

Antimikrobno tretiranje ikre i kalendar preventivne medikacije mlađa kalifornijske pastrve

N. Fijan i B. Kulišić

Izvod

U svrhu smanjenja vertikalnog prenošenja uzročnika bolesti provedeno je tretiranje oplodene ikre kalifornijske pastrve eritromicinom i jodnim dezinficijensom. Mlađ je preventivno liječen s nekoliko lijekova u određenim vremenskim razmacima.

UVOD

Jedan od osnovnih preduvjeta za uspješnu proizvodnju mlađa pastrvskih riba je provođenje ihtiosanitarnih mjera. Tim mjerama treba sprečavati prenošenje različitih uzročnika bolesti na mlađ, a ako su već preneseni treba nastojati što više smanjiti njihov broj. Tako se onemogućuje ili smanjuje opasnost od izbijanja bolesti i ugibanja. Za sprečavanje prenošenja uzročnika bolesti potrebno je poznavati puteve kojima oni mogu doći do mlađa.

Neki uzročnici trebaju za svoj razvoj još jednog domaćina ili međudomaćina i tek nakon tog razvoja postaju infektivni za ribu. Tako je već dugo poznato da uzročnici diplostomatoze, koji izazivaju ugibanje sitnih ribica odnosno sljepoću većih primjeraka, imaju složen ciklus životnog razvoja (ptica—puž—riba—ptica). Nedavno je otkriveno da uzročnik vrtičavosti pastrvica također treba međudomaćina i to crve tubifekse (Wolf i Markiw, 1984).

Većini uzročnika bolesti, riba je jedini domaćin na kojem ili u kojem se umnažaju. Ti uzročnici mogu biti preneseni na mlađ horizontalnim i vertikalnim putem. Pri horizontalnom prenošenju, uzročnici koje izlučuju bolesne ribe ili kliconoše mogu dospjeti do mlađa direktnim ili indirektnim putem. Direktno prenošenje se odvija s ribe na ribu u istom bazenu. Pri indirektnom prenošenju uzročnik dospjeva do mlađa putem vode, pribora, alata, opreme, radnika ili posjetioca, pticama, hranom itd.

Pri vertikalnom prenošenju uzročnici prelaze s matice na potomstvo putem spolnih produkata. Naime, matice koje su prije preboljele neku od infekcija mogu postati doživotne kliconoše, koje izlučuju uz-

ročnika spolnim produktima. Takav način prenošenja uzročnika odvija se samo kod nekoliko bolesti pastrva, kao npr. kod zarazne nekroze gušterače (ZNG), herpesviroze pastrva, furunkuloze i bakterijskog nefritisa. Posebno je teško spriječiti vertikalno prenošenje ZNG (Wolf i sur. 1968, Fijan i Giorgetti, 1978.) i bakterijskog nefritisa (Bullock i sur. 1978.).

Na sprečavanje pojave bolesti kod mlađa, tj. na mogućnosti prenošenja uzročnika, treba misliti od prvog koraka prema izgradnji ribogojilišta odnosno mrestilišta (izbor lokacije, planiranje tehnologije itd), pa do svakog koraka i pokreta pri dnevnom obavljanju poslova u mrestilištu. Sažeto, za postizanje idealnih ihtiosanitarnih uvjeta potrebno je osigurati pet niže iznesenih skupina uvjeta.

1. Opskrba inkubatora i bazena za mlađ vodom u kojoj nema primarnih uzročnika bolesti. To se postiže lociranjem objekata na izvorskoj ili bunarskoj vodi u kojoj nema ribe, odnosno sterilizacijom vode nekog većeg vodotoka u kojoj ima ribe.

2. Sprečavanje vertikalnog prenošenja bolesti. Zdravo matično stado u kojem nema kliconoša neprocjenjivo je blago. Takva matična stada su u svijetu veoma rijetka, a u našoj zemlji do sada nigdje nisu do kraja provedeni postupci koji bi to mogli osigurati. Posebno su opasna matična stada s kliconošama uzročnika bakterijskog nefritisa, jer je ta bolest tvrdokorna i može nanijeti velike štete. Bolest je raširena u svim zemljama s uzgojem kalifornijske pastrve i lososa, a prisutna je dugo vremena i u našoj zemlji (Fijan, 1977). Liječenje bakterijskog nefritisa nije uvijek do kraja uspješno, a izlječene ribe često ostaju kliconoše.

Vertikalno prenošenje uzročnika bolesti može se smanjiti ili spriječiti tretiranjem ikre dezinficijensima i lijekovima. Ta mjera provodi se u sve širem opsegu u svijetu, pa ju je potrebno primijeniti i u nas. Za dezinfekciju se može koristiti više sredstava. Posljednjih 10—15 godina najviše se koristi organski vezani jod, koji djeluje kako na viruse tako i na bakterijske. Za sprečavanje vertikalnog prenošenja bakterijskog nefritisa, Amos (1977) je razradio metodu kupanja ikre u fazi bubrenja, u eritromicinu. Djelotvornost te mjere provjerava se posljednjih godina širom SAD i u drugim zemljama.

3. Provođenje dezinfekcije te izolacija valionice i prostorija za uzgoj mlađa, uključujući sav alat i opremu. Ove mjere obuhvaćaju: a) odstranjivanje ribe

Dr Nikola Fijan, redovni profesor, Zavoda za biologiju i patologiju riba i pčela Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu.

Mr Božidar Kulišić, PZ «Orlić—Markovac», Pastrvsko ribogojilište Knin.

Referat održan na Stručnoj sekciji za pastrvsko ribogojstvo u Kninu 17—19. 3. 1986.

te mehaničko čišćenje i dezinfekciju (npr. sa 200 mg/l aktivnog klora kroz 1 sat) svih prostorija mrestilišta, inkubatora, bazena, alata i opreme prije početka sezone mriješćenja; b) postavljanje dezinfekcije barijere i dezinfekciju svega što može direktno ili indirektno prenjeti uzročnike bolesti; c) smanjivanje broja radnika kvalificiranih za poslove u mrestilištu na minimum, te smanjivanje ili zabrana ulaska drugim radnicima i posjetiocima.

4. Sprečavanje križanja puteva. To znači da se npr. ne smije mriještitati matice u prostoriji gdje će se inkubirati ikra ili uzgajati mlađ, da ista osoba ne smije mriještitati ribu i stavljati oplodenu ikru u inkubator, da svaki bazen za mlađ mora imati svoju četku i drugi pribor za čišćenje koji treba povremeno dezinficirati itd.

5. Provoditi profilaktičku medikaciju, tj. u određenim vremenskim razmacima primijeniti ljekovita sredstva za sprečavanje umnažanja određenih uzročnika i pojave bolesti. Pri intenzivnom uzgoju, čak i kad se idealno provode prve četiri skupine mjera, ipak u većinu objekata mogu prodrijeti uzročnici nekih bolesti (npr. bakterije koje se nalaze u svakoj vodi, neki protozoi i td.) pa se medikacijom može znatno smanjiti mortalitet mlađa. Prvi autor ovog rada je pred desetak godina razradio shemu primjene nekoliko lijekova u određenom redosljedu, koju je Zavad za biologiju i patologiju riba i pčela Veterinarskog fakulteta u Zagrebu dao na korištenje nekim pastrovskim ribogojilištima. Ti lijekovi su usmjereni protiv kostijaze (sol, formalin), bakterijske bolesti škrga (omnisan, formalin) i heksamitijaze (efloran). Slični kalendar razrađeni su i primjenjuju se i u nekim drugim zemljama.

Svrha našeg rada bila je smanjiti broj uzročnika nekih bolesti pri uzgoju mlađa u pastrovskom ribogojilištu u Kninu s pomoću tretiranja ikre eritromicinom i organski vezanim jodom, te primjenom kalendara tretiranja mlađa. Služio je i za izobrazbu radnika na tim poslovima te nije imao eksperimentalni karakter.

VLASTITI RAD

Materijal u ovom radu bila je oplodena ikra kalifornijske pastve i izvaljeni mlađ do uzrasta od 8 cm. Ikru smo dobivali od matice pod narkozom u svrhu što manjeg fizičkog oštećenja.

Matice smo narkotizirali 20%-tnom otopinom Aethilii peraaminobenzoas u acetonu. Dodavali smo 0,6 ml ove otopine na 1 lit. vode. U nedostatku ovog sredstva, matice smo narkotizirali sa ugljičnom kiselinom po Postu (1979). Kao matične otopine upotrebljavali smo 6,75%-tnu otopinu natrijevog bikarbonata i 3,95%-tnu otopinu sumporne kiseline. Kako je terapijska doza za narkozu između 150 i 600 miligrama oslobođene ugljične kiseline, mi smo se opredjelili za koncentraciju od 400 mg/l.

Uz unaprijed željenu koncentraciju i količinu kupke, potrebnu količinu matičnih otopina odredili smo formulom:

$$400 \times 20 : 50 = 160 \text{ ml}$$

400 = željena količina oslobođene ugljične kiseline u miligramima

20 = željeni volumen kupke u litrama

160 = matična otopina (160 ml 6,75% NaHCO_3 + 16 ml 3,95% H_2SO_4)

Nakon oplodnje i ispiranja, ikru u fazi bubrenja smo podvrgavali antibakterijskoj kupki Eritromicin-sulfatom po metodi Amosa (1977). Koncentracija eritromicin-sulfata bila je 2 mg po litri vode. Na ikru smo nalijevali tri puta veći volumen vode od volumena ikre. Ikra je u otopini ostajala jedan sat uz povremeno lagano miješanje. Nakon toga smo otopinu odljevali, upotrebljavali je za slijedeću kupku, ali samo tokom istog dana.

Antivirusnu kupku provodili smo Jodogalom (Galenika) u koncentraciji od 50 mg aktivnog Joda/litru vode. Kako je otopina Jodogala sadržavala 1,75% aktivnog joda na 100 grama, to smo za koncentraciju od 50 mg/lit vode došli do potrebne količine Jodogala formulom:

$$X + (100 \times 0,005) : 1,75 = 0,28$$

X = potrebna količina grama Jodogala za 100 grama otopine da se dobije željena koncentracija od 50 mg/l lit.

To znači da smo svakoj litri vode oduzimali 2,85 grama i dodavali tu količinu Jodogala.

Prije dodavanja Jodogala mjerili smo pH vode elektronskim digitalnim pH-metrom. pH naše vode bio je 7,5.

Nakon dodavanja Jodogala vodi otopina je postajala blago žute boje, slična boji jantara. Poslije toga smo ponovo mjerili pH i dodavali 0,1% NaOH dok se pH nije izjednačio sa pH vode, tj. 7,5.

Ikri smo dodavali otopinu u 10 puta većem omjeru. Ikra je u otopini ostajala 5 minuta uz lagano miješanje. Ista otopina bila je upotrebljiva sve dok je zadržavala jednaku boju sličnu jantaru.

Okvako tretiranu ikru polagali smo u vertikalne višeslojne inkubatore prethodno dezinficirane Omnisanom. U vertikalnim inkubatorima ikru smo tretirali do pojave očiju antifungicidnom otopinom malahitnog zelenila.

Osnovnu otopinu pravili smo u 0,5%-tnoj koncentraciji u vodi zagrijanoj na 80°C, jer se pri toj temperaturi vode malahit bolje otapa.

Svaki treći dan protok u vertikalnim inkubatorima podešavali bi na 10 litara vode u minuti, a istjecanje otopine malahitnog zelenila kroz sistem protoka na 10 ml u minuti. Malahit smo davali u količini od 450 mililitara kroz 45 minuta preko infuzionih boca i setova odbačenih u bolnici nakon upotrebe.

Na ovaj način smo u sistemu protoke postizali koncentraciju od 1 : 200.000. Preživljavanja ikre zanosilo je oko 90%.

Nakon pojave očiju ikru smo polagali na selektivno perforirana aluminijska sita u bazene namijenjene za prvu fazu rasta ribljeg mlada, tj. do 8 cm. Perforacije od 25 mm x 4 mm omogućavale su da izvaljene larve propadaju na dno bazena i da neizvaljena i uginula ikra ostane na sitima. Podizanjem sita, na dnu bazena ostajale su samo larve.

Dubina vode u bazenima bila je 40 cm u ovoj fazi i održavana je dok sve ribe nisu isplivale na površinu.

Nakon završetka valjenja, tj. peti dan ribu smo kupali u 2,5%-tnoj otopini kuhinjske soli kroz 10 minuta.

Dotok vode u bazen bi zaustavili i na proračunatu količinu prisutne vode dodavali otopinu kuhinjske soli da se postigne željena koncentracija. Otopinu kuhinjske soli bi ravnomjerno prskali cijelom površinom bazena i zatim sve lagano izmiješali.

Kalendar profilaktičkih mjera primjenjivali smo kako slijedi, uz napomene: 1. Kod tretiranja Omnisanom radili smo kroz 1 sat sa zaustavljanjem protoke, ali nije bila potrebna dopunska aeracija radi visoke koncentracije kisika u vodi i kvalitete vode; 2. Potreba prvog davanja Eflorana u našoj vodi bila je 27. dan nakon početka ishrane, jer se u to vrijeme javlja prvi napod heksamitijaze u našoj vodi. Po analogiji navedenog kalendara vršili smo daljnje tretiranje Efloranom.

Sve kemikalije za sve kupke prethodno bi izmiješali sa vodom izvan bazena tako da se kod ravnomjernog rasporeda u bazenu odmah na početku dobije željena koncentracija.

DISKUSIJA

Uvođenjem antibakterijskog i antivirnog tretiranja ikre smanjena je značajno mogućnost vertikalnog prenošenja virusnih i bakterijskih bolesti na mlad. Primjenom medikacijskog kalendara, kojeg smo po potrebi i produžavali, umanjili smo opseg i štetno djelovanje horizontalnog prenošenja uzročnika bakterijskih i parazitarnih bolesti. Ovakve medikacije su važna karika u lancu mjera za dovođenje jednog pastvrskog ribogojilišta do željenog stupnja zdravstvene zaštite ribe. Time je doprineseno povećanje proizvodnje mlada na ribogojilištu.

Radom su stečena iskustva koja omogućuju poboljšanja u radu na sprečavanju bolesti i gubitaka u mlada te primjenu rezultata najnovijih istraživanja. Na primjer, nova saznanja o vertikalnom prenošenju bakterijskog nefriza (Bruno i Munro, 1986) pokazuju da neke od provedenih medikacija treba nadopuniti i uvesti nove.

SAŽETAK

Opisana je svrha i način provođenja tretiranja ikre eritromicinom i jodnim dezinficijensom te medikacijskog kalendara za sprečavanje parazitarnih i bakterijskih bolesti mlada. Učinak tretiranja doprinio je smanjivanju šteta od bakterijskih i parazitarnih bolesti u proizvodnji.

Redni broj	Vrijeme tretiranja	Tretiranje
1.	Dani nakon valjenja 1 — 5	Kupka u 2,5% soli (NaCl) kroz 10 minuta
2.	Dani nakon resorp. žum. vreć. 5	Kupka Formalin (oko 35%) 1 : 4000 (250 ml/1000 lit) kroz 15 min. pri temp. do 10°C ili 1 : 5000 (200 ml/1000 lit) pri temp. od 10 — 15°C
3.	15	Formalin
4.	20	Efloran (Krka), 375 mg/l kg hrane 1 dan
5.	25	Kupka Omnisan (Pliva) 20 promil. (20 ml/1000 lit) kroz 1 sat
6.	32	Formalin
7.	34	Omnisan
8.	35	Efloran
9.	44	Omnisan
10.	48	Formalin
11.	50	Efloran
12.	58	Formalin
13.	62	Omnisan
14.	65	Efloran
15.	70	Formalin
16.	78	Omnisan
17.	90	Formalin

Summary

ANTIMICROBE TREATMENT OF FISH-ROE AND PREVENTION CALENDAR OF MEDICINE FOR RAINBOW TROUT FRY

Described is the purpose and methods of production of treating fish-roe with erythromycin and iodine disinfectant and a calendar of medical treatment for protection against parasitic and bacterial diseases of fish fry. This treatment contributed to a decrease in damage from bacterial and parasitic diseases in production.

LITERATURA

Amos K. H. (1977): Control of bacterial kidney disease in spring chinook salmon. Magistarski rad, Univerzitet Idaho, Moscow, USA.

Bruno D. W., Munro A. L. S. (1986): Observations on *Renibacterium salmoninarum* and the salmonid egg. *Dis. aquat. Org.* 1, 2, 83—87.

Bullock G. L., Stuckey, H. M., Mulcahy D. (1978): Corinebacterial kidney disease: egg transmission following iodophore disinfection. *Fish Health News* 7, 51—52.

Fijan N. (1977): Corynebacteriosis (Kidney disease, Dee disease) in Yugoslavia. *Bull. Off. int. Epiz.* 87, 5—6, 509.

Fijan N., Giorgetti, G. (1978): Infectious pancreatic necrosis: isolation of virus from eyed eggs of rainbow trout *Salmo gairdneri* Richardson. *J. Fish. Dis.* 1, 3, 269—270.

Post G. (1979): Carbonic acid anesthesia for aquatic organisms. *Prog. Fish Culturist* 41, 3, 142—144.

Wolf K., Markiw M. (1984): Biology contravenes taxonomy in the Myxozoa: new discoveries show alternation of invertebrate and vertebrate hosts. *Science* 255, 1449—1452.

Wolf K., Quimby M. C., Carlson C. P., Bullock G. L. (1968): Infectious pancreatic necrosis: selection of virus-free stock from a population of carrier trout. *J. Fish. Res. Board Can.* 25, 2, 383—391.

Primljeno, 13. 10. 1985.