

STANJE EKOSISTEMA ZA UZGOJ PASTRMKE SA ASPEKTA MIKROBIOLOŠKOG RIZIKA

B. VELEBIT, JELENA JOVANOVIĆ, JELENA BABIĆ, M. MILIJAŠEVIĆ, SLAVICA VESKOVIĆ-MORAČANIN, BRANKA BOROVIĆ, AURELIJA SPIRIĆ
Institut za higijenu i tehnologiju mesa, Kaćanskog 13, Beograd

STATE OF ECOSYSTEM FOR TROUT CULTURE FROM MICROBIOLOGICAL RISK ASPECT

Abstract

Control of microbiological status of ponds and a fish itself is of great importance while the aim of control is to detect indicators of faecal pollution and to evaluate the potential risk of consumption of contaminated aquacultural products. In this paper we investigated microbiological population of rainbow trout ponds, in trout itself and in sludge. Investigations were performed at the beginning of autumn, end of autumn and at the beginning of winter. Results indicated that microbiological status of the pond ecosystem was mainly satisfactory, although there were some sporadic cases of *A. hydrophila* on trout skin at the beginning of autumn.

Ključne reči: trout, ecosystem, microbiological risk

UVOD

Voda u ribnjacima za uzgoj ribe nije samo prostor koji riba nastanjuje, već je od nje potpuno zavisna. Riba u vodi boravi, hrani se, diše i razmnožava se. Gajenje ribe podrazumeva višestruko povećanje ihtiomas po jedinici površine, što se postiže unošenjem dodatnih materija (hrane, đubriva i dr.) iz spoljašnje sredine. Međutim, ovakve intervencije izazivaju promene u ekosistemu, tj. sedimentu i vodi, tako da za kratko vreme mogu učiniti životnu sredinu nepogodnom za život, dovodeći do poremećaja i/ili oboljenja, pa čak i uginuća riba. Stoga se gajena riba ni u kom slučaju ne sme posmatrati izdvojeno od vodene sredine ribnjaka, već kao njen integralni deo.

Kontrola mikrobiološkog statusa vode u ribnjacima je od izuzetnog značaja i cilj ove kontrole je da se detektuju indikatori fekalnog zagađenja i da se proceni potencijalni rizik od konzumacije kontaminiranih proizvoda akvakulture.

Mikroorganizmi objekata za akvakulturu mogu se podeliti u dve osnovne grupe. Jednu grupu čine bakterije koje su prirodno prisutne u vodenoj sredini u kojoj se riba

gaji i označavaju se kao specifični, tj. domaći mikroorganizmi u akvakulturi. U ovu grupu bakterija spadaju: *Aeromonas hydrophila*, *Clostridium botulinum*, *Vibrio cholerae*, *Listeria monocytogenes*. Ove bakterije se u malom broju nalaze u vodi i njihova prevalenca zavisi od uslova sredine, kao što su temperatura, količina kiseonika, prisustvo organskih materija, fito- i zooplanktona. *Cl. botulinum* tip E se nalazi u sedimentu jezera i ribnjaka, gde anaerobni uslovi omogućavaju njegovu proliferaciju. Izolovan je iz škrge, kože i creva riba i izgleda da je riba (pastrmka) nosilac spora. Pojavljivanje ovog mikroorganizma u pastrmskim ribnjacima je povezano sa nehigijenskim uslovima i blatom, gde riba može da dođe u kontakt sa sedimentom. *Aeromonas hydrophila* je deo normalne flore akvasistema i može se naći u ribi (D a v i e s et al., 2001). *Listeria monocytogenes* se izoluje iz biljaka koje trunu, a poljoprivredne otičuće vode mogu biti izvor kontaminacije. Nezagađena voda koja se koristi u akvakulturi je, generalno, slobodna od *Listeria*, i riba iz ovakvog ekosistema je nezagađena. *L. monocytogenes* može da dospe u ekosistem za uzgoj pastrmke preko kontaminirane hrane, poljoprivredne otičuće vode i kontaminiranog sedimenta u bazenima.

Drugu grupu čine bakterije koje nisu specifične, tj. nisu svojstvene za ribu, a veoma su značajne sa aspekta zaštite zdravlja ljudi, jer su indikatori fekalne kontaminacije. U ovu grupu spadaju *Salmonella*, *Shigella*, *Escherichia coli*, *Campylobacter*, *Yersinia*. Do pojave ovih bakterija u ekosistemu za uzgoj riba dolazi putem eksterne kontaminacije (ribnjaci locirani u zagađenim oblastima, upotreba prirodnih đubriva, fekalna kontaminacija preko kanalizacije). Generalno, *Salmonella* i druge entero bakterije nisu mikroorganizmi koji se pojavljuju u vodi i njihovo prisustvo u vodi ili ribi dolazi usled kontaminacije, kao rezultat loših higijenskih standarda (uključujući i kontaminiranu hranu).

Cilj ovog rada bio je da se ispita mikrobiološko stanje ekosistema za uzgoj pastrmke, što obuhvata mikrobiološko ispitivanje vode, mulja i proizvoda akvakulture, tj. ribe i da se sagleda uticaj mikrobiološkog statusa ekosistema na proizvod akvakulture.

MATERIJAL I METODE

Za ispitivanje mikrobiološkog statusa ekosistema izabran je pastrmski ribnjak u zapadnoj Srbiji. Nadmorska visina ribnjaka je 800 m/nm. Napajanje ribnjaka vodom vrši se izvorskom vodom prosečne temperature 14°C. Ispitivanja su vršena tokom tri perioda; početkom jeseni, krajem jeseni i početkom zime (ispitivanje I, II i III). Prilikom svakog ispitivanja uzeti su uzorci od po 6 kalifornijskih pastrmki (*Oncorhynchus mykiss*), uzorci vode i mulja sa 6 lokacija u ribnjaku, kao i po 6 uzoraka hrane za prirast pastrmki. Uzorci ribe uzeti su tako da je sa anteriorno-dorzalne i ventralne regije aspetično preparisano po 20 g mišićnog tkiva sa pripadajućom kožom, dodato je 180 mL Ringero-vog rastvora i homogenizovano u stomaheru (AES, Francuska) u trajanju od 3 minuta. Uzorci su mikrobiološki ispitani na prisustvo *Aeromonas hydrophila*, *Listeria* spp. (ISO 11290:2004), *Escherichia coli* (ISO 16649:2001), *Clostridium* spp. (ISO 15213:2003), *Salmonella* spp. (ISO 6579:2002), *Vibrio* spp., *Yersinia* spp. i određen je ukupan broj aerobnih mezofilnih bakterija (ISO 4833:2003).

Uzorci vode u količini od po 100 mL po lokaciji, ispitani su metodom membranske filtracije (Sartorius, Nemačka) i izvršeno je numeričko određivanje intestinalnih enterokoka (ISO 7899-2:2000) i koliformnih bakterija (ISO 9308-1:2000). Mikrobiološka ispitivanja mulja obuhvatala su *Escherichia coli* (ISO 16649:2001), *Clostridium* spp. (ISO 15213:2003), *Salmonella* spp. (ISO 6579:2002), *Vibrio* spp., *Yersinia* spp. i *Liste-*

ria spp. (ISO 11290:2004). Hrana za prirast pastrmki ispitana je na prisustvo *Escherichia coli* (ISO 16649:2001), *Clostridium* spp. (ISO 15213:2003), *Salmonella* spp. (ISO 6579:2002), i određen je ukupan broj aerobnih mezofilnih bakterija (ISO 4833:2003).

REZULTATI I DISKUSIJA

U tabeli 1. prikazani su rezultati mikrobiološkog ispitivanja kože i mišićnog tkiva pastrmke. Iz rezultata ispitivanja uočava se da je ukupan broj aerobnih mezofila tokom sva tri perioda ispitivanja imao prihvatljive vrednosti, ali i da je nastupanjem hladnijeg vremena pokazivao trend opadanja. Tokom ispitivanja početkom jeseni kod 2 uzorka pastrmke primjećene su sitne ulcerativne promene na ventralnoj regiji kože. izolovana je i identifikovana mezofilna aeromonada *Aeromonas hydrophila*. Nakon sprovedenog sanitarnog tretmana tokom sledeća dva ispitivanja aeromonade nisu izolovane. Dobijeni rezultati ispitivanja slični su sa rezultatima istraživanja koje je vršio Gonzalez et al.(2001).

Tabela 1. Rezultati mikrobiološkog ispitivanja kože sa mišićnim tkivom pastrmke.

PARAMETAR	ISPITIVANJA	PERIOD ISPITIVANJA		
		I	II	III
TVC sa kožom (log CFU/g)		3,97	3,01	2,43
prosečna vrednost				
Salmonella spp.		Ø	Ø	Ø
E.coli		Ø	Ø	Ø
L.monocytogenes		Ø	Ø	Ø
Vibrio spp.		Ø	Ø	Ø
Yersinia spp.		Ø	Ø	Ø
Aeromonas hydrophila		+ 2/6	Ø	Ø
Clostridium spp.		Ø	Ø	Ø

U tabeli 2. prikazani su rezultati mikrobiološkog ispitivanja vode iz ribnjaka. Iz rezultata ispitivanja vidljivo je da je voda tokom sva tri posmatrana perioda bila odgovarajućeg mikrobiološkog kvaliteta (E P A, 1991), s tim da su vrednosti ukupnog broja ukupnih koliforma i intestinalnih enterokoka progresivne opadale sa nastupanjem zimskog perioda. Daljnjom identifikacijom utvrđeno je da je dominantna vrsta kod ukupnih koliforma *E.coli* (74%), dok je kod intestinalnih enterokoka dominantna vrsta bila *Enterobacter* spp.

Tabela 2. Rezultati mikrobiološkog ispitivanja vode iz ribnjaka.

PARAMETAR	ISPITIVANJA	PERIOD ISPITIVANJA		
		I	II	III
Ukupni koliformi (CFU/100 mL)		28,7	20,4	10,8
Intestinalne enterokoki (CFU/100 mL)		8,1	7,5	5,2

U tabeli 3. prikazani su rezultati mikrobiološkog ispitivanja mulja iz ribnjaka. Tokom sva tri perioda ispitivanja u mulju su izolovani *E.coli*, *Clostridium* spp, kao i *Yersinia* spp. Ispitivanjem je utvrđeno da ne postoji značajna varijacija prisustva ovih mikroorganizama u zavisnosti od godišnjeg doba.

Tabela 3. Rezultati mikrobiološkog ispitivanja mulja iz ribnjaka.

PARAMETAR ISPITIVANJA	PERIOD ISPITIVANJA		
	I	II	III
Salmonella spp.	Ø	Ø	Ø
E.coli	+ (5/6)	+ (3/6)	Ø
L.monocytogenes	Ø	Ø	Ø
Vibrio spp.	Ø	Ø	Ø
Yersinia spp.	+ (3/6)	+ (2/6)Ø	Ø
Clostridium spp.	+ (3/6)	+ (3/6)	Ø

Mikrobiološkim ispitivanjem hrane za prirast pastrmki (nije prikazano) utvrđeno je da je mikrobiološki status uglavnom ujednačen; ukupan broj aerobnih mezofila u istoj nije prelazio 10^6 cfu/g, patogeni mikroorganizam nisu izolovani, sem u dva slučaja kada smo izolovali *Clostridium spp.* u količini od 350 cfu/g, odnosno 480 cfu/g.

ZAKLJUČCI

Na osnovu rezultata ispitivanja zaključili smo da je posmatrani pastrmski ribnjak, u celini, bio zadovoljavajućeg mikrobiološkog statusa. Ukupan broj aerobnih mezofila na koži i mišićnom tkivu pastrmke bio je u odgovarajućim granicama, ispitivanjem ukupnih koliforma i intestinalnih enterokoka ustanovljeno je da voda u ribnjaku nije fekalno kontaminirana. Mikrobiološki status sedimenta uobičajen je za ovaj tip ribnjaka. Sporadični nalaz *A. hydrophila* i sićušne ulcerozne promene s početka jeseni mogu se tumačiti relativno višom temperaturom vode kao i stresogenim faktorima prilikom transporta ribe u ribnjak. Adekvatan sanitarni tretman redukuje broj aeromonada i smanjuje mikrobiološki rizik tokom uzgoja pastrmke.

Zahvalnica:

Ova istraživanja rađena su u okviru projekta 20122, ‘‘Monitoring vodenih ekosistema u cilju dobijanja hemijski ispravnih i kvalitetnih akvakulturnih proizvoda, konkurentnih tržištu EU’’, koji, Programom istraživanja u oblasti tehnološkog razvoja za period 2008-2010, finansira Ministarstvo nauke R. Srbije.

LITERATURA

Davies, A. R., Capell, C., Jehanno, D., Nychas, G. J. E. and Kirby, R. M. (2001). Incidence of foodborne pathogens on European fish. *Food Control* 12 (2):67-71.

EFSA, (2008). Scientific Opinion of the Panel on Biological Hazards on a request from European Commission on Food Safety consideration of animal welfare aspects and husbandry systems for farmed fish. *The EFSA Journal* 867, 1-24.

EPA, (1991). Monitoring Guidelines to Evaluate Effects of Forestry Activities on Streams in Pacific Northwest and Alaska. #910/9-91-001.

FAO, (2000). Report of the FAO expert consultation on the trade impact of *Listeria* in fish products. FAO Fisheries Report No. 604.

González CJ, Santos JA, García-López ML, González N, Otero, A. (2001). Mesophilic aeromonads in wild and aquacultured freshwater fish. *J Food Prot.* 64(5):687-91.