

بررسی بالینی و آسیب شناسی اثرات ماده شوینده آنیونی بر آبشش ماهی حوض

دکتر داور شاهسونی*^۱ دکتر احمد رضا موثقی^۲ دکتر علی مقصدلو^۳

دریافت مقاله: ۲۵ خردادماه ۱۳۸۱
پذیرش نهایی: ۱۷ اسفندماه ۱۳۸۱

Clinical and histopathological study of the effects of an anionic detergent on the gill of Gold fish (*Carassius auratus*)

Shahsavani, D.,¹ Movassaghi, A.R.,² Maghsoudlou, A.³

¹Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, University of Mashhad, Mashhad - Iran. ²Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Mashhad, Mashhad - Iran. ³Graduated from the Faculty of Veterinary Medicine, University of Mashhad, Mashhad - Iran.

Objective: To study the clinical and histopathological changes caused by an anionic detergent on the gill of gold fish.

Animals: One hundred and forty Gold fish (with the length of 18 - 20 cm) divided into four groups.

Procedure: Fish in groups 1 to 3 received anionic detergent, 5 ppm, 10ppm and 15 ppm respectively. After 21 days, 7 fish were selected from each group randomly and gills were fixed in 10 percent buffered formalin.

Statistical analysis: Comparison of non - parametric data by scaling system based on the type and severity of the lesions.

Results: After exposing to the anionic detergent, all groups showed increased movement of the operculum and increased mucus secretion. Fish of groups 2 and 3, showed emication, petechial hemorrhage on skin, fin rot, keratitis, dermal ulcers and inappetite. Histopathologic lesions included epithelial necrosis of lamella, chloride cell hyperplasia and infiltration of inflammatory cells which were more prominent in groups 2 and 3.

Clinical implications: From the results of this study it seems that the anionic detergent which used in this study can cause many pathologic changes in the gill of Gold fish especially with the concentration of 10 ppm and 15 ppm respectively. The gills are important organs for examination means. They are sensitive to a number of irritants, parasites and chemical agents present in the water. *J. Fac. Vet. Med. Univ. Tehran. 58, 1: 29-32, 2003.*

Key words: Histopathology, Gill, Anionic detergent, Gold fish.
corresponding author email: davar@ferdowsi.um.ac.ir

و یا غیر مستقیم به داخل خورها یا اکوسیستم های آبی وارد می شوند و در کنار فاضلابهای صنعتی و کشاورزی به عنوان منبع دیگر آلودگی محیط آبی محسوب می گردند.

شوینده ها در تبادل اکسیژن لایه های سطحی آب مانع بوجود آورده و این رویداد بویژه در محل تخلیه فاضلابهای شهری متداول و رو به افزایش بوده و نتیجه آن ایجاد اختلال در اکوسیستم های آبی است. Jackson و From در سال ۱۹۸۷ در تحقیقی که بر روی ماهیان قزل الا انجام دادند. دریافتند مواد شوینده موجب آسیب بافتی بخصوص در بافت آبشش شده و موجب افزایش نفوذ پذیری آن می گردد. Abel در سال ۱۹۸۷ مشاهده کرد غلظت کم مواد شوینده اثر واضح پاتولوژیکی روی بافت آبشش ندارد. اما غلظت بالای آن موجب آسیب بافتی می گردد (۱،۲،۵،۶،۱۲).

مواد و روش کار

در این تحقیق چون ماهی قرمز علاوه بر مقاوم بودن از لحاظ بافت شناسی، آناتومیکی و فیزیولوژیکی بسیار شبیه دیگر گونه های خانواده کپور ماهیان

هدف: بررسی تغییرات بالینی و آسیب شناسی ناشی از ماده شوینده آنیونی بر آبشش ماهی قرمز.

حیوانات: یکصد و چهل قطعه ماهی قرمز با طول ۲۰-۱۸ سانتیمتر که در ۴ گروه تقسیم شدند.

روش: ماهیان گروه های ۱ الی ۳ به ترتیب ۵ ppm، ۱۰ ppm و ۱۵ ppm از ماده شوینده را دریافت نمودند. بعد از ۲۱ روز، ۷ ماهی از هر گروه به صورت تصادفی انتخاب و بافت آبشش در محلول فرمالین بافر ۱۰ درصد قرار داده شد و پس از انجام مراحل آماده سازی بافت، مقاطع به دست آمده به روش هماتوکسیلین و ائوزین رنگ آمیزی و با استفاده از میکروسکوپ نوری مورد بررسی و مقایسه قرار گرفتند. تجزیه و تحلیل آماری: مقایسه یافته های غیر پارامتریک با استفاده از سیستم درجه بندی بر اساس نوع و شدت ضایعات.

نتایج: ماهیان هر سه گروه بعد از استفاده از ماده شوینده، افزایش حرکات سرپوش آبششی همراه با افزایش موکوس روی سطح آبشش را نشان می دادند. ماهیان گروه دوم و سوم، لاغری، خونریزی پتشی روی پوست، پوسیدگی باله کراتیت، زخم جلدی و بی اشتها را نشان می دادند. در گروه های دوم و سوم، ضایعات هیستوپاتولوژیکی شامل نکروز بافت پوششی لاملا، هیپرپلازی سلولهای کلراید و نفوذ سلولهای آماسی از شدت و وسعت بیشتری برخوردار بودند.

نتیجه گیری: در پایان با توجه به یافته های بالینی و نتایج موجود در این مطالعه می توان اظهار داشت که ماهیانی که در معرض ماده شوینده آنیونی با غلظت ۱۰ ppm، ۱۵ ppm قرار گرفتند (گروه های دوم و سوم) ضایعاتی به مراتب شدیدتر از ماهیان گروه اول نشان دادند. آبششها اندامهای مهمی برای تشخیص بیماری در ماهیان می باشند، به علت این که به طور مستقیم در تماس با محیط قرار دارند و به بسیاری از محرکها، انگلها و موادمیمیایی موجود در آب حساسیت نشان می دهند. مجله دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، (۱۳۸۲)، دوره ۵۸، شماره ۱، ۲۹-۳۲.

واژه های کلیدی: آسیب شناسی سلولی، آبشش، ماده شوینده آنیونی، ماهی قرمز.

سیستمهای آبی پیوسته مواجه با مشکلات ناشی از آلاینده ها هستند که از منابع مختلف مانند فاضلابهای صنعتی، پسابهای کشاورزی و فاضلابهای شهری وارد آنها می شوند. این مواد (شوینده ها، سموم، فلزات سنگین، فرآورده های نفتی) برای سیستمهای زیستی آبی بیگانه و زبان آور بوده و اکثراً بدون تصفیه به آنها رها می گردند. این سموم وارد زنجیره غذایی اکوسیستم آبی شده و در کنار آلودگیهای ایجاد شده توسط سایر مواد سمی باعث اختلالات یا تغییرات فیزیکی شیمیایی می شود، لذا مطالعه اکوسیستم های آبی یک ضرورت است. امروزه شوینده های مصنوعی به دلیل مصرف زیادشان بسیار مهم بوده و موجودات آبی را با خطر آلودگی مواجه می نماید. این شوینده ها ممکن است توسط باکتریها تجزیه شوند اما در غلظتهای زیاد ممکن است باکتریها نتوانند نقش خود را ایفا کنند، زیرا برای تجزیه زیاد شوینده ها مانع عمل آنزیمهای باکتریها می شود، این آنزیمها برای تجزیه یا کاهش اثر شوینده ها ضروری هستند. تجزیه بیولوژیک شوینده ها در آلودگیهای شدید تقریباً غیر ممکن می باشد. شوینده ها یکی از آلاینده های مهم بوده و توسط فاضلابها به آبهای ساحلی و همچنین به طور مستقیم

۱) گروه آموزشی علوم در مانگامی دانشکده دامپزشکی دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد - ایران.
۲) گروه آموزشی پاتوبیولوژی دانشکده دامپزشکی دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد - ایران.
۳) دانش آموزانه دانشکده دامپزشکی دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد - ایران.
(* نویسنده مسئول: davar@ferdowsi.um.ac.ir



جدول ۱- نوع و شدت ضایعات در آبشش ماهیان تحت آزمایش

گروه ماهیان	گروه شاهد	گروه ۱ ۵ ppm	گروه ۲ ۱۰ ppm	گروه ۳ ۱۵ ppm
ضایعات				
هیپرپلازی بافت پوششی فیلامنتها	-	-	-	-
خونریزی	-	-	-	-
نکروز بافت پوششی لاملا	-	-	+	++
چسبندگی لاملاها	-	-	+	-
هیپرپلازی سلولهای کلراید	-	++	++	++
هیپرپلازی سلولهای موکوسی	-	-	-	+
نفوذ سلولهای آماسی	-	++	++	++

(- عدم وجود ضایعه، + ضایعه ضعیف، ++ ضایعه متوسط، +++ ضایعه شدید)

Sniezko در سال ۱۹۹۰ در تحقیقی که روی ماهیان آب شیرین انجام داد دریافت که استرس محیطی به هر دلیلی که تأثیر روی بافت آبشش بگذارد، سبب تکثیر اپی تلیوم آبشش و چسبندگی لاملاهای آن می گردد. Mckim در سال ۱۹۹۲ اثرات تعدادی از مواد شیمیایی را روی بافت پوششی ماهی قزل آلا جویباری مورد بررسی قرار داد و دریافت اپی تلیوم لاملاها که محل تبادل گازهاست، سطح مناسب برای تأثیرات پاتولوژیک مواد شیمیایی می باشد. Smart در سال ۱۹۸۶ در طی آزمایشی که روی ماهی قزل آلا انجام داد دریافت که اثرات غلظتهای بالای آمونیاک موجب آسیب در بافت آبشش و ایجاد ضایعات بافتی می شود.

Jock و Van overbeeke در سال ۱۹۹۱ اظهار داشتند که بسیاری از مواد شیمیایی در شرایط اسیدی سبب تحریک ترشح موکوس از آبششها، غشاهای دهانی و پوست می شوند که اثر آنها روی لاملاها بیشتر مورد توجه بود. نتایج حاصله از این تحقیق مشابه نتایج دیگر محققین می باشد، به طوری که ماهیان تحت آزمایش در گروه ۳ افزایش ترشح موکوس در سطح بدن، افزایش تعداد تنفس، ضایعات جلدی، بی اشتها، سستی و بیحالی را نشان می دادند. بیشترین شیوع ضایعات در زمان آلودگی شیمیایی که در محیط اتفاق می افتد موجب پرخونی، خونریزی در سطح آبشش، افزایش تولید موکوس، هیپرپلازی یا نکروز بافت آبشش، نفوذ سلولهای آماسی و ادم دیده می شود. که در بررسی میکروسکوپی وجود ضایعات هیستوپاتولوژیک در بافت آبشش مورد تأیید قرار گرفت و همچنین رابطه ای مستقیم بین افزایش غلظت ماده شوینده و شدت ضایعات در بافت آبشش مشاهده می شود. ساختمان ظریف آبششها به روشهای مختلف به جراحات پاسخ می دهند که به نوع، مقدار و مدت زمان تماس با ماده شیمیایی بستگی دارد، در اکثر موارد ضایعات در میان کمانهای آبششی انتشار پیدا می کند، هر چند که عوامل اختصاصی روی سلولهای خاصی اثر می کنند. برای مثال تخریب و نکروز سلولهای کلراید در مسمومیت با کادمیم و نیتريت دیده می شود. احتمالاً ماده شوینده موجب افزایش نفوذپذیری بافت آبشش به آب گردیده و این امر باعث برهم خوردن تعادل الکترولیتها در سرم خون شده، برای جبران این نقصان در بافت آبشش، سلولهای کلراید افزایش می یابند تا تنظیم الکترولیتی را انجام دهند. حرکت ماهیان به سطح آب و تجمع یافتن در اطراف سنگ هوا نشانگر آسیب شدید بافت آبشش بوده که موجب اختلال در تبادلات گازی می شود. لذا ماهیان برای تأمین اکسیژن مورد نیاز در مکانهایی که اکسیژن بیشتری دارد تجمع می یابند. ریزش فلس ها و کراتیت بیانگر آسیب سلولهای پوششی پوست و چشم می باشد که در برخی از ماهیان زخمهای جلدی شدید و پوسیدگی باله ها هم مشهود بود. آسیت یا تجمع مایع در محوطه بطنی برخی از ماهیان احتمالاً بر اثر آسیب بافت کلیه و کبد می باشد که احتیاج به تحقیق بیشتری دارد (۱،۴،۵،۷،۸،۱۰،۱۱).

می باشد لذا به عنوان الگوی آزمایشی انتخاب گردید. جهت بررسی بالینی و آسیب شناسی آبشش ناشی از ماده شوینده آنیونی یک گروه به عنوان شاهد و ۳ گروه تحت آزمایش در نظر گرفته شده بود. تعداد ۱۴۰ عدد ماهی قرمز (۲۰-۱۸ سانتیمتر) انتخاب و با محلول نمک ۳ درصد به مدت ۱۵ دقیقه ضد عفونی گردیدند. سپس ماهیان به ۴ گروه ۳۵ تایی تقسیم شدند. به محیط گروه اول ۵ ppm، گروه دوم ۱۰ ppm و به گروه سوم ۱۵ ppm ماده شوینده اضافه می گردید و گروه شاهد در محیط پاک و بدون آلودگی نگهداری می شدند. ماهیان به مدت ۲۱ روز تحت آزمایش قرار گرفتند، دمای آب در طول آزمایش ۲۳ درجه سانتیگراد و اکسیژن محلول ۶/۵ - ۶ میلیگرم در لیتر و سختی آب آکواریم در حدود ۱۰۰ میلیگرم در لیتر بود. هر ۳ روز یکبار آب آکواریم تعویض می گردید و مجدداً برای هر گروه دوز ماده شوینده مورد نظر اضافه می گردید (حجم آب هر آکواریم ۲۰۰ لیتر). بعد از پایان دوره آزمایش از هر گروه به طور تصادفی ۷ ماهی انتخاب نموده، بعد از تهیه مقاطع بافتی به روش H&E رنگ آمیزی شدند و سپس هر یک از لاملاها با استفاده از میکروسکوپ نوری با بزرگنماییهای مختلف مورد بررسی قرار گرفتند.

LC50 این ماده شوینده در این مطالعه ۳۵-۳۰ ppm در مدت ۲۴ ساعت ثبت گردید، در این تحقیق دوزهای کمتر از LC50 انتخاب شد تا هم بررسی بالینی و هم آسیب شناسی در ماهی قرمز انجام پذیر گردد.

ترکیب اصلی مواد شوینده آنیونی (حدود ۹۰ درصد) آلکیل بنزن سولفاتنات خطی می باشد که یکی از عمده ترین سورفکتانتها مورد استفاده در صنعت شوینده ها در ایران هستند و سایر ترکیبات شامل آب، بتائین، کلراید سدیم، اسید سیتریک و مواد معطر می باشد و سختی آب آکواریم در حدود ۱۰۰ میلیگرم در لیتر بود.

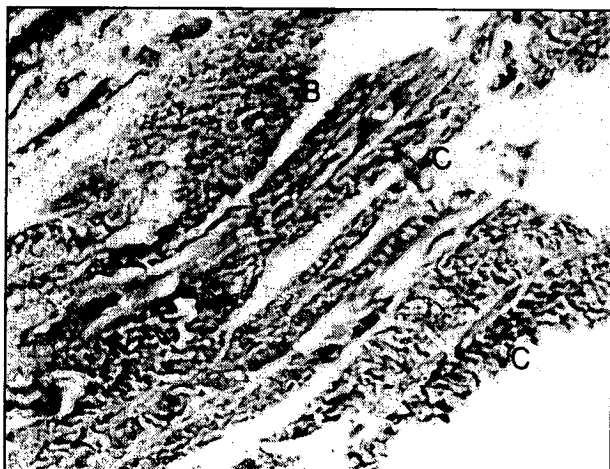
نتایج

علایم بالینی: در ماهیان مورد تحقیق در هر ۳ گروه بعد از استفاده از ماده شوینده در طول دوره آزمایش، تعداد حرکات سرپوش آبششی آنها افزایش پیدا کرده و افزایش موکوس روی سطح آبشش و بدن دیده می شد. ماهیان اغلب به سطح آب آمده تا هوا را از سطح آب ببلعند. همچنین برخی از ماهیان در یک گوشه آکواریم در کنار سنگ هوا در جایی که میزان اکسیژن بیشتر بود، تجمع پیدا می کردند. در گروه دوم و سوم آسیت در تعدادی از ماهیان، ریختن فلسها، لاغری، پتشی در روی باله ها و پوست، کراتیت در چشم، زخم در روی تنه و ساقه دم، پوسیدگی باله ها و عدم تمایل به غذا مشاهده گردید (۳،۹).

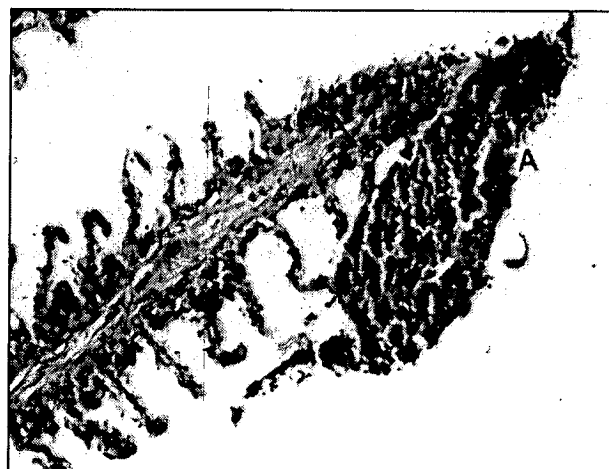
بحث

Jackson و همکاران در سال ۱۹۸۷ با در معرض قرار دادن ماهی قزل آلا رنگین کمان با دز حاوی از یک نوع ماده شوینده، نفوذپذیری آبشش به آب را یک پدیده جالب ذکر کردند و مشخص گردید که تأثیر ماده شوینده وابسته به دز بوده است (۵-۱۰ ppm). Abel در سال ۱۹۸۵ مشاهده کرد که غلظت ۵ میلیگرم در لیتر ماده شوینده اثر واضح پاتولوژیکی روی آبشش ایجاد نمی کند، اما غلظت زیاد آن موجب آسیب بافت آبشش می گردد. Perrys و Hughes در سال ۱۹۸۶ تأثیر نیکل و کادمیوم را روی بافت آبشش ماهی قزل آلا مورد بررسی قرار دادند که افزایش ترشح موکوس، هیپرپلازی سلولهای کلراید و نکروز بافت پوششی را در آزمایشات میکروسکوپی مشاهده نمودند.

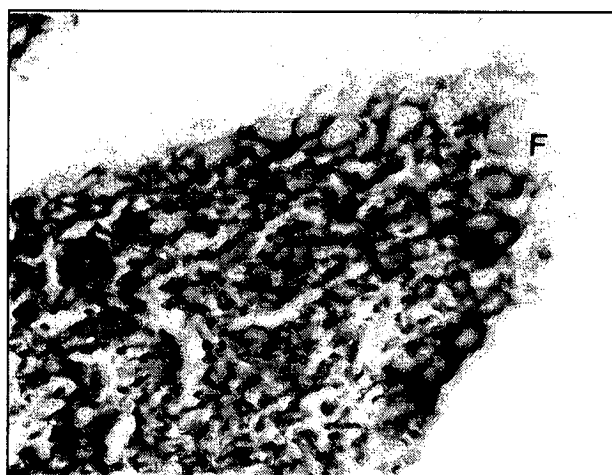




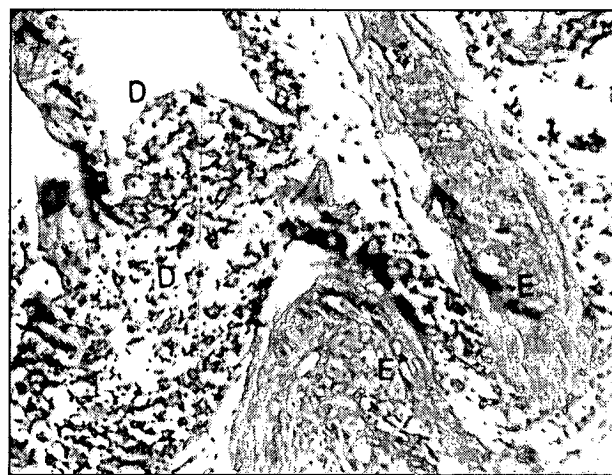
تصویر ۲- (B) نکروز بافت پوششی لاملاها (C) چسبندگی لاملاها (H&E، x۱۶۰).



تصویر ۱- (A) دم و پر خونی در رشته های آبشش (H&E، x۶۴).



تصویر ۴- (F) هیپر بلازی سلولهای موکوسی (H&E، x۶۴۰).



تصویر ۳- (D) نکروز بافت پوششی لاملاها همراه با نفوذ سلولهای آماسی (E) هیپر بلازی سلولهای کلراید (H&E، x۳۲۰).

References

1. Abel, P.D. and Skidmore, J.F. (1985): Toxic effects of an anionic detergent on the gills of Rianbow trout. *Water Res.* 9: 759.
2. Alan, G.H.(1987): *Water Pollution and Fish Physiology*. By CRC Press, Inc. PP: 34-38, 116-126.
3. Ferguson, H.W. (1989): *Systemic pathology of fish*. Iowa State University Press/Ames. PP: 12-14.
4. Hughes, G.M. and Perrys, F. (1986): Morphometric study of Rianbow trout gills:A light microscopic method suitable for the evolution of pollutant action. *J.Exp. Biol.* 64,447.
5. Jackson,W.F. and From, P.O. (1987): Effects of a detergent on flux of tritiated water into isolated perfused gills of Rianbow trout. *Comp. Biochemm. Physiol.* 58c, 167.
6. Lloyd, R. (1992): Pollution and Fresh water fish. *J Fish Biol.* 1992, 7,10,144.
7. Lock, R. A. and Van overbeeke, A.P. (1991): Effects of mercuric chloride and methylmercuric chloride on mucus secretion in Rianbow trout. *Comp. Biochem. Physiol.* 69c. 67.



تصویر ۵- (G) پر خونی همراه با هیپر بلازی سلولهای کلراید و نفوذ سلولهای آماسی (H&E، x۶۴۰).



8. Mckim, J. M. and Goeden, H.m. (1992): A direct measure of the uptake efficiency of a Xenobiotic chemical across the gills of brook trout under normoxic and hypoxic conditions. *Comp. Biochem. Physio.* 66,330.
9. Ronald, J.R. (1989): *Fish Pathology*. Bailliere Tindall London publication. Snd ed. PP: 357.
10. Smart,GR. (1986): The effect of ammonia exposure on gill structure of the Rainbow trout. *J Fish Biol.* 8,471.
11. Snieszko, S.F. (1990): Bacterial gill disease of fresh water fishes. In *Fish Disease Leaflet*, 62, US Fish and wild life service, Division of fishery Ecology Research, Washington. D.C. PP: 57-63.
12. Stoskopf, M. (1993): *Fish Medicine*, W.B.Saunders Company. PP: 8-9.