

ONEMOCNĚNÍ LEDVIN V INTENZIVNÍM CHOVU LOSOSOVITÝCH RYB – PŘÍPADOVÁ STUDIE

Minářová Hana^{1,2}, Mareš Jan³, Kopp Radovan³, Piaček Vladimír¹, Leščenko Petr¹, Pikula Jiří¹, Navrátil Stanislav¹, Palíková Miroslava¹

¹ Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, Ústav ekologie a chorob zvířete, ryb a včel

² Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Oddělení imunologie

³ Mendelova univerzita v Brně, Ústav zoologie, rybářství, hydrobiologie a včelařství

Úvod

Nefrokalcinóza je degenerativní zánětlivé onemocnění ledvin, které vzniká z různých příčin, nejčastěji následkem zvýšené koncentrace CO₂ ve vodě – vyšší koncentrace bývá např. v podzemních vodách (Mousavi et al., 2016) a má na ni vliv především organické znečištění. Dále je často uváděn vliv diety (Cowey et al., 1977), většinou však ve spojení s jinými faktory. Nemoc neprovází výrazná mortalita, úhyny se obvykle objevují až v důsledku stresu.

Materiál a metodika

Pstruzi duhový (*Oncorhynchus mykiss*) o průměrné hmotnosti 207,39 ± 79,56 g a celkové délce 24,41 ± 2,86 cm byli odchováni v kruhových nádržích recirkulačního systému pro intenzivní chov lososovitých ryb. Kromě těchto ryb (původem z Dánska) se v tomto chovu nachází ryby odlišných původů, u kterých byly zaznamenány stejné problémy. Voda pochází z podzemního zdroje (Tab. 1), k dezinfekci je ve velké míře využíván ozón. Ryby byly krmeny krmivem od firmy Le Gouessant Aquaculture (T-EXTRA, kompletní extrudované krmivo) dle doporučení výrobce. Pro srovnání byly rovněž vyšetřeny ryby o průměrné hmotnosti 62,94 ± 7,56 g a celkové délce 17,52 ± 0,75 cm odchovávané v recirkulačním systému na Mendelově univerzitě v Brně (Tab. 1).

Tabulka 1. Parametry vody v chovu a srovnání s chovem na Mendelově univerzitě v Brně (MENDELU). KNK = kyselinová neutralizační kapacita.

	Vyšetřovaný	MENDELU
Teplota [°C]	14,4	15,5
O ₂ [%]	129,3	102,4
pH	6,97	7,85
CO ₂ [mg/l]	10,68	1,05
KNK [mmol/l]	0,85	0,65
N-NH ₄ [mg/l]	0,09	0
N-NO ₂ [mg/l]	0,17	0,06
N-NO ₃ [mg/l]	53,30	98,00
P-PO ₄ [mg/l]	1,83	1,91
Cl ⁻ [mg/l]	75,52	133,80
Ca ²⁺ [mg/l]	77,15	-

Výsledky

Krev byla odebrána z ocasních cév do heparinizovaných stříkaček. Běžnými laboratorními postupy byly stanoveny hematologické (hematokrit, hemoglobin, počet

erytrocytů, MCV, MCH, MCHC, počet leukocytů) a po odstředění a odebrání plazmy biochemické (Na^+ , K^+ , Cl^- , Ca^{2+} , anorganický P, celkový protein, triacylglyceroly, cholesterol) parametry krve. Dále byly vyšetřeny i parametry acidobazické rovnováhy (pH, pCO_2 , HCO_3 , celkový CO_2 , base excess). Po usmrcení ryb, které bylo provedeno v souladu se zákonem č. 246/1992 Sb., na ochranu zvířat proti týrání, byly zhotoveny otiskové preparáty ledvin a také z nich byly odebrány vzorky k histopatologickému vyšetření. Zhotovení histologických preparátů bylo provedeno standardními metodami pro histologické zpracování vzorků. Kromě barvení hematoxylinem a eosinem byly některé řezy obarveny metodou dle Kossy (průkaz vápníku).

Ve vyšetřovaném chovu byly zaznamenány nízké přírůstky u ryb různého původu, úhyny však byly pouze sporadické. Před odběrem se ryby pohybovaly u hladiny nádrže. Mezi pozorovanými patomorfologickými změnami byly kožní léze o velikosti až 0,5 cm (petechie a hemoragie) a zvětšená tělní dutina. Tyto změny se u ryb vyskytovaly v různé míře a zastoupení. Pitva odhalila u některých ryb zvětšení plynového měchýře, změny na žábřích (mramorování, zduření), bělavé zbarvení močovodů v jejich kaudální části, zvětšená Stanniusova tělíska, a především změny na ledvinách různého stupně (mramorování, bělavé zbarvení, zduření v kaudální části nebo v celé délce, konglomeráty) a u jedné ryby zvětšená a bledá játra.

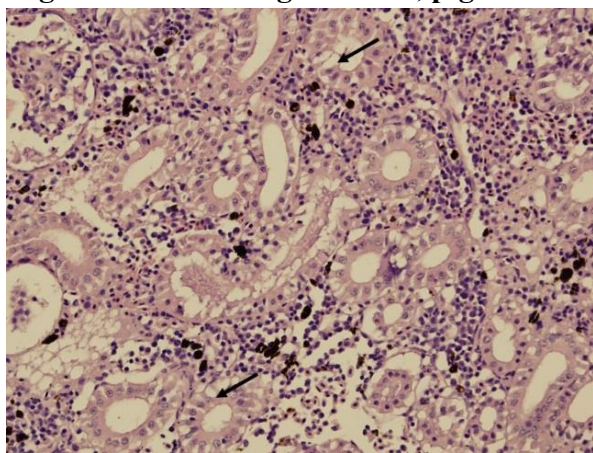
Rozdíly v krevních parametrech u vyšetřovaných ryb ve srovnání s chovem na Mendelově univerzitě v Brně jsou znázorněny v Tab. 2. Je patrné, že u sledovaných ryb je alkalóza vnitřního prostředí. Paralelní vyšší hodnoty pCO_2 naznačují, že se jedná o kompenzovanou alkalózu. V červeném krevním obrazu je zřejmá anémie.

Tabulka 2. Hematologické a biochemické vyšetření krve, vč. parametrů acidobazické rovnováhy – srovnání s chovem na Mendelově univerzitě v Brně (* = $P < 0,001$, ** = $P < 0,01$, * = $P < 0,05$). MCV = střední objem erytrocytu, MCH = průměrné množství hemoglobinu v erytrocytu, MCHC = střední koncentrace hemoglobinu v erytrocytu, base excess = odchylka bazí.**

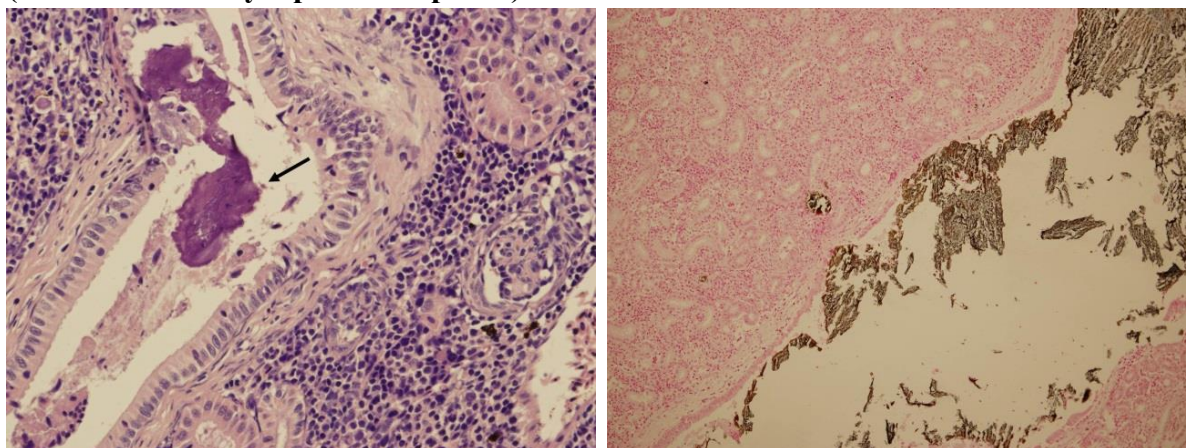
	Vyšetřovaný chov	MENDELU	
Hemoglobin [g/l]	$71,88 \pm 13,81^*$	$87,33 \pm 12,34$	↓
Erytrocyty [T/l]	$0,80 \pm 0,19^{***}$	$1,17 \pm 0,23$	↓
MCV [fl]	$440,84 \pm 58,66^{***}$	$314,18 \pm 55,97$	↑
MCH [pg]	$92,15 \pm 13,09^*$	$76,78 \pm 14,07$	↑
MCHC [g/l]	$0,21 \pm 0,02^{**}$	$0,25 \pm 0,03$	↓
Leukocyty [G/l]	$16,95 \pm 5,38^{***}$	$30,00 \pm 6,63$	↓
Na^+ [mmol/l]	$136,90 \pm 1,85^{***}$	$141,21 \pm 1,53$	↓
P_{anorg} [mmol/l]	$3,75 \pm 0,60^{**}$	$4,53 \pm 0,44$	↓
Triacylglyceroly	$3,14 \pm 1,38^{***}$	$1,47 \pm 0,59$	↑
Cholesterol [mmol/l]	$5,60 \pm 1,16^*$	$6,79 \pm 1,16$	↓
pH	$7,32 \pm 0,05^{***}$	$6,97 \pm 0,04$	↑
pCO_2 [kPa]	$9,31 \pm 1,93^{***}$	$2,15 \pm 0,27$	↑
HCO_3 [mmol/l]	$36,55 \pm 4,29^{***}$	$3,69 \pm 0,27$	↑
Celkový CO_2	$38,65 \pm 4,68^{***}$	$4,90 \pm 0,00$	↑
Base excess [mmol/l]	$10,53 \pm 4,43^{***}$	$-28,13 \pm 0,83$	↑

Otiskové preparáty ledvin byly vyšetřeny na přítomnost *Renibacterium salmoninarum* s negativním výsledkem. Histopatologické vyšetření zadní části ledvin odhalilo kongesci, ložiskovou vakuolizaci tubulární výstelky, pigmentová depozita, bazofilně zbarvené krystalické agregace v tubulech, některé s peritubulární/intersticiální lokalizací, zánětlivou infiltrací a edémem (Obr. 1,2). Specifickým barvením dle Kossy bylo potvrzeno, že se jedná o soli vápníku. U některých ryb s pokročilými změnami byl parenchym ledviny nahrazen proliferativně-reparatorní tkání, místy s degradací tubulů i glomerulů a s ložisky krystalických agregací i ve sběrných kanálcích. V plynovém měchýři byla v jednom případě zaznamenána zánětlivá infiltrace.

Obrázek 1. Parenchym zadní ledviny – vakuolizace tubulární výstelky (šipky), místy degradace tubulů a glomerulů, pigment v intersticiu, kongesce, zánětlivá infiltrace, edém.



Obrázek 2. Vlevo – krystalické agregace ve sběrném kanálku zadní ledviny (šipka), kongesce. Vpravo – tmavě zbarvená krystalická depozita vápníku ve sběrném kanálku (barvení dle Kossy – průkaz vápníku).



Diskuze a závěr

Zjištěné nálezy jsou typické pro nefrokalcinózu, mortalita je u tohoto onemocnění zpravidla nízká (Foss et al., 2003; Hosfeld et al., 2008). Patomorfologické změny popisované různými autory zahrnují petechie a hemoragie především u báze prsních ploutví a změny na žábřích (Hosfeld et al., 2008; Mousavi et al., 2016). Zánětlivé změny na plynovém měchýři ani změny na játrech nebývají jinými autory popisovány a mohou souviset s celkovým rozvratem

metabolismu. Vápenaté soli se ukládají především do ledvin, ale také do žaludku a kosterní svaloviny (Harrison & Richards, 1979). Ledviny bývají zduřelé a bělavě zabarvené (Mousavi et al., 2016). Histopatologický nález na ledvinách je pro nefrokalcinózu patognomický – tvorba krystalů kalcium fosfátu v tubulech, sběrných kanálcích a intersticiu a související zánětlivé změny (Harrison & Richards, 1979).

Koncentrace vápníku v krvi nebyla zvýšená, pravděpodobně kvůli alkalóze, může zde ale také být souvislost se zvětšením Stanniusových tělísek, která svou aktivitou hladinu vápníku snižují. Některé vědecké práce popisují výskyt onemocnění beze změny tohoto parametru (Chen et al., 2001). Změny krevních parametrů souvisí s poškozenou funkcí ledvin.

Mnoha autory byl zaznamenán vliv koncentrace CO₂ ve vodě na výskyt nefrokalcinózy (Foss et al., 2003; Hosfeld et al., 2008). Uváděné koncentrace, při kterých hrozí vznik onemocnění, jsou různé, zpravidla se jedná o hodnoty vyšší než 10-20 mg/l (Mousavi et al., 2016). Tento parametr, který je ovlivněn např. organickým znečištěním, je nepřímo úměrný pH, doporučení pro tento chov by tedy zahrnovalo snížení rybí obsádky a zvýšení pH vody. Rovněž je popisován i vliv diety (Cowey et al., 1977), v tomto případě je ale tato možnost vyloučena, jelikož se onemocnění vyskytuje u všech věkových kategorií, které jsou krmeny rozdílnými krmivy.

Poděkování

Tato práce byla financovaná projektem MZe NAZV QJ 1510077.

Použitá literatura

- Chen, C.-Y., Wooster, G.A., Getchell, R.G., Bowser, P.R., Timmons, M.B., 2001: Nephrocalcinosis in Nile Tilapia from a Recirculation Aquaculture System: A Case Report. *Journal of Aquatic Animal Health* 13 (4): 368–372.
- Cowey, C.B., Knox, D., Adron, J.W., George, S., Pirie, B., 1977: The production of renal calcinosis by magnesium deficiency in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *British Journal of Nutrition* 38 (1): 127–135.
- Foss, A., Røsnes, B.A., Øiestad, V., 2003: Graded environmental hypercapnia in juvenile spotted wolfish (*Anarhichas minor* Olafsen): effects on growth, food conversion efficiency and nephrocalcinosis. *Aquaculture* 220 (1–4): 607–617.
- Harrison, J.G., Richards, R.H., 1979: The pathology and histopathology of nephrocalcinosis in rainbow trout *Salmo gairdneri* Richardson in fresh water. *Journal of Fish Diseases* 2 (1): 1–12.
- Hosfeld, C.D., Engevik, A., Mollan, T., Lunde, T.M., Waagbø, R., Olsen, A.B., Breck, O., Stefansson, S., Fivelstad, S., 2008: Long-term separate and combined effects of environmental hypercapnia and hyperoxia in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) smolts. *Aquaculture* 280 (1–4): 146–153.
- Mousavi, S.M., Rezaie, A., Ahmadmoradi, E., Mohammadi, F., 2016: Histopathology of nephrocalcinosis in some ornamental fishes. *AACL Bioflux* 9 (3): 574–579.