonego notowano zmiany zapalne i ogniska martwicze. W wakuolach cytoplazmatycznych makrofagów, w okolicy tych ognisk martwiczych stwierdzano liczne, bazofilne ziarnistości (ryc. 5 i 6) o średnicy 1 μm, które zdiagnozowano jako riketsje (2).

Pierwsze dane nt. występowania riketsji i ich chorobotwórczości dla ryb pochodzą z lat osiemdziesiątych (4, 12). Pomimo wielokrotnego stwierdzenia tych zakażeń w latach dziewięćdziesiątych u różnych gatunków ryb, dotychczas opisany został u ryb



Ryc. 5. Rozmaz z mózgu ryby *Dicentrarchus labrax*. Widoczny w środku makrofag zawiera bazofilne ziarnistości – riketsje. Podziałka = 10 μm. Wg Comps M. i wsp. 1996



Ryc. 6. Obraz elektromikroskopowy makrofaga z mózgu ryby *Dicentrarchus labrax* zawierającego w wakuolach riketsje (strzałki). Podziałka = 1 μm. Wg Comps M. i wsp., 1996

tylko jeden gatunek riketsji – *Piscirickettsia salmonis*, występujący u łososia (*Salmo salar*), pstrąga tęczowego (*Oncorhynchus mykiss*), kizuczka (*O. kisutch*) i czawyczy (*O. tshawytscha*) (6). Ryby te pochodzą z Pacyfiku u południowych wybrzeży Chile. Rozpoznanie i diagnozę gatunku *Piscirickettsia salmonis* ustalono (6) nie tylko na podstawie cech morfologicznych i lokalizacji w komórkach ryby, ale również na podstawie porównania sekwencji nukleotydowej frakcji 16 S rybosomalnego RNA u *P. salmonis* i u wielu innych gatunków bakterii (w tym u wielu riketsji). *Piscirickettsia salmonis* nie daje wzrostu na podłożach stosowanych do hodowli innych bakterii. Pozytywny efekt daje natomiast hodowla tego gatunku na komórkowych liniach ciągłych. Przydatna jest zwłaszcza linia ciągła CHSE-214. Po 10 dniach hodowli w temperaturze 15°C do 18°C *P. salmonis* obserwuje się wyraźny efekt cytopatyczny. W wyższej temperaturze (25°C) hodowla nie udaje się (6).

Piscirickettsia salmonis izolowana z hodowli komórkowej, podana w iniekcji młodym łososiom oraz rybom *Oncorhynchus kisutch*, wywołuje typowe objawy chorobowe oraz śmiertelność dochodzącą do 100%. Z zakażonych w ten sposób ryb izolowano *P. salmonis* (6).

Podobne obserwacje zanotowano zarażając dwa gatunki ryb łososiowatych: kizuczka i pstrąga tęczowego izolowanymi z hodowli komórkowej riketsjami *P. salmonis*. W hodowli tej był widoczny efekt cytopatyczny. Po trzech tygodniach u obu gatunków zakażonych ryb wystąpiły śnięcia, przy czym u kizuczka śmiertelność wynosiła 60%, a u pstrąga tęczowego 28% (11).

Piscirickettsia salmonis jest bakterią o kształcie ziarnistym, średnicy 0,5-1,5 μm. Ziarna te mogą przybierać różne kształty. Jest gramujemna, pozbawiona ruchu, barwi się fuksyną i met. Giemsy. Osiedla się i rozmnaża przez podział w cytoplazmatycznych wakuolach komórek ryby. Jest wrażliwa na działanie wielu antybiotyków: gentamycynę, streptomycynę, erytromycynę, tetracyklinę, doksycyklinę, kwas oksolinowy i chloramfenikol. Nie wykazuje wrażliwości na penicylinę. Wzrost jej jest hamowany również przez wysokie dawki sulfamerazyny.

Choroba wywołana przez *P. salmonis* u ryb łososiowatych występuje w czasie przebywania ryb w wodach morskich. Ryby łososiowate wód słodkich są jednak nierzadko nosicielami tych bakterii, choć nie występują u nich objawy chorobowe. Po przeniesieniu do wód morskich ulegają śnięciu po 6-12 tygodniach, a w ich komórkach można stwierdzić riketsje.

Objawy chorobowe u ryb z infekcją *P. salmonis* nie są typowe. Chore ryby są osłabione, ospałe, ich skrzela blade, skóra pociemniała. Mogą wystąpić zaburzenia równowagi. Nerki i śledziona są powiększone, obrzmiałe. W wątrobie mogą występować zmiany w postaci szarych plam. Tkanki krwiotwór-

cze wykazują zmiany martwicze. W wakuolach komórek wielu narządów stwierdza się riketsje. Hematokryt u chorych ryb wykazuje znacznie niższy poziom niż u zdrowych. Śmiertelność ryb wynosi do 90%.

Do terapii chorób ryb wywołanych przez riketsje zaleca się antybiotyki (z wyjątkiem penicyliny). Zapobiegawczo można stosować kąpiele ikry ryb w preparatach jodoforowych. Bakterie te mogą bowiem występować w ziarnach ikry i możliwe jest przeniesienie infekcji na następne pokolenia (9).

Opisywane wielokrotnie choroby wywołane przez riketsje oraz szerokie występowanie tych bakterii u wielu gatunków ryb w wodach różnych rejonów geograficznych, świadczy o konieczności brania ich pod uwagę w rozpoznawaniu chorób tych zwierząt. Przypuszczalnie choroby ryb wywołane przez riketsje nie są spowodowane przez tylko jeden gatunek *Piscirickettsia salmonis*. Można o tym sądzić choćby na podstawie obserwacji, których dokonali autorzy opisujący tę infekcję u niełososiowatych ryb *Dicentrarchus labrax* (2). Morfologia riketsji występujących u tego gatunku ryby była wprawdzie podobna do *P. salmonis*, ale w ich cytoplazmie przy błonie komórkowej występowały różnokształtne ziarnistości, które nie występują u *P. salmonis* pochodzącej od ryb łososiowatych. Poza tym lokalizacja riketsji wyłącznie w komórkach układu nerwowego ryby *Dicentrarchus labrax*, podczas gdy u innych gatunków ryb może ona mieć miejsce w komórkach wielu tkanek i narządów, świadczy o odmienności tych bakterii.

Oprócz zróżnicowania gatunkowego riketsji występujących u ryb pozostaje dotychczas niewyjaśnionych jeszcze wiele innych zagadnień. Niewiadomo jak długo bakterie te przeżywają w wodzie, jakie czynniki decydują o tym, że choroba objawia się tylko u ryb żyjących w wodach morskich, czy bakterie te produkują w organizmie ryb toksyny tak charakterystyczne dla riketsji u ludzi i wyższych kręgowców, w jaki sposób odbywa się zakażenie ryby i czy skorupiaki oraz mięczaki wodne, u których występują riketsje, mogą być rezerwuarem tych bakterii i źródłem zakażenia ryb.

Piśmiennictwo

1. Chen S. C., Tung M. C., Chen S. P., Tsai J. F., Wang P. C., Chen R. S., Lin S. C., Adams A.: J. Fish Dis. 17, 591, 1994.
2. Comps M., Raymond J. C., Plassiart G. N.: Bull. Eur. Ass. Fish Pathol. 16, 30, 1996.
3. Cvitanich J. D., Garate N. O., Smith C. E.: J. Fish Dis. 14, 121, 1991.
4. Davies A. J.: Bull. Eur. Ass. Fish Pathol. 6, 103, 1986.
5. Fryer J. L., Lannon L. N., Garces L. H., Larenas J. J., Smith P. A.: Fish Pathology 25, 107, 1990.
6. Fryer J. L., Lannon C. N., Giovannoni S. J., Wood N. D.: Int. J. System. bacteriol. 42, 120, 1992.
7. Grant A. N., Brown A. G., C6x D. I., Birkbeck T. H., Griffen A. A.: Vet. Rec. 138, 423, 1996.
8. Khoo L., Dennis P. M., Lewbart G. A.: J. Fish Dis. 18, 157, 1995.
9. Larenas J. J., Astorga C., Contreras J., Smith P.: Arch. Med. Vet. 28, 161, 1996.
10. Rodger H. D., Drinan E.: J. Fish Dis. 16, 361, 1993.
11. Smith P. A., Contreras J. R., Garces L. H., Larenas J. J., Oyanedel S., Caswell-Reno P., Fryer J. L.: J. Aquat. Anim. Health 8, 130, 1996.
12. Wolf K.: Fish Health News 10, 1, 1981.

Adres autora: prof. dr hab. Maria Prost, ul. Chmielna 12 m. 6, 20-075 Lublin