

10. Filatow P. V.: Medycyna Wet. 21, 329, 1965.
11. Grundboeck M.: Medycyna Wet. 23, 116, 1967.
12. Grundboeck M.: Medycyna Wet. 24, 257, 1968.
13. Grundboeck M.: Medycyna Wet. 24, 360, 1968.
14. Grundboeck M., Wilczyńska-Ciemiega K., Wojtoń T.: Medycyna Wet. 26, 726, 1970.
15. Grundboeck M., Wilczyńska-Ciemiega K.: Medycyna Wet. 28, 4, 1972.
16. Grundboeck M., Wilczyńska-Ciemiega K., Wojtoń T.: Pol. Arch. wet. 15, 9, 1972.
17. Haremski T.: Medycyna Wet. 22, 295, 1966.
18. Karaszewicz M.: Prz. lek. 3, 391, 1970.
19. Kudrjavceva T. P.: Veterinarija, Moskwa 45, 42, 1968.
20. Martin J.: Podstawy matematyki i statystyki dla biologów, lekarzy i farmaceutów. PZWL, Warszawa, 1972.
21. Meuszyński S.: Medycyna Wet. 21, 193, 1965.
22. Meuszyński S.: Medycyna Wet. 23, 449, 1967.
23. Pawłowski Z.: Statystyka matematyczna. PWN, Warszawa, 1961.
24. Perkal J.: Matematyka dla przyrodników i rolników. Cz. I, II, III, PWN, Warszawa, 1963.
25. Szulc A.: Medycyna Wet. 23, 612, 1967.
26. Ueberschär S.: Arch. exp. Vet.-Med. 25, 285, 1971.
27. Urbaneck D.: Arch. exp. Vet.-Med. 22, 1233, 1968.
28. Urbaneck D., Wittmann W.: Arch. exp. Vet.-Med. 25, 698, 1971.
29. Wiesner E.: Die Leukose des Rindes. G. Fischer Verlag, Jena, 1967.
30. Wittmann W., Seils H.: Arch. exp. Vet.-Med. 23, 775, 1969.
31. Wolska A.: Medycyna Wet. 22, 39, 1966.
32. Wolska A.: Medycyna Wet. 23, 452, 1967.
33. Zadura J., Roszkowski J.: Biul. vet. Inst. Puławy 17, 90, 1972.
34. Zieliński R.: Tablice statystyczne. PWN, Warszawa, 1976.
35. Zuliński T.: Medycyna Wet. 18, 131, 1962.

Adres autora: dr Hubert Twardowski, ul. Polanki 108, 80-305 Gdańsk

Твардовский Г., Копчевский А. — Результаты гистопатологических исследований скота, больного лейкозом, в Гданьском и Эльблонгском воеводствах

В работе представили результаты гистопатологических исследований проб, происходящих от скота, подозреваемого в бугристой форме лейкоза, с тер-

ритории Гданьского и Эльблонгского воеводств. Представили статистические данные по интенсивности появления бугристой формы лейкоза, а также ее динамику и разницу в ее появлении между обоими воеводствами, а также сравнили число положительных и отрицательных результатов в обоих воеводствах.

Результаты исследований объяли 1974—1984 гг. В общем исследовали 4089 коров, в том 1606 из Гданьского, а 2483 — из Эльблонгского воеводства. В исследуемых воеводствах распознали гистопатологически бугристый лейкоз у 98,09% коров. В 1974—1984 гг. в обоих воеводствах появились разные тенденции по развитию лейкоза: в Эльблонгском воеводстве отметились понижение, в Гданьском же воеводстве рост заболеваний лейкозом скота.

Twardowski H., Kopczewski A. — Results of histopathological examinations of cattle suffered from leukaemia in the Gdańsk and Elbląg provinces

The findings of histopathological examinations of the samples, taken from cattle with the signs of tumorous leukaemia and sent to the Veterinary Diagnostic Laboratory in Gdańsk, have been presented. Statistical data regarding the intensiveness of the disease, its dynamics and differences between two provinces were given; the positive and negative findings in the both districts were compared. The results concerned the period between 1974—1984. Altogether 4089 cows were examined: 1606 came from the Gdańsk province and 2483 from the Elbląg district. Histopathological examinations confirmed tumorous leukaemia in 98.09%. Different trends as to the development of leukaemia were noted in the two districts: a decrease in the Elbląg province and an increase in the Gdańsk district were observed.

ANTONINA Sopińska

## Wpływ temperatury na stopień fagocytozy u karpia\*)

Zakład Chorób Ryb Instytutu Chorób Zakaźnych i Inwazyjnych Wydziału Weterynaryjnego AR, ul. Akademicka 12, 20-033 Lublin

Fagocytoza odgrywa ważną rolę w komórkowych mechanizmach obronnych skierowanych przeciwko czynnikom patogenicznym (25), a także w produkcji przeciwciał (1, 15, 17, 27). Proces fagocytozy został dokładnie poznany u ssaków w badaniach *in vitro* i *in vivo* (5, 9, 10, 18, 22, 28). Znacznie mniej badań poświęcono zwierzętom zmiennocieplnym (3, 19, 24, 26), a tylko niektóre z nich rybom, zwłaszcza karpom (3, 4). U ryb — podobnie jak u ssaków — zdolność do fagocytozy posiadają makrofagi oraz granulocyty obojętnochłonne (neutrofile). Komórki te są produkowane u ryb przez organy limfatyczne (nerka głowowa i śledziona) oraz skrzela, przedsionek serca i otrzewną (4, 6, 7, 8, 11, 13, 16).

Wiadomo, że obecność odpowiednich przeciwciał skierowanych przeciw wprowadzonemu do organizmu antygenowi oraz komplement podwyższają aktywność fagocytarną komórek u ssaków. Cząsteczki obce wprowadzone do orga-

nizmu ulegają opsonizacji czyli przysposobieniu do wychwytywania przez fagocyty poprzez wiązanie ze swoistym przeciwciałem posiadającym fragment  $F_c$  oraz zaktywowanymi przez ten kompleks (antygen-przeciwciało) komplementem (25). Tę samą zależność obserwowano u ryb łososiowatych (21, 23), u których na powierzchni komórek fagocytujących stwierdzono obecność receptorów  $F_c$  dla fragmentu przeciwciała opsonizującego oraz receptory dla składowej komplementu  $C_3$ . Antygen związany przez te receptory pochłaniany jest przez fagocyt i rozkładany wewnątrz powstałego fagosomu przy udziale enzymów lizosomalnych.

Jedną z metod oceniających stopień fagocytozy jest określanie go na podstawie indeksu fagocytarnego. Jest to średnia liczba cząstek sfagocytowanych przez jedną komórkę fagocytującą.

Celem pracy było określenie przydatności indeksu fagocytarnego do oznaczenia stopnia fagocytozy u karpia oraz jego zmienności zależnej od temperatury środowiska.

\* Praca finansowana przez Instytut Rybałstwa Śródlądowego w Olsztynie.

Tab. 1. Wpływ temperatury na stopień fagocytozy u karpia ( $\bar{x} \pm s$ )

Obliczane wartości	Temperatura inkubacji				
	4°C	10°C	15°C	25°C	37°C
Indeks fagocytny	7,81 $\pm$ 0,97	12,13 $\pm$ 2,86	19,00 $\pm$ 3,30	29,24 $\pm$ 4,45	41,87 $\pm$ 9,82
Procent makrofagów fagocytyjących	43,5 $\pm$ 9,14	76,0 $\pm$ 6,14	83,0 $\pm$ 8,56	91,4 $\pm$ 4,55	87,5 $\pm$ 8,24

### Materiał i metody

Do badań użyto leukocytów pochodzących od 10 karpia o masie 250—300 g oraz bakterii *Staphylococcus aureus* 209P. Przed pobraniem krwi ryby przetrzymywano w akwariach z przepływem wody i napowietrzaniem. Karmiono je 2 razy w tygodniu. Po okresie adaptacyjnym od każdej ryby pobrano z serca dwie próbki krwi w celu otrzymania z jednej — surowicy, natomiast z drugiej — leukocytów metodą sedymentacji. Do dalszego badania użyto zawiesiny krwinek białych o gęstości  $2 \times 10^6$  w 1 ml podłoża Eagle'a z dodatkiem 10% surowicy cielęcej.

Zawiesinę bakterii *Staphylococcus aureus* 209P uzyskiwano z 18-godzinnej hodowli na skosie agarowym. Bakterie przepłukiwano w buforze weronałowym i zawieszano w płynie Hanksa doprowadzając zawiesinę do gęstości  $2 \times 10^7$  komórek/ml. Gęstość tę uzyskiwano przez porównanie zmętnienia zawiesiny bakteryjnej ze zmętnieniem zawiesiny standardowej przygotowanej wg skali Mc Farianda.

W I etapie badania zjawiska fagocytozy *in vitro*, dodano 0,2 ml zawiesiny bakterii do 0,2 ml surowicy karpia. Mieszaninę tę pozostawiono na okres 30 minut w temperaturze pokojowej. Po tym czasie dodano 0,2 ml leukocytów z krwi obwodowej karpia. Dalszą inkubację prowadzono w temperaturze 4°C, 10°C, 15°C, 25°C oraz 37°C przez okres 1 godziny. Po zakończeniu inkubacji z każdej próby wykonano po 5 rozmazów. Preparaty te utrwalano w metanolu i zabarwiano 0,1% roztworem wodnym safraniny. Zabarwione preparaty oglądano w mikroskopie świetlnym pod imersją. Obliczając zarówno indeks fagocytny (IF), jak i procent komórek aktywnych fagocytnie w każdym rozmazie brano pod uwagę łącznie 100 makrofagów i neutrofilii. Indeks fagocytny obliczano według wzoru:

$$IF = \frac{\text{liczba sfagocytyowanych bakterii}}{\text{liczba komórek fagocytyjących}}$$

Z otrzymanych danych obliczono średnią arytmetyczną wyników uzyskanych w każdej badanej temperaturze dla 10 ryb oraz odchylenie standardowe.

### Wyniki i omówienie

Wyniki badań przedstawiono w tab. 1. Zwraça uwagę wyraźną zależność procesu fagocytozy od temperatury. Indeks fagocytny wzrasta proporcjonalnie do jej wzrostu. Na ogół obserwuje się tę samą zależność odnośnie liczby komórek fagocytyjących.

Wiadomo, że z procesem fagocytozy ściśle łączy się powstawanie przeciwciał i komplementu. Ich aktywacja u ryb w odróżnieniu od ssaków zależy od temperatury (12, 14, 20, 21). Według niektórych danych optymalna temperatura dla produkcji przeciwciał u karpia wynosi 25°C (4), natomiast w 15°C produkcja ta zostaje całkowicie zahamowana (3). Jak wykazały badania własne proces fagocytozy u karpia odbywa się w temperaturze 15°C w 83% komórek

fagocytyjących (tab. 1), a więc w tej temperaturze ten rodzaj obrony komórkowej istnieje. Stopień nasilenia fagocytozy jest niezbyt duży (indeks fagocytny wynosi  $19,00 \pm 3,30$ ) w porównaniu do temperatur wyższych, ale i nie zanika zupełnie w temperaturach niższych (tab. 1). Należałoby więc przypuszczać, że w niższych temperaturach proces fagocytozy u karpia jest niezależny od produkcji przeciwciał.

Obserwowane w badaniach własnych dość wysokie wartości indeksu fagocytnego u karpia bez uprzedniej immunizacji bakteriami *Staphylococcus aureus* można tłumaczyć obecnością u tych ryb naturalnych przeciwciał przeciw tym bakteriom. Jak wykazały badania (4) miano surowicy wynosiło 1 : 16, 1 : 64, a więc było bardzo niskie. Obecne przeciwciała były jednakże wystarczające, aby umożliwić u karpia nieimmunizowanych sfagocytywanie bakterii i nieszkodliwienie ich (4).

Stwierdzana przy pomocy indeksu fagocytnego w badaniach własnych zależność stopnia fagocytozy u ryb od temperatury świadczy o przydatności tej metody określania stopnia fagocytozy u karpia.

### Wnioski

1. Aktywność fagocytna makrofagów i neutrofilii karpia jest zależna od temperatury i wzrasta wraz z jej wzrostem.
2. Określenie stopnia fagocytozy za pomocą indeksu fagocytnego może być jedną z metod oceny aktywności obronnej organizmu karpia.

### Piśmiennictwo

1. Avtalion R. R.: Immunology 17, 927, 1969.
2. Avtalion R. R.: Bamidgeh Bul. Fish. Cul. Issr. 22, 33, 1970.
3. Avtalion R. R., Wojdani A., Malik Z., Shahrabani R., Duchyminer M.: Curr. Top. Microbiol. Immunol. 61, 1, 1973.
4. Avtalion R. R., Shahrabani R.: Immunology 29, 1181, 1973.
5. Bernacerraf B., Sebestyn M. M., Schlossman S.: J. exp. Med. 110, 27, 1959.
6. Braun-Nesje R., Bertheussen K., Kaplan G., Selielid R.: J. Fish Dis. 4, 141, 1981.
7. Braun-Nesje R., Kaplan G., Selielid R.: Dev. Comp. Immunol. 6, 261, 1982.
8. Chilmonezyk S., Monge D.: J. Reticul. Soc. 28, 327, 1980.
9. Cohn Z. A., Morse S. I.: J. exp. Med. 111, 667, 1960.
10. Cohn Z. A.: J. Immunol. 121, 813, 1978.
11. Davidson W., Goldspink G.: J. exp. Biol. 70, 2, 1977.
12. Dorson M., Torchy C., Michel C.: Ann. Vet. Res. 10, 529, 1979.
13. Ellis A. E., Munroe A. L. S., Roberts R. J.: J. Fish Biol. 8, 67, 1976.
14. Glas P. C., Morrison D. C., Curry B. J., Laws R. M., Ulevith R. J.: Dev. Comp. Immunol. 5, 437, 1981.
15. Van Ginkel F. W., Van Mulswinkel W. B., Merchant B., Lizzio E. F., Dixon O. W., Anderson D. P.: J. Fish Biol. 27, 265, 1985.
16. Mc Kinney E. C., Smith S. B., Haines H. G., Sigel M. M.: J. Reticul. Soc. 21, 89, 1977.

17. Leserman L. D., Cosenza H., Roseman J. M.: J. Immunol. 109, 587, 1972.
  18. Mackaness G. B.: J. exp. Med. 112, 35, 1960.
  19. Nelstrop A. E., Taylor H., Collard P.: Immunology 14, 347, 1968.
  20. Nonaka M., Yamaguchi N., Natsuumi-Sakai S., Takahashi M.: J. Immunol. 126, 1489, 1981.
  21. Nonaka M., Natsuumi-Sakai S., Takahashi M.: J. Immunol. 126, 1495, 1981.
  22. Ptak W.: Podstawy immunologii. PZWL, Warszawa, 1976.
  23. Sakai D. K.: J. Fish Dis. 7, 29, 1984.
  24. Shayegani M. G., Kapral F. A., Mupp S.: J. Immunol. 93, 88, 1964.
  25. Stossel T. P.: Manual of Clinical Immunology. Phagocytosis. s. 309-315, wyd. Rose N. R., Friedman H. American Society for Microbiology, Washington, D.C., 1980.
  26. Suter E.: Bact. Rev. 20, 94, 1956.
  27. Tyson C. J., Jenkin C. R.: Austr. J. exp. Med. Sci. 51, 609, 1973.
  28. Unanue E. R.: Adv. Immunol. 15, 95, 1972.
  29. Varesio L., Dandolo S.: Dev. Comp. Immunol. 4, 11, 1980.
- Adres autora: dr Antonina Sopińska, ul. Przdowników Pracy 34/25, 21-040 Świdnik

#### A. Сопинская — Влияние температуры на степень фагоцитоза у карпов

Исследовались *in vitro* фагоцитарная активность макрофагов и нейтрофилов периферической крови карпов в темп. 4°C, 10°C, 15°C, 25°C и 37°C. В качестве антигена была использована 18-часовая культура бактерий *Staphylococcus aureus* 209 P. В каждой из исследуемых культур подсчитывались для

10 рыб процент фагоцитарно активных клеток и фагоцитарный индекс, т.е. среднее число бактерий, с фагоцитированных одной фагоцитирующей клеткой.

Результаты исследований указывают на отчетливую зависимость процессов фагоцитоза у карпов от температуры. В наиболее низкой исследуемой температуре (4°C) этот процесс протекает значительно слабее чем в высших температурах, но не исчезает полностью, о чем свидетельствуют низкие величины фагоцитарного индекса.

Полученные результаты свидетельствуют от пригодности этого метода к оценке защитной активности организма карпов.

#### Sopińska A. — Influence of temperature on the degree of phagocytosis in carps

The activity of macrophages and neutral granulocytes of the peripheral blood in carps was measured at 4°C, 10°C, 15°C, 25°C, and 37°C. The culture of *Staphylococcus aureus* 209P, 18 hours old, was used. Percentage of active cells and phagocytic index i.e. a mean number of devoured bacterial cells by one phagocyte, were calculated. The findings pointed to a significant association of phagocytosis with temperature. At the lowest temperature, i.e. at 4°C the process ran much slower than at higher temperature; however, it did not disappear completely though the values of phagocytic index were low.

JERZY ANTYCHOWICZ, ALICJA ROGULSKA, KRYSZYNA PASZOWSKA\*, WITOLD MAZUR\*

## Badania nad wrażliwością bakterii patogennych dla ryb na Flumequinę oraz niektóre antybiotyki

Zakład Badania Chorób Ryb Instytutu Weterynarii, ul. Partyzantów 57, 24-100 Puławy  
\* Pracownia Chorób Ryb Zakładu Higieny Weterynaryjnej, ul. Bieruta 70, 75-811 Koszalin

Bakteryjne choroby karpia i pstrągów powodują znaczne straty w hodowli tych ryb. *Aeromonas* sp. (*A. hydrophila*, *A. punctata*, *A. liquefaciens*) oraz *Aeromonas* „*pseudosalmonicida*”\*\*, a niekiedy *Pseudomonas* sp. wywołują *erythrodermatitis* karpia, *Aeromonas salmonicida* jest czynnikiem etiologicznym wrzodzenia pstrągów i innych ryb łososiowatych. Bakterie rodzaju *Myxobacterium* wywołują stany zapalne oraz zmiany martwicze w skrzelałach wielu gatunków ryb; niekiedy powodują one również uogólnioną infekcję narządów wewnętrznych. Poszczególne szczepy bakteryjne reprezentujące nawet ten sam gatunek wykazują bardzo różną wrażliwość na terapeutyki stosowane w ichtiopatologii. W związku z tym wyniki terapii nie są zawsze pozytywne. Coraz częściej z przypadków chorobowych karpia i pstrągów izolowane są bakterie odporne na powszechnie stosowany chloramfenikol, oksytetracyklinę i inne antybiotyki. Zachodzi więc potrzeba wprowadzenia nowych leków o szerszym lub innym spektrum działania niż obecnie stosowane. Stosowany we Francji Imequyl, zawierający 10% lub 50% sub-

stancji czynnej — flumequiny, okazał się dobrym środkiem do zwalczania wielu chorób zwierząt gospodarskich i człowieka wywołanych przez bakterie gramujemne (4). Szereg drobnoustrojów chorobotwórczych opornych na antybiotyki i sulfonamidy wykazuje dużą wrażliwość na flumequinę. Według Michel i wsp. (3) flumequina okazała się bardzo skuteczna w leczeniu wrzodzenia łososiowatych. Terapię przeprowadzono w ciągu 5 kolejnych dni stosując łącznie 400 mg flumequiny na 1 kg masy ciała ryby. W dostępnym piśmiennictwie brak jest danych z zakresu wrażliwości na flumequinę bakterii będących czynnikami etiologicznymi innych chorób ryb.

Celem niniejszej pracy było określenie stopnia wrażliwości szczepów bakteryjnych patogennych dla ryb, wyizolowanych w Polsce, na francuski terapeutyk o nazwie Flumequine. Wyniki badań własnych pozwoliły na określenie przydatności tego terapeutyku w zwalczaniu chorób ryb w naszym kraju.

#### Materiał i metody

Do badań użyto 33 szczepów bakteryjnych pochodzących z powłok zewnętrznych skrzeli i narządów wewnętrznych karpia (*Cyprinus carpio*), pstrągów tęczęwych (*Salmo gairdneri*), pstrągów źródłanych (*Salve-*

\*\* Bakteria ta nie posiada dotąd oficjalnej nazwy i określana jest w publikacjach obcojęzycznych „podobna do *Aeromonas salmonicida*”.