

Eija Rimaila-Pärnänen, Jaana Seppänen ja Pia Vennerström

Kalatuberkuloosi on yleinen akvaariokalojen tauti

Fish tuberculosis is a common disease in aquarium fishes

YHTEENVETO

Mycobacterium marinum, *M. fortuitum* ja *M. chelonae* ovat kirjallisuuden mukaan yleisimmät kalatuberkuloosin aiheuttajat (Chinabut 1999). Akvaariokalojen tuberkuloosin diagnoosi perustuu pääasiassa histopatologiaan, sillä kalojen pienen koon vuoksi materiaalia harvoin riittää edes bakteriologiseen eristykseen. Poikkeuksen muodostavat muun muassa suuret kiekkokalat, joissa jo ruumiinavauksessa voidaan todeta tyypillisiä, vaaleita pesäkkeitä elimissä. Mykobakterioosi kaloilla voi olla primaarisesti alimentaarinen, mutta infektoituminen voi myös tapahtua ihon ja kidusten kautta. Generalisoitumisen seurauksena tyypillisiä pesäkkeitä, granulomeja, on maksassa, pernassa ja muualla elimistössä. Näissä haponkestävät sauvabakteerit saadaan esille kudosleikkeissä Ziehl-Neelsen -erikoisvärjäyksellä. Tässä kirjoituksessa kerrotaan akvaariokalojen tuberkuloosin taudinkuvasta ja patologisista muutoksista sekä sen merkityksestä ihmisille.

SUMMARY

According to the literature (Chinabut 1999), fish tuberculosis is caused mainly by *Mycobacterium marinum*, *M. fortuitum* and *M. chelonae*. The diagnosis of aquarium fish tuberculosis is generally based on the histopathology, because there is seldom enough material for bacteriological culture due to the small size of the specimens. Big discus fishes are an exception as tubercular granulomas in their organs can be seen at gross necropsy. Tuberculosis of fish is primarily an alimentary infection but bacteria also enter the body via gills and damaged skin. As a result of generalized infection, granulomatous changes, occur in the liver, spleen and other organs. Mycobacterial granulomas are morphologically specific and Ziehl-Neelsen staining reveals the acid fast bacteria in histological sections. We describe here the clinical signs and pathology of fish tuberculosis and its significance for humans.

JOHDANTO

Kalatuberkuloosi eli mykobakterioosi on maailmanlaajuisesti tunnettu haponkestävien sauvabakteerien aiheuttama krooninen infektio sekä luonnon- että kasvatetuilla, makean- ja suolaveden kaloilla esiintyvä tauti. Tavallisimmat aiheuttajat ovat *Mycobacterium marinum*, *M. fortuitum* ja *M. chelonae*. Kalatuberkuloosia voi esiintyä myös ruuaksi kasvatetuilla lajeilla, mutta etenkin akvaariokaloilla (Conroy ja Conroy 1999). Tautia on todettu yli sadallaviidelläkymmenellä lajilla (Adams ym. 1997).

Lajista riippumattomia epäspesifisiä oireita ovat voimakas anorexia ja inanitie, exophthalmia ja ascites sekä kalan väriytyksen muuttuminen ja evien rispaantuminen. Joskus voidaan nähdä myös ihossa yksittäinen haavautunut pesäke; granulooma. Oireita on havaittu pitkällä aikajänteellä ja akvaariosta on voinut harvakseltaan kuolla joitakin yksilöitä jo aikaisemmin. Kirjallisuuden mukaan sairaiden kalojen ravitsemustila on heikko. Perna on suurentunut ja siinä kuten muissakin parenkymielimisissä voi olla pieniä, vaaleita, kovahkoja pesäkkeitä. Tuberkuloottisten

granuloomien rakenne on kuvattu kirjallisuudessa sidekudosekapselin ympäröimäksi pesäkkeeksi, jonka keskellä on kuoliomassaa, jossa erikoisvärjäyksellä näkyy karmiinipunaisia sauvabakteereja.

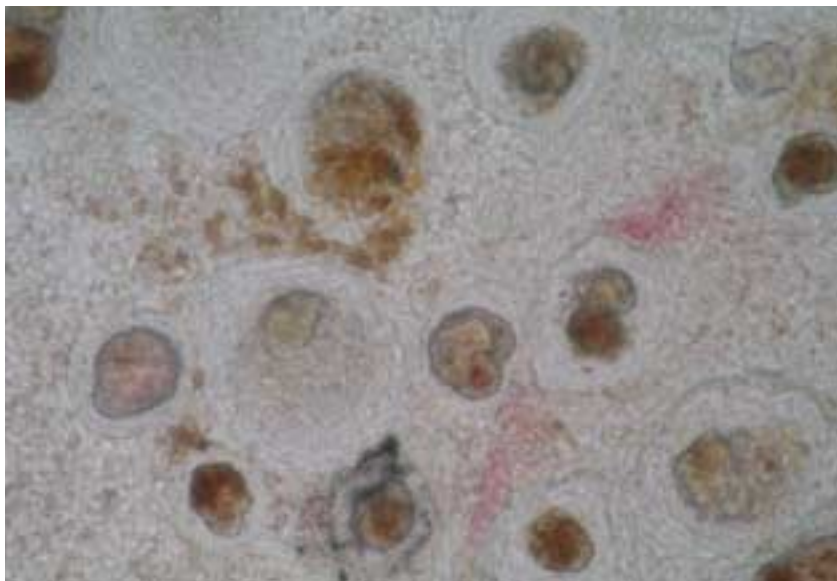
Ihmisillä *M. marinum* -bakteerin aiheuttamia paikallisia iho-infektioita on todettu yksittäin 1930-1970-luvulla. Kuitenkin jo ennen vuotta 1980 *M. marinum* hyväksyttiin ihmispatogeeniksi bakteeriksi (Dobos ym. 1999). Voimakkaasti lisääntyneen akvaariokalaelinkeinin seurauksena tuberkuloottiset ihoinfektiot ovat lisääntyneet akvaariokalojen kas-

vattajilla Thaimaassa (Adams ym. 1997) ja harrastajilla (Ang ym. 2000). Myös komplisoituneita *M. marinum* -bakteerin aiheuttamia ihomuutoksia on kuvattu (Trampuz ym. 2002). Ihmistapausten lisääntymisestä Yhdysvaltojen neljänkymmenen osavaltion alueelta 1990-luvulla on raportoitu (Dobos ym. 1999). Yksittäisiä infektiota on todettu myös Suomessa akvaariokalojen harrastajilla (Katila suullinen tiedonanto). Kalan mykobakteerien tarttuvuutta ihmisiin on aiemmin pidetty hyvin heikkona johtuen ihmisen $\sim +37^{\circ}\text{C}$ ruumiinlämpötilasta. Kuitenkin *M. marinum* on saatu kasvamaan elatusaineella edellä mainitussa lämpötilassa siamilaisista taistelukaloista (Adams ym. 1997) ja ihmisen invasiivisesta tautitapauksesta (Lahey 2003).

Akvaariokalojen tuberkuloosi (Rimaila-Pärnänen 1997) kuin myös ihmiseen tarttunut kalatuberkuloosi diagnosoidaan yleensä histologisesta leikkeestä. Koska akvaariokaloja tuodaan runsaasti ilman minkäänlaisia rajoituksia Euroopan eri maihin, on mahdollista, että tautitapaukset lisääntyvät myös Suomessa mykobakteerien infektiomien kalojen kanssa tekemisiin joutuvilla ihmisillä.

AINEISTO JA MENETELMÄT

Helsingin EELAn patologian tutkimusyksikössä on vuosina 1997–2003 tutkittu 139 akvaariokalaa, joista on todettu histologisesti 47 kalatuberkuloositapauksia. Tämän lisäksi on todettu joitakin sellaisia tapauksia, joissa etenkin suolen seinämässä on ollut kroonisia granuloomia, mutta Ziehl-Neelsen-värjäyksellä ei ole haponkestäviä sauvabakteereja löydetty. Yksi kalatuberkuloosi on todettu Oulun alueyksikössä vuonna 1999. Vain osasta tapauksista on materiaalia riittänyt myös bakteriologian tutkimusyksikköön bakteerin eristystä varten. Vuosina 1998–2003 myko-



KUVA 1 FIGURE

Suoramikroskooppinen niin sanottu litistysnäyte akvaariokalan maksasta, jossa tuberkuloottisia pesäkkeitä (värjäämätön x 200).

Direct microscopy of pressed liver of an aquarium fish with tuberculous granulomas (unstained x 200).

bakteeriviljely on tehty kahdestakymmenestä yhdeksästä kalasta.

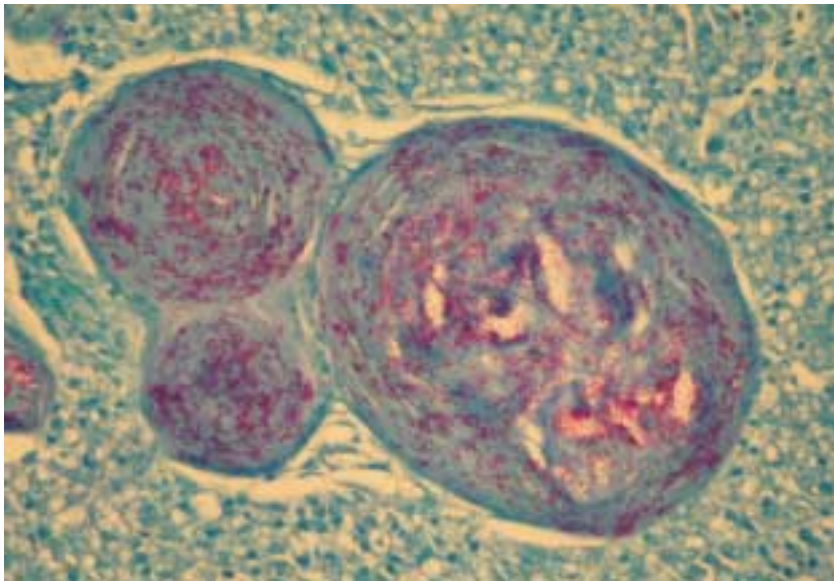
Avauksen yhteydessä käytettiin eri elinten tarkasteluun 5 X suurentavia laseja ja niin sanottua litistysmenetelmää, jossa kudoksia puristetaan ohueksi objekti- ja peitinlasin väliin ja näin saatu värjäämätön näyte mikroskopoitin välittömästi.

Kudospalat fiksoitiin 10 prosettisella puskuroidulla formaliinilla ja valettiin paraffiniin. Leikkeet 4–6 μm värjättiin hematoksyliini-eosiini ja Ziehl-Neelsen-värjäyksillä. Bakteriologian osastolla isommista kaloista tehdyt suorat kudossivelyt tutkittiin myös Ziehl-Neelsen-värjäyksin ja lisäksi näytteistä tehtiin mykobakteeriviljely. Mykobakteeriviljelyssä näytteet dekontaminoitiin 5 prosenttisena rikkihapossa ja viljeltiin *Mycobacterium* 1 -putkelle ja 2 -putkelle (Orion Diagnostica). Viljeltyjä elatusaineita inkuboitin $+30^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$:ssa neljän kuukauden ajan.

Eristettyjen mykobakteerikantojen lajimääritys tehtiin Kuopion yliopistollisen sairaalan kliinisen mikrobiologian laboratoriossa.

TULOKSET

Vaikka makroskooppisia granuloomia ei havaittu kalan avauksessa niitä todettiin litistysnäytteissä. Histologisissa leikkeissä nähtiin sekä kroonisia sidekudoskapselin ympäröimiä tuberkuloottisia granuloomia että akuutteja granuloomia, joissa ei ollut sidekudoskapselia eikä kuoliota vaan epiteloidisia soluja, joissa runsaasti haponkestäviä sauvoja. Langhansin jättilisoluja ei todettu missään näissä muutoksissa. Granuloomia oli etenkin suolen limakalvossa ja serosalla, ruuansulatuskanavan alkuosassa, kiduksilla, pernassa, maksassa ja munuaisissa sekä joskus mädissä ja maidissa sekä aivoissa, silmässä sekä ihossa. Haponkestävien sauvojen lukumäärä



KUVA 2 FIGURE

Tuberkuloottisia pesäkkeitä, jossa haponkestäviä bakteereja (Z-N x 1000).

Tubercular granulomas with acid fast bacteria (Z-N x 1000).

ja ulkonäkö vaihteli huomattavasti eri kalayksilöillä. Joskus sauvat olivat ohuita ja pitkiä ja toisinaan lyhyitä ja paksuja.

Mykobakteerien varalta viljelyistä kahdestakymmenestä yhdeksästä kalasta viidestätoista eristettiin mykobakteereita. Kahdesta kalasta löytyi kahta erilaista mykobakteerilajia. Osa eristetyistä kannoista on tunnistettu lajitasolle asti: *M. marinum* löytyi kolmesta, *M. marinum* ja *M. chelonae* yhdestä sekä *M. scrofulaceum* yhdestä kalasta. Lisäksi yhdestä kalasta eristettiin kaksi erilaista mykobakteerikantaa, jotka rasvahappo- ja sekvenssi-analyysien perusteella muistuttivat lähinnä *M. conspicuum* ja *M. bohemicum* -lajeja.

POHDINTA

Mykobakterioosi on yleinen akvaariokalojen sairaus EELAn materiaalissa. Bakteriologisessa tutkimuksessa eristetyistä mykobakteereista

M. marinum ja *M. chelonae* ovat vanhastaan tunnettuja kalapatoogeeneja (Austin & Austin 1987). Myös *M. scrofulaceum* on aikaisemmin eristetty kalasta (Lansdell ym. 1993).

Kalatuberkuloosia on meillä todettu useilla lajeilla, mutta eniten kiekkokaloilla, jotka ovat hyvin edustettuina materiaalissa. Tämä johtuu siitä, että niiden kauppahinnat vaihtelevat koon ja värin perusteella muutamasta kymmenestä eurosta satoihin euroihin. Tällöin on ymmärrettävää, että kuolinsyyn tutkimus, 1–3 kalasta 21,54 euroa, kannattaa tehdä diagnoosin saamiseksi. Kalatuberkuloosidiagnoosi varmistuu viimeistään Ziehl-Neelsen-värjättyjen histologisten leikkeiden avulla. Kaloista, joissa on makroskooppisia granuloomeja todettu, on myös materiaalia riittänyt bakteriologiseen tutkimukseen. Sen sijaan alle 1,5 cm:n mittaisten kalojen avaaminen on erittäin hankalaa ja niiden koh-

dalla turvaudutaan kokonaisen kalan fiksointiin ja histologisten sarjaleikkeiden valmistamiseen. Jos kaloissa on vain yksittäisiä, miliaarisia granuloomeja, voivat ne jäädä toteamatta. Koko kalan viipaloiminen poikkileikkauksiksi on täysin mahdotonta käytännön diagnostiikassa. Muita tavallisia tauteja akvaariokaloilla ovat iho-, kidus- ja sisäloisinfektiot. Kalatuberkuloosin differentiaalidiagnoosina on akvaariokaloilla pidettävä mielessä ne sairaudet, joissa on todettu pesäkemäisiä muutoksia elimissä. *Nocardia* sp. aiheuttaa pesäkkeisen tulehdusreaktion kalan ihossa ja sisäelimissä. Bakteeri on lievästi haponkestävä ja kasvaa myös samoilla elatusaineilla kuin mykobakteerit (Austin & Austin 1987). *Cryptobia iubilans* on flagellaattiloinen, jonka aiheuttamia kroonisia loispesäkkeitä tavataan etenkin ruuansulatuskanavan seinämässä ja lähelimissä kiekkokaloilla ja kirjoahvenilla (Steinhagen ym. 1994). Itse loisen voi tunnistaa mikroskooppilla suolen sisällöstä.

Hexamita sp. on myös flagellaatteihin kuuluva yksisoluinen eliö, jota tavataan akvaariokalojen ja muiden kalojen ruuansulatuskanavassa vapaana. Atlantin lohella on todettu yleistyneessä hexamitiaasissa kroonisia nekrooseja maksassa ja munuaisissa (Poppe 1990).

Ihmisen kannalta mykobakterioosi akvaariokaloilla on pidettävä mielessä, mutta sen pelko ei saa olla harrastuksen esteenä. Tautia voidaan ennaltaehkäistä välttämällä paljain käsin työskentelyä akvaarioissa tai käyttämällä esimerkiksi pitkiä rektalisointihanskoja. Kirjallisuustietojen perusteella *M. marinum* ei tartu herkästi ihmiseen. Ihmisruumiin lämpötila on huomattavasti akvaariokalojen lämpötilaa korkeampi, mikä aiheuttaa sen, että bakteeri voi ihmisessä lisääntyä vain uloimmissa osissa, tavallisimmin käsivarsissa ja sormissa. *M. marinum*in optima-

lisenä kasvulämpötilana pidetään 25–35° C. Thaimaassa akvaariokaloista saatu ihotuberkuloosi on kuvattu paitsi käsissä myös varpaissa, koska siellä akvaariokalojen hoitajat liikkuvat matalissa altaissa paljain jaloin (Adams ym. 1997). Kuitenkin Yhdyisvalloissa on nimenomaan *M. marinum* -bakteerin aiheuttamia infektoita raportoitu lisääntyvästi 1990-luvulta lähtien. Vaikka paikalliset iholeesiot ovat melko kivuttomia ja voivat parantua jopa spontaanisti, niitä kuitenkin hoidetaan mikrobi-lääkkein useita viikkoja diagnoosin varmistuttua. Immunosuppressoi-tuneilla ihmisillä paikallisista *M. marinum* -bakteerin aiheuttamista infektoista voi muodostua vakavia yleisinfektioita (Hanau ym. 1994, Parent ym. 1995 ja Dobos 1999). Tällaiset komplisoidut tapaukset vaativat aina pitkän jopa vuoden hoidon tuberkuloosilääkkein.

Kalojen mykobakteeri-infek-tioita ei pitäisi koskaan hoitaa. Vähempiarvoiset parvet, joista diagnoosi on tehty, pitäisi hävittää. Sairaot yksilöt erittävät ulosteissaan ja virtsassa runsaasti bakteereja ja tartuttavat samassa akvaariossa olevat muut kalat veden välityk-sellä, horisontaalisesti ja ovat siten myös vaaraksi akvaariota hoita-valle ihmiselle. Mikäli olosuhteet ovat kyseisille akvaariokaloille optimaaliset, eivätkä kalat altistu stressille, tauti voi olla latenttina pitkiäkin aikoja. Tosin pienikin järkkyminen kalan hyvinvoinnissa voi laukaista taudin puhkeamisen ja johtaa hitaasti kalan kuolemaan. Tiedetään kuitenkin, että eräissä Kaukoidän maissa ihmiselle tar-koitetut tuberkuloosilääkkeet on annettu arvokkaille akvaarioka-loille (Adams ym. 1997). Näissä maissa akvaariokalojen kasvatus on valtavaa bisnestä, jonka varassa elää useita perhekuntia. Akvaa-riokaloja ei voi myöskään testata tuberkuloosin varalta etukäteen. Binomijakauman perusteella olisi esimerkiksi 50 kalan parvesta

uhrattava 35 tutkimuksiin, jotta saataisiin 95 prosentin varmuus, mikäli tautia esiintyisi 5 prosentil-la parvesta, sadan kalan parvesta olisi samoin laskelmin tutkittava 45 kalaa.

Koko parven tuhoaminen ei aina ole mielekäästä varsinkaan, kun varmasti tautivapaiden yksi-löiden hankkiminen uuden parven perustamisesta varten ole help-poa.

KIITOS

Kiitokset LKT Marja-Leena Kati-lalle, joka tyypitti lähettämämme mykobakteerikannat Kuopion yliopistollisen sairaalan klinisen mikrobiologian laboratoriossa.

KIRJALLISUUS

Adams, A., Thompson, K. D., Somsiri, T., Chen, S.-C., Puttinaowarat, S., Knibb, W., Kolk, A., Campbell, R.E. & Richards, R.H. Mycobacteriosis in siamese fighting fish from Thailand - Diagnosis, Control and transfer to man. European Assosia-tion of Fish Pathologists VIIIth Interna-tional Conference " Diseases of Fish and Shellfish" Abstract Book 1997,O - 45.

Ang, P., Rattana-Apiromyakij, N. & Goh, C. L. Retrospective study of *Mycobacte-rium marinum* skin infections. Int. J. Dermatol. 2000, 39, 343–347.

Austin, B & Austin, D. A. Aerobic Gram-positive Rods. Teoksessa Bacterial Fish Pathogens: Diseases in farmed and wild fish. Ellis Horwood Limited, Chichester, England, 1987. s. 56–88.

Chinabut, S. Tuberculosis and Nocardio-sis, Teoksessa: Woo, P.T.K and Bruno, D.W. (toim.) Fish Diseases and Disor-ders, Vol. 3, CAB International, Walling-ford, UK 1999, 319–340.

Conroy, G. & Conroy, D. A. Acid fast bacterial infection and its control in guppies (*Lebistes raticulatus*) reared on an ornamental fish farm in Venezuela. Vet. Rec. 13, 1999: 177–178.

Dobos, K. M., Quinn, F. D., Asford, D. A., Horsburg, C. R. & King, C. H. Emer-gence of a unique group of necrotizing mycobacterial diseases. Emerg. Inf. Dis. 5, 1999: 367–378.

Hanau, L. H., Leaf, A., Soeiro, R., Weiss, L. M. & Pollack, S. S. *Mycobacterium*

marinum infection in a patient with acquired immunodeficiency syndrome. Cutis 1994, 54, 103–105

Katila, M. L. suullinen tiedonanto 2001.

Lahey, T. Invasive *Mycobacterium ma-rinum* infections. Emerg. Inf. Dis. 2003, 9, 1496–1498.

Lansdell, W., Dixon, B., Smith, N. & Benjamin, L. Isolation of Several *Myco-bacterium* Species from Fish. J. Aquat. Anim. Health 1993, 5:73–76

Parent, L. J., Salam, M. M., Appelbaum, P. C. & Dosset, J. H. Disseminated *Mycobacterium marinum* infection in a child with severe combined immu-nodeficiency. Clin. Inf. Dis. 1995, 21, 1325–1327.

Poppe, T. T. Hexamita salmonis – Hex-amitose. Teoksessa: T.T.Poppe, (toim.) Aqua Books: Fiskehelse. John Grieg Forlag As. 1990, s. 228–229.

Rimaila-Pärnänen, E. Kalatuberkuloosi akvaariokaloilla. Akvaariomaailma (5) 1997: 43.

Steinhagen, D., Jendrysek, S., Ernst, S., Hemmer, N. & Körting, W. Diagnose und Therapie von Cryptobia iubilans, einem pathogenen Flagellaten aus dem Darm von Buntbaschen. Kleintierpraxis 39, 1994: 749–754.

Trampuz, A., Garzoni, C., Fluckiger, U. & Zimmerli, W. Persistent Ulcers on the Hand of an Aquarium Owner. Scand. J. Infect. Dis. 2002, 34, 630–632.

KIRJOITTAJEN OSOITTEET

Erikoistutkija, ELL Eija Rimaila-Pärnänen, Eläinlääkintä- ja elintarviketutkimuslaitos EELA, Patologian tutkimusyksikkö, puh.(09) 393 1880, PL 45, 00581 Helsinki, sähköposti: eija.rimaila-parnanen@eela.fi

Erikoiseläinlääkäri Jaana Sep-pänen, Eläinlääkintä- ja elin-tarviketutkimuslaitos EELA, Bakteriologian tutkimusyksikkö

ELL Pia Vennerström, Eläinlää-kintä- ja elintarviketutkimuslaitos EELA, Patologian tutkimusyksikkö