O utjecaju temperature i fiziološkog stanja šarana na umjetnu infekciju s Pseudomonas punctata

I. Tomašić i J. Karlović


Ne ulazeći u sve pojedinosti toga problema želimo dati jedan dalji prilog razjašnjenju uloge bakterije P. punctata u vezi s nastankom i razvojem z. v. b. š. Općinno je poznato, da se z. v. b. š. javlja u proleće, i da najčešće vlada u vrijeme kad temperatura vode iznosi 15 do 20 °C. Ugrila li se voda preko 25 °C ugbivanje obično naglo prestaje. Tokom ljeta, pa i tokom jeseni i zime, bolest se javlja posve iznimno odnosno u mnogo bližem obliku. Prema tome tokom proleća postoje neki faktori za koje možemo smatrati, da pogođuju nastanku i razvoju z. v. b. š. Među njima jako se ističu dva faktora: temperatura vode (pa posljednje tome i temperatura tijela šarana) i fiziološko stanje šarana, koji i zimsko mlavoću i razdoblja giadianja i mirovanja prelazi u ljetno razdoblje, kada se izdašno hrani. Stoga smo smatrali potrebnim, da tešnije ustanovimo kako šarani reagiraju na umjetnu infekciju tom bakterijom kod različite temperature vode i u razno godišnje doba.

INFECJIJA ŠARANA S P. PUNCTATA KOD RAZLIČITE TEMPERATURE VODE

Za taj pokus upotrijebljeni su jednogodišnji šarančići, teško oko 2 kg, koji su potjecali iz ribogojlišta u kojem nije vladala z. v. b. š. Sredinom travnja izvadeni su iz zimovnjaka i preneseni u zavod, gdje su do početka pokusa i tokom njega (drugu polovicu travnja i prvu polovicu svibanja) živjeli u vodovodnoj vodi bez hrane. Bili su dakle u sličnom fiziološkom stanju kao i šarani iz zimovanja u prirodi. Šarančići su inicirani intramusklarno sa splavinama 24 satne agarske kulture P. punctata, koja je izolirana iz šarana bolesnog od z. v. b. š. Rasprošteni su u tri skupine, od kojih je jedna držana kod temperature vode od 28–30°C, druga kod 18–20°C, a treća kod 10–12°C. Šarančići: pojedine skupine inicirani su različitim dozama P. punctata i to s 0,05, 0,01, 0,005 i 0,001 cm² agarske kulture. Sa svakom dozom u svakoj skupini inicirani su po 4 šarana.

Tabela 1: Ugbivanje šarančića iz intramusklarne infekcije s agarskom kulturom P. punctata kod različite temperature vode

<table>
<thead>
<tr>
<th>Doza P. punctata u cm²</th>
<th>I (28–30°C)</th>
<th>II (18–20°C)</th>
<th>III (10–12°C)</th>
</tr>
</thead>
<tbody>
<tr>
<td>0,05</td>
<td>4 (iza., 1, 2, 2 i 2)</td>
<td>4 (1, 1, 3 i 3)</td>
<td>4 (1, 2, 3 i 4)</td>
</tr>
<tr>
<td>0,01</td>
<td>4 (1, 2, 3 i 4)</td>
<td>4 (1, 2, 3 i 4)</td>
<td>4 (1, 2, 3 i 4)</td>
</tr>
<tr>
<td>0,005</td>
<td>4 (1, 4 i 4)</td>
<td>4 (1, 2, 3 i 4)</td>
<td>4 (1, 2, 3 i 4)</td>
</tr>
<tr>
<td>0,001</td>
<td>4 (1, 4 i 4)</td>
<td>4 (1, 2, 3 i 4)</td>
<td>4 (1, 2, 3 i 4)</td>
</tr>
</tbody>
</table>

Rezultate pokusa prosuđivat ćemo prema ugbivanju i prema proizvedenim lokalnim promjenama. Ugbivanje šarančića u pojedinim skupinama prikazano je u tabeli 1. Vidimo da nije bilo bitne razlike između šarančića držanih kod 28–30°C, i onih kod 18 do 20°C, dok se rezultat skupine kod 10–12°C jasno razlikuje od prednjih dviju. Najveći je dio šarančića iniciranih s 0,01 cm² agarske kulture u prvim dvjema skupinama ugnuo već prvi dan, a u skupini kod 10–12°C nije ugnuo ni jedan od posljedica infekcije. Stoga u toj skupini nije ni izvršena infekcija niti dozama, t. j. 0,005 i 0,001 cm² agarske kul-
ture, kao što je to učinjeno u drugim dvjema skupinama.

Jednak nazaz bio je i kod lokalnih promjena izazvanih na mjestu aplikacije bakterijske kulture. Opcenito su na mjestu aplikacije nastale gnezde upale potkožja i mišića, uz stvaranje apsesa (obično iza 2 dana), pa kasnije i čirova kože. Između skupine šaranača drzahn kod 28–30°C i skupine kod 18–20°C nije bilo uočljivih razlika. Kod temperature vode kod 10–12°C reakcije su bile znatno slabije. Dok su reakcije kod prve dvije skupine uz dozu od 0,05 i 0,01 cm³ agarske kulture bile voma jake, tako da su katkad zahunatle i cijelu stranu inficiranog šaranača, dotle su reakcije kod temperature vode od 10–12°C s dozom od 0,05 cm³ bile znatno slabije od prednjih, a reakcije s dozom od 0,01 cm³ agarske kulture bile su prvi dan posve neznatne, a iza par dana su uopće nestale. Od šaranača inficiranih s 0,01 cm³ uginulo je samo jedan kod temp. od 18–20°C, dok je kod svijetlosti ostalih kod 18–20°C i kod 28–30°C nisu ustanovljene nikakve lokalne promjene.

Ti postignuti rezultati su u skladu s mogućnostima razmažanja bakterije P. punctata. Ona se u umjetnoj kulturi najbolje razmazi kod temperature između 20–30°C. Pa i u ribnjacima je P. punctata najviše raširena u lijepim mjesecima (G. Ehrlich, usmeno saopćenje). Međutim, i u okolišu su ti rezultati nisu u skladu s pojavom z. v. b. š. u prirodi. Dok su kod umjetne infekcije s P. punctata rezultati infekcije kod 18–20°C i 28–30°C bili približno jednaki, dotle prirodna z. v. b. š. kod temperature vode od 20°C počinje javljati, a kod 28°C ugađanje obično naglo prestaje. Kod prebogljih šaran, koji u ribnjacima u to vrijeme počinje opet dobro jesti nalazimo čirove kože i mišića, a katkad i gnojnje procese, koji tokom daljih nekoliko tjedana zaceljuje. Ugađanje bakterija prebogljih šaran, kod kojih se ta bakterija u ribnjacima počinje duboko razmažati. Prema tome ova činjenica, ako ju promatramo samu za sebe, govoriti o prilog stajališta, da P. punctata ne bi bila primarni uzročnik z. v. b. š. Gnojni procesi i čirovi kože koje kod šaran nalazimo u vezi s z. v. b. š. kod više temperature vode, a kod čijeg stvaranja sudjeluje u velikoj mjeri i P. punctata, ne govore prevelik stajališta. Te sekundarne promjene su posve razumljive kraj obilne bakterijalne flore u ribnjacima, u kojoj P. punctata zauzima vidno mjesto.

INFEKCIJA ŠARANA U GODIŠNJE DOBA KADA Z. V. B. Š. OBICNO NE VLADA U AKUTNOM OBLIKU

Već smo uvodno istaknuli, da ulogu temperature vode ne možemo promatrati samu za sebe, jer se s povišenjem temperature vode bolje razmahi flora i fauna u njoj, a time se povećava i prirodna hrana šarana. Pored toga s povišenjem temperature vode povisuje se i temperatura tijela šarana, koji potčinju bolje uzimati hranu, pa se time mješanj i njihovo fiziološko stanje. To svakako može u vezi s promjenom temperature vode također imati izvjestan utjecaj na nastanak i razvoj te bolesti. Stoga smo provedli nekoliko pokusa umjetne infekcije s P. punctata na šaranima u vrijeme kada z. v. b. š. u prirodi obično ne vlada. Infekcija je vršena s istim sojem P. punctata kao u prethodnom pokusu.

Pokus 1. Za pokus su upotrebljeni šaran koji su izvedeni iz jezera M. u vrijeme kad je temperatura vode bila viša od 25°C (27. lipnja). Ovi šaran potječu su iz ribogojilišta u kojem su žeđe vlada z. v. b. š. i na nekoliko njih primijećeni su obično na koži, pa se može sumnjati da su prebogljeli z. v. b. š. Pokusi su provedeni u zavodskim bazenima u vodovodnoj vodi kod temperature vode 18–20°C. Šarani su inficirani odmah drug dan iza kako su izvedeni iz jezera i to različitim dozama kulture 8 intraperitonelno, a 8 intramuskularno. Tešnja šarana kretala se je između 4 i 10 dana. U svakoj skupini bilo je šarana razne težine. Intrapertonealno su inficirani po 2 šarana s 2, 1, 0, 5 i 0,1 cm³, a intramuskularno po 2 s 0,1 i 0,01 cm³, a 4 s 0,001 cm³ agarske kulture.

Svi intraperitonealni inficirani šaran uginuli su unutar jednog dana iza infekcije (toksikno dejanje kulture, upalne promjene organa u trbušnoj šupljini, kao i kožne i mišićne kulture aplikacije). Ot intramuskularno inficiranih šaran uginuo je samo jedan inficiran s 0,1 cm³ agarske kulture. Kod intramuskularno inficiranih šaran ustanovljene su na mjestu aplikacije kulture, u ovim promjene razne obišice. Kod oba šarana inficiranih s 0,1 cm³ nastale su jake upalne promjene, mišiće se su raspadala, a iza nekoliko dana nastali su apsesi i čirovi. Kod šarana inficiranih s 0,01 cm³ bile su upalne promjene najgo slabi. Kod jednog šarana stvario se je apses, kod drugog je upala iza 4 dana nastala. Kada kod jednog šarana inficiranog s 0,001 cm³ prim ječen je laki upalni edem na koži iznad mjesta aplikacije, dok ostala 3 šarana nisu pokazivali nikakve reakcije.

Pokus 2. I. VII. inficirali smo 8 šarana teških oko 40 kg iz ribnjaka u kojem je tokom proljeća vlada z. v. b. š. Na nekim šaranim primijećene su zaraznice na koži, pa se može zaključiti da su prebogljeli z. v. b. š. Voda je u to vrijeme već prelazila temperature od 25°C. Infekcija je izvršena intramuskularno i to kod 2 šarana s 0,1 cm³, a kod 3 s 0,01 i 0,001 cm³ agarske kulture. Šarani su držani u vodi odvodnog kanala ribnjaka, a pregledani su 48 sati iza aplikacije kulture.

Kroz navedeno vrijeme nije uginuo ni jedan šaran. Kod šarana inficiranih s 0,1 i 0,01 cm³ nastala je na mjestu aplikacije gnojna upala u promjeru od nekoliko centimetara. Kod 2 šarana koja su inficirana s 0,001 cm³ nisu na mjestu aplikacije ustanovljene nikakve promjene, a kod jednog je ustanovljen mali apses.

Pokus 3. Šarani za taj pokus potječu su također iz ribnjaka u kojem je tokom proljeća vlada z. v. b. š. Iz ribnjaka su izvedeni 7. XI. i dopremljeni u zavod, gdje su pokusi odmah provedeni u vodovodnoj vodi.
kod temperature 18—20°C. Šarani su bili približno jednake težine oko 30 kg. Intrapertonealno su inficirana po 3 šarana s 4, 2 i 0,5 cm², a intramuskularno po 3 šarana s 0,1, 0,01 i 0,001 cm² agarske kulture.

Od intraperitonealno inficiranih šarana s dozom od 4 cm² uginula su svih tri jeca unutar 24 sata, a od inficiranih s 2 cm² uginula su dvojica unutar 24 sata, a jedan unutar 48 sati, od šarana inficiranih s 0,5 cm² uginuo je jedan unutar 24 sata, a dvojica su ostali živi. Znackovi bolesti kod uginulih šarana bili su jednakozna značaj kod šarana koji su uginuli iza intraperitonealne infekcije u prethodnom pokusu. Kod trojice šarana inficiranih intramuskularno s 0,1 cm² nastali su jaki upalni procesi na mjestu aplikacije, mišićno tkivo je propalo, a iza tri dana stvoren su apsesi promjera 3—5 cm. Kod 2 šarana inficiranih s 0,01 cm² bile su upalne promjene nešto slabije, a jedan nije uopće reagirao. Kod trojice šarana inficiranih s 0,001 cm² nisu ustanovljene nikakve upalne promjene.

Iz ovih pokusa vidimo, da šarani tokom ljeta i jeseni prilično dobro reagiraju na umjetnu infekciju s P. punctata. Nema nekih uočljivih razlika između reakcija u ljeto i u jesen. L-kačne reakcije su kod intramuskularnih infekcija s jednako dozama bile približno jednake. Uzimanje kod intraperitonealne infekcije bilo je u ovim pokusima kod ljetnih šarana veće nego kod jesenskih, ali to je i razumljivo, jer su ljetni šarani bili znatno manji.

No obzirom na svrhu ovoga rada najvažnije je da se ustanovi, da li šarani tokom ljeta ili jeseni jednako reagiraju na infekciju kao šarani tokom proljeća. Naše ljetne i jesenske skupine šarana teško je uspoređivati sa skupinom u proljeće (kod 18—20°C i 28—30°C), jer su potonji šaraniči bili mnogo manji. Za pokus o uoloži temperature mi smo hotimše izabrati takove šarane, da bi taj pokus mogli uspješnije provesti. Donekle mi razumemo za uspoređivanje uzeti u obzir lokalne reakcije kod intramuskularne infekcije. Te reakcije bile su kod proljetnih, ljetnih i jesenskih skupina šarana približno jednake. Radi boljeg prosuđivanja usporoditi ćemo ove rezultate infekcije kod ljetnih i jesenskih skupina šarana sa rezultatima infekcije kod šarana koje smo tokom proljeća kroz nekoliko godina provodili u velikom broju i koji pokusci su dijelom objavljeni u radovima I. Tomasečević [9] i. Tako su na pr. u jednom pokusu od 13 šarana teških 40 kg inficiranih intraperitonealno s 4 cm² agarske kulture raznih sojeva P. punctata od posljedica infekcije uginula 7, a od 13 šarana inficiranih s 1 cm² uginula su 6. U drugom jednom pokusu uginuli su šarani težine 35—40 kg nakon intraperitonealne infekcije s raznim sojevima P. punctata ovako: od 6 šaranama svake skupine uginulo je od inficiranih intraperitonealno s 4 cm² njih 5, 2 cm² 5, 1 cm² 3, 0,5 cm² 3, 0,2 cm² 2, a 0,1 cm² agarske kulture jedan šaran. Uspoređivamo li sve te rezultate tada vidimo, da nije bilo vidljivih razlika između reakcije kod šarana u proljeće i onih u ljeti i jeseni. Potrebno je još istaknuti, da su šarani na kojima smo provedili pokuse u ljeti i u jesen potjecali iz zaračenih ribnjaka, pa se može predviđavati da imaju i neki imunitet protiv z. v. b. š. Kad bi P. punctata bio primarni uzročnik bolesti morao bi taj imunitet u izvjesnoj meri u ovim pokusima doći do izražaja. Međutim to se u ovim pokusima nije dogodilo.

Zaključak

Temperatura vode u kojoj žive šarani utječe u izvjesnoj meri na umjetnu infekciju s P. punctata. Reakcije kod temperature vode od 28—30°C i 18—20°C približno su jednake, a one kod temperature s 10—12°C znatno su slabije. Nije bilo vidljivih razlika kod umjetne infekcije s P. punctata između proljetnih šarana s jedne strane i ljetnih i jesenskih s druge strane. Ovi rezultati umjetne infekcije nisu u skladu s prirodnom pojavom i tokom zarazne vode bolesti šarana, pa stoga oni govore u prilog stajalištu, da P. punctata nije primarni uzročnik ove bolesti.

Iz Zavoda za biologiju i patologiju riba, pčela i svilaca Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu
Predstojnik: prof. dr. Ivo Tomašec

I. Tomašec i J. Kalić

UEBER DEN EINFUSS DER TEMPERATUR UND DES PHYSIOLOGISCHEN ZUSTANDES DES KARPFENS AUF DIE KÜNSTLICHE INFektION MIT PSEUDOMONAS PUNCTATA
