

Flavobakterien und Forellen – Erkenntnisse aus dem Bakteriosen-Projekt

Januartagung für Fischhaltung und Fischzucht am
19.01.2022

Peter Steinbauer¹, Marcus Zielasko¹, Gregor Schmidt²

¹ Abt. Fischgesundheitsdienst des Tiergesundheitsdienst Bayern e.V.

² Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft, Institut für Fischerei, Starnberg

Gefördert aus Mitteln des Freistaates Bayern durch das Bayer. Staatsministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Forsten sowie der Fischereiabgabe.

Forschungsvorhaben

„Bakteriosen bei Nutzfischen“

- Gefördert durch das bayerische StMELF aus Mitteln der Fischereiabgabe des Freistaates Bayern
- Laufzeit: Juni 2017- November 2019

Beteiligte:

- Kooperationspartner: Institut für Fischerei, Gregor Schmidt
- Molekularbiologische Untersuchungen: PD Dr. habil. Verena Jung-Schroers, Tierärztliche Hochschule Hannover



Übersicht

- Projektidee und Zielsetzung
- Flavobakterien – kurze Einführung
- Flavobakterien – die wichtigsten Ergebnisse
- Fazit und Erkenntnisse aus der Anwendung der Ergebnisse in der fischmedizinischen Praxis

I. Ausgangslage und Projektidee

Wie kam es zum Projektidee

- Immer häufiger auftretende bakteriell bedingte Bruthausprobleme, verbunden mit geschwürigen Hautentzündungen bei Brut und Setzlingen
- Unbefriedigende bakteriologische Ergebnisse, insb. bei Flavobakterien mittels herkömmlicher biochemischer Methoden
- Erfassung von allen relevanten pathogenen bakteriellen Erregern essentiell für die Therapie-Entscheidung bzw. weiteres Management
- Möglichkeit der Nutzung der MALDITOF-MS (matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry)

Bakteriosen bei Nutzfischen – Zielsetzungen gesamt

- Verbesserung der Diagnostik auf allen Ebenen (Probenahme, kulturelle Anzucht, Resistenzverhalten, Differenzierung)
- Einsatz der MALDITOF-MS (Protein-Fingerabdruck, „Proteomanalyse“ Fa. Bruker)
- Interpretation von bakteriellen Mischinfektionen / unspezifischen Keimgehalten
- Resistenzverhalten von fakultativ pathogenen Keimen der aquatischen Umwelt
- Fütterungsversuche mit funktionellen Futtermitteln

- Flavobakterien-Komplex:
- welche Spezies sind nachweisbar und welche sind als pathogen einzustufen
- Ansteckungsquellen und Übertragungswege
- Identifizierung von krankheitsbegünstigenden Faktoren
 - > Etablierung entsprechender Management- und Prophylaxe-Maßnahmen

II. Flavobakterien – kurze Einführung

Flavobakterien - Steckbrief

- Familie *Flavobacteriaceae*
- laut Literatur 3 Hauptpathogene: *F. psychrophilum* (=F.p.), *columnare*, *branchiophilum*
- weitere *Flavobacterium* spp. und *Chryseobacterium* spp. (=Flavo spp.), Pathogenität (?)

F. p. als Auslöser von:

- Forellen-Brutsyndrom (RTFS, rainbow trout fry syndrome)/
Kaltwasserkrankheit/Sattelkrankheit

F.p.-Infektion – äußerlich erkennbare Befunde

- Hautrötungen/Hautgeschwüre, oft „wie ausgestanzt“
- Flossenläsionen
- Gewebsverluste, Flossenfraß





- Entzündungen und Gewebsverluste im Kieferbereich
- abstehende „ausgeklappte“ Zungenbeine (v.a. bei Bach- und Seeforellenbrütlingen)

- blasse Kiemen, Anämie
- Milzschwellung, oder unscharfe Milzränder
- selten: Flüssigkeit in der Bauchhöhle



III. Ergebnisse

Projektteil Flavobakterien - Fragestellungen

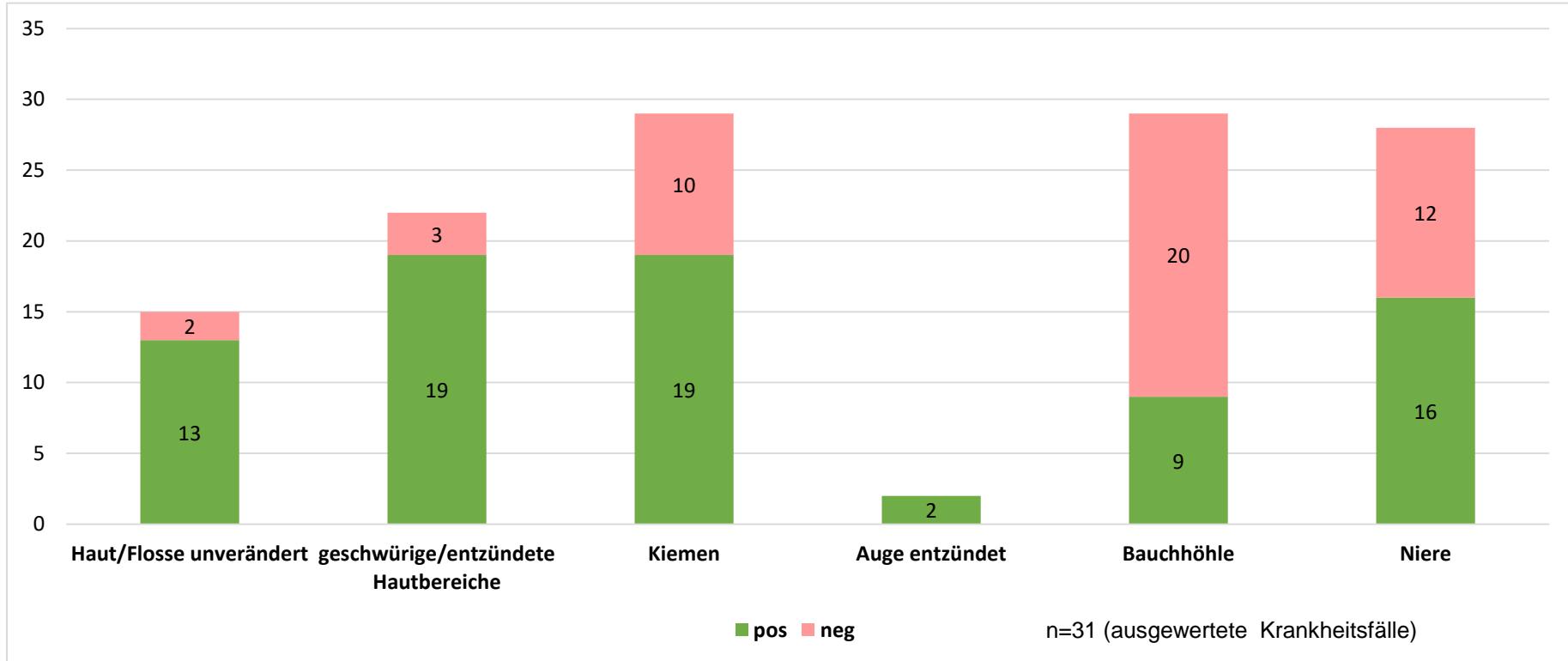


- Wo am Fisch sind Flavobakterien zu finden?
→ Beprobung nach einem festgelegten Schema („Flavobakterien-Schema“)
- Welche Rolle spielen die Flavo spp.
- Überprüfung der MALDITOF-Ergebnisse mittels 16S-rRNA-Sequenzierung
- Erregerverbreitung/Infektionsherde (Laichprodukte, Haltungsumfeld)
- Verlaufsuntersuchungen während der Aufzucht in 2 Betrieben

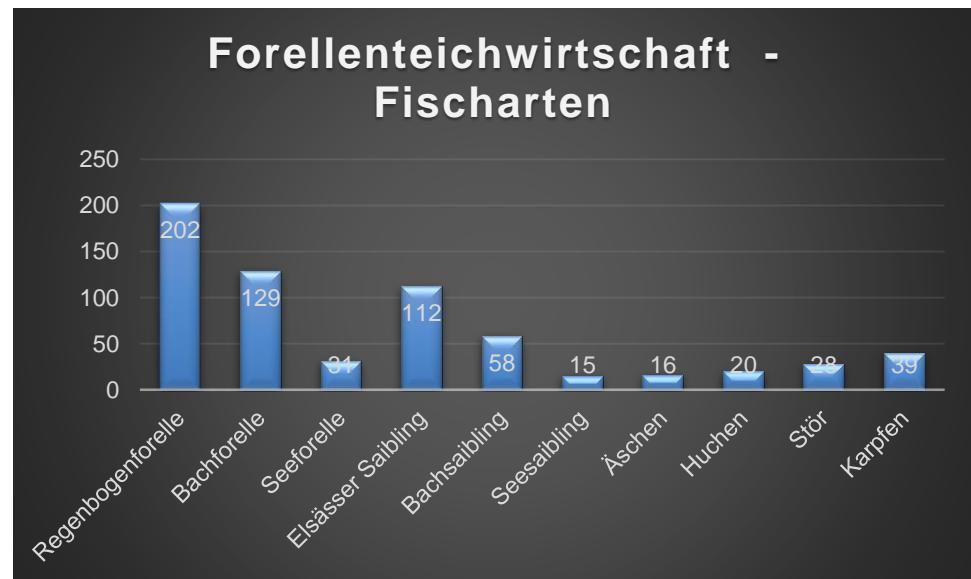
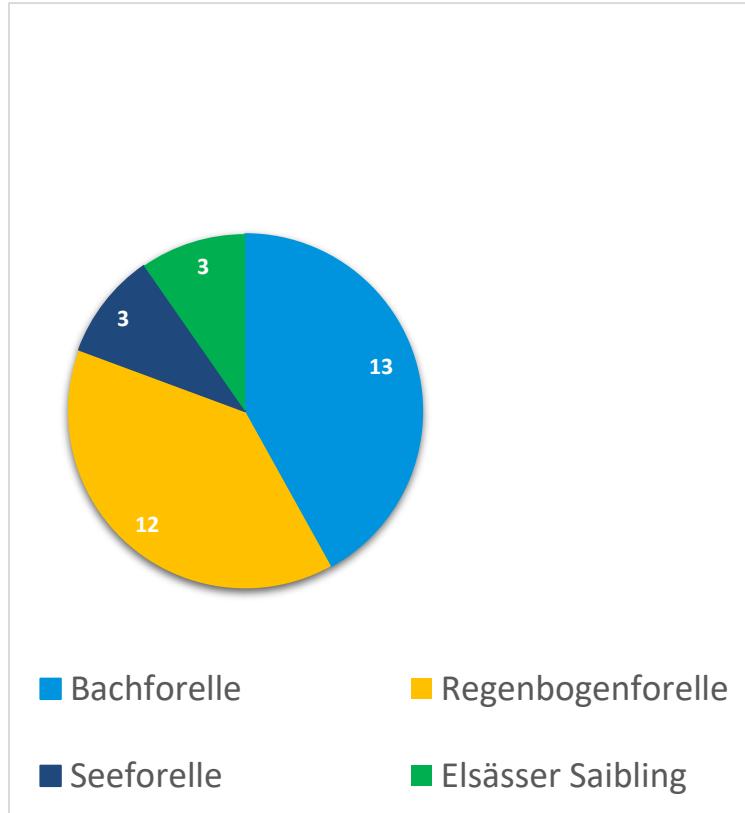
Lokalisationsvergleich der kulturellen Nachweise von *F. psychrophilum*



Äußere Lokalisationen	Haut/Flossen unverändert	geschwürige/entzündete Hautbereiche	Kiemen	Auge (bei Entzündung)
Innere Lokalisationen	Bauchhöhle	Niere	-	-



Flavobacterium psychrophilum – Infektionen - betroffene Fischarten



FGD-Betriebe: gehaltene Fischarten in der Forellenteichwirtschaft (Mehrfachnennungen möglich); 2020: 224 Betriebe, 380 Projektbesuche

Andere Fischarten? Vereinzelte Nachweise bei Stören, Elritzen etc.

Überprüfung der MALDITOF-Ergebnisse mittels 16S-rRNA-Sequenzierung



Genus Flavobacterium		Genus Chryseobacterium	
MALDITOF-MS (TGD)	16S-rRNA-Sequenzierung (TiHo)	MALDITOF-MS (TGD)	16S-rRNA-Sequenzierung (TiHo)
96 Nachweise	60 Isolate untersucht	55 Nachweise	35 Isolate untersucht
11 Spezies	22 Spezies	7 Spezies	9 Spezies
saccharophilum	saccharophilum	chaponense	chaponense
hydatis	hydatis	indologenes	indologenes
hibernum	hibernum	scopthalmum	piscis/balustinum
piscis	piscis	piscium	panacis
plurextorum	plurextorum	oranimense	vietnamense
flevense	tructae	oncorhynchi	haifense
pectinovorum	branchiarum	sp.	yeoncheonense/aahli/ limigenitum
oncorhynchi	branchiicola		indotheticum
araucanum	collinsii		antarcticum
johsoniae	sinopsychotolerans		
gelidilacus	glacieie		
sp.	frigidimaris		
	succinicans		
	chungonense		
	hydrophilum		
	terriphilum		
	limicola		
	micromati		
	aquidurensse		
	cerinum		
	fluvii		
	algicola		

Übereinstimmungen der beiden Methoden			
	F. <i>psychrophilum</i>	Genus Flavobacterium	Genus Chryseobacterium
Überprüfte Isolate	60	60	35
Gattung bestätigt	57	55	34
Spezies bestätigt	56	6	25
Abweichend	4	54	10

Flavobacterium spp. -Bewertung



- Nachweise mehrheitlich in + bis ++ Keimgehalten und sowohl in klinisch auffälligen Beständen als auch in klinisch unauffälligen, verlustfreien
- Äußerlich (Haut oder Kiemen): häufige Nachweise, mit + bis ++, selten +++ Gehalten
- Innerlich (Bauchhöhle, Niere): bis auf eine Ausnahme (++) maximal +
- Lokalisation Niere: nur in 1 Fall überhaupt ein Nachweis (*F. gelidilacus*, +), ansonsten keine Flavo spp. nachweisbar; in keinem Fall waren *Chryseobacterium* spp. nachweisbar (!)
- selten als primäre Krankheitserreger anzusehen, in den meisten Fällen sekundär bzw. Co-Infektionen?
- bei klinisch gesunden Beständen möglicherweise als Teil der normalen Keimflora der Kiemen und der Haut anzusehen

Untersuchung von Laichprodukten – PCR-Untersuchungen auf F.p.

Fischart/ Streif-Zeitraum	Anzahl Rogner	F.p. – PCR	Anzahl Milchner	PCR-Resultat
RF/2017	30	1x schwach positiv	16	negativ
BF/2017	10	negativ	5	negativ
BS/2017	20	negativ	-	
Ä/2018	10	1x zweifelhaft	-	
RF/2018	23	18x positiv *	-	

* andere Methodik

RF: Regenbogenforelle, BF: Bachforelle, BS: Bachsaibling, Ä: Äsche

Laichfischbeprobungen - Ergebnisse der kulturellen Anzucht

	F. p.	Flavo spp.	andere pathogene Bakterien	andere fakultativ pathogene Bakterien
Nachweise bei Laichprodukten, Haut bzw. Kiemen	keine (!)	<i>F. hydatis</i> <i>F. filevense</i> <i>F. araucanum</i> <i>F. saccharophilum</i> <i>F. pectinovorum</i> <i>F. johnsoniae</i> <i>F. plurextorum</i> <i>F. piscis</i> <i>F. hibernum</i> <i>C. piscis</i> <i>C. scophthalmum</i>	<i>Aeromonas salmonicida</i>	<i>Aeromonas hydrophila</i> <i>Aeromonas sobria</i> <i>Pseudomonas fluorescens</i> <i>Pseudomonas koreensis</i> <i>Carnobacterium maltaromaticum</i> <i>Acinetobacter iwofii</i> <i>Serratia liquefaciens</i> <i>Serratia fonticola</i>

F.: *Flavobacterium*; C.: *Chryseobacterium*

Laichfischbeprobungen - Fazit

- In Ovarialflüssigkeit bzw. Sperma konnten F.p. (PCR), *Flavo* spp sowie weitere (fakultativ) pathogene Bakterien nachgewiesen werden
- Der vertikale Übertragungsweg über die Laichprodukte ist ein grundsätzliches potentielles Übertragungsrisiko für die Weitergabe von Pathogenen von den Elterntieren auf die Nachkommenschaft.
- bewiesenermaßen führen selbst mehrmalige Ei-Desinfektionen nicht in jedem Fall zu einer vollständigen Abtötung von fischpathogenen Bakterien
 - über Ei(hülle) Übergang auf die Folgegeneration
- selbst die Einhaltung strengster Biosicherheitsmaßnahmen im Brutbereich kann nicht 100% vor der Einschleppung von (bakteriellen) Fischpathogenen schützen (andere Beispiele: BKD, IPN)

Verlaufsuntersuchungen während der Brutaufzucht in 2 ausgewählten Betrieben

- Fragestellung: ab wann und in welchen Phasen (frühzeitig bereits vor dem Auftreten von Verlusten?) sind Flavobakterien nachweisbar?
- Auswahl von 2 Betrieben, in denen F.p. bereits in der Vergangenheit im Betrieb nachgewiesen wurde
- Untersucht wurden Regenbogen-, Bach- und Seeforellen
- Beginn der Beprobungen: Mitte Januar (Betrieb A) bzw. Ende Januar (Betrieb B), im 14-tägigen Turnus, ab Spätsommer anlassbezogen
- Welche weiteren bakteriellen Erreger oder Parasiten waren nachweisbar?

Verlaufsuntersuchungen – die wichtigsten Ergebnisse

- Bereits 5 Wochen (RF) bzw. 8 Wochen (BF) nach der Anfütterung war F.p. (+ bis++) im Bestand nachweisbar (verlustfrei und klinisch unauffällig); Nachweisrate + bis++
- Bei den Seeforellen war F.p. nach 7 Monaten bei klinisch auffälligen Fischen nachweisbar (+++)
- Nachweisrate bei klinisch auffälligen, erkrankten Beständen ++ bis+++
- In einigen Fällen waren zusätzlich *A. salmonicida* bzw. andere fakultativ pathogene Erreger (Mischinfektionen) nachweisbar
- Krankheitsausbrüchen gingen stets Manipulationsmaßnahmen (Um/Aussetzen, Sortieren, Chargen zusammenführen)
- Ektoparasiten waren nur vereinzelt nachweisbar und haben in diesem Fall keine Rolle gespielt
- Nicht in jedem Fall einer Hauterkrankung war zwangsläufig F.p. beteiligt (*A. salmonicida*, Mischinfektionen); relevant für die Therapieauswahl (!)

IV. Erkenntnisse aus der täglichen Arbeit

Erkenntnisse aus der Anwendung der Projektergebnisse in der täglichen Arbeit

- ist F.p. die primäre Krankheitsursache, können sie zuverlässig und in hohen Befallsgraden (Flavobakterien-Schema) nachgewiesen werden
- mittlerweile ist F. p. der häufigste bakt. Krankheitserreger in der bayerischen Forellenteichwirtschaft
- mehrmalige Infektionen pro Jahrgang sind mittlerweile leider häufig
- beinahe ubiquitäre Verbreitung in den Teichwirtschaften feststellbar
- mittlerweile ganzjährig auftretende Krankheitsfälle, auch bei Temperaturen > 14 °C „psychrophil“? Verschiebung der Problematik vom Bruthaus in Richtung Außen-Teiche
- Setzlinge sind bis 120g Schnittgewicht betroffen, als Sekundärerreger (z.B. Erdbeerkrankheit) auch bei Speisefischen (!) nachgewiesen
- die eingesetzten Therapeutika sind gut wirksam
- andere Flavo spp. werden regelmäßig nachgewiesen, i.d.R. Kiemen oder Haut; Sekundärerreger (?)
- die Symptome ähneln oft der Furunkulose; auch Doppelinfektionen sind möglich

Danksagung

Vielen Dank für Ihre Aufmerksamkeit!

- Projektförderung durch das StMELF aus Mitteln der Fischereiabgabe des Freistaates Bayern (LFV, Förderbeirat, Dr. Reinhard Reiter, StMELF)
- Bernhard Feneis, VDBA, ehemals FGD
- Dr. Helmut Wedekind, IFI Starnberg
- den Mitarbeitern der Bakteriologie des TGD Bayern e.V.
- PD Dr. Verena Jung-Schroers (TiHo)

veröffentlicht im Fischer & Teichwirt
Ausgabe 11/2020: Bakteriosen Teil I
Ausgabe 12/2020: Bakteriosen Teil II