

PATOLOGIA I TERAPIA

DANUTA SZEROW, ANNA MILIAN

Zachowanie się wybranych wskaźników biochemicznych u karpia ze środowiska zanieczyszczonego Cu i Zn^{*})

Zakład Higieny Weterynaryjnej, ul. Rodakowskiego 6, 51-637 Wrocław

Sole metali ciężkich, zawarte w ściekach przemysłowych zanieczyszczających zbiorniki wodne, są trujące dla ryb nie tylko w wysokich stężeniach, lecz też w niskich koncentracjach przy ich długotrwałym działaniu. Te ostatnie zatrucia przebiegają bezobjawowo, prowadząc do osłabienia ogólnej odporności i w następstwie do wybuchu chorób i strat gospodarczych (4, 15).

W wykrywaniu szkodliwego działania środowiska na organizm ryb dużą rolę przypisuje się badaniom krwi (11), zwłaszcza układu enzymatycznego (2, 3). Nieliczne są dane piśmiennictwa na ten temat i brak jest publikacji o zaburzeniach biochemicznych u karpia w wyniku długotrwałego działania metali ciężkich. W ostatnich latach są coraz częściej notowane ponadnormatywne zawartości tych związków, głównie cynku i miedzi, w wodach zasilających stawy rybne (14).

Celem pracy było określenie wpływu środowiska zanieczyszczonego ściekami przemysłowymi zawierającymi związki miedzi i cynku na kształtowanie się niektórych wskaźników biochemicznych oraz zawartość Cu i Zn w surowicy i wątrobie karpia, a tym samym sprawdzenie ich wartości diagnostycznych, z uwzględnieniem istotnego u ryb czynnika sezonowości.

Materiał i metody

Na początku kwietnia i października 1984 r. zbadało łącznie 68 klinicznie zdrowych dwu- trzyletnich karpia (K_{2-3}) pochodzących z dwu różnych środowisk pod względem zanieczyszczenia związkami Cu i Zn: a) ze stawu zasilanego wodą z rzeki Szprotawy zanieczyszczonej ściekami z kopalni miedzi, przy czym w wodzie tego stawu zawartość miedzi wahała się w granicach 0,014—0,037 mg/l, a cynku 0,074—0,084 mg/l, oraz b) ze stawu wolnego od zanieczyszczeń, zasilanego wodą opadową z terenów śródlęśnych. Ponieważ w ostatnim stawie w maju wybuchła wiosenna wirtemia karpia (SVC), w 1985 r. powtórzono niektóre oznaczenia u 45 karpia (K_2-K_3) z tego stawu. Ryby do badań odłowiono podrywką. Krew pobierano z żyły ogonowej, a po zabiciu i wykrwawieniu ryb pobierano próby wątroby. Ze skrzepłej krwi w ciągu 1 h oddzielano surowice przez wirowanie 15 min. przy 2500 obr./min.

W surowicy i wątrobie oznaczano poziom Cu i Zn metodą absorpcji atomowej AAS. Ponadto w surowicy oznaczano aktywność enzymów — aminotransferazy asparaginianowej (AspAT) i alaninowej (AlAT) przy użyciu zestawów Bio-Test LACHEMA, fosfatazy

zasadowej (AP) metodą Bessey'a, Lawry'ego i Brocka oraz ceruloplazminy (CP) metodą Ravina, a także oznaczano wskaźniki podstawowej przemiany materii, jak poziom białka całkowitego metodą biuretową i stężenia elektrolitów: Na, K i Ca metodą fotometrii płomieniowej, Mg — przy użyciu zestawu LACHEMA i Cl — zestawem POCH metodą miareczkową. Każde oznaczenie wykonywano na 5—20 rybach.

Uzyskane wyniki poddano analizie statystycznej obliczając średnie arytmetyczne i odchylenia standardowe oraz porównując istotność różnic testem t-Studenta, przy $p < 0,05$.

Wyniki i omówienie

W tabeli 1 porównano zawartość miedzi i cynku w surowicy i wątrobie karpia pochodzących ze stawu zanieczyszczonego tymi metalami ciężkimi w zakresach — jak już wcześniej podano — Cu 0,014—0,037 mg/l i Zn 0,074—0,084 mg/l i ze stawu wolnego od zanieczyszczeń, w okresie wiosennym tj. po zimowaniu ryb oraz jesiennym — po sezonie hodowlanym. Według Łukjanienki (4) szkodliwe działanie na organizm ryb jonów miedzi ujawnia się już przy stężeniu w wodzie 0,004—0,02 mg/l, a cynku 0,001—0,05 mg/l.

Zawartość miedzi w surowicy karpia z obu stawów utrzymywała się na zbliżonym poziomie niezależnie od pory roku. Natomiast wyniki oznaczeń cynku w surowicy wykazały duże różnice w poziomach indywidualnych we wszystkich grupach badań. Z tego względu, mimo że na wiosnę u karpia pochodzących ze stawu zanieczyszczonego stwierdzono istotnie wyższy poziom cynku w surowicy, zmian tych nie można z całą pewnością przypisać wpływowi ścieków przemysłowych, tym bardziej, że brak jest danych w piśmiennictwie o tzw. prawidłowych stężeniach cynku, jak też miedzi we krwi karpia. Uzyskane w tych badaniach zawartości miedzi w surowicy karpia są zbliżone do wartości występujących u wyższych kręgowców, a poziomy cynku u karpia są na ogół wyższe.

W wątrobie karpia zaznaczyły się różnice w zawartości miedzi i cynku w zależności od pochodzenia ryb i od pory roku. Na wiosnę u ryb hodowanych w stawie zanieczyszczonym stężenia Cu i Zn były dwukrotnie wyższe niż u ryb ze stawu nie zanieczyszczonego. Potwierdza to zjawisko ich kumulacji w tym narządzie (1, 4, 10, 13), stwierdzone szczególnie po okresie zimowania. Jak podaje Łukjanienko (4) na

* Praca finansowana przez Instytut Rybactwa Śródlądowego w Olsztynie.

Tab. 1. Zawartość miedzi i cynku w: $\mu\text{mol/l}$ w surowicy i wątrobie karpi ($\bar{x}\pm s$)

Wskaźnik	Materiał	Karpie ze środowiska zanieczyszczonego ściekami		Karpie ze środowiska wolnego od zanieczyszczeń			
		wiosna 1984 rok	jesień 1984 rok	wiosna 1984 rok	jesień 1984 rok	wiosna 1985 rok	jesień 1985 rok
Miedź	Suro-wica	9,58 \pm 1,46	10,21 \pm 1,15	nb	10,46 \pm 2,65	9,45 \pm 1,66	nb
	Wątroba	112,99 \pm 70,00	63,95 \pm 17,15	56,97 \pm 12,43	101,04 \pm 51,31	65,24 \pm 26,39	62,90 \pm 24,46
Cynk	Suro-wica	72,59 \pm 25,98	60,26 \pm 18,26	nb	71,53 \pm 23,21	34,31 \pm 7,06	nb
	Wątroba	1280,21* \pm 457,02	635,51 \pm 135,36	646,53 \pm 31,61	929,64* \pm 250,07	824,90 \pm 150,26	632,12 \pm 133,75

Objaśnienia: * — różnica statystycznie istotna przy $p\leq 0,05$, a — wystąpienie SVC w obsadzie stawu, nb — nie badano.

Tab. 2. Aktywność enzymów w surowicy karpi w U/l ($\bar{x}\pm s$)

Enzym	Karpie ze środowiska zanieczyszczonego ściekami		Karpie ze środowiska wolnego od zanieczyszczeń		
	wiosna 1984 rok	jesień 1984 rok	wiosna 1984 rok	jesień 1984 rok	wiosna 1985 rok
Aminotransferaza asparaginiano-wa (AspAt)	36,6 \pm 10,7	35,9 \pm 2,5	61,9* \pm 14,6	36,3 \pm 11,9	28,1 \pm 7,0
Aminotransferaza alaninowa (AlAt)	3,3 \pm 2,0	14,4 \pm 2,9	7,9 \pm 2,0	28,6* \pm 11,7	7,9 \pm 4,6
Fosfataza zasadowa (AP)	12,5 \pm 5,6	24,6 \pm 7,8	13,6 \pm 4,3	21,6 \pm 2,7	nb
Ceruloplazmina (CP) w mg/100 ml	4,51* \pm 0,95	7,11* \pm 0,68	3,16 \pm 1,22	5,68 \pm 1,38	nb

Objaśnienia: * — różnica statystycznie istotna przy $p\leq 0,05$, a — wystąpienie SVC w obsadzie stawu, nb — nie badano.

Tab. 3. Poziom białka całkowitego i elektrolitów w surowicy karpi ($\bar{x}\pm s$)

Wskaźnik	Jednostka miary	Karpie ze środowiska zanieczyszczonego ściekami		Karpie ze środowiska wolnego od zanieczyszczeń	
		wiosna	jesień	wiosna	jesień
Białko całkowite	g/l	24,8 \pm 2,4	25,3 \pm 1,2	24,3 \pm 2,8	28,1 \pm 3,7
Sód	mmol/l	142,9 \pm 3,4	130,7 \pm 3,9	138,3 \pm 9,8	131,2 \pm 3,4
Potas	mmol/l	1,2 \pm 0,38	2,09 \pm 0,35	1,50 \pm 0,46	1,53 \pm 0,46
Wapń	mmol/l	2,44 \pm 0,20	2,15 \pm 0,15	2,70 \pm 0,28	2,47 \pm 0,21
Magnez	mmol/l	nb	2,32 \pm 0,29	nb	1,64 \pm 0,62
Chlor	mmol/l	113,7 \pm 5,7	118,3 \pm 3,0	105,3 \pm 14,0	112,3 \pm 3,5

skutek kumulacji już niskie stężenia soli metali ciężkich działają toksycznie na organizm ryb.

W jesieni wykazano prawie o połowę niższą zawartość Cu i Zn w wątrobie karpi ze stawu zanieczyszczonego w porównaniu z wynikami badań wiosennych. Statystycznie istotna różnica odnosiła się jednak tylko do poziomu cynku. Również u karpi ze stawu wolnego od zanieczyszczeń (wyłączając wyniki badań z 1984 r. w związku z wystąpieniem SVC) zawartość Cu i Zn była niższa w jesieni niż na wiosnę. Spostrzeżenia o sezonowej zmienności Zn w narządach wewnętrznych karpi są zgodne z wynikami badań Małyżewej (5). Te różnice sezonowe wiążą się ze zmiennością metabolizmu w

badanych porach roku zarówno u ryb — zwierząt zmiennocieplnych, jak też w środowisku wodnym, które silnie oddziałuje na ich organizm.

U karpi pochodzących z obsady, w której wybuchła wiosenna wiremia (staw wolny od zanieczyszczeń), w jesieni zawartość Cu i Zn w wątrobie była znacznie podwyższona i należy to łączyć z przebiegiem choroby. Underwood (13) podaje, że w uszkodzonej wątrobie zwiększa się chłonność miedzi przez upośledzone komórki tego narządu. Na uszkodzenie wątroby u tych ryb wskazuje wzrost aktywności aminotransferazy alaninowej w jesieni po ustąpieniu choroby oraz asparaginianowej na wiosnę przed jej ujawnieniem się (tab. 2).

W tabeli 2 przedstawiono aktywność w surowicy karpi enzymów AspAT, AlAT i AP — najczęściej służących jako wskaźniki schorzeń wątroby, w związku z kumulacją omawianych metali ciężkich w tym narządzie, oraz ceruloplazminy — wskaźnika gospodarki miedzią.

W aktywności obu aminotransferaz i fosfatazy zasadowej nie stwierdzono istotnych różnic w zależności od zanieczyszczenia środowiska. Występujące zatem koncentracje Cu i Zn w wodzie stawowej nie spowodowały uszkodzenia komórek mięsnych wątroby i zaburzenia jej funkcji. Wyniki badań dotyczących obu aminotransferaz są zbliżone do wartości wykazanych u zdrowych karpi przez innych autorów (2, 9). Aktywność fosfatazy zasadowej u karpi badanych przez Pilarczyka i wsp. (9) była natomiast wyższa i bardzo zróżnicowana. Stwierdzone w badaniach własnych sezonowe zmiany aktywności fosfatazy zasadowej mogły być związane z procesami odżywiania.

Aktywność ceruloplazminy w surowicy karpi hodowanych w środowisku zanieczyszczonym była o 20—30% wyższa niż u ryb ze stawu wolnego od zanieczyszczeń. W aktywności tego enzymu występowały wahania sezonowe, tj. wyższa była w jesieni niż na wiosnę (różnice statystycznie istotne), niezależnie od pochodzenia ryb.

Godnym uwagi wydaje się fakt podwyższonej aktywności ceruloplazminy w jesieni, mimo spadku w tym okresie zawartości miedzi w wątrobie. W piśmiennictwie brak jest danych dotyczących poziomu ceruloplazminy w surowicy karpi. Aktywność tego białka „miedziowego” zwiększa się przy wzmożonej jego syntezie w wątrobie, w miarę zwiększania się zawartości miedzi w organizmie. Jednak zdaniem Grossmanna, na podstawie badań przeprowadzonych u bydła, nadmiar miedzi w organizmie nie powoduje wzrostu aktywności ceruloplazminy i jej poziom jest ustalony, gdy ustrój jest dostatecznie zaopatrzonej w ten pierwiastek.

Mandorf i wsp. (6) podają, że aktywność ceruloplazminy jest hamowana przez wysokie stężenia metali, jak: cynk, żelazo, nikiel, kobalt. Stopień zanieczyszczenia cynkiem wody stawowej nie spowodował u ryb takie reakcji. Na uwagę zasługuje na ogół mała aktywność tego enzymu u karpi, ale też niski jest u tych ryb poziom białka całkowitego.

Przedstawiony w tab. 3 poziom białka całkowitego i elektrolitów w surowicy karpi utrzymywał się w granicach wartości prawidłowych w obu badanych grupach ryb. Jednak jesienią, biorąc pod uwagę stan po okresie żerowania ryb, poziom białka u karpi ze środowiska zanieczyszczonego był niski (12). Fakt ten, jak też obserwowane u tych ryb objawy wychudzenia, mogą stanowić potwierdzenie doniesień niektórych autorów (4, 7, 8, 15) o ujemnym wpływie zanieczyszczenia wód związkami miedzi i cynku na życie biologiczne zbiorników wodnych i tym samym warunki bytowe dla ryb.

Piśmiennictwo

- Berman S. A., Iizin A. E.: Rozpredelenije mikroelementov manganca, železa, medi i cynka w organach i tkaniach presnovodnych promyslowych ryb. Red. Berman, Grundman, Iizin: Mikroelementy v organizmie ryb i ptic. Izd. Zinatne, Ryga, 1968.
- Brozio N., Litzbarski H.: Z. Binnenf. 24, 110, 1977.
- Dömötör I., Gyano A.: Z. Binnenf. 27, 155, 1980, 1974.
- Lukjanienko W. I.: Toksykologia ryb. PWRiL, Warszawa, 1974.
- Małyżewa T. D.: Ryb. Choz. 9, 60, 1980.
- Mandorf W., Mackenrodt G., Halberstadt E.: Klin. Wschr. 49, 61, 1979.
- Oporowska K., Szerow D.: Gosp. ryb. 32 (11), 8, 1980.
- Oporowska K., Szerow D.: Gosp. ryb. 32 (12), 7, 1980.
- Pilarczyk A., Szarowski L., Tkaczyk M.: Gosp. ryb. 34 (8), 3, 1982.
- Prost M.: Choroby ryb. PWRiL, Warszawa 1980.
- Schreckenbach K.: Z. Binnenf. 25, 299, 1978.
- Stefan J.: Gosp. ryb. 22 (1), 5, 1970.
- Underwood E. I.: Żywnienie mineralne zwierząt. PWRiL, Warszawa 1971.
- Wojacek E., Marek J.: Ogólny pogląd na stan jakości wód zasilających stawy (na przykładzie zlewni Baryczy). Krajowa Konf. Nauk.-Techn. „Stan i perspektywy gospodarki stawowej”. AR Wrocław, 1984, s. 52.
- Wróbel S.: Zagrożenia przemysłowe w gospodarce stawowej. Krajowa Konf. Nauk.-Techn. „Stan i perspektywy gospodarki stawowej”. AR Wrocław, 1984, s. 72.

Adres autora: dr Danuta Szerow, ul. Zetkin 78/1, 50-310 Wrocław

MEDAREN I., WRAY C.: Inny czynnik cytopatyczny Escherichia coli izolowanej od zwierząt. (Another animal Escherichia coli cytopathic factor). Vet. Rec. 119, 576—577, 1986 (23)

Spośród 182 szczepów *Escherichia coli* wyosobnionych od zwierząt z przypadków zakażeń jelitowych 82 szczepy nie wywierały działania cytopatycznego na hodowlę komórek Vero, 64 szczepy dawały efekt cytotoxiczny który jest charakterystyczny dla producentów ciepłochwiejnej enterotoksyny *E. coli*, 26 szczepów dawało efekt cytotoxiczny typowy dla VT. Dziesięć szczepów dawało efekt atypowy, który cechował się pojawieniem w hodowli dużych wielojądrowych komórek. Wszystkie szczepy dające efekt atypowy izolowano od prosiąt. Należały one do serotypów O4, O6, O8 i O88. Atypowe zmiany były wywołane przez ciepłochwiejną toksynę która nie posiada właściwości immunogennej.

EGAN J.: Częstotliwość występowania letniego zapalenia gruczołu mlekowego w wyselekcjonowanych stadach w Republice Irlandzkiej. (Summer mastitis prevalence in selected herds in the Irish Republic). Vet. Rec. 119, 577—578, 1986 (23)

Terminem letnie zapalenie gruczołu mlekowego określa się kliniczne stany zapalne wymienia u krów nie produkujących mleka i u jałówek, które występują głównie latem. Badania nad występowaniem tego schorzenia w prowincji Leinster przeprowadzono w 1984 i 1985 r., w 69 stadach w 1984 r. i w 51 stadach w 1985 r. Letnie zapalenie gruczołu mlekowego wystąpiło w 78% badanych stad, przy czym aż 57% zachorowań notowano w sierpniu. Ilość chorych sztuk w 1984 r. w grupie krów zasuszonych wynosiła 56,5%, w grupie jałówek zacielenych 28,8% i w grupie jałówek niezacielenych 96%. W 1985 r. wartości te wynosiły odpowiednio 6,0%, 7,6% i 0.