

Instytut Biotechnologii i Ochrony Środowiska WSP w Zielonej Górze, *Katedra Mikrobiologii i Immunologii WNP US w Szczecinie, **Zakład Immunodiagnostyki AM w Poznaniu

STOSIK M., DEPTUŁA W., TOKARZ-DEPTUŁA B.*,
WIKTOROWICZ K.**, KOSTRZEWA A.**

*Cytometryczna analiza jakościowa i ilościowa leukocytów krwi u karpi (*Cyprinus carpio*) zdrowych*

Cytometric quantitative and qualitative analysis of blood leukocytes
in healthy carps (*Cyprinus carpio*)

Celem pracy było wystandaryzowanie warunków i metody badań komórek krwi karpi techniką cytometrii przepływowej, stwarzającej możliwość „naturalnej” analizy jakościowej i ilościowej populacji komórek składających się na pulę leukocytów krwi oraz oznaczenie tych parametrów u karpi zdrowych.

Badano karpie zdrowe, w wieku od 3 miesięcy do 5 lat. Kondycję i stan zdrowia ryb oceniano na podstawie badań klinicznych, anatomo-patologicznych, parazytologicznych i bakteriologicznych, metodami powszechnie stosowanymi w diagnostyce ichtiopatologicznej.

Próbki krwi pełnej heparynizowanej (50 IU/1 ml krwi) zawieszano w 0,3% roztworze NaCl uzyskując 30-krotne rozcieńczenie i pozostawiano na 30 minut. Następnie do rozcieńczonych prób krwi o objętości 100 μ L wprowadzano 300 μ L płynu lizującego Orthomune Lysing Reagents (Ortho Diagnostics System, Niemcy). Tak przygotowane próby pozostawiano przez 20 min. po czym dokonywano pomiaru bezwzględnej liczby komórek – leukocytów, limfocytów, granulocytów obojętnochłonnych i monocytów, przy użyciu cytometru przepływowego Cyturon Absolute (Ortho Diagnostics System, Niemcy).

Cytometryczny rozdział populacji leukocytów, prowadzony w warunkach, które poprzedził cały szereg badań pozwalających na wystandaryzowanie metody, pozwolił na uzyskanie obrazu potwierdzającego możliwość oceny ilościowej leukocytów, limfocytów, granulocytów oraz monocytów. Badania wykazały, że populacja leukocytów najbardziej liczna jest u ryb najstarszych tj. u karpi handlowych w wieku od 23 do 29 miesięcy i tarlaków. Statystycznie istotnie mniejsze ilości tych komórek występowały u ryb najmłodszych tj. w wieku od 3 do 9 miesięcy, natomiast najmniejsze u karpi w wieku od 11 do 21 miesięcy. Wśród leukocytów, limfocyty stanowiły najwyższy odsetek u karpi najstarszych, niższy, na poziomie ok. 50%, u ryb pozostałych grup doświadczalnych. Drugą pod względem liczebności populację komórek leukocytarnych tworzyły granulocyty obojętnochłonne, przy czym, odwrotnie niż limfocyty, najliczniej występowały one u ryb najmłodszych i średnich, najmniej licznie natomiast u karpi najstarszych. Monocyty, najmniejsza populacja komórek, najbardziej liczna była u karpi w wieku od 11 do 21 miesięcy, mniej u ryb w wieku od 3 do 9 miesięcy, natomiast jako najmniej liczna występowała u karpi najstarszych. Różnice te były statystycznie istotne.

Wyniki badań cytometrycznych wskazują na możliwość dokonywania wiarygodnej oceny jakościowej i ilościowej leukocytów i wybranych subpopulacji tych komórek (limfocyty, granulocyty obojętnochłonne, monocyty).