

Cyjanobakterie czynnikiem zatruc u zwierząt

Zakład Biologii i Ekologii Morza, Uniwersytet Gdański, 81-378 Gdynia

*Department of Biological Sciences, University of Dundee, Dundee DD1 4 HN, Szkocja, Wielka Brytania

Masowe zakwity cyanobakterii (dawniej nazywanych sinicami) są charakterystycznym zjawiskiem, typowym dla wielu zbiorników wodnych, włączając w to jeziora, stawy, wolno płynące rzeki, zalewy, zatoki i otwarte wody Bałtyku (13). Woda wówczas jest zabarwiona na kolor niebieskozielony, może zmienić konsystencję i wyglądać jak zawieszista farba, ponadto sinice mogą tworzyć podczas masowego ich występowania spienione na powierzchni kożuchy. Zwały takich kożuchów są zwykle spychane wiatrem ku brzegom zbiornika. Zakwity te i pianowe kożuchy mogą być zagrożeniem dla zdrowia zwierząt i ludzi, gdyż wiele gatunków, które je tworzą jest zdolnych do produkcji toksyn (2, 3). Przypadki zatruc zwierząt domowych, masowych śnięć ryb oraz padnięć ptaków związanych z zakwitami cyjanobakterii oraz przypisywanych sinicom toksyn odnotowano w ostatnim stuleciu na całym świecie. Śmierć zwierząt, w tym bydła, owiec, koni, świń i psów oraz dzikiej zwierzyny występowała zawsze po picciu wody zawierającej toksyny sinic (1). W przypadku psów zatrucia mogą wystąpić także po zjedzeniu zeskorpiałego na brzegu kożucha po zakwicie albo resztek przyczepionych sinic podczas czyszczenia sierści po wyjściu z wody z zakwitami (6, 8).

W Europie toksyczne zakwity cyjanobakterii odnotowane były w co najmniej 20 krajach, w tym w Polsce. Zakwity takie nie zawsze produkują toksyny. Jednakże na podstawie badań prowadzonych między innymi w Finlandii, Norwegii, Szwecji, Wielkiej Brytanii i Australii stwierdzono, że w przynajmniej 50% zakwitów próba na toksyczność była pozytywna (5). Tak wielkie prawdopodobieństwo zatrucia wymaga takich samych działań jakie należałoby przyjąć przy założeniu, że każdy zakwit jest toksyczny, nawet gdyby okazało się, że jest inaczej. Odnotowywane sporadycznie zatrucia zwierząt nie podważają powyższego założenia, gdyż problem pozostaje otwarty chociażby w zakresie niedokładnego rozpoznania zjawiska, niekompletnych badań i braku informacji o zakwicie.

Potencjalnie toksycznymi sinicami pospolitymi w polskich wodach śródlądowych są spośród jednokomórkowych gatunki z rodzaju *Microcystis*, zaś z

nitkowatych z rodzaju *Anabaena*, *Oscillatoria*, *Aphanizomenon* i *Nodularia*. Nitkowate rodzaje występują w estuariach i wodach przybrzeżnych. Sinice tworzące zakwity i kożuchy produkują chlorofil, szereg barwników niebieskich i czasami barwniki czerwone. Mogą więc one dlatego zabarwić wodę na zielono, sinawo czy brązowo, produkując odpowiednio zabarwione kożuchy. Rozkładające się sinicowe kożuchy różnią się w szerokim zakresie kolorów od zielonego poprzez niebieskozielony, jasnoniebieski, białawy, ciemnoniebieski, z domieszką czerwieni aż do ciemnobrązowego.

Założeniem tego artykułu jest przedstawienie zagrożeń dla zdrowia zwierząt, powodowanych toksynami cyjanobakterii, opisanie objawów zatruc, podanie informacji na temat przygotowania materiału do badań oraz terapii zwierząt. Wskazane jest szczególnie uwrażliwienie na ten problem w Polsce ze względu na wzrost występowania zakwitów sinic w naszych zbiornikach wodnych oraz liczne raporty o intoksykacji zwierząt wskutek zatruc toksynami cyjanobakterii w sąsiednich i pozostałych krajach bałtyckich jak Niemcy, Dania, Szwecja czy Finlandia (12).

Właściwości toksyn, sposoby oddziaływania i objawy zatrucia

Wśród toksyn sinic można wyróżnić dwie grupy w zależności od ich oddziaływania na ssaki. Są to neurotoksyny i hepatotoksyny (4).

Neurotoksyny to substancje, które uszkodzają system nerwowy. Alkaloidowe neurotoksyny z grupy anatoksyna-a i homoanatoksyna-a są czynnikami blokującymi nerwowo-mięśniowe receptory powodując śmierć poprzez zahamowanie oddychania. Również o charakterze alkaloidowym dwie inne toksyny: saksitoksyna i neosaksitoksyna są czynnikami blokującymi kanały sodowe i powodującymi porażenie.

Do tej pory przebadano szczegółowo cztery neurotoksyny: anatoksynę-a i anatoksynę-a(s) występujące wyłącznie u sinic oraz dwie inne, saksitoksynę i neosaksitoksynę, które także wytwarzane są przez bruzdnice morskie. Po raz pierwszy budowę che-

miczną neurotoksyny, a była to anatoksyna-a, oznaczono w 1972 r. Toksyna ta, otrzymana z gatunku *Anabaena flos-aquae* okazała się alkaloidem, jednym z tysięcy związków bogatych w azot, o bardzo silnym działaniu biologicznym zwłaszcza na komórki układu nerwowego. Stwierdzono, że substancja ta wytwarzana jest przez różne gatunki z rodzaju *Anabaena* i *Oscillatoria*. Z chemicznego punktu widzenia przypomina ona przekaźnik nerwowy (neurotransmitter) – acetylocholinę.

Acetylocholina uwalniana przez neurony unerwiające komórki mięśniowe wiąże się z receptorami, gdzie znajdują się zarówno miejsce wiązania neurotransmitera, jak i kanał jonowy w błonie komórkowej. Gdy acetylocholina przyłącza się do receptorów, kanał zostaje otwarty wyzwalając ruch jonów, co powoduje skurcz komórek mięśniowych. Wkrótce kanał się zamyka, a receptory przygotowują się do odpowiedzi na nowe sygnały. Jednakże enzym zwany esterazą acetylocholinową rozkłada acetylocholinę i w ten sposób uniemożliwia nadmierne pobudzenie komórek mięśniowych. Anatoksyna, która jest analogiem acetylocholinę zastępuje ją w reakcjach przenoszenia bodźców. Powoduje ona śmierć, gdyż nie rozkłada jej ani esteraza acetylocholinowa, ani żaden inny enzym obecny w komórkach eukariotycznych. Będąc obecna w organizmie nieustannie pobudza mięśnie, wywołuje ich skurcz i drżenie prowadzące do znużenia i paraliżu. Atak na mięśnie oddechowe powoduje na skutek niedotlenienia mózgu, że organizm ginie w wyniku uduszenia. Druga anatoksyna-a, w nazwie której dodano literę (s) powoduje u kręgowców niezwykle silne ślinienie. Różni się ona budową chemiczną od anatoksyny-a. Jest ona występującym naturalnie organicznym fosforanem o działaniu podobnym do syntetycznych środków owadobójczych.

Podobnie jak anatoksyna-a i anatoksyna-a(s), dwie inne neurotoksyny – saksitoksyna i neosaksitoksyna – przerywają połączenia pomiędzy neuronami i mięśniami, czyli zaburzają wytwarzanie impulsu elektrycznego. Impuls ten przekazywany jest wzdłuż wypustki nazywanej aksonem dzięki przepływowi jonów sodu i potasu przez kanały w błonach aksonów. Kiedy impuls dotrze do końca aksonu, następuje uwolnienie na zewnątrz neuronu acetylocholinę zmagazynowanej w zakończeniu nerwowym. Zarówno saksitoksyna, jak i neosaksitoksyna blokują wpływanie jonów sodu przez kanały błonowe, co nie pozwala na przenoszenie impulsów i wydzielanie acetylocholinę.

Objawy towarzyszące zatruciu neurotoksynami cyjanobakterii powodują drgania pęczkowe mięśni, letarg, zapaść, sinicę, stupor u ptaków i konwulsje. Anatoksyna-a(s) dodatkowo może powodować silne ślinienie, łzawienie, bezład, drżenia, duszność i biegunki. W przypadku zażycia letalnej dawki śmierć połączona z trudnościami w oddychaniu i konwuls-

jami następuje po 15 do 45 minutach i spowodowana jest paralizem mięśni oddechowych. Dawka śmiertelna LD₅₀ określona na testach z myszami dla anatoksyny-a wynosi około 200 µg/kg, zaś dla anatoksyny-a(s) – 50 µg/kg. Stwierdzono, że ryby są kilkanaście razy bardziej czułe na działanie toksyn niż ssaki (14).

Hepatotoksyny obejmują ponad 50 typów cyklicznych heptapeptydów w grupie mikrocystyn oraz mniejszą liczbę cyklicznych pentapeptydów (nodularyn). Mikrocystyny i nodularyny działają wolniej niż neurotoksyny.

Pierwsza publikowana informacja, pochodząca z 1878 r. z Australii, w której autor opisuje pomór dużej liczby owiec, bydła i koni wskazuje na wodę zawierającą nitkowatą sinicę *Nodularia spumigena*. Jest to ten sam gatunek, który występuje w Bałtyku i tworzy latem zakwity. Wypadek z Australii, a potem szereg innych, odnotowanych na całym świecie były opisywane jako spowodowane przez trucizny, które nazwano hepatotoksynami. Śmierć zwierząt w wyniku zatrucia hepatotoksynami następuje przez szybkie i nieodwracalne uszkodzenie wątroby, co jest spowodowane masowym napływem krwi do wątroby i szokiem krwotocznym. Po podaniu doustnym śmierć następuje po 2-24 godzinach a po wstrzyknięciu do jamy ciała po 30 minutach do 2 godzin. LD₅₀ dla hepatotoksyn testowanych na myszach waha się w granicach od 45 do 320 µg na 1 kg ciężaru ciała. Jest to bardzo wysoka toksyczność, porównywalna z jadem kobry i działaniem strychniny. Wszystkie sinicowe hepatotoksyny oznaczone dotychczas to proste peptydy.

Wydzieloną grupą wśród hepatotoksyn są mikrocystyny, produkowane przez gatunki z rodzaju *Microcystis*, *Anabaena*, *Oscillatoria* i *Nostoc*. Opisano już ponad 20 typów mikrocystyn i ciągle odkrywane są nowe.

Dotychczas nie odnotowano natychmiastowych śmiertelnych zatruc u ludzi. Jednak spożycie wody zawierającej hepatotoksyny powoduje takie objawy, jak: wysypkę na skórze, gorączkę z wymiotami oraz biegunkę i ostre uszkodzenia wątroby. W doświadczeniach prowadzonych na komórkach ludzkich stwierdzono genotoksyczność hepatotoksyn. Kancerogenność tych substancji przewyższa klasyczny efekt mutagenny, powodowany przez benzen. Stwierdzono, że stałe spożywanie przez zwierzęta małych dawek hepatotoksyn prowadzi do schorzeń nowotworowych wątroby i nekrozy komórek wątrobowych, a tym samym do przyspieszonej śmierci. W wątrobie pojawiają się guzy, wybroczyny i staje się ona ciemna. U ssaków występują dodatkowo wyraźne płatowate krwotoki. Wskaźnikami zaburzeń w działaniu wątroby spowodowanymi zatruciem hepatotoksynami może być wzrost poziomu kwasu żółciowego, aminotransferazy alaninowej, transferazy gamma glutamylowej, aminotransferazy aspar-

tatowej i zwiększonej aktywności w surowicy alkalicznych fosforanów. Może również wystąpić powiększenie serca, krew w osierdziu, krwotok w śledzionie i w jelicie.

Sinice produkują również lipopolisacharydowe endotoksyny, które mogą powodować nieżyty żołądka z opisanymi wyżej objawami. Po spożyciu materiału z cyjanobakteriami odnotowywano również uczulenie na światło z pęcherzykami, łuszczeniem się i obrzękiem eksponowanej jasnej skóry uszu i powiek. Inne szczegóły diagnostyczne zawarte są w publikacji Beasley i wsp. (1).

Pobieranie materiału do badań

Próby materiału badawczego z zakwitu lub kożucha sinicowego winny być pobierane jak najszybciej, najlepiej zaraz po ich wystąpieniu. Jest to konieczne ponieważ toksyczność zakwitów lub kożuchów sinicowych może zmieniać się w ciągu kilku dni, a tworzenie się kożuchów i ich przemieszczanie jest uzależnione od warunków pogodowych. Kożuchy mogą tworzyć się w okresach bezwietrznej i stabilnej pogody, zwykle od czerwca do listopada i są gromadzone przy brzegu przez łagodny wiatr wiejący do łądu. Powoduje to koncentrację toksyn ponad milion razy. Potęguje to znacznie zagrożenie, gdyż wówczas wystarczy nieduża ilość wypitej wody aby już została osiągnięta wielkość letalnej dawki dostajnej. Zwykle jest to dużo mniej w porównaniu z dziennym zapotrzebowaniem zwierzęcia w wodę. Jednakże, gdy siła wiatru wzrośnie lub zmieni on kierunek, kożuch może się rozproszyć już w ciągu kilku godzin.

Próby zakwitu lub kożuchy sinicowe powinny być pobierane w celu identyfikacji mikroskopowej gatunków występujących sinic oraz dla analizy toksyn przez wyspecjalizowane laboratoria. Szczegóły dotyczące zbierania i przechowywania prób można uzyskać w Zakładzie Biologii i Ekologii Morza Uniwersytetu Gdańskiego. Metody analityczne toksyn sinicowych są dostępne w piśmiennictwie (7). Dodatkowo poza próbami pochodzącymi ze środowiska zaleca się pobrać materiał sinicowy od chorych zwierząt podczas terapii lub po ich padnięciu. Materiał taki, np. suchy kożuch sinicowy, przyklejony do pyska lub nóg należy poddać analizie mikroskopowej jak i na obecność toksyn. Do badań pobiera się także zawartość żołądka lub żwacza (9).

Leczenie i zapobieganie

Wyzdrowienie z sinicowych zatruc neurotoksynami i hepatotoksynami jest możliwe. Sukcesem uwieńczono było stosowanie środków wymiotnych i uspakajających, płukanie żołądka, podawanie aktywnego węgla drzewnego, wspomaganie płynami i wentylacja (np. 1; 10; 11). Terapia zatruc anato-

ksyną-a(s) jest możliwa poprzez stosowanie blokerów cholinergicznycch np. azotan metylowy atropiny (1).

Jako minimum postępowania zapobiegawczego rekomenduje się powstrzymanie zwierząt przed pićm wody z zakwitem lub zjadaniem kożuchów sinicowych. Jeżeli nie ma innego źródła wody niż woda z zakwitem, właściciele mogą dopuścić zwierzęta do picia z nawietrznej strony zbiornika wodnego, z dala od skumulowanego kożucha. Najbardziej skutecznym sposobem zapobiegania zatruciom zwierząt jest niedopuszczenie ich do zbiorników wody z zakwitem sinicowym. Dla osiągnięcia tego celu należy uświadamiać hodowców farmerów, właścicieli zwierząt i zarządzających zbiornikami wodnymi o zagrożeniach wynikających z zakwitów sinicowych.

Piśmiennictwo

1. Beasley V. R., Coppock R. W., Simon J., Ely R., Buck W. B., Corley R. A., Carlson D. M., Gorham P. R.: *Clinical Toxicology* 5, 345, 1989.
2. Bell S. G., Codd G. A.: *Reviews in Medical Microbiology* 5, 256, 1994.
3. Carmichael W. W.: *Journal of Applied Bacteriology* 72, 445, 1992.
4. Carmichael W. W.: *Świat Nauki* 3 (31), 32, 1994.
5. Codd G. A.: *Aquatic Problems* (wyd. A. Z. Keller i H. C. Wilson), t. 4, University of Bradford 1992, s. 33, 1.
6. Codd G. A., Edwards C., Beattie K. A., Barr W. M., Gunn G. J.: *Nature* 359, 110, 1992.
7. Codd G. A., Jefferies T. M., Keevil C. W., Potter E.: *Detection Methods for Cyanobacterial Toxins*, The Royal Society of Chemistry, Cambridge (Anglia), 1994, s. 191.
8. Edler L., Ferno S., Lind M., Lundberg R., Nilsson P. O.: *Ophelia* 24, 103, 1985.
9. Edwards C., Beattie K. A., Scrimgeour C. M., Codd G. A.: *Toxicon* 30, 1165, 1992.
10. Gunn G. J., Rafferty A. G., Rafferty G. C., Cockburn N., Edwards C., Beattie K. A., Codd G. A.: *The Veterinary Record* 130, 301, 1992.
11. Hoover J. P., Smith T. A.: *Veterinary Medicine*, 11, 1028, 1995.
12. Nehring S.: *Journal of Plankton Research* 15, 867, 1993.
13. Pliński M.: *Sanitarna kontrola środowiska – nowe problemy i techniki*, Gdynia 1996, s. 36.
14. Tarczyńska M., Zalewski M.: [w:] *Zintegrowana strategia ochrony i zagospodarowania ekosystemów wodnych*, Warszawa 1994, s. 79.

Adres autora: prof. dr hab. Marcin Pliński, Zakład Biologii i Ekologii Morza, Uniwersytet Gdański, ul. Piłsudskiego 46, 81-378 Gdynia

HENRY C. J., CLARK T. P., YOUNG D. W., SPANO J. S.: Stosunek kortyzol:kreatynina w moczu zdrowych kotów. (Urine cortisol:creatinine ratio in healthy and sick cats). *J. Vet. Intern. Med.* 10, 123–126, 1996 (3)

Określanie poziomu kortyzol:kreatynina w moczu (UCCR) wykorzystano w badaniach przesiewowych do diagnostyki nadczynności kory nadnerczy u psów i fretek. Wzrost wartości UCCR wskazuje na nadczynność, podczas gdy normalna wartość UCCR ją wyklucza. Oznaczenie poziomu UCCR w próbkach moczu klinicznie zdrowych 31 kotów oraz 16 chorych wykazało, że wartość UCCR u zwierząt zdrowych wynosiła $5,9 \pm 7,0$ (0,6–27,8). Zarówno wiek jak i stan gonad nie wpływały na wartość UCCR u zdrowych kotów. U kotów chorych wartość UCCR była istotnie wyższa i wynosiła $16,9 \pm 19,2$ (1,7–75,1). Przyczyną zachorowań u kotów było złamanie kości udowej, cysty w wątrobie, białaczka, odmiedniczkowe zapalenie nerek, zapalenie dziąseł, astma, chroniczna niewydolność nerek, zatwardzenie, zapalenie płuc, hematochezja, zapalenie pęcherza moczowego.