

Praktische Pathologie: Was ist Ihre Diagnose?

<https://doi.org/10.17236/sat00167>

Eingereicht: 22.01.2018
Angenommen: 16.04.2018

Vorbericht

Der Fischzüchter berichtete von erhöhter Mortalität in verschiedenen Altersklassen der von ihm gehaltenen Regenbogenforellen (*Oncorhynchus mykiss*). Die oben dargestellten Tiere stammten aus einem Becken, in welchem dem Besitzer mehrere Fische mit erhabenen Hautveränderungen oder Hautulzerationen aufgefallen sind. Diese Läsionen waren unregelmässig über den Körper verteilt und teilweise traten verschiedene Läsionen an einem Fisch auf. Sechs moribunde und vier tote Tiere wurden an das Zentrum für Fisch- und Wildtiermedizin (FIWI) zur Diagnosestellung gebracht.



Abbildung 1: Makroskopische Aufnahme von zwei Regenbogenforellen (*Oncorhynchus mykiss*), die zur Diagnostik an das Zentrum für Fisch- und Wildtiermedizin, Universität Bern, gebracht wurden. Die Tiere stammten aus einer kommerziellen Fischfarm, waren 21 bis 25 cm lang, weiblich und in einem guten Ernährungszustand. Die Forellen zeigten erhabene Hautläsionen unregelmässig verteilt am Körper, die Läsion der oberen Forelle zeigt eine leicht rötlich verfärbte Oberfläche.

Klinische Erkrankung

Die moribunden Forellen wurden mittels einer Überdosis (250 mg/l H₂O) von gepuffertem 3-aminobenzoic acid ethyl ester (MS 222[®], Argent Chemical Laboratories, Redmond) getötet. Drei der zehn untersuchten Tiere zeigten multiple leicht erhabene Hautläsionen, teils rötlich verfärbt. In einem Fall schien die Epidermis unverletzt, in einem Fall war die Oberfläche der Läsion leicht rötlich verfärbt (Abbildung 1), in einem Fall fand sich eine offene Ulzeration, mit leicht blutigen Wundrändern. Diese Ulzeration reichte bis in die oberflächlichen Muskelschichten. Im Anschnitt waren die beulenartigen Veränderungen gefüllt mit einer rötlich bis gelblichen cremigen Masse, die beim Anschneiden auslief.

Für die parasitologische Untersuchung wurden Direktabstriche der Haut und der Kiemen unter dem Mikroskop beurteilt. Dabei fand sich ein geringgradiger Befall mit *Gyrodactylus* sp. auf der Haut. Die Fische wurden eröffnet und die inneren Organe beurteilt. Einzelne Tiere zeigten petechiale Blutungen in der Leber (Abbildung 2). Die Milz war mittel- bis hochgradig vergrössert (Splenomegalie).

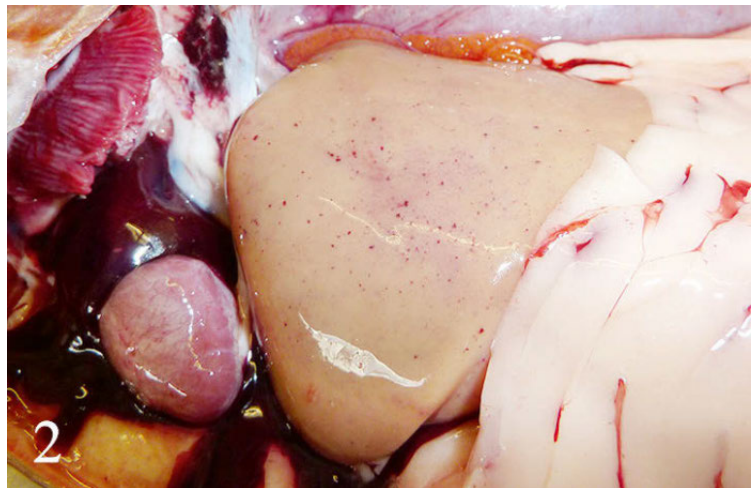


Abbildung 2: Situs einer Regenbogenforelle (*Oncorhynchus mykiss*), mit petechialen Blutungen in der Leber.

Bitte formulieren Sie basierend auf der Anamnese, den klinischen (Abbildung 1) und pathologischen Befunden (Abbildung 2) Ihre Differentialdiagnosen und Ihr weiteres Vorgehen, um Ihre Diagnose zu bestätigen. Danach blättern Sie bitte weiter zur nächsten Seite. →

Weiterführende Untersuchungen

Histopathologie

Für weitergehende Untersuchungen wurden Proben der Leber, Niere, Milz, Kiemen und veränderter Hautstücke in 10%-igem gepuffertem Formalin fixiert. Nach 24 Stunden wurden die Proben zugeschnitten, in Paraffin eingebettet und 3 bis 4 µm dicke Schnitte wurden hergestellt. Diese wurden mit Hämotoxylin und Eosin (HE) und Gram gefärbt und unter dem Mikroskop beurteilt. Histologisch zeichneten sich die Läsionen durch eine fokale extensive Nekrose der Dermis, der Subkutis und der darunterliegenden oberflächlichen Muskelschichten aus (Akkumulation von eosinophilem granulärem bis fibrillärem Material, Zell- und Kerndebris). In diesen nekrotischen Bereichen und am Rand der Nekrose fanden sich grosse Ansammlungen von Erythrozyten (Blutungen). Die nekrotischen Bereiche waren umgeben von vielen Makrophagen, Lymphozyten und neutrophilen Granulozyten. Das umgebende Gewebe war hochgradig ödematisiert. In den Läsionen befanden sich Bakterienrasen, bestehend aus massenhaft kurzen plumpen, Gram-negativen Stäbchen. Die darüber liegende Epidermis war multifokal ulzeriert. In angrenzenden Bereichen war die Dermis infiltriert mit v.a. Makrophagen und Lymphozyten. Die Schuppentaschen waren erweitert durch Ödem und Infiltration mit den-

selben Entzündungszellen. In diesen Bereichen war die darüber liegende Epidermis hochgradig hyperplastisch (Abbildung 3, 4).

Bakteriologie

Um die Diagnose zu bestätigen, ist der Nachweis der Bakterien nötig.⁵ Dazu wurden Proben von Niere, Milz, Leber und veränderten Hautstellen auf Blutagarplatten (Biomerieux, Genf CH) und Bromthymolblau-Laktose-Agarplatten (Merck, Darmstadt D) ausgestrichen und 48 Stunden bei 22°C inkubiert. Die Platten wurden täglich auf Bakterienwachstum kontrolliert. Nach 48 Stunden waren auf der Blutagarplatte feine gräuliche Kolonien sichtbar, die dem Agar ein leicht verbräunendes Erscheinungsbild gaben. Auf der Bromthymolblau-Laktose-Agarplatte waren feine bläuliche Kolonien zu sehen. Es wurde ein Serum Agglutinationstest durchgeführt. Als Positivkontrolle wird ein *Aeromonas salmonicida* subsp. *salmonicida* Kontrollkeim verwendet, als Negativkontrolle PBS. Bei dem Antiserum handelt es sich um ein rabbit anti-*Aeromonas salmonicida* Antiserum, welches vom Referenzlabor für bestimmte Fischkrankheiten (Statens Veterinære Serumlaboratorium, Århus, Dänemark) zur Verfügung gestellt wurde.

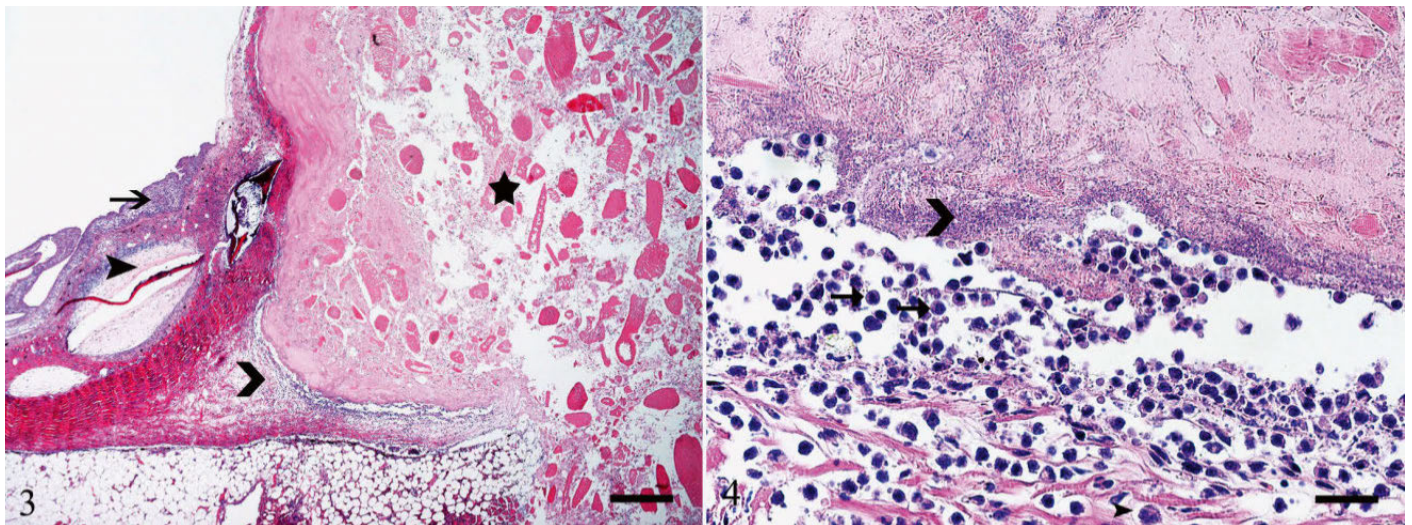


Abbildung 3 und 4: Histologisches Bild der Hautläsion, 3. das Zentrum der Läsion besteht aus nekrotischem Material (Stern), umgeben von Entzündungszellen, Blut (offener Pfeilkopf) und Bakterienrasen, im angrenzenden Bereich sind die Schuppentaschen erweitert durch Ödem und Ansammlung von Entzündungszellen (geschlossener Pfeilkopf), die darüber liegende Epidermis ist hyperplastisch (Pfeil). 4. Nähere Aufnahme der Übergangszone mit Bakterienrasen (offener Pfeilkopf), Makrophagen, Lymphozyten und neutrophilen Granulozyten. HE Färbung, Bars = (3) 100 µm, (4) 25 µm.

Morphologische Diagnose, Ätiologie und Name der Erkrankung

Morphologische Diagnose: Haut, nekrotisierende und pyogranulomatöse Dermatitis und Myositis, fokal extensiv, akut, hochgradig mit Bakterienrasen.

Ätiologie: *Aeromonas salmonicida* subsp. *salmonicida*

Name der Erkrankung: Furunkulose

Kommentare

Furunkulose ist eine schwerwiegende bakterielle Sepsiskämie, die primär Salmoniden betrifft.⁵ Der auslösende Erreger ist *Aeromonas salmonicida* subsp. *salmonicida*, es werden jedoch auch atypische Aeromonaden Infektionen unter dem Begriff zusammengefasst, welche eine Vielzahl an Süß- und Salzwasserfischen betreffen kann.^{1,4,7} Der Name entstand aufgrund der typischen Blister-ähnlichen Veränderungen der Haut bei chronisch infizierten Salmoniden.⁸ Das klinische Symptom ist jedoch nicht pathognostisch für die Erkrankung, da makroskopisch ähnliche Hautveränderungen auch bei anderen Erkrankungen auftreten können.^{6,10} Weiterhin sind bei akuten Fällen keine Blister zu sehen. Zur sicheren Diagnose ist die Identifizierung der Bakterienspezies notwendig, durch Kultivierung und weiterführende

Tests, z.B. Serum Agglutinationstest, MALDI-TOF oder PCR.^{2,5}

Die Erkrankung wird ausgelöst durch ein Gram-negatives Bakterium, *Aeromonas salmonicida* subsp. *salmonicida*, welches zuerst durch Griffin et al. (1953) beschrieben wurde.³ *Aeromonas salmonicida* ist durch sein typisches Wachstum mit brauner Pigmentierung für den geübten Mikrobiologen schnell zu diagnostizieren.

Furunkulose tritt weltweit auf und führt zu hohen Verlusten in verschiedenen Aquakulturen, v.a. auf der nördlichen Hemisphäre. *Aeromonas salmonicida* subsp. *salmonicida* gilt als obligat pathogen.⁸ Es wurden verschiedene Virulenzfaktoren beschrieben, ein wichtiger Faktor ist das type-three secretion system (T3SS).⁹ Für die rasche Übertragung und hohe Pathogenität sind jedoch verschiedene Faktoren entscheidend: u.a. (1) unterschiedliche Eintrittspforten, wie Darm und Haut, (2) leichte Übertragung über das Wasser, (3) niedrige Speziesselektivität, (4) verschiedene Resistenzgene, inklusive gegen Antibiotika.

Zur Kontrolle der Erkrankung werden weltweit Vakzine eingesetzt, v.a. injizierbare Vakzine mit Öl-Adjuvantien. Dabei werden die Impfstoffe häufig kombiniert mit anderen bakteriellen oder viralen Erregern. Orale oder Immersionsvakzine haben sich dagegen bisher nicht durchgesetzt.⁴

Praktische Pathologie:
Was ist Ihre Diagnose?

Heike Schmidt-Posthaus

Literatur

- Austin B, Austin DA. Bacterial Fish Pathogens, Disease of Farmed and Wild Fish. 5th edition. Springer International Publishing. Chichester, UK. 2012.
- Byers HK, Gudkovs N, Crane MS (2002) PCR-based assays for the fish pathogen *Aeromonas salmonicida*. I. Evaluation of three PCR primer sets for detection and identification. *Dis Aquat Organ* 49(2): 129-38.
- Griffin EJ, Snieszko SE, Friddle SB (1953) A more comprehensive description of *Bacterium salmonicida*. *Trans Am Fish Soc* 82: 129-138.
- Midtlyng PJ: Vaccination against Furunculosis. In: Gudging R, Lillehaug A, Evensen Ø (eds.), Fish Vaccination. Wiley Online Library, 2014, doi: 10.1002/9781118806913.ch16
- Noga RJ. Fish Disease: Diagnosis and Treatment. 2nd edition. Wiley-Blackwell. USA. 2010.
- Oidtmann B, Verner-Jeffreys D, Pond M, Peeler EJ, Noguera PA, Bruno DW, LaPatra SE, St-Hilaire S, Schuberger CB, Snekvik K, Crumlish M, Green DM, Metselaar M, Rodger H, Schmidt-Posthaus H, Galeotti M, Feist SW (2013) Differential characterisation of emerging skin diseases of rainbow trout – a standardised approach to capturing disease characteristics and development of case definitions. *J Fish Dis* 36: 921-937.

⁷ Shotts EB, Talkington PD, Elliott DG, McCarthy DH (1980) Aetiology of an ulcerative disease in goldfish, *Carassius auratus* (L.): characterization of the causative agent. *J Fish Dis* 3(3): 181-186.

⁸ Snieszko SE, GL Bullock (1975) Fish furunculosis. U.S. Fish and Wildl. Serv., *Fish Dis Leaflet* 43, Washington, DC. 10 p.

⁹ Vanden Bergh P, Fey J (2014) *Aeromonas salmonicida* subsp. *salmonicida* in the light of its type-three secretion system. *Microb Biotechnol* 7(5): 381-400.

¹⁰ Zepeda-Velázquez AP, Vega-Sánchez V, Salgado-Miranda C, Soriano-Vargas E (2015) Histopathological findings in farmed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) naturally infected with 3 different *Aeromonas* species. *Can J Vet Res* 79(3): 250-254.

Korrespondenz

Heike Schmidt-Posthaus, PD, Dr. vet. med., FVH (Pathologie), Dipl. ECVP
Zentrum für Fisch- und Wildtiermedizin
Department für Infektiöse Erkrankungen und Pathobiologie
Universität Bern
Länggassstrasse 122
3012 Bern
Tel.: + 41 31 631 24 65
E-Mail: heike.schmidt@vetsuisse.unibe.ch