

Uticaj divljeg soja bakterije *Escherichia coli* na patomorfološke promene kod klenića (*Leuciscus leuciscus*)

Usled fekalnog zagađenja vode može doći do promena u građi i funkciji različitih organskih sistema kod riba. Ovim eksperimentom je ispitivan uticaj koji povećana koncentracija bakterija Escherichia coli u vodi ima na kleniće (Leuciscus leuciscus). Pregledom primeraka eksperimentalne grupe utvrđeno je prisustvo niza promena od kojih su najznačajnije: povećano lučenje sluzi, zapaljenje škrge i creva, kao i oštećenja jetrenog parenhima. Na kontrolnoj grupi ispitivanih primeraka broj promena je mnogo manji ili promene uopšte nisu primećene. Iz rezultata eksperimenta je zaključeno da povećana koncentracija bakterija divljeg soja E. coli u vodi može uticati na pojavu patomorfoloških promena kod klenića (L. leuciscus).

Uvod

Povećanje zagađenja predstavlja sve značajniji problem u vodenim ekosistemima. Fekalno zagađenje čine izlučevine hominidnog i animalnog porekla, koje sadrže veliki broj koliformnih bakterija. Jedna od važnih karakteristika fekalnog zagađenja je da se pojavljuje iznenadno u intervalima neodređenog trajanja i u različitim koncentracijama.

Escherichia coli je vrsta koliformnih bakterija zastupljena u debelom crevu čoveka i životinja. Pošto nije normalni stanovnik voda, *E. coli* predstavlja indikatora fekalne kontaminacije.

Usled povećanja zagađenosti vode može doći do različitih promena na vodenim organizmima, među kojima i do poremećaja u građi i funkciji različitih organskih sistema kod riba. Cilj ovog eksperimenta je da utvrdi da li povećanje koncentracije bakterija divljeg soja *E. coli* utiče na patomorfološke promene kod klenića (*Leuciscus leuciscus*).

Materijal i metode

Za eksperiment su korišteni akvarijumi zapremine 15 l, koji su do 2/3 zapremine napunjeni prokuvanom vodom iz rečice Banje, a ostatak je dopunjen destilovanom vodom. U vodu je posle prokuvavanja i hlađenja

Marko Cvitkovic (1976),
Beograd, Savska 8,
učenik IV razreda
gimnazije „Mihajlo
Pupin”, Beograd

MENTOR:
Dušan Palić, student
Veterinarskog fakulteta
u Beogradu

dodat troprocentni rastvor vodonik peroksida, zbog dezinfekcije, i to u količini od 10 ml na jedan litar vode. Aeracija akvarijuma vršena je pumpama za vazduh marke „Mikroprocessor AEN-3” snage 3 W. Izlov riba korištenih u eksperimentu vršen je aparatom za elektro ribolov marke „Sever Subotica”, snage 1 KW, napona 110 V, jačine 4.3 A i frekvencije struje od 50 Hz. Identifikacija ulovljenih primeraka vršena je pomoću ključa [8]. Samo izlovljavanje je vršeno na rečicama Banji i Pocibravi. Ulovljeno je ukupno dvadeset primeraka. Ribe su 48 časova čuvane u akvarijumu od 30 l, sa čistom vodom. Pre prenošenja u eksperimentalne akvarijume izvršeno je kupanje ribe u trajanju od dvadeset minuta u rastvoru malahit zelenog koncentracije 1:50000, zbog dezinfekcije riba. Eksperiment je vršen na dve grupe riba, od kojih je jedna grupa bila kontrolna a druga eksperimentalna. Broj riba u grupama iznosio je po šest primeraka, približne veličine od 6-12 cm. Zasejavanje eksperimentalnog akvarijuma izvršeno je sa 8 ml suspenzije prekonocne kulture divljeg soja *E. coli*, prosečne koncentracije od 5×10^8 bakterija/ml. *E. coli* je izolovana iz Petničkog jezera standardnim mikrobiološkim metodama. 48 časova nakon zasejavanja divljeg soja *E. coli* u eksperimentalni akvarijum izvršena je disekcija riba, rađena po standardnoj metodi [5]. Po početku žrtvovanja ribe uzet je mikrobiološki uzorak vode iz oba akvarijuma i određen je ukupan broj bakterija. Secirano je po šest primeraka iz kontrolne i eksperimentalne grupe veiličine od 5.5 - 12.8 cm. Disekcija je vršena pod binokularnom lupom marke „MBS-9”, uveličanja od 0.6 do 7 puta. Napravljeni su nativni mikroskopski preparati kože, škraga, bubrega, creva, slezine i jetre u fiziološkom rastvoru, po standardnoj metodi [4]. Nativni preparati pregledani su pod mikroskopom marke „PZO STUDAR M” pod uveličanjem od 50 do 400 puta.

Rezultati

Mikrobiološkom analizom vode iz akvarijuma dobijeno je da je koncentracija bakterija u kontrolnom akvarijumu u vreme žrtvovanja riba iznosila 11260 bakterija/ml, dok je u eksperimentalnom ona iznosila 1730000 bakterija/ml.

Patomorfološkom sekcijom ispitivanih primeraka dobijeni su sledeći rezultati: Pregledom četiri ribe, od ukupno šest iz kontrolne grupe, nisu utvrđene značajnije patomorfološke promene. Na preostala dva primerka primećene su promene manjeg intenziteta, i to: na jednom preparatu iz kontrolne grupe pregledom je, na škragama sa leve strane, ustanovljen otok, crvenilo i ispunjenost krvlju, kao i manja oštećenja jetrinog parenhima, dok su ostali nalazi u okviru normalnih. Makroskopskim pregledom drugog primerka iz kontrolne grupe uočena je crvena boja creva, dok je pri pregledu mikroskopskog preparata primećena iniciranje krvnih sudova u *tunica mucosae* i *tunica muscularis*, kao i oštećenje parenhima jetre izazvano protozoalnim parazitima.

Pregledom riba iz eksperimentalne grupe utvrđeni su teži poremećaji na većem broju primeraka. Nađene promene obuhvataju:

PROMENE NA KOŽI: Na svim primercima je primećeno nekoliko puta povećana produkcija sluzi. Sluz je zamućena. Pregledom mikroskopskog preparata kože ustanovljen je povećan broj ćelija limfocitnog sistema.

PROMENE NA ŠKRĞAMA: Škrge su otečene, crvene boje i ispunjene krvlju kod svih primeraka. Mikroskopskim pregledom, utvrđena je eritrodijapedeza i edem škržnih lamela.

Na pregledanim spoljašnjim otvorima ustanovljeno je: **na anusu** otok i crvenilo kod tri primerka; **na ustima** prisustvo tačkastih krvarenja na sluzokoži ždrela i usne duplje kod tri primerka; **na nosnim otvorima** je kod jednog primerka primećeno pojačano lučenje bistrog sekreta.

Promene na unutrašnjim organima obuhvataju:

PROMENE NA SEROZI: Makroskopskim pregledom svih primeraka ustanovljena je pojačana prokrvljenost seroze sa sporadičnim tačkastim krvarenjem.

PROMENE NA CREVU: Kod četiri primerka makroskopskim pregledom je primećeno da je crevo crvenkaste boje, ispunjeno gnojnim sluzavim sadržajem žute boje. Pregledom mikroskopskog preparata ustanovljena je iniciranost krvnih sudova u *tunica mucosae* i *tunica muscularis* kod dva primerka, dok je iniciranost krvnih sudova samo u *tunica mucosae* primećena kod dva primerka.

PROMENE NA JETRI: Na dva primerka makroskopskim pregledom su primećena bela polja u parenhimu jetre veličine 0.3 - 0.5 mm (manja i do 0.1 mm). Takođe na dva primerka je utvrđena otečena jetra trošne konzistencije koja se teško odvaja od ostalih organa. Pregledom mikroskopskog preparata ustanovljeno je oštećenje jetrinog parenhima na četiri primerka, kao i sporadična tačkasta krvarenja.

PROMENE NA SLEZINI: Na jednom primerku je primećeno prisustvo melanomakrofagnih čvorića.

Promene na bubregu nisu ustanovljene na pregledanim primercima.

Diskusija

Patomorfološke promene nastale na unutrašnjim organima ukazuju na sledeće:

1) Povišena količina sluzi na koži predstavlja nespecifičnu odbrambenu reakciju ribe na agense iz spoljašnje sredine [4]. Kako svi primerci iz eksperimentalne grupe imaju ovakve manifestacije, a iz kontrolne ni jedan, pretpostavlja se da je prisustvo *E. coli* u vodi izazvalo odbrambenu reakciju kod riba (to jest povišeno lučenje sluzi).

2) Promene na škragama odgovaraju hemoragičnom zapaljenskom procesu akutnog toka [4], koji je verovatno posledica prisustva *E. coli* koja je izvršila iritaciju škrगा i posledično zapaljenje. Ove promene su uočene na pet primeraka eksperimentalne grupe i na jednom kontrolne.

3) Promene na crevima ukazuju na nalaz akutnog kataralnog zapaljenja creva [5] nastalog usled povećanja broja bakterija u sredini gde ribe žive. Iako je *E. coli* normalni nalaz u crevima, povećanje njihovog broja može izazvati ovakve promene. U kontrolnoj grupi je samo jedan primerak pokazao ovakve manifestacije, a četiri u eksperimentalnoj.

4) Promene u jetrinom parenhimu mogu biti posledice delovanja različitih agenasa [7], između ostalog i zapaljenskih procesa u organizmu, tako da nije isključeno da je oštećenje jetre nastalo kao posledica prisutnih zapaljenja, pogotovo što kod primeraka bez zapaljenja creva nije utvrđeno oštećenje jetre. Ove promene su uočene na četiri primerka eksperimentalne grupe.

Ostale posmatrane promene primećene su u dosta većem broju u eksperimentalnoj nego u kontrolnoj grupi, i verovatno su posledica delovanja *E. coli*.

Zaključak

Na eksperimentalnoj grupi došlo je do niza promena od kojih su najznačajnije: povećano lučenje sluzi, zapaljenje škrगा i creva, oštećenja jetrinog parenhima, dok su na kontrolnoj grupi ove promene znatno manjeg intenziteta i frekvencije. Iz rezultata ovog eksperimenta možemo zaključiti da *E. coli* prisutna u vodi, u povišenoj koncentraciji, može uticati na pojavu patomorfoloških promena kod klenića (*L. leuciscus*).

Literatura

- [1] Brown, L. 1988. Anesthesia in Fish. *The Veterinary clinics of North America, smal animal practice, tropical fish medicine*. Vol 18, No 2
- [2] Campbell, T. 1988. Fish Cytology and Hematology. *The Veterinary clinics of North America, smal animal practice, tropical fish medicine*. Vol 18, No 2
- [3] Guzman, E., Shatts, E. 1988. Bacterial culture and Evaluation of Diseases of Fish. *The Veterinary clinics of North America, smal animal practice, tropical fish medicine*. Vol 18, No 2
- [4] Noga, E. 1988. Biopsy and Rapid Postmortem Techniques for Diagnosing Diseases of Fish. *The Veterinary clinics of North America, smal animal practice, tropical fish medicine*. Vol 18, No 2
- [5] Reimschnessel, . 1988. Necropsy Examination of Fish. *The Veterinary clinics of North America, smal animal practice, tropical fish medicine*. Vol 18, No 2

- [6] Fyfe, L. 1986. A study of the pathological effect of isolated *Aeromonas salmonicida* extracellular protease on Atlantic salmon. *Salmo salar* L., *Journal of Fish Diseases*. Vol 9, No 5
- [7] Balouet, G. 1986. Granulomatous nodules in fish: an experimental assessment in rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson, and turbot. *Scophthalmus maximus* (L.), *Journal of Fish Diseases*. Vol 9, No 5
- [8] Wheeler, A. 1978. *Key to the Fishes of Northern Europe*. London: Frederic Warne and Co Ltd.

Marko Cvitkovic

The Effect of *Escherichia coli* Wild Type on Morphologic Changes in *Leuciscus leuciscus*

The structure and function of different systems in the organism of fish that live in a water containing fecal contamination are often subject to various alterations. In this experiment we were concerned about the influence of the increased level of concentration of *Escherichia coli* in the water on *Leuciscus leuciscus*. Numerous changes were noticed on the fish from the experimental group after they had been grown in the water abundant with *E. coli*. These changes include: intensive secretion of mucus, the inflammation of gills and guts, and degeneration of the liver parenchyma. Meanwhile, very few, or no changes were recorded in the control group. Therefore, it could be concluded that the increased level of concentration of *E. coli* in the water could cause morphologic alterations in *L. leuciscus*.

