

Neue Erkenntnisse zur Epitheliocystis-Kiemenerkrankung beim Huchen

Peter Steinbauer, Marcus Zielasko, Tiergesundheitsdienst Bayern, Fachabteilung Fischgesundheitsdienst

Zusammenfassung

In den letzten sechs Jahren wurde bei Untersuchungen von erkrankten Huchen aus bisher fünf Fischzuchten ein bei dieser Fischart zuvor unbekanntes Krankheitsbild mit charakteristischer Kiemensymptomatik vorgestellt. Bei der histologischen Untersuchung der Kiemen waren deutliche Epithelhyperplasien mit teilweiser Verschmelzung der Sekundärlamellen, nekrotisierende Kiemenzündungen sowie charakteristische, basophile Einschlüsse im Kiemenepithel nachweisbar. Diese Veränderungen entsprechen dem Krankheitsbild Epitheliocystis.

Im Jahr 2018 ergaben weiterführende molekularbiologische Untersuchungen mittels qPCR bei zwei an Epitheliocystis erkrankten Huchen-Beständen einen positiven Nachweis von *Candidatus* Branchiomonas cysticola sowie in einem der beiden Fälle zusätzlich von *Candidatus* Clavoclamydia salmonicola. Diese bakteriellen Erreger verursachen bei anderen Salmonidenarten die Epitheliocystis-Erkrankung und werden nach jüngsten Erkenntnissen den β -Proteobacteria zugeordnet.

Einleitung

Unter dem Krankheitsbild Epitheliocystis ist ein weltweit vorkommendes, bei über 90 Süß- und Meerwasserfischen nachgewiesenes, durch Bakterien ausgelöstes Krankheitsbild zu verstehen, welches sich durch mikroskopisch kleine, intrazelluläre Einschlüsse im Kiemen- und teilweise auch im Hautepithel auszeichnet. Nachdem in früheren Studien Vertreter der Chlamydien als ursächliche Erreger beschrieben wurden, werden die zystenartigen Bakterien-Einschlüsse nach neueren Untersuchungen (Contador et al. 2015) durch Vertreter der β -Proteobacteria verursacht. Diese lassen sich im Gegensatz zu vielen anderen fischpathogenen Bakterien nicht durch Anzucht auf Nährböden oder Zellkultur isolieren. Neuerdings stehen jedoch PCR-Methoden zur Bestimmung der bisher bekannten Erreger zur Verfügung.

Der Huchen, *Hucho hucho* (Linnaeus, 1758), stellt den größten dauerhaft im Süßwasser lebenden Salmoniden unserer heimischen Gewässer dar. Da sein Vorkommen natürlicherweise auf das Einzugsgebiet der Donau beschränkt ist, trägt er auch den Namen „Donaulachs“. Seine imposante Erscheinung mit einer Länge bis zu 140 cm und einem Gewicht bis zu 30 kg hat ihm weiterhin die Bezeichnung „König der Fische“ eingebracht. Er ist ein Bewohner der Äschen- und Barbenregion und besiedelt je nach Altersstadium unterschiedliche Bereiche dieser Gewässer. Heute hat der Huchen laut roter Liste für

Bayern den Status „gefährdet“, für Deutschland „stark gefährdet“ und für Baden Württemberg sogar „vom Aussterben bedroht“. Des Weiteren ist er in den Anlagen II und V der Fauna-Flora-Habitat-Richtlinie des europäischen Biotopnetzes Natura 2000 gelistet, d.h. er fällt unter die Arten, für die Schutzgebiete ausgewiesen werden müssen. Ursachen für den Bestandsrückgang sind vor allem Querbauwerke, Defizite bezüglich geeigneter Laichplätze und passender Habitate. Aber auch das Fehlen von Futterfischen, Prädatoren, Freizeitnutzung von Gewässern und deren Erwärmung setzen dem Huchen maßgeblich zu. Nachweislich selbsterhaltende Huchenpopulationen existieren in Bayern wohl nur noch an Stücken der oberen Isar, des Regens und der Ilz. Nur durch gezielte Besatzmaßnahmen an gefährdeten Gewässern kann das Aussterben der Art verhindert und Wiederansiedlungen realisiert werden. Zur Bereitstellung von Besatzmaterial sowie seiner möglichen Vermarktung als Speisefisch wird der Huchen von diversen Salmoniden-Teichwirtschaften gehalten und vermehrt.

Bei den Salmoniden ist die Epitheliocystis-Erkrankung unter anderem beim Atlantischen Lachs (*Salmo salar*) (Toenshoff et al. 2012, Mitchell et al. 2013), bei Namaycush (*Salvelinus namaycush*) (Contador et al. 2015), bei Seesaiblingen (*Salvelinus alpinus*) (Draghi et al. 2010), bei Bachforellen (*Salmo trutta*) (Schmidt-Posthaus et al. 2011), bei Regenbogenforellen (*Oncorhynchus mykiss*) (Nylund et al. 1998) und bei Pazifischen Lachsen (*Oncorhynchus* spp.) (Kent et al. 1998) beschrieben.



Abbildung 1: Sektionsbefund Kieme. 3jähriger Huchen mit heller Kiemenfärbung sowie Verschleimung und Verdickung der Lamellen

Beim fachlichen Austausch mit Huchenhaltern, Anglern und fischereilichen Einrichtungen hat sich gezeigt, dass diese Erkrankung noch weitgehend unbekannt ist.

Methode

Für die histopathologischen Untersuchungen wurden Organproben über Nacht in 10%igem Formalin fixiert und anschließend in Paraffin eingebettet. 4 μ m dicke Schnitte wurden auf Objektträger gezogen und mit Hämatoxylin/Eosin-Färbung (HE) gefärbt. Für eine molekularbiologische



Abbildung 2: Einblutungen in den Kiemenlamellen

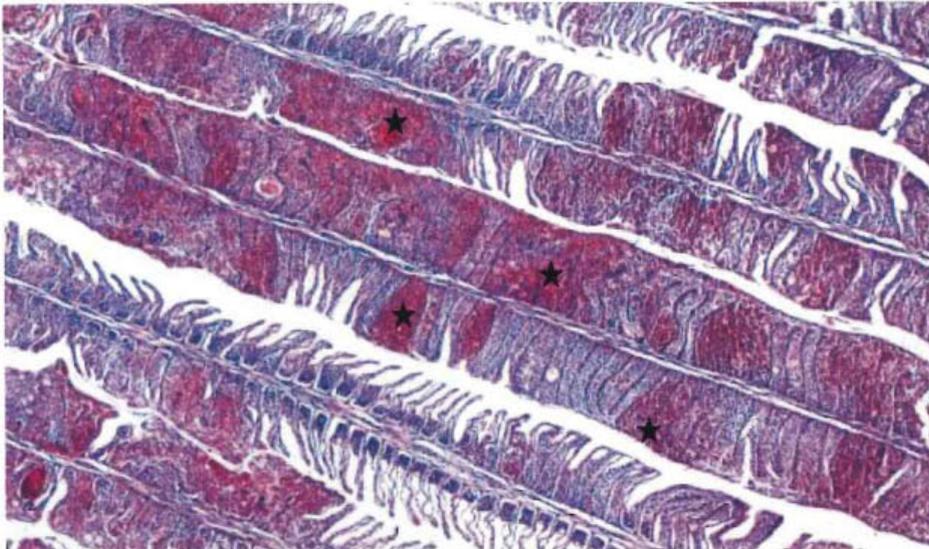


Abbildung 3: Kieme, HE-Färbung, Vergrößerung 40fach, Übersicht: Fusion von Sekundärlamellen, Hyperämie und multifokalen Blutungen (Stern, beispielhaft)

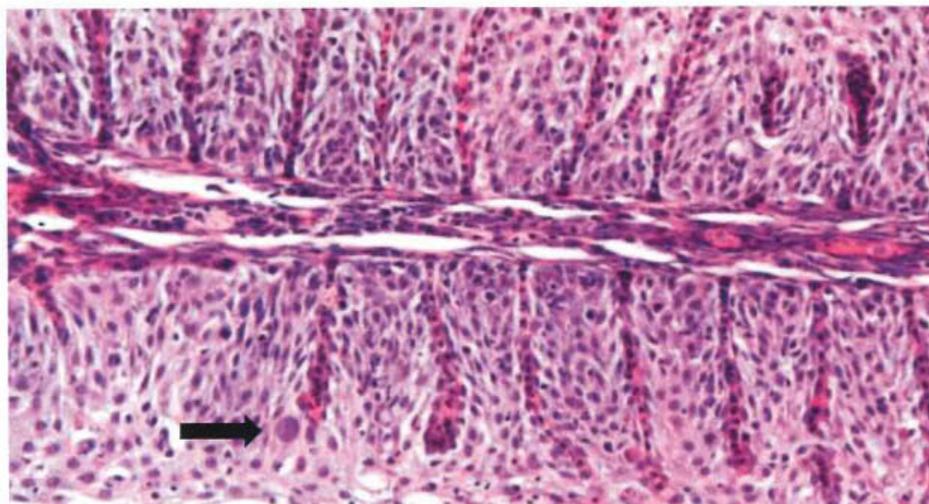


Abbildung 4: Kieme, HE-Färbung, Vergrößerung 200fach: Hyperplasie und Hypertrophie des Kiemenepithels mit Fusion der Sekundärlamellen. Einzelne, ca. 15-20 µm große, basophile, rundliche Erreger (Pfeil) im Epithel

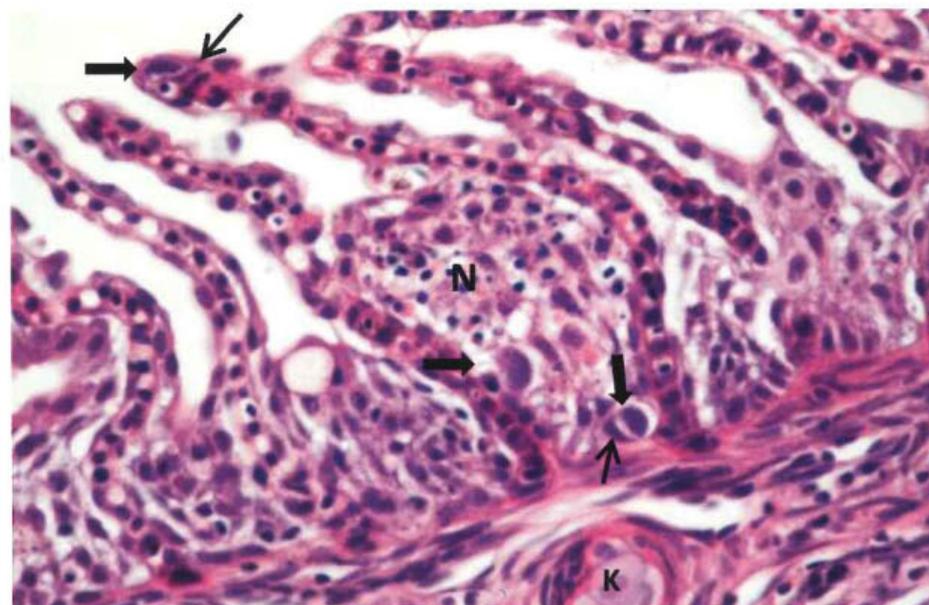


Abbildung 5: Kieme, F288/14, HE, 400x: intrazelluläre, dicht gepackte kokkoide, basophile Erreger (dicker Pfeil) mit an den Rand gedrängten Zellkernen (dünner Pfeil); die Lokalisation der Erreger reicht von der Basis bis zur Spitze der Sekundärlamelle. N = fokale Epithelnekrose, K = zentraler Knorpel der Primärlamelle

Untersuchung wurden Kiemen von betroffenen Huchen in 99%igem Ethanol fixiert und an die AFH Diagnostic Group - Marine Scotland Science nach Aberdeen, Schottland geschickt. Dort wurden die Proben mittels qPCR auf *Candidatus Clavoclamydia salmonicola* (Mitchell et al. 2010), *Candidatus Branchiomonas cysticola* (Mitchell et al. 2013), *Candidatus Pisciclamydia salmonis* (Nylund et al. 2008), *Candidatus Syngnamidia salmonis* (Nylund et al. 2015) sowie auf Salmon Gill Poxvirus (Gjessing et al. 2015) untersucht. Die bakteriologischen Untersuchungen der Kiemen erfolgten auf Columbia Blutagar mit 5% Schafblut (Oxoid) sowie Selektivnährböden nach Anacker & Ordal.

Ergebnisse

Klinische Symptome und Sektionsbefunde

Die untersuchten Krankheitsfälle sind im Zeitraum von Herbst 2014 bis Januar 2019 in bisher fünf Fischzuchten aufgetreten. Betroffen waren zwei- und dreißmürige Huchenjahrgänge und in einem Fall Laichhuchen unterschiedlichen Alters. In allen Fällen war bereits ein fortgeschrittenes Krankheitsgeschehen mit nennenswerten Ausfällen bis zu 90% in den betroffenen Partien und mit deutlicher Krankheitssymptomen im Gange. Schwer erkrankte Fische zeigten neben Anorexie ein apathisches Verhalten mit erhöhter Atemfrequenz.

Die Kiemen waren in allen Fällen sichtbar verändert, meist hellrosa mit starker Verschleimung (Abb. 1), vereinzelt waren zusätzlich Einblutungen erkennbar (Abb. 2). Die inneren Organe bei den untersuchten Fischen waren jeweils unauffällig.

Parasitologische Befunde

In zwei Fällen war ein vereinzelter und in einem Fall ein mittelgradiger Amöbenbefall auf den Kiemen nachweisbar. Einmal war das Untersuchungsmaterial nicht mehr frisch genug für eine aussagekräftige parasitologische Untersuchung und somit nicht mehr eindeutig beurteilbar. Im jüngsten Fall 2019 waren keinerlei Parasiten nachweisbar (wobei vorangegangene Kochsalzbäder möglicherweise zuvor vorhandene Amöben oder andere Ektoparasiten eliminiert haben könnten).

Histopathologie

In den Kiemenschnitten waren mittel- bis hochgradige Epithelhyperplasien mit teilweiser Verschmelzung der Sekundärlamellen (Abb. 3), nekrotisierende Kiemenentzündungen (Abb. 4) sowie die charakteristischen intrazellulären, basophilen Einschlüsse (Abb. 5) im Kiemenepithel nachweisbar.

Bakteriologie

Bei der bakteriologischen Untersuchung der Kiemen waren lediglich geringgradige Gehalte unspezifischer Keime und in einem Fall geringgradig *Flavobacterium* spp. nachweisbar.

Molekularbiologische Untersuchung

Die qPCR-Untersuchungen von Kiemenmaterial der zwei betroffenen Huchen-Bestände im Jahr 2018 ergaben in beiden Fällen einen positiven Nachweis von *Candidatus Branchiomonas cysticola* sowie in einem Fall zusätzlich von *Candidatus Clavoclamydia salmonicola*.

Diskussion

Nach unserem Wissen sind dies die ersten Nachweise der Epitheliocystis-Erkrankung beim Huchen. Das dabei festgestellte pathologische Bild der nekrotisierenden und hyperplastischen Kiemenentzündung mit läsionassoziierten Epitheliocystis-Strukturen entspricht der Beschreibung von Epitheliocystis beim Atlantischen Lachs (Mitchell et al. 2013). Mittels histopathologischer Untersuchung konnten wir die Epitheliocystis-Erkrankung beim Huchen bereits 2014 nachweisen. Anhand der Nachweise von *Candidatus Branchiomonas cysticola* und *Candidatus Clavoclamydia salmonicola* konnten Krankheitserreger nachgewiesen werden, welche in Norwegen (Toenshoff et al. 2012) und Schottland (Munro, pers. Mitteilung.) mit multifaktoriellen Kiemenkrankungen

beim Atlantischen Lachs in Verbindung gebracht werden. Beim Huchen spielen möglicherweise Kiemen-Amöben im Rahmen von Co-Infektionen eine Rolle, wenn auch diese nicht in allen Fällen nachgewiesen werden konnten. Eine zusätzliche Beteiligung von Viren am Krankheitsgeschehen kann grundsätzlich nicht ausgeschlossen werden, wobei zumindest das beim Atlantischen Lachs vorkommende, Kiemenkrankungen auslösende Salmon gill poxvirus bei Probenmaterial aus dem Jahr 2018 nicht nachweisbar war. Andere fischpathogene Bakterien, insbesondere Flavobakterien, scheinen sehr wahrscheinlich keine Rolle zu spielen.

Bei anderen in Bayern gehaltenen Süßwassersalmoniden-Arten ist die Epitheliocystis-Erkrankung nach unseren eigenen Untersuchungen bisher nicht in Erscheinung getreten. Stressfaktoren wie Umsetzen, Temperaturschwankungen und Leichzeit scheinen einen Ausbruch der Krankheit bzw. die Schwere des Verlaufs zu begünstigen. Leider fehlen noch wichtige Erkenntnisse zu Übertragungswegen, zum Vorkommen des Erregers in Teichwirtschaften und Freigewässern, einer potentiellen Gefahr für wildlebende Huchen,

stummen Trägern (Carriern), möglichen Vorbeugemaßnahmen und wirksamen Behandlungsmöglichkeiten.

Beim Beobachten der beschriebenen Kiemensymptomatik bei Huchen rufen wir daher auf, mit dem Fischgesundheitsdienst Kontakt aufzunehmen, um die Erkrankung näher zu untersuchen zu können. Im Rahmen eines 2019 laufenden Projektes zur Aufklärung neuartiger Krankheitsbilder kann dies unter bestimmten Voraussetzungen ohne anfallende Kosten durchgeführt werden.

Danksagung

Unser Dank gilt der Abteilung Histologie des TGD für die exzellente Diagnostik und technische Arbeit sowie Marine Scotland Science für die Durchführung der PCR-Untersuchungen. Für die finanzielle Förderung des Projektes gilt unser besonderer Dank dem Bayerischen Staatsministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Forsten sowie dem Landesfischereiverband Bayern e.V.

Literatur beim Verfasser

Antibiotikaeinsatz in der Fischzucht – Was ist zu beachten?

Dr. Peter Scheinert, Fischgesundheitsdienst Bayern

Die Behandlung von Fischen ist heutzutage für Tierärzte eine ebenso gängige Tätigkeit wie die therapeutischen Maßnahmen in anderen Tierbeständen. Besonders im Sommer, wenn aufgrund der höheren Wassertemperaturen bakterielle Erkrankungen, wie z.B. die Furunkulose oder die Rotmaulseuche, in Fischbeständen ausbrechen, müssen die erkrankten Bestände mangels geeigneter Impfstoffe oft mit Antibiotika behandelt werden. Beim Einsatz von Antibiotika beim Fisch sind jedoch sowohl vom Tierarzt als auch vom Fischzüchter einige Besonderheiten zu beachten.

Der Einsatz von Antibiotika muss auf der sorgfältigen Untersuchung einer repräsentativen Anzahl von Fischen des Bestandes basieren. Wesentlich sind dabei bestandspezifische Faktoren, die durch regelmäßige Besuche des den Tierbestand betreuenden Tierarztes erhoben werden. Es ist die Pflicht des Tierarztes darauf zu achten, dass die tierärztlichen Behandlungsanweisungen vom Fischzüchter genau umgesetzt werden. Antibiotika dürfen grundsätzlich nur bei bakteriellen Infektionen nach einem erfolgten Antibiogramm eingesetzt werden. Falls keine eindeutige ätiologische Diagnose zu stellen ist, kann die Auswahl einzusetzender Antibiotika aufgrund von bestandspezifischen Erfahrungen erfolgen, wenn entsprechende Erkenntnisse zum Gesundheitsstatus des Tierbestandes und über Ergebnisse vorausgegangener Antibiogramme vorliegen.

Die Dosis, die Therapiedauer, die Art der Verabreichung und die Wartezeit werden vom Tierarzt festgelegt. Die Einhaltung der Wartezeit bis zum Verkauf der Fische als Lebensmittel liegt jedoch in der Verantwortung des Fischzüchters.

Um Rückstände in Lebensmittel, die von Tieren gewonnen werden, zu vermeiden, ist die Handhabung, Verschreibung und Verabreichung von Antibiotika gesetzlich streng geregelt. Bevor ein Tierarzneimittel für Lebensmittel liefernde Tiere zugelassen wird, werden die Sicherheit der arzneilich wirksamen Substanzen und der möglichen Rückstände in Lebensmitteln untersucht und Höchstmengen bestimmt. In der EU werden für alle Wirkstoffe, die bei Lebensmittel liefernden Tieren eingesetzt werden sollen, Grenzwerte für Rückstände in Lebensmitteln festgelegt. Diese Rückstandshöchstwerte dürfen in Milch, Eiern, Honig sowie den tierischen Geweben (Fleisch, Innereien, Haut, Fett) zum Zeitpunkt des Gewinnens als Lebensmittel bzw. des Schlachtens nicht überschritten werden. Wartezeiten werden für alle essbaren Gewebe und tierische Produkte festgesetzt, für die zuvor Höchstmengen bestimmt wurden. Die Wartezeit hängt dabei nicht nur vom Wirkstoff selbst, sondern wesentlich auch von der Zusammensetzung der verwendeten Hilfsstoffe, der Darreichungsart und der Art und Dauer der Anwendung ab. Das Ausscheidungsverhalten eines Wirkstoffes wird in speziellen

Rückstandsstudien geprüft. Die Festsetzung von Wartezeiten erfolgt nach strengen Regularien im Zulassungsverfahren.

Aber wie ist die Wartezeit definiert? Als Wartezeit wird der Zeitraum angesehen, der nach der letzten Verabreichung eines Arzneimittels an ein Tier oder in diesem Fall an einen Fischbestand bis zum Zeitpunkt der Herstellung von Lebensmitteln aus diesem Tier einzuhalten ist und der gewährleistet, dass eventuelle Rückstände bestimmte Höchstmengen für arzneilich wirksame Stoffe nicht überschreiten. Dadurch soll sichergestellt werden, dass die Verbraucher von Nahrungsmitteln tierischer Herkunft nicht durch Arzneimittelrückstände geschädigt werden. Nach Ablauf der Wartezeit sollen die Lebensmittel keine gesundheitsschädigenden Rückstände mehr enthalten. Über den Schutz des Verbrauchers hinaus gewährleistet die Einhaltung der Wartezeiten sowohl dem behandelnden Tierarzt als auch dem Tierhalter, dass die produzierten Lebensmittel keine unerlaubten Rückstände mehr enthalten.

Die Behandlung von Nutzfischen erfordert daher Spezialkenntnisse in der Aquakultur. Bei der Verabreichung von Arzneimitteln stehen bei Fischen meist Bestandsbehandlungen im Vordergrund. Hierbei müssen Antibiotika in der Regel möglichst über das Futter appliziert werden. Im Einzelfall können beispielsweise bei Jungfischen auch Badebehandlungen durchge-