

O zaraznoj nekrozi gušterače pastrvskih riba

Pred 15 godina E. M. Wood i suradnici (16) opisali su slučaj masovnog ugibanja kanadske pastrve (*Salvelinus fontinalis* Mitchell) u SAD i prikazali vlastiti rad kojim su dokazali zarazu narav bolesti i tipičnost nekroze gušterače kod oboljelih riba. Bolest se javljala i ranije, no bila je opisana pod raznim imenima, kao na pr. akutna kataralna upala crijeva (6). Danas znamo da je zarazna nekroza gušterače (pankreas) akutna, veoma zarazna virusna bolest koja uzrokuje masovna ugibanja mlađa, a katkada i pastrva u prvoj godini života, a veoma rijetko i većih primjeraka. Poznavanju ove bolesti bitno je doprinio K. Wolf, koji je izolirao virusnog uzročnika (12, 13, 14). Ovaj prikaz bolesti temelji se pretežno na podacima iz njegovih radova (10, 11, 12, 13, 14 i 15).

Znaci bolesti i postavljanje dijagnoze

Prvi znak pojave zarazne nekroze gušterače (z. n. g.) je nagli porast ugibanja. Prve žrtve su obično najveći i najljepši primjerci; mlađa ili riba u prvoj godini života. Oboljeli primjerci leže na dnu i dišu usporeno. Kad ugibanje dosegne vrhunac, mnoge pastrvice se vrte — spiralno se okreću oko svoje dužinske osi. Ovo karakteristično spiralno plivanje može varirati od vrlo polaganog i mirnog sve do veoma brzog i divljeg. Ako se vrćenje u toku ugibanja ne primjećuje, često ga se može izazvati udarcem po koritu ili po betonu bazena. Spiralno plivanje javlja se na kraju toka bolesti, sat ili dva pred ugibanjem. Ovo agonalno ponašanje može se smjenjivati s mirovanjem, u toku kojeg oboljeli primjerci leže na dnu i dišu usporeno. Kod vrlo mladih pastrvica i kod riba u lošoj kondiciji može spiralni način plivanja izostati. U toku epizootije, t. j. u toku ugibanja riba gubici mogu iznositi i preko 80%.

Pri pregledu oboljelih i uginulih pastrvica vidi se tamnija obojenost kože, izbuljenost očiju (egzoftalmus) uz umjereno do jako proširenje trbušne šupljine i katkada krvarenja u ventralnom području, uključujući i osnove peraja. Prilikom sekcije mogu se vidjeti brojna sitna tačkasta krvarenja oko piloričkih nastavaka. Jetra i slezena su obično blijede. U želucu i crijevima nema hrane, pa oni stoga izgledaju bjelkasto. Umjesto hrane, u želucu i početnom dijelu crijeva nalazi se sluz mliječnog izgleda. Hematološkim pregledom može se kod oboljelih riba ustanoviti anemija.

Dio oboljelih pastrva može preživjeti bolest, a neke od njih postaju doživotni nosioci virusa — kliconoše.

Opisano ponašanje i nalaz kod bolesnih pastrva dozvoljavaju postavljanje kliničke dijagnoze zarazne nekroze gušterače. Međutim, klinička dijagnoza je nepouzdana, jer se posve isto spiralno plivanje javlja kod vrtičavosti mlađa (uzročnik *Myxosoma cerebralis*) i kod mlađa koji ugiba od bakterijskog oboljenja škrga. Isti znak susreću se katkada i kod heksamitijaze, upale želuca i crijeva izazvane pokvarenom hranom. Valja spomenuti, da pastrvice mogu istovremeno biti zaražene s više različitih uzročnika bolesti što naročito otežava postavljanje ispravne dijagnoze.

Histološkom pretragom oboljelih pastrva nalazi se veoma izražena nekroza tkiva gušterače koja zahvaća kako acinarno tkivo tako i Langerhansove otoke i masno tkivo uz gušteraču. Na krajevima zahvaćenih područja tkiva gdje je nekroza tek započela, mogu se obično naći stanice s citoplazmatskim uključcima. Prema nekim autorima (17) u bubrezima se javljaju degenerativne promjene, no drugi istraživači nisu potvrdili ovaj nalaz. Histološka pretraga omogućuje postavljanje histopatološke dijagnoze, koja zajedno s kliničkom dijagnozom i pri odsutnosti bakterijskih i parazitarnih uzročnika bolesti može poslužiti kao temeljita sumnja da se zaista radi o z. n. g. Međutim, da bi se dijagnoza potvrdila, potrebno je izolirati i identificirati virusnog uzročnika. U tu svrhu upotrebljava se uzgoj virusa u kulturi tkiva i neutralizacijski test. U dobro uređenom laboratoriju virusološka dijagnoza može se postaviti za 1—2 dana. Nasuprot tome, rezultati biološkog pokusa, tj. infekcije primljivih pastrva s filtratom organa oboljelih primjeraka, mogu se očekivati najranije za 5—6 dana.

Uzročnik bolesti

Uzročnik z. n. g. nazvan je IPN virus, na osnovu engleske kratice za naziv bolesti (Infectious pancreatic necrosis). On spada u skupinu Picorna virusa. Veoma je sitan — njegov promjer iznosi 60 milimikrona, odnosno oko 1/170.000 cm. Dobro podnosi zagrijavanje — u fiziološkoj otopini zadržava dio infektivnosti i nakon držanja kroz 1 sat na 60°C. Nakon sušenja na zraku pri temperaturi od 15—22 °C ostaje infektivan i do 2 tjedna. Može ga se pohraniti i čuvati kroz praktički neograničeno vrijeme na -20°C; pri nižim temperaturama. IPN virus je do sada jedini riblji virus koji zadržava infektivnost u glicerinu. To njegvo svojstvo mnogo pojednostavljuje dijagnostički rad. Naime, pastrve koje su sumnjive da boluju od z. n. g. mogu se usitniti, staviti u 50%-tni glicerol i poslati poštom u laboratorij koji vrši izolaciju virusa. Glicerol štiti tkivo pastrva od raspadanja i bakterijske infekcije, a IPN virus ostaje infektivan i može ga se dokazati.

IPN virus umnaža se veoma dobro u tzv. primarnim kulturama stanica i tkiva različitih vrsta riba, te u linijskim stanicama. Za izolaciju i uzgoj virusa najčešće se upotrebljava i najprikladnija je linija stanica RTG—2 koja je dobivena od ovarija kalifornijske pastrve.

Izvori i rezervoari infekcije

Za vrijeme epizootije, tj. u toku ugibanja riba, virus se nalazi u velikim količinama u vodi. On potječe iz izmetina oboljelih pastrva. Ustanovljeno je da 1 ml crijevnog sadržaja istisnutog iz anusa pastrvice pred ugibanjem sadrži nekoliko miliona infektivnih doza virusa. U koritima s protočnom vodom nalazi se u toku ugibanja i do 25.000 infektivnih doza virusa u litri vode. Naravno da se pri takvoj koncentraciji virusa u vodi bolest brzo prenosi na zdrave primjerke i nizvodno.

Z. n. g. nijetko ubija sve oboljele pastrve. Neke od njih se oporavljaju i došišu spolnu zrelost. Iako su te ribe na izgled posve zdrave, mnoge od njih izlučuju velike količine IPN virusa. Kod tih riba virus se može naći u izmetinama, ispirku peritonealne šupljine, u sjemenoj i ovarijalnoj tekućini, te na ikri. Prenosjen je virusa s pomoću ikre na potomstvo je redoviti put kojim se zaraza širi s jedne generacije na drugu. Bilo je pokušaja da se virus mehanički ispere s ikre i da ga se uništi s pomoću dezinfekcije površine jaja. Iako se tim postupcima moglo smanjiti količinu virusa, ipak ga je nešto ostalo i kod potomstva je došlo do pojave bolesti. Naime, dio virusa prodire u jaje gdje ga dezinfekcija ne može doseći, pa ni ispiranje ni dezinfekcija jaja ne sprečavaju prenošenje bolesti od zaraženih matica na potomstvo.

Ako se pastrve, nosioci virusa, nalaze u dovodnoj vodi kojom se opskrbljuju objekti za inkubaciju ikre i uzgoja mlada, bolest se redovito javlja i kod ikre koja potječe od zdravih matica. Mlade pastrve može se lako zaraziti i davanjem virusa u hrani ili injekcijom.

Inkubacija

Kada se sitan pastrvski mlad drži pri 12,5°C i hrani hranom koja sadržava IPN virus, on počinje ugibati od z. n. g. nakon 6 dana. Kod nešto većeg mlada i kod ovogodišnjaka inkubacija traje 8—10 dana. Ugibanja obično traju 4—6 tjedana. Pretpostavlja se da inkubacija pri 4°C iznosi najmanje nekoliko tjedana, a pri temperaturama iznad 13°C oko 3—5 dana.

Prijemljivost pojedinih vrsta za bolest

Od z. n. g. mogu oboljeti potočna pastrva, kalifornijska pastrva i neke njene podvrste, te kanadska pastrva (potočna zlatovčica). Gubici su obično nešto manji; kod potočne pastrve. Prijemljivost za bolest izrazito opada sa starošću. U odraslih primjereka bolest je teško ili nemoguće izazvati. Postoje opažanja da dobro uhranjene i brzo rastuće ribe lakše oboljevaju i da su kod njih gubici veći. Slične pojave zapažene su i kod nekih virusnih bolesti životinja.

Z. n. g. može se pojaviti u svako doba godine i pri svakoj temperaturi. Javlja se kadgod su prijemljive ribe izložene infekciji.

Rasprostranjenost

Bolest se javlja na cijelom sjevernoameričkom kontinentu (7) gdje se uzgajaju primljive vrste pastrva (USA, Kanada). Do 1965. godine smatralo se da bolesti nema na drugim kontinentima. Međutim te godine z. n. g. je prvi puta utvrđena u Evropi, i to u Francuskoj (1). U 1967. ustanovljeno je u Danskoj 10 slučajeva, a u 1968. godini 48 slučajeva bolesti (8). U 1969. ustanovljen je 1 slučaj u Švedskoj (5). Utvrđeno je, da je bolest u sve tri navedene države unesena s oplodjenim pastrvskim jajima. Pretpostavlja se da je z. n. g. u Dansku i Francusku prvo unesena iz SAD, a u Švedsku iz Danske. Nije jasno, da li se bolest javlja i u ostalim evropskim zemljama. Naime za njeno sigurno utvrđivanje potreban je dobro uređen virusološki laboratorij, a u Evropi ima veoma malo ribarskih ustanova koje ga imaju. U Italiji bolest još nije službeno prijavljena, iako postoji mogućnost da se i tamo javlja (4). Naime, kao što je već ranije izneseno, pri postavljanju dijagnoze samo na osnovu znakova bolesti kod riba i bez virusološke pretrage, z. n. g. je katkada teško razlikovati od nekih drugih bolesti.

U našoj zemlji pitanju z. n. g. nije do sada posvećivana veća pažnja. Stoga se ne može reći da li se ta bolest kod nas javlja ili ne. Ranijih godina bilo je na nekoliko pastrvskih ribogojilišta slučajeva masovnog ugibanja kalifornijske pastrve, no ni jednom nije izvršena virusološka pretraga jer za to tada nismo bili osposobljeni. Treba također istaći,

da se tek posljednjih godina u Evropi moglo posumnjati na postojanje ove bolesti. Nužno je da se u buduću kod svakog ugibanja mlada izvrši pretraga na IPN virus, a u svrhu diferencijalne dijagnoze i pretraga na uzročnika vrtičavosti te uzročnika heksamitijaze. Mikroskopskom i histološkom pretragom valja utvrditi ili isključiti oboljenje škruga koje može uzrokovati ugibanja pri ishrani neodgovarajućom granuliranom hranom.

Suzbijanje

1. Liječenje. Kao i gotovo sve bolesti koje su uzrokovane virusom, z. n. g. se za sada ne može uspješno liječiti nekim specifičnim lijekom koji bi djelovao na uzročnika. Pokušaj; da se tok bolesti ublaži i ugibanja smanje pomoću davanja antibiotika, vitamina ili drugih sastojaka u hrani, nisu bili uspješni.

2. Vakcinacija i uzgoj otpornih sojeva. Teoretski, pastrve bi se moglo kušati zaštititi od ove bolesti davanjem u hrani žive atenuirane virusne vakcine. No na tome se veoma malo radi; i izgledi na uspješno suzbijanje tim putem su slabi. Za to postoje tri razloga: a) bolest se katkada javlja čim pastrve počnu uzimati hranu, pa se u takvim slučajevima imunitet ne bi dospio razviti; b) pri niskim temperaturama vode koje obično vladaju u toku prvih tjedana života pastrva imunitet se razvija sporo i samo je djelomičan; c) samo dio pastrva koje prebole infekciju razvijaju imunitet, što također ukazuje da vakcinacija ima slabe izgleda na uspjeh.

Postoji mogućnost da se selekcijom uzgoje sojevi pastrva otpornih prema z. n. g. No taj dugotrajni posao izgleda da još nitko nije ni započeo.

3. Sprečavanje unošenja bolesti i njeno iskorjenjivanje. Sprečavanje pojave bolesti gdje je nema i njeno iskorjenjivanje tamo gdje već postoji, predstavlja za sada, a vjerovatno će tako ostati i u budućnosti, jedini zaista uspješni način borbe sa z. n. g.

U svrhu sprečavanja pojave bolesti i njenog unošenja treba uzgajati i razmnažati nezaražene pastrve koje su slobodne od IPN virusa u nezaraženoj vodi i spriječiti unošenje virusa na ribogojilište i u vodu na kojoj ono leži. U tu svrhu u nezaraženo ribogojilište smije ući samo takva ikra, riba, ribarski alat, oprema i prevozna sredstva koja su slobodna od IPN virusa.

Kad se na nekom ribogojilištu ustanovi z. n. g. treba razmotriti da li postoje uvjeti za njeno iskorjenjivanje. Bolest se može iskorjeniti samo na onim ribogojilištima koja dobivaju vodu ili iz izvora ili iz izvorskog dijela vodotoka u kojem se može uništiti sva riba. Naravno, najsigurnije će iskorjenjivanje uspjeti tamo gdje se voda dobiva iz kaptiranog izvora. Nizvodno od ribogojilišta valja postaviti branu koja će sprječavati prelaženje pastrva iz nizvodnog dijela vodotoka u ribogojilište ili u izvor. Ribogojilišta koja ispunjavaju navedene uvjete za iskorjenjivanje z. n. g. moraju zatim osigurati mlad, ikru ili matični materijal koji je slobodan od IPN virusa. Ako se takav materijal ne može nabaviti valja od vlastitog matičnog stada ili pastrva odabrati primjerke koji nisu kliconoše. Ovo odabiranje vrši se s pomoću virusoloških pretraga izmetina. Nakon nekoliko ponovljenih pretraga izdvaja se novo matično stado slobodno od virusa. Sve ostale ribe na ribogojilištu i uzvodnom dijelu vodotoka uništavaju se ili privode iskorišćenju. Zatim se izvrši temeljita, t.zv. završna dezinfekcija svih objekata, zemljišta, alata, i pribora. Tek nakon toga započinje se daljnji uzgoj.

U zemljama u kojima je z. n. g. veoma raširena, ribogojilišta na kojima ne postoje uvjeti za iskorjenjivanje bolesti i dalje uzgajaju pastrve. No preporučuje se, da takva ribogojilišta ne vrše mriješćenje i ne uzgajaju mlad, već da ga nabavljaju i da uzgajaju isključivo konzumnu ribu. Ako se na zaraženo ribogojilištu ipak mora vršiti mriješćenje i uz-

gajati mlad, valja izmriješiti dvostruko više ikre i nadati se da gubici neće premašiti 50%. Uzgoj mlada u takvim uvjetima je često nerentabilan, naročito kada se bolest pojavi kod mlada koji je već utrošio dosta hrane i kad su gubici visoki. U takvim uvjetima može se kušati smanjiti gubitke primjenom sanitarnih mjera, tj. dezinfekcijom i uklanjanjem bolesnih i uginulih primjeraka. No s tim mjerama se kod ove bolesti obično ne postiže mnogo.

Mjere koje bi trebalo poduzeti u našoj zemlji

Još 1964. godine naglašeno je na konferenciji o virusnim bolestima poiklotermnih kralješnjaka u New Yorku da bi trebalo spriječiti prenošenje virusnih bolesti pastrva s američkog kontinenta u Evropu i obratno (9). Mi smo 1966. upoznali našu ribarstvu javnost sa stanjem u Evropi i SAD na tom području u to vrijeme (2). U međuvremenu, z. n. g. uvrštena je u Međunarodni zoosanitarni kodeks Internacionalnog ureda za epizootije (3). Time se predlaže, da transporte salmonida ili njihove ikre prate svjedodžbe da ribe potječu s ribogojilišta na kojem ne vlada z. n. g., odnosno da je ikra dobivena od matica koje su slobodne od IPN virusa. Isto tako bi bilo logično da se na osnovu tog kodeksa vrši obavezna prijava svih slučajeva pojave bolesti. Do sada su samo neke zemlje donijele propise u vezi s tom bolešću. Naime, da bi se mogla izdati valjana svjedodžba potrebno je uz stalni nadzor ribogojilišta vršiti i virusološke pretrage u laboratoriju. Odgovarajuće osposobljeni laboratorija i stručnjaka ima u svijetu, pa i u Evropi vrlo malo. S druge strane, mnogi uzgajajući pastrva i veterinarski organi nisu u dovoljnoj mjeri upoznati s virusnim bolestima pastrva i posljedicama koje unošenje tih bolesti izaziva. Pri takvoj međunarodnoj situaciji neke zemlje kao na pr. Švedska, Norveška, Danska, Finska i SAD ili su privremeno posve zatvorile granice za uvoz salmonida i njihovih jaja ili priznaju samo svjedodžbe o zdravlju izdane po posebno odabranim ustanovama ili osobama koje su opremljene za utvrđivanje IPN i Egtved virusa.

Smatramo da bi kod nas prije poduzimanja bilo kakve akcije trebalo ustanoviti da li je IPN virus unesen u zemlju i u kojoj mjeri je raširen. U tu svrhu valjalo bi što prije virusološki pretražiti ne samo sve slučajeve ugibanja mlada nego i pastrve koje se koriste za dobivanje potomstva. Ovu akciju bi trebalo ubrzati, da se na osnovu rezultata može zaključiti šta je potrebno poduzeti. Zavod za biologiju i patologiju riba i pčela Veterinarskog fakulteta u Zagrebu opremljen je za taj posao, no ne može se prihvatiti tog zadatka bez osiguranja odgovarajućih materijalnih sredstava.

Stanje u našoj zemlji moglo bi biti trojako: 1. da bolesti u zemlji nema; 2. da bolest vlada svega na jednom do dva ribogojilišta, 3. da je bolest više raširena i da se javlja na većem broju ribogojilišta. Smatramo uputnim da iznesemo neke prijedloge kako bi u svakom od ta tri slučaja valjalo postupiti. Time želimo ukazati da se pravog stanja stvari ne treba plašiti i da je utvrđivanje tog stanja zaista u interesu proizvođača i cijele zajednice.

Ako se ustanovi da z. n. g. do sada nije unesena u našu zemlju valja naše proizvođače što hitnije i efikasnije zaštititi od te bolesti. U tu svrhu valjalo bi donijeti odgovarajući propis o uvozu pastrva i njihove ikre koji bi se provodio u život najužom suradnjom pastrvskih ribogojilišta s veterinarskim organima i s ovim zavodom. Ako se bolest utvrdi samo na jednom ili na dva ribogojilišta, bilo bi u interesu svih proizvođača da se sva riba, u koliko je to ikako moguće neškodljivo uništi i da se zatim provede završna dezinfekcija. Da bi se ovoj mjeri moglo prići, valjalo bi prvo ustanoviti da li je uništavanje sve ribe moguće, a zatim kod zajednice osigurati sredstva za naknadu gubitka. Ova sredstva trebalo bi osigurati iz fondova koji se koriste prilikom suzbijanja naročito opasnih stočnih zaraza. Smatramo da je slučaj da z. n. g. vlada samo na jednom do dva ribogojilišta najmanje vjerojatan jer su kod nas premještanja pastrva veoma česta. Mnogo je vjerojatnije da bolesti kod nas ili uopće nema ili da je veoma raširena.

Ako se ustanovi da bolest vlada na većem broju ribogojilišta, valjalo bi ih podijeliti na dvije skupine: a) ribogojilišta na kojima se iskorjenjivanje bolesti ili ne može provesti ili su izgledj na uspjeh slabi, i b) ribogojilišta na kojima se bolest može iskorjeniti. Na ribogojilištima skupine b) trebalo bi svu ribu prodati na tržištu i postupiti kako je već iznešeno pri opisu metode iskorjenjivanja bolesti. Ribogojilišta skupine a) prestala bi uzgajati mlad i proizvodila bi konzumne pastrve isključivo za domaće tržište. Riba s tih ribogojilišta ne bi bila pogodna za izvoz ni za nasadivanje otvorenih voda.

Kako o suzbijanju bolesti pastrva općenito, a i o suzbijanju z. n. g. ovisi ekonomski život ili polagana smrt svakog pastrvskog ribogojilišta, bilo bi zaista nužno da rješavanju ovog i svih drugih pitanja o bolestima svi zainteresirani pristupe s punom odgovornošću.

Popis literature

1. Besse, P., P. De Kinkelin: Bull. Acc. Vet. 38, 186, 1965. — 2. Fijan, N.: Ribarstvo Jugoslavije 21 (4), 70, 1966. — 3. Ghittino, P.: Les maladies contagieuses des poissons incluses dans le Code Zoosanitaire international de l'O. I. E. Paris 1968. — 4. Ghittino, P.: Riv. It. Piscic. Ittiopat. 4 (2), 31, 1969. — 5. Ljungberg, O.: Usmeno saopćenje. — 6. McGonigle, H. R.: Trans. Am. Fish. Soc. 70, 297, 1940. — 7. Parisot, T. J. et al.: Trans. Am. Fish. Soc. 92, 63, 1963. — 8. Vestergaard Jørgensen, P. E., F. Bregnballe: Nord. Vet. Med. 21, 142, 1969. — 9. Wolf, K.: Ann. N. Y. Acad. Sci. 126, 678, 1965. — 10. Wolf, K.: The Fish Viruses. Adv. Virus Res. 12, 35, New York 1966. — 11. Wolf, K., M. C. Quimby: Riv. It. Piscic. Ittiopat. 2 (4), 76, 1967. — 12. Wolf, K. et al.: Prog. Fish. Cult. 22, 64, 1960. — 13. Wolf, K. et al.: Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 104, 105, 1960. — 14. Wolf, K. et al.: Prog. Fish. Cult. 23, 61, 1961. — 15. Wolf, K. et al.: Virology 21, 317, 1963. — 16. Wood, E. M. et al.: A. M. A. Arch. Pathology 60, 26, 1955. — 17. Yasutake, W. T. et al.: Ann. N. Y. Acad. Sci. 126, 520, 1965.