

TADEUSZ PYCHYŃSKI, TERESA MALANOWSKA, MIECZYŚLAW KOZŁOWSKI

Tło bakteryjne branchione krozy karpi

Zakład Higieny Weterynaryjnej ul. Proletariacka 2/6, 93-569 Łódź

Wraz z pierwszym okresem wiosnego ocieplenia notuje się wzrost liczby zachorowań karpi, przy czym obok posocznicy są to najczęściej martwicze zapalenia skrzelii, występujące u ryb w różnym wieku, najczęściej jednak u narybku. Dalsze zwyczajki temperatury wody również przynoszą liczne przypadki tego schorzenia, co z kolei powoduje duże straty w obsadach karpi w stawach hodowlanych. Objawy branchione krozy i śnięcia ryb stwierdza się nawet późną jesienią, a także na przedwiośniu, kiedy ryby znajdują się jeszcze pod lodem.

Na temat etiologii martwiczego zapalenia skrzelii istnieje wiele przypuszczeń, lecz na plan pierwszy wysuwa się rola niewłaściwych warunków środowiskowych: zanieczyszczenia stawów środkami chemicznymi, zakwaszenie bądź alkalizacja wody i związana z nią duża ilość wolnego amoniaku, powodującego intoksykację ryb (2). Poza szkodliwym działaniem wymienionych czynników zdarzają się jednakże przypadki martwiczego zapalenia skrzelii w stawach wolnych od zanieczyszczeń, bądź zanieczyszczonych tylko w minimalnym stopniu. Badania laboratoryjne skrzelii takich ryb wykazywały obecność pasożytów, natomiast wykazywały bakterie szeroko rozpowszechnione w przyrodzie — laseczki rodzaju *Bacillus*, rzadziej pałeczki rodzaju *Aeromonas*, a sporadycznie grzyby.

Prowadzone przez kilka lat obserwacje skłoniły do podjęcia badań mających na celu lepsze poznanie czynników bakteryjnych w aspekcie ich patogenego działania przy branchione krozie karpi hodowlanych.

Materiał i metody

Materiałem do badań było 17 sztuk narybku i kroczków karpia z różnych obsad stawowych dotkniętych martwiczym zapaleniem skrzelii, ponadto 470 sztuk K₁ i K₂ także z różnych obsad nie wykazujących klinicznie objawów chorobowych.

Ryby umieszczano w basenach o pojemności 1000 l z wymienną wodą wodociągową. Temperatura wody utrzymywała się w granicach 13–20°C, pH 7,2 — 7,5. Zawartość tlenu kontrolowano metodą Winklera. Przez okres trwania badań ryby nie były karmione. Po 3-4 dniowym okresie adaptacji ryby ze zmianami martwiczymi w skrzelach uśmiercano i sekcjowano. Materiał pobrany z tkanki skrzelowej, wątrobo-trzustki i nerek wysiewano na podłoża bakteriologiczne stałe — agar, agar z krwią, Endo, Chapmanna, Sabourauda i płynne — Wrzoska, SF i Müller-Kauffmanna. Posiewy odczytywano po 24 i 48 godzinach inkubacji w temperaturze 20° i 37°C. Równocześnie analogiczne badania przeprowadzono z 70 rybami nie wykazującymi klinicznych objawów chorobowych. W razie potrzeby, dla identyfikacji drobnoustrojów, wykonywano testy biochemiczne na rzędach cukrowych.

Jednocześnie przeprowadzono próby zakażenia skrzelii karpi w warunkach laboratoryjnych. Do tych badań użyto 10 grup po 30 sztuk kroczków karpia

z obsad stawowych wolnych od chorób bakteryjnych i pasożytniczych. Z każdej badanej grupy wyłączano 10 ryb kontrolnych, które przetrzymywano osobno, lecz w identycznych warunkach środowiskowych. 10 ryb zakażano wcierając im na obrzeża skrzelii po około 10⁶ bakterii wyizolowanych ze skrzelii ryb dotkniętych branchione krozą. 10 ryb umieszczano w zbiornikach z wodą, do której na każde 100 litrów dodawano po około 10⁶ tych samych drobnoustrojów), (dla potwierdzenia obecności żywych komórek bakteryjnych w wodzie wysiewano jej próby na pożywkę agarową), a po 5–7 dniach, gdy u zakażonych w ten sposób ryb występowały już charakterystyczne objawy martwiczego zapalenia skrzelii, dosadzano do nich po 5 ryb zdrowych. Dla potwierdzenia ewentualnego działania na te ryby jądów bakteryjnych wykonano następujące doświadczenia: 24-godziną hodowlę bulionową laseczek tlenowych wyizolowanych ze skrzelii chorych ryb przesączano przez filtr Seitz. 500 ml przesączu pozbawionego komórek bakteryjnych dodawano do 100 ml wody, w której następnie umieszczano ryby zdrowe pochodzące z różnych obsad stawowych. Badania takie powtórzono 4-krotnie używając łącznie 35 kroczków karpia. Kontrolę stanowiło 27 ryb przebywających w czystej wodzie i 18 ryb — w wodzie z dodatkiem jałowego bulionu mięsnego (na 100 l wody — 500 ml bulionu).

Wyniki i omówienie

Ze skrzelii 170 badanych chorych ryb każdorazowo izolowano laseczki tlenowe zarodnikujące. Jest to zgodne ze spostrzeżeniami Pilerskiego (1), który w preparatach mikroskopowych z tkanki skrzelowej ryb chorych na branchione krozę stwierdzał obecność „laseczkowatych bakterii”. Ponadto w 10 przypadkach wyizolowano pojedyncze kolonie pałeczek rodzaju *Aeromonas* i w 4 — grzyby rodzaju *Saprolegnia*. Posiewy z narządów wewnętrznych 82 ryb były jałowe, w 72 przypadkach stwierdzono wzrost drobnoustrojów rodzaju *Aeromonas*, a w pozostałych 16 — wzrost kolonii mieszananych, najczęściej pałeczek rodzaju *Aeromonas* i ziarniaków.

U 70 ryb kontrolnych nie wykazujących klinicznych objawów chorobowych w posiewach ze skrzelii w 28 przypadkach brak było wzrostu bakterii, w 25 otrzymano wzrost pojedynczych kolonii pałeczek rodzaju *Aeromonas* i w 17 przypadkach wzrost różnych pojedynczych kolonii, głównie ziarniaków i laseczek tlenowych. Posiewy z wątrobo-trzustek i nerek tych ryb w 56% przypadkach były jałowe, u pozostałych stwierdzono wzrost kolonii mieszananych, jak w grupie ryb chorych. Porównanie wyników badań bakteriologicznych ryb chorych i kontrolnych wykazało w skrzelach pierwszej grupy obecność laseczek rodzaju *Bacillus*, które u sztuk klinicznie zdrowych występowały tylko sporadycznie. U ryb z objawami branchione krozy stwierdzono również wyższy stopień zakażenia drobnoustrojami wątrobo-trzustek i nerek.

Wśród izolowanych ze skrzelii laseczek tlenowych występowały z reguły 2 ich rodzaje, a przeprowadzone badania wykazały, iż swoimi cechami biochemicznymi odpowiadały one *Bacillus cereus* i *Bacillus subtilis*. Zgorzelinowe zapalenie skrzelii u ryb po wtarceniu mieszanej kultury bakteryjnej obu gatunków laseczek tlenowych następowało w ciągu 24 godzin. Proces ten przebiegał jeszcze szybciej przy wzroście temperatury wody do 18—20°C. Około 10% narybku i kroczków karpia po upływie 4—6 dni od zakażenia ginęła. U pozostałych schorzenie przybierało formę przewlekłą i po 12—14 dniach kończyło się zwykle samowyleczeniem. Wszystkie ryby obsadzone w zbiornikach z wodą zainfekowaną drobnoustrojami rodzaju *Bacillus* wykazywały stan zapalny skrzelii zwykle po upływie 5—7 dni w zależności od temperatury wody, ale śnięcia występowały tylko u około 5% ryb. Pierwszym objawem martwiczego zapalenia skrzelii był ich obrzęk, następnie przekrwienie i zmiana barwy z jasnej na ciemnoczerwona. Wytwarzały się przy tym duże ilości gęstego śluzu, który odrywał się od skrzelii i opadał na dno akwarium. W dalszym ciągu tkanka skrzelowa ulegała martwicy i przybierając zabarwienie brązowe, odpadała, odsłaniając na obrzeżach części chrzęstne. W tym czasie ryby kontrolne nie wykazywały objawów chorobowych. Ryby zdrowe umieszczone w wodzie zakażonej, w której przebywały sztuki z branchionekrozą wywołaną laseczkami tlenowymi, zachowywały się w sposób charakterystyczny. Wszystkie, natychmiast po zanurzeniu wykazywały gwałtowny niepokój, manifestujący się szybkim, nieskoordynowanym pływanym na różnych głębokościach, drżenie mięśni, a wokół wieczka skrzelowego ukazywały się strzępki gęstego śluzu, który odpadał i osiadał na dnie. Już po upływie 5—10 minut ryby układały się na boku i opadały na dno zbiornika, a po 30—60 minutach ginęły, podczas gdy u sztuk z branchionekrozą nie obserwowano spotęgowania objawów chorobowych. Identycznie też zachowywały się ryby w kolejnych badaniach, gdy obsadzono je w wodzie, do której dodano przesącz hodowli bulionowej *Bacillus cereus* i *Bacillus subtilis* pozbawiony komórek bakteryjnych. Ryby, które przed spadnięciem na dno basenu przeniesiono do czystej nie zakażonej wody już na 1—2 godzinach wracały do normy, jednak dalsze obserwacje wykazały, że większość z nich zapadała na martwicze zapalenie skrzelii w formie przewlekłej. Śnięcia występowały tylko w pojedynczych przypadkach. Grupa ryb kontrolnych w czystej wodzie i w wodzie z dodatkiem jałowego bulionu podczas 7-dniowej obserwacji nie wykazywała objawów chorobowych.

Wnioski

1. Ze skrzelii ryb dotkniętych branchionekrozą izolowano dwa rodzaje laseczek tlenowych

zarodnikujących, które swoimi cechami biochemicznymi odpowiadały *Bacillus cereus* i *Bacillus subtilis*.

2. Pojawienie się charakterystycznych dla branchionekrozy objawów u ryb sztucznie zakażonych mieszaniną 2 gatunków drobnoustrojów rodzaju *Bacillus* izolowanych od sztuk chorych, może świadczyć o zakażnej etiologii tego schorzenia.

3. Gwałtowne śnięcia ryb wpuszczonych do wody, do której dodano pozbawiony komórek bakteryjnych przesącz hodowli bulionowej laseczek tlenowych nasuwają podejrzenie silnego działania jądów produkowanych przez te bakterie.

4. Martwicze zapalenie skrzelii na tle zakażenia laseczkami zarodnikującymi może przebiegać w środowisku wodnym wolnym od zanieczyszczeń chemicznych przy pH 7,2—7,5 i temperaturze od 13—20°C.

Piśmiennictwo

1. Pilarski A.: Acta Hydrobiol. 19, 9, 1977.
2. Prost M.: Choroby ryb. PWRiL, 1980.

Adres autora: dr Tadeusz Pychyński, ul. Sienkiewicza 147a m. 10, 90-302 Łódź.

Цыхынський Т., Мальяновская Т., Козловский М. — Бактериальный фон бранхионекроза карпов.

Провели исследования, имеющие целью распознавание бактериальных факторов, которые могут появляться при бранхионекрозе разводных карпов. Материал для исследования составляло 170 мальков и двухлеток карпа из разных прудовых посадок, больных некротическим воспалением жабер, и 470 шт. K₁ и K₂, не показывающих симптомов болезни. Из жабер больных рыб изолировали аэробные спорулирующие палочки, соответствовавшие своими биохимическими свойствами *Bac. cereus* и *Bac. subtilis*. Этими микроорганизмами инфицировали здоровых рыб через втирание им бактериальной культуры на края жабер или через помещение их в —Med. Wet. nr 12 zam. 1906 rosyjski szp. 2 инфицированной воде. В первом случае болезненные симптомы отмечались уже через 24 часа, во втором — через 5—7 дней. Здоровые двухлетки, подсаживаемые рыбам с бранхионекрозом, вызванным *Bac. cereus* и *Bac. subtilis*, или помещаемые в воду, к которой прибавили фильтрат бульонной культуры этих бактерий, погибали в течение 1 часа, что может внушать подозрение в сильном действии токсинов, образуемых этими микроорганизмами.

Pychyński T., Malanowska T., Kozłowski M. — Branchianecrosis of carps.

The purpose of the work was to determine the bacterial flora which might appear in the case of carp branchianecrosis. The examinations were performed on 170 specimens of carp fries of different origin suffering from inflammation of gills and on 470 pieces without any clinical signs. Of the diseased fish *Bac. cereus* and *Bac. subtilis* were isolated. These bacterial cells were used to infect normal fish by rubbing of bacterial culture into the peripheral parts of gills or by dipping the fish into infected water. In the first case clinical signs occurred after 24 hours, in the second — after 5—7 days. The normal fries in the presence of diseased fish due to *B. cereus* or *B. subtilis*, or placed in water with filtrates of bacterial cultures died within one hour.