

Poziom globulin i białka całkowitego w surowicy zdrowych karp

Wojewódzkie Laboratorium Weterynaryjne, ul. Olbrychta 1, 65-356 Zielona Góra

Summary

The level of globulins and total protein in sera of healthy carps (*Cyprinus carpio L.*)

The level of globulins, total protein and globulin index (albumin globulin ratio) was estimated in sera of healthy carps aged from 2 months to 5 years. The content of globulins increased along with the ontogeny of the fish. The highest level of globulins was found in 29-month-old individuals, the lowest in 10-month-old ones. Among spawnings a greater concentration of globulins was noted in milsters. The dynamics of total protein changes showed the same pattern as globulins but differences in the total protein content between the groups of carps were more pronounced. The globulin index was constant irrespectively of age, body weight and sex of fish.

Zwiększona podatność ryb na choroby infekcyjne, inwazyjne i środowiskowe jest przede wszystkim następstwem intensyfikacji hodowli. Na stan zdrowia karp rzutuje utrzymywanie ich w dużym zagęszczeniu oraz często w akwenach obciążonych substancjami organicznymi. Ponadto duży wpływ na organizm ryb ma związana z technologią hodowli konieczność dokonywania okresowych przerzutów materiału zarybieniowego, zmiany środowiska wodnego oraz nieodłączny w tych okolicznościach stres. Problem zwiększonej zachorowalności ryb i strat z tego wynikających nabiera na znaczeniu nie tylko ze względów epizootiologicznych, ale także ekonomicznych. Stąd też uzasadnione są próby doskonalenia metod diagnostycznych pozwalających na wnikliwą analizę i interpretację wyników badań, a w efekcie ocenę zdrowia badanych ryb. Stan ilościowy i jakościowy białek surowicznych u ryb zdrowych odzwierciedla między innymi kondycję ryb, jednak głównie ich stan kliniczny. Z uwagi na duże znaczenie diagnostyczne wskaźników białkowych (globuliny, białko całkowite) uzasadnione jest, jak się wydaje, rozpoznanie zależności występujących między ilością i jakością białek, a wiekiem i masą ciała ryb. Pozwoli to na lepsze wykorzystanie wyników uzyskiwanych w badaniach kontrolnych i rozpoznawczych u ryb zdrowych i chorych będących w różnym wieku.

Badania podjęto jako próbę wyjaśnienia tych zależności, uzasadnioną, jak wskazuje na to piśmiennictwo (1-8), 10-19, 22-28), brakiem danych odnośnie do kształtowania się poziomu globulin i białka całkowitego w procesie rozwoju osobniczego ryb.

Materiał i metody

Badania wykonano u 748 zdrowych karp, badanych w wieku od 2 miesięcy do 5 lat, ujętych w następujące grupy (tab. 1):

- narybek karpia (K1), wiek 2 miesiące (grupa 1) i 5 miesięcy (grupa 2),
- krocze karpia (K2), wiek 10 miesięcy (grupa 3), 13 miesięcy (grupa 4) i 17 miesięcy (grupa 5),
- karpie handlowe (K3), wiek 22 miesiące (grupa 6), 25 miesięcy (grupa 7) i 29 miesięcy (grupa 8),
- tarlaki/mleczażki, wiek 5 lat (grupa 9),
- tarlaki/ikrzyce, wiek 5 lat (grupa 10).

Karpie pochodziły od tego samego materiału rodzicielskiego (ikrzyce i mleczażki). Odławiano je ze stawów hodowlanych o dobrych warunkach środowiskowych (tab. 2), a ich stan kondycyjny i zdrowotny, na podstawie badań klinicznych, anatomopatologicznych i parazytologicznych, oceniono jako dobry.

Badania surowicy ryb obejmowały oznaczenie poziomu globulin metodą według Stona, Gittera (20), białka całkowitego metodą biuretową (9) oraz wskaźnika globulinowego odzwierciedlającego stosunek albumin do globulin.

Wyniki badań, przedstawione w tab. 3, podano w postaci średniej arytmetycznej i odchylenia standardowego.

Wyniki i omówienie

Poziom globulin u karp, w wieku od 2 do 29 miesięcy (masa ciała /m.c./ od 9 do 800 g), wzrastała w miarę ich rozwoju osobniczego. Największe ilości stwierdzono u karp w wieku 29 miesięcy, najmniejsze u ryb w wieku 10 miesięcy. Wśród tarlaków większe ilości globulin występowały u mleczażki niż u ikrzyce. Dynamika zmian ilości białka całkowitego w surowicy badanych karp kształtowała się analogicznie jak w przypadku ilości globulin. Jednak w odróżnieniu od globulin,

Tab. 1. Grupy karp użyte do badań

Grupa doświadczalna	Liczba ryb użytych do badań	Grupy hodowlane karp i ich symbole	Wiek (mies.)	Masa ciała (g±10%)
1	150	narybek - K ₁	2	9
2	120	narybek - K ₁	5	50
3	90	krocze - K ₂	10	50
4	90	krocze - K ₂	13	100
5	90	krocze - K ₂	17	200
6	60	karpie handlowe - K ₃	22	200
7	60	karpie handlowe - K ₃	25	400
8	60	karpie handlowe - K ₃	29	800
9	14	tarlaki/mleczażki - K _m	5 lat	5200
10	14	tarlaki/ikrzyce - K _i	5 lat	5800

Tab. 2. Badania chemiczne prób wody ze stawów, z których pochodziły karpie

Stawy w których pobrano próby wody	Pora roku (mies.)	Grupy doświadczalne ryb	Liczba zbadanych prób wody	Temperatura wody* (°C)	Badania chemiczne*					
					pH	O ₂ (mg/l)	NH ₄ ⁺ (mg/l)	NH ₃ (mg/l)	NH ₄ ⁺ + NH ₃ (mg/l)	PO ₄ (mg/l)
I	VII	1	33	24,1	7,02	6,85	0,55	ns	0,55	0,20
I	X	2	30	10,1	7,10	7,20	0,63	ns	0,63	0,30
II	III	3	12	3,6	6,96	8,40	1,73	ns	1,73	0,30
II	VI	4	12	21,4	7,45	8,40	1,80	ns	1,80	0,40
II	X	5	12	10,8	7,12	8,10	1,67	ns	1,67	0,30
III	III	6	9	4,1	7,21	7,30	1,36	ns	1,36	0,20
III	VI	7	9	21,7	7,24	7,50	1,37	ns	1,37	0,30
III	X	8	9	9,6	7,26	7,40	1,39	ns	1,39	0,50
IV	III	9, 10	6	3,8	7,35	7,40	1,80	ns	1,80	0,30

Objaśnienia: * - oznaczone parametry podano w postaci średnich arytmetycznych, ns - nie stwierdzono.

Tab. 3. Poziom białek surowiczych u zdrowych karpie

Grupa doświadczalna	Pora roku (mies.)	Wiek (mies.)	Masa ciała (g±10%)	Globuliny (g/l)	Wskaźnik globulinowy	Białko całkowite (g/l)
1	VII	2	9	9,09 ± 0,82	1,99	27,24 ± 1,39
2	X	5	50	9,59 ± 0,54	1,99	28,73 ± 1,27
3	III	10	50	8,79 ± 0,73	1,99	26,34 ± 1,84
4	VI	13	100	10,7 ± 0,52	1,99	32,21 ± 2,36
5	X	17	200	11,56 ± 0,61	1,99	34,64 ± 2,41
6	III	22	200	9,76 ± 0,96	1,99	29,25 ± 2,06
7	VI	25	400	11,22 ± 0,59	1,99	33,61 ± 2,31
8	X	29	800	11,62 ± 0,82	1,99	34,82 ± 2,15
9	III	5 lat	5200	11,34 ± 0,91	1,99	33,96 ± 1,97
10	III	5 lat	5800	10,29 ± 0,87	1,99	30,82 ± 2,22

różnice w ilości białka całkowitego występujące w poszczególnych grupach badanych karpie są większe. Wskaźnik globulinowy u karpie (grupa 1-10) utrzymywał się na jednakowym poziomie, niezależnie od wieku, masy ciała i płci.

Wzrastająca, z wiekiem ryb, ilość globulin i białka całkowitego w surowicy, a także większa ich ilość u młeczaków w stosunku do ikry jest, jak się wydaje, prawidłowością fizjologiczną. Wyniki badań własnych (tab. 3) z uwagi na brak danych odnośnie kształtowania się ilości globulin i białka całkowitego w procesie rozwoju osobniczego karpie i innych gatunków ryb, można po części odnieść do poziomu przeciwciał naturalnych (13) i immunoglobulin (10). Badania te (13) wykazały, że poziom przeciwciał naturalnych (hemaglutynin i hemolizyn), jest najniższy u ryb najmłodszych (pierwszy rok życia, m.c. około 50 g) natomiast najwyższy u tarlaków. Potwierdzają to także badania przeprowadzone u pstrąga tęczowego (10), w których wykazano, że ilość immunoglobulin surowiczych wzrasta do czasu uzyskania przez nie masy ciała 125 g. W okresie późniejszym utrzymuje się ona na poziomie występującym u ryb o masie ciała do 1000 g (10). Porównywalna ilość Ig surowiczych, u ryb o masie powyżej 125 g, wskazuje zdaniem Sanchez i wsp. (10) na uzyskiwanie przez

nie dojrzałości immunologicznej. W badaniach własnych „stabilne” ilości globulin i białka całkowitego obserwowano u karpie w wieku 13 miesięcy o masie ciała powyżej 100 g. Stąd wniosek, że globuliny i białko całkowite, podobnie jak czynniki humoralnej odporności nieswoistej np. lizozym (21), są wyższe u ryb starszych.

Brak różnic w wskaźniku globulinowym, którego wartość odzwierciedla między innymi stan równowagi biologicznej organizmu, u wszystkich badanych grup ryb zdrowych wskazuje na zbliżone proporcje globulin i albumin, niezależnie od wieku i płci karpie. Brak danych w piśmiennictwie pozwala proponować wyniki badań własnych (tab. 3), za odzwierciedlające stan fizjologiczny. Wydaje się, że wskaźnik ten może i powinien znaleźć zastosowanie w rutynowej diagnostyce ichtiopatologicznej, zwłaszcza chorób zakaźnych, tym bardziej że jest łatwy do oznaczania. W interpretacji wyników badań białek surowiczych większą wartość diagnostyczną może mieć, jak się wydaje, ich wzajemny stosunek niż bezwzględne ilości. Koncentracja białka całkowitego w surowicy ryb zdrowych różniących się wiekiem, kondycją czy pochodzących z różnych pod względem troficznym środowisk może nie być porównywalna. Jak wynika z badań własnych, wartość wskaźnika glo-

bulinowego pozostaje bez zmian u ryb wykazujących różne koncentracje białka całkowitego w surowicy.

Analizując poziom globulin i białka całkowitego (tab. 3), obserwuje się tendencję spadającą w okresie jesienno-wiosennym zarówno u ryb młodszych jak i starszych (wiek 10 i 22 miesiące). Spadek wartości tych wskaźników był jednak wyższy u ryb starszych. Zaobserwowane w badaniach własnych zjawisko jest zbliżone do wyników uzyskanych przez Tatner i Manning (26) u pstrąga tęczowego. Odzwierciedla ono, jak więc wydaje, zmiany związane z rozwojem organizmu oraz większą aktywność niektórych elementów obronnych u ryb młodych. Podkreślić jednak należy, że niezależnie od stwierdzonego spadku ilości białek surowiczych zasadnicza tendencja i kierunek zmian w okresie rozwoju osobniczego jest wyraźnie zachowana pomimo okresowo niskich temperatur.

Wnioski

1. Ilość globulin i białka całkowitego u karpia zdrowych w wieku od 2 do 29 miesięcy wzrasta wraz z ich rozwojem osobniczym, niezależnie od okresowych spadków związanych z wpływem niskich temperatur wody.

2. Wskaźnik globulinowy pozostaje bez zmian, niezależnie od wieku i płci badanych ryb oraz pory roku (temperatury wody).

Piśmiennictwo

1. Agius C.: Dev. Comp. Immunol. 5, 597, 1981.
2. Castillo A., Sanchez C., Dominguez J., Kaattari S. L., Villena A. J.: Dev. Comp. Immunol. 17, 419, 1993.
3. Chilmonczyk S.: Dev. Comp. Immunol. 6, 271, 1982.
4. Grace M. F., Botham J. W., Manning M. J.: Ontogeny of lymphoid organ function in fish. W: Aspects of developmental and Comparative Immunology – I. (Wyd. J. B. Solomon), Pergamon Press Oxford, New York, 1980, s. 467.
5. Grace M. F., Manning M. H.: Dev. Comp. Immunol. 4, 255, 1980.
6. Koumans-van Diepen J. C. E., Taverne-Thiele J. J., van Rens B. T. T. M., Rombout J. H. W. M.: Fish Shellfish Immunol., 4, 19, 1994.
7. Manning M. H., Grace M. F., Secombes Ch. J.: Dev. Comp. Immunol. Suppl. 2, 75, 1982.
8. Muona M., Soivio A.: Aquaculture, 106, 75, 1992.
9. Pinkiewicz E.: Podstawowe badania laboratoryjne w chorobach zwierząt, PWRiL, Warszawa 1971, s. 123.
10. Sanchez C., Babin M., Tomillo J., Ubeira F. M., Dominguez J.: Vet. Immunol. Immunopath. 36, 65, 1993.
11. Schneider B.: Dev. Comp. Immunol. 7, 739, 1983.
12. Secombes C. J., van Groningen J. J. M., van Muiswinkel W. B., Egberts E.: Dev. Comp. Immunol. 7, 455, 1983.
13. Siwicki A., Buczek J.: Folia Veter., 31, 121, 1987.
14. Siwicki A., Studnicka M.: Bamidgeh, 38, 126, 1986.
15. Siwicki A., Studnicka M.: Bull. Sea Fish. Inst. 3-4, 19, 1986.
16. Siwicki A., Studnicka M., Ryka B.: Bamidgeh, 37, 123, 1985.
17. Sopińska A.: Acta Ichthyologica Piscat. 13, 59, 1983.
18. Sopińska A.: Medycyna Wet. 41, 738, 1985.
19. Sopińska A.: Efekt immunostymulacji w przebiegu działania czynników osłabiających aktywność komórkowych procesów obronnych karpia. Praca habilit., AR, Lublin 1991.
20. Stone S. S., Gitter M.: Br. Vet. J. 125, 68, 1969.
21. Stosik M.: Dynamika ilości lizozymu i aktywności mieloperoksydazy u zdrowych karpia (*Cyprinus carpio* L.). Medycyna Wet. 1995 (oddano do druku).
22. Studnicka M., Siwicki A., Ryka B.: Bamidgeh, 38, 22, 1986.
23. Tatner M. F.: Vet. Immunol. Immunopathol. 12, 93, 1986.
24. Tatner M. F., Horne M. T.: Dev. Comp. Immunol. 7, 465, 1983.
25. Tatner M. F., Manning M. J.: Dev. Comp. Immunol. 7, 69, 1983.
26. Tatner M. F., Manning M. J.: J. Zool. Lond. 199, 503, 1983.
27. Tatner M. F., Manning M. J.: J. Fish Dis. 8, 35, 1985.

28. Van Loon J. J. A., Secombes C. J., Egherts E., van Muiswinkel W. B.: Ontogeny of the immune system in fish – role of the thymus. W: In vivo immunology, Wyd. P. Nieuwenhuis, A. A. van den Broek, M. G. Hanna, Plenum Press, New York, 1982, s. 335.

Adres autora: dr Michał Stosik, ul. Strumykowa 23c/4, 65-022 Zielona Góra

DANNATT L., GUY F., TREES A. J.: Ronienia w stadzie krów mlecznych wywołane przez *Neurospora* sp. (Abortion due to *Neurospora* species in a dairy herd). Vet. Rec. 137, 566–567, 1995 (22)

Neurospora caninum powodująca uszkodzenia układu nerwowego i zaburzenia płodności u psów nie różni się od gatunków *Neurospora* powodujących ronienia bydła. Latem oraz jesienią 1993 r. w stadzie liczącym 95 krów u 10 sztuk wystąpiły ronienia, średnio w 98 dniu ciąży. Badaniem histopatologicznym płodów stwierdzono łagodną postać nieropnego zapalenia mózgu i wieloogniskową głozię. Badania histochemiczne wykazały zakażenie *Neurospora* sp. Odczynem immunofluorescencji u 10 krów, które poroniły stwierdzono przeciwciała dla *Neurospora* w mianie 1:640–1:5120. Badanie krów po 2 tygodniach po ostatnim przypadku ronienia wykazało u 57 z 95 krów odczyn pozytywny w mianie powyżej 1:640. Badanie 4 cieląt urodzonych na krótko przed wystąpieniem ronień wykazało u jednego z nich obecność specyficznego przeciwciała w mianie 1:10 280, co świadczy o zakażeniu płodowym, u pozostałych cieląt miało miejsce przekazanie przeciwciał za pośrednictwem siary.

G.

MONGOMERY J. F., HUM S.: Rozpoznanie terenowe zatrucia azotynami u bydła w oparciu o badanie płynu wodnistego oka przy pomocy pasków przeznaczonych do badania moczu. (Field diagnosis of nitrite poisoning in cattle by testing of aqueous humour samples with urine test strips). Vet. Rec. 137, 593–594, 1995 (23)

Określono przydatność handlowego zestawu (paski bibuły, Cambur 9 test strips) do diagnozowania zatrucia azotynami wykorzystując wodnistą ciecz oka. Materiał do badań pochodził od 4 krów i jednego cielęcia, które padły po 4 dobach spożywania *Echinocloa frumentacea*. Badanie sekcyjne jednej krwi wykazało obecność punkcikowych wybroczyn na osierdziu. Przekrwienie narządów wewnętrznych, nagromadzenie galaretowatego nacieku o zabarwieniu słomkowym w worku osierdziowym. Badanie płynu z worka osierdziowego testem paskowym wskazywało na zatrucie azotynami. Występowała zgodność pomiędzy wynikami uzyskanymi przy użyciu pasków Cambur 9 dla cieczy wodnistej oka i dla płynu osierdziowego.

G.

PALACIO J., LISTE F., GASCON M.: Przydatność stosunku białko/kreatynina w moczu do oceny niewydolności nerek u psów z lajszmaniozą. (Urinary protein/creatinine ratio in the evaluation of renal failure in canine leishmaniasis). Vet. Rec. 137, 567–568, 1995 (22)

Zarażenie *Leishmania* występuje w basenie Morza Śródziemnego, Afryce, Azji oraz Ameryce Centralnej i Południowej głównie u psów i gryzoni, a także u człowieka. Endemicznie choroba występuje w Hiszpanii i w basenie Morza Śródziemnego porażając do 42% populacji psów. Objawy kliniczne zależą od typu *Leishmania*, fazy choroby, właściwości zarażonego organizmu. Ważne znaczenie przy tak różnorodnych objawach klinicznych, ma wczesne rozpoznanie choroby oraz prognozowanie jej zejścia. Badania przeprowadzono na 13 psach z objawami klinicznymi choroby, u których zarażenie *Leishmania* potwierdzono odczynem immunofluorescencji. Stosunek białka do kreatyniny w moczu wynosił u psów chorych $2,2 \pm 3,3$ zaś u zdrowych osobników $0,14 \pm 0,05$. Nie występowały przy tym zależności pomiędzy wartościami stosunku białka do kreatyniny w moczu a poziomem białka w surowicy krwi.

G.