

Fischereibiologie & Aquakultur

Die Wirksamkeit der Inneneidesinfektion am Beispiel der Seeforelle

FRANZ LAHNSTEINER, ELIAS LAHNSTEINER & MANFRED KLETZL
Institut für Gewässerökologie, Fischereibiologie und Seenkunde,
Abteilung Fischereibiologie und Referat Fischzucht Kreuzstein

Abstract

Efficiency of iodophor disinfection non-hardened *Salmo trutta* eggs against different groups of bacteria and against fungus was investigated. Bacteria and fungus mass of non-hardened eggs could be reduced but not eliminated by iodophor disinfection with 135 ppm active iodine for 15 min. The extent of reduction was circa 50 % (experiment 1). The efficiency of disinfection increased with disinfection time. The reduction in bacteria and fungus mass was persistent as it was circa 50 % lower in embryos deriving from disinfected eggs than in embryos deriving from non-disinfected ones.

1. Einleitung

Die Inneneidesinfektion ist eine Methode, um die Keimzahl von Krankheitserregern zu reduzieren, die sich im Inneren der Eier befinden. Dabei werden die befruchteten, aber nicht gequollenen Eier mit iodhaltigen Präparaten (Iodophoren) desinfiziert. Diese Methode wirkt gegen Keime, die von den Muttertieren auf das Ei übertragen werden und gegen solche, die während der künstlichen Befruchtung über Schleim, Kot, Blut, Wasser oder Ausrüstung in das Ei gelangen (De Swaef et al. 2015).

Bisher gibt es aber nur wenige und widersprüchliche Daten, wie wirksam die Inneneidesinfektion tatsächlich ist. Es scheint, dass die Inneneidesinfektion bei Fischarten mit kleinen Eiern wirksamer ist als bei Fischen mit großen Eiern. So konnten pathogene Viren und Bakterien beim amerikanischen Zander (*Sander vitreus*) und beim Hecht (*Esox lucius*) durch die Inneneidesinfektion zur Gänze abgetötet werden (Tuttle-Lau et al. 2010). Dagegen zeigten Versuche an unterschiedlichen Salmonidenarten, dass die Inneneidesinfektion gegen verschiedene Viren und Bakterien nicht 100%ig wirksam war (Evelyn et al. 1986. Kumagai et al. 1998).

Um dieser Fragestellung weiter nachzugehen und Empfehlungen für die Aquakultur abgeben zu können, wurde von uns eine Untersuchung über die Wirksamkeit der Inneneidesinfektion bei der Seeforelle durchgeführt.

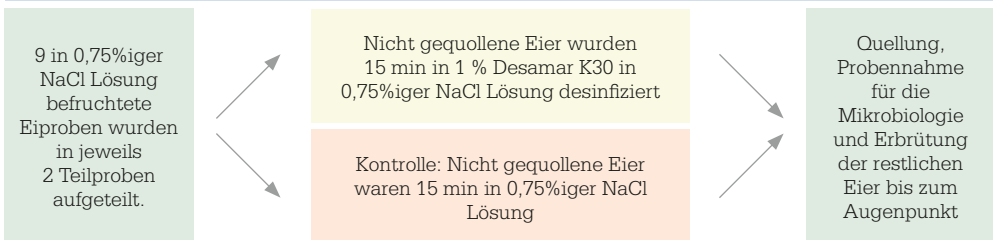
2. Material und Methoden

In den hier beschriebenen Experimenten wurde nicht die Wirkung der Inneneidesinfektion auf einen speziellen Krankheitserreger untersucht, sondern ob und wie weit die in den Eiern vorkommende Bakterien- und Pilzdichte mit dieser Desinfektionsmethode verringert werden kann. Da Iodophore gegen Viren, Bakterien und Pilze wirken, können die in dieser Arbeit gewonnenen Daten auf die meisten bei Fischen vorkommenden vegetativen Erreger umgelegt werden.

Als Desinfektionsmittel wurde Desamar K30® verwendet. Die Desamar K30 Stammlösung wurde in 0,75%iger Kochsalzlösung auf 1 % verdünnt. Desamar K30 ist in Österreich zurzeit nicht im Handel erhältlich, was zum Beginn der Untersuchungen aber noch nicht absehbar war. In ihrer Zusammensetzung und Wirksamkeit ähnliche Desinfektionsmittel werden unten beschrieben. Eier von Bachforellen wurden in 0,75%iger Kochsalzlösung befruchtet. 5 min später wurden die Eier in Kochsalzlösung gewaschen und 15 bis 30 min in der 1%igen Desamar K30 Lösung desinfiziert. Folgende Versuche wurden durchgeführt:

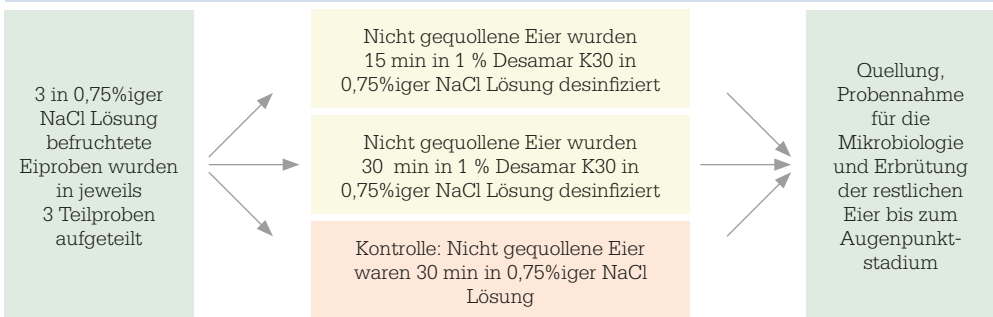
VERSUCH 1

Vergleich der Mikroorganismendichte in desinfizierten und nicht desinfizierten Eiern



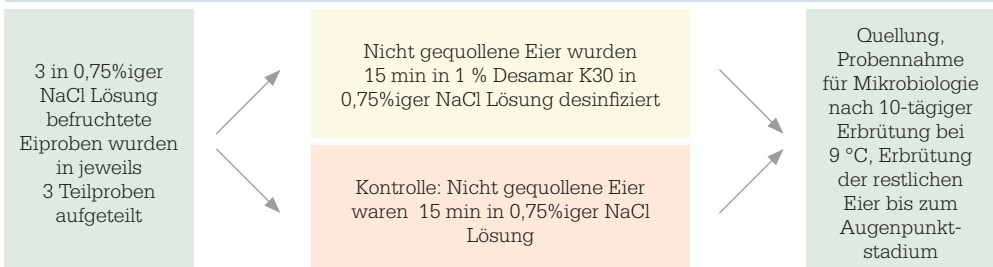
VERSUCH 2

Einfluss der Desinfektionsdauer auf die Mikroorganismendichte



VERSUCH 3

Mikroorganismendichte in desinfizierten und nicht desinfizierten Eiern nach 10-tägiger Erbrütung



Mikrobiologische Untersuchungen

Von jeder Teilprobe wurden 6 lebende Eier entnommen. Diese wurden in steriler 0,75%iger Kochsalzlösung gewaschen, zerkleinert und feste Teilchen (Eischale etc.) abgetrennt. Mit den so aufbereiteten Proben wurden Nährlösungen für Bakterien und für Pilze beimpft. Für die Bakterien wurde Casein-Soja-Pepton-Medium als allgemeines, nicht spezifisches Nährmedium verwendet. Weiters wurden spezifische Nährmedien für Darmbakterien getestet (MacConkey Medium, Eosin-Methylenblau Medium, Rogosa Medium), weil vermutet wurde, dass diese Bakterien aufgrund der Verschmutzung der Befruchtungslösung mit Kot sehr leicht in das Ei gelangen können. Zur Kultivierung von Pilzen (*Saprolegnia sp.*) wurde ein mit Ampicilin versetztes Kartoffelextrakt-Glukose-Medium verwendet. Nach dem Beimpfen wurden die Nährlösungen unter genau standardisierten Bedingungen kultiviert (Lahnsteiner 2016). Wachsen in einer Nährlösung Mikroorganismen an, wird diese durch die zunehmende Anzahl von Zellen trübe. Diese Trübe der Nährmedien wurde in einem Photometer gemessen.

Veränderungen in der Mikroorganismenmasse wurden als Prozentwerte zur nicht desinfizierten Kontrolle angegeben. Diese Prozentwerte stellen einen Gesamtwert für alle Bakterienarten in den 4 Nährmedien dar. Die Einzelwerte für die verschiedenen Nährmedien sind in der wissenschaftlichen Publikation nachzulesen (Lahnsteiner 2016).

3. Ergebnisse

Bakterien und Pilze wurden sowohl in den desinfizierten als auch in den nicht desinfizierten Eiern nachgewiesen. Im nicht spezifischen Casein-Soja-Pepton-Medium wuchsen mehrere Bakterienarten an, wobei im Mikroskop 4 Arten unterschieden werden konnten. Das Rogosamedium war für *Lactobacillus* Arten spezifisch. Im McConckey-Medium wurden *Enterococcus sp.* und *Enterobacter sp.* nachgewiesen, im Eosin-Methylenblau-Medium *Enterobacter sp.* und *Pseudomonas aeruginosa*. Im Kartoffelextrakt-Dextrose-Medium entwickelte sich der Pilz *Saprolegnia sp.*

Diese Art wurde mikroskopisch anhand ihrer Fortpflanzungsstrukturen und Koloniemorphologie bestimmt. Generell werden die Eier von Salmoniden von einer komplexen Mikroflora von Bakterien besiedelt (Kubilay et al. 2009, Bergmann et al. 2013).

Versuch 1: Wirksamkeit der Inneneidesinfektion

Wurden die nicht gequollenen Eier 15 min in 1%iger Desamar K30 Lösung desinfiziert, war die Bakterienmasse gegenüber den nicht desinfizierten Eiern signifikant verringert und betrug nur mehr 46 ± 20 % des Ausgangswerts. Auch die Pilzmasse (*Saprolegnia sp.*) war gegenüber den nicht desinfizierten Eiern deutlich geringer (41 ± 17 % des Ausgangswerts) (Abbildung 1). Die Augenpunktrate war bei den nicht desinfizierten und desinfizierten Eiern gleich hoch (84 ± 13 %), das Desinfektionsverfahren hatte also keinen Einfluss auf die Entwicklung der Eier.

Versuch 2: Einfluss der Desinfektionsdauer

Die Desinfektionswirkung war zeitabhängig, je länger die Desinfektionsdauer, desto besser die Wirkung. In diesem Versuch konnten die Bakterien durch eine 15 minütige Desinfektion mit 1 % Desamar K30 auf 49 ± 24 % des Ausgangswerts verringert werden, durch eine 30 minütige Desinfektion auf 35 ± 15 %. Die Pilzmasse betrug nach 15 minütiger Desinfektion 53 ± 29 % der Kontrolle, nach 30 minütiger Desinfektion 28 ± 18 % (Abbildung 2). Die Augenpunktrate von Eiern, die 15 min lang in 1%iger Desamar K30 Lösung desinfiziert wurden, entsprach der Kontrolle (91 ± 6 %). Nach 30 minütiger Desinfektion

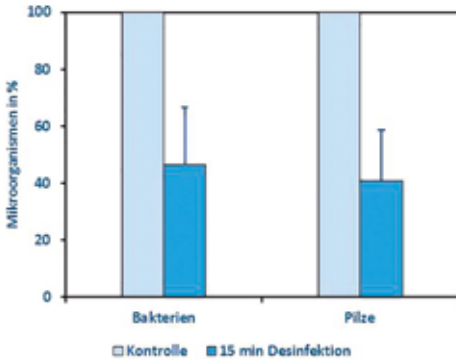


Abbildung 1: Prozentuelle Abnahme der Bakterien- und Pilzmasse durch die Inneneidesinfektion (Die Daten stammen von 9 Eiprobe, für die Bakterien sind zusätzlich die Werte von 4 unterschiedlichen Nährmedien kombiniert).

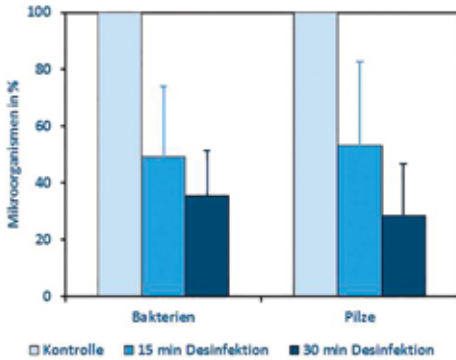


Abbildung 2: Einfluss der Desinfektionsdauer auf die Wirksamkeit der Inneneidesinfektion (Daten sind Prozentdaten und stammen von 3 Eiprobe; für die Bakterien sind zusätzlich die Daten von 4 unterschiedlichen Nährmedien kombiniert).

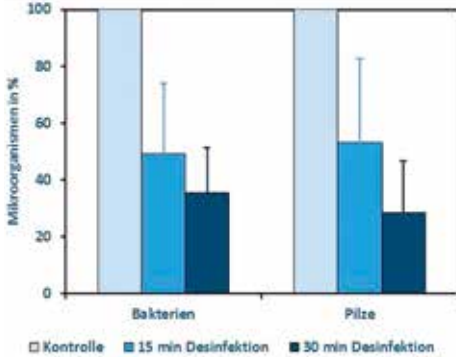


Abbildung 3: Prozentuelle Unterschiede in der Mikroorganismenmasse von desinfizierten und nicht desinfizierten Eiern nach 10tägiger Erbrütung (Daten stammen von 3 Eiprobe, für die Bakterien sind zusätzlich die Daten von 4 unterschiedlichen Nährmedien kombiniert).

verringerte sich die Augenpunktrate geringfügig auf 85 ± 6 %. Eine 30minütige Desinfektionsdauer stellt daher einen Grenzwert für die Lebensfähigkeit der Salmonideneier dar.

Versuch 3: Mikroorganismen in desinfizierten und nicht desinfizierten Eiern nach 10tägiger Erbrütung

Dieser Versuch zeigte, dass die Wirkung der Inneneidesinfektion anhaltend war. Bakterien und Pilze wuchsen auf den desinfizierten Eiern also nicht verstärkt wieder an. Nach einer zehntägigen Erbrütungsdauer war auf den desinfizierten Eiern eine Bakterienmasse feststellbar, die 56 ± 29 % der nicht desinfizierten Eier entsprach und eine Pilzmasse, die

39 ± 26 % der nicht desinfizierten Eier entsprach (Abbildung 3). Die Augenpunktrate war bei den nicht desinfizierten und desinfizierten Eiern gleich hoch (81 ± 8 %).

Diskussion

Die vorliegende Studie zeigt, dass durch eine 15 minütige Inneneidesinfektion mit 1%iger Iodophorlösung die in den Eiern befindlichen Mikroorganismen um circa 50 % abnehmen. Sind Bakterien oder Pilze in direktem Kontakt mit einer 1%igen Iodophorlösung, genügen Desinfektionszeiten von 5 min, um die Keimzahl um > 99 % zu verringern (McDonnell & Russell 1999). Die vergleichsweise geringere Wirkung des Desinfektionsmittels bei der Inneneidesinfektion ist auf ein unzureichendes Eindringen in das Fischei zurückzuführen. Insbesondere die Eimembran und der Eidotter haben eine sehr geringe Durchlässigkeit. Dies ist in der natürlichen Umwelt ein Selbstschutz, um das Eindringen von schädlichen Stoffen in die Eier zu verhindern.

Längere Desinfektionszeiten von 30 min erhöhten die Wirksamkeit der Inneneidesinfektion, weil unter diesen Bedingungen 65 – 70 % der Mikroorganismen abgetötet werden konnten. Eine Desinfektionsdauer von 30 min stellt aber einen Grenzwert für die Überlebensfähigkeit der Eier dar. In der Praxis muss also abgeschätzt werden, ob längere Desinfektionszeiten und höhere Wirksamkeit bei gleichzeitig geringeren Entwicklungsraten der Eier erwünscht sind. Grundsätzlich sind Iodophore nicht nur für die Mikroorganismen sondern auch für die Fischeier giftig, weil das aktive Iod die Struktur bestimmter Moleküle zerstört.

Die Inneneidesinfektion konnte die Mikroorganismen in den Eiern dauerhaft reduzieren, weil in den desinfizierten Eiern auch nach einer Erbrütungsdauer von 10 Tagen die Bakterien- und Pilzdichte gegenüber den nicht desinfizierten Eiern um circa 50 % verringert war. Daher erscheint die Inneneidesinfektion geeignet, das natürliche Immunsystem der Fischeier und –embryonen (bestehend aus Lysozym und Makrophagen – Magnadottir 2006) zu unterstützen und somit zu einer ausgewogenen Besiedelung mit Mikroorganismen beizutragen.

Zurzeit ist Desamar K30 nicht mehr über den Handel erhältlich. Betadine® und Buffodine® wurden als mögliche Alternativen getestet. Für beide Desinfektionsmittel gelten ähnliche Toleranzgrenzen wie für Desamar K30: Eine 15-minütige Desinfektion mit einer 1%igen Lösung hat keinen Einfluss auf die Entwicklungsrate der Eier, eine 30 minütige Desinfektionsdauer stellt das Limit dar. Betadine wurde bisher an Bach- und Seeforelle, Regenbogenforelle, Saibling und Maräne getestet, Buffodine an Bach- und Seeforelle. Mit beiden Desinfektionsmitteln wurde in Vorversuchen auch eine ähnliche Desinfektionswirkung wie mit Desamar K30 erzielt, weiterführende Untersuchungen sind aber noch notwendig.

LITERATUR

- De Swaef E., Van den Broeck W., Dierckens K., & A. Decostere (2015) Disinfection of teleost eggs: a review. Reviews in Aquaculture, Early view article.
- Evelyn T.P.T., Proserpi-Porta L. & J.E. Ketcheson (1986) Persistence of the kidney-disease bacterium, *Renibacterium salmoninarum*, in coho salmon, *Oncorhynchus kisutch* (Walbaum), eggs treated during and after water-hardening with povidone-iodine. Journal of Fish Diseases 9: 461–464.
- Kumagai A., Takahashi K., Yamaoka S. & H. Wakabayashi (1998) Ineffectiveness of iodophor treatment in disinfecting salmonid eggs carrying *Cytophaga psychrophila*. Fish Pathology 33: 123–128.
- Lahnsteiner F. (2016). Effect of iodophor disinfection of non-hardened *Salmo trutta* eggs on their bacterial and fungus load. Aquaculture Research, in press.
- Magnadottir B. (2006). Innate immunity of fish (overview). Fish & Shellfish Immunology 20: 137–151.
- McDonnell G. & A.D. Russell (1999). Antiseptics and disinfectants: Activity, action, and resistance. Clinical Microbiological Review 12: 147–179.
- Tuttle-Lau M.T., Phillips K.A. & M.P. Gaikowski (2010) Evaluation of the efficacy of iodophor disinfection of walleye and northern pike eggs to eliminate viral hemorrhagic septicemia virus. U.S. Geological Survey Fact Sheet 2009: 3107.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Österreichs Fischerei](#)

Jahr/Year: 2016

Band/Volume: [69](#)

Autor(en)/Author(s): Lahnsteiner Franz, Lahnsteiner Elias, Kletzl Manfred

Artikel/Article: [Die Wirksamkeit der Inneneidesinfektion am Beispiel der Seeforelle 274-278](#)