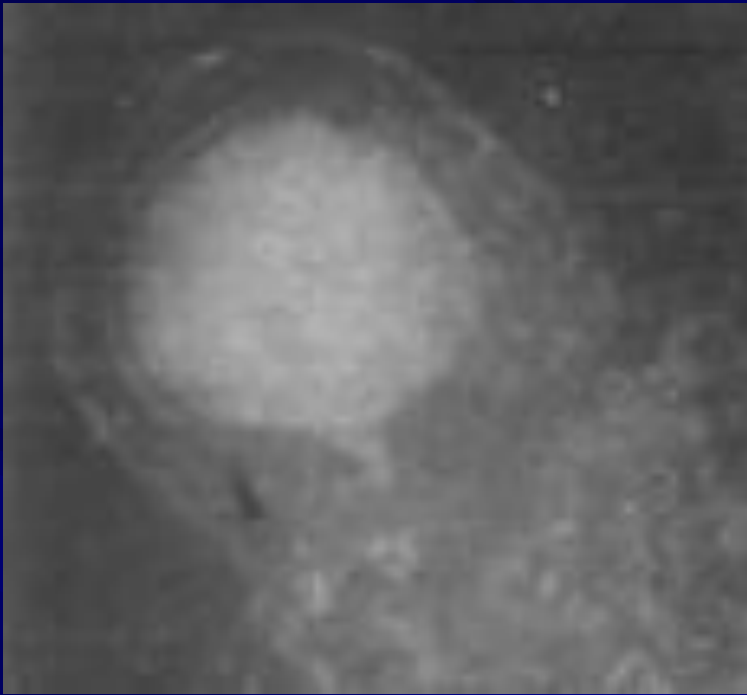


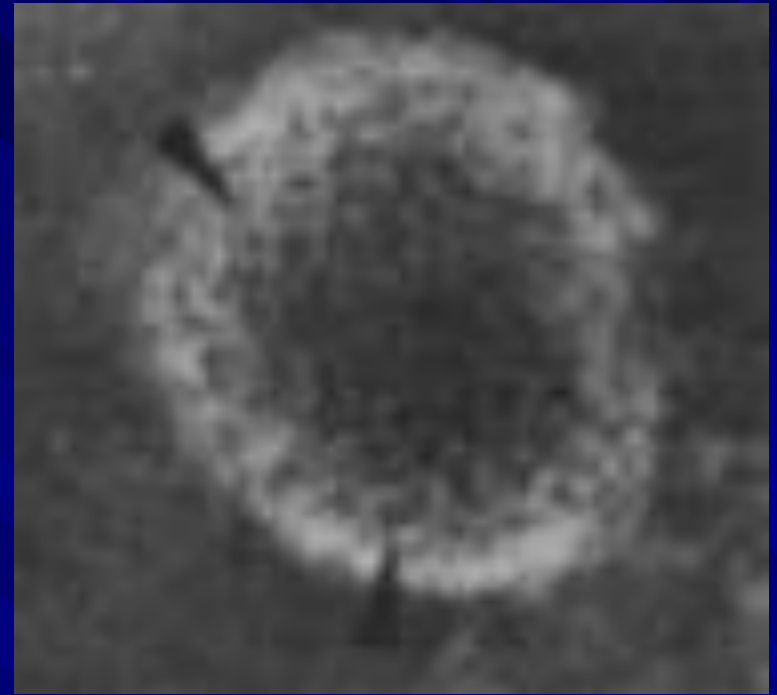
ΝΟΣΗΜΑΤΑ ΕΥΡΥΑΛΩΝ ΨΑΡΙΩΝ

Ιογενή νοσήματα

- **Λεμφοκύστη**
- Αιτιολογία: Ανήκει στην οικογένεια των ιριδοϊών.
- Οι ιριδοιοί έχουν εμπλακεί ως οι αιτιολογικοί παράγοντες σοβαρής ασθένειας, θνησιμοτήτων και οικονομικών απωλειών στα καλλιεργούμενα ψάρια, τα διακοσμητικά καθώς και τα άγρια ψάρια.
- Έχουν αναγνωρισθεί διαφορετικές ομάδες ιστοπαθολογικών αλλοιώσεων μετά από μόλυνση από ιριδοιούς, οι οποίες μπορεί να είναι εντοπισμένες ή συστηματικές.
- Από τον ιό έχουν απομονωθεί έως και 10 γλυκοπρωτεΐνες από την επιφάνεια και το εσωτερικό του ιικού σωματιδίου.



Εξωτερικό κάλυμμα και
μεμβράνη του ιριδοϊού
Χ156.000.



Τα καψομερή του ιού που
σχηματίζουν το καψίδιο του ιού
Χ 156.000

- Ευαίσθητα είδη: Προσβάλλει τα ανώτερα εξελικτικά είδη όπως τα σολωμοειδή.
- Ιριδοιοί έχουν απομονωθεί και από τη λευκή μουρούνα και το μπακαλιάρo.
- Η τσιπούρα φαίνεται ότι είναι το πιο ευαίσθητο από τα ευρύαλα καλλιεργούμενα είδη.
- Αντιθέτως το λαβράκι είναι πολύ λίγο ευαίσθητο και κάτω από φυσιολογικές συνθήκες ουσιαστικά δεν προσβάλλεται.
- Θερμοκρασία εκδήλωσης της νόσου: Παρατηρείται σε ευρεία κλίμακα θερμοκρασιών, τα κρούσματα όμως είναι εντονότερα κατά τους θερμότερους μήνες του χρόνου.



■ Κλινικά συμπτώματα

- Οι εντοπισμένες αλλοιώσεις περιλαμβάνουν αυτές της λεμφοκύστης του δέρματος και των πτερυγίων,
 - μόλυνση από ιριδοϊό του δέρματος και των βραγχίων της λευκής μουρούνας, και
 - την ερυθροκυτταρική νέκρωση στον μπακαλιάρο.
-
- Οι συστημακές μολύνσεις από ιριδοϊούς εντοπίζονται σε πληθώρα ψαριών του γλυκού νερού τόσο βρώσιμα όσο και διακοσμητικά και σε θαλάσσια βρώσιμα ψάρια.
 - Η συστηματική ιριδοϊώση χαρακτηρίζεται από την ύπαρξη υπερτροφικών κυττάρων στη σπλήνα, το νεφρό και το έντερο.

- Οι εντοπισμένες ιριδοιώσεις που ενδιαφέρουν και τη μεσογειακή υδατοκαλλιέργεια χαρακτηρίζονται από κυτομεγαλία των δερματικών ινοβλαστών και σπανίως παρατηρείται συστηματική εμπλοκή.
- Παρατηρούνται μικρά (0.5-2 χιλιοστά) υπόλευκα οζίδια, είτε μεμονωμένα ή σε ομάδες στην επιφάνεια του σώματος, στα πτερύγια και σπανιότερα στα βράγχια και / ή στα εσωτερικά όργανα.



Εικ. 9. Αλλοιώσεις λεμφοκύστης σε ιχθύδια τριπούρας.

■ Διάγνωση

■ Χαρακτηριστική η μακροσκοπική εικόνα. Ιστολογικά διακρίνονται στις αλλοιώσεις κύτταρα τα «γιγάντια κύτταρα λεμφοκύστης» τα οποία στην πραγματικότητα είναι ινοβλάστες που έχουν υπερτραφεί.

■ Ο έμμεσος ανοσοφθορισμός και η κυτταρομετρία ροής έχουν χαρακτηριστεί ως οι καλύτερες μέθοδοι για την ανίχνευση του ιού.

■ Επίσης πολύ ευαίσθητη έχει χαρακτηριστεί μία δοκιμή immunoblot χρησιμοποιώντας ειδικό αντιορό έναντι μίας ιικής πρωτεΐνης μοριακού βάρους 60kDa.

■ Έχουν επίσης παραχθεί και μονοκλωνικά αντισώματα ειδικά για αντιγόνα του ιού που βρίσκονται στην εξωτερική επιφάνεια του ιικού καψιδίου.

■ Τέλος, έχουν απομονωθεί/κατασκευαστεί και primers για PCR με εξαιρετικά αποτελέσματα σε ότι αφορά την ευαισθησία στην ανίχνευση του ιού.

- Θνησιμότητα: Χαμηλή και κύρια οφειλόμενη σε τραυματισμούς και δευτερογενείς μολύνσεις. Στη Ελλάδα παρατηρήθηκαν πρόσφατα περιστατικά λεμφοκύστης σε ιχθύδια τσιπούρας με υψηλές θνησιμότητες.
- Μετάδοση: Οριζόντια από τα ασθενή ψάρια στα συνεκτρεφόμενά τους. Ο ιός διασπείρεται μετά από αποκόλληση και ρήξη των οζιδίων. Έχουν περιγραφεί και ψάρια φορείς χωρίς κλινικά συμπτώματα. Η εμφάνιση των συμπτωμάτων συνδέεται με παράγοντες στρες. Ο ιός έχει βρεθεί σε νύμφες και μετανύμφες της Αρτέμια.
- Πρόληψη: Καραντίνα νεοεισερχόμενων ιχθυδίων και καταστροφή τους αν εμφανίσουν τη νόσο αποτελούν μέτρα περιορισμού μετάδοσης της τελευταίας. Γενικά πρέπει να αποφεύγονται οι τραυματισμοί των ψαριών και το στρες.
- Θεραπεία: Δεν υπάρχει. Μπορούν να χορηγηθούν αντιβιοτικά για τη καταπολέμηση των δευτερογενών βακτηριακών μολύνσεων. Τα ψάρια συνήθως αναρρώνουν αυτόματα μετά από μερικές εβδομάδες ή μήνες.

Ιογενής Εγκεφαλοπάθεια και Αμφιβληστροειδοπάθεια

■ Αιτιολογία

- Η ιογενής εγκεφαλοπάθεια και αμφιβληστροειδοπάθεια (VER) είναι μια σημαντική νόσος των λαρβών, αλλά και ψαριών μεγαλύτερου μεγέθους.
- Υπεύθυνοι για τη νόσο είναι οι Noda-ιοί που προσβάλλουν τα ψάρια (κλάση οστεοϊχθείς) και ανήκουν στην οικογένεια *Nodaviridae* και στο γένος *Betanodavirus*.
- Οι Noda-ιοί των ψαριών έχουν κατηγοριοποιηθεί σε τέσσερις γενότυπους, τον SJNNV, τον TPNNV, τον RGNNV και τον BFNNV.
- Στην Ελλάδα απαντάται ο RGNNV που προσβάλλει γενικά τα θερμοφιλα είδη ψαριών.

■ Ευαίσθητα είδη

- Η νόσος παρατηρείται σε ολόκληρο σχεδόν τον κόσμο, εκτός της Αφρικής. Μέχρι σήμερα έχει αναφερθεί σε περισσότερα από 40 είδη ψαριών.
- Από τα πιο ενδιαφέροντα είδη αναφέρονται τα: μπακαλιάρος, λαβράκι, ροφοί, τσιπούρα, μαγιάτικο, μυλοκόπτι, κοκάλι, halibut και καλκάνια.
- Επίσης το 2002 αναφέρθηκε για πρώτη φορά απομόνωση του ιού από ψάρια τα οποία ζουν στο γλυκό νερό παρόλο που αρχικά ο ιός θεωρούταν ότι μόλυνε ψάρια τα οποία διαβιούσαν αποκλειστικά σε θαλασσινό νερό.
- Αναφορικά ο ιός έχει απομονωθεί από το ευρωπαϊκό χέλι στην Ταϊβάν και τον οξύρυγχο στην Ελλάδα.
- Άλλο παράδειγμα, είναι η εκδήλωση κλινικής λοίμωξης σε λαβράκια στην Ελλάδα, 8 μήνες μετά τη μεταφορά τους σε γλυκό νερό.

■ Θερμοκρασία εκδήλωσης

- Η νόσος εξαρτάται από την ηλικία του ψαριού ή τη θερμοκρασία.
- Στο λαβράκι η ασθένεια προκαλεί σημαντική θνησιμότητα σε νύμφες στους 18°C.
- Τα ψάρια ηλικίας κάτω του ενός έτους είναι πιο ευαίσθητα από ψάρια ηλικίας δύο ετών και η νόσος εκδηλώνεται όταν η θερμοκρασία φθάσει τους 22-25°C.

- Κλινικά συμπτώματα: Τα συμπτώματα είναι νευρικής φύσεως έκδηλα ως ανωμαλία κολύμβησης (κυκλική, σπειροειδή), κάμψη του σώματος και ληθαργικότητα (Εικόνα 10).
- Σε διέγερση, τα ψάρια αντιδρούν με υπερκινητικότητα. Στην υποξεία μορφή παρατηρείται σκουροχρωμία που είναι απόρροια τύφλωσης και αιμορραγικές εξελκώσεις στο πρόσθιο τμήμα του ρύγχους (Εικόνα 11). Οι τελευταίες παρατηρούνται σε χαμηλές θερμοκρασίες ενώ στις υψηλές θερμοκρασίες κυριαρχούν τα νευρικά συμπτώματα.
- Εσωτερικά παρατηρούνται συμφόρηση του εγκεφάλου και των μηνίγγων και διάταση της νηκτικής κύστης.



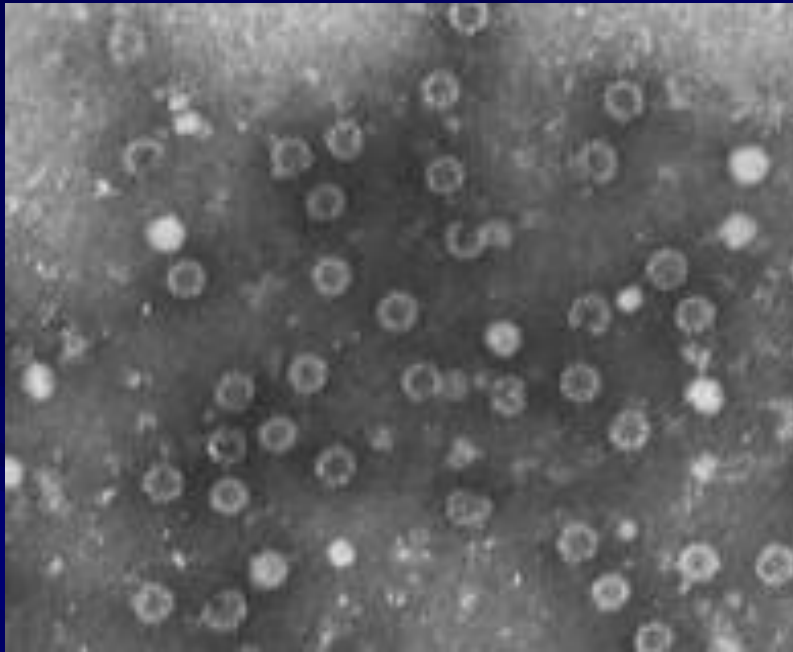
Εικ. 10. Ιογενής εγκεφαλοπάθεια και αμφιβληστροειδοπάθεια σε ιχθύδια λαβρακίου.



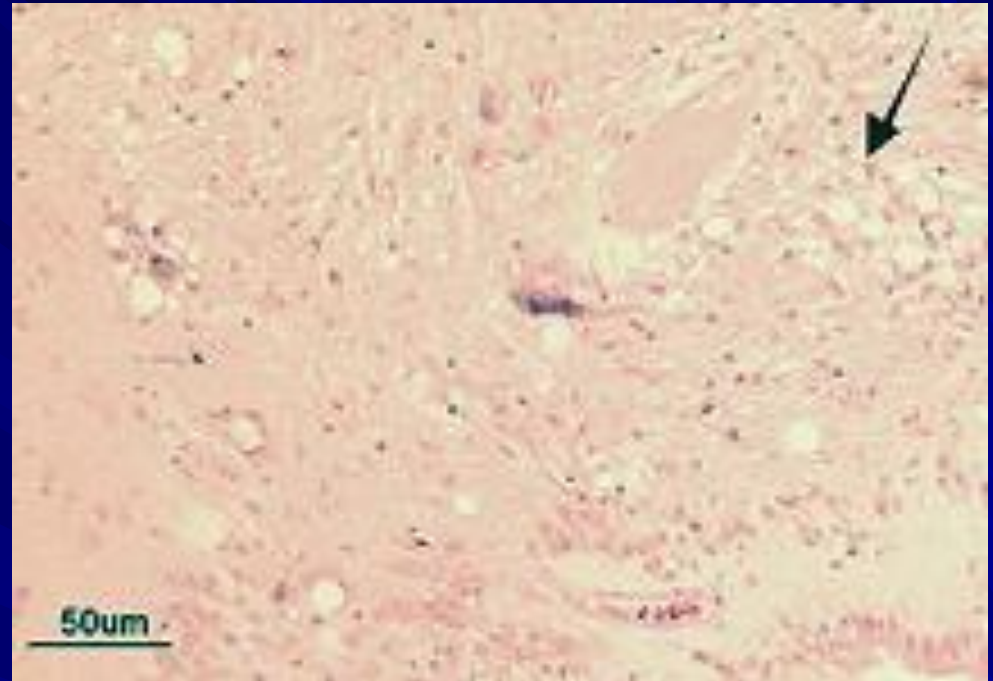
Εικ. 11. Εξελκώσεις της άνω και κάτω γνάθου σε λαβράκι με ιογενή εγκεφαλοπάθεια και αμφιβληστροειδοπάθεια.

■ Διάγνωση

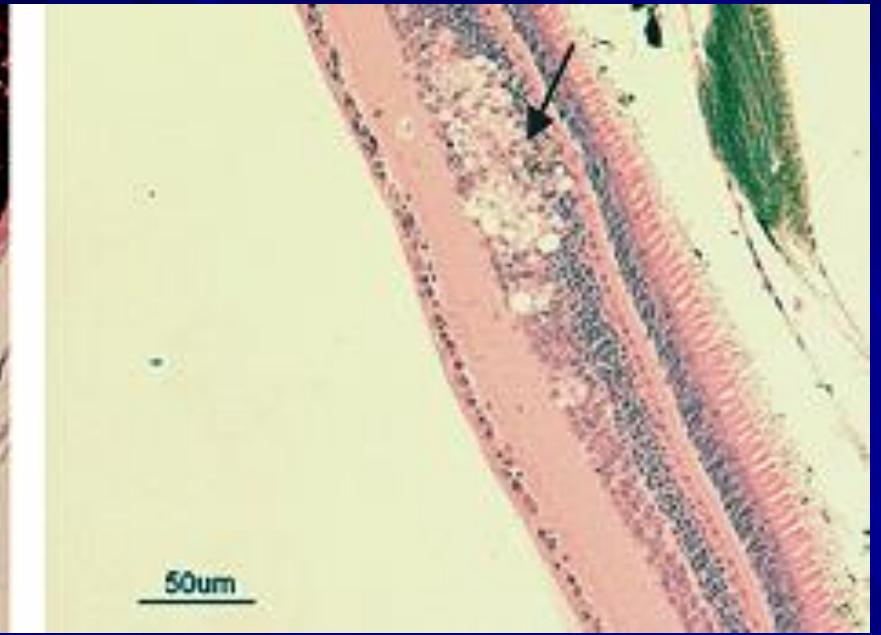
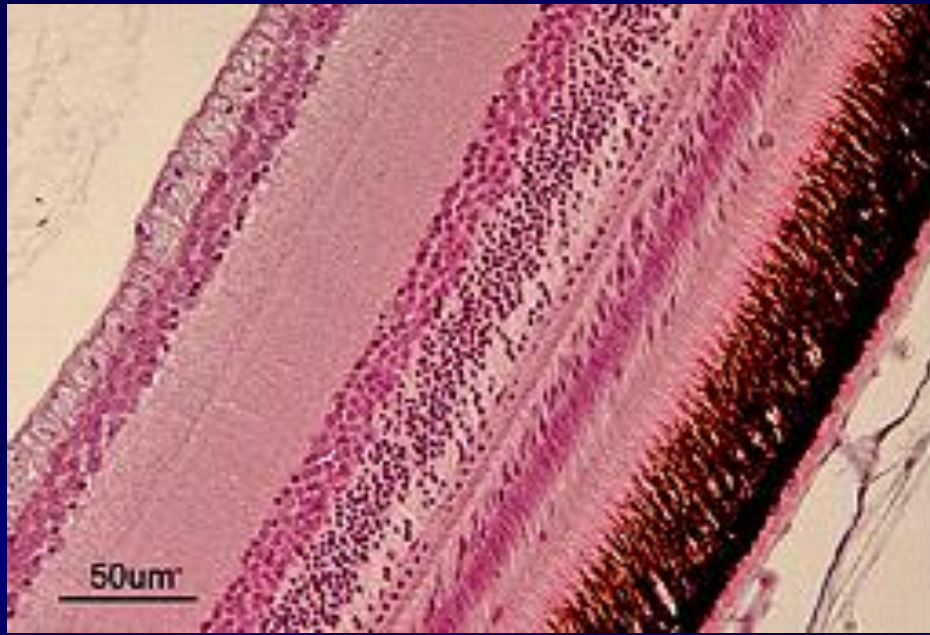
- Υποθετική διάγνωση μπορεί να γίνει μετά από ιστολογική εξέταση όπου παρατηρείται κενотоπιώδης εκφύλιση στον εγκέφαλο και τον αμφιβληστροειδή, ενώ επιβεβαίωση μπορεί να γίνει μόνο μετά από καλλιέργεια του ιού σε κυτταρικές σειρές και απομόνωσή του, με ανοσολογικές μεθόδους (ανοσοιστοχημεία, ELISA, ανοσοφθορισμό) και με PCR.



Ημιτελή και πλήρη
σωματίδια του ιού



Κενοτοπιώδης εκφύλιση σε
εγκέφαλο Καλκανιού.



Αριστερά φυσιολογικός και δεξιά μολυσμένος αμφιβληστροειδής όπου είναι ορατή η κενοδοπιώδης βλάβη.

- Η εργαστηριακή διάγνωση στηρίζεται στην ανίχνευση του ιού με κλασικές ή μοριακές μεθόδους και στην ανίχνευση των ειδικών κατά των Noda-ιών αντισωμάτων.
- Οι μοριακές μέθοδοι ανίχνευσης του ιού περιλαμβάνουν (α) την RT-PCR, (β) την ένθετη RT-PCR και (γ) την real-time PCR (ποσοτική PCR πραγματικού χρόνου).
- Η μέθοδος της real-time PCR χρησιμοποιήθηκε πρώτη φορά στην Ελλάδα για την ανίχνευση του ιού Noda στα πλαίσια μιας διδακτορικής διατριβής.
- Από τα ευρήματα των μέχρι τώρα μετρήσεων με τη μέθοδο της real-time PCR, διαπιστώνεται ότι, η μέθοδος αυτή είναι πολύ ευαίσθητη αφού ανιχνεύτηκαν πολύ μικρές ποσότητες ιού στους ιστούς των ψαριών, κάτι που δεν είναι δυνατό με τις μέχρι τώρα υπάρχουσες μοριακές μεθόδους.

- Θνησιμότητα: Στις νύμφες μπορεί να φτάσει στο 90-100% σε λίγες μόνο ημέρες. Στα μεγαλύτερα ψάρια κυμαίνεται από 15-60% ανάλογα με την ηλικία-μέγεθος των ψαριών και τη διάρκεια της νόσου.
- Τα περισσότερα ψάρια προσβάλλονται στο στάδιο της προνύμφης ή σε νεαρά στάδια ανάπτυξης, οπότε οι απώλειες είναι συνήθως πολύ μεγάλες.
- Στο καλκάνι και στο κοκάλι, το ποσοστό θνησιμότητας φτάνει στο 100% σε ψάρια μικρότερα του ενός μηνός.
- Τα τελευταία χρόνια αναφέρθηκαν σημαντικές απώλειες και σε μεγαλύτερης ηλικίας ψάρια (εμπορικό μέγεθος). Συγκεκριμένα για το λαβράκι, η νόσος εμφανίζεται από ψάρια ηλικίας 10 ημερών μέχρι ψάρια ηλικίας ≥ 12 μηνών.

- Σε δύο περιοχές της Ελλάδας παρατηρήθηκε συνολικό ποσοστό θνησιμότητας 60% σε λαβράκια 10-30 γρ. και 11% ποσοστό θνησιμότητας σε λαβράκια 400-580γρ.
- Ετησίως σημειώνονται απώλειες πολλών δεκάδων τόνων λαβρακιών διαφόρων μεγεθών στις ελληνικές ιχθυοκαλλιέργειες λόγω του ιού Noda, κυρίως κατά το μήνα Σεπτέμβριο και Οκτώβριο, οι οποίες όμως θεωρούνται αναπόφευκτες από τους παραγωγούς και δεν δηλώνονται με αποτέλεσμα να παραμένει η ύπαρξη της νόσου κοινό μυστικό χωρίς περαιτέρω διερεύνηση.

- Μετάδοση: Η οριζόντια μετάδοση έχει αποδειχθεί και πειραματικά.
- Η κάθετη μετάδοση πιθανολογείται έντονα λόγω της πρώιμης εμφάνισης της νόσου στις νύμφες του λαβρακιού.
- Ο ιός μεταδίδεται μεταξύ διαφορετικών ειδών ψαριών, κάτι που είναι σημαντικό για τη διαχείριση ιχθυοκαλλιεργειών στην ανοιχτή θάλασσα.
- Όταν η θερμοκρασία είναι ευνοϊκή ο ιός δεν έχει ειδικότητα σε συγκεκριμένο είδος ψαριού.

- Ένα είδος Noda-ιού που προκαλεί οξεία λοίμωξη σε κάποιο είδος ψαριού μπορεί να προκαλέσει ασυμπτωματική λοίμωξη σε άλλα είδη ψαριών.
- Αυτό αποδείχτηκε στην τσιπούρα όταν, από μονάδα στην οποία υπήρξε εκδήλωση της νόσου σε λαβράκια που συμβιούσαν με φαινομενικώς υγιείς τσιπούρες, πάρθηκαν δείγματα από τις τσιπούρες και ενοφθαλμίστηκαν σε υγιή λαβράκια της ίδιας μονάδας.
- Στη συνέχεια τα λαβράκια αυτά νόσησαν.
- Αντίθετα, όταν τα δείγματα ενοφθαλμίστηκαν σε τσιπούρες αυτές δεν νόσησαν, αλλά μπορούσαν να μεταδώσουν τον ιό σε λαβράκια με τα οποία συμβίωναν.

- Πέραν των φυσικών περιστατικών και οι πειραματικές μελέτες έχουν δείξει ότι αρκετά είδη ψαριών είναι ευαίσθητα στον ιό, χωρίς όμως να εμφανίζουν κλινικά συμπτώματα.
- Επομένως, είναι πιθανόν μια πληθώρα άγριων πληθυσμών ψαριών να είναι ασυμπτωματικοί φορείς της νόσου και έτσι να αποτελούν βασική πηγή μόλυνσης των εκτρεφόμενων ψαριών.
- Η μετάδοση από ασθενή σε υγιή ψάρια επηρεάζεται από την ιχθυοπυκνότητα, τη λοιμογόνο δύναμη του ιικού στελέχους και τη θερμοκρασία του νερού.
- Η ανθεκτικότητα του ιού σε περιβαλλοντικούς παράγοντες, όπως για παράδειγμα σε τιμές pH 2-9 ή σε θαλασσινό νερό 15 °C για περισσότερο από ένα χρόνο, αυξάνει την πιθανότητα μετάδοσής του από ψάρι σε ψάρι.

- Οριζόντια μετάδοση του ιού μπορεί να γίνει και μέσω μολυσμένων τροφών αφού, σε μια μολυσμένη εκτροφή, διαπιστώθηκε η ύπαρξή του σε ζωντανό δόλωμα.
- Μετάδοση του ιού μπορεί να γίνει και μέσω μολυσμένου νερού το οποίο προέρχεται από γειτονικές μολυσμένες εκτροφές.

- Αποτελέσματα πειραματικών μολύνσεων σε λαβράκι κατέδειξε τα εξής:
- (α) όσο μικρότερης ηλικίας είναι τα ψάρια τόσο μεγαλύτερα είναι τα ποσοστά θνησιμότητας,
- (β) τα ποσοστά θνησιμότητας αυξάνονται όσο αυξάνεται η θερμοκρασία του νερού και
- (γ) η ενδομυϊκή μόλυνση προκαλεί οξεία λοίμωξη με μεγάλη θνησιμότητα, ενώ η ενδοπεριτοναϊκή και η από του στόματος μόλυνση, καθώς και η μόλυνση με εμφάνιση και μέσω συμβίωσης προκαλεί υποξεία λοίμωξη.
- Γεννήτορες λαβρακιού που ενοφθαλμίστηκαν ενδομυϊκά με ζωντανό στέλεχος του ιού και κατά τον ιολογικό έλεγχο που ακολούθησε, αποδείχθηκε ότι τόσο αυτοί όσο και οι προνύμφες τους ήταν μολυσμένοι.

- Μέχρι σήμερα έχουν γίνει λίγες μελέτες που αφορούν στον εντοπισμό της πύλης εισόδου του ιού στον οργανισμό και στον τρόπο εξάπλωσής του στο ΚΝΣ του ψαριού.
- Έχουν προταθεί οι λύσεις συνεχείας του δέρματος γιατί ανιχνεύθηκε ο ιός σε εκφυλισμένα κύτταρα του δέρματος και το ρινικό επιθήλιο γιατί ο ιός ανιχνεύεται τόσο στους οσφρητικούς λοβούς του εγκεφάλου των ψαριών όσο και στο οσφρητικό επιθήλιο, αλλά τίποτε δεν είναι επιβεβαιωμένο.

- Σχετικά με τον τρόπο εξάπλωσης του παθογόνου παράγοντα στο ΚΝΣ, θεωρείται ότι αυτό επιτυγχάνεται με τρεις κυρίως τρόπους:
- α) με τοπική εξάπλωση μέσω των γειτονικών ιστών,
- β) με εξάπλωση μέσω των νεύρων και
- γ) αιματογενώς.
- Στις περισσότερες δειγματοληψίες από νοσούντα ψάρια, διαπιστώνεται προσβολή του εγκεφάλου και του αμφιβληστροειδούς χιτώνα του οφθαλμού.
- Ο οπτικός λοβός του εγκεφάλου και οι εσωτερικές στοιβάδες του αμφιβληστροειδή, είναι τα σημεία στα οποία η προσβολή είναι εντονότερη, πιθανόν επειδή η μεταξύ τους επαφή, μέσω του οπτικού νεύρου, είναι πιο στενή.

- Πρόληψη: Στους ιχθυογεννητικούς σταθμούς, ανίχνευση και εξολόθρευση των γεννητόρων φορέων και η αποστείρωση του εισερχόμενου νερού μπορούν να εμποδίσουν την εξάπλωση νόσου.
- Όσον αφορά τις μονάδες πάχυνσης η πρόληψη σχετίζεται με την ύπαρξη ζωνών ελεύθερων από τον ιό. Στις τελευταίες, πρέπει πάντα να γίνεται έλεγχος του νεοεισερχόμενου γόνου.
- Θεραπεία: Δεν υπάρχει. Υπάρχει δυνατότητα μόνο βελτίωσης της διαχείρισης με εξάλειψη παραγόντων στρες, όπως είναι η υψηλή ιχθυοφόρτιση και οι χειρισμοί καθώς επίσης και η λήψη υγειονομικών μέτρων, όπως η απομάκρυνση και υγειονομική καταστροφή των νεκρών και προσβεβλημένων ψαριών, οι απολυμάνσεις συσκευών, εγκαταστάσεων και οχημάτων κ.λ.π.

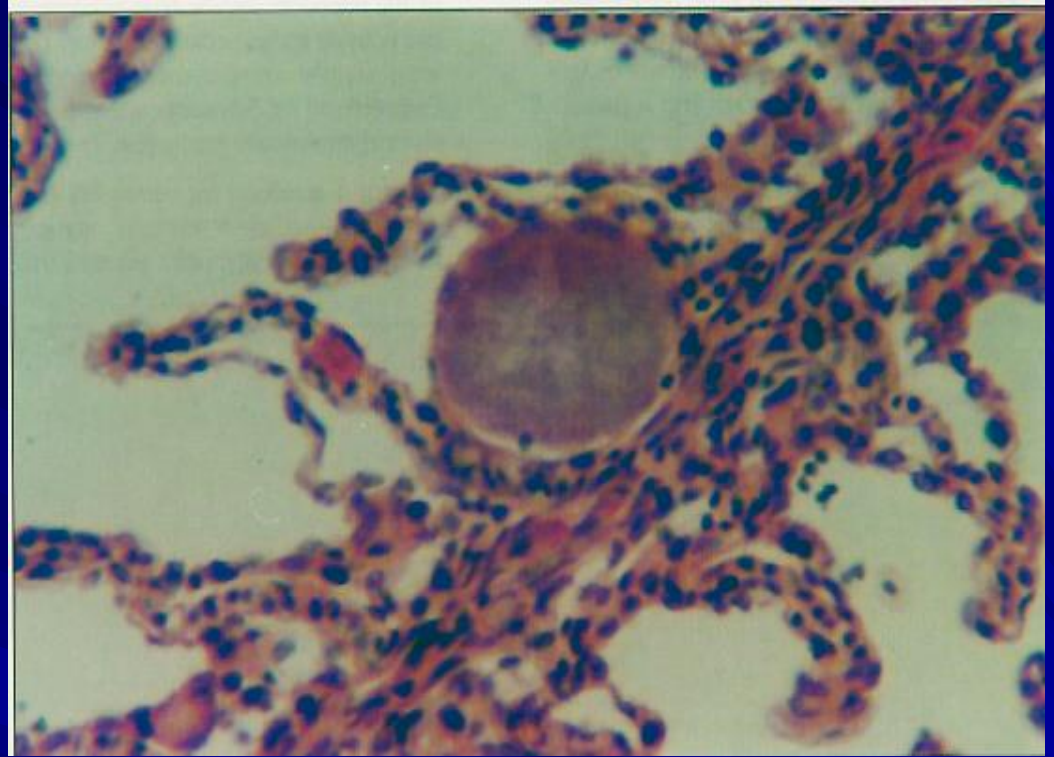
Νοσήματα που οφείλονται σε ενδοκυτταρικά παράσιτα

- Επιθηλιοκύστη
- Αιτιολογία: Οφείλεται σε χλαμύδια. Οι χλαμύδιες είναι μικροί κοκκοειδείς προκαρυωτικοί μικροοργανισμοί που πολλαπλασιάζονται ενδοκυτταρικά.
- Ευαίσθητα είδη: Παρατηρείται σε πολλά είδη, μεταξύ των οποίων σε ψάρια της οικογένειας των σολωμοειδών, στη τσιπούρα και στο λαβράκι.
- Θερμοκρασία εκδήλωσης της νόσου: Η νόσος εκδηλώνεται κυρίως κατά τη διάρκεια της άνοιξης και του καλοκαιριού.

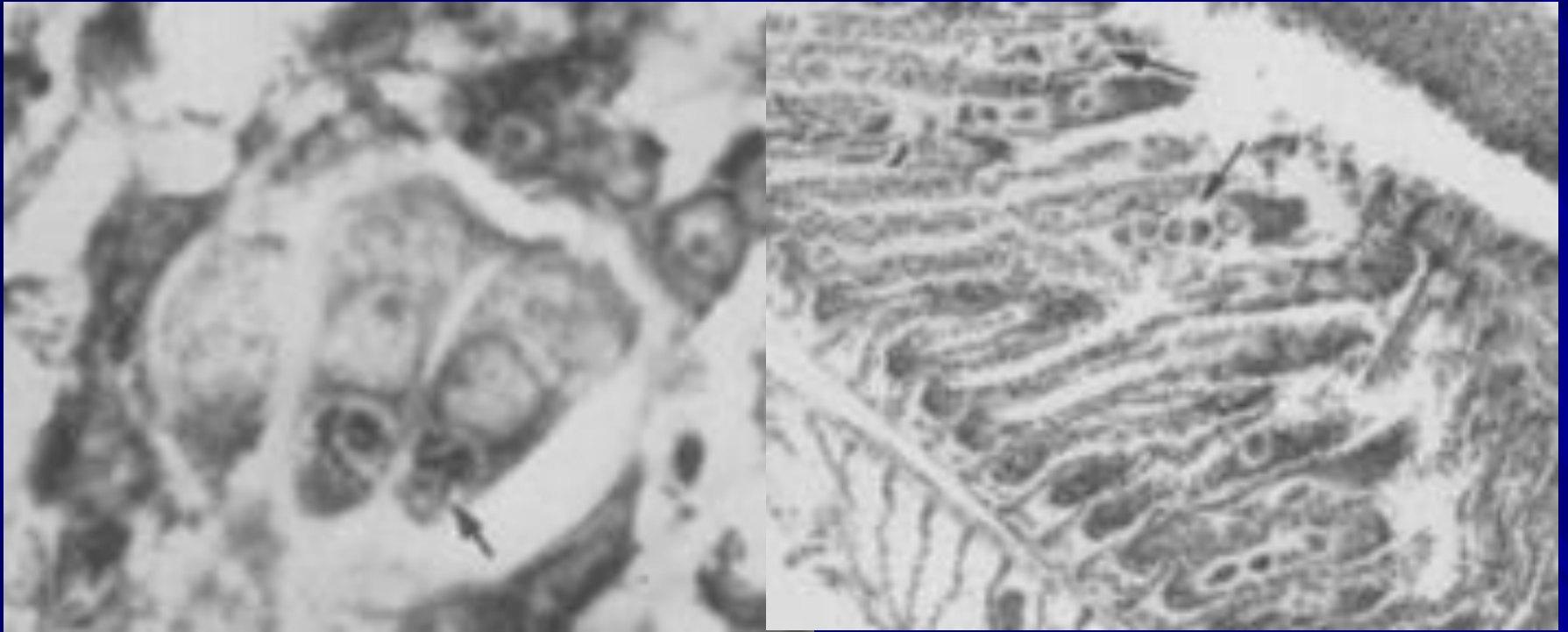
- Κλινικά συμπτώματα: Σε ελαφριές προσβολές δεν υπάρχουν και η συμπεριφορά των ψαριών είναι φυσιολογική. Σε βαριά προσβολή, παρουσιάζονται αναπνευστικά συμπτώματα (ταχύπνοια) και ληθαργική συμπεριφορά.
- Το επίπεδο μόλυνσης των ψαριών εξαρτάται από την ηλικία, τη θερμοκρασία και τα ποιοτικά χαρακτηριστικά του νερού.
- Έτσι, τα προβλήματα είναι εντονότερα σε 0+ ηλικίες, σε χαμηλές θερμοκρασίες και όταν η ποιότητα του νερού είναι κακή.
- Τα βράγχια είναι ωχρά, όπως και τα ψευδοβράγχια, παρατηρείται ανώμαλη κολύμβηση και απίσχναση, ελαφρός αποχρωματισμός των πτερυγίων και ακόμη θόλωση του κερατοειδούς.

- Διάγνωση: Γίνεται μακροσκοπικά με τη παρουσία μικρών λευκών κύστεων στα βράγχια και μικροσκοπικά με την εξέταση νωπών επιχρισμάτων βραγχίων.

- Επιβεβαίωση της διάγνωσης τίθεται με την εξέταση ιστολογικών τομών (Εικόνα 12).



Εικ. 12. Επιθηκιοκύστη σε ιστολογική τομή βραγχίων τσιπούρας (H&E X 400).



Επιθηλιοκύστη στο κυτταρόπλασμα δύο επιθηλιακών κυττάρων (H-E X 1400) και κύτταρα του οργανισμού ελεύθερα μεταξύ βραγχιακών νηματίων (H-E X 36)

- Μετάδοση: Δεν είναι απόλυτα γνωστή. Οι ενδείξεις συνηγορούν για οριζόντια μετάδοση μεταξύ ατόμων του ίδιου είδους. Δεν υπάρχουν δεδομένα μετάδοσης μεταξύ διαφορετικών ειδών.
- Θνησιμότητα: Έχουν αναφερθεί υψηλές θνησιμότητες σε ιχθύδια τσιπούρας. Σε υψηλές προσβολές, η αρνητική επίδραση στην οσμορύθμιση, την αναπνοή και τη λήψη τροφής λόγω βλαβών στο δέρμα, τα επιθήλια και στα βράγχια αποτελούν τις αιτίες για θνησιμότητα. Η θνησιμότητα κάτω από ευνοϊκές συνθήκες μπορεί να φτάσει και το 85% του προσβεβλημένου πληθυσμού.
- Πρόληψη: Συστήνεται αποστείρωση του εισερχόμενου νερού με UV στους ιχθυογεννητικούς σταθμούς. Στη πάχυνση η πρόληψη γίνεται με αποφυγή εισόδου της νόσου.
- Θεραπεία: Δεν υπάρχει. Στη βιβλιογραφία αναφέρεται βελτίωση της κατάστασης με χορήγηση χλωραμφενικόλης, όμως η ουσία αυτή δεν είναι εγκεκριμένη για χρήση στα ψάρια.

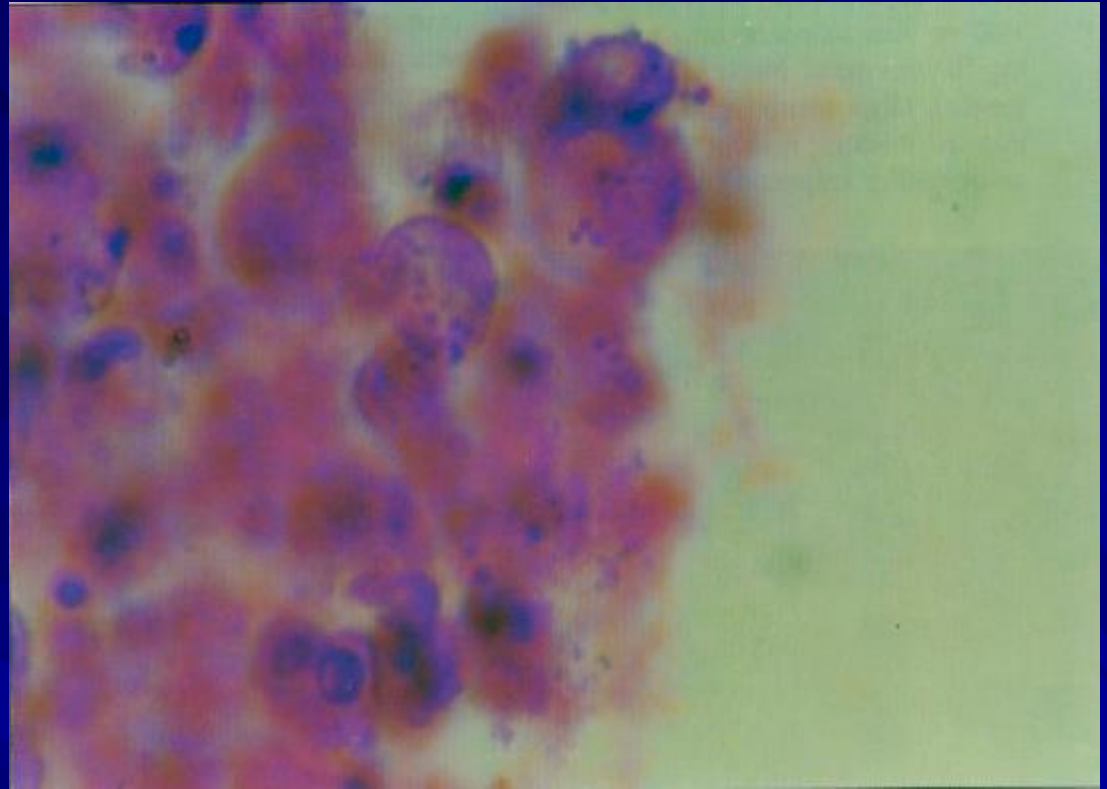
Νέκρωση του Νευρικού συστήματος

- Αιτιολογία: Οφείλεται σε προσβολή του νευρικού συστήματος από κοκκοειδείς ενδοκυτταρικούς οργανισμούς που μοιάζουν με ρικέτσιες.
- Ευαίσθητα είδη: Η νόσος έχει περιγραφεί μόνο στο λαβράκι. Εμφανίστηκε για πρώτη φορά στη Γαλλία και το 1993 στην Ελλάδα. Παρατηρείται σε λαβράκια βάρους μέχρι 10-15 γραμμάρια (ιχθύδια).
- Θερμοκρασία εκδήλωσης: Η νόσος εμφανίζεται κατά τη διάρκεια του χειμώνα και τις αρχές της άνοιξης όταν η θερμοκρασία του νερού κυμαίνεται από 12-15°C. Η νόσος φαίνεται να υποχωρεί όταν η θερμοκρασία υπερβεί τους 19°C.
- Κλινικά συμπτώματα: Νευρικά συμπτώματα που εκδηλώνονται με διαταραχές στη κολύμβηση (σπειροειδής κολύμβηση). Μακροσκοπικά κατά την νεκροψία παρατηρούνται αιμορραγίες στην επιφάνεια του εγκεφάλου και αλλοιώσεις μηνιγγίτιδας.

- Διάγνωση: Γίνεται με ιστολογική εξέταση και τη διαπίστωση βασεόφιλων ενδοκυτταρικών κοκκοειδών μικροοργανισμών (Εικόνα 13).

- Η νόσος παρουσιάζει ομοιότητες με μία ασθένεια που προκαλείται από την *Piscireickettsia salmonis* (μία άλλη ρικέτσια) στη πέστροφα στις υδατοκαλλιέργειες της Χιλής.

- Ο παραπάνω μικροοργανισμός φέρει αντιγόνα που μοιάζουν με αυτά της ρικέτσιας του λαβρακιού και αντισώματα έναντι της *P. salmonis* θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν με προσοχή για τη διενέργεια ανοσοιστοχημείας ή και άλλων ανοσολογικών τεχνικών.



Εικ. 13. Ενδοκυττάριοι βασεόφιλοι μικροοργανισμοί RLO σε εγκέφαλο λαβρακιού (H&E X 1000).

- Θνησιμότητα: Κυμαίνεται από 6-20% του προσβεβλημένου ιχθυοπληθυσμού.
- Μετάδοση: Άγνωστη
- Πρόληψη: Αποφυγή εισόδου της νόσου με έλεγχο των νεοεισερχόμενων ψαριών. Στις περιοχές όπου η νόσος είναι ενδημική θα πρέπει τα νεοεισερχόμενα ψάρια να τοποθετούνται όταν η θερμοκρασία του νερού είναι μεγαλύτερη από 17°C.
- Θεραπεία: Οι ρικέτσιες θεωρούνται ευαίσθητες στις τετρακυκλίνες και τις πενικιλλίνες. Οι απόπειρες ελέγχου της νόσου με τετρακυκλίνες είχαν ποικίλα αποτελέσματα.
- *Η ασθένεια αυτή δεν αποτελεί πλέον σημαντική ασθένεια για τη μεσογειακή υδατοκαλλιέργεια.*

Νοσήματα που οφείλονται σε βακτήρια

■ Δονακίωση

■ Αιτιολογία

- Οφείλεται σε βακτήρια του γένους *Vibrio*. Ιστορικά, για όλα τα περιστατικά των ασθενειών στα ψάρια που οφείλονταν σε *Vibrio*, η ασθένεια αποδιδόταν στο είδος *Vibrio anguillarum* (που μετονομάστηκε σε *Listonella anguillarum*) και είχαν αναφερθεί 10 ορότυποι.
- Ο ορότυπος που συνηθέστερα απομονώνονταν στα Μεσογειακά εκτρεφόμενα είδη ήταν ο ορότυπος O1.
- Ο ορότυπος O3 εμφανιζόταν σε νύμφες λαβρακιού.

- Αυτή η ταξινόμηση όμως των θαλάσσιων παθογόνων *Vibrio* τελικά αποδείχθηκε υπεραπλουστευμένη.
- Για πολλά έτη έγιναν προσπάθειες για τη συστηματική ταξινόμηση των θαλάσσιων παθογόνων *Vibrio* βασιζόμενες σε βιοχημικές και ορολογικές αναλύσεις και τη περιγραφή νέων ειδών, οι οποίες όμως δεν ήταν αποδοτικές γιατί για το διαχωρισμό των ειδών βασίζονταν σε φαινοτυπικά χαρακτηριστικά τα οποία αποδείχθηκαν πολύ ασταθή για τέτοια περιβαλλοντικά και παθογόνα στελέχη.
- Η λύση στη συστηματική των θαλάσσιων παθογόνων *Vibrio* δόθηκε με τη μοριακή βιολογία και πιο συγκεκριμένα, στηρίχθηκε σε αλληλουχίες νουκλεοτιδίων δεικτών όπως το 16s rRNA, 5s rRNA και DNA.

- Αυτές οι μελέτες διαχώρισαν το *V. anguillarum* από άλλα *Vibrio*, οδήγησαν στην μετονομασία του σε *L. anguillarum* και βοήθησαν στην απόδοση διαφόρων ασθενειών στα πραγματικά παθογόνα *Vibrio*.
- Στοιχεία των τελευταίων ετών δείχνουν ότι όλο και περισσότερα νέα είδη *Vibrio* προκαλούν δονακίωση στα ευρύαλα ψάρια.
- Σε αυτά τα είδη συμπεριλαμβάνονται τα: *V. harveyi*, *V. alginolyticus*, *V. splendidus*, *V. vulnificus* και άλλα.
- Τα *Vibrio* είναι κινητά κατά Gram αρνητικά βακτήρια με τη μορφή δονακίου, μεσόφιλα, χημοοργανοτρόφα και προαιρετικά αναερόβια.

- Ευαίσθητα είδη: Τα:
- *Vibrio harveyi* έχει απομονωθεί από το φαγκρί, τη τσιπούρα και το λαβράκι,
- *Vibrio alginolyticus* έχει απομονωθεί από το φαγκρί, τη τσιπούρα, από δίθυρα, το λαβράκι και το μυτάκι,
- *Vibrio fischeri* έχει απομονωθεί από τη τσιπούρα,
- *Vibrio splendidus* έχει απομονωθεί από τη τσιπούρα, νύμφες δίθυρων και το μυτάκι,
- *Vibrio mediterranei*, *Vibrio pelagius*, *Vibrio ordalii*, *Vibrio aestuarianus*, *Vibrio cambellii*, *Vibrio nereis* και *Vibrio tubiashii* έχουν απομονωθεί από τη τσιπούρα και
- *Vibrio vulnificus* έχει απομονωθεί από τσιπούρα, λαβράκι και μυτάκι.

■ Θερμοκρασία εκδήλωσης της νόσου

- Η νόσος εμφανίζεται ιδιαίτερα κατά τη διάρκεια του φθινοπώρου και της άνοιξης όταν η θερμοκρασία του νερού μεταβάλλεται από τους 20 στους 15°C και αντίστροφα.
- Τα τελευταία χρόνια στην Ελλάδα η νόσος εμφανίζεται και κατά τη διάρκεια του χειμώνα σε θερμοκρασίες χαμηλότερες των 15°C.

■ Παθογένεια της δονακίωσης

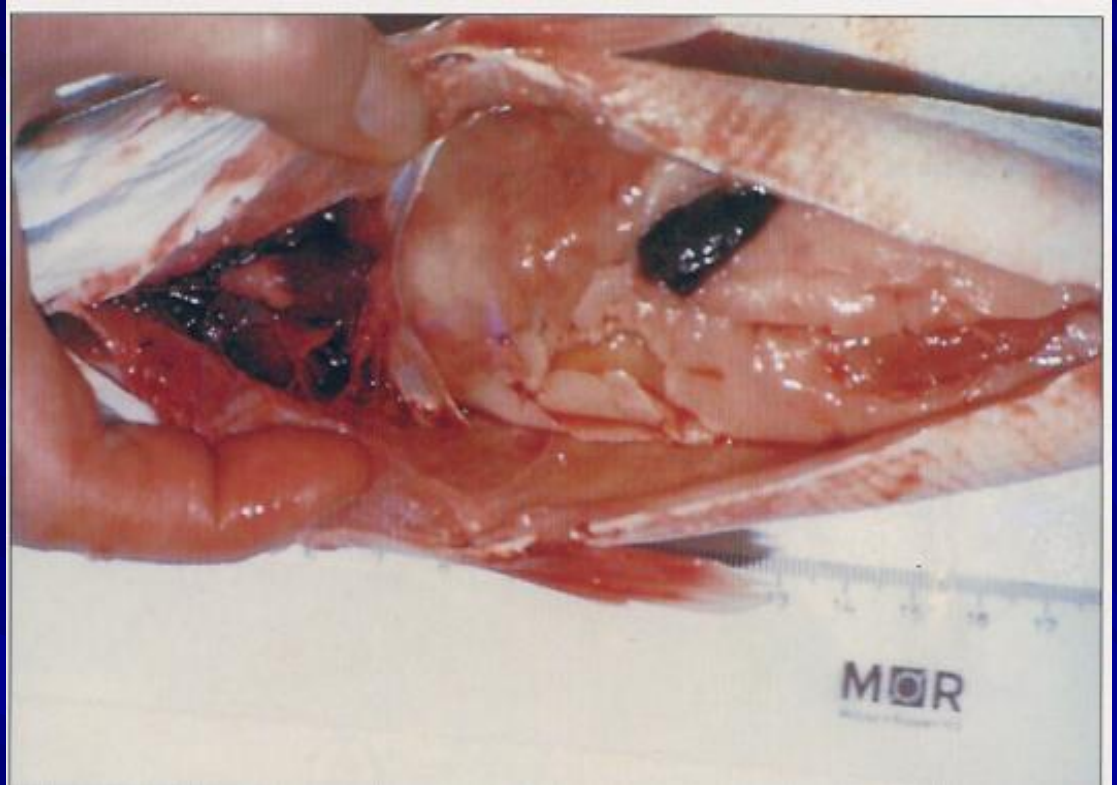
- Η παθογένεια των θαλάσσιων παθογόνων *Vibrio* οφείλεται στη παραγωγή τοξικών εξωκυτταρικών προϊόντων που περιλαμβάνουν πρωτεάσες, καζεϊνάσες, λιπάσες, φωσφολιπάσες, αιμολυσίνες και σιδεροφόρα.
- Τοξικότητα έχει αποδοθεί και στις O αλυσίδες του λιποπολυσακχαριδίου τους.
- Τέλος, ως σημαντικός παράγοντας στη παθογένεια της δονακίωσης θεωρείται η ικανότητα πολλών ειδών να παράγουν συγκολλητίνες με τις προσκολλώνται στη βλέννα και τις βλεννώδεις επιφάνειες των ψαριών.

- Κλινικά συμπτώματα:
Εξαρτώνται από τη μορφή της νόσου.
- Στην υπεροξεία μορφή (συνήθως σε ιχθύδια) εμφανίζεται μεγάλη θνησιμότητα χωρίς κλινικά συμπτώματα εκτός από ανορεξία και σκουροχρωμία.
- Στην οξεία μορφή εξωτερικά παρατηρούνται ερυθρότητα της περιστοματικής περιοχής, εξόφθαλμος, ερυθρότητα στη βάση των πτερυγίων και της έδρας.
- Σε ορισμένες περιπτώσεις παρατηρούνται ελκωτικές αλλοιώσεις στο δέρμα σε διάφορα σημεία του σώματος (Εικόνα 14).



Εικ. 14. Δονακίωση σε λαβράκι – αιμορραγικές αλλοιώσεις και εξελκώσεις στο δέρμα

- Μακροσκοπικά κατά την νεκροψία παρατηρούνται αιμορραγίες στα περισσότερα όργανα χαρακτηριστικές αιμορραγικής σηψαιμίας.
- Ο σπλήνας είναι διογκωμένος και το έντερο παρουσιάζει έντονη υπεραιμία, εντερίτιδα, διάταση, νεκρώσεις και εξελκώσεις με χαρακτηριστική εικόνα στη περιοχή της έδρας (Εικόνα 15).



Εικ. 15. Δονακίωση σε λαβράκι – σπληνομεγαλία και υπεραιμία εντέρου.

- Διάγνωση: Γίνεται με την απομόνωση και ταυτοποίηση του υπεύθυνου μικροοργανισμού σε κατάλληλα θρεπτικά υλικά. Συνήθως χρησιμοποιούνται το marine agar και το επιλεκτικό thiosulfate-citrate-bile salt-sucrose agar (TCBS). Η ταυτοποίηση του παθογόνου γίνεται με διάφορες βιοχημικές δοκιμές.
- Υπάρχουν ανοσολογικοί δείκτες ειδικό για τους διάφορους ορότυπους του *L. anguillarum*, *V. alginolyticus* ATCC 17749, *V. fischeri* NCIMB 1274, *V. anguillarum* O2 CECT 522, *V. anguillarum* O1 R82 and *V. anguillarum* O3 6064A (πολυκλωνικά αντισώματα) και μονοκλωνικά αντισώματα για τα *V. alginolyticus*, *V. carchariae*, *V. harveyi*, *V. ordalii* και *V. vulnificus* και στηριζόμενοι σε τέτοιους δείκτες μπορούν να χρησιμοποιηθούν όλες οι ανοσολογικοί μέθοδοι ταυτοποίησης ELISA, western blot analysis, ανοσοφθορισμός και ανοσοιστοχημεία.
- Επίσης υπάρχουν και μοριακοί δείκτες και η χρήση τεχνικών όπως AFLP, DNA:DNA hybridization, και 16S rDNA sequencing, όπως προαναφέρθηκε, έχουν χρησιμοποιηθεί ευρύτατα και στη συστηματική των *Vibrio*.

■ Θνησιμότητα

- Στην υπεροξεία μορφή μπορεί να ανέλθει στο 80%.
- Στην οξεία μορφή έχουν παρατηρηθεί θνησιμότητες έως και 40% του προσβεβλημένου πληθυσμού.
- Συνήθως όμως στα περιστατικά που εμφανίζονται στην Ελλάδα, ακόμη και εάν χορηγηθούν έγκαιρα αντιβιοτικά η θνησιμότητα κυμαίνεται μεταξύ 10 και 20%.

- Μετάδοση της νόσου: Οριζόντια μέσω του νερού από μολυσμένα άγρια ψάρια, εξοπλισμό, από παθογόνα που επιζούν στο ίζημα του πυθμένα κάτω από τους ιχθυοκλωβούς και από ασπόνδυλους οργανισμούς του νερού. Κατά την εγκατάσταση της νόσου η μετάδοση γίνεται από τα νοσούντα στα υγιή ψάρια.
- Πρόληψη: Η νόσος είναι ενδημική, γι' αυτό και δεν γίνεται λόγος αποφυγής εισόδου του παθογόνου μέσα σε μία εκτροφή.
- Η εκδήλωσή της είναι άμεσα συνυφασμένη με παράγοντες που προκαλούν αλλοίωση των ποιοτικών περιβαλλοντικών χαρακτηριστικών στη περιοχή εκτροφής και στρες στα ψάρια.
- Έτσι πρέπει αυτοί να αποφεύγονται και να τηρούνται οι γενικές αρχές πρόληψης .

- Σε ότι αφορά την ενεργητική πρόληψη, Πειραματικά έχουν διαπιστωθεί τα παρακάτω:
- *Vibrio harveyi*
- Ένα διδύναμο εμβόλιο που περιείχε αδρανοποιημένα με φορμαλίνη ολικά κύτταρα και εξωκυτταρικά προϊόντα του *Vibrio harveyi* και του *Ph. damsela* subsp. *Piscicida* προσέδωσε προστασία μέχρι και 88% για 4 μήνες στη πειραματική μόλυνση από το *Vibrio harveyi*.

- *Vibrio ordalii*
 - Το LPS αυτού του βακτηρίου έχει δώσει καλά σημεία αντιγονικότητας και προστασίας.
 - Υπάρχουν στο εμπόριο διδύναμα εμβόλια με *Vibrio ordalii* και *L. anguillarum*.
-
- *Vibrio vulnificus*
 - Υπάρχουν διάφορες αναφορές για εμβολιακά μίγματα που περιέχουν αντιγόνα της κάψας και τοξινών του βακτηρίου και των δύο οροτύπων, E & A με πολύ καλά αποτελέσματα σε ότι αφορά την ανοσολογική αντίδραση και τη προστασία μετά από πειραματική μόλυνση.
 - Δεν υπάρχουν όμως εμβόλια στο εμπόριο.

- Στο εμπόριο κυκλοφορούν εμβόλια που περιέχουν τους ορότυπους O1, O2a, ή O1 βιότυπο I, O2 βιότυπο I, O2 βιότυπο II της *Listonella (Vibrio) anguillarum*, τα οποία είναι πολυδύναμα και μπορεί να περιέχουν και το παθογόνο *Photobacterium damsela* subsp. *piscicida*.
- Όλα αυτά τα προϊόντα περιέχουν αδρανοποιημένα με φορμαλίνη ολικά κύτταρα των βακτηριακών ειδών.
- Ένα από αυτά τα πολυδύναμα εμβόλια περιέχει ολικά κύτταρα του *V. ordalii*.

- Συμπερασματικά λοιπόν, δεν υπάρχουν στο εμπόριο (τουλάχιστον στη Ελλάδα) εμβόλια ενάντια στα άλλα είδη *Vibrio* που όλο και περισσότερο απομονώνονται από δονακιώσεις των ψαριών.

- Αυτό δημιουργεί ένα σημαντικό κενό.
- Παρά το γεγονός ότι κάποια από τα αντιγόνα μεταξύ των *Vibrio* είναι κοινά και έτσι ένα εμβόλιο για ένα είδος μπορεί να παρέχει κάποια σχετική προστασία και για κάποιο άλλο είδος, αυτό δεν είναι αρκετό για να προστατεύσει τα εκτρεφόμενα ψάρια από τις καινούργιες προκλήσεις.

- Η επικράτηση ολοένα και περισσότερο μη κλασικών *Vibrio* σε σχέση με τα κλασικά είδη (δηλ. των *L. anguillarum* και *V. ordalii*) σαν αιτιολογικοί παράγοντες της δονακίωσης στα θαλάσσια εκτρεφόμενα ψάρια μάλλον είναι αποτέλεσμα της μακροχρόνιας και αποτελεσματικής εφαρμογής εμβολιασμών κατά της δονακίωσης που οφείλεται στα κλασικά είδη.
- Τα ψάρια δεν νοσούσαν, η ασθένεια δεν συντηρούνταν ή εξελίσσονταν με συνέπεια να μειώνεται ολοένα και περισσότερο το δυναμικό ενεργητικό των κλασικών *Vibrio*.
- Αυτό όμως προκάλεσε την παρατηρούμενη άνθηση και εξέλιξη των νεοπεριγραφόμενων από ασθένειες ειδών.
- Έτσι λοιπόν, η εξέλιξη στη καταπολέμηση της δονακίωσης πρέπει να συμπεριλάβει την ανάπτυξη εμβολίων και για τα νεοεμπλεκόμενα είδη.

■ Θεραπεία

- Η χορήγηση αντιβιοτικών είναι συνήθως αποτελεσματική.
- Η εμφάνιση όμως ανθεκτικών στελεχών απαιτεί τη διενέργεια αντιβιογράμματος πριν την θεραπεία και την κατ' εναλλαγή χρήση των αντιβιοτικών σε επαναλαμβανόμενα περιστατικά.
- Συνήθως η νόσος υποτροπιάζει.

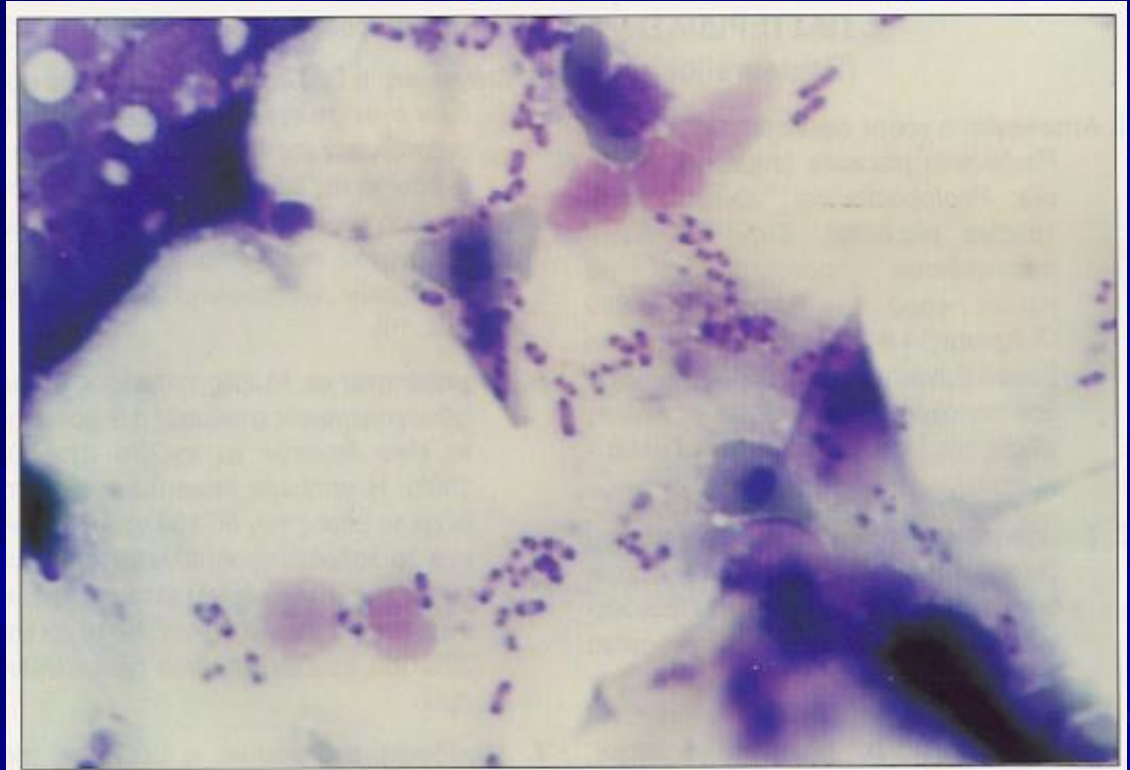
- Τα αντιβιοτικά για τα οποία υπάρχουν δημοσιευμένα μέγιστα επίπεδα καταλοίπων (MRLs) στα ψάρια και τα οποία μπορούν να χρησιμοποιηθούν στην Ευρώπη (ΚΑΝ. EC 542/2008) είναι τα ακόλουθα:
- Oxolinic acid: up to 100μg/kg in muscle and skin
- Sarafloxacin: up to 30μg/kg in muscle and skin
- Flumequine: up to 600μg/kg in muscle and skin
- Deltamethrine: up to 10μg/kg in muscle and skin
- Tefloibenzourone: up to 500μg/kg in muscle and skin
- Emamectin B1a: up to 100μg/kg in muscle and skin

- Από τα δημοσιευμένα δεδομένα διάφορων ερευνητών, το Oxolinic acid και η Flumequine είναι αντιβιοτικά στα οποία τα περισσότερα είδη θαλάσσιων παθογόνων *Vibrio* είναι ευαίσθητα.

Παστερέλλωση

- Η φωτοβακτηριδίαση των ψαριών, ονομαζόμενη αρχικά παστερέλλωση και αποδιδόμενη στο βακτήριο *Pasteurella piscicida*, περιγράφεται και ερευνάται για περισσότερο από 4 δεκαετίες.
- Αναφορές για νέα είδη ψαριών που εμφανίζουν την ασθένεια και για νέες περιοχές εντόπισης στη Βόρεια ή τη Νότια Εύκρατη ζώνη αποτελούν σύνηθες φαινόμενο στη βιβλιογραφία.
- Η ασθένεια από τη στιγμή που θα εμφανιστεί σε μία περιοχή γίνεται ενδημική, είναι αδύνατο να εξαλειφθεί και σχεδόν πάντα συνδέεται με δραστηριότητες ιχθυοκαλλιέργειας.

- Αιτιολογία: Η νόσος οφείλεται στο αρνητικό κατά Gram βακτήριο *Pasteurella piscicida* που πλέον ταξινομείται ως *Photobacterium damsela* υποείδος *piscicida* (Εικόνα 16).
- Είναι ακίνητο, εμφανίζει διπολική χρώση και πολυμορφισμό από κόκκους μέχρι μακριά δονάκια και νηματώδεις μορφές.
- Στην Ελλάδα παρουσιάστηκε για πρώτη φορά το 1990.



Εικ. 16. Επίχρισμα σπληνός – βακτήρια *Pasteurella piscicida* με εμφανή την διπολική χρώση (Χρώση May Grunwald – Giemsa x 1000).

■ Ευαίσθητα είδη

- Τα είδη από τα οποία έχει απομονωθεί το βακτήριο περιλαμβάνουν τα: yellowtail (*Seriola quinqueradiata*), κέφαλος (*Mugil cephalus*), σκαθάρι (*Acanthopagrus schlegelii*), Ιαπωνικό φαγκρί (*Pagrus major*), το ιαπωνικό ayu (*Plecoglossus altivelis*), Ιαπωνικός ροφός (*Epinephelus akaara*), λαβράκι (*Dicentrarchus labrax*), γλώσσα ατλαντικού (*Solea solea*), τσιπούρα (*Sparus aurata*), αθερίνα (*Atherina buoyeri*), καλκάνι (*Scophthalmus maximus*), μυτάκι (*Diplodus puntazzo*), σαργός (*Diplodus sargus sargus*), συναγρίδα (*Dentex dentex*), φαγκρί Ατλαντικού (*Pagrus auriga*), γλώσσα Σενεγάλης (*Solea senegalensis*), μαγιάτικο (*Seriola dumerili*), τόνος (*Thunnus thynnus*).

Εργαστηριακά χαρακτηριστικά

- *Απαιτήσεις για ανάπτυξη*
- Το βακτήριο μπορεί να μεγαλώσει σε πολλά και απλά βακτηριολογικά υλικά καλλιέργειας αρκεί να χορηγηθεί αλάτι στο βέλτιστο ποσοστό του 2%.
- Συχνά για τη πρώτη απομόνωση χρησιμοποιείται αιματούχο άγαρ, αλλά δεν είναι απαραίτητο και υλικά όπως tryptone soya, marine και brain heart infusion με τελική περιεκτικότητα 2% NaCl, έχουν αποδειχθεί πολύ χρήσιμα.
- Στα υλικά καλλιέργειας έχει γίνει και χρήση ειδικών μιγμάτων με ενδιαφέροντα αποτελέσματα, όπως εκχύλισμα ζύμης και πεπτόνη ψαριών.
- Η καλύτερη ανάπτυξη επιτυγχάνεται σε μία θερμοκρασία 22°C και ουδέτερο pH.

Μορφολογικά και βιοχημικά χαρακτηριστικά

- Έχει διαπιστωθεί η ύπαρξη μίας πολυσακχαριδικής κάψας που περιβάλλει το βακτήριο: προστασία του από τους αμυντικούς μηχανισμούς των ψαριών????
- Το φωτοβακτηρίδιο των ψαριών είναι σχετικά ανενεργό βιοχημικά βακτήριο.
- Χρησιμοποιώντας το σύστημα API 20E της Biomerieux, παρατηρείται αντίδραση μόνο στη δοκιμή της υδρολάσης της αργινίνης και στην αερόβια και αναερόβια ζύμωση της γλυκόζης.
- Η χρήση συμβατικών δοκιμών (ιδιαίτερα για τη διαπίστωση χρήσης και άλλων υδατανθράκων) αποκάλυψε ότι το βακτήριο μπορεί να χρησιμοποιήσει και τα σάκχαρα γαλακτόζη, μαννόζη και φρουκτόζη και ότι είναι θετικό στη δοκιμή της οξειδάσης (αλλά όχι πάντα – δυνατές αντιδράσεις σχετίζονται με την ύπαρξη μεγάλων ποσοτήτων στο βακτήριο κυτοχρώμης c).

- Ορότυποι-αντιγονικοί τύποι
- Διάφορες ορολογικές μελέτες έχουν δείξει ότι υπάρχει μια ομοιογένεια σε ότι αφορά τα αντιγονικά χαρακτηριστικά του παθογόνου ανεξάρτητα από το είδος και τη γεωγραφική περιοχή που απομονώθηκε.

Επιδημιολογία

- *Ευαίσθητοι οργανισμοί*
- Υπάρχει αρνητική σχέση μεταξύ της ηλικίας των ψαριών και της ασθένειας. Τα νεαρά ψάρια είναι πιο ευαίσθητα από τα μεγαλύτερα σε ηλικία.
- Κάποια είδη ψαριών φαίνεται να είναι πιο ευαίσθητα στο βακτήριο από κάποια άλλα, δεν υπάρχει όμως μία συγκεντρωτική μελέτη με τις ίδιες μεθόδους που θα μπορούσε να αναφερθεί.
- Γενικά πάντως, το LD₅₀ για το *Rhdp* κυμαίνεται μεταξύ 10³ και 10⁶ κύτταρα /ml για την ενδοπεριτοναϊκή έγχυση και 10⁵-10⁶ κύτταρα/ml για την εμφάνιση.

■ *Εποχές εμφάνισης*

- Γενικά, η ασθένεια εμφανίζεται από το τέλος της άνοιξης μέχρι το μέσο του φθινοπώρου σε θερμοκρασίες 18-29°C.
- Παρόλα αυτά έχουν αναφερθεί ξεσπάσματα της ασθένειας και σε χαμηλότερες θερμοκρασίες (15°C).

- *Πηγές και αποθήκες της μόλυνσης*
- Αν και το νερό έχει ενοχοποιηθεί ως αποθήκη του παθογόνου, έχει βρεθεί ότι το βακτήριο δεν επιζεί στο νερό παραπάνω από 4-6 ημέρες.
- Όμως, μπορεί να επιζήσει στα βενθικά ιζήματα μέχρι 12 ημέρες ανάλογα με το είδος του βενθικού μικρόκοσμου.
- Παρόλα αυτά δεν μπορεί να αποκλειστούν και μεγαλύτεροι χρόνοι επιβίωσης σε βενθικά ιζήματα ή επιφάνειες σε περιοχές πλούσιες σε θρεπτικά υλικά, όπως για παράδειγμα, κοντά σε μονάδες υδατοκαλλιέργειας.
- Επιπλέον, έχουν αναφερθεί και μορφές του βακτηρίου που είναι μεν ζωντανές αλλά μη καλλιεργήσιμες βρισκόμενες σε μία κατάσταση «ύπνωσης».

■ Περίοδος επώασης

- Η περίοδος επώασης ποικίλλει και εξαρτάται από τη δόση του βακτηρίου, τη παθογένειά του, το είδος και την ηλικία του ψαριού και τις περιβαλλοντικές συνθήκες.
- Για παράδειγμα, τσιπούρα 4 και 20γρ και καλκάνι 5γρ, πέθαναν μετά από 2-3, 3-5 και 1 ημέρα μετά από ενδοπεριτοναϊκή μόλυνση, αντίστοιχα, με 5×10^7 Phdp κύτταρα στους 18-20°C.

- Από τη στιγμή που η νόσος είναι ενδημική, όπως συμβαίνει στη Μεσογειακή υδατοκαλλιέργεια, πρέπει να θεωρούμε ότι το περιβάλλον με τα έμβια όντα που βρίσκονται σε αυτό είναι μολυσμένο και ανά πάσα στιγμή μπορεί να μολύνει τους ευαίσθητους οργανισμούς.

Παθογένεια της φωτοβακτηριδίασης

- Η παθογένεια μιας βακτηριακής μόλυνσης περιλαμβάνει μία περίπλοκη σειρά από βιοχημικές αλληλεπιδράσεις μεταξύ του παθογόνου μικροοργανισμού και του ξενιστή.
- Η κατάληξη μίας μόλυνσης εξαρτάται από έναν συνδυασμό παραγόντων συμπεριλαμβανομένων της λοιμογόνου δύναμης του παθογόνου, τη κατάσταση του ανοσοποιητικού συστήματος του ξενιστή και την εσωτερική του άμυνα.
- Σημαντικά στάδια στη παθογένεια των βακτηρίων και στη λοιμικότητά τους αποτελούν η δυνατότητα του εισβάλλοντος βακτηρίου να προσκολλάται και να εισέρχεται στο ξενιστή, να πολλαπλασιάζεται γρήγορα *in vivo* ξεπερνώντας τόσο τους μη-ειδικούς και ειδικούς μηχανισμούς άμυνας του ξενιστή προκαλώντας ασθένεια και βλάβες στο ξενιστή.

- Προσκόλληση και είσοδος στο ξενιστή
- Το Rhdp εμφανίζει έντονη ικανότητα προσκόλλησης στο έντερο φυσικών ξενιστών, η οποία όμως δεν οφείλεται σε ινίδια ή άλλα εξαρτήματα της εξωκυτταρικής μεμβράνης του βακτηρίου, ούτε σε πρωτεϊνικά μόρια.

- *Εισβολή και πολλαπλασιασμός στο ξενιστή*
- Μετά από πειραματική μόλυνση και προσκόλληση του παθογόνου στο δέρμα, τα βράγχια και στο επιθήλιο του στόματος, παρατηρείται γρήγορη εξάπλωση και πολλαπλασιασμός σχεδόν σε όλα τα εσωτερικά όργανα.
- Μέσα σε 10 ώρες μετά από μόλυνση με εμφάνιση, βακτήρια μπορούσαν να βρεθούν στη καρδιά, τη σπλήνα και τα βράγχια ενώ από τη 2^η ημέρα το παθογόνο ήταν ορατό σε όλα τα όργανα εκτός του εγκεφάλου.
-
- Οι ιστοί του γαστρεντερικού σωλήνα δεν αποτελούν στόχο του βακτηρίου για πολλαπλασιασμό όσο τα βράγχια, το ήπαρ, η σπλήνα, τα νεφρά και η καρδιά.

- Πολλά βακτήρια για να επιβιώσουν των αμυντικών μηχανισμών του ξενιστή εισέρχονται σε κύτταρά του και κάτι τέτοιο έχει διαπιστωθεί και για το φωτοβακτηρίδιο.
- ο Rhsp εισέρχεται στα μακροφάγα των ξενιστών όπου όχι μόνο παρατηρείται ανθεκτικότητα στα λυτικά ένζυμά τους, αλλά και πολλαπλασιασμός του και τελική ρήξη του μακροφάγου με απελευθέρωση των βακτηριακών κυττάρων.

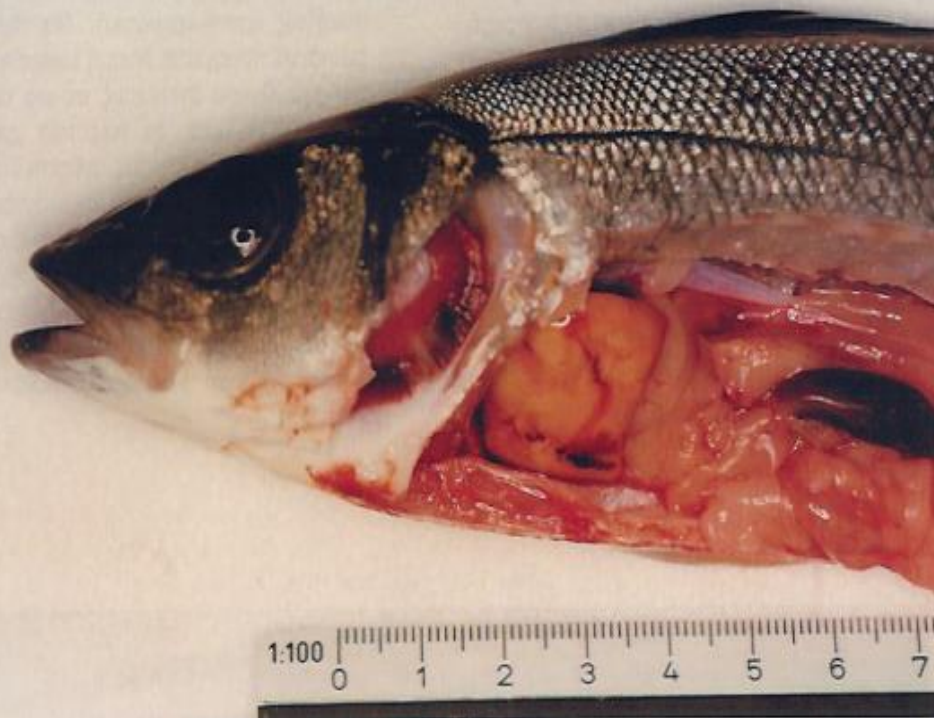
- Θνησιμότητα: Αν και αρχικά το λαβράκι ήταν πιο ευαίσθητο στη νόσο, τελευταία η τσιπούρα εμφανίζεται πιο ευπαθής.
- Σε νύμφες τσιπούρας στους ιχθυογεννητικούς σταθμούς η θνησιμότητα μπορεί να φθάσει το 50-100%. Η τσιπούρα θεωρείται ευαίσθητη μέχρι το βάρος των 80-100 γραμμαρίων.
- Το λαβράκι προσβάλλεται καθ' όλη τη διάρκεια της εκτροφής του και η θνησιμότητα μπορεί να ανέλθει μέχρι και το 20% του προσβεβλημένου πληθυσμού.
- Μετάδοση της νόσου: Οριζόντια. Έχουν περιγραφεί και ψάρια ασυμπτωματικοί φορείς της νόσου.
- Πρόσφατες έρευνες συγκλίνουν στο ότι η νόσος μπορεί να μεταδοθεί και κάθετα.

Κλινικά συμπτώματα & παθολογία

- *Κλινικά συμπτώματα*
- Η φωτοβακτηριδίαση είναι μία σηψαιμική νόσος και ως εκ τούτου δεν έχει χαρακτηριστική συμπτωματολογία που να τη διαφοροποιεί από άλλες σηψαιμικές νόσους των ψαριών. Έχουν περιγραφεί η υπεροξεία, η οξεία και η χρόνια μορφή.
- Στην υπεροξεία μορφή παρατηρούνται μόνο αιφνίδιοι θάνατοι χωρίς κανένα άλλο σύμπτωμα.
- Στην οξεία μορφή παρατηρούνται αποχρωματισμός ή σκούρος χρωματισμός και ανορεξία και διόγκωση της κοιλιακής κοιλότητας και φυσικά θνησιμότητα.
- Στην χρόνια ή υποξεία μορφή παρατηρείται μία συνεχής χαμηλή θνησιμότητα και συνήθως παρατηρείται σε μεγαλύτερης ηλικίας άτομα ή σε ψάρια που επιβίωσαν της οξείας μορφής της νόσου.

■ Παθολογικά & ιστοπαθολογικά ευρήματα

- Στην οξεία μορφή παρατηρούνται ωχρά συκώτι και νεφροί, διόγκωση της σπλήνας και των νεφρών, μικροερυθήματα και πετέχειες σε όργανα και ιστούς και κάποιες φορές άσπρα οζίδια στη σπλήνα, 1-2χιλ. Αυτά τα οζίδια χαρακτηρίζουν τη χρόνια μορφή της νόσου.
- Ιστοπαθολογικά, κατά την οξεία φάση παρατηρούνται νεκρώσεις στο σπλήνα και τα νεφρά, διήθηση από ερυθροκύτταρα, βακτηριακά συσσωματώματα που βουλώνουν τριχοειδή και βακτήρια μέσα και έξω από μακροφάγα.
- Τα χαρακτηριστικά οζίδια στη σπλήνα που παρατηρούνται στη χρόνια μορφή της νόσου είναι κοκκιωματώδεις αλλοιώσεις που αποτελούνται από βακτήρια, επιθηλιοειδή κύτταρα, μακροφάγα σε διάφορα εκφυλιστικά στάδια και ινοβλάστες.



Εικ. 17. Παστερίωση σε λαβράκι – εστιακή νέκρωση βραγχίων και σπληνομεγαλία.

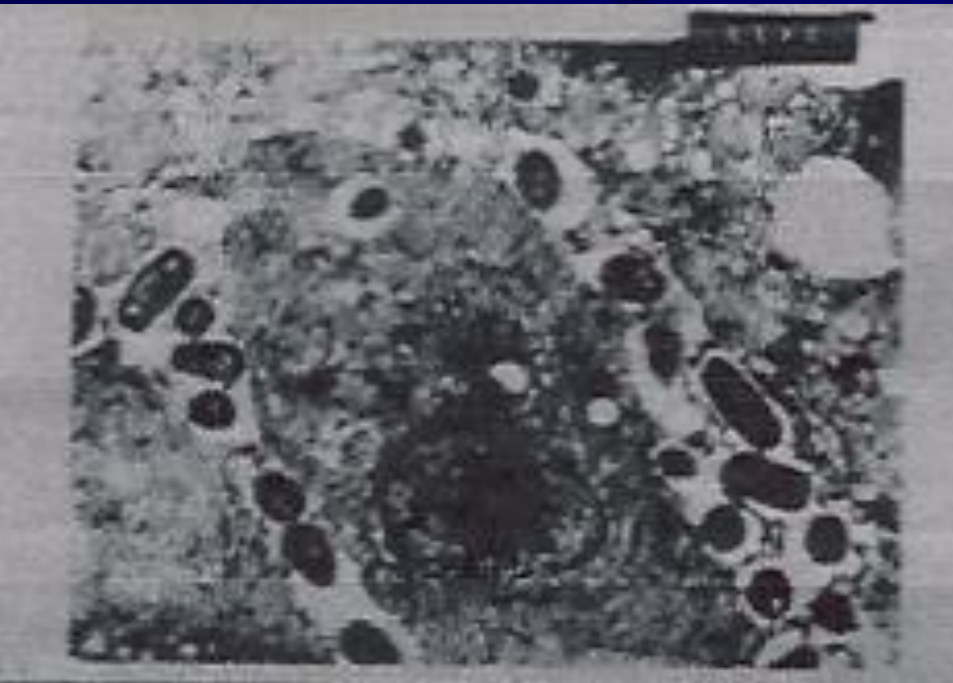


Εικ. 18. Παστερίωση σε λαβράκι – υπεραιμία ήπατος και σπληνομεγαλία.

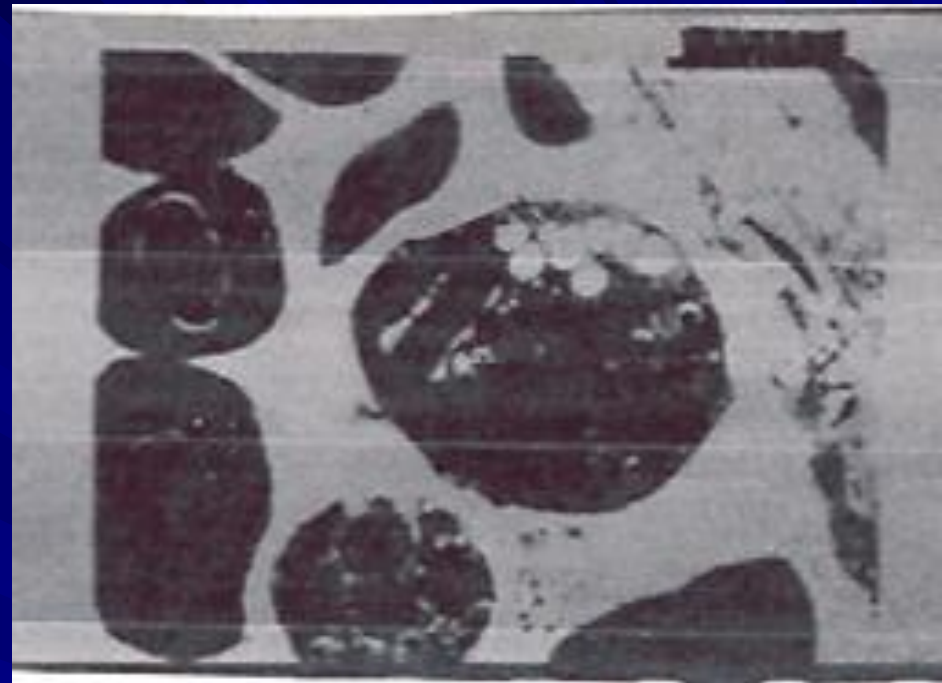
■ Διάγνωση: Η διόγκωση και η παρουσία οζιδίων στο σπλήνα είναι χαρακτηριστικά συμπτώματα, αλλά για την επιβεβαίωσή της η διάγνωση πρέπει να γίνεται με απομόνωση και ταυτοποίηση του βακτηρίου με βιοχημικές και ορολογικές εξετάσεις (Εικόνες 19, 20, 21).



***Εικ. 19.** Σπλήνα λαβρακιού με εμφανή τα οζίδια (κοκκιωματώδεις αλλοιώσεις) που προκλήθηκαν από την παρουσία του βακτηρίου.*



Εικ. 20. Ζωντανά βακτήρια μέσα σε λευκοκύτταρο (δεν παρατηρείται εκφύλιση των βακτηρίων). ΗΜ μεγέθυνση X 18.000



Εικ. 21. Μακροφάγο λαβρακιού με φαγοκυτταρωμένο ένα βακτηριακό κύτταρο *Pasteurella piscicida*. Ο μικροοργανισμός βρίσκεται εντός λυσοσωματίου ΗΜ μεγέθυνση X 22.000.

- Διαφορική διάγνωση
- Τα φωτοβακτηρίδια συνήθως πρέπει να διαφοροποιηθούν συνήθως από τα *Vibrio*.
- Πρέπει να τονισθεί ότι χαρακτηριστικά όπως η κινητικότητα, η διπολική χρώση, η μορφολογία των αποικιών και άλλα, μπορεί να ποικίλλουν ανάλογα με τις συνθήκες καλλιέργειας.

- Η χρήση του API 20E της εταιρείας Biomerieux είναι ευρύτερη αλλά το γεγονός ότι το βακτήριο αντιδρά μόνο στη δοκιμή της διυδρολάσης της αργινίνης και στη χρήση της γλυκόζης, κάνει τη χρήση αυτής της δοκιμής ασύμφωρη.
- Είναι προτιμότερη λοιπόν η χρήση των συμβατικών μεθόδων.
- Παρόλα αυτά, η οριστική ταυτοποίηση του παθογόνου δεν μπορεί να βασιστεί μόνο στα βιοχημικά του χαρακτηριστικά.

- *Οριστική ταυτοποίηση*
- Η οριστική ταυτοποίηση μπορεί να γίνει μόνο με τη χρήση ειδικών αντισωμάτων έναντι του Phdp ή ειδικών δεικτών DNA ή RNA.
- Στην αγορά υπάρχουν τόσο πολυκλωνικοί οροί όσο και μονοκλωνικά αντισώματα και βιομηχανοποιημένες δοκιμές για τη ταυτοποίηση του παθογόνου με τη χρήση διαφόρων ορολογικών μεθόδων όπως ELISA ή παραλλαγές της, ανοσοφθορισμό, κ.λ.π.
- Οι μοριακοί δείκτες μπορούν να χρησιμοποιηθούν σε PCR, ανοσο-PCR και άλλες μοριακές τεχνικές.
- Η μόνη απαίτηση από όλους τους δείκτες είναι να είναι ειδικοί για το παθογόνο φωτοβακτηρίδιο των ψαριών.

■ Θεραπεία

- Η θεραπεία εφαρμόζεται μόνο όταν έχει απομονωθεί το παθογόνο και έχει γίνει αντιβιογράμμα.
- Οι αναφορές πάνω στην ευαισθησία ή την ανθεκτικότητα του φωτοβακτηριδίου στα αντιβιοτικά είναι δεκάδες. Όπως και για τα *Vibrio*, τα μόνα αντιβιοτικά που μπορούν να χορηγηθούν είναι αυτά για τα οποία έχουν καθορισθεί MRLs, δηλαδή τα εξής:
 - Oxolinic acid: up to 100μg/kg in muscle and skin
 - Sarafloxacin: up to 30μg/kg in muscle and skin
 - Flumequine: up to 600μg/kg in muscle and skin
 - Deltamethrine: up to 10μg/kg in muscle and skin
 - Tefloibenzourone: up to 500μg/kg in muscle and skin
 - Emamectin B1a: up to 100μg/kg in muscle and skin
- Για τη flumequine μία δόση 10mg/Kg ζώντος βάρους για 10ημέρες σε θερμοκρασία 19-20°C στη τσιπούρα θεωρείται ένα καλό θεραπευτικό σχήμα. Για το oxolinic acid η δόση είναι λίγο μεγαλύτερη, 15-20mg/Kg ζώντος βάρους.

Πρόληψη

- Εφόσον η νόσος είναι ενδημική σε όλη τη Μεσόγειο, δεν μπορούμε να μιλάμε για αποφυγή εισόδου του μικροοργανισμού στο περιβάλλον της εκτροφής ή την αποφυγή επαφής των ψαριών με το βακτήριο.
- Τα γενικά μέτρα πρόληψης, όπως έχουν αναφερθεί προηγουμένως πρέπει να τηρούνται για την αποφυγή αύξησης του αριθμού των βακτηρίων στο περιβάλλον αλλά και της εισόδου ενός πιο λοιμογόνου στελέχους του βακτηρίου σε μία εκτροφή.
- Θα πρέπει λοιπόν να τηρούνται οι κανόνες υγιεινής για οτιδήποτε εισέρχεται στη μονάδα, καραντίνα και προληπτικά μπάνια με αντιβιοτικά για νεοεισερχόμενα ψάρια, υγιεινή των υπαλλήλων, αποφυγή μετακίνησης από «βρώμικες» σε «καθαρές» περιοχές της εκτροφής, κ.λ.π.

- Ιδιαίτερα αυτά τα μέτρα πρέπει να λαμβάνονται για τις εγκαταστάσεις των εκκολαπτηρίων όπου η μικρή ηλικία των ψαριών που συντηρούνται τα κάνει πολύ πιο ευαίσθητα στη προσβολή από το βακτήριο.
- Επιπλέον, λόγω του ότι τα εκκολαπτήρια αποτελούν συνήθως χερσαίες εγκαταστάσεις η εφαρμογή των κανόνων υγιεινής και αποφυγής εισόδου του βακτηρίου είναι πιο εύκολη σε σχέση με τις πλωτές εγκαταστάσεις.
- Τα παραπάνω αποτελούν μέτρα παθητικής πρόληψης. Η ενεργητική πρόληψη είναι αυτή η οποία θωρακίζει τα ψάρια απέναντι στο βακτήριο και μπορεί να αφορά τόσο στην ενίσχυση του εσωτερικού ανοσοποιητικού συστήματος των ψαριών με τη χορήγηση ανοσοδιεγερτικών, όσο και στην διέγερση του προσαρμοζόμενου ανοσοποιητικού συστήματος των ψαριών με τη διενέργεια εμβολιασμών.

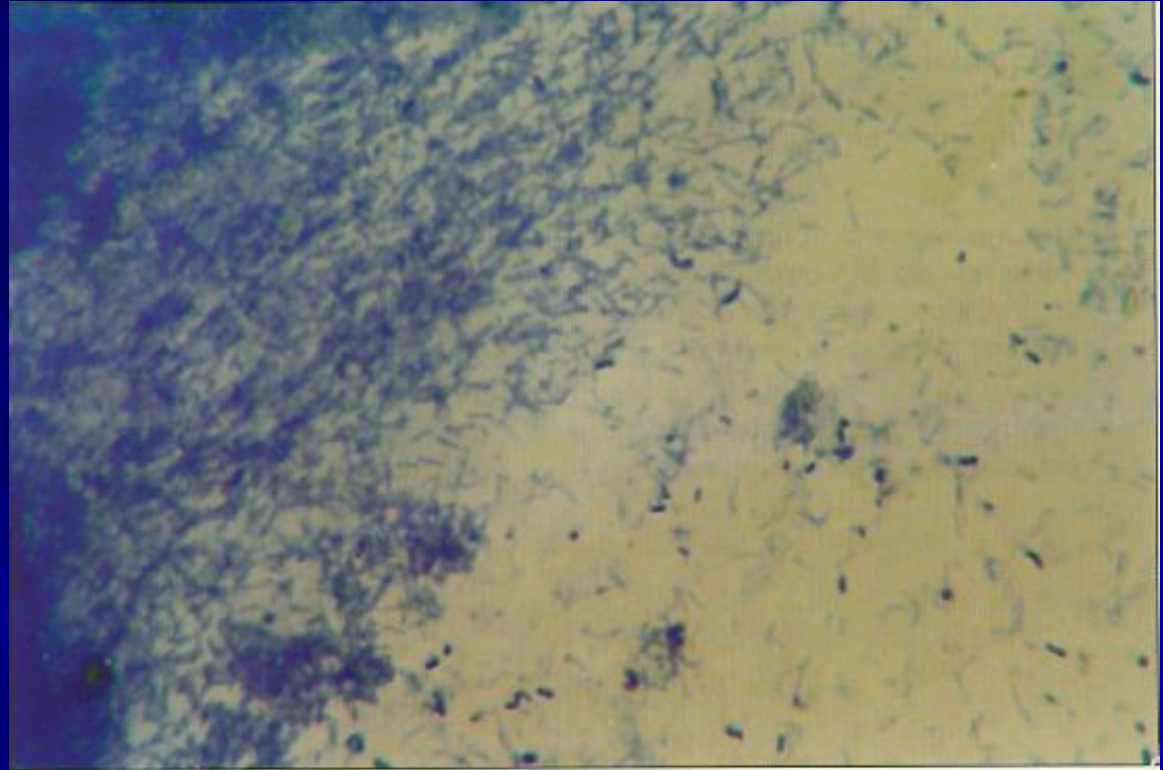
- Οι μελέτες πάνω στην παραγωγή και εφαρμογή εμβολιακών μιγμάτων σε διάφορα είδη ευαίσθητων ψαριών είναι πάρα πολλές.
- Έχουν χρησιμοποιηθεί ολικά βακτηριακά κύτταρα, διασπασμένα κύτταρα, λιποπολυσακχαρίδιο, πολυσακχαριδική κάψα, πρωτεΐνες της εξωτερικής μεμβράνης, εξωκυτταρικά προϊόντα του βακτηρίου μετά από αδρανοποίηση με φορμόλη ή με θέρμανση και μόνα τους αλλά και σε όποιο συνδυασμό μπορεί να γίνει και έχει βρεθεί ότι παρέχουν ανοσία στα εμβολιασμένα ψάρια κατά άλλους ερευνητές μικρή και κατά άλλους μεγαλύτερη η οποία όμως δεν διατηρείται για μεγάλο χρονικό διάστημα.

- Σημασία έχει να γνωρίζουμε ότι σε αντίθεση με τα *Vibrio* όπου η ανοσία βασίζεται σε αντισώματα έναντι του λιποπολυσακχαριδίου τους και των εξαρτημάτων της εξωτερικής μεμβράνης, η ανοσία έναντι του *Phdp* στηρίζεται κυρίως στις πρωτεΐνες και τα εξωκυτταρικά προϊόντα.
- Επιπλέον, ενώ στα *Vibrio* δεν είναι αναγκαία η εμπλοκή σε μεγάλο βαθμό της κυτταρικής ανοσίας (λιποπολυσακχαρίδιο = T-μη εξαρτώμενο), στα *Phdp* κάτι τέτοιο είναι ζητούμενο (το φωτοβακτηρίδιο επιζεί εντός των μακροφάγων).
- Ένας άλλος παράγοντας που επηρεάζει την επιτυχία ή την αποτυχία ενός εμβολιακού μίγματος είναι εάν το παθογόνο βακτήριο που χρησιμοποιείται στο εμβολιακό μίγμα εκφράζει αντιγόνα που εκφράζονται και στο περιβάλλον.
- Στην αγορά κυκλοφορούν εμβόλια κατά του φωτοβακτηριδίου μόνα τους ή σε συνδυασμό με *Vibrio*.

Μυξοβακτηριαδίαση

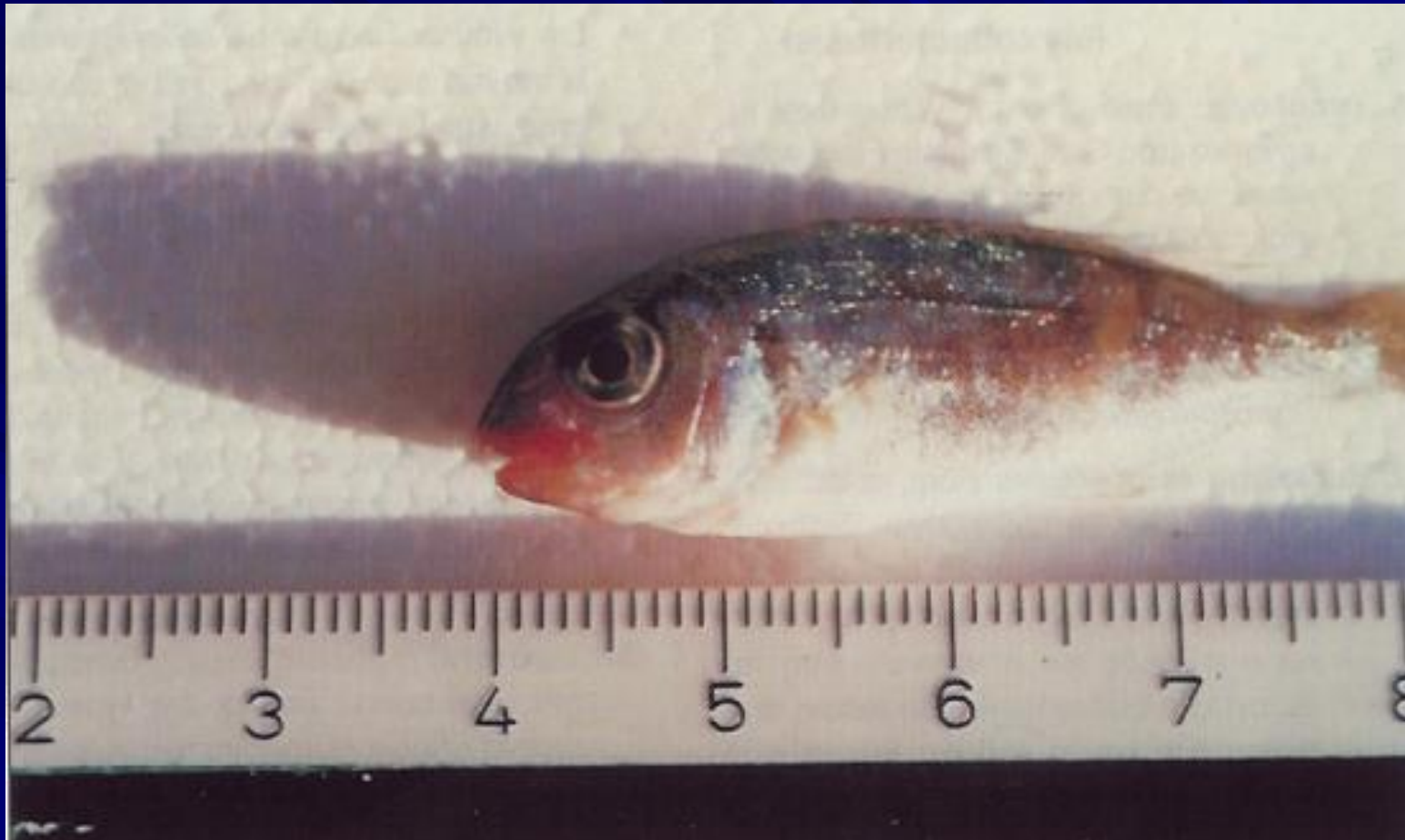
- Αιτιολογία: Κύριο αίτιο της νόσου είναι το αρνητικό κατά Gram βακτήριο *Flexibacter maritimus* που ονομάζεται πια *Tenacibaculum maritimum*.

- Στη βιβλιογραφία αναφέρονται και άλλα συγγενή είδη μικροοργανισμών που εμπλέκονται στη πρόκληση δερματικών αλλοιώσεων στα ευρύαλα καλλιεργούμενα είδη, όπως *Flavobacterium* spp.



Εικ. 22. Μυξοβακτήρια σε επίχρισμα από βράγχια (χρώση Methylene blue X 400)

- Ευαίσθητα είδη: Το καλκάνι, η γλώσσα και ο σολωμός του Ατλαντικού. Από τα Μεσογειακά είδη η τσιπούρα και το λαβράκι θεωρούνται ευαίσθητα.
- Θερμοκρασία εκδήλωσης της νόσου: Η νόσος εμφανίζεται καθ' όλη τη διάρκεια του έτους σε ευρύ φάσμα θερμοκρασιών. Στην Ελλάδα έχει παρατηρηθεί ότι, ιδιαίτερα για τα νεοεισαγόμενα ιχθύδια λαβρακιού, η πιο κρίσιμη περίοδος είναι από τον Απρίλιο μέχρι τον Ιούνιο.
- Κλινικά συμπτώματα: Ελκωτικές δερματικές αλλοιώσεις σε διάφορα σημεία του σώματος καθώς και νέκρωση των πτερυγίων και της ουράς. Στα ιχθύδια παρατηρείται ερυθρότητα του στόματος (Εικόνα 23), η οποία μπορεί να οδηγήσει ακόμη και σε διάβρωση των γνάθων. Συχνά οι αλλοιώσεις επικαλύπτονται από στρώμα παχύρρευστης κιτρινωπής βλέννας. Σε μερικές περιπτώσεις είναι δυνατό να παρατηρηθούν εστιακές νεκρώσεις στα βράγχια.



Εικ. 23. Ερυθρότητα του στόματος σε ιχθύδιο τσιπούρας από μυξοβακτήρια.

- Διάγνωση: Με παρατήρηση νωπών επιχρισμάτων από τις αλλοιώσεις και την παρουσία επιμηκών βακίλων. Είναι δυνατή η απομόνωση του μικροοργανισμού και σε ειδικά εκλεκτικά υποστρώματα.
- Θνησιμότητα: Αρκετά υψηλή. Στα νεοεισαγόμενα ιχθύδια λαβρακιού αναφέρονται θνησιμότητες μέχρι και 10-20% του προσβεβλημένου ιχθυοπληθυσμού.
- Μετάδοση: Άγνωστη. Μεταξύ των ψαριών μεταδίδεται μέσω του νερού.

- Πρόληψη: Η εμφάνιση της νόσου είναι συνυφασμένη με την ύπαρξη παραγόντων που προκαλούν στρες.
- Η αποφυγή των τελευταίων και η μείωση των αιτιών που μπορούν να προκαλέσουν τραυματισμούς είναι δυνατό να συμβάλλουν στη πρόληψη της νόσου.
- Θεραπεία: Η χορήγηση αντιβιοτικών είτε με μπάνιο ή με τη τροφή δίνει ικανοποιητικά αποτελέσματα.