

kończenia procesu produkcyjnego wykazuje kilkakrotnie więcej bombaża niż przy przeprowadzaniu tej próby 8—10 dni później.

#### Piśmiennictwo

1. Barnes E. M., Despaul J. E., Ingram M.: J. Appl. Bacteriol. 26, 415, 1963.
2. Curran H. R., Evans F. R.: J. Bact. 53, 103, 1947.
3. Desroster N. W., Heiligman F.: Food Research 21, 54, 1956.
4. Evans F. R., Curran H. R.: J. Bacteriol. 46, 513, 1943.
5. Fields M. L.: Appl. Microbiol. 11, 100, 1963.
6. Finley N., Fields M. L.: Appl. Microbiol. 10, 231, 1962.
7. Gross C. E.: Mat. Symp. Quartermaster Food and Container Institute, Academy of Sciences — Natl. Res. Coun. Washington, D. C.
8. Hernier J.: Compt. Rend. Acad. Sci. 246, 3298, 1958.
9. Kafel S., Józwiak E.: J. Fd. Prot. 50, 87, 1987.
10. Pearce M. E., Wheaton A.: Fd. Res. 17, 487, 1952.
11. Rey C. R., Kraft A. A., Walker H. W., Parrish F. C.: Fd Technol. 24(1), 67, 1970.
12. Riemann H.: Nord. Vet.-Med. 12, 86, 1960.
13. Schmidt C. F., Nank W. K.: Fd Res. 22, 562, 1957.
14. Tompkin R. B., Christiansen L. N., Shaparis A. B.: Appl. Environ. Microbiol. 35, 863, 1978.

Adres autora: prof. dr hab. Stanisław Kafel, ul. Wezasowa 3 m 62, 00-749 Warszawa

Кафель С., Юзьвик Э. — Влияние краткого периода складирования стерилизованных консервов на результаты термостатных исследований

На территории 6 мяскокомбинатов исследовали влияние нескольких дней складирования мясных стерилизованных консервов на результаты термостатных исследований. Через 1—3 дня после про-

дукции брали для термостатного исследования 1% консервов и держали их в темп. 37°C 7 дней. При обнаружении бомбажа хотя бы в 1 банке брали 2% консервов из той же самой партии и вторично выполняли термостатное исследование через 8—10 дней после первого исследования. Среди 6699 банок, подвергнутых первому термостатному опыту, 1073 (16,02%) показывали бомбаж, а в повторном термостатном опыте из 12 218 исследованных банок бомбаж отметили в 394 (3,22%). В представленных исследованиях не принижали во внимание этих партий консервов, в которых термостатированные банки не показывали бомбажа или других повреждений.

Kafel S., Józwiak E. — Effect of a short storage of sterilized canned meat products on results of the incubation test

Investigations were carried out in 6 meat processing plants on the effect of a short storage period on the results of the incubation test of virious canned sterilized meat products. From the daily consignments, 1% of the cans was reserved 1—3 days of production and incubated at 37°C for 3 days. When spoilage resulted in one or more of the cans, 2% of other cans from that consignment were taken, and the incubation test was repeated. These later incubation tests were initiated 8—10 days after the date of production. From among 6699 cans subjected to first incubation test 1073 (16.02%), produced swells but in the repeated incubation carried out on 12 218 cans only 394 (3.22%) became swollen. These investigations do not include those consignments whose representative cans did not show swells.

## PATOLOGIA I TERAPIA

ANTONINA Sopińska

### Użycie różnych stężeń Ficollu do rozdziału populacji komórkowych leukocytów karpia

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

W diagnostyce klinicznej zarówno zwierząt stałocieplnych, jak i ryb szczególnie ważne są zmiany zachodzące w obrazie białokrwinkowym. Wskazują na to liczne prace, a także badania własne (1, 2, 5, 6, 7, 10, 11, 12, 13). Wartości prawidłowe oraz zmiany zachodzące w stanie choroby uzyskuje się głównie na podstawie obrazu różnicowego krwi obwodowej. W dostępnym piśmiennictwie sporadyczne są prace, których autorzy dla oceny stanu zdrowotnego organizmu stosują inną oprócz morfologicznej metodę różnicowania leukocytów. W metodzie tej wykorzystuje się różnice w objętościach i masach właściwych krwinek białych. Piśmiennictwo podaje zastosowanie tej metodyki w medycynie ludzkiej (8, 14). W hematologii ryb metoda ta stosowana była głównie u ryb łososiowatych (2, 3, 4), rzadziej u karpia (2, 7).

Celem pracy było opracowanie techniki izolowania różnych rodzajów krwinek białych z

krwi i narządów krwiotwórczych karpia pozwalających na uzyskanie czystych populacji komórkowych.

#### Materiał i metody

Materiał do badań uzyskano od 10 karpia o masie 250—300 g. Każdorazowo leukocyty uzyskiwano z 1 ml krwi obwodowej oraz 1 g nerki główowej i śledziony. Do różnicowania leukocytów użyto 10% Telebrixa połączonego z Ficollem o następujących koncentracjach: 2%, 4%, 6%, 8%, 12%. Poszczególne roztwory umieszczano w probówkach warstwowo począwszy od stężenia 12% na dnie do 2% w górnej warstwie. Na wierzchnią warstwę 2% stężenia, nakładano rozcieńczoną płynem Hanksa krew lub zawiesinę komórek z nerki główowej i śledziony.

Następnie całość wirovano 20 minut stosując szybkość obrotów 2000/min. Po uzyskaniu rozdziału leukocytów, zbierano pipetą pasteurowską leukocyty z poszczególnych warstw roztworów oraz liczono je w komorze Bürkera. Następnie obliczano procent poszczególnych rodzajów leukocytów osadzonych w każdej warstwie Ficollu. Z uzyskanych krwinek wykonywano również rozmazy szkiełkowe, które wybarwiano metodą Pappenheima. Na tych preparatach

pod mikroskopem określono poszczególne kategorie komórek. Uzyskane wyniki przedstawiono w postaci średnich arytmetycznych oraz odchyień standardowych.

Tab. 1. Procent poszczególnych rodzajów leukocytów karpia osadzonych w warstwie Ficollu ( $\bar{x} \pm s$ )

Stężenia Ficollu %	Rodzaj leukocytów	Krew	Nerka głowowa	Śledzioną			
2	limfocyty	74,36	5,20	8,76	3,20	12,83	3,14
4	limfocyty	23,03	2,36	67,35	7,60	47,33	3,46
6	limfocyty + monocyty	8,46	1,28	14,23	2,26	13,82	2,25
8 <sup>x</sup>	granulocyty	3,62	1,12	5,72	1,46	15,22	3,14
12 <sup>x</sup>	granulocyty	5,20	0,92	2,1	0,56	3,46	1,24

Objaśnienie: x — w warstwie 8% (z wyjątkiem śledziony) i 12% wśród komórek izolowanych z narządów przeważały granulocyty, ale pojawiały się i makrofagi.

### Wyniki i omówienie

Z danych tab. 1 wynika, że procent limfocytów osadzających się w gradiencie 2% Ficollu jest znacznie niższy w narządach, aniżeli we krwi. Odwrotna sytuacja występuje w gradiencie 4% i 6%. Świadczy to o przewadze we krwi form małych limfocytów, natomiast w nerce głowowej i śledzionie limfocytów dużych, które są większe i cięższe. W gradiencie Ficollu o stężeniu 8% i 12% osadzały się głównie leukocyty o dużej masie (granulocyty, monocyty i makrofagi). Zwraca uwagę występowanie ponad 15% leukocytów w śledzionie w gradiencie 8%, znacznie wyższym aniżeli we krwi i nerce głowowej. W warstwie tej występowały głównie makrofagi, co wskazuje, że narząd ten jest głównym organem wytwarzającym te komórki.

Uzyskane wyniki świadczą o przydatności użytej metody, która pozwala z dużą dokładnością na izolację z krwi i narządów krwiotwórczych określonych rodzajów krwinek ryb. Wydaje się, że metody tej można by użyć również do obserwacji różnic w zachowaniu się populacji leukocytów w różnych gradientach Ficollu, w stanie chorobowym w porównaniu do stanu fizjologicznego. Zagadnienie to może być rozwiązane w dalszych badaniach.

### Wnioski

1. Metoda zawieszania krwinek ryb w różnych gradientach Ficollu jest przydatna do dokładnej izolacji poszczególnych rodzajów leukocytów.

2. Metoda powyższa mogłaby być pomocną do obserwacji różnic w zachowaniu się leukocytów ryb w stanie fizjologicznym oraz w stanie choroby; konieczne są jednak dalsze badania na ten temat.

### Piśmiennictwo

- Amend D. F., Smith L.: Infect. Immun. 11, 171, 1975.
- Bialek E.: Cell Tissue Res. 220, 163, 1981.
- Blaxhall P. C., Sheard P. R.: J. Fish Biol. 26, 209, 1985.
- Blaxhall P. C., Hood K.: J. Fish Biol. 27, 749, 1985.
- Conroy D. A.: Symp. Zool. Soc. Lond. 30, 101, 1972.
- Ezzat A. A., Shabana M. B., Farghaly A. M.: J. Fish Biol. 6, 1, 1974.
- Gardner G. R., Yevich P. P.: J. Fish Res. Bd Can. 26, 433, 1969.
- Gutierrez G.: J. Immunol. Meth. 29, 75, 1979.

- Hendrick M., Dinapoli A., Cammarata P., Pincus S.: J. Fish Biol. 29, 47, 1986.
- Pickering A. D.: J. Fish Biol. 29, 335, 1986.
- Sopińska A.: Acta Ichthyol. Pisc. 13, 59, 1983.
- Sopińska A.: Acta Ichthyol. Pisc. 14, 121, 1984.
- Sopińska A.: Acta Ichthyol. Pisc. w druku.
- Vadas M. A., David J. R., Butterworth A., Pisani N. T., Singok T. A. L.: Immunol. 233, 1228, 1979.

Adres autora: dr Antonina Sopińska, ul. Przewodników Pracy 34/25, 21-040 Świdnik

Сопинская А. — Применение разных концентраций Ficoll для разделения популяций клеточных лейкоцитов карпа

Цель работы состояла в разработке техники изолирования чистых популяций лейкоцитов карпа. Эти кровяные тельца изолировались из периферической крови, а также почки и селезенки. Для дифференциации лейкоцитов применялся 13% Telebrix, соединенный с Ficoll, в следующих концентрациях: 2%, 4%, 6%, 8%, 12%.

Примененный метод позволил с большой точностью изолировать из крови и кровеобразовательных органов определенные виды телец карпа: лимфоцитов (2%, 4%, 6% Ficoll), гранулоцитов, моноцитов и макрофагов (8%, 12% Ficoll).

Упомянутый метод мог бы помочь в наблюдении разниц в уровне лейкоцитов рыб в физиологическом состоянии, а также в болезненном состоянии — нужны, однако, дальнейшие исследования по этой теме.

Sopińska A. — The use of various concentrations of Ficoll for separation of leukocyte populations in the carp

The purpose of the work was to prepare a technique of isolations of pure populations of white blood cells in the carp. Blood cells were isolated from peripheral blood, spleen and capital kidney. For differentiation of leukocytes 13% Telebrix together with Ficoll at the concentration of 2.0%, 4.0%, 6.0%, 8.0% and 12% were used.

The method enabled the exact isolation from blood and lymphopoietic organs a definite sort of blood cells: lymphocytes (2.0, 4.0%, 6% Ficoll), granulocytes, monocytes and macrophages (8.0%, 12.0% Ficoll). The method may be useful for examination of differences in behaviour of leukocytes in physiological and pathological conditions. Further studies of this problem are necessary.

SMITH B. S. W., WRIGHT H., BROWN K. G.: Wpływ wzbogacenia w witaminę D w czasie ciąży na poziom witaminy D u maciorek i ich potomstwa. (Effect of vitamin D supplementation during pregnancy on the vitamin D status of ewes and their lambs). Vet. Rec. 120, 199—201, 1987 (9)

Owcom ciężarnym podano w iniekcji domięśniowej 300 000 j.m. witaminy D<sub>3</sub> w roztworze 10, 7 lub 4 tygodnia przed terminem porodu. Stężenie 25 hydroksywitaminy D<sub>3</sub> w płazmie maciorek i jagniąt oznaczono metodą chromatografii cieczowej. Poziom 25 hydroksywitaminy D<sub>3</sub> wzrasta szybko po iniekcji witaminy D<sub>3</sub> aż do czasu porodu, nie przekraczając przy tym wartości prawidłowej. W okresie pierwszych 3 tygodni to stężenie osiągało 35 ng/ml, przy wartości w grupie kontrolnej jagniąt 6,2±2,67 ng/ml plazmy, oraz przy wartościach 14,6±3,77, 12,8±5,08 i 11,2±5,11 ng/ml w płazmie jagniąt pochodzących od matek, którym podano witaminę 10, 7 lub 4 tygodnia przed porodem. Zastosowanie u ciężarnych owiec łatwo przyswajalnej postaci witaminy D na około 2 miesiące przed terminem porodu umożliwia w pełni pokrycie zapotrzebowania organizmu na tę witaminę u jagniąt.

G.