

Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας.

Σχολή Τεχνολογικών Επιστημών.

Τμήμα Γεωπονίας Φυτικής & Ζωϊκής Παραγωγής.

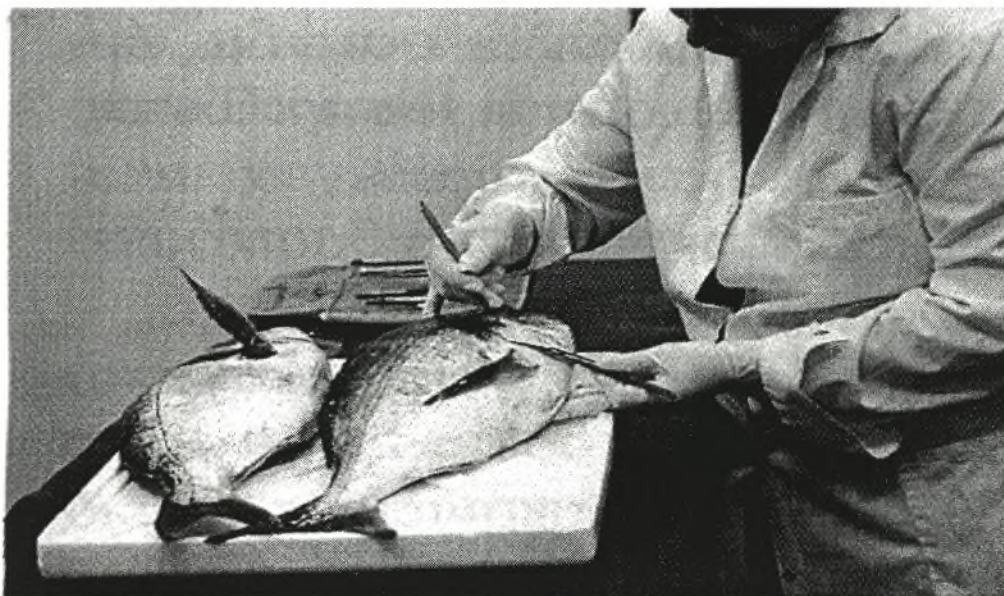
ΤΜΗΜΑ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ ΦΥΤΙΚΗΣ & ΖΩΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ
Αριθ. Πρωτοκ. 66
Ημερομηνία 7/7/1997

**Μέθοδοι Υπολογισμού της Καταπόνησης ( stress ) στα  
Εκτρεφόμενα Ψάρια μέσω Αιματολογικών Αναλύσεων.**



## ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

**Μέθοδοι Υπολογισμού της Καταπόνησης ( stress ) στα  
Εκτρεφόμενα Ψάρια μέσω Αιματολογικών Αναλύσεων.**



### **Επιτροπή Επίβλεψης:**

Πνευματικάτος Γ.: Καθηγητής Α. Π. Θ.

Θεοδώρου Α.: Αναπληρωτής Καθηγητής Π. Θ.

Παναγιωτάκη Π.: Λέκτορας Π. Θ.

## Ευχαριστίες.

Πρέπει να τονισθεί ότι η διπλωματική αυτή εργασία δεν θα μπορούσε να ολοκληρωθεί χωρίς την καθοριστική συμβολή του καθηγητή Ιχθυοπαθολογίας του Αριστοτελείου Πανεπιστημίου Θεσσαλονίκης κ. Πνευματικό Γ., για το οποίο και τον ευχαριστώ πάρα πολύ.

Επίσης νοιώθω την ανάγκη να ευχαριστήσω τον αναπληρωτή καθηγητή Ωκεανογραφίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας κ. Θεοδώρου Α. και την λέκτορα στο αντικείμενο των Υδατοκαλλιεργειών του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας κ. Παναγιωτάκη Π., για τις χρήσιμες συμβουλές τους ως προς την επιμέλεια της εργασίας και τον Δρ. Αντικαντζίδη Θ., διδάσκοντα με σύμβαση Π.Δ. 407/80 στο αντικείμενο της Φυσιολογίας Ζωϊκών Οργανισμών στο Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, για τη βοήθειά του στην μετάφραση των ξενόγλωσσων κειμένων.

Τέλος θα ήθελα να δώσω ένα μεγάλο « ευχαριστώ » στους γονείς μου Θωμά και Αναστασία, στον αδερφό μου Γιώργο, σε όλους του συμφοιτητές μου και κυρίως στους Γάτσιο Φ. και Μπουλταδάκη Α., που με βοήθησαν με τον τρόπο τους σε αυτή την προσπάθεια.

## ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ

<b>ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....</b>	<b>1</b>
<b>Κεφάλαιο 1.</b>	
Καταπόνηση στα ψάρια ( stress ).....	7
<b>Κεφάλαιο 2.</b>	
Κυκλοφορικό Σύστημα των ψαριών.....	12
<b>Κεφάλαιο 3.</b>	
Σύνθεση Αίματος.....	23
<b>Κεφάλαιο 4.</b>	
Αίμα και Δειγματοληψία.....	31
<b>Κεφάλαιο 5.</b>	
Εργαλεία και Μέθοδοι Υπολογισμού των Δεικτών του Αίματος.....	52
<b>Κεφάλαιο 6.</b>	
Γλυκόζη και Μεταβολισμός.....	54
<b>Κεφάλαιο 7.</b>	
Μεταβολή Γλυκόζης και Δεικτών Αίματος στα ψάρια.....	73
<b>Κεφάλαιο 8.</b>	
Αξιολόγηση Μετρούμενων Τιμών Καταπόνησης.....	84
<b>Κεφάλαιο 9.</b>	
Συμπεράσματα.....	110

**ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....**

**ΠΑΡΑΡΤΗΜΑΤΑ.**

- 1. Πίνακες.....
- 2. Στατιστικά Αποτελέσματα.....
- 3. Εργαστηριακές Αναλύσεις Αίματος (kit).....

## ΕΙΣΑΓΩΓΗ

### ΥΔΑΤΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΕΣ & ΟΙΚΟΝΟΜΙΑ.

Είναι γεγονός ότι στην εποχή μας η χρήση του όρου υδατοκαλλιέργειες στους τομείς της επιστήμης και της οικονομίας, γίνεται με μεγάλη συχνότητα ακόμα και σε περιπτώσεις που δεν είναι δόκιμος. Κρίνεται επομένως σκόπιμο να δοθεί ο ορισμός του αντικειμένου αυτού, ο οποίος θα συμβάλλει στην προσπάθειά μας να εντοπίσουμε και να κατανοήσουμε με σαφήνεια όλες τις διαστάσεις αυτού του τομέα της Εφαρμοσμένης Υδροβιολογίας.

Με τον όρο υδατοκαλλιέργειες εννοούμε τις προσπάθειες εκείνες του ανθρώπου που αφορούν κυρίως την καταβολή ενέργειας για την εκτροφή και την καλλιέργεια ( εκμετάλλευση ) υδρόβιων οργανισμών ( Παπουτσόγλου 1985 )

Θα πρέπει στο σημείο αυτό να τονίσουμε ότι ο όρος “υδατοκαλλιέργειες” κρίνεται ως μη δόκιμος για την εκτροφή ιχθύων, αφού ως ζώντες, κινούμενοι οργανισμοί δεν σχετίζονται με την διαδικασία της καλλιέργειας, αλλά με αυτή της εκτροφής. Επομένως καταλληλότερος όρος για την απόδοση της

έννοιας είναι “ υδατοεκτροφές “.

Οι υδατοκαλλιέργειες αποτελούν απάντηση στα προβλήματα που προκύπτουν από την αύξηση του πληθυσμού και των τροφικών αναγκών που την συνοδεύουν ( ιδιαίτερα σε πρωτεΐνες χαμηλού κόστους και υψηλής βιολογικής αξίας ) και από τις διαρκώς αυξανόμενες απαιτήσεις του καταναλωτικού κοινού για βελτίωση της ποιότητας των παραγόμενων προϊόντων και της διατροφής του.

Ο κυριότερος λόγος που οδήγησε στην ραγδαία ανάπτυξη των υδατοκαλλιεργειών, με την μορφή των υπερ-εντατικών συστημάτων υδρόβιας καλλιέργειας και εκτροφής, αποτέλεσε η αδυναμία της αλιείας να καλύψει τις καταναλωτικές ανάγκες σε συνδυασμό με το γεγονός ότι οι αποδόσεις της άγγιξαν το μέγιστο των δυνατοτήτων της, με όλες τις αρνητικές οικολογικές συνέπειες της υπερ-αλίευσης ( Βλέπε Παραρτήματα, Πίνακας 1 ).

Ταυτόχρονα οι μεγάλες οικονομικές δυνατότητες και αποδόσεις των συστημάτων αυτών εμφανίστηκαν πολύ γρήγορα, αφού παρέχουν πλήρη έλεγχο της παραγωγικής διαδικασίας, με μικρό κύκλο εργασιών ανά περίοδο ( 15- 20 μήνες ) και με συντονισμό της παραγωγής με τις χρονικές απαιτήσεις της αγοράς.

Το τελευταίο καιρό γίνονται προσπάθειες για τον έλεγχο των διαφόρων φυσιολογικών λειτουργιών των οργανισμών και όλων εκείνων των παραγόντων που επηρεάζουν την ανάπτυξη και την ποιότητα των παραγόμενων προϊόντων, λαμβάνοντας όμως υπόψη τις οικολογικές επιπτώσεις των επεμβάσεων του ανθρώπου στα εντατικά και κύριως στα υπερ-εντατικά συστήματα εκτροφής.

Η παγκόσμια κατάσταση σήμερα στις υδατοκαλλιέργειες από άποψη παραγωγικής διαδικασίας, εμφανίζεται είτε με μορφή μικρής κλίμακας επιχειρήσεων είτε με μορφή παραδοσιακών τρόπων και μεθόδων παραγωγής. Άρχισε όμως να διαφαίνεται η τάση για δημιουργία κάθετης παραγωγής προϊόντων σε βιομηχανική κλίμακα κυρίως σε αναπτυγμένες χώρες.



Στην περιοχή της Μεσογείου τα εκτρεφόμενα είδη ανήκουν σε υφάλμυρα και αλμυρά νερά, με κύριους εκπροσώπους την τσιπούρα και το λαβράκι. Η εμφάνιση των υδατοκαλλιεργειών στην Ελλάδα άρχισε στο τέλος της δεκαετίας του 1950 με πιο οργανωμένη μορφή με την ίδρυση κρατικών ιχθυογεννητικών σταθμών και ιδιωτικών μονάδων εκτροφής πέστροφας σε κατάλληλες περιοχές της χώρας ( Ήπειρος, Μακεδονία ). Τη δεκαετία του 1980 εμφανίζονται στη χώρα μας οι πρώτοι ιχθυογεννητικοί σταθμοί για παραγωγή τσιπούρας και λαβρακιού, καθώς και οι πρώτες μονάδες πάχυνσης των παραπάνω ειδών. Συνεχής προσπάθεια για την εκτροφή νέων ειδών ιδιαίτερης βιολογικής και εμπορικής αξίας ( συναγρίδα, φαγκρί, λυθρίνι, γλώσσα ), χαρακτηρίζει την περίοδο των τελευταίων χρόνων. Το σύνολο των υδατοκαλλιεργειών ευνοείται από τις γενικότερα καλύτερες βιο-φυσικο-χημικές συνθήκες που επικρατούν στην Ελλάδα. Δεν πρέπει να παραμελούμε και το γεγονός ότι η Μεσόγειος επιζητά όλο και περισσότερη φροντίδα από οικολογικής πλευράς και κυρίως από τις αναπτυσσόμενες χώρες που την περιτριγυρίζουν. Αυτό γιατί μια τυχόν οικολογική διαταραχή ίσως έχει απροσδόκητα αποτελέσματα και στις υδατοκαλλιέργειες.

Η τεράστια οικονομική αξία που έχει για την Ελλάδα αυτός ο κλάδος φαίνεται καθαρά από την μείωση του εμπορικού ισοζυγίου στα ιχθυηρά που έγινε μέσω του κλάδου των υδατοκ/ργειών ( Βλέπε Παραρτήματα, Πίνακας 2 3 )

Χαρακτηριστικό είναι το γεγονός ότι η ελληνική παραγωγή το 1994 ξεπέρασε τους 12.000 τόνους έναντι 9.000 τόνων το 1993. Έτσι με την παραπάνω επίδοση κατέκτησε δεσπόζουσα θέση στις μεσογειακές θαλασσοκαλλιέργειες με μερίδιο 45 %. Το 70 % της παραγωγής κατά το 1994 αφορούσε εξαγωγές, με κύρια αγορά αυτή της Ιταλίας και με νέες όπως της Αγγλίας, Γερμανίας, Γαλλίας, ενώ το υπόλοιπο αφορούσε πωλήσεις στην εγχώρια αγορά. Η Ιταλία απορροφά το 85 % της παραγωγής λαβρακιού και τσιπούρας ( Βλέπε Παραρτήματα, Πίνακας 4 )

Στη χώρα μας οι καταναλωτές φαίνεται να εντάσσουν ολοένα και περισσότερο στην καθημερινή τους διατροφή το ψάρι ιχθυοτροφείου με σημαντική διεύρυνση της εν λόγω αγοράς με την βοήθεια των αλυσίδων σούπερ - μάρκετ με προσφορά προϊόντων σε τιμές που δεν είχαν συνηθίσει οι καταναλωτές. <sup>(1\*)</sup>

Ιδιαίτερο ενδιαφέρον για την πορεία και εξέλιξη στις υδατοκαλλιέργειες και αλιεία στη χώρα μας εμφανίζεται να έχει η Ευρωπαϊκή Ένωση, το οποίο εκδηλώνεται με την παροχή κοινοτικών ενισχύσεων της τάξεως των 150 εκατομμυρίων ΕΚΥ για την περίοδο 1994 - 1999, μέσα στα πλαίσια της κοινής αλιευτικής πολιτικής, που έχει να παρουσιάσει ραγδαία εξέλιξη του προϋπολογισμού της από το 1985 έως το 1993. <sup>(2\*)</sup>

Όσο αφορά τις μελλοντικές εξελίξεις αναμένεται περαιτέρω αύξηση του ποσοστού των ευρύαλων ψαριών και πρόγνωση ότι θα φτάσει και θα ξεπεράσει το 90 % τα επόμενα 2 - 3 χρόνια. Η Ελληνική παραγωγή θα κινηθεί μέσα στα όρια που έχει θέσει η Ευρωπαϊκή Ένωση για κάθε κράτος - μέλος και που η Ελλάδα αντιστοιχεί σε 31.000 τόνους έτοιμου προϊόντος μέχρι το 1999, ενώ επίσημες εκτιμήσεις το 1995 δείχνουν, ότι η χώρα μας διατηρεί την πρώτη θέση στον κλάδο των μεσογειακών θαλασσοκαλλιεργειών με παραγωγή γόνου που αναμένεται να φτάσει τα 80 εκατομμύρια ιχθύδια και τους 16.000 τόνους τελικού προϊόντος <sup>(3\*)</sup>.

Τα συστήματα θαλάσσιας εκτροφής και καλλιέργειας, κυρίως τα εντατικά και υπερ-εντατικά, παρουσιάζουν αρκετά μειονεκτήματα τα οποία σχετίζονται κυρίως με παραμέτρους οικονομικής φύσης. Έτσι έχουμε :

- α. Μεγάλη οικονομική επένδυση από πλευρά κόστους.
- β. Μεγάλα έξοδα συντηρήσεως.
- γ. Μεγάλες απαιτήσεις σε ενέργεια.
- δ. Αυξημένες δαπάνες εκτροφής.

Δεν μπορούμε να αγνοήσουμε την ανάγκη για επάνδρωση της μονάδας παραγωγής με άρτιο εκπαιδευτικό προσωπικό για την λειτουργία και συντήρηση του εξοπλισμού της.

Σπουδαίο ρόλο παίζουν και οι διάφοροι αστάθμιτοι παράγοντες ( ασθένειες ) που λόγω της μεγάλης πυκνότητας του πληθυσμού των εκτρεφόμενων οργανισμών, εμφανίζουν μεγαλύτερες πιθανότητες καθολικής δράσης, όπως η προσβολή της παραγωγής από κάποιο νόσημα, που οδηγεί σε πολλές περιπτώσεις σε ολοκληρωτική καταστροφή.

Είναι γεγονός ότι οι διάφοροι χειρισμοί που πραγματοποιούνται στα ψάρια κατά την παραγωγική διαδικασία, όπως μετακινήσεις διαλογή, ασθένειες, προκαλούν καταπόνηση με άμεσο αποτέλεσμα την υποβάθμιση του τελικού προϊόντος, την επιμήκυνση του κύκλου παραγωγής και την απώλεια ιχθύων λόγω θνησιμότητας. Οι παράγοντες που είναι καθοριστικοί για την μορφή και την ποιότητα της παραγωγικής διαδικασίας και σχετίζονται άμεσα με τους χειρισμούς του παραγωγού είναι :

- α. Το περιβάλλον εκτροφής με έμφαση τη βιολογική, χημική και φυσική κατάσταση του νερού που χρησιμοποιείται σε συνδυασμό με το είδος των κατασκευών των υδατοκαλλιεργειών από θέμα κόστους και τεχνολογίας.
- β. Η διατροφή της οποίας η σημασία συνίσταται στο κόστος και στην ποιότητα του σιτηρεσίου.
- γ. Οι ασθένειες με τον τρόπο που εκδηλώνονται, την αποτελεσματική αντιμετώπισή τους με οποιαδήποτε μορφή νοσημάτων και παθολογικών καταστάσεων κι αν εμφανίζονται στους εκτρεφόμενους πληθυσμούς και κυρίως με τη διαχείριση η οποία οδηγεί σε ικανοποιητική πρόληψη.

Από τα ανωτέρω αντιλαμβανόμαστε το μέγεθος της σημασίας που έχουν οι υδατοκαλλιέργειες όχι μόνο ως σπουδαία οικονομική δύναμη αλλά ως μια συνεχής διαδικασία απαιτήσεων και υποχρεώσεων που

οδηγούν στην ανάγκη για καλύτερη κατανόηση του συνόλου των παραγόντων που επιδρούν στην παραγωγή και τη φυσιολογία των υδρόβιων οργανισμών που λαμβάνουν μέρος σε αυτή.

Έτσι καλούμαστε κάθε στιγμή να βελτιώνουμε τις τεχνικές εκείνες που μας προμηθεύουν με ορθότερες και εγκυρότερες πληροφορίες για την ηθολογία, τον μεταβολισμό, την ανοσολογία, τη φυσιολογία της θρέψης, την αναπαραγωγή, την ανάπτυξη και την γενετική μοριακή βιολογία των οργανισμών αυτών.

Από το σύνολο των αναγκών που προκύπτουν στον κλάδο και χρήζουν διερεύνησης, η εύρεση τεχνικών ικανών για τον εντοπισμό των παραμέτρων της καταπόνησης στα εκτρεφόμενα άτομα καθώς και η δυνατότητα υπολογισμού της έντασης, του χρόνου και του μεγέθους της δράσης τους, είναι το αντικείμενο της παρούσας εργασίας.

1\* ( Βήμα - 29. 1. 1995 ).

2\*( ΝΑΥΤΕΜΠΟΡΙΚΗ - 17. 1. 1995 ).

3\* ( ΚΕΡΔΟΣ - 20. 5. 1995 ).

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ Ι

### ΚΑΤΑΠΟΝΗΣΗ ΣΤΑ ΨΑΡΙΑ ( stress ).

Είναι γνωστό πως ένας άκρως σημαντικός παράγοντας ( πλην όμως συχνά παραβλεπόμενος ή και ξεχασμένος από τους ιχθυοκαλλιεργητές ) που επιδρά άμεσα στη φυσιολογία, συμπεριφορά, ανάπτυξη και υγιεινή των ψαριών, είναι η καταπόνηση. Καταπόνηση είναι η οποιαδήποτε απόκλιση από το φυσιολογικό, σε έναν ή περισσότερους από τους παράγοντες που συμμετέχουν στην βιολογική και φυσιολογική ισορροπία του οργανισμού του ψαριού.

Καταπόνηση προκαλεί :

Η κατάσταση αιχμαλωσίας των ιχθύων.

Ο υπερπληθυσμός στους κλωβούς που οδηγεί στην έλλειψη ζωτικού χώρου και στον περιορισμό της κίνησης.

Οι απρόσεκτοι, μη σωστά υπολογισμένοι ή βεβιασμένοι χειρισμοί του προσωπικού.

Οι απότομες μεταβολές της θερμοκρασίας του νερού καθώς και οι ακραίες για μεγάλο χρονικό διάστημα τιμές της.

Τα χαμηλά επίπεδα ή η ανεπάρκεια διαλυμένου οξυγόνου.

Η αυξημένη τοξικότητα του νερού.

Ο ανταγωνισμός στην διεκδίκηση της τροφής αλλά και η επιθετικότητα που δείχνουν τα μεγαλύτερα ψάρια σε βάρος των μικρότερων όταν στον πληθυσμό υπάρχει έντονη ανομοιομορφία ( καννιβαλισμός ) ( Κούτσης. Κ. 1996 ).

Ενδείξεις της καταπόνησης μπορούν να είναι η ασυνήθης συμπεριφορά, η αυθόρμητη μετανάστευση προς το ένα μέρος του κλωβού, η αύξηση της αναπνευστικής δραστηριότητας, η μειωμένη επιβίωση των νεαρών ιχθυδίων ( Iwama .G.K. et al. 1995 ).

Υπό την επίδραση του στρεσογόνου παράγοντα ο οργανισμός των ψαριών ( το ενδοκρινικό του σύστημα ) απελευθερώνει στο αίμα συγκεκριμένες ορμόνες και άλλες βιοχημικές ουσίες, μεταβάλλοντας έτσι τις ισορροπίες στις συγκεντρώσεις τους, με τελικό αποτέλεσμα μετά από πολύπλοκες εσωτερικές διεργασίες, την καταστολή της φυσικής τους ανοσίας, την έκθεσή τους σε μολυσματικούς παράγοντες ( π.χ. βακτήρια ) που ούτως ή άλλως συνυπάρχουν στο θαλάσσιο περιβάλλον, καθώς και την εμφάνιση κλινικών και παθολογικών συμπτωμάτων ασθένειας. Μάλιστα, οι διεργασίες αυτές συνήθως διαρκούν αρκετά και τα αποτελέσματα καθυστερούν να φανούν ( Κούτσης. Κ. 1996 ).

Το stress μπορεί να οδηγήσει στην αύξηση της ευπάθειας σε παθογόνα και σε πιθανή υψηλή θνησιμότητα ( Iwama .G.K. et al. 1995 ).

## **Τρόποι και τεχνικές εντοπισμού & υπολογισμού του stress.**

Για να αξιολογηθούν οι επιδράσεις της καταπόνησης στα ψάρια, έχουν χρησιμοποιηθεί ποικιλία μεθόδων ( Adams 1990 : Wedemeyer, Barton & McLeay 1990 ). Οι περισσότερες αυτών των τεχνικών σχεδιάστηκαν για εργαστηριακή ερευνητική εργασία και εμπλέκονται σχετικά περίπλοκες και υψηλού κόστους διαδικασίες. Οι εκτροφείς ψαριών και οι διαχειριστές αλιείας χρειάζονται

αξιόπιστες μεθόδους για μετρήσεις πεδίου, για να εντοπίζουν το stress στο ψάρι, εύκολες στη χρήση, πρακτικές και φτηνές. Στην προσπάθεια για απάντηση αυτού του προβλήματος προτάθηκαν πολλές λύσεις οι οποίες άλλοτε δίνουν ικανοποιητικά αποτελέσματα και άλλοτε όχι. Κατά την διάρκεια καταπόνησης της φυσιολογίας των ψαριών, μπορεί να υπολογιστεί το stress με κάποιες βασικές εργαστηριακές μεθόδους, πολλές των οποίων χρησιμοποιούν πολύ ευαίσθητα και ακριβά όργανα, τα οποία είναι δύσκολο να χρησιμοποιηθούν σε συνθήκες ανοικτού πεδίου. Η περιεκτικότητα γλυκόζης αίματος π.χ. μπορεί να καθοριστεί απλά μέσω της χρήσης φορητών μετρητών γλυκόζης, διαθέσιμων σε διαβητικούς. Πολλές τεχνικές που χρησιμοποιούνται είναι κατάλληλες μόνο για συγκεκριμένα ήδη ψαριών. Από την άλλη μεριά διαφορές τεχνικές είναι κατασκευασμένες για εφαρμογή σε ανθρώπους και σε άλλα θηλαστικά, και κατά ανάγκη χρησιμοποιούνται στα ψάρια με αμφίβολα αποτελέσματα.

Εάν τέτοιες τεχνικές μπορούν να τελειοποιηθούν προμηθεύοντας συνεπή και αξιόπιστα αποτελέσματα, θα μπορούσαν να συγχωνευτούν στα συνηθισμένα προγράμματα καθημερινής ή περιοδικής παρακολούθησης, για να εκτιμούνται οι συνθήκες του ιχθυοπληθυσμού στα εκτροφεία ή στα ψάρια εκτατικών και ημί-εκτατικών συστημάτων. Η προσπάθεια εστιάζεται στη χρήση φορητών συσκευών μέτρησης αιματολογικών παραμέτρων για ανοικτό πεδίο, η οποία αποτελεί μια εύχρηστη μέθοδο εκτίμησης καταπόνησης σε εγκαταστάσεις θαλάσσιας εκτροφής (Iwama, G.K. et al. 1995). Αρκετές εργασίες έχουν περιγράψει ότι ορισμένες παράμετροι του αίματος μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως δείκτες της κατάστασης της φυσιολογίας του ψαριού. Εξέταση αντιπροσωπευτικών δειγμάτων αίματος μπορούν να παρέχουν καλή γνώση για τα επίπεδα της καταπόνησης του ψαριού.

Μέσω μιας σειράς πειραμάτων έγινε προσπάθεια να προσδιοριστεί ποσοτικά το stress που προστίθεται μέσω κάποιων χειρισμών στο Salmon salar, με αναλύσεις συγκεντρώσεως λακτάσης, γλυκόζης, αιματοκρίτη, αιμοσφαιρίνης και χλωρίου στο πλάσμα (Aabel, J.P. 1991).

Για παράδειγμα η καταπόνηση σε ορισμένα εκτρεφόμενα ψάρια ( σολωμός ) μπορεί να συνδυάζεται με διάφορες διαδικασίες χειρισμών, όπως η αναισθησία, η κατάσταση κατά την οποία ο σολωμός μεταφέρεται από τα γλυκά νερά στα θαλάσσια, η ταξινόμηση, η διαλογή, το ζύγισμα. Μπορεί επίσης να συνδυαστεί με διακυμάνσεις στην θερμοκρασία, pH, O<sub>2</sub> κ.τ.λ. Για αυτούς τους λόγους είναι πολύ σημαντικό να χειριζόμαστε τα ψάρια όσο το δυνατό πιο προσεχτικά για να ελαχιστοποιούμε το επιπρόσθετο stress ( Aabel, J.P. 1991 ).

Οι περισσότερες διαδικασίες που σχετίζονται με αυτόν τον σκοπό, αναφέρονται σε αιματολογικές δειγματοληψίες και αναλύσεις των συστατικών του αίματος.

### **Συνηθισμένες αιματολογικές μέθοδοι.**

Σχεδόν όλες οι αιματολογικές και αναλυτικές μέθοδοι αναπτύχθηκαν για χρήση της ανθρώπινης ιατρικής και μπορούν να προσαρμοστούν για εξετάσεις του αίματος στα ψάρια. Αυτό είναι ιδιαίτερα σημαντικό και η ορθότητα της τεχνικής εφαρμόστηκε μικροαναλογικά ήδη στην παιδιατρική. Όπως με την ιατρική πρακτική στον άνθρωπο και στα σπονδυλωτά, πολλοί ερευνητές αποπειράθηκαν να οριοθετήσουν τις φυσιολογικές αιματολογικές τιμές σε ποικίλα είδη ψαριών. Εκτροπές από τέτοιες τιμές μπορούν να χρησιμοποιηθούν για εκτίμηση των συνθηκών των εκτρεφόμενων ατόμων, για διάγνωση μολύνσεων και παθογόνων καθώς και για τον εντοπισμό άλλων παραμέτρων που επιφέρουν καταπόνηση. Ως υδρόβιοι ποικιλόθερμοι οργανισμοί, τα ψάρια ανταποκρίνονται αμέσως στις αλλαγές του περιβάλλοντός τους. Αυτές οι αλλαγές μπορούν να λάβουν χώρα ωριαία, ημερήσια και εποχιακά. Οι υδρόβιοι οργανισμοί πιθανώς να είναι συχνά σε κατάσταση διαδικασίας προσαρμογής στις νέες συνθήκες ή να έχουν ήδη προσαρμοστεί. Το ερώτημα είναι αν ο όρος “φυσιολογικό” μπορεί να εφαρμοστεί στα υδρόβια ποικιλόθερμα για την μέθοδο που χρησιμοποιείται στα θηλαστικά, αφού “φυσιολογική” αιματολογική



κατάσταση στα ψάρια μπορεί να παρουσιαστεί με τιμή εύρους τόσο μεγάλη ώστε να είναι χωρίς σημασία. Παρόλα αυτά, μια προσεχτική ερμηνεία των αιματολογικών στοιχείων μπορεί να προμηθεύσει κρίσιμες πληροφορίες για ποικιλία λειτουργιών.

Για αυτό τον λόγο, περισσότερη έμφαση τέθηκε στην ανάπτυξη, την εφαρμογή και τη διάθεση μεθοδολογιών ( Hesser 1960; Blaxhall & Daisley 1973; Casillas & Smith 1977; Christopher et al. 1978 ). Αυτές θεωρούνται κατάλληλες στους ορούς των ερυθροκυττάρων ( κατά συνέπεια της αναπνευστικής μεταφορά αερίων ) και των λευκοκυττάρων ( κατά συνέπεια της πήξης του αίματος και της ανταπόκρισης στην παθολογία ). Αυτές οι τεχνικές αναφέρονται σε μια σειρά από προσπάθειες να υπολογισθούν διάφοροι βιοχημικοί παράμετροι του αίματος των ψαριών συλλέγοντας έγκυρες τιμές. Οι δείκτες του αίματος χρησιμοποιούνται συνήθως ως άμεσοι ή συμπερασματικοί δείκτες της λειτουργικής κατάστασης του οργανισμού. Ωστόσο η επίδραση του stress σε αυτούς τους δείκτες είναι διαρκής και εκτενής, δίνοντας έτσι την δυνατότητα σύνδεσης των τιμών των αιματολογικών αναλύσεων με πορίσματα που σχετίζονται με την φυσιολογική ή όχι συμπεριφορά του ψαριού ( Iwama, G.K. et al. 1995 ).

Οι κυριότερες από αυτές τις αναλύσεις σχετίζονται με :

1. Την καταμέτρηση των ερυθροκυττάρων.
2. Τον προσδιορισμό της αιμοσφαιρίνης και του αιματοκρίτη .
3. Τον υπολογισμό όγκων αίματος.
4. Την κατανομή μεγεθών των ερυθρών κυττάρων.
5. Την ηλεκτροφόριση της αιμοσφαιρίνης.
6. Την εξίσωση καμπύλης του οξυγόνου.
7. Την δραστηριότητα των ενζύμων των ερυθρών κυττάρων.
8. Τον προσδιορισμό και υπολογισμό των λευκοκυττάρων , μονοκυττάρων θρομβοκυττάρων, λεμφοκυττάρων , μακροφάγων, ετερόφιλων, βασόφιλων και εοσινόφιλων.
9. Τον υπολογισμό επιπέδων ορμονών και βιοχημικών ουσιών.

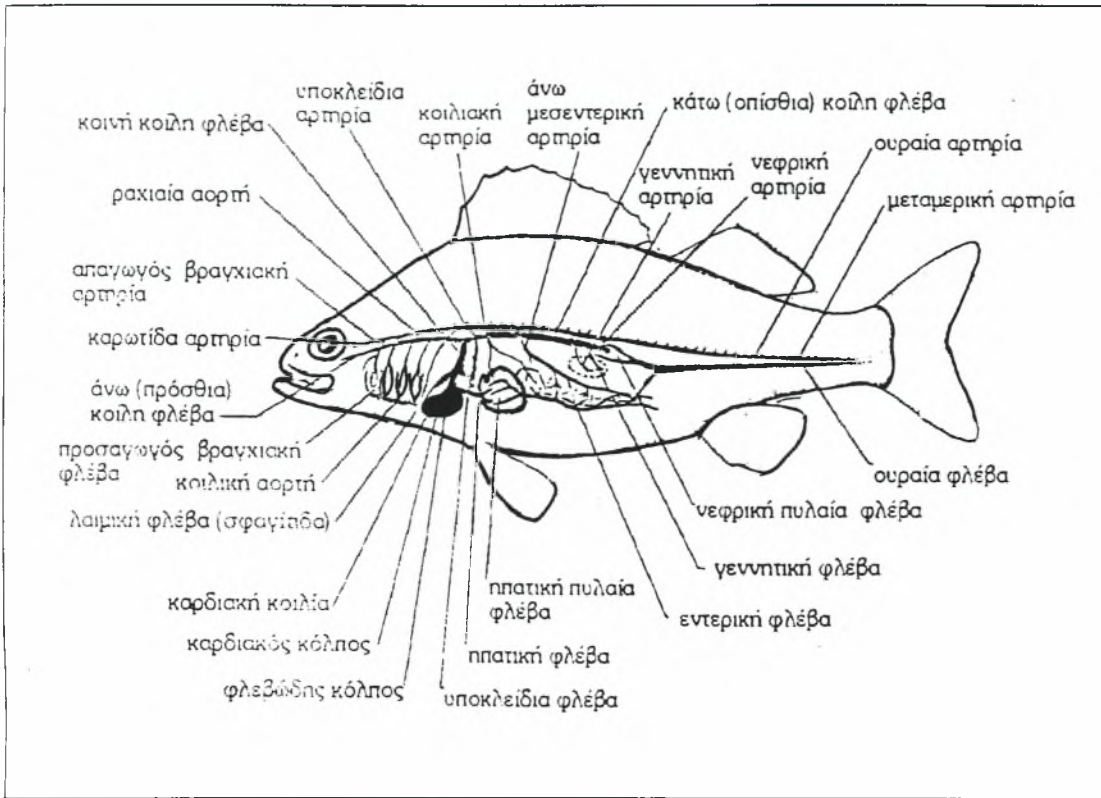
## ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΙΙ

### ΚΥΚΛΟΦΟΡΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ ΤΩΝ ΨΑΡΙΩΝ

Θα ήταν χρήσιμη μια αναφορά στο κυκλοφορικό σύστημα των ιχθύων και κυρίως των τελεόστεων, ώστε να κατανοηθούν στην συνέχεια τόσο η χρήση και η αποτελεσματικότητα των μεθόδων άντλησης αιματολογικών δειγμάτων, όσο και οι δυσκολίες που εμφανίζονται κατά την εφαρμογή τους.

Με τη γνώση της λειτουργίας του κυκλοφορικού συστήματος δίνεται η δυνατότητα για συνέχιση των προσπαθειών εύρεσης νέων τεχνικών δειγματοληψίας και βελτίωση των ήδη υπάρχοντων, με σκοπό την προμήθεια δειγμάτων με περισσότερο αξιόπιστα και έγκυρα αποτελέσματα.

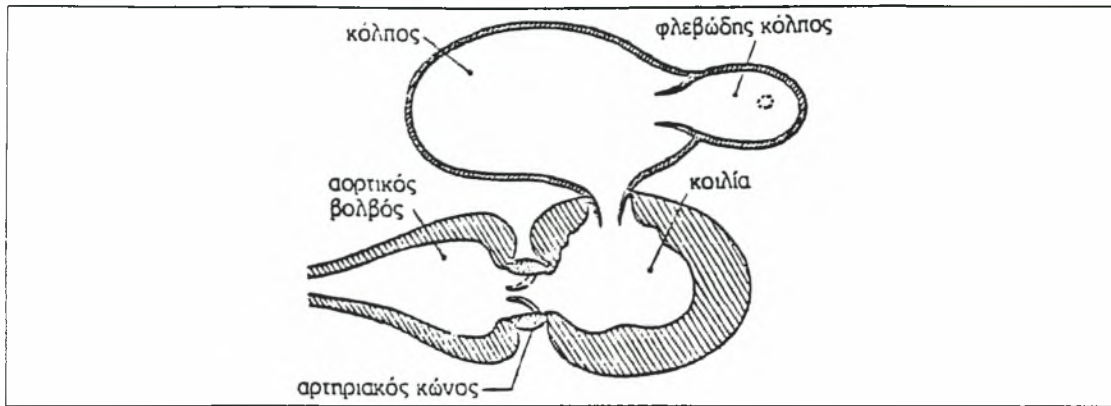
Σε γενικές γραμμές το κυκλοφορικό σύστημα σε ένα τελεόστεο εμφανίζεται στο σχήμα 1 ( Lagler et al. Οικονομίδης 1993 ). Μια χρήσιμη λεπτομερής περιγραφή του κυκλοφορικού στα ψάρια δόθηκε από τον Satchel (1971).



Σχήμα 1. Το κυκλοφορικό σύστημα ενός τυπικού Τελεόστεου.

## Η καρδιά.

Η καρδιά στα τελεόστεα είναι τοποθετημένη μέσα στο περικάρδιο, πρόσθια στην κεντρική σωματική κοιλότητα και συνήθως πίσω από τον φάρυγγα. Έχει τέσσερεις χώρους μέσω των οποίων ρέει το αίμα με απλή διαδοχή ( σχήμα 2 ). Αποξυγονομένο φλεβικό αίμα εισέρχεται στον κόλπο φλεβικά από τους αγωγούς του Couvier και της κεντρικής φλέβας. Δεν υπάρχουν εισαγωγικές βαλβίδες και ο κόλπος είναι τόσο μικρός, ώστε δύσκολα μπορεί να αναγνωριστεί ως ένας συγκεκριμένος καρδιακός χώρος. Το τοίχωμα είναι λεπτό, συντίθεται κυρίως από κολλαγόνο συνδετικό ιστό, αν και σε μερικά είδη είναι μυϊκός και συσταλτός. Μέσω δύο φλεβοκομβικών βαλβίδων, το αίμα διέρχεται



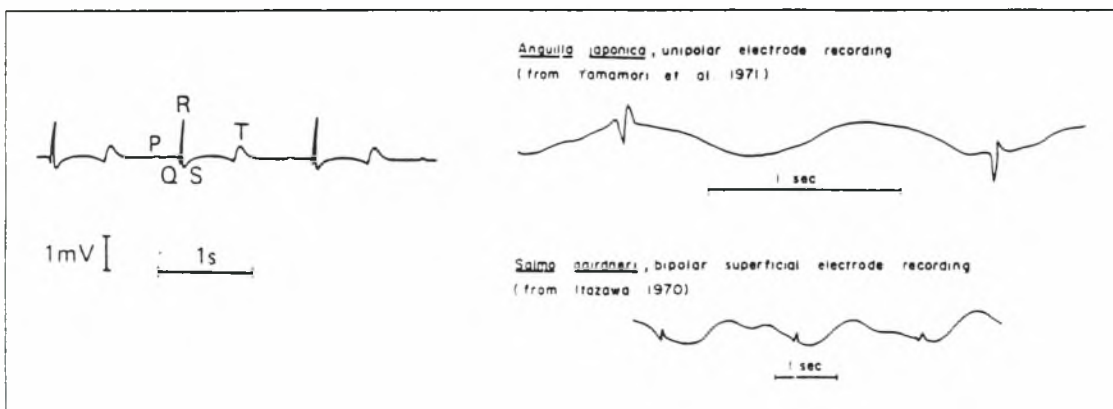
Σχήμα 2.Επιμήκης τομή καρδιάς Τελεόστεου ( Boue & Chanton ).

μέσα στον κόλπο ο οποίος βρίσκεται ραχιαία της αριστερής κοιλίας. Ο καρδιακός κόλπος έχει λεπτό τοίχωμα και μυϊκές ακτίνες διατρέχουν τον αυλό σε ένα χαλαρό δίκτυο. Η ενδοθήλια επένδυση είναι ως εκ τούτου μεγάλη σε επιφάνεια και σε μερικά είδη έχει μια φαγοκυτταρική δραστηριότητα ως τμήμα του ενδοθηλιακού συστήματος. Συστολή του κόλπου ωθεί το αίμα διαμέσου των βαλβίδων μέσα στην κοιλία. Η κοιλία έχει πολύ πιο παχύ τοίχωμα από τον κόλπο και σε συνηθισμένες ιστολογικές τομές μόνο ένας ελάχιστος αυλός είναι εμφανής. Υπάρχει ένα σαφώς διαφορετικό εξωτερικό συμπαγές στρώμα από μυϊκές ακτίνες και ένα εσωτερικό σπογγώδες στρώμα από πολυάριθμες μικρές ακτίνες. Το πάχος του συμπαγούς στρώματος σχετίζεται με την δραστηριότητα και απουσιάζει σε λιγότερο δραστήρια είδη τέτοια όπως τα πλευρονηκτικά (πλατύψαρα).

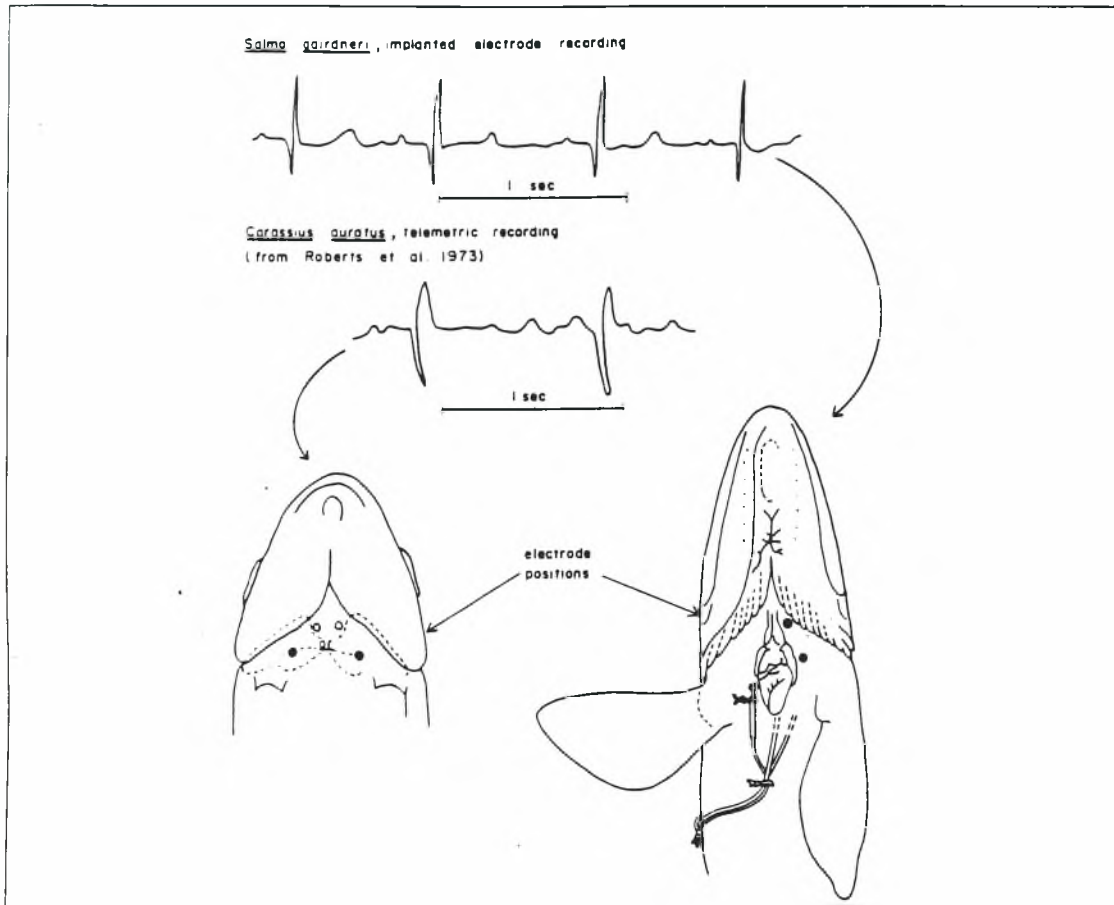
Στεφανιαία αγγεία διατρέχουν την πάνω και έξω πλευρά της κοιλίας, προμηθεύοντας το συμπαγή και το σπογγώδη μύ με  $O_2$ , δεσμεύοντας περισσότερο  $O_2$  από το φλεβικό αίμα στον αυλό. Μεμονωμένες μυϊκές ίνες είναι κατά προσέγγιση 6μm σε διάμετρο, περίπου το μισό από τους μυς των θηλαστικών. Επίσης οι ίνες είναι παρόμοιες των άλλων θηλαστικών με δίσκους να παρεμβάλλονται ενδιάμεσα των μεμονομένων κυττάρων. Από την κοιλία το

αίμα διέρχεται μέσα στον αρτηριακό βολβό ( βολβώδεις αρτηρίες ) μέσω ενός ζεύγους βαλβίδων. Ο βολβός έχει ένα παχύ τοίχωμα συντιθέμενο από μίγμα ελαστικού ιστού και λείου μυ. Έχει μια σύνθετη δομή αλλά βασικά ενεργεί σαν μια παθητική ελαστική δεξαμενή , η οποία εξομαλύνει τους παλμούς πίεσης από την κοιλία και διατηρεί την ροή του αίματος μέσω της κοιλιακής διαστολής. Ο ελαστικός ιστός του βολβού είναι πολύ διαφορετικός στη δομή από αυτή του ελαστικού ιστού στις αρτηρίες. Το σύνολο της καρδιάς περικλείεται από τον σπλαχνικό περικαρδιακό σάκο ο οποίος καλύπτει την καρδιακή επιφάνεια. Ο βρεγματικός περικαρδιακός σάκος επενδύει την περικαρδιακή κοιλότητα. Ο περικαρδιακός χώρος είναι γεμάτος με ορό, διαχωριζόμενος με δύο μεμβράνες.

Το ηλεκτροκαρδιογράφημα της καρδιάς των τελεόστεων είναι συνήθως παρόμοιο με αυτό των άλλων σπονδυλωτών, κορυφώνεται σε 70mV περίπου ( QRS κύμα ). Οι ταχύτητες μετάδοσης είναι αργότερες από αυτές των θηλαστικών, και εξαρτώνται από την θερμοκρασία. Τυπικές πιέσεις κοιλιακής συστολής είναι 30 - 70 mmHg και διαστολής 10 - 30 mmHg . Ο ρυθμός της καρδιάς μεταβάλεται σημαντικά, ανάλογα με την θερμοκρασία, πέφτοντας μέχρι 15 κτύπους ανά λεπτό στους 5°C ( πέστροφα ) , ενώ στους 15°C ο μέγιστος καρδιακός ρυθμός είναι 100 κτύποι ανά λεπτό ( Σχήμα 3 ).



Σχήμα 3. Τυπικό ηλεκτροκαρδιογράφημα Τελεόστεου.



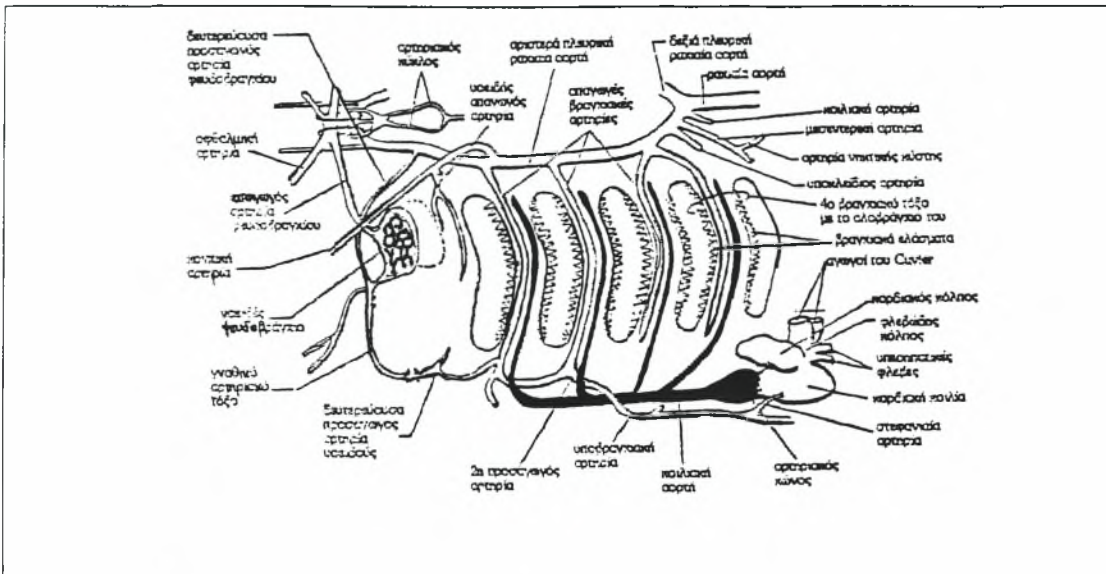
Σχήμα 4. Ηλεκτροκαρδιογραφήματα Τελεόστεων και τρόπος σύνδεσης ηλεκτροδίων.

## Αρτηρίες.

Η κοιλιακή αορτή διατρέχει μπροστά από την καρδιά και διανέμει το αίμα στα βράγχια διαμέσου των προσαγωγών βραγχοφόρων αρτηριών ( Σχήμα 5 ). Οι αρτηρίες προσάγουν προς τα βράγχια και έχουν σπονδυλωτή αρτηριακή δομή με τρεις στρώσεις στο τοίχωμα:

Εξωτερικό, ενδιάμεσο και εσωτερικό χιτώνα.

Το ενδοθήλιο περιλαμβάνει επίπεδα κύτταρα τα οποία διογκώνονται μέσα στον αυλό και μπορούν συνήθως να είναι ευδιάκριτα μόνο με τους σκοτεινά χρωματιζόμενους πυρήνες. Παρακείμενα κύτταρα συμπλέκονται έτσι,



Σχήμα 5. Διαγραμματική απεικόνιση των βραγχιακών αγγείων Τελεόστεου (Lagler et al. )

ώστε το ενδοθήλιο να σχηματίζει μια συνεχή επιφάνεια. Υπάρχει θεμελιακή μεμβράνη κάτω από το ενδοθήλιο, αλλά είναι ορατή μόνο στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο. Ο εσωτερικός χιτώνας αποτελείται κυρίως από ελαστικό ιστό και ο ενδιάμεσος αποτελείται από μια λεπτή στοιβάδα ελαστικού ιστού με λεία μυϊκά κύτταρα στο ενδιάμεσο. Το τοίχωμα της κοιλιακής αορτής είναι άκρως ελαστικό και μπορεί να συσταλθεί για να διευθετήσει την ροή του αίματος ( Kirby & Burnstock 1969 ). Ο εξωτερικός χιτώνας είναι λεπτός και αποτελείται από ίνες κολλαγόνου. Ο απαγωγός της βραγχιακής αρτηρίας συνδέει ραχιαία τον φάρυγγα, σχηματίζοντας την ραχιαία αορτή και ο συγκεκριμένος τύπος ποικίλλει σε διαφορα είδη. Από τον πρώτο βραγχιακό απαγωγό, μια ποσότητα αίματος ρέει δια μέσου του ψευδοβράγχιου κι από εκεί προς τα μάτια και το κranίο. Επίσης σε αυτήν την περιοχή αρτηρίες διακλαδίζονται στην κοιλότητα προς τον φάρυγγα για να εφοδιάσουν το υοειδές οστόν και το στεφανιαίο σύστημα. Υπάρχει μια σημαντική πίεση που μειώνεται εγκάρσια των βραγχίων, ώστε η τυπική μέση πίεση αίματος στην κοιλιακή αορτή να είναι

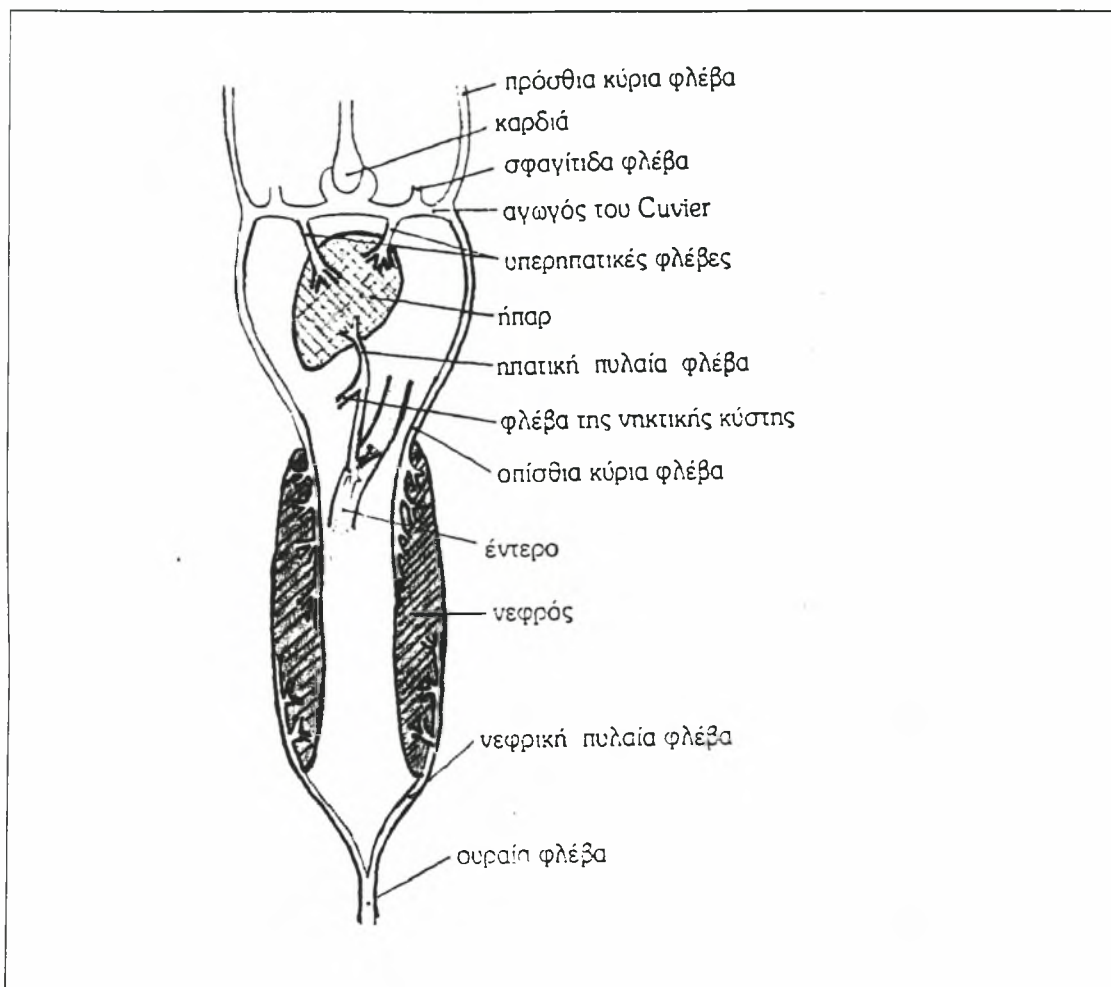
περίπου 50 mmHg ( 6,5 kPa ) και στην ραχιαία αορτή 25 mmHg ( 3 kPa ) ( πέστροφα ). Αυτό αντικατροπτίζεται στην δομή των αρτηριών στις οποίες τα απαγωγά αγγεία έχουν λεπτότερα τοιχώματα με μικρότερη ποσότητα από ελαστικό και λείο μυϊκό ιστό. Η ραχιαία αορτή στο ψάρι, μπορεί να θεωρηθεί ως προς την δομή σαν ενδιάμεση κατάσταση μεταξύ αρτηρίας και φλέβας. Στην ραχιαία αορτή στους κατώτερους τελεόστεους, σολωμοειδή και γλουποειδή ( ρέγγα ), υπάρχει ένας ελαστικός συνδετικός δεσμός επεκτεινόμενος κατά μήκος των κυτταρικών τοιχωμάτων της ραχιαίας αορτής, η οποία μπορεί να λειτουργήσει σαν βοηθητική καρδιά, αυξάνοντας αυτόματα την κυκλοφορία του αίματος στους μυς κατά την διάρκεια των κολυμβητικών κινήσεων. Κατά μήκος της ραχιαίας αορτής υπάρχουν πλευρικές διακλαδώσεις στο σύνολο του μυϊκού συστήματος. Τα σπλάχνα προμηθεύονται αίμα κυρίως μέσω της πρόσθιας μεσεντερικής αρτηρίας.

## Φλέβες.

Οι φλέβες του ψαριού, όπως και στα άλλα σπονδυλωτά, είναι σχετικά αδιάσταλτες και έχουν τοιχώματα που αποτελούνται κυρίως από κολλαγόνο. Οι κύριες μεγάλες φλέβες είναι μεγάλες σε διάμετρο και οι πιέσεις είναι χαμηλές ( μικρότερες των 10 mmHg ). Παρόλα αυτά δεν υπάρχουν αποδείξεις για αρνητικές πιέσεις, τέτοιες σαν αυτές που υπάρχουν στους καρχαρίες. Υπάρχει νεφρική πύλη παροχής μέσω των νεφρών, που σχετίζεται κυρίως με την ουραία περιοχή και τα σπλάχνα, και ένα τυπικό ηπατικό πυλωδές σύστημα σπονδύλου. Οι βαλβίδες σπανίζουν στο φλεβικό σύστημα των τελεόστεων.

Το φλεβικό σύστημα των Τελεόστεων χαρακτηρίζεται από την εξαφάνιση των πλευρικών φλεβών, γεγονός που έχει σχέση με την ατροφία της πυελικής ζώνης. Επίσης παρατηρείται τάση ελάττωσης του νεφρικού πυλαιού συστήματος. Οι τρόποι που γίνεται η νεφρική αιμάτωση ποικίλει ανάλογα με τα είδη ( Σχήμα 6 Οικονομίδης 1993 ).





Σχήμα 6. Σχηματική απεικόνιση του φλεβικού συστήματος Τελεόστεου.

### Έλεγχος της κυκλοφορίας.

Η καρδιακή παροχή μπορεί να ποικίλλει σημαντικά, κυρίως λόγω μεταβολής του όγκου αίματος κάθε παλμού, κι όχι λόγω των αλλαγών του ρυθμού της καρδιάς. Η καρδιά έχει μια παρασυμπαθητική ανασταλτική νεύρωση και σε κάποια είδη μια αδρενεργική νεύρωση ( Gannon & Burnstock ) και ανταποκρίνεται θετικά στην αύξηση του όγκου του αίματος που επιστρέφει

της φλέβας, σύμφωνα με το νόμο του Starling. Γενική αύξηση στην κυκλοφορία κατά την διάρκεια άσκησης, μπορεί να ερμηνευτεί με την δράση των κατεχολαμινών του κυκλοφορικού στους άλφα-υποδοχείς στα διάφορα μέρη του σώματος. Αγγειοκινητικά νεύρα έχουν επίσης περιγραφεί και μολονότι είναι φανερό ότι υπάρχουν πολλές ειδικές διαφορές στα είδη των τελεόστεων, πολλοί μηχανισμοί στενά συνδεδεμένοι με την φυσιολογία των θηλαστικών, έχουν τις δικές τους αντιστοιχίες στα τελεόστεα.

### **Τριχοειδή αγγεία.**

Στα θηλαστικά η πίεση ( υδροστατική ) του αίματος μέσα στα τριχοειδή αγγεία αντισταθμίζεται από την οσμωτική πίεση των κολλοειδών του αίματος, κατά μήκος των τριχοειδών τοιχωμάτων. Λόγω της χαμηλής αρτηριακής πίεσης, αυτό φαίνεται να δείχνει αδύνατο στα ψάρια, ωστόσο τα τριχοειδή τους αγγεία είναι άκρως διαπερατά έτσι, ώστε η οσμωτική πίεση κατά μήκος των τοιχωμάτων να είναι πολύ χαμηλότερη από άλλα σπονδυλωτά ( Hargens et al. ). Το ενδιάμεσο υγρό έχει υψηλή συγκέντρωση πρωτεΐνης και ουσιαστικά το πλάσμα ρέει τελείως ελεύθερα μέσω των τριχοειδών. Κατά συνέπεια η ισορροπία των υγρών στα τελεόστεα είναι ουσιαστικά διαφορετική από αυτά των θηλαστικών έτσι, ώστε για παράδειγμα, σχετικά μεγάλες μεταβολές στη συγκέντρωση του πλάσματος εύκολα αντιμετωπίζονται.

### **Λέμφος.**

Το λεμφικό σύστημα παροχής στο ψάρι είναι εκτεταμένο, πιθανόν λόγω της υψηλής διαπερατότητας των τριχοειδών. Ο όγκος της λέμφου είναι περίπου 4 φορές μεγαλύτερος του όγκου του αίματος ( Wardle 1974 ) και η συγκέντρωσή του είναι σχεδόν παρόμοια με αυτή στο πλάσμα του αίματος. Στον κύριο όγκο των μυομερών της λεμφικής κυκλοφορίας γίνεται προσιτή η

κυκλοφορία, εφόσον δεν υπάρχει σημαντικά αγγειακό αίμα στους λευκούς μυς. Υπάρχουν ποικίλοι πρωθητές λέμφου ή λεμφικές καρδιές, κατά την διεύθυνση του μήκους των λεμφικών αγγείων, οι οποίοι βοηθούν στην επιστροφή της λέμφου κατά την διάρκεια αναπνευστικών κινήσεων.

### **Αιμοσφαιρίνη και μεταφορά αερίων.**

Τα περισσότερα τελεόστεα έχουν τόση αιμοσφαιρίνη στα ερυθροκύτταρά τους, όσο και άλλα σπονδυλωτά. Εφόσον οι θερμοκρασίες στο αίμα είναι συχνά χαμηλές, περισσότερο  $O_2$  μπορεί να μεταβιβαστεί ως απλό διάλυμα στο πλάσμα και έτσι τα πολικά ψάρια δεν έχουν αιμοσφαιρίνη. Υπάρχει σημαντική ποικιλομορφία στις αιμοσφαιρίνες των ψαριών, με 4 τύπους παρατηρούμενους, καθένας με τα δικά του χαρακτηριστικά. Επίσης πολλά ψάρια έχουν διαφορετικές αιμοσφαιρίνες στα διάφορα στάδια ανάπτυξης. Είδη τα οποία μπορούν να προσαρμοστούν σε διαφορετικές μερικές τάσεις  $O_2$  και να εγκλιματιστούν σε διαφορετικές θερμοκρασίες, προκαλούν τροποποιήσεις στα χαρακτηριστικά αποβολής του  $O_2$ . Το φαινόμενο του Bohr, δια του οποίου αύξηση της πίεσης του  $CO_2$  (ή μείωση του pH), προκαλεί μείωση της σχέσης  $O_2$ , λαμβάνει χώρα κυρίως στα ψάρια που προσαρμόζονται ικανοποιητικά τις συνθήκες υψηλού  $O_2$  και χαμηλού  $CO_2$ . Τα ψάρια που ζούν ικανοποιητικά σε όξινα νερά και με χαμηλά επίπεδα  $O_2$ , δεν θα τους ήταν χρήσιμο το φαινόμενο Bohr.

Σε πολλά ψάρια υπάρχει ένα πρόσθετο φαινόμενο:

Υπό χαμηλό pH, μειώνεται το  $O_2$  όπως και η ικανότητα δέσμευσης του από την αιμοσφαιρίνη, και μεταβάλλεται ο κύκλος απομάκρυνσής του. Αυτή η επίδραση Root, είναι μοναδική στους τελεόστεους. Προωθείται έντονα η απαλλαγή του  $O_2$  στους ιστούς και είναι πολύ σημαντικοί παράγοντες στην έκκριση του  $O_2$  τόσο η υψηλή πίεση στα αέρια του αδένα της νυκτικής κύστης όσο και στο δίκτυο του χοριοειδούς χιτώνα του ματιού. Η συνολική ανταλλαγή

των αναπνευστικών αερίων στα βράγχια και στους ιστούς, επηρεάζεται σημαντικά από το ρυθμό πλήρωσης και εκκένωσης του  $O_2$  στην αιμοσφαιρίνη του αίματος των ψαριών.

Στα βράγχια το pH είναι περίπου 7,4 και εκεί ο ρυθμός της οξυγόνωσης είναι περίπου 4 φορές πιο γρήγορος από τον ρυθμό δημιουργίας  $CO_2$ . Όμως σε χαμηλό pH, χαρακτηριστικό ενεργών μεταβολικών ιστών, η πορεία λειτουργίας είναι αντίστροφη και ο ρυθμός παραγωγής  $CO_2$  είναι 400 φορές ταχύτερος από αυτή της οξυγόνωσης ( Foster & Steen 1969; Hughes & Koyama 1974 ).

Στην μεταφορά του  $CO_2$  ο κύκλος εργασιών λαμβάνει χώρα κυρίως στα διττανθρακικά άλατα και ο απευθείας συνδυασμός με αιμοσφαιρίνη για το σχηματισμό ανθρακικής αμίνης είναι μικρός. Τα ερυθροκύτταρα του ψαριού περιλαμβάνουν το ένζυμο ανθρακική ανυδράση, η οποία προωθεί την μετατροπή του  $CO_2$  σε διττανθρακικό άλας. Η ικανότητα για μεταφορά του  $CO_2$  είναι σημαντικά υψηλότερη στην παραγωγή  $CO_2$  από ότι στην οξυγόνωση του αίματος και μειώνεται σημαντικά με αύξηση της θερμοκρασίας. Σε χαμηλές θερμοκρασίες η κλίση της καμπύλης της απομάκρυνσης  $CO_2$ , είναι επίσης μεγαλύτερη. Η ποσότητα του  $CO_2$  το οποίο μπορεί να μεταφερθεί με το αίμα και ο ενδεχόμενος κύκλος λειτουργιών στα βράγχια είναι συνεπώς μεγαλύτερος σε χαμηλές θερμοκρασίες ( Ellis A.E. & Roberts R. J. 1989 ).

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΙΙΙ

### ΣΥΝΘΕΣΗ ΑΙΜΑΤΟΣ

Γνωρίζοντας τη σύνθεση του αίματος των ιχθύων δίνεται η δυνατότητα για την εντόπιση των κινδύνων που εγκυμονούν ή και εκδηλώνονται στην διαδικασία της δειγματοληψίας. Οι παράγοντες που επηρεάζουν τα αποτελέσματα των μετρήσεων σχετίζονται με αλλοιώσεις των φυσικών, χημικών και μορφολογικών χαρακτηριστικών των συστατικών του αίματος και του πλάσματος. Μεταβολές ανεπιθύμητες προκύπτουν όταν δεν τηρούνται οι αρχές που διέπουν τις διαδικασίες σωστής άντλησης και αποθήκευσης των δειγμάτων, λόγω άγνοιας ή ελλιπούς γνώσης της συμπεριφοράς των στοιχείων του αίματος στις διακυμάνσεις των παραμέτρων του περιβάλλοντος όπως θερμοκρασίας, υγρασίας, ακτινοβολιών κ.τ.λ.

Οι όγκοι αίματος των τελεόστεων είναι μικροί συγκρινόμενοι με όλες τις άλλες τάξεις των σπονδυλωτών, που αποτελούν συνήθως το 5 % του βάρους του σώματος.

## Πλάσμα.

Η σύνθεση ( mg / 100 ml ) στον ορό της καφέ πέστροφας , δόθηκε από τον Wolf το 1963 ως Cl<sub>2</sub> 424, Na 358, Mn 2,3, Na 20,1, K 12,5, P 9,3 και συνολική γλυκόζη στο αίμα 71 ενώ το σημείο πήξης είναι περίπου 0,57 C<sup>0</sup> . Δεδομένα όμοια με αυτά των ανόργανων στοιχείων του ορού των θηλαστικών τα οποία χρησιμοποιούνται επιτυχώς για την καλλιέργεια ιστών ψαριού. Το διάλυμα Frog Ringer είναι χαμηλό σε NaCl και KCl , είναι υποτονικό και ακατάλληλο για εφαρμογή σε ψάρια. Στο πλάσμα η συγκέντρωση πρωτεΐνης είναι χαμηλότερη από αυτή του ανθρώπου ( 7 g / lit ) ποικίλει 1,68 σε 1,69 g / lit και έχει καταγραφεί σε διάφορα είδη τελεόστεων. Οι ανοσολογικές και άλλες λειτουργίες των πρωτεϊνών είναι σχεδόν όμοιες με εκείνες των ανώτερων σπονδυλωτών , αλλά πολλές διαφορές παραμένουν προς διερεύνηση.

## Κυτταρικά συστατικά του αίματος

### Ερυθροκύτταρα.

Τα ερυθροκύτταρα των τελεόστεων έχουν πυρήνες όπως τα πτηνά, τα ερπετά και είναι όμοια σε διαστάσεις, στις χρωστικές, σε άλλες ιδιότητες καθώς και σε λεπτοδομή όπως των σπονδυλωτών. Οι αριθμοί των ερυθροκυττάρων ποικίλλουν ανά είδος και επηρεάζονται από την καταπόνηση και τη θερμοκρασία του περιβάλλοντος. Κυμαίνονται συνήθως μεταξύ  $1,05 \times 10^6 / \text{mm}^3$  και  $3,0 \times 10^6 / \text{mm}^3$  . Ανώριμα ερυθροκύτταρα, γνωστά ως πολυχρωματοκύτταρα, αντιπροσωπεύουν κατά προσέγγιση το 1% του συνολικού αριθμού είναι κυκλικά και εμφανίζονται με γαλάζιες, καφέ κηλίδες κατά τη χρώση. Η αιμοσφαιρίνη είναι, όπως σε όλα τα σπονδυλωτά, ο κύριος φορέας μεταφοράς O<sub>2</sub> και σε μικρότερο μέγεθος CO<sub>2</sub> . Όμως σε

αντίθεση με τα ερυθροκύτταρα των θηλαστικών, όπου υπερισχύει ο αερόβιος μεταβολισμός, στα ερυθροκύτταρα των τελεόστεων ο μεταβολισμός των κυττάρων είναι πρωταρχικά η οξειδωση της φωσφορυλίωσης, συνέπεια της παραγωγής ΑΤΡ.

### **Ουδετερόφιλα ( ΛΕΥΚΟΚΥΤΤΑΡΑ ΤΥΠΟΥ Ι ).**

Η περιγραφή του ουδετερόφιλου ή πολυμορφοπύρηνου λευκοκυττάρου, είναι εξαγώμενη από την ανθρώπινη ιστολογία. Ουδετερόφιλα έχουν ταυτοποιηθεί στα τελεόστεα σε λεπτές δομές και ιστοχημικές ομάδες. Αποδείξεις της δραστηριότητας της φαγοκυττάρωσης σαν αυτές που βρέθηκαν στα ουδετερόφιλα των θηλαστικών δεν υπάρχουν αρκετές, αν και συνηθίζεται να ανιχνεύονται σε σημεία φλεγμονής.

Ουδετερόφιλα στα ψάρια υπάρχουν περίπου στον ίδιο αριθμό όπως στα θηλαστικά ( 3- 6% ) όμως αυτά υπάρχουν σε πολύ χαμηλότερη αναλογία πληθυσμού λευκοκυττάρων στο αίμα ( περίπου 6 - 8 % στο ψάρι συγκρινόμενο με 60 - 70 % στα θηλαστικά ). Μορφολογικά τα ουδετερόφιλα του ψαριού μοιάζουν πολύ με αντίστοιχα των θηλαστικών, παρά το γεγονός ότι οι βαθμοί του νουκλεοτικού πολυμορφισμού ( πολυμορφισμός των πυρήνων ) στα τελεόστεα, ποικίλει σημαντικά.

Οι ιστοχημικοί χαρακτήρες των ουδετερόφιλων στο πλησσί, έχουν μελετηθεί εκτεταμένα από τον Ellis ( 1975 ) και είναι αποδεκτό ότι μοιάζουν με ουδετερόφιλα των θηλαστικών, όντας θετικά στο τεστ με περιοδικό οξύ Schiff ( PAS ) Sudan Black B, βενζιδίνη - περοξειδάση και την αλκαλική φωσφατάση. Σε λεπτές τομές, τα ειδικά κοκκία είναι ωοειδή στη μορφή και εμφανίζουν μια ινώδη σύσταση. Μοιάζουν με ένα των λιγότερο κοινών τύπων κοκκίων που βρέθηκαν στα ουδετερόφιλα των θηλαστικών ( Ferguson 1975a ).

Η απελευθέρωση των ουδετερόφιλων μέσα στο αίμα, έχει σαν αποτέλεσμα μια ουδετεροφιλία, που είναι γνωστό ότι λαμβάνει χώρα ως

μη ειδική αντίδραση σε ποικιλία ερεθισμάτων καταπόνησης στα θηλαστικά και στα ψάρια. Αυτό πιθανώς ρυθμίζεται μέσω του άξονα αδρεναλίνης - υπόφυσης. Η πηγή των ουδετερόφιλων στα τελεόστεα, είναι κατά πάσα πιθανότητα ο αιμοποιητικός ιστός του νεφρού και ο σπλήνας, ο οποίος μπορεί να παίζει έναν ρόλο μικρότερης σημασίας. Σε επιχρίσεις του νεφρού των τελεόστεων, κοκκιοβλάστες συναντώνται σε μεγάλο αριθμό και μπορούν να χαρακτηρισθούν από ιστοχημικές ιδιότητες. Οι κοκκιοβλάστες είναι παρόμοιοι στην μορφολογία και στις ιδιότητες χρώσεως, με τις αντίστοιχες των ουδετερόφιλων του μυελού των οστών των θηλαστικών ( μυελοβλάστες και μυελοκύτταρα ). Υπάρχουν μερικές πληροφορίες για την μεγάλη διάρκεια ζωής των ουδετερόφιλων των τελεόστεων, όμως πιθανότατα να έχουν ένα σύντομο χρόνο κύκλο εργασιών, περίπου 5 μέρες όπως στα θηλαστικά.

### **Μονοκύτταρα.**

Τα μονοκύτταρα είναι εν μέρει διαφοροποιημένα κύτταρα, τα οποία κάτω από κατάλληλες περιστάσεις, αναπτύσσονται μέσα σε ώριμα κύτταρα του μονοπύρηνου φαγοκυτταρικού συστήματος, αλλά δεν είναι ικανά για περαιτέρω διαίρεση. Στα τελεόστεα αυτό το σύστημα έχει οργανωθεί όπως τα άλλα σπονδυλωτά, με κυκλοφορία μονοκυττάρων που προέρχονται από το νεφρικό αιμοποιητικό ιστό και αμέσως είναι ικανά να λάβουν ένα λειτουργικό ρόλο του ιστού.

Τα μονοκύτταρα τα ψαριών συγκροτούν περίπου το 0,1 % του λευκοκυτταρικού πληθυσμού, παρά το γεγονός ότι μπορούν να αυξήσουν τον αριθμό τους σε σύντομο χρόνο ( περίπου 48 h ) ιδιαίτερα ύστερα από ένεση ξένων υλικών όπως τα κολλοειδή του άνθρακα. Μορφολογικά είναι όμοια σε μεγάλο βαθμό με τα μονοκύτταρα των θηλαστικών, τα οποία επίσης έχουν κοινά ιστοχημικά γνωρίσματα, κατέχοντας μερικά τέλεια διασπαρμένα κοκκία, τα οποία χρωματίζονται θετικά με PAS και όξινη φωσφατάση.



Σε λεπτή δομή η κυτταρική μεμβράνη είναι διεσπαρμένη μέσα στα ψευδοπόδια και η χρωματίνη του κεντρικού νουκλεοτιδίου - πυρήνα, διασπέρνεται οριακά. Τα λυσοσώματα ποικίλουν στο μέγεθος και είναι συνήθως ηλεκτρονικά πολύ πυκνά. Η συσκευή Golgi είναι ιδιαίτερα ευδιάκριτη. Τα μονοκύτταρα στα ψάρια έχουν παρατηρηθεί λαμβάνοντας προηγουμένως ιδιαίτερα υλικά όπως άνθρακα και thorotrast, αν και οι δυνατότητες φαγοκυττάρωσης είναι περιορισμένες.

### **Θρομβοκύτταρα.**

Τα θρομβοκύτταρα είναι υπεύθυνα για την πήξη του αίματος και είναι σημαντικά στην εμπόδιση απώλειας υγρού των ιστών από έναν επιφανειακό τραυματισμό. Θρομβοκύτταρα έχουν βρεθεί σε όλα τα μη θηλαστικά σπονδυλωτά. Τυπικώς είναι επιμηκνόμενα κύτταρα και χαρακτηρίζονται συχνά ως “ κύτταρα ατράκτου “, αν και συνήθως τραβούν έξω έναν πόλο του κυττάρου, μέχρι ενός σημείου.

Θρόμβουν αμέσως και εάν δεν ληφθεί μέριμνα στην προεργασία ενός δείγματος αίματος, τα θρομβοκύτταρα μπορούν να απορρίψουν τα περισσότερα του κυττοπλάσματός τους, ενώ εμφανίζονται ως μικρά, πυκνά κηλιδωμένα νουκλεΐδια ( πυρήνες ), περιβαλλόμενα από πολύ μικρή ποσότητα κυττοπλάσματος.

Όταν παρατηρείται στη ζωντανή κατάσταση με σύγκριση σε μικροσκόπιο, μπορεί να παρατηρηθεί διαθλαστικό κενοτόπιο στη βάση της οξυμένης άκρης του θρομβοκυττάρου, ακριβώς πρόσθια του νουκλεοτιδίου - πυρήνα. Το οξύ της φωσφατάσης και το PAS θετικό είναι υλικά που συνδυάζονται με την ίδια περιοχή. Η λεπτή δομή του κυττοπλάσματος των τελεόστεων θρομβοκυττάρων έχει μια αξιοθαύμαστη ομοιότητα με αυτή των αιμοπεταλίων των θηλαστικών ( Ferguson 1975b ). Ένας λαβύρινθος ενδοσυνδεσμικών κενοτοπίων διακλαδίζεται μέσω του κυττοπλάσματος

και ανοίγει δια μέσου πόρου προς το εξωτερικό. Ξένα μόρια και σωματίδια μπορούν να εισέλθουν σε αυτό το λαβύρινθο, όπως και στα αιμοπετάλια των θηλαστικών, αλλά πιθανά να μη σχετίζονται με τη δραστηριότητα φαγοκυττάρωσης.

Η δυσκολία της διάκρισης θρομβοκυττάρων - λεμφοκυττάρων, έχει οδηγήσει σε μεγάλη σύγχυση αναφορικά με τον υπολογισμό αυτών των κυττάρων. Εκτός κι αν τα θρομβοκύτταρα έχουν διατηρηθεί στην ωριμότητά τους άθικτα σε μορφές σημείων ή ατράκτου, αφού σε άλλη περίπτωση διαφορετικοί υπολογισμοί αυτών των κυττάρων δεν είναι αξιόπιστοι. Στο πλησσί ο Ellis ( 1975 ) βρήκε με μια ειδική τεχνική φθορισμού αντισωμάτων, ότι η αναλογία των θρομβοκυττάρων με τα λεμφοκύτταρα ήταν 1,4 προς 1. Ο συνολικός αριθμός των θρομβοκυττάρων κυμαίνεται από 60,000 μέχρι 70,000 / mm<sup>3</sup>.

### **Εωσινόφιλα.**

Τα εωσινόφιλα θεωρούνται ότι στα θηλαστικά συμβάλλουν στον μηχανισμό άμυνας ( φαγοκυττάρωση ) σε συνδυασμό με το σύστημα αντισωμάτων - αντιγόνων. Έτσι παίζουν σημαντικό ρόλο στην διατήρηση της ομοιόστασης κατά την διάρκεια μόλυνσης, και είναι ιδιαίτερα πολυπληθή όταν ελευθερώνονται συνεχώς αντιγόνα όπως στις παρασιτικές ασθένειες. Στα θηλαστικά τα εωσινόφιλα συνιστούν μόνο το 1 - 3 % των λευκοκυττάρων του αίματος, αν και αυτά τα νούμερα είναι αντικείμενο επιβεβαίωσης παραγόντων όπως επιπέδων ορμονών. Τα εωσινόφιλα χαρακτηρίζονται από μεγάλα διαθλώμενα κοκκία τα οποία έχουν ένα υψηλό ισοηλεκτρικό σημείο ( i.e.) και χρωματίζονται με χρώση οξέως, όπως εωσίνη, σε μεσαία αλκάλια. Σε λεπτή δομή τα κοκκία των εωσινόφιλων των θηλαστικών κατέχουν έναν πυκνό ηλεκτρονικό άξονα κρυσταλλοειδών. Τούτο δείχνει να είναι σταθερό χαρακτηριστικό στοιχείο των εωσινόφιλων των άλλων σπονδυλωτών.

( Kelenyi & Nemeth 1969 ). Τα συγγράματα αναφορικά με το παρουσιαστικό και την φύση των εωσινόφιλων στα ψάρια, συγχέονται με πολλές απαιτήσεις για την παρουσία και για την απουσία τους συχνά και σε άτομα ίδιων ειδών. Αυτά φυσιολογικά είναι σπάνια στο αίμα των ψαριών και οι περισσότερες των περιγραφών των εωσινόφιλων στα τελεόστεα, παραπέμπουν στα κοκκία εωσινόφιλων κυττάρων, που βρέθηκαν στο δέρμα, στους αιματοποιητικούς πεπτικούς γαστρικούς ιστούς.

### **Βασόφιλα και μαστικά κύτταρα ( mast cells ).**

Τα βασόφιλα των σπονδυλωτών είναι ασυνήθιστα κοκκώδη λευκοκύτταρα, και χαρακτηριστικά περιέχουν μεγάλους βασόφιλους ( χρώση με βασικές όχι όξινες χρωστικές ), μεταχρωματικούς κόκκους, παρόμοιους με αυτά των μαστικών κυττάρων. Η λειτουργία των βασόφιλων δεν είναι ξεκαθαρισμένη αν και περιέχουν ισταμίνη παρόμοια με τα κύτταρα των ιστών ενώ η σχέση των μαστικών κυττάρων με τα κύτταρα των ιστών δεν είναι αποδεδειγμένη.

Σαν εωσινόφιλα επηρεάζονται από ορμόνες από τα επινεφρίδια και επίσης φαίνονται να σχετίζονται με απροσδιόριστο τρόπο σε φαινόμενα αλλεργίας και καταπόνησης. Η παρουσία των βασόφιλων στα ψάρια είναι παρόμοια με αυτή των εωσινόφιλων, γεγονός που υποστηρίζεται από άλλους ερευνητές, ενώ από άλλους όχι ( Ellis 1975 ). Επιβεβαιωμένες εργασίες αναφέρουν ότι μοιάζουν με τα βασόφιλα των θηλαστικών στην μορφολογία και στην αντίδρασή τους κατά τη χρώση, ενώ μέχρι τώρα δεν έχει αποδειχθεί σε κανένα από τους αναγνωρισμένους μηχανισμούς άμυνας των ψαριών.

Τα κύτταρα που έχουν καθοριστεί ως μαστικά κύτταρα στα ψάρια, έχουν αναγνωριστεί με βάση μόνο το λόγο , ότι έχουν κοινά χαρακτηριστικά με τα μαστικά κύτταρα των θηλαστικών. Η περιοχή του συνδετικού ιστού και των κυτοπλασματικών κόκκων είναι βασόφιλοι και μεταχρωματικοί, ωστόσο

τωρινές εργασίες έχουν δείξει ότι οι μεταχρωματικοί κόκκοι κυττάρων που βρίσκονται στο χόριον του δέρματος, στο πλησσί, περιέχεται ισταμίνη.

Σε ένα μέρος από τα μαστικά κύτταρα παρατηρήθηκε από πολλούς ερευνητές μεταβλητότητα των κυττπλασματικών κόκκων. Ο Roberts et al. ( 1971b ) κατάφεραν να χρώσουν υποδερμικά - κύτταρα στο πλησσί, μόνο όταν φιξαρήθηκε ( σταθεροποιήθηκε ) σε 4 % παραφολμαδεΐδης και εβαπτήθηκε σε araldite , ενώ οι Bullock et al. ( 1976 ) κατάφεραν να τα χρώσουν μόνο σε ζωικά παρασκευάσματα. Όλοι συμφώνησαν με τα αποτελέσματα του Michel ( 1923 ) ότι οι κόκκοι των μαστικών κυττάρων των ψαριών έχουν ακραίες ευδιάλυτες δομές. Ο Bucke ( 1972 ) βρήκε ότι τα κοκκία των μαστικών κυττάρων του χρυσόψαρου χρωματίζονται με την μέθοδο της pinacyanol ερυθροκυνάσης μόνο μετά από σταθεροποίηση σε ρυθμιστικό διάλυμα 10 % φορμόλης.

Στα θηλαστικά τα μαστικά κύτταρα, καθορίζουν την αναφυλαξία με αποτέλεσμα τη διαστολή του λείου μύ, την αραίωση του αίματος στα αγγεία και την αύξηση της αγγειακής διαπερατότητας. Δεν είναι εντελώς ξεκάθαρο, ότι αυτό το φαινόμενο υπάρχει στα ψάρια, από τότε που επιχείρησαν να προκαλεσθούν αντιδράσεις σε τύπους αναφυλαξίας στο ψάρι και γενικά δεν είχαν επιτυχία παρότι συχνά αναφυλακτοειδής αντιδράσεις μπορούν να παρατηρηθούν κλινικά.

Συγκεντρωτικά, αν και η παρουσία των εωσινόφιλων και των μαστικών κυττάρων στα ψάρια είναι αμφισβητημένη, εμφανίζονται να είναι παρόν σε ορισμένα είδη και πιθανός να είναι παρόν και σε όλα τα είδη. Στα θηλαστικά ο αμυντικός ρόλος αυτών των κυττάρων έρχεται στο φως αργά και προς το παρόν ο λειτουργικός ρόλος των έτσι αποκαλούμενων εωσινόφιλων και των μαστικών κυττάρων στο ψάρι μπορούν μόνο να υποτίθονται , ενώ η σχέση τους για τα εμφανή κοκκία των εωσινόφιλων του βλενογόνου και του υποβλενογόνου ( EGC ) είναι κοντινή αν και δεν έχει ακόμα διευκρινισθεί ( Ellis A.E.& Roberts R. J. 1989 ).

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ IV

### ΑΙΜΑ ΚΑΙ ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑ

Σε αυτό το κεφάλαιο εξετάζονται οι μεταβλητές και οι μέθοδοι που χρησιμοποιούνται συνήθως και έχουν στόχο την μελέτη και τον υπολογισμό της ροής και των παραμέτρων του αίματος. Υπάρχει μεγάλος αριθμός συγγραμμάτων που αναφέρονται σε τέτοια θέματα. Οι Mahajan και Dheer ( 1979 ) σημειώνουν ότι κάπου 900 άρθρα έχουν δημοσιευθεί σε σχέση με την αιματολογία των ψαριών πριν το 1970. Από τότε 100 εργασίες τον χρόνο ασχολούνται με αυτό το αντικείμενο. Συνεπώς η επιλογή της μεθόδου που εξετάζεται εδώ, έχει περιοριστεί σε δεδομένα γενικής χρησιμότητας.

#### **Προετοιμασία των αγγειώδων κοιλοτήτων.**

Τα περισσότερα ψάρια έχουν όμοιο κυκλοφορικό σύστημα. Τα συστήματά τους είναι κατά ένα μεγάλο μέρος ολικά κλειστά, και η καρδιά, τα βραγχιώδη αγγεία, το σύστημα μικροκυκλοφορίας και τα αγγεία μακροκυκλοφορίας, είναι συνδεδεμένα σε γραμμική διάταξη. Τα συστήματα διαφέρουν σε

λεπτομέρειες, ωστόσο η εξέταση της ανατομίας των αγγείων είναι ουσιώδης όταν η δειγματοληψία αίματος αφορά μη γνωστά είδη. Οι ραδιογραφικές εξετάσεις είναι χρήσιμες ( Bell & Smart 1964 ), ενώ οι προκαταρκτικές μελέτες της ανατομίας των αγγείων, διευκολύνονται με απλές μεθόδους κυλίνδρων. Και τα δύο εύκαμπτα ή άκαμπτα αγγειακά κοιλώματα, μπορούν να προετοιμαστούν εύκολα. Όμως η ανατομική εξέταση είναι γενικά πιο χρήσιμη, επειδή μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τα δύο πλαίσια τεμαχισμού ( ανατομή και μόνιμη παραπομπή ). Οι Smith & Bell ( 1976 ), Bell ( 1978 ) προσάρμοσαν τεχνικές περίθησης που σχεδιάστηκαν από τον Tompsett ( 1970 ) για εφαρμογές στα ψάρια. Ο Bell ( 1978 ) προτείνει χρήση του Batson Anatomical Corrosion Kit της Polysciences Inc. of Warrington Pennsylvania. Ο μόνος πρόσθετος εξοπλισμός που χρειάζεται είναι ένας ειδικός δίσκος ( 40 x 15 x 0,5 cm ), φτιαγμένος από καθαρό πλαστικό με ανοξειδωτο ατσάλινο καλώδιο 45 cm, εύκαμπτο με γωνιακό πλαίσιο ώστε να σχηματίζει χειρολαβή, με ένα σταθερό καλαφατισμένο πιστόλι, τροποποιημένο να κρατά μια πλαστική σύριγγα 20 ml, μιας χρήσης. Η τεχνική παρέχει καλύτερο έλεγχο πάνω στην ένεση, ώστε να μπορεί εύκολα να επιτευχθεί με χειροκίνητη σύριγγα.

Αντιπροσωπευτικό δείγμα ζυγίσματος τουλάχιστον 500 g υπό αναισθησία κρατείται κατακόρυφα με το χέρι. Ο ουραίος μίσχος διατέμνεται και το διαχωριζόμενο άκρο εβαπτίζεται σε θερμό, ισοτονικό NaCl. Ο Bell ( 1978 ) εισηγείται για τη χρήση της ένεσης, την προσθήκη αντιπηκτικού ( ηπαρίνη ή EDTA ). Όταν η αιμορραγία παύσει, ο μίσχος καθαρίζεται και στεγνώνει. Υπό μικρή μεγένθυση, η ουραία αρτηρία και φλέβα μπορούν να προσδιοριστούν μέσα στο τόξο, το οποίο σχηματίζεται από το στέρνο και το σώμα του σπονδύλου. Μικρού μεγέθους καθετήρες πολυαιθυλενίου ( PE - 50 ή PE - 60 ) με ήπιο τρόπο εισάγονται 2 - 3 cm μέσα σε κάθε αγγείο. Μια κάλυψη ιστού είναι χρήσιμη στο να φράξει αυτό το κανάλι μέσα στα αγγεία.

Η πλαστική ένεση προετοιμάζεται σύμφωνα με τις εργοστασιακές οδηγίες. Απαιτείται προκαταρκτική πειραματική διαδικασία στο να υπολογισθεί ο χρόνος

πολυμερισμού για κάθε ποσότητα. Μια σύριγγα γεμίζει και τοποθετείται μέσα στο καλαφατισμένο πιστόλι. Ένας προσαρμοστής αμβλύαιχμος, χρησιμοποιείται για να συνδέσει τη σύριγγα με το κανάλι της αρτηρίας. Περίπου 10 λεπτά πριν την αναμενόμενη σκλήρυνση του πλαστικού, η ένεση ξεκινά και συνεχίζει να εισχωρεί αργά μέχρι το πλαστικό να φτάσει στα βραγχιακά νημάτια. Απαιτείται μεγάλη προσοχή για να αποφεύγεται η ρήξη των βραγχιακών αγγείων. Η σύριγγα στην συνέχεια μεταφέρεται στο φλεβικό κανάλι.

Ο Bell ( 1978 ) υποδεικνύει ότι μια σφήνα στον ιστό μετακινείται από τον οπίσθιο μύ του ατόμου, πρόσθια προς το ραχιαίο πτερύγιο και η ένεση συνεχίζει μέχρις ότου το πλαστικό εμφανιστεί στην επιφάνεια της οπής. Μετά από μια ώρα το πλαστικό είναι αρκετά σκληρό για τομή. Το δείγμα σε κάθε προσπάθεια πρέπει να εβαπτίζεται περίπου 5 φορές σε διάλυμα 6N NaOH ( 340 g NaOH / L ) σε περίπου 50 C<sup>0</sup> υπό κάλυμα ατμού. Οι περισσότεροι των μαλακών ιστών διαλύονται σε 2 ή 3 ημέρες. Υπολείματα ουσίας μπορούν να μετακινηθούν με μία λαβίδα ή με τη βοήθεια πεπιεσμένου νερού και απορρυπαντικού.

### **Βελτίωση της τεχνικής της δειγματοληψίας.**

Οι δείκτες του αίματος χρησιμοποιούνται συνήθως ως άμεσοι ή συμπερασματικοί δείκτες της λειτουργικής κατάστασης του οργανισμού. Η ισχύ αυτής της εφαρμογής εξαρτάται από κρίσιμες προϋποθέσεις, τέτοιες που απαιτούν η διαδικασία δειγματοληψίας, αλλά και η επεξεργασία του δείγματος που ακολουθεί. Όπως σημειώσαμε τα ψάρια καταπονούνται όταν κρατούνται για δειγματοληψία ή για άλλο σκοπό. Συνεπώς, πολλοί επιστήμονες αποφεύγουν συνεχείς δειγματοληψίες αίματος από το ίδιο ψάρι σε συγκεκριμένες περιπτώσεις έρευνας. Σε αντίθεση με την “ εφάπαξ δειγματοληψία”, ορισμένοι παράγοντες μπορούν να επηρεάσουν τις παρεχόμενες πληροφορίες. Αυτό περιλαμβάνει ( χωρίς να έχουν οριοθετηθεί τόσο η μέθοδος, όσο και οι επιδράσεις της διαδικασίας που χρησιμοποιείται για ακινητοποίηση του δείγματος πριν την έναρξη της δειγματοληψίας )

α) τον τύπο αντιπηκτικής ουσίας που χρησιμοποιήθηκε, β) τη διάρκεια και τις συνθήκες αποθήκευσης του δείγματος πριν την χρήση του. Έχουν γίνει μελέτες για να αξιολογηθούν οι συγκεκριμένες επιδράσεις ή τυχόν άλλες επιρροές στις μετρούμενες μεταβλητές του αίματος.

Το αίμα του ψαριού συνήθως πήζει ταχέως και για αυτό το λόγο η παρασκευή του δείγματος πρέπει να γίνεται χωρίς καθυστέρηση. Τα δείγματα πήζουν, οι θρόμβοι φυγοκεντρούνται κάτω και ο διαχωριζόμενος ορός χρησιμοποιείται για ανάλυση. Παρόλη την ευκολία της, αυτή η πρακτική έχει εγκαταλειφθεί. Η διαδικασία δεν επιτρέπει υπολογισμό της κυτταρικής σύνθεσης, γεγονός που είναι άμεσου ενδιαφέροντος. Επίσης ο παρασκευαζόμενος ορός με αυτή την μέθοδο δεν είναι απλό πλάσμα από το οποίο τα στοιχεία του συστήματος πήξης έχουν αλλοιωθεί. Η πήξη είναι συνδεδεμένη με την μεταφορά ιόντων και νερού μεταξύ πλάσματος και κυττάρων. Μερικά κύτταρα αναπόφευχτα σπάζουν και απελευθερώνουν περιεχόμενο, μεταβάλλοντας τη σύνθεση του πλάσματος. Αντιπηκτικά χρησιμοποιούνται για να επιτρέψουν τον διαχωρισμό των κυττάρων από το πλάσμα. Αυτή η διεργασία συνεπάγεται ορισμένα προβλήματα. Δύο τύποι αντιπηκτικών χρησιμοποιούνται συνήθως:

Οξαλάτες,κιτράσες.

Συντελεστές ενώσεων, όπως το EDTA, επιβραδύνουν τη θρόμβωση εμποδίζοντας τη σύνθεση των ιόντων Ca που είναι απαραίτητη για την θρομβοπλαστική ώστε να μετατραπεί η προθρομβίνη σε θρομβίνη.

Το εναλλακτικό αντιπηκτικό ηπαρίνη, εκ φύσεως, θεμελιώνει στα περισσότερα κύτταρα και σε άλλους ιστούς, την αντιθρόμβωση. Εξαιτίας των επιδράσεων αυτών σε συνδυασμό με το γεγονός ότι προκαλείται μικρή παραμόρφωση των κυτταρικών συστατικών του αίματος, οι Klontz & Smith ( 1968 ), έκριναν το EDTA ως το αντιπηκτικό επιλογής.

Ο Lampasso ( 1965 ), ο οποίος μελέτησε από νωρίς το EDTA, αναφέρει ότι,



ο λόγος του όγκου των ερυθρών αιμοκυττάρων προς το συνολικό όγκο του αίματος που παραμένει λόγω φυγοκέντρωσης στο ίζημα και η τιμή του αιματοκρίτη, περικλείουν σφάλματα όταν οι συγκεντρώσεις υπερβαίνουν τα 2 mg / ml του δείγματος.

Ο Blaxhall ( 1973 ) παρατήρησε μικρή αλλαγή στον αιματοκρίτη άνω των 5 ωρών παρακολούθησης , όταν χρησιμοποιήθηκαν συγκεντρώσεις του EDTA 4 - 5 mg / ml του δείγματος. Σε χαμηλότερες συγκεντρώσεις, εμφανίστηκαν σημαντικές αλλαγές.

Οι Smit και Schoonbee ( 1976 ) ενισχύουν τα ευρήματα του Blaxhall. Προσθέτως αναφέρουν ότι το pH του δείγματος μειώνεται και η μερική πίεση CO<sub>2</sub> ( pCO<sub>2</sub> ) στο αίμα αυξάνεται, όταν χρησιμοποιηθεί υψηλότερη συγκέντρωση EDTA. Ενδείξεις για μια επιφερόμενη Rott επίδραση ( μετακίνηση της ισορροπίας μεταξύ O<sub>2</sub> και αίματος ) έχει παρατηρηθεί μερικές φορές, ενώ συχνά εμφανίζονται σημαντικές αλλαγές στη μερική πίεση του οξυγόνου ( pO<sub>2</sub> ). Επόμενες μελέτες ( Smit et al. 1977 ) τεκμηρίωσαν και επέκτειναν αυτά τα ευρήματα. Τέτοιες παρατηρήσεις δημιουργήθηκαν πάνω στην χρήση του EDTA σε δειγματοληψία, για την άντληση πληροφοριών ως προς τις μερικές πιέσεις των αερίων του αίματος και τις διαταραχές της οξεοβασικής ισορροπίας.

Όταν χρησιμοποιηθεί EDTA, ιδιαίτερη προσοχή πρέπει να δίνεται στη δοσολογία. Είναι εύκολο να χρησιμοποιούνται για δειγματοληψία βελόνες με μετρούμενο όγκο, περιλαμβάνοντας αρκετό EDTA προς επιβράδυνση της θρόμβωσης κατά την διάρκεια της διαδικασίας. Όταν ο τελικός όγκος είναι γνωστός μπορεί να προστεθεί επί πλέον EDTA για να φέρει την συγκέντρωση στα 5 g / ml δείγματος. Η ηπαρίνη είναι μια θείο - μυκοπολυσακχαρίτης της D - γλυκοσανίνης και D - γλυκορινικού οξέως και είναι διαθέσιμη εμπορικά όπως τα αμμωνιακά άλατα, τα άλατα του ασβεστίου, του νατρίου και του λιθίου. Εξαιτίας των βιολογικά χαμηλών επιπέδων λιθίου, η ηπαρίνη προτιμάται από πολλούς ερευνητές, παρότι είναι πιο ακριβή. Οι περισσότερες συγκεντρώσεις ηπαρίνης καθορίζονται

μεταξύ 140 και 170 USP ( U.S. Pharmacopeia ) και είναι αποτελεσματικές σε συγκεντρώσεις 50 - 100 U S P units / ml ( δηλ. από 0,30 - 0,75 mg / ml δείγματος ). Η ηπαρίνη φαίνεται να έχει μικρή επίδραση στον όγκο του κυττάρου ( Blaxhall 1973 ) ή στο pH και στην μερική πίεση pO<sub>2</sub> του αίματος ( Hattingh 1975 : Smit et al. 1977 ).

Η αναισθησία χρειάζεται να ληφθεί υπόψη μόνο στη σχέση των επιδράσεων της αναισθητοποίησης πάνω στα έμμορφα χαρακτηριστικά του αίματος, οι οποίες είναι πολυάριθμες. Κάποιες επιδράσεις ( αυξάνουν στο αίμα, ή στους τίτλους του πλάσματος, τη γλυκόζη, λακτάση, πυρουβίνη, ιδιαίτερα των στεροειδών και των κατεχολαμίνων ) δείχνουν να γενικεύουν τις αντιδράσεις που εμφανίζονται κατά το κράτημα, την έκθεση στον αέρα και σε άλλες διαταραχές και ενοχλήσεις. ( Nakano & Tomlinson 1967 ; Chavin & Young 1970 ; Houston et al. 1971a; Wedemeyer 1972 ; Madden & Houston 1976).

Όταν δεν μας ενδιαφέρει η τύχη του ψαριού μετά τη δειγματοληψία, τα τεχνητά αποτελέσματα της χημικής αναισθησίας μπορούν να αποφευχθούν με συντριπτικό χτύπημα στο ζώο πριν δειγματοληφθεί . Ένα αιφνίδιο χτύπημα με μια σφήνα, παραμορφώνει το ψάρι μπροστά από την συμβολή του κρανίου και της σπονδυλικής στήλης προκαλώντας ανεπανόρθωτη ζημιά του κεντρικού νευρικού συστήματος και οδηγεί σε στιγμιαία άμεση ακινητοποίηση. Το κτύπημα πρέπει να λαμβάνει χώρα με ακρίβεια, χωρίς υπερβολική δύναμη, για να αποφευχθεί η ρήξη της ουραίας αορτής.

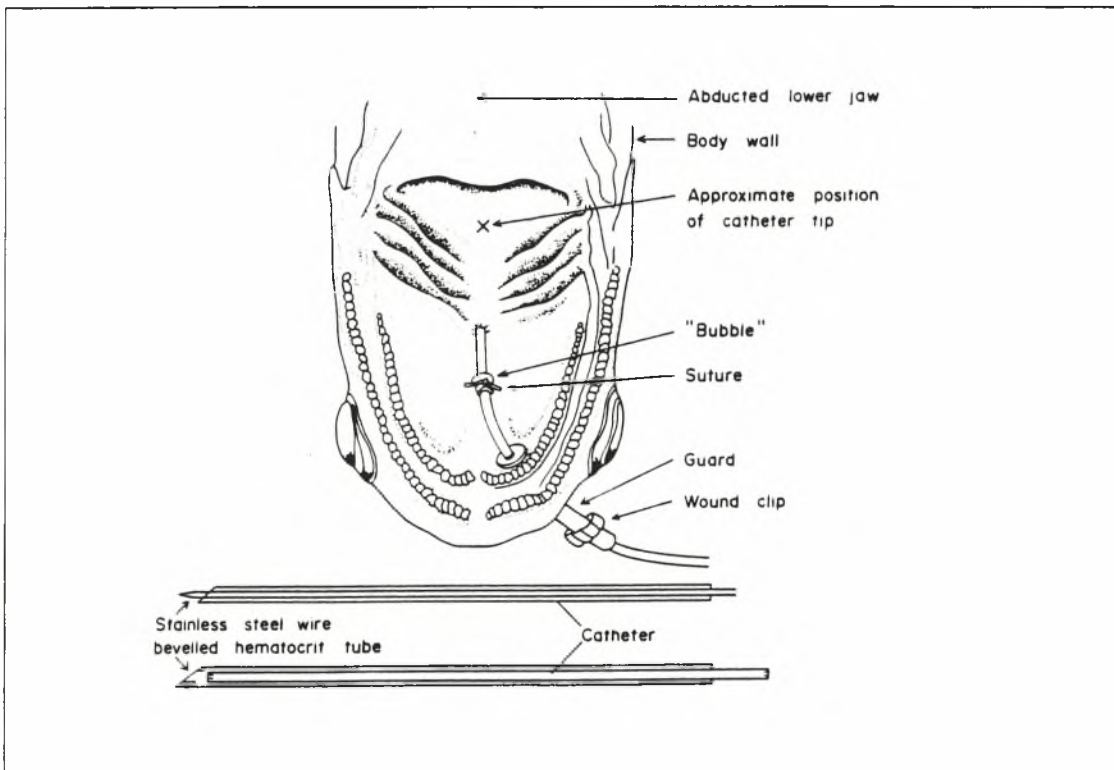
### **Εφάπαξ διαδικασία δειγματοληψίας.**

Τα δείγματα αίματος κι η πορεία της δειγματοληψίας τους συνδέονται καθοριστικά μεταξύ τους στην προσπάθεια άντλησης πραγματικών πληροφοριών της φυσιολογίας των ψαριών. Οι επιδράσεις των χειρισμών σύλληψης, της αναισθητοποίησης, της αιμοληψίας και άλλων παρόμοιων καταπονήσεων στη σύνθεση και κατανομή του σωματικού υγρού, είναι εκτεταμένες και σε σοβαρές περιπτώσεις μόνιμες. Όταν οι στόχοι της μελέτης το επιτρέπουν, πολλοί ερευνητές

οδηγούνται σε εφάπαξ και σε μεγάλες, οριακές ποσότητες δειγματοληψίας, απλά χτυπώντας τα άτομα πριν πάρουν δείγματα ( Oikari και Soivio 1975; Strange και Schreck 1978; Wells et al. 1984 ).

Όταν δεν είναι απαραίτητο το ψάρι να διασωθεί από τη διαδικασία της δειγματοληψίας, πολλές τεχνικές μπορούν να χρησιμοποιηθούν. Σε μικρά αντιπροσωπευτικά δείγματα ατόμων π.χ. με διατομή αφαίρεσης καθαλάτωσης και απολύμανση με αλκοόλη του ουραίου μίσχου, μπορεί να συλλεχθεί εύκολα και επαρκής όγκος αίματος .

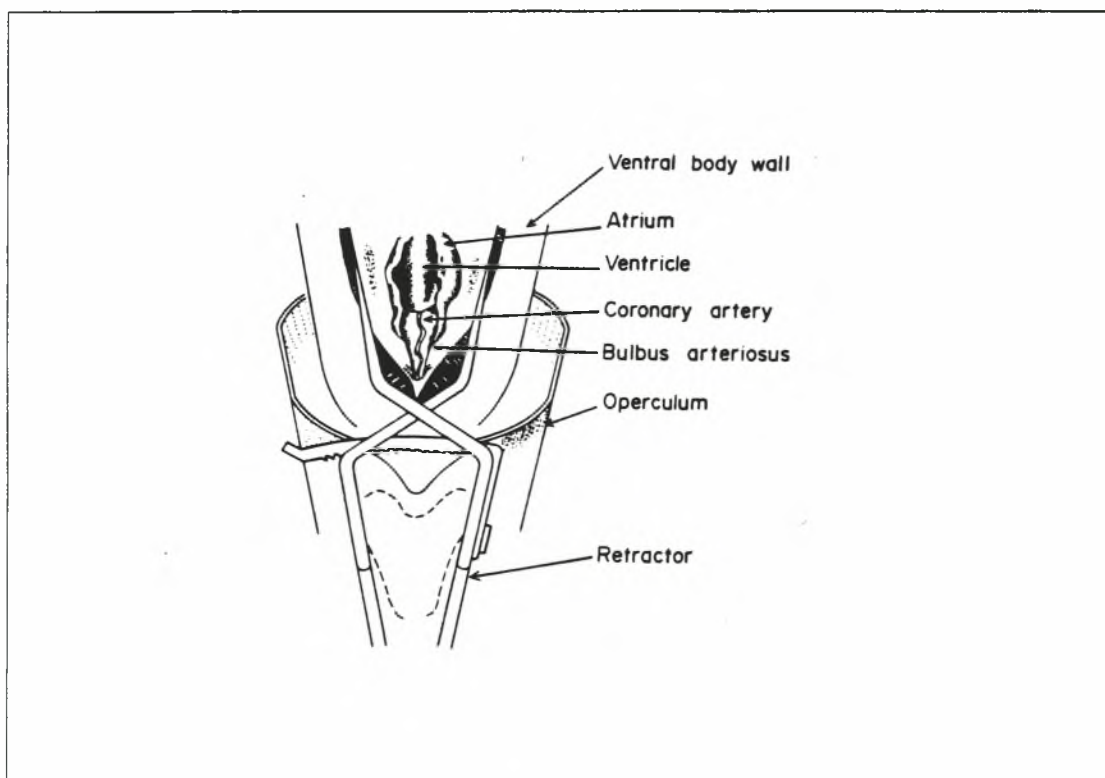
Σε μεγαλύτερα ζώα και είδη κατάλληλης σωματικής διαμόρφωσης και καρδιοβραγχιακής μορφολογίας ( πολλά σολωμοειδή ), η διάτρηση της ραχιαίας αορτής ( Schiggman 1959 ) μπορεί να τροφοδοτήσει με δείγματα αίματος μεταβραγχιακά ή αρτηριακά ( Σχήμα 7).



Σχήμα 7. Τοποθέτηση καθετήρα στο στόμα για άντληση αίματος από τη ραχιαία αορτή.

Προβραγχιακά ( φλεβικά ) δείγματα μπορούν να εξαχθούν από μερικά είδη μέσω της κοιλιακής αορτής, μια διαδικασία, που μπορεί να διευκολυνθεί από τον βραγχιώδη ισθμό με ισχυρό φωτισμό για να αποκαλυφθεί η εσωτερική θέση των αγγείων. Δείγματα αίματος προβραγχιακά μπορούν επίσης να συλλεχθούν άμεσα με διάτρηση της καρδιάς. Ωστόσο το κοιλιακό μυοκάρδιο είναι δοκιδοτό σε πολλά είδη και οι δομές των ιών ή μεμβρανών συνήθως εμποδίζουν την είσοδο βελόνας κατά την διάρκεια της δειγματοληψίας. Συνεπώς δείγματα καρδιακού αίματος είναι πιο εύκολα στη λήψη από το βολβό μετά από έκθεση της καρδιάς η οποία με τομή στην ενδιάμεσο, η θωρακική ζώνη συσπάται και το συγκρατούμενο μυοκάρδιο μετακινείται (Σχήμα 8).

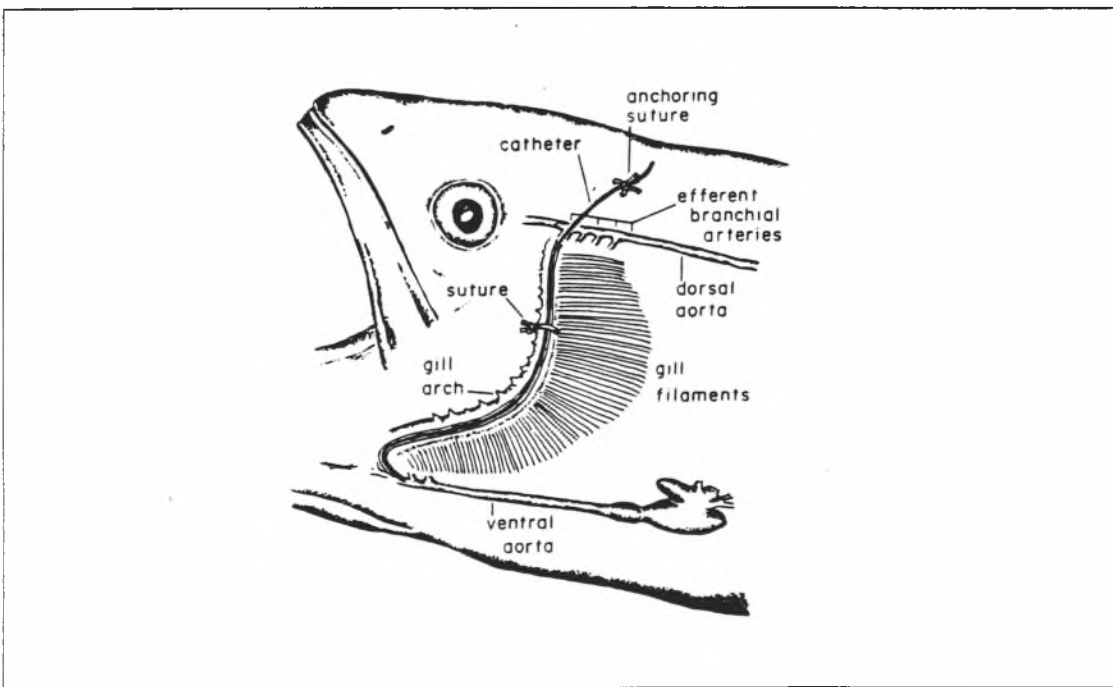
Αυτή η προσέγγιση είναι ιδιαίτερα χρήσιμη σε είδη μικρού έως μέτριου μεγέθους και είναι συχνά κατάλληλη για τη συλλογή δειγμάτων απευθείας μέσα σε λοξευμένες πιπέτες μιας χρήσεως.



Σχήμα 8. Σχηματική παράσταση άντλησης αίματος από την καρδιά ιχθύος.

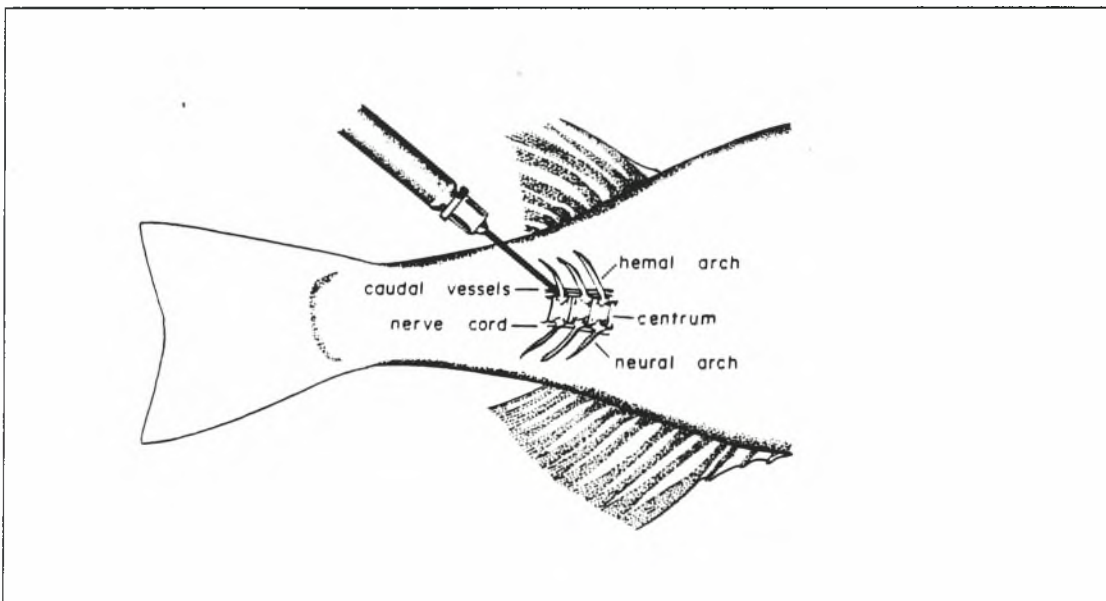
Είναι μια απλή μέθοδος δειγματοληψίας, η οποία μπορεί να δώσει μεγαλύτερο δείγμα από άλλες τεχνικές, όμως αυτά τα πλεονεκτήματα πρέπει να συγκριθούν με πιθανές μεταβολές της σύνθεσης του αίματος λόγω καταπόνησης, που σχετίζεται με την εκτεταμένη περίοδο της δειγματοληψίας. Αυτό μπορεί να είναι και αμελητέο, ως προς μερικούς ηλεκτρολύτες του αίματος, όμως είναι αξιόλογο για την γλυκόζη, τις κατεχολαμίνες, τα στεροειδή καθώς και για άλλες ευαίσθητες μεταβλητές που σχετίζονται με καταπόνηση. Υπό τέτοιες συνθήκες η μικρή και σύντομη λήψη δείγματος, είναι περισσότερο πολύτιμη από ένα μεγάλο όγκο αντλούμενο από ένα ταραγμένο ζώο. Δείγματα αίματος από την καρδιά μπορούν να παίρνονται συχνά από το φλεβώδες κοίλωμα ή τους αγωγούς του Cuvier. Οι Lied et al. ( 1975), Wingo & Muncy ( 1984 ), Ikeda et al. ( 1985 ) περιέγραψαν διαδικασίες για άντληση δειγμάτων από τους αγωγούς του Cuvier.

Οι Ames et al. ( 1966 ) πρότειναν τους προσαγωγούς και απαγωγούς των βραγχιακών αγγείων ως περιοχές για ένεση και άντληση δείγματος ( Σχήμα 9 ).



Σχήμα 9. Σχηματική παράσταση άντληση αίματος από τα βραγχιακά αγγεία.

Η μέθοδος τους ανταποκρίνεται ικανοποιητικά στο σκοπό της ένεσης και η επιτυγχάνομενη τομή, προσφέρει δυνατότητες για ικανοποιητική άντληση. Αίμα μπορεί επίσης να δειγματοληφθεί από ορισμένα άλλα αγγεία. Τα πιο γνωστά από αυτά είναι η ουραία φλέβα και αρτηρία ( Itazawa 1957 ). Τα ουραία αγγεία συνήθως είναι προσεγγίσιμα κατά την κατεύθυνση της κοιλιακής οπίσθιας μεσογραμμής προς το εδρικό πτερύγιο και μεταξύ του παρακείμενου τόξου του στέρνους και των σπονδυλικών αρτηριών, ( Σχήμα 10 ) αλλά επίσης μπορεί να ερευνηθεί με πλευρική διείδυση κοιλιακά προς την πλευρική γραμμή.



Σχήμα 10. Σχηματική παράσταση άντλησης αίματος από τα ουραία αγγεία.

Η φλέβα εκτείνεται απευθείας κοιλιακά προς την ουραία προέκταση της νωτιαίας αορτής και σε πολλά είδη υπάρχει μερική επένδυση ( σε όλη την έκτασή τους φλέβα και αορτή, βρίσκονται μαζί στο ίδιο περίβλημα ). Εξαιτίας αυτής της κλειστής παράταξης τα δύο αγγεία μπορούν να διατηρηθούν συγχρόνως από βελόνα δειγματοληψίας, με συλλογή μίγματος αρτηριο - φλεβικού αίματος.

Οι Smith & Bell ( 1976 ) προτείνουν το κοινό θεμελιώδες αγγείο ως περιοχή δειγματοληψίας. Αυτό το αγγείο είναι στην δεξιά πλευρά του σώματος ( στα σολωμοειδή μπορεί η πρόσβαση να γίνεται με γωνία  $80^{\circ}$  προς το πλευρικό σωματικό τοίχωμα, πίσω από το κλείθρο και λίγο πρόσθια της πλευρικής γραμμής. Αρκετοί ερευνητές έχουν προσαρμόσει αυτόν τον τρόπο προσέγγισης. Το ίδιο συμβαίνει και στη γαστρική φλέβα ( Labat & Laffont 1964 ).

Τελικώς δείγματα μικρού όγκου μπορούν να προμηθευτούν από πολλά είδη με κοκχική τομή, μέθοδο που χρησιμοποιείται συχνά σε μελέτες μικρών θηλαστικών. Οι περισσότερες αιματολογικές πληροφορίες των ψαριών απορρέουν από μελέτες ενήλικων ατόμων, γιατί οι συνήθεις τεχνικές δειγματοληψίας είναι ακατάλληλες για νεαρά ιχθύδια. Ο Perry ( 1987 ) ωστόσο επινόησε μια διαδικασία που επιτρέπει μορφολογικές και άλλες παρόμοιες μελέτες στα κύτταρα του αίματος μικρών ζώων μήκους 2 mm. Με τη διαδικασία αυτή καρδιά και βράγχια απομακρύνονται με μικροχειριστές ( είδη 2 - 14 mm ) ή με ελαφριά τομή κάτω από ανατομικό μικροσκόπιο ( είδη 14 - 52 mm ) και μεταφέρονται σε αντικειμενοφόρους. Μετά την προσθήκη σταγόνων χρωστικής, ο ιστός τέμνεται για να επιστρώσει τα κύτταρα. Η επί πλέον χρωστική απομακρύνεται και έτσι μπορεί να παρασκευαστεί το μόνιμο δείγμα.

Ωστόσο οποιαδήποτε περιοχή δειγματοληψίας κι αν επιλεγεί, πρέπει να λαμβάνονται υπόψη κάποιες προφυλάξεις. Η πηκτικότητα πιθανώς μειώνεται όταν χρησιμοποιηθούν σύριγγες με πλαστικό αντί γυαλί. Γενικά η μεγαλύτερη χρησιμοποιούμενη βελόνα , πρέπει να συνδυάζεται με τη μικρότερη σύριγγα. Το δοχείο της σύριγγας σύρρεται αργά προς τα έξω για να κάνει χώρο στην είσοδο του αίματος, και όχι για να δημιουργήσει αρνητική πίεση. Οι << φυσαλίδες >> αίματος, κατά την είσοδο στη σύριγγα ευνοούν την αιμόλυση.

Έτσι πολλοί ερευνητές, σε καθημερινή βάση, αντλούν δείγματα με την βοήθεια λαδιού.

## Άντληση αίματος αγγείων.

Πειραματικές θεωρίες μπορούν να εξισορροπήσουν τα μειονεκτήματα της εφ'άπαξ δειγματοληπτικής μεθόδου, με εμφύτευση μικρού δοχείου ή σύριγγας, από τα οποία, δείγματα αίματος μπορούν να αντληθούν όταν απαιτούνται. Η σύριγγα είναι χρήσιμη π.χ. όταν πρέπει να καταγραφούν ορμονικοί τίτλοι σε ελάχιστα διαταρασσόμενα ζώα, ή όταν πειραματικοί σκοποί απαιτούν σειρά δειγμάτων από ίδιο άτομο. Μερικές μέθοδοι έχουν αναπτυχθεί για ιδιαίτερα είδη ή για ιδιαίτερες ανάγκες δειγματοληψίας. Πριν από την άντληση, τα ψάρια πρέπει να αναισθητοποιούνται. Ποικιλία χημικών και φυσικών τεχνικών έχουν απασχολήσει και έχουν καταναλωθεί για αυτό το σκοπό. Οποιαδήποτε μέθοδος αναισθησίας κι αν χρησιμοποιείται, σκοπό έχει να φέρει τα άτομα σε ένα χειρουργικό προγραμματισμό αναισθησίας για επαρκές χρονικό διάστημα χωρίς να προκαλεί μεγάλες ή διαρκείς μορφές επιδράσεων.

Η διαδικασία εφαρμογής της είναι κρίσιμη. Ζώα ερεθισμένα από συγκράτηση σε δίχτυα και μεταφερόμενα σε μπάνιο για χημική αναισθησία ή σε μονάδες ηλεκτροαναισθησίας, απαιτούν παγίως πολύ περισσότερο χρόνο για να επιστρέψουν στην φυσική κατάσταση από ότι ζώα που αναισθητοποιήθηκαν σε δεξαμενές στις οποίες αφέθηκαν γρήγορα μέσα σε ορισμένες ώρες. Η άντληση αίματος είναι καταλληλότερη κρατώντας το ψάρι έξω με σύντομη χειρουργική αναισθησίας όπως περιέγραψαν οι Smith & Bell ( 1967 ), Houston et al.( 1969 ) και Reinecker & Ruddell ( 1974 ). Όλοι προτείνουν ρυθμιζόμενη συγκράτηση, βραγχιώδη ή στοματική άρδευση και αποφυγή της αφυδάτωσης.

## Άντληση νωτιαίας αορτής.

Αρχικά περιγράφηκε από τους Conte et al ( 1963 ) και Smith & Bell ( 1964 ). Η άντληση αορτής γίνεται με καθετήρα PE - 50 ή PE - 60 , τοποθετώντας



με χειρολαβή τη μύτη υδροθερμικής βελόνας 22 ή 23 μονάδων μέτρησης Huber. Η κοφτερή μύτη της βελόνας αναπόφευχτα προκαλεί ζημιά στο τοίχωμα της αορτής. Μια εκτεταμένη βλάβη των αγγείων συνήθως τα διαρρηγνύει. Για αυτό τον λόγο έχουν χρησιμοποιηθεί εστίες για σχηματισμό θρόμβου και έχουν γίνει οι κατάλληλες προετοιμασίες για να αναστέλλεται η θρόμβωση επί μικρό διάστημα, ώστε να διατηρείται ανεμπόδιστα η ροή του αίματος ( Smith and Bell 1967 ).

Αποπειρώντας να παρακάμψει αυτά τα προβλήματα ο H. M. Miles εισήγαγε την αντλούμενη σύριγγα. Η σύριγγα επιτρέπει την χρήση καθετήρα χωρίς βελόνα, η άκρη του οποίου μπορεί να τοποθετηθεί ικανοποιητικά με διείσδυση στην αορτή. ( Προετοιμασίες αυτής της κατηγορίας είναι περισσότερο διαρκής και λιγότερο επιρρεπής στο σχηματισμό θρόμβου ).

Παρόλο ότι οι τεχνικές δουλεύουν καλά σε μεγάλα μεγέθη ψαριών, υπάρχουν δυσκολίες σε μικρότερα μεγέθη. Η συνολική διάμετρος μιας 18 - μονάδων βελόνας ( το μέγεθος συμβατού καθετήρα PE - 50 ) και το περικάλυμα, είναι κατά προσέγγιση 1,65 mm , όσο οι μέσες διαστάσεις της νωτιαίας και κοιλιακής αορτής ζώων βάρους 200 - 300 g. Διάτρηση αγγείου κατά την διάρκεια άντλησης συμβαίνει τακτικά, με συνέπεια τη σταθερή απώλεια αίματος. Απώλειες όγκου άνω των 0,5 ml μπορεί να συμβεί μεταξύ βελόνας και θήκης και αυτό παρουσιάζει μια σταθερή κλάση του συνολικού όγκου αίματος σε μικρά κατά μέσο όρο ζώα. Τα πλεονεκτήματα της μεθόδου άντλησης με σύριγγα μπορούν να διατηρηθούν, αν επιλεγεί ένα trocar για να εισάγει τον καθετήρα, που υποκαθιστά το κύριο μέρος της σύριγγας. Ο Carey ( 1969 ) π.χ. χρησιμοποιούσε ένα 18 T trocar με στυλαιο σε δείγματα ατόμων από 9 είδη ψαριών σε βάρος 3 - 6 Kg. Ο Houston ( 1971 ) χρησιμοποίησε τυπικά σωληνάκια αιματοκρίτη για αυτό τον σκοπό. Μια περαιτέρω χρήση του συστήματος trocar είχε αναπτυχθεί από τον Soivion et al. το 1972 , ο οποίος χρησιμοποίησε καθετήρες PE - 50 με λοξευμένη άκρη, εφαρμόσιμη πάνω στην άκρη μιας ανοξείδωτης ατσάλινης ράβδου ( καλωδίου ). Τούτο επιτρέπει την άντληση αίματος από σχετικώς μικρά

γυάλινο σωληνάκι του αιματοκρίτη και το εσωτερικό καλώδιο των trocars, προσφέρουν ορισμένα πλεονεκτήματα έναντι του καθετήρα σταθερής βελόνας. Απώλειες αίματος κατά την διάρκεια της τοποθέτησης είναι σημαντικά μειωμένες. Υπάρχει σχετικά μικρή ζημιά στα αγγεία στην ελεύθερη άκρη του σωλήνα, ενώ η νέκρωση στην τομή της αορτής εμφανίζεται σχεδόν αναπόφευχτα.

Ένα μικρό αλλά σημαντικό πλεονέκτημα είναι, ότι στο εσωτερικό του trocar πάνω από τον τύπο του αιματοκρίτη, οι μικρές φυσαλίδες μπορούν να εμφανισθούν στα τοιχώματα του καθετήρα. ( Σχήμα 7 ). Οι φυσαλίδες μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως στήριγμα για τη ραφή του συστήματος της άντλησης προς το κρέας. Φυσαλίδες δημιουργούνται με μαλάκωμα του καθετήρα σε φωτιά από λαμπτήρα αλκοόλης και σπρώχνοντας τα εύκαμπτα εργαλεία μαζί. Μεγάλη προσοχή απαιτείται στους χειρισμούς με δύσχρηστο μεγέθους καλώδιο. Οποιοδήποτε σύστημα καθετήρα επιλέγεται, η εισαγωγική διαδικασία είναι βασική και έχει αρχικώς περιγραφεί από τους Smith & Bell ( 1964 ). Μέσω μιας μικρού μεγέθους ( 12 μονάδων ) υποδερμικής σύριγγας από ανοξείδωτο ατσάλι, της οποίας η λοξευμένη άκρη πρώτη κινείται μέσω της οροφής του στόματος ακριβώς πριν τη premaxilla ( Σχήμα 7 ), διέρχεται ένας μικρού μεγέθους καθετήρας PE η άκρη του οποίου έχει ένα θερμό - κολάρο για να υποστηρίξει τον καθετήρα. Ο καθετήρας σημειώνεται στο μήκος που εισέρχεται μέσα στην αορτή και γεμίζει με ηπαρίνη, η οποία αποστειρώνεται με δίοδο ενός αποστειρωτή φίλτρου GS - Millipore. Το trocar εισέρχεται μέσα στην οροφή του στόματος ελαφρώς πρόσθια από την πρώτη πλάκα - τόξο των βραγχίων ( Σχήμα 7 ), προχωρεί στην συνέχεια κάτω από το επιθήλιο και στρέφεται κάτω, νωτιαία προς τη μονάδα των πρόσθιων ζευγών των απαγωγών βραγχιώδων αγγείων και την αορτή. Όταν χρησιμοποιείται trocar με σωληνάριο αιματοκρίτη, η διείσδυση της αορτής είναι γρήγορα εφικτή και το αίμα κινείται μέχρι το διάστημα δοχείου και καθετήρα. Το trocar κινείται αργά μέσα στην αορτή με μια ελαφριά περιστροφική κίνηση. Η

αντλία μπορεί τώρα ήρεμα να ελίσσεται στην απαιτούμενη απόσταση μέσω αυτού και μέσα στο αγγείο. Το δοχείο του αιματοκρίτη σύρρεται και εφαρμόζεται ελαφριά πίεση του δακτύλου στη θέση της διείδυσης μέχρι να λάβει χώρα η θρόμβωση. Με το εσωτερικό trocar η διείδυση της αορτής γίνεται με τον ίδιο τρόπο και μπορεί να σταθεροποιηθεί με ελαφριά πίσω κίνηση του καλωδίου. Ο καθετήρας ήρεμα περιστρέφεται μέσα στο αγγείο και το καλώδιο σύρρεται. Ο σωλήνας περιέχοντας αποστειρωμένο αλατούχο διάλυμα ηπαρίνης λιθίου 250 IU ( διεθνείς μονάδες ) / ml μετά ταπώνεται με έναν αιμοστάτη. Στη συνέχεια ράβεται στην οροφή του στόματος, στηρίζοντας εντός το ρινικά υποβασταζόμενο σωλήνα με σφιχτούς κόμπους ή αγκράφες συρραφής τραύματος και σφραγίζεται. Η διαδικασία λειτουργεί ικανοποιητικά σε αντιπροσωπευτικά δείγματα ατόμων κάτω των 200 - 500 g, όταν χρησιμοποιείται γυάλινο trocar. Με καθετήρα PE - 90 και συνδυαζόμενο καλώδιο, η μέθοδος του εισχωρούμενου trocar μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε άτομα βάρους των 100 g. Ωστόσο τέτοιες παρασκευές απαιτούν μεγάλη προσοχή για τη θρόμβωση του αίματος που ξεκινά γρήγορα και η αποφυγή ή καθυστέρηση της πήξης είναι δύσκολο να διατηρηθεί.

### Διπλή άντληση.

Η μέθοδος αυτής της άντλησης χρησιμοποιείται συνήθως σε μελέτες κίνησης και όγκου. Συνήθως σχετίζονται ιστοτοπικές ή χρωστικές εγχύσεις και ακολουθούνται από διαδοχικές δειγματοληψίες. Όταν χρησιμοποιείται ένας μόνο καθετήρας η απορρόφηση του δείκτη γίνεται προς το τοίχωμα του καθετήρα, που μπορεί να λάβει συμβατά δείγματα. Αυτό μας παραπέμπει στο << λάθος μοναδικού καθετήρα >>. Οι Nickols & Weisbart, ( 1984 ) παράκαμψαν αυτό το πρόβλημα με χρήση trocars τοποθετώντας δύο μικρούς καθετήρες PE - 50 στην αορτή μεγάλων ατόμων 1 - 4 Kg. Μερικοί θάνατοι ανέκυψαν, όμως τα μεταχειρουργικά τραύματα ήταν σχετικά λίγα και οι καθετήρες παρέμειναν σταθεροί για ένα μήνα ή και περισσότερο. Κατά τη διάρκεια της ανάπτυξης και δοκιμασίας αυτής της τεχνικής, οι

αρχές της ήταν ικανές για να σταθεροποιήσουν την έκταση και το μέγεθος του << λάθους μοναδικού καθετήρα >>. Στην περίπτωση του πλάσματος μαρκαρισμένο με τριτακή κορτιζόλη το λάθος έχει εύρος από 14 έως 1,800 %.

### Άντληση της κοιλιακής αορτής.

Οι Holeton & Randall ( 1967a. 1967b.) χρησιμοποίησαν βελόνα, τοποθετώντας καθετήρα υπό κλίση για να αντλήσουν αίμα κοιλιακής αορτής ιριδίζουσας πέστροφας. Οι Garey ( 1969 ), Saunders ( 1971 ) & Satterlin ( 1971 ), χρησιμοποίησαν αντλία χωρίς βελόνα για τον ίδιο σκοπό. Όπως εφαρμόστηκε στα σολωμοειδή, η μέθοδος του Garey αναφέρεται στην είσοδο μέσω του στόματος. Ένα trocar με στυλαιό ( 89 mm ) εισάγεται στη βάση της ενδιάμεσης θηλής του δαπέδου του στόματος και προωθείται υπό γωνία  $45^{\circ}$  στρέφοντάς το στην αορτή. Ο στυλαιός στην συνέχεια αφαιρείται και ο καθετήρας περνάει μέσω του trocar στο αγγείο και ράβεται προς τα έξω μέσω δοχείου στήριξης στη θέση που έγινε η διείσδυση.

Οι Saunders & Sytterlin ( 1971 ) χρησιμοποίησαν εντελώς διαφορετική προσέγγιση με τα sea raven. Σε ψάρια βάρους 1 - 3 Kg, τοποθέτησαν στην επιφάνεια της κοιλιάς με χειρουργική επέμβαση και έκαναν τομή στο ενδιάμεσο του βραγχιώδη ισθμού. Η κοιλιακή αορτή αποκαλύφθηκε με αμβλεία τομή και εισήχθη η αντλία ενώ, το δέρμα ράφτηκε σφιχτά γύρω από την αντλία και το τραύμα έκλεισε. Αυτές οι αρχές αναπτύσσουν μια πρωτότυπη τεχνική για άντληση αίματος κοιλιακής αορτής, μέθοδο κατάλληλη μόνο για ανθεκτικά ψάρια. Η γαστρική αρτηρία αποκαλύπτεται με δεξιά πλευρική τομή στο σώμα κοντά στην έκφυση του περυγίου. Η αντλία περνά μέσω της αρτηρίας προς την αορτή. Για την δειγματοληψία της κοιλιακής αορτής των ευμεγέθων ψαριών, μπορεί να πραγματοποιηθεί με κατάλληλα trocar, εάν ο ισθμός της μπορεί να αποκαλύψει τη θέση των αγγείων με κατάλληλο φωτισμό.

Ωστόσο η απευθείας αιμοληψία από την κοιλιακή αορτή είναι σε γενικές

γραμμές ούτε πολύ επιτυχής, ούτε μεγάλης διάρκειας. Μείωση της απευθείας προσέγγισης μπορεί να είναι δυνατή σε μεγάλα αντιπροσωπευτικά δείγματα. Οι Ames et al ( 1966 ) περιέγραψαν μεθόδους δειγματοληψίας με σύριγγα από τα προσαγωγά και απαγωγά αγγεία ( Σχήμα 9 ). Αν και τα αποτελέσματα από την χρήση της σύριγγας κρίνονται ικανοποιητικά, η μέθοδος δεν είναι χρήσιμη για δειγματοληψία, γιατί ο απαιτούμενος χρόνος για την αιμοληψία επαρκούς όγκου, συνήθως αλλοιώνει την ακεραιότητα του δείγματος.

Η εμπειρία δείχνει ότι ο καθετήρας πρέπει να εισέρχεται μέσα στην οπή μιας προσαγωγού βραγχιακής αρτηρίας περί τη βάση του βραγχιακού τόξου με οπίσθια κατεύθυνση προς την κοιλιακή αορτή. Με αυτή τη μέθοδο έχουν συλλεχθεί ( σε μικρής διάρκειας δοκιμές ) δείγματα με ευλύγιστα Silastic που προτιμούνται από τους πολυεθυλενικούς καθετήρες. Ο καθετήρας εισάγεται με ραφή στο βραγχιακό τόξο που διευκολύνει τη ροή του αίματος. Έτσι είναι δυνατό να μπει στη νωτιαία αορτή μέσω της απαγωγού αρτηρίας στην κορυφή του τόξου. Η προσέγγιση αυτή προσφέρει αφανή προτερήματα σχετικά με την υφιστάμενη μέθοδο, σε μεγάλο βαθμό σε σολωμοειδή και σε άλλα παρόμοια είδη. Η μέθοδος είναι επίσης κατάλληλη για λήψη δειγμάτων αίματος του κοινού κυπρίνου και άλλων ειδών των οποίων η σωματική τους διάπλαση καθιστά τις συνήθεις τεχνικές άντλησης δύσκολες.

### **Άντληση των ουραίων αγγείων.**

Οι Cech. & Rowell ( 1976 ) περιέγραψαν μια διαδικασία άντλησης αίματος από τα ουραία αγγεία. Αν και αναπτύχθηκε ειδικά για χρήση σε πλατύψαρα, η τεχνική είναι γενικώς εφαρμόσιμη. Μια υποδερμική βελόνα 18 μ.Γ. προσαρμοσμένη σε καθετήρα PE - 50 σπρώχνεται μέσα από το κανάλι του αιμοφόρου δακτυλίου ( Σχήμα 10 ) κι από εκεί με δύναμη μέσα σε κάθε ουραία αρτηρία ( που εκτείνεται προς το σπονδυλώδες κέντρο ) ή στην ουραία φλέβα ( που εκτείνεται κοιλιακά προς την ουραία αρτηρία στο κανάλι του

αιμοφόρου δακτυλίου ). Οι Cech & Rowell ισχυρίζονται ότι η διείσδυση στα αγγεία μπορεί να προσδιοριστεί βάσει του χρώματος και της πίεσης του αίματος, όμως συστήνουν τομή για την στεραίωση της άκρης σε συνδυασμό με επιτυχή εμφύτευση μιας δεύτερης αντλίας στο αγγείο χωρίς διείσδυση.

### **Ανάκαμψη από χειρουργική επέμβαση.**

Συνήθως με άλλες διαδικασίες, η άντληση επιβάλλει καταπόνηση πολλαπλών τύπων και εντάσεων στα δειγματοζόμενα ψάρια. Κάθε ζώο, άμεσα ή έμμεσα, οδηγείται σε σημαντικές αποκλίσεις από τη φυσική του κατάσταση. Μέχρι να λάβει χώρα η ανάκαμψη από την δειγματοληψία δεν πρέπει να αναμένεται η παραγωγή στοιχείων ενδεικτικών της φυσικής κατάστασης. Ουσίες τύπου “ τοπικού αναισθητικού “ όπως το MS 222 φαίνεται να δρουν στην κυτταρική μεμβράνη, προκαλώντας αλλαγές στην σύνθεσή της, που καταστέλλουν την νευρομυϊκή δραστηριότητα. Κατά την διάρκεια της άρδευσης του ψαριού, η συγκέντρωση του αναισθητικού ανέρχεται απότομα και σταθερά ( Houston & Woods 1972 ), αυξάνοντας το φορτίο, που πρέπει να καθαρίζεται. Αν και άμεσες επιδράσεις παραμένουν μέχρις το αναισθητικό να αδρανοποιηθεί ή να απεκκριθεί, είναι χρήσιμο να καθαρίζεται ταχύτατα μέσω των βραγχίων, των νεφρών ή και των δύο ή να καταβολίζονται στους ιστούς.

Οι Houston & Woods 1972 σημειώνουν ότι τα επίπεδα MS 222 στο αίμα πέστροφας μειώνονται κατά 50 % εντός 20 λεπτών μετά τη μεταφορά του ψαριού από το νερό με το διάλυμα αναισθητικού σε καθαρό νερό ενώ το MS 222 έχει ανεπαίσθητη δράση και ποσότητα μετά από 3 - 6 h. Παρόμοιες παρατηρήσεις έγιναν από τους Walker & Schoettger ( 1967 ) και Goldstein ( 1982 ). Υπάρχουν ωστόσο για τη χρήση των αναισθητικών αρκετές καταγραμμένες επιδράσεις:

Χωρίς σύστημα άρδευσης δεν είναι πλήρως αποτελεσματικό.

Η  $pO_2$  μειώνεται, η  $pCO_2$  αυξάνεται και προκαλείται τοξικότητα.

Η διαλογή και παρόμοιες καταπονήσεις, προκαλούν απότομες αυξήσεις

των τίτλων ορισμένων ορμονών στο πλάσμα .

Οι Fagerlund ( 1967), Nakano & Tomlinson ( 1967 ), και Mazeaud et al. ( 1977 ) αναφέρουν σημαντικές αλλαγές συγκεντρώσεως κορτικοστεροειδών, κατεχολαμινών και άλλων ορμονών, όταν τα ψάρια υποστούν stress.

Η οσμωτική ικανότητα των ερυθροκυττάρων είναι μεγαλύτερη όταν το αίμα αντλείται γρήγορα μετά την δειγματοληψία, σε σχέση με αυτή που γίνεται 24 h αργότερα. Αυτό μπορεί να συνδέεται με τις βιοχημικές αλλαγές ( Hughes & Martinez 1986 ).

Οι επιπλοκές αυτές δείχνουν ότι τόσο μεγαλύτερη προσοχή πρέπει να δίνεται για ελαχιστοποίηση της καταπόνησης όσο κάθε άλλης πλευράς της διαδικασίας. Γενικά, τίποτα που μειώνει την έκταση και την διάρκεια της καταπόνησης δεν αυξάνει την ένταση των αλλαγών από την φυσιολογική θέση και την διάρκεια της ανάκαμψης. Ελαχιστοποίηση της καταπόνησης συνιστάται βάση της αρχής της ελάχιστης επέμβασης και συνήθως απαιτείται με προσοχή σε πολλές μικρολεπτομέρειες. Ορισμένοι παράμετροι που δρουν κατά την διαδικασία της αναισθητοποίησης, πρέπει να λαμβάνονται σοβαρά υπόψη:

Υπάρχει ουδετεροποίηση της τρισίνης στο νερό.

Συνήθως αρκεί μόνο μια ραφή αλλά μερικές φορές είναι απαραίτητες δύο.

Ο χρόνος που απαιτείται για απολύμανση του αναισθητικού, εξαρτάται από το αποκτούμενο φορτίο, και έτσι χρησιμοποιείται μίγμα ανεξάρτητου καθαρισμού συνεργίας αναισθητικών ( τρισίνη και κουαλδίνη σαλφάση ), προτιμώμενο σε υψηλές συγκεντρώσεις. Εξαιτίας αυτού οι αλλαγές της οσμωτικής και ιοντικής ρύθμισης είναι από τις πιο διαρκείς μετεπιδράσεις της χειρουργικής στα ψάρια. Η άρδευση με αλατούχο κατά προτίμηση νερό, παρέχει κάποιο πλεονέκτημα.

Ξέροντας τις γνωστές επιδράσεις των απότομων αλλαγών της θερμοκρασίας, υπάρχει ρύθμιση της θερμοκρασίας του μάνιου με το αναισθητικό και του συστήματος άρδευσης.

Συνολικά οι μικρές τροποποιήσεις συνήθως μειώνουν σταθερά το διάστημα που απαιτείται πριν αρχίσει η δειγματοληψία. Τελικά, εκτιμάται πως οι επιδράσεις της καταπόνησης, μπορούν να μειωθούν όχι όμως να εξαλειφθούν. Επιπρόσθετα, διάφορες σειρές λειτουργιών τους επανακτούνται με διαφορετικούς ρυθμούς.

Πολλές μεταβλητές έχουν εξεταστεί σχετικά με τους αιματολογικούς δείκτες, με ορισμένες πλευρές της κατάστασης των ηλεκτρολυτών, των αερίων του αίματος, της κατανάλωσης  $O_2$  και με μια ευρεία ακτίνα καρδιαγγειακού, νεφρικού, εξαιρετισμού και άλλων λειτουργικών συστημάτων (Hunn & Willford 1970; Houston et al. 1971a, 1971b, 1973; Soivio et al. 1977; Sleet & Weber 1983). Μετά τις εξετάσεις αυτές οι περίοδοι που χρειάζονται στην πορεία επιστροφής σε προχειρουργικά επίπεδα ή σε σταθερή κατάσταση κυμαίνονται από ώρες σε μέρες, ενώ κάποιες δραστηριότητες εμφανίζουν περιόδους παραπλανητικής ψευδοσταθερότητας πριν την τελική σταθεροποίηση. Ορισμένοι δείκτες και δραστηριότητες, που έχουν εξεταστεί απαιτούν 4 έως 8 ημέρες για να ανακάμψουν και μερικοί εξαντλούν διάστημα 10 ημερών για να σταθεροποιηθούν ή να επιστρέψουν στις αρχικές τιμές.

Δεδομένης της πολυπλοκότητας της ανάκαμψης, είναι σημαντικό να διαπιστωθεί τότε μια ειδική μεταβλητή μπορεί υπολογισθεί έγκυρα. Επαναφορά και συνεπώς σταθερότητα των ατόμων κατά την διάρκεια πειραμάτων που αναμειγνύονται με χρόνιες διαδικασίες δειγματοληψίας, μερικές φορές μπορούν να βελτιωθούν μέσω της χρήσης κουτιών συγκράτησης ή συσκευών περιορισμού. Κουτιά συγκράτησης που έχουν περιγραφεί από Smith & Bell. (1967), Lloyd & Orr (1969), και Swift (1981) προμηθεύουν στοιχεία αιματοκρίτη και αλλαγές της σύστασης στα ψάρια που περιορίστηκαν για περιόδους μέχρι 7 ημερών. Αλατούχο διάλυμα απαιτείται για όλες τις διαδικασίες αντλήσεως και πολλά έχουν επινοηθεί ειδικά για αυτό αλλά και για διαφορετικούς σκοπούς (Wolf & Quimby 1969).



Τα εναλλακτικά διαλύματα που προκύπτουν από την τροποποίηση του αλατούχου διαλύματος Cortland, καταρτίζουν αναλυτικό πίνακα, ο οποίος είναι πιο περίπλοκος από ορισμένους που χρησιμοποιούμε τώρα. Ωστόσο κρίνοντας από ορισμένα μορφολογικά και μεταβολικά κριτήρια, τα διαλύματα αυτά προσφέρουν καλή λειτουργία, παρόμοια με το πλάσμα.

## ΠΙΝΑΚΑΣ

NaCl	7,250 g
CaCl <sub>2</sub> 2 H <sub>2</sub> O	0,130 g
MgSO <sub>4</sub> 7 H <sub>2</sub> O	0,230 g
KCl	0,250 g
NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> 2 H <sub>2</sub> O	0,400 g
NaHCO <sub>3</sub>	2,500 g
HEPES buffer	2,383 g
Na pyruvate	0,440 g
Glucose	0,500 g

Glass distilled H<sub>2</sub>O to 1 lit.

HEPES is N' - 2 - hydroxyethylpiperazine - N' - ethanesulfonic acid.

Στο αλατούχο διάλυμα το pH έχει διευθετηθεί στο 7,5 σε 14 C<sup>0</sup> και το διάλυμα αντλείται μέσω ενός φίλτρου 0,22 μm, αποστειρώνεται και στην συνέχεια οδηγείται σε ένα δοχείο από σκοτεινό γυαλί ή πλαστικό, για κατάψυξη. Απαραίτητα πριν τη χρήση της ηπαρίνης λιθίου ( 0,1 g / lit ), προστίθεται στο αλατούχο διάλυμα βραδύς ορός λευκοματίνης ( 3,0 g/ lit ) ( Houston 1990 ).

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ V

### ΕΡΓΑΛΕΙΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΥ ΤΩΝ ΔΕΙΚΤΩΝ ΤΟΥ ΑΙΜΑΤΟΣ

Τα δείγματα που συλλέγονται από ψάρια στην συνέχεια υπόκεινται σε μια σειρά από αναλύσεις, για να εξεταστεί αν τα ψάρια είχαν καταπονηθεί φυσιολογικά με τις μεταχειρίσεις κατά την διάρκεια της εκτροφής, οι οποίες προκαλούν διαταραχή και ενόχληση. Για αυτό τον σκοπό χρησιμοποιείται μια ομάδα κατάλληλων συσκευών και μεθόδων ( kit, Βλέπε Παραρτήματα).

Ο υπολογισμός για την κορτιζόλη πλάσματος, γίνεται με ραδιοανοσολογικές δοκιμές ( Coat - a Count, Diagnostic Products Corporation, Los Angeles , California ).

Γλυκόζη πλάσματος, αιμοσφαιρίνη και αριθμός ερυθροκυττάρων αίματος υπολογίζονται με σταθερές βασικές δοκιμές εργαστηρίου ( Sigma Chemical Company, St.Louis. Missouri : diagnostic kits 315 για γλυκόζη και 525 - A για αιμοσφαιρίνη. Μετρητής αιματοκρίτη Neubauer για υπολογισμό των κυττάρων ).

Επίσης μπορούμε να χρησιμοποιήσουμε περισσότερο απλές και φορητές τεχνικές όπως η Ames<sup>TM</sup> Minilab ( Miles Canada Inc. Etobicoke Ontario ) και της BMS το αιμοσφαιρινόμετρο ( Buffalo Medical Specialties Inc.). Τα kit της Sigma Diagnostic βαθμονομούνται στο εργαστήριο για τις εξετάσεις του αίματος των ψαριών και χρησιμοποιούνται αρκετές φορές σε σύνδεση με ένα Shimadzu UV 160 UV - visible - καταγραφέα σπεκτροφωτόμετρο.

Το Minilab είναι σταθερού μήκους κύματος ( 546 nm ) μικροφωτόμετρο, το οποίο είναι προγραμματισμένο να παρουσιάζει μια σειρά από test αίματος χρησιμοποιώντας αντιδραστήρια προ-συσκευασίας. Σχεδιάστηκε για μετρήσεις αίματος ανθρώπου και η τεχνική μέτρησης RBC στηρίζεται στη μετρούμενη θολότητα ( διάλυμα Gower ). Τα ερυθροκύτταρα του αίματος του ψαριού είναι μεγαλύτερα από του ανθρώπου και εμπύρηνα. Αυτό μπορεί να επιδράσει σε πηχτά διαλύματα που υπερεκτιμούν τον αληθή αριθμό κυττάρων. Έτσι εξηγείται στατιστική διαφορά μεταξύ των τιμών αυτής της μεθόδου και των τιμών που προκύπτουν από τον χειρονακτικό έλεγχο των αιμοσφαιρίων. Το BMS αιμοσφαιρινόμετρο είναι φορητό φωτόμετρο 540 nm για την μέτρηση της αιμοσφαιρίνης, και χρησιμοποιεί τη μέθοδο της οξυαιμογλοβίνης.

Η συνολική εικόνα υγείας των ιχθύων έχει καθιερωθεί για τον έλεγχο σε καταπονημένο ψάρι χρησιμοποιώντας τον μακροσκοπικό έλεγχο και τη διαδικασία της νεκροψίας, όπως περιγράφηκε από τον Goede & Barton ( 1990 ). Αυτό το σύστημα δεικτών υγείας περιγράφει τις συνθήκες - κατάσταση των πτερυγίων, ματιών, βραγχίων, ψευδοβραγχίων, θύμου αδένα, ήπατος, νεφρών, σπλήνα, εντέρου και χολής καθώς και της έκτασης λιπώδους απόθεσης.

Αιματολογικές μεταβλητές περιλαμβάνουν αιματοκρίτη ( % ερυθροκυττάρων / RBC ), λευκοκρίτη ( % λευκών κυττάρων αίματος / WBC ), η αναλογία λεμφοκυττάρων ( αριθμός ανά  $10^3$  RBC ) υπολογίσθηκαν με μεθόδους που περιγράφηκαν από τον Houston ( 1990 ).  $Cl_2$  πλάσματος και συγκεντρώσεις ιόντων Na υπολογίσθηκαν με ένα μετρήτη χλώριου Haake - Buchler και ένα φλογοφωτόμετρο Corning αντιστοίχως ( Iwama G.K. et al. 1995 ).

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ VI

### ΓΛΥΚΟΖΗ ΚΑΙ ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟΣ

Όπως αναφέρθηκε παραπάνω, μία από τις κυριότερες παραμέτρους που χρησιμοποιείται για τον εντοπισμό και τον υπολογισμό της καταπόνησης, είναι η συγκέντρωση γλυκόζης στο πλάσμα του αίματος, αφού σχετίζεται άμεσα με τις περισσότερες λειτουργίες του οργανισμού του ψαριού.

Τα καταμετρούμενα επίπεδα γλυκόζης στο αίμα επηρεάζονται από παράγοντες όπως η διατροφή, η θερμοκρασία του περιβάλλοντος εκτροφής, η θερμοκρασία αποθήκευσης των αιματολογικών δειγμάτων, η τεχνική, η μέθοδος και τα μηχανήματα δειγματοληψίας, αλλά εξαρτούνται και από την κατάσταση καταπόνησης ή όχι του ψαριού. Η συγκέντρωση της γλυκόζης στο πλάσμα ήταν μια γενική ένδειξη του εγκλιματισμού, της καταπόνησης, των οσμωτικών παραμέτρων, της ιχθυοπυκνότητας και των θερμικών μεταβολών στο Salvelinus fortinalis. Παρόλα αυτά ήταν ανεπαρκή να εντοπιστούν οι αντίστροφες επιδράσεις για καταπόνηση λόγω ιχθυοπυκνότητας. Στην γλυκαιμία σημαντική είναι η επίδραση του φύλου και της αναπαραγωγικής ωριμότητας ( Hardy, D. 1990 ).

Στη συνέχεια παρουσιάζεται η διαδικασία μεταβολισμού της γλυκόζης και ο τρόπος με τον οποίο μεταβάλλονται τα καταμετρούμενα επίπεδα τόσο της γλυκόζης, όσο και άλλων βιοχημικών παραμέτρων του αίματος.

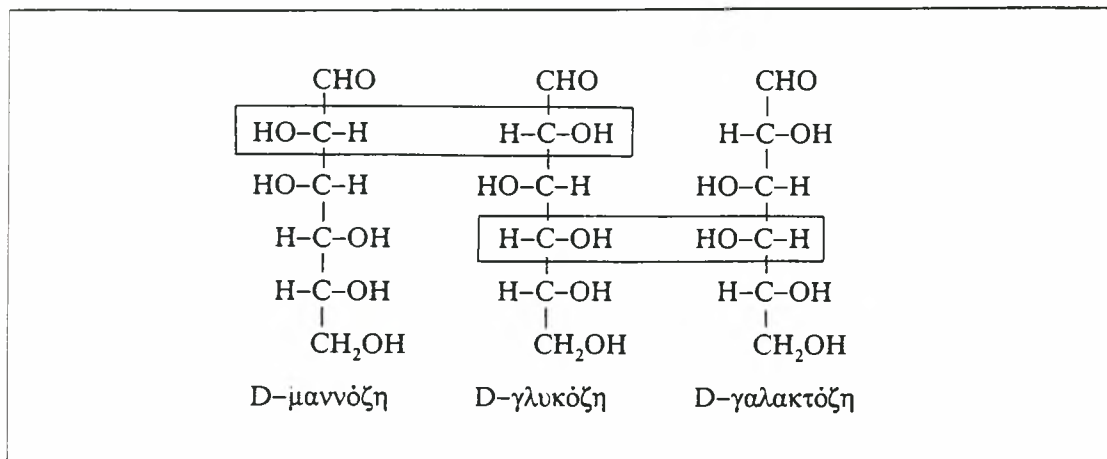
### **Μεταβολή της γλυκόζης.**

Το σύνολο των χημικών αντιδράσεων που γίνονται μέσα στους ζωικούς οργανισμούς και που επιτρέπουν σε αυτούς α) να προμηθευτούν ενέργεια από το περιβάλλον τους β) να μετατρέψουν την ύλη σε ενδιάμεσα προϊόντα και σε πρόδρομες ουσίες των συστατικών τους γ) να συνθέσουν τα μακρομόριά τους, όπως επίσης και διάφορα άλλα βιομόρια ειδικού βιολογικού ρόλου, αποτελεί τον γενικό ή κύριο ή ενεργειακό μεταβολισμό. Τα χαμηλού μοριακού βάρους μόρια που παράγονται ή τροποποιούνται στις αντιδράσεις αυτές ονομάζονται μεταβολίτες ( αναβολίτες και καταβολίτες ).

Ο δευτερογενής μεταβολισμός αφορά τον μεταβολισμό της ενέργειας και την ανάπτυξη και αύξηση των κυττάρων τους.

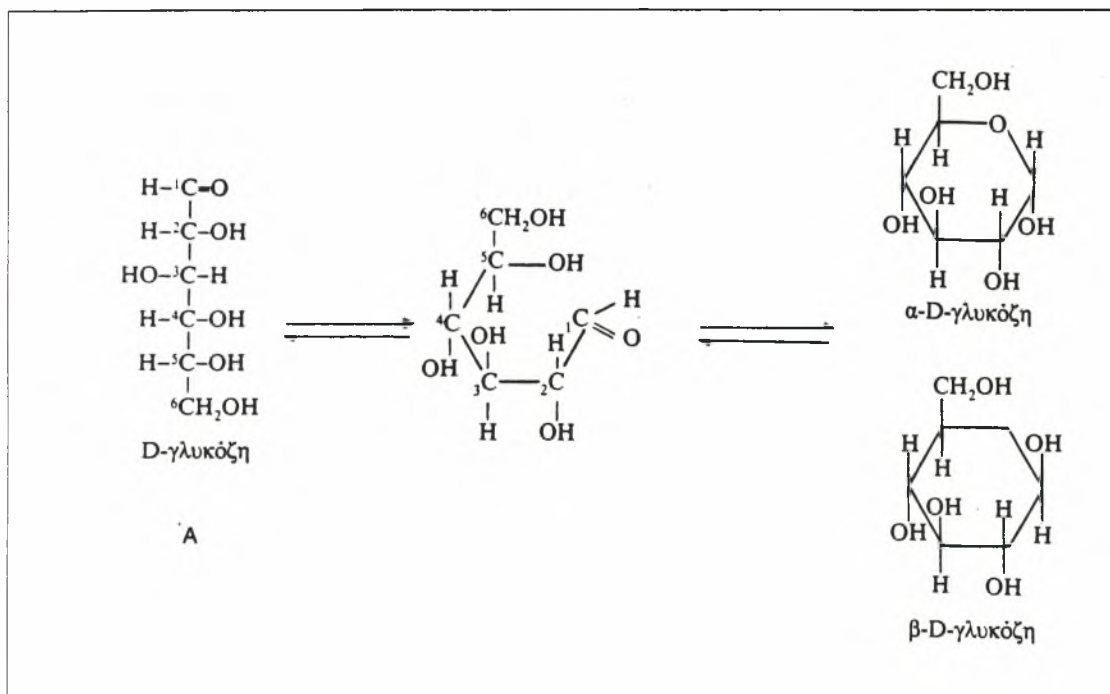
### **Γενικά περί Γλυκόζης.**

Η γλυκόζη ανήκει στις εξόζες ( 6 άτομα άνθρακα ) είναι αλδόζη, μονοσακχαρίτης που περιέχει στο μόριό του την αλδεϋδική ομάδα - CHO . Είναι επιμερή με την γαλακτόζη γιατί διαφέρουν ως προς τη διαμόρφωση του τετάρτου ατόμου άνθρακα ( C - 4 ) και με την μαννόζη που διαφέρουν ως προς την διαμόρφωση του δευτέρου ατόμου άνθρακα ( C - 2 ) ( Σχήμα 11 ). Η αντίδραση μετατροπής ενός σακχάρου σε ένα επιμερές του, ονομάζεται επιμερείωση και τα υπεύθυνα ένζυμα που καταλύουν τις αντιδράσεις αυτές ονομάζονται επιμεράσες.



Σχήμα 11. Οι συντακτικοί τύποι ( γραμμικές μορφές ) τριών αλδοεξοδών.

Η κυκλοποίηση του μορίου της D - γλυκόζης σε εξαμελή δακτύλιο τύπου πυρανίου οδηγεί σε δημιουργία νέου ασύμμετρου ατόμου άνθρακα (Σχήμα 12 ).



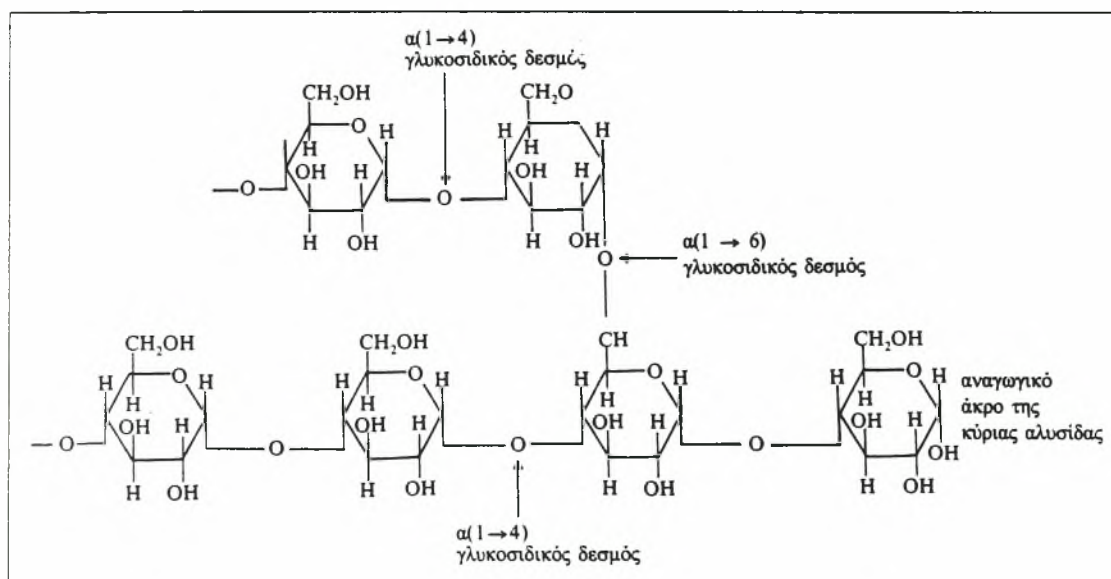
Σχήμα 12. Η κυκλοποίηση μορίου D - γλυκόζης σε εξαμελή δακτύλιο.

Τα παράγωγα της D - γλυκόζης αποτελούν δομικές μονάδες των ολοζιτών και των ετεροζιτών.

Το ημικεταλικό άτομο άνθρακα των μονοσακχαριτών μπορεί να αντιδράσει με μια αλκοολική ή αμινική ομάδα άλλου μορίου και να σχηματιστεί σώμα ανάλογο των ακεταλών που ονομάζεται γλυκοζίτης. Ο δεσμός που δημιουργείται μετά την απομάκρυνση ενός μορίου νερού, ονομάζεται γλυκοσιδικός δεσμός.

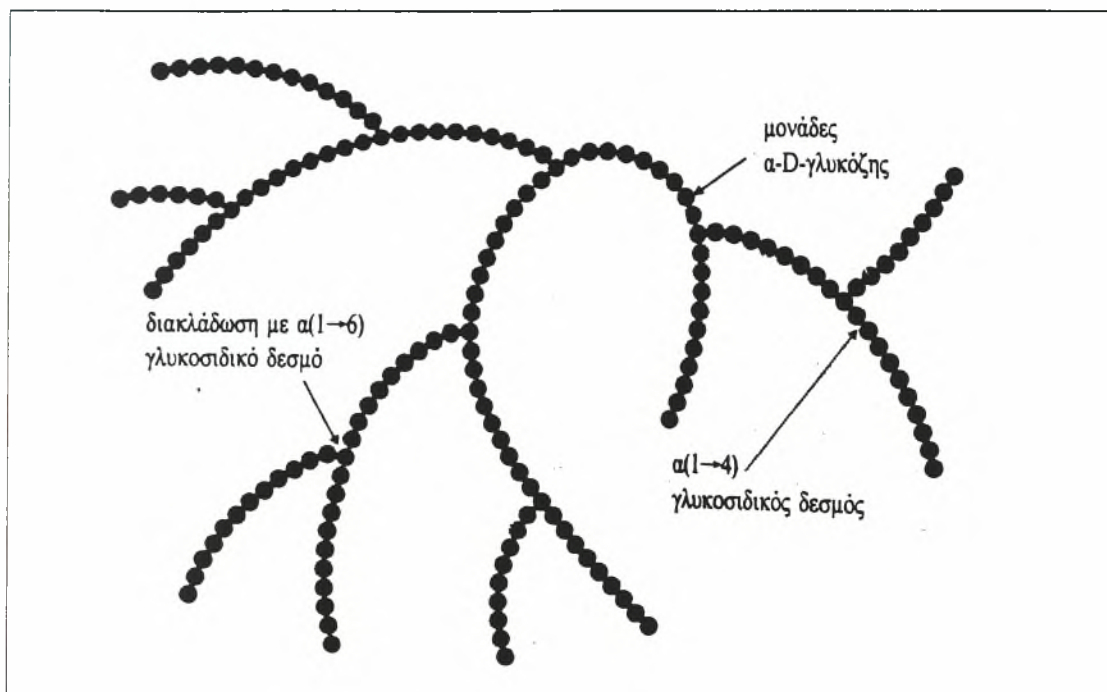
Στους ετεροζίτες ανήκουν οι γλυκοπρωτεΐνες, οι πρωτεογλυκάνες και τα γλυκολιπίδια, μόρια που παρουσιάζουν τεράστιο βιολογικό ενδιαφέρον, στο σύνολο των ζωϊκών οργανισμών.

Στους ολοζίτες ανήκουν οι ολιγοσακχαρίτες και οι πολυσακχαρίτες που είναι πολυμερή των απλών σακχάρων που συνδέονται μεταξύ τους με γλυκοσιδικούς δεσμούς ( Σχήμα 13 ). Τα υπεύθυνα ένζυμα για την δημιουργία των γλυκοσιδικών δεσμών είναι διάφορες συνθετάσες, ενώ για την υδρόλυση των δεσμών αυτών υπεύθυνες είναι οι γλυκοσιδάσες.



Σχήμα 13. Τμήμα πολυσακχαρικής αλυσίδας μονάδων D-γλυκόζης με διακλάδωση ( αμυλοπηκτίνη ).

Σημαντικός ομοπολυσακχαρίτης είναι το γλυκογόνο, ο οποίος είναι αποθηκευτικός πολυσακχαρίτης μονάδων γλυκόζης στους ζωϊκούς οργανισμούς. Βρίσκεται στο μυϊκό σύστημα και κυρίως στο ήπαρ.



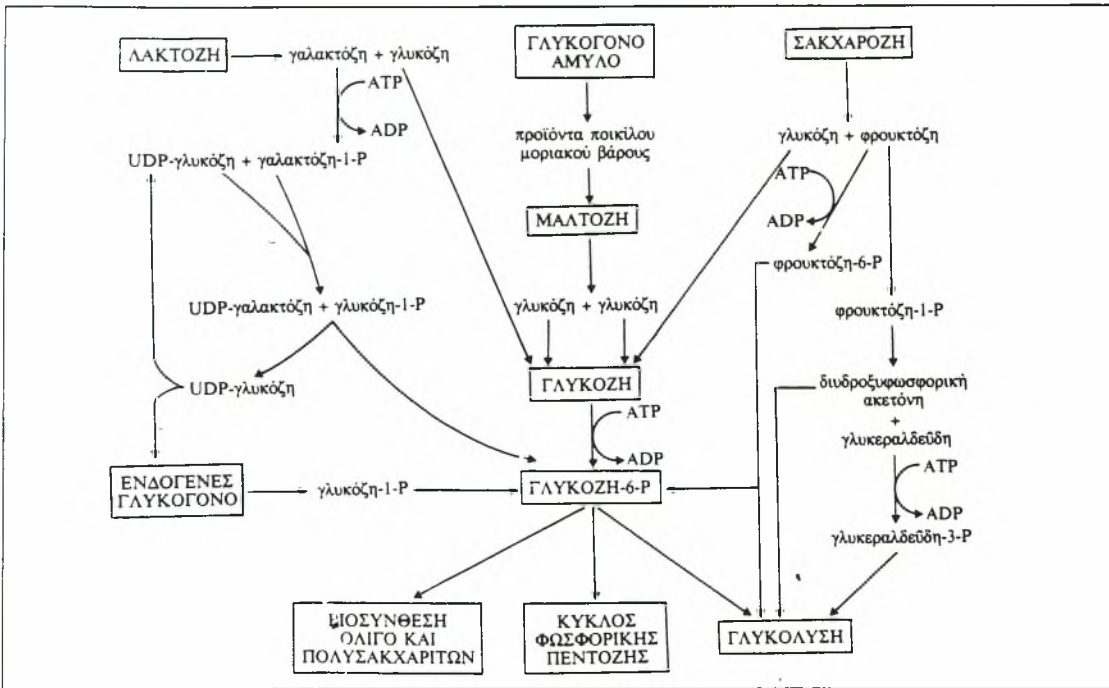
Σχήμα 14. Σχηματική παράσταση τμήματος του μορίου του γλυκογόνου.

Οι κυριότεροι υδατάνθρακες των τροφών είναι το άμυλο, η σακχαρόζη, φρουκτόζη και η λακτόζη.

Η διάσπαση των σακχάρων των τροφών καταλήγει σε ένα μόριο μεγάλης σπουδαιότητας που κατέχει κεντρική θέση στο μεταβολισμό των υδατανθράκων, την 6 φωσφορική γλυκόζη, η οποία είναι ένας ενδιάμεσος μεταβολίτης μεγάλης σπουδαιότητας και δυνατό να χρησιμοποιηθεί ως πρώτη ύλη για τη σύνθεση των πολυσακχαριτών, ή να εισέλθει στις αντιδράσεις του κύκλου των φωσφορικών πεντοζών, ή στις αντιδράσεις της γλυκόλυσης ( Σχήμα 15 ).

Η γλυκόζη μετασχηματίζεται είτε με τη μορφή της γλυκόλυσης, είτε με τον κύκλο της φωσφορικής πεντόζης ή των μονοφωσφορικών εξοζών.





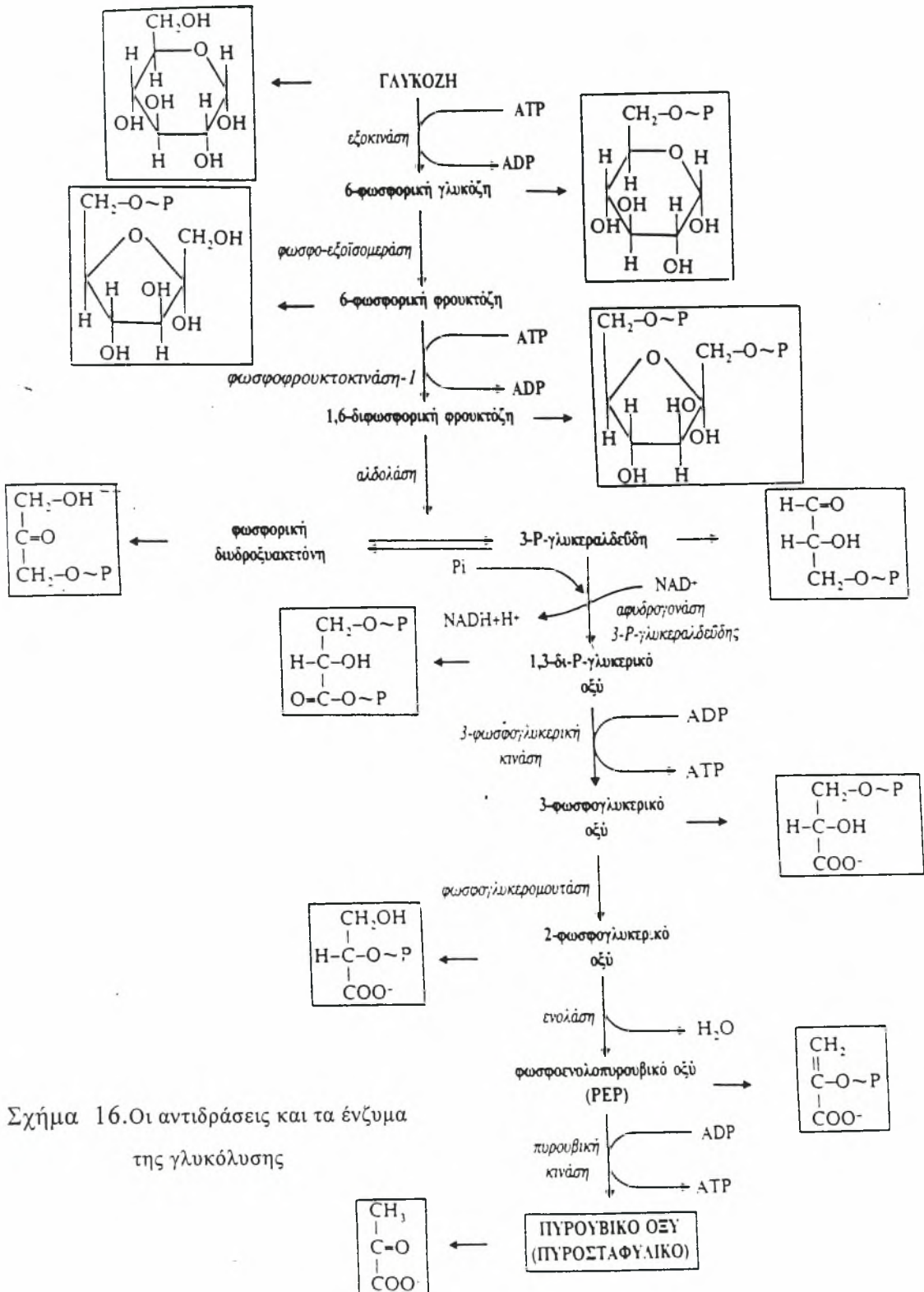
Σχήμα 15.Γενικό και απλουστευμένο σχήμα διάσπασης των σακχάρων που παρουσιάζουν βιολογικό ενδιαφέρον.

Γλυκόλυση είναι μια σειρά διαδοχικών αντιδράσεων κατά τις οποίες η ελεύθερη γλυκόζη ή αυτή που προέρχεται από την διάσπαση διαφόρων πολυσακχαριτών, διασπάται σε δύο μόρια πυρουβικού οξέος και παράλληλα παράγεται ATP και  $NADH + H^+$ .

Οι αντιδράσεις της γλυκόλυσης γίνονται σε δύο φάσεις στο κυτόπλασμα των κυττάρων α) σε αερόβιες ( κύκλος του Krebs ) και β) σε αναερόβιες συνθήκες.

Στην πρώτη φάση των αντιδράσεων συμμετέχουν ενώσεις με έξι άτομα άνθρακα και καταναλώνονται δύο μόρια ATP ανά μόριο γλυκόζης.

Στην δεύτερη φάση συμμετέχουν ενώσεις με τρία άτομα άνθρακα ( τριόζες ) και υπάρχει παράλληλη παραγωγή ενώσεων υψηλής ενέργειας ATP και αναγωγικής δύναμης ( Σχήμα 16 ).

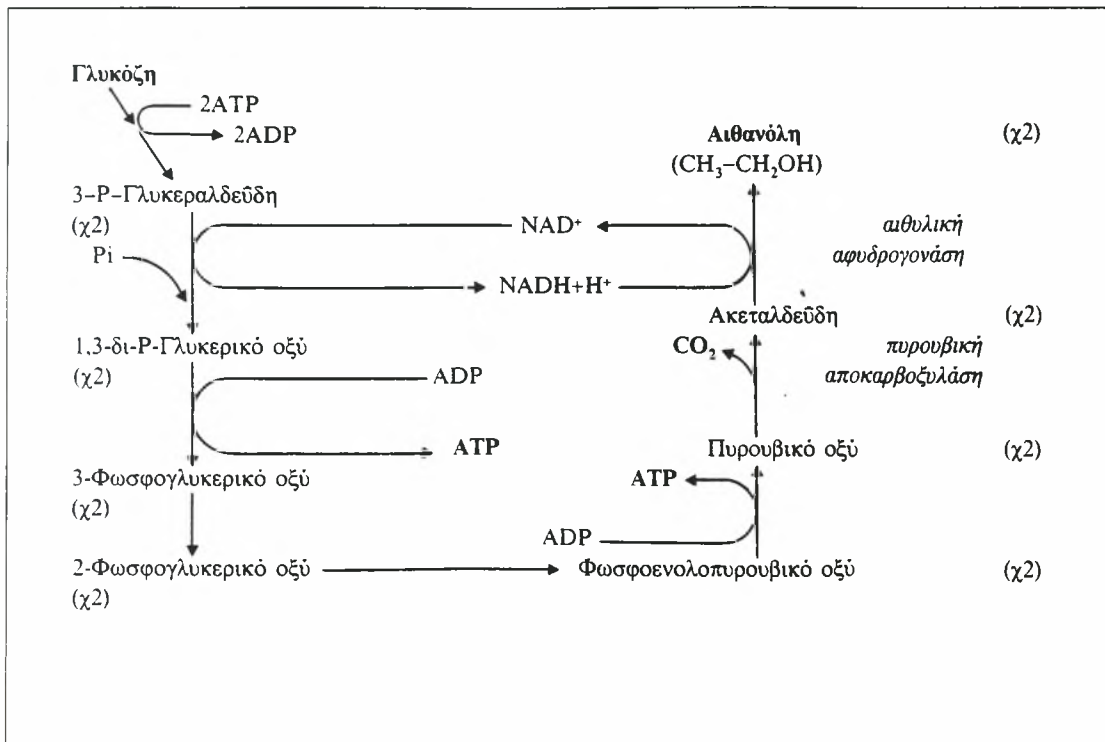


Σχήμα 16. Οι αντιδράσεις και τα ένζυμα της γλυκόλυσης

Από την διάσπαση της γλυκόζης παράγεται ενέργεια ATP η οποία ποικίλλει το ποσό της, αναλόγως εάν έχουμε αερόβιες ή αναερόβιες συνθήκες στη μετατροπή του πυρουβικού οξέως.

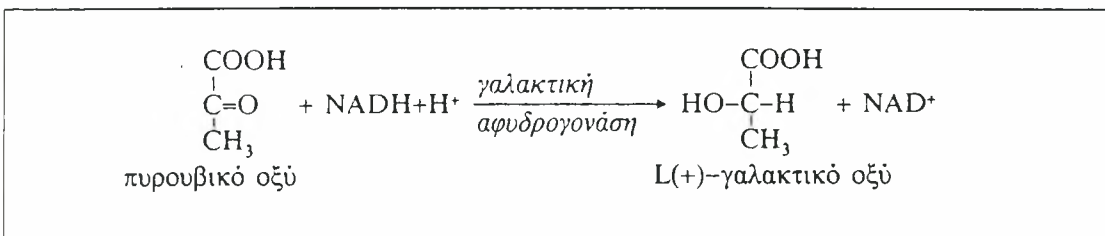
1. Η τύχη του πυρουβικού οξέως σε αναερόβιες συνθήκες.

α. Αιθυλική ζύμωση ( Σχήμα 17 ).



Σχήμα 17. Αντιδράσεις της αιθυλικής ζύμωσης.

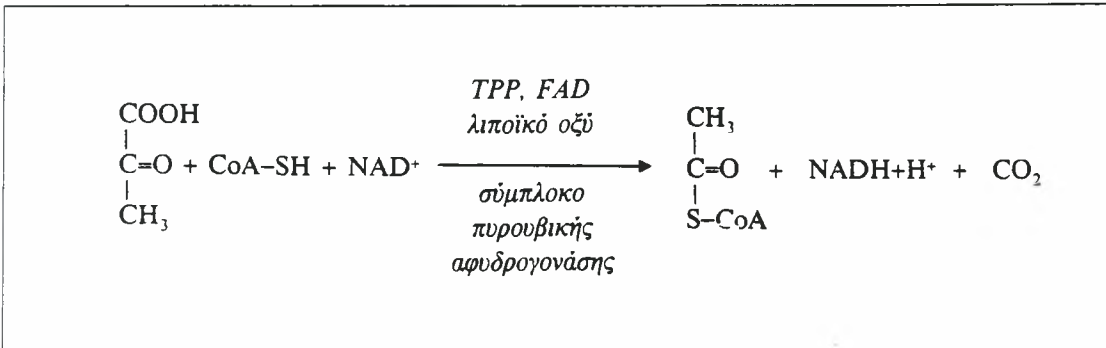
β. Γαλακτική ζύμωση ( Σχήμα 18 ).



Σχήμα 18. Δράση της γαλακτικής αφυδρογονάση στην αντίδραση της γαλακτικής ζύμωσης.

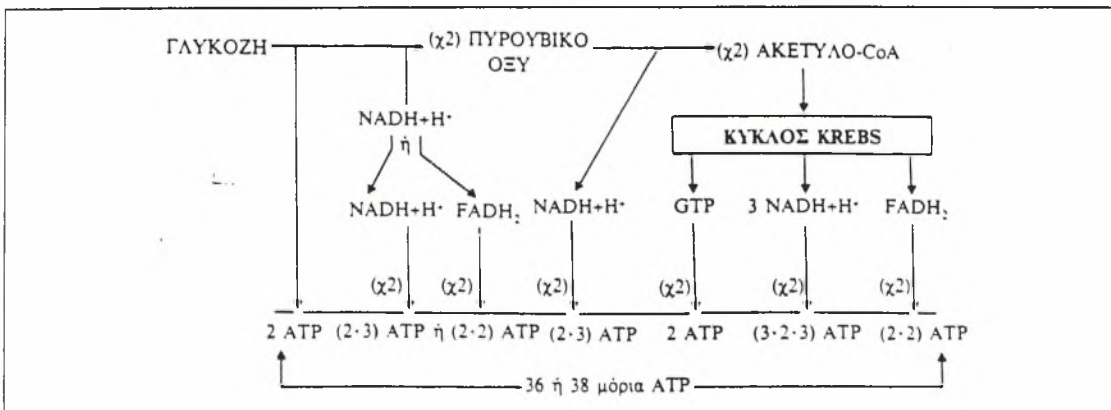
2. Η τύχη του πυρουβικού οξέως σε αερόβιες συνθήκες ( Σχήμα 19 )

Η διαδικασία χαρακτηρίζεται ως γέφυρα σύνδεσης των αντιδράσεων της γλυκόλυσης με τις αντιδράσεις του κύκλου Krebs.



Σχήμα 19. Η αντίδραση οξειδωτικής αποκαρβοξυλίωσης του πυροβικού οξέος που καταλύεται από το ενζυμικό σύμπλοκο της πυρουβικής αφυδρογονάσης.

Κατά την πλήρη οξείδωση της γλυκόζης σε CO<sub>2</sub> και H<sub>2</sub>O σε αερόβιες συνθήκες, παράγονται συνολικά 38 μόρια ATP, ενώ κατά την αναερόβια διάσπαση της γλυκόζης ( ζύμωση ) παράγονται μόνο δύο μόρια ATP ( Σχήμα 20 ).

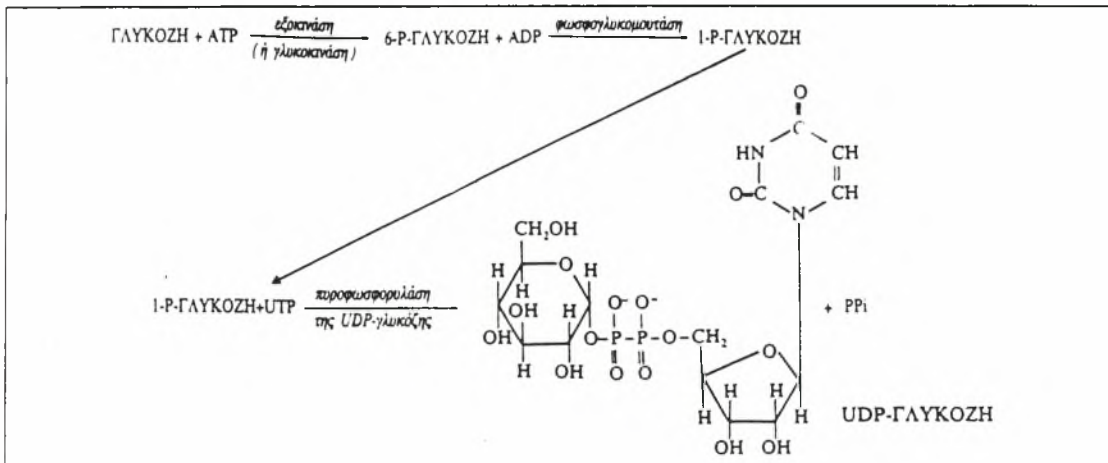


Σχήμα 20. Στάδια παραγωγής ενέργειας κατά την πλήρη οξείδωση της γλυκόζης σε CO<sub>2</sub> και H<sub>2</sub>O σε αερόβιες συνθήκες.

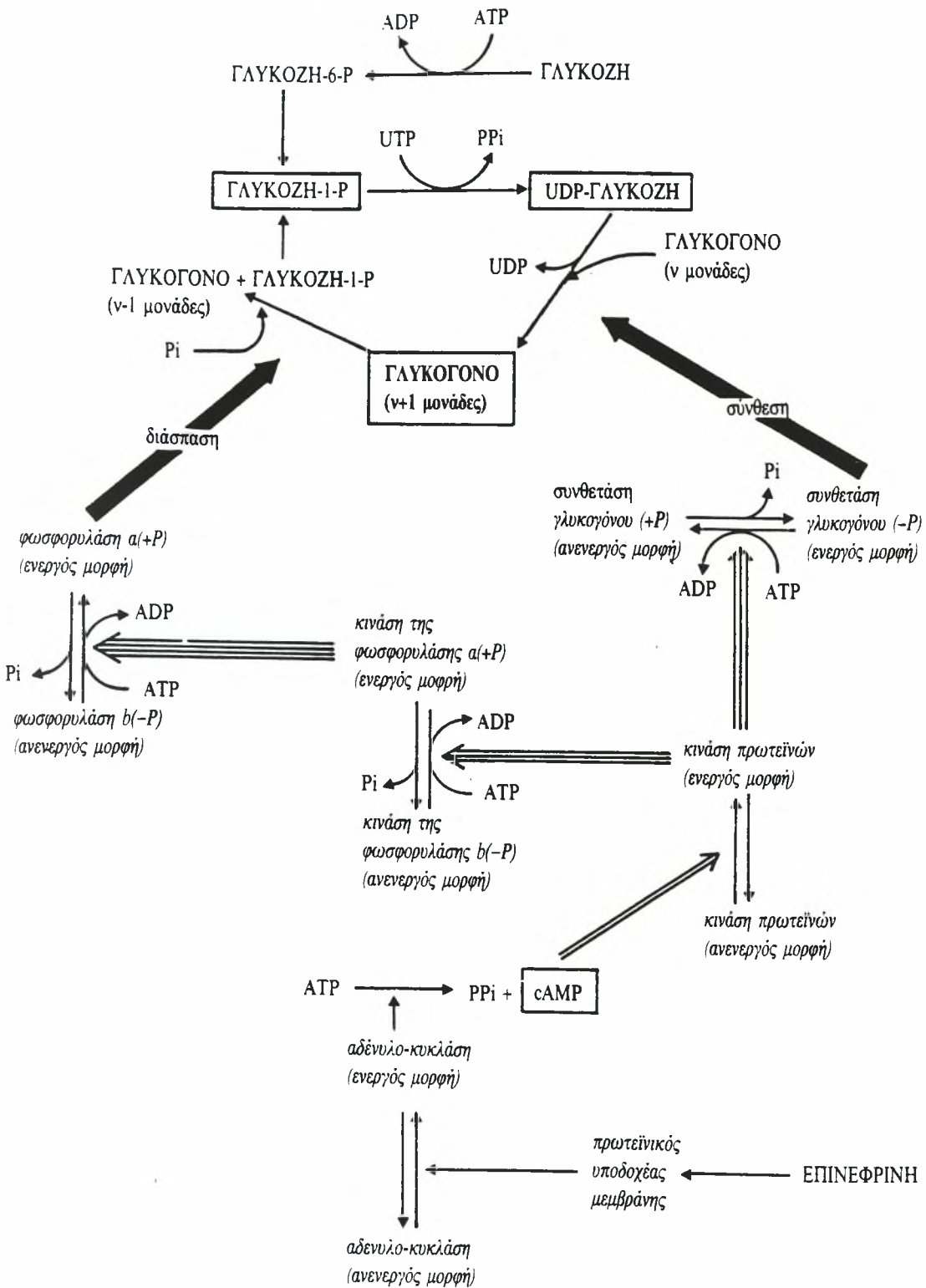
Η γλυκόζη παράγεται στον οργανισμό με δύο τρόπους, είτε μέσω του μεταβολισμού των υδατανθράκων ( διαδικασία της γλυκογονόλυσης, όπου το γλυκογόνο του ήπατος διασπάται σε γλυκόζη, Σχήμα 21 ), είτε μέσω μη υδατανθρακικών ενώσεων ( διαδικασία της γλυκονεογέννεσης η οποία τελείται στο ήπαρ, μυς Σχήμα 22 ). Τέτοιες ενώσεις που δίνουν γένεση σε γλυκόζη είναι το πυρουβικό οξύ, η γλυκερόλη, το προπιονικό οξύ και ενώσεις του κύκλου Krebs, ενώ ορισμένα αμινοξέα που χρησιμοποιούνται στη σύνθεση της γλυκόζης μεταβάλλοντας τους σκελετούς των ανθράκων, ονομάζονται γλυκογενετικά.

### Γλυκόζη και ανώτεροι ζωϊκοί οργανισμοί.

Η περίσσεια γλυκόζης στα ζωϊκά κύτταρα, πλην των κυττάρων του εγκεφάλου μετατρέπεται σε πολυμερή που αποθηκεύονται κατάλληλα για να χρησιμοποιηθούν μόνο όταν υπάρξει ανάγκη ενέργειας. Στο ήπαρ, στα μυϊκά κύτταρα, στους καρδιακούς και σκελετικούς μυς, όπως επίσης και σε άλλα κύτταρα, η γλυκόζη πολυμερίζεται και σχηματίζει το γλυκογόνο ( διαδικασία γλυκογονογένεσης, Σχήμα 23 ) ( Βασιλόπουλος 1993 ).

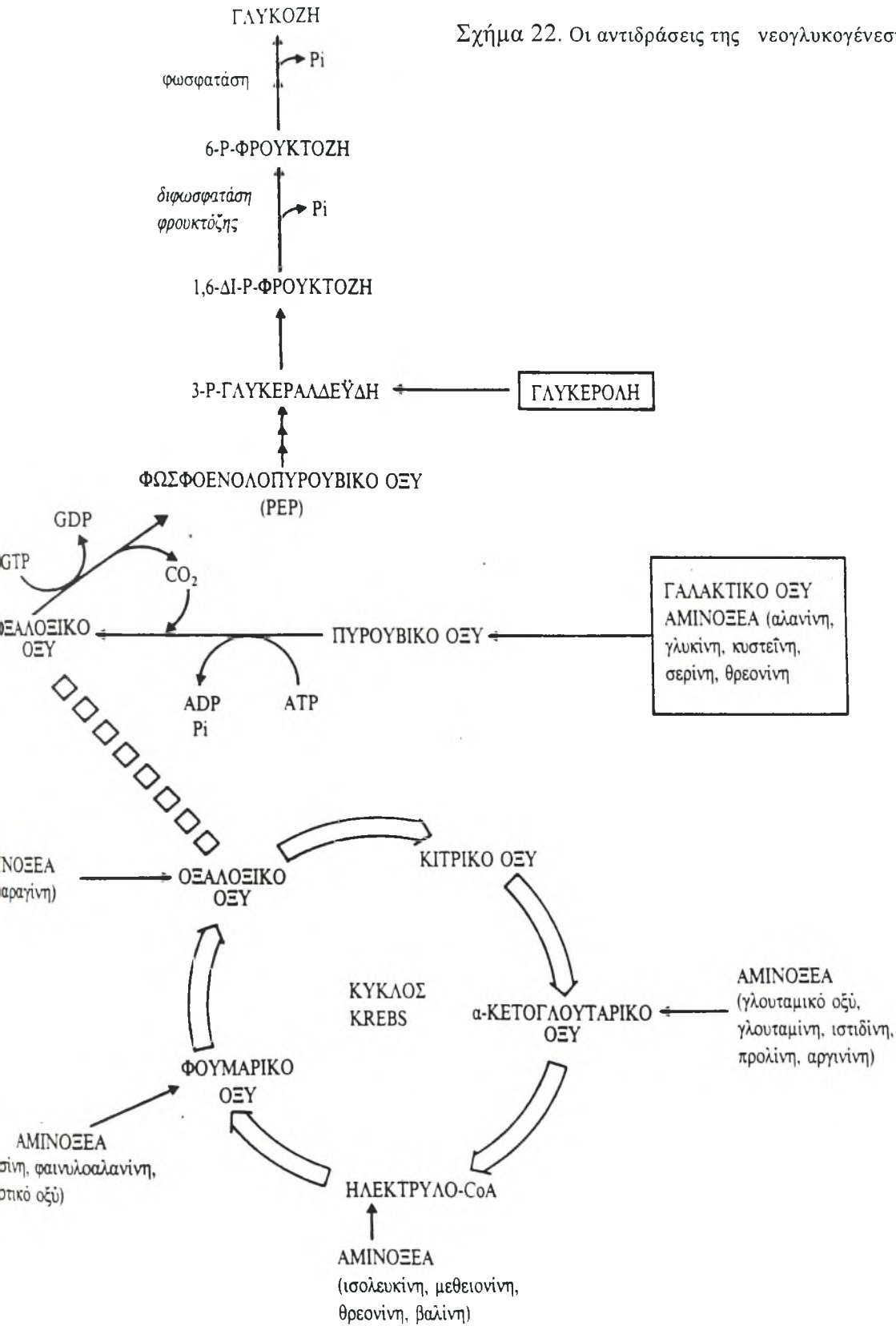


Σχήμα 23. Οι αντιδράσεις σύνθεσης της UTP - γλυκόζης.



Σχήμα 21 .Διάγραμμα των διαδοχικών αντιδράσεων του μεταβολισμού του γλυκογόνου και ο ορμονικός έλεγχός του.

Σχήμα 22. Οι αντιδράσεις της νεογλυκογένεσης.



Για τη σύνθεση του γλυκογόνου απαιτείται ενέργεια ( ATP , UTP ), η ενεργοποιημένη μορφή της γλυκόζης ( UTP - γλυκόζης ), η οποία σχηματίζεται με τη φωσφορυλίωση του μορίου της γλυκόζης με την βοήθεια των ενζύμων του ήπατος γλυκοκινάση και εξόκινάση. Για να ολοκληρωθεί η σύνθεση του απαιτείται η ενεργός μορφή ( μορφή α ή I ) του ενζύμου συνθετάση του γλυκογόνου και το ένζυμο της διακλάδωσης. Στα κύτταρα του λιπώδους ιστού όπως και στο ήπαρ, η γλυκόζη μετατρέπεται σε λιπαρά οξέα ( λιπογένεση ), η οποία αποθηκεύεται στο λιπώδη ιστό υπό την μορφή τριγλυκεριδίων.

Το γλυκογόνο αποθηκεύεται στο κυτόπλασμα των ζωϊκών κυττάρων με την μορφή κόκκων διαμέτρου 10 - 40 nm. Στην επιφάνεια των κόκκων είναι δεσμευμένα τα ένζυμα σύνθεσης και διάσπασής του. Το γλυκογόνο είναι η κύρια πηγή ενέργειας για την μυϊκή συστολή ( action potential - muscle twitch )

Η ταχύτητα διάσπασής του καθώς και της σύνθεσής του ελέγχονται συνεχώς. Ο έλεγχος αναφέρεται κυρίως στο βαθμό φωσφορυλίωσης της φωσφορυλάσης του γλυκογόνου και της συνθετάσης, γεγονός που επιτυγχάνεται με την δράση αριθμού πρωτεϊνών, όπως οι διάφορες κινάσες πρωτεϊνών καθώς και άλλες ρυθμιστικές πρωτεΐνες. Οι πρωτεΐνες αυτές παρέχουν τη δυνατότητα ελέγχου του μεταβολισμού του γλυκογόνου στους μύς με τα ιόντα ασβεστίου και του κυκλικού AMP ( C - AMP ) που χαρακτηρίζονται ως “δεύτεροι αγγελιοφόροι”, ( second messengers ) διότι συνδέουν τη δράση των “πρώτων αγγελιοφόρων” ( first messengers ) που είναι οι ορμόνες και η ηλεκτρική διέγερση των μυών, με τα ένζυμα σύνθεσης και αποικοδόμησης του γλυκογόνου.

Η λειτουργική ικανότητα του ήπατος να αποθηκεύει περίσσεια υδατανθράκων υπό μορφή γλυκογόνου και να το αποδομεί τούτο σε περίπτωση ανάγκης του οργανισμού, λέγεται γλυκορυθμιστική λειτουργία του ήπατος.

Ο ορμονικός έλεγχος του μεταβολισμού του γλυκογόνου επιτυγχάνεται με την δράση της ορμόνης αδρεναλίνης ή επινεφρίνης ( στους



μυς κυρίως και σε ένα μικρότερο βαθμό στο ήπαρ), και των ορμονών γλυκογόνου και της ινσουλίνης (μόνο στο ήπαρ).

Το γλυκογόνο και η ινσουλίνη παράγεται στο πάγκρεας, το οποίο καταγράφει τη συγκέντρωση των θρεπτικών ουσιών στο αίμα (μεταξύ των οποίων και της γλυκόζης) και ανάλογα αυξάνει την ταχύτητα παραγωγής της μιας ή της άλλης ορμόνης. Σε περίπτωση που η συγκέντρωση γλυκόζης στο αίμα ξεπεράσει το ανώτερο επιτρεπτό όριο, εμφανίζονται προβλήματα οσμωτικής και ιοντικής ισορροπίας του κυττάρου και για αυτόν τον λόγο ενεργοποιούνται ορμονικά και αλλοστερικά μηχανισμοί αποθήκευσης με την μορφή γλυκογόνου. Όταν η συγκέντρωση της γλυκόζης μειωθεί κάτω του ελαχίστου ορίου (συνήθως 1.5 mM) ο εγκέφαλος αντιμετωπίζει πρόβλημα ενεργειακής κάλυψης των αναγκών του. Ενεργοποιούνται οι μηχανισμοί σύνθεσής της από μη υδατανθρακούχες πρώτες ύλες (γλυκονεογένεση) καθώς και οι μηχανισμοί διάσπασης του γλυκογόνου (γλυκογονόλυση). Τέτοιες ουσίες είναι το 58,8% των αμινοξέων του σώματος που είναι γλυκοπλαστικά (αλανίνη, σερίνη κ.α.)

Έχουμε τρία στάδια γλυκονεογένεσης :

- α. Ανακύκλωση του γαλακτικού οξέως των μυών.
- β. Σύνθεση γλυκόζης από αμινοξέα συμπληρωματικών τροφών.
- γ. Παραγωγή γλυκαρόλης και λιπογένεσης.

Τα γλυκοκορτινοειδή επιτείνουν τον καταβολισμό των πρωτεϊνών των ιστών, ενώ οι θυροειδικές ορμόνες ( $T_3$ ,  $T_4$ ) επιτείνουν τον καταβολισμό τόσο των πρωτεϊνών όσο και των λιπιδίων. Το γαλακτικό οξύ του γλυκογόνου των μυών μεταφέρεται με το αίμα κατά 80% στο ήπαρ και σχηματίζει γλυκογόνο - γλυκόζη (Κάτουλα 1994).

Η αδρεναλίνη είναι κατεχολαμίνη, που ενεργοποιεί τους μηχανισμούς διάσπασης του γλυκογόνου στους μύς και των λιπών στο λιπώδη ιστό. Πρόδρομη ουσία για την σύνθεσή της στα επινεφρίδια ή στο

συμπαθητικό νευρικό σύστημα, είναι η τυροσίνη. Η ορμόνη αυτή χαρακτηρίζεται ως νευροδιαβιβαστής ( neurotransmitter ). Η ινσουλίνη είναι μια πεπτιδική αναβολική ορμόνη, που επιταχύνει τις διαδικασίες σύνθεσης των μακρομορίων με στόχο την αποθήκευσή τους και την απομάκρυνση των δομικών μονάδων από το αίμα, ελέγχοντας συνολικά τον μεταβολισμό των τροφών ( Διαμαντίδης 1990 ).

### **Μεταβολισμός στους οργανισμούς των ψαριών.**

Ο στόχος των ιχθυοκαλλιεργειών είναι να πετύχουν το καλύτερο βάρος στα ψάρια, στο λιγότερο χρόνο, με το μικρότερο δυνατό κόστος. Για να επιτευχτεί αυτό χρειάζονται άριστες συνθήκες όλων των φυσιολογικών μεταβολικών απαιτήσεων των οργανισμών. Αυτό επιτυγχάνεται στις υδατοκαλλιέργειες με τη δημιουργία ιδανικών συνθηκών διαμονής και λελογισμένης διατροφής με ειδικά υπολογισμένες δίαιτες ( Κάτουλα 1994 ).

Ο μεταβολισμός αναφέρεται στην ποσότητα και ποιότητα των προσλαμβανομένων, μετασχηματιζόμενων και απεκκρινόμενων ουσιών του οργανισμού. Είναι το μέσο που παρέχει ενέργεια για τις φυσιολογικές λειτουργίες ζωής, αναπληρώνει τις απώλειες υγρών και προκαλεί περαιτέρω ανάπτυξη και αύξηση, έχοντας τις λειτουργίες αυτές στενά συνδεδεμένες μεταξύ τους.

Τα ψάρια ως ποικιλόθερμα ζώα δεν έχουν καμιά απώλεια ενέργειας, γεγονός ιδιαίτερα σημαντικό για τις ιχθυοκαλλιέργειες. Η παραγωγή θερμότητας είναι πολύ μικρή. Σε εντατική δραστηριότητα παρατηρείται μια αύξηση της τάξης του ενός ( 1°C ) βαθμού Κελσίου στους λευκούς μυς και πολύ λιγότερη στο στομάχι και στα έντερα. Η θερμότητα που αποδεσμεύεται διοχετεύεται μέσω των βραγχίων στο περιβάλλον .

Η κατανάλωση  $O_2$  ,αποτελεί ένα καλό μέτρο για την μετατροπή ενέργειας. Παρ' όλα αυτά για τα ψάρια υπάρχουν ελάχιστες πληροφορίες ως προς τις απαραίτητες ποσότητες αναπνευστικού  $O_2$  .

Ανάλογα με την δραστηριότητα των ψαριών, ο μεταβολισμός διακρίνεται σε :

- α) Βασικό ή σταθερό.
- β) Μεταβολισμό ρουτίνας, R.
- γ) Δραστήριο ή δραστικό μεταβολισμό A.

Ο βασικός μεταβολισμός είναι το χαμηλότερο επίπεδο μεταβολικής ενέργειας και παρατηρείται κυρίως σε συνθήκες σκότους ή νάρκης.

Ο μεταβολισμός ρουτίνας παρατηρείται σε μεμονωμένα ψάρια ή σε ομάδες ψαριών, κάτω από φυσιολογικές συνθήκες.

Ο δραστικός μεταβολισμός παρουσιάζει δύο επίπεδα :

- α) Το μεταβολισμό που παρατηρείται στα ψάρια υπό φυσιολογικές συνθήκες τροφής και κολύμβησης.
- β) Το επίπεδο που αναφέρεται σε εντατικές κινήσεις. Ο θάνατος, που είναι επακόλουθο μεγάλου stress, συχνά οφείλεται σε ενδοκυτταρική οξειδωση μετά από αύξηση του γαλακτικού οξέως στο αίμα.

Η μεταβολική δραστηριότητα σχετίζεται στενά με το μέγεθος του ψαριού, ενώ η ηλικία δεν την επηρεάζει.

$Q = A \cdot \rho^{\kappa}$  όπου Q, ο ρυθμός μεταβολισμού.

A, συντελεστής.

$\rho$ , βάρος σε Kg.

$\kappa$ , εκθέτης που καθορίζει τις αλλαγές του M.P. σε σχέση με το βάρος σώματος.

Ο ρυθμός μεταβολισμού επηρεάζεται από το περιεχόμενο  $O_2$  στο νερό, από την θερμοκρασία του περιβάλλοντος, από την αλατότητα του νερού (κυρίως για τα σολωμοειδή), από την δραστηριότητα του οργανισμού, από την ικανότητα και δυνατότητα πρόσληψης τροφής, από τα στάδια νηστείας, από την πεπτικότητα και το ενεργειακό περιεχόμενο της τροφής.

## Ο ρόλος της γλυκονεογένεσης στον οργανισμό των ψαριών

Ο Corpey κ.ά. ( 1977 α ) συμπέρανε ότι η σύνθεση γλυκόζης από μη υδατανθρακούχες ουσίες μπορεί να είναι ιδιαίτερα σημαντική στα σαρκοφάγα ψάρια που διατρέφονται κανονικά. Αυτή η πρόταση αμφισβητήθηκε από τους Renaud και Moon ( 1980 α ) που υποστηρίζουν ότι η γλυκονεογένεση από αμινοξέα δίνει ένα πλεόνασμα γλυκόζης στην τροφή. Στην συνέχεια απέδειξαν ότι χαμηλά ή φυσιολογικά επίπεδα γαλακτικού οξέως είναι η πιο αποτελεσματική γλυκονεογενετική διαδικασία για τα Αμερικάνικα χέλια.

Οι Nagai και Ikeda με πειράματα σε κυπρίνους έδειξαν ότι η αυξημένη δράση της διφωσφορικής φρουκτόζης προκαλεί υψηλή σύνθεση γλυκογόνου από γλυκόζη με την πλάγια οδό.

Ο Bever κ.ά. ( 1981 ) , μετά από μια σειρά πειραμάτων με αλανίνη - ασπαραγίνη - γλουταμίνη συμπέρανε ότι μόνο μια μικρή ποσότητα αμινοξέων μπορεί να προκαλέσει σύνθεση γλυκόζης, εξαιτίας του χαμηλού ρυθμού αντικατάστασης γλυκόζης. Ο αυξημένος ρυθμός γλυκονεογένεσης στα ψάρια είναι μια αναγκαία μεταβολική προσαρμογή για να καλυφθούν οι συνεχείς απαιτήσεις για σύνθεση βλεννοπολυσακχαριτών ( Κάτουλα 1994 ).

Με το test ανοχής γλυκόζης ( glucose tolerance test ) φάνηκε η αδυναμία των ψαριών να αξιοποιούν τους υδατάνθρακες των τροφών.

Χορήγηση 1 g γλυκόζης από το στόμα στην ετήσια πέστροφα, οδηγεί σε γραμμική αύξηση της γλυκόζης στο αίμα για 7 ώρες. Ακολουθεί υπεργλυκαιμία που ανέβαζε την γλυκόζη του αίματος κατά 500%. Υπάρχει επίσης ταχεία συσσώρευση γλυκογόνου στο ήπαρ που από 2% φτάνει το 6% του βάρους του ήπατος. Ταυτόχρονα συγκριτικά παρατηρήθηκε αύξηση στους σκελετικούς και τους καρδιακούς μυς.

Αυτά τα συμπεράσματα επιβεβαιώθηκαν από πολλούς ερευνητές.

Ο Shimeno κ.ά. ( 1977 ) χρησιμοποιώντας μικρότερα επίπεδα γλυκόζης, είχε λιγότερη επίδραση, επιβεβαιώνοντας όμως τη γραμμική αύξηση της γλυκόζης.

Η υπεργλυκαιμία ήταν μεγαλύτερη και εντονότερη στο yellow - tail από ότι στον κυπρίνο.

Οι Furnish & Jones ( 1981 ) έδωσαν από το στόμα γλυκόζη 167 mg / 100 g Z.B. σε yellowtails που είχαν διατραφεί με τροφές που περιείχαν δεξτρίνη για 30 μέρες. Η ινσουλίνη του πλάσματος αυξήθηκε σε 20μ U / 100 ml σε 2 περίπου ώρες. Ο Cowey ( 1977α ) έδειξε ότι στην πέστροφα η γλυκονεογένεση ακόμη επηρεάζεται σημαντικά από τη σύνθεση της διαίτας. Πέστροφες που διατράφηκαν με τροφές που περιείχαν 60 % ακατέργαστη πρωτεΐνη, χωρίς εύπεπτους υδατάνθρακες, είχαν σημαντικά υψηλούς ρυθμούς νεογλυκογένεσης από αλανίνη, από ότι πέστροφες που διατράφηκαν με τροφές που περιείχαν 10 % ακατέργαστες πρωτεΐνες και 55 % εύπεπτους υδατάνθρακες.

Ψάρια που στερήθηκαν την τροφή για τρεις εβδομάδες, είχαν ρυθμούς γλυκονεογένεσης όμοιους με εκείνους τροφών υψηλής περιεκτικότητας σε πρωτεΐνες.

Η φωσφορική καρβοκινάση και η φρουκτόζη είχαν σημαντική επίδραση στο ήπαρ πέστροφας, που διατράφηκε με τροφές υψηλής περιεκτικότητας σε πρωτεΐνες, σαφώς υψηλότερη από εκείνη πεστροφών που διατρέφονταν με τροφές υψηλής περιεκτικότητας σε υδατάνθρακες.

Το 1982 οι Hilton κ.ά. χρησιμοποιώντας μια σειρά τροφών παρόμοιων σε περιεκτικότητα πρωτεΐνης και ενέργειας, αλλά με λιπίδια που διαδοχικά αντικαθίσταντο με γλυκόζη, συμπέραναν ότι τα επίπεδα υδατανθράκων στην τροφή πάνω από 14 % δεν αξιοποιούνται αποτελεσματικά. Επίσης βρήκαν ότι η δράση της διφωσφορικής φρουκτόζης στο ήπαρ αυξανόταν με την αύξηση των υδατανθράκων της τροφής ( Κάτουλα 1994 ).

Οι επιδράσεις της ινσουλίνης σε ορισμένες δόσεις που κυμαίνονται από 10 ως 400 IU / Kg, το επίπεδο γλυκόζης στο πλάσμα σε τελεόστεα γλυκού νερού ( Clarias batrachus ) μελετήθηκε κάτω από ποικίλες πειραματικές συνθήκες. Ενώ καμιά αισθητή μείωση δεν παρατηρήθηκε στα επίπεδα γλυκαιμίας σε ψάρια

που διατηρήθηκαν στους 10 C<sup>0</sup> μέχρι 100 IU / Kg δόση ινσουλίνης, εκείνα που διατηρήθηκαν στους 24 C<sup>0</sup>, ανταποκρίθηκαν στα 40 IU / Kg. Σε υψηλότερη δόση, καταγράφηκε σημαντικότερη πτώση στο αίμα υπό πιο υψηλή θερμοκρασία, επισημαίνοντας τον ρόλο της περιβαντολλογικής θερμικής μεταβολής πάνω στους ομοιοστατικούς μηχανισμούς αίματος - γλυκόζης. Σε κάποια ψάρια δόση 10 IU / Kg είναι τόσο αποτελεσματική όσο και 100 και 200 IU / Kg. Από την άλλη μεριά α ψάρια που υπέστησαν παγκρεατεκτομή, ανταποκρίθηκαν περισσότερο σε μικρές διπλές δόσεις 100 IU / Kg ινσουλίνης ( Bhatt, H.D et al. 1985 ).

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ VII

### ΜΕΤΑΒΟΛΗ ΤΗΣ ΓΛΥΚΟΖΗΣ & ΤΩΝ ΔΕΙΚΤΩΝ ΑΙΜΑΤΟΣ ΣΤΑ ΨΑΡΙΑ.

Όπως αναφέρθηκε τα επίπεδα των τιμών της γλυκόζης και των διαφόρων δεικτών του αίματος επηρεάζονται από πολλούς παράγοντες όπως για παράδειγμα η διατροφή, η θερμοκρασία του περιβάλλοντος εκτροφής κ.α.λ. Στο κεφάλαιο αυτό αναφέρονται μια σειρά μεταβολών των παραμέτρων του αίματος, λόγω δραστηριοτήτων των ιχθύων ή λόγω κάποιων χειρισμών που πραγματοποιούνται κατά τη διάρκεια του κύκλου εκτροφής και επηρεάζεται άμεσα η φυσιολογία των ατόμων που εκτρέφονται.

#### Διατροφή και δείκτες αίματος

Η διατροφή είναι ένας από τους παράγοντες που σχετίζεται άμεσα με τα επίπεδα των τιμών των δεικτών του αίματος και κυρίως της γλυκόζης με τις μεταβολές της στα διάφορα στάδια της ζωής των ψαριών.

Η βιταμίνη E και το Se επιδρούν στην μετατρεψιμότητα της τροφής, στην αύξηση του οργανισμού αλλά και στις τιμές του αιματοκρίτη.



Επίσης η δράση βιοτίνης πέρα της αύξησης στο ψάρι, σε συνδυασμό με την παρουσία ή όχι λίπους στην παρεχόμενη τροφή οδηγεί σε μεταβολή των τιμών του αιματοκρίτη (Κάτουλα 1994).

### Διατροφή και γλυκόζη.

Μελέτες που έγιναν στα ψάρια και ειδικότερα στα σαρκοφάγα, όπως την πέστροφα και τον σολωμό ( Palmer & Ryman ( 1972 ), Phillips ( 1945 , 1948 ) , Cowey ( 1977 ) και Bergot ( 1979 )), έδειξαν ότι η συγκέντρωση της γλυκόζης του αίματος αυξάνει γρήγορα και σημαντικά μετά την κατανάλωση τροφής με πολλούς υδατάνθρακες, αλλά η πτώση που ακολουθεί επιτελείται με βραδύ ρυθμό. Επιστρέφει σε κανονικά επίπεδα μετά 24 ώρες.

Σε παρόμοια αποτελέσματα οδήγησαν και οι εργασίες των Thorpe & Ince ( 1978 ) πάνω στην Esox lucius και στο Anguilla anguilla. Παρατήρησαν ότι προκαλείται υπεργλυκαιμία που διατηρείται για 24 - 48 ώρες.

Ο Lin ( 1978 ) στην προσπάθειά του να προσδιορίσει τον ρυθμό χρησιμοποίησης της γλυκόζης, εφάρμοσε πρόγραμμα διατροφής στο Oncorhynchus kisutch με σημασμένα άτομα άνθρακα. Υπολόγησε ότι ο ρυθμός ήταν της τάξεως των 0,35 - 0,43 mg / min / Kg σωματικού βάρους, δηλαδή πολύ κατώτερος από εκείνον που καταγράφεται στα ανώτερα σπονδυλωτά.

Σύμφωνα με αυτές τις διαπιστώσεις οι περισσότεροι συγγραφείς έκριναν ότι, ως προς τη γλυκόζη του αίματος, τα ψάρια συμπεριφέρονται σαν διαβητικά θηλαστικά ( Βασιλόπουλος 1990).

### Το γλυκογόνο στους οργανισμούς των ψαριών .

Οι Moorthy κ.ά.( 1980 ) βρήκαν μια σημαντική μείωση των υδατανθράκων του ήπατος ( προφανώς του γλυκογόνου ) στο είδος Sarotherondon mossambicus μετά από στέρηση τροφής για 30 μέρες. Άλλοι ερευνητές που εργάστηκαν σε διαφορετικά είδη ψαριών κατέληξαν σε διαφορετικά αποτελέσματα.



Ο Dave ( 1975 -76 ) στερώντας την τροφή σε ευρωπαϊκά χέλια ( *Anguilla anguilla* ) για μακρύ χρονικό διάστημα ( 146 μέρες ), διαπίστωσε ότι κατά τους τρεις πρώτους μήνες τα ψάρια αυτά χρησιμοποίησαν κατά προτίμηση τριγλυκερίδια του ήπατος και των μυών για ενεργειακούς και μόνο σκοπούς. Μετά την εξάντληση των λιπιδίων επήλθε μια αξιοσημείωτη μείωση του γλυκογόνου του ήπατος.

Οι Bever κ.ά. ( 1977 ) από μελέτες που έκαναν σε *Paralabrax*, βρήκαν ότι τα επίπεδα γλυκόζης στο αίμα διατηρούνταν σταθερά σε στέρηση τροφής για 40 μέρες. Ακόμη τα μέσα επίπεδα γλυκόζης των ψαριών που στερούνταν τροφής ήταν παρόμοια με εκείνα των ψαριών που ελάμβαναν κανονικά τροφή.

Τά παραπάνω φανερώνουν ότι πηγή προσφοράς ενέργειας στα στερούμενα τροφής ψάρια πρέπει να είναι μάλλον τα λιπίδια των ιστών και οι πρωτεΐνες ( μέσω της γλυκονογένεσης ) παρά η γλυκόζη και το γλυκογόνο.

Έτσι μέσω των αιματολογικών αναλύσεων μπορούμε να αποκτήσουμε κάποιες πληροφορίες για τον τύπο της τροφής που δίδεται στο δείγμα του εκτρεφόμενου πληθυσμού.

Σημαντική είναι η πορεία του γλυκογόνου στο ήπαρ και της γλυκόζης στο αίμα των ψαριών σε σχέση με την χορηγούμενη τροφή και την πειραματική διαδικασία, βάση της γλυκορυθμιστικής λειτουργίας του ήπατος.

Καθοριστικός παράγοντας στη διαμόρφωση των τιμών της γλυκόζης και του γλυκογόνου πέρα του είδους της τροφής, είναι και η καταπόνηση των ψαριών κατά την διάρκεια της μέτρησης των σωματομετρικών τους χαρακτηριστικών. Κυρίως κατά τις τελευταίες μετρήσεις συνήθως τα ψάρια βρίσκονται για αρκετή ώρα ( 10 - 15 min ) σε έντονη κατάσταση stress και σε αναισθησία κατά την οποία μειώνεται στο ελάχιστο ο ρυθμός αναπνοής τους με επακόλουθη ελάττωση της συγκέντρωσης του O<sub>2</sub> στο αίμα και στους μύες. Σε αναερόβιες συνθήκες έχουμε τη διάσπαση της γλυκόζης να ακολουθεί την οδό της παραγωγής γαλακτικού οξέως καθόσον μειώνει τη δυνατότητα οξειδώσεως του πυροσταφυλικού ή πυρουβικού και

οδηγεί σε ελάττωση της γλυκόζης στο αίμα. Έχουμε ως συνέπεια του γεγονότος αυτού την έναρξη της δράσης της γλυκορυθμιστικής λειτουργίας του ήπατος με διάσπαση του γλυκογόνου και ταυτόχρονη δημιουργία γλυκόζης.

Ο σημαντικός ρόλος που παίζει η διατροφή στις μεταβολές των τιμών των βιοχημικών παραμέτρων του αίματος των ψαριών, εμφανίζεται στα αποτελέσματα πειράματος διατροφής ευρύαλων ιχθύων και συγκεκριμένα στο είδος Sparus auratus (τσιπούρα) που πραγματοποιήθηκε στο Γ.Π.Α. Στο πείραμα αυτό χρησιμοποιήθηκαν 3 είδη τροφών Α, Β, C, διαφορετικής σύστασης με τιμές υγρασίας (%) από 6,825 έως 8,744, τέφρας (%) από 6,400 έως 10,824, πρωτεΐνες (%) από 49,055 έως 54,143, και λίπη (%) από 19,459 έως 21,891.

Οι τροφές εφαρμόστηκαν σε τρεις ομοιογενείς ομάδες ψαριών, ενώ οι υπόλοιποι παράγοντες που επηρεάζουν την ανάπτυξη και τη σύσταση του παραγόμενου προϊόντος (π.χ. φυσικοχημικά χαρακτηριστικά του νερού) διατηρήθηκαν σταθεροί. Οι τιμές κυμάνθηκαν για την περιεκτικότητα σε  $O_2$  από 5,720 έως 6,007 ppm, για το pH από 7,39 έως 7,47, για την αλατότητα 35,157 έως 35,158 %, για την περιεκτικότητα σε  $NH_4$  από 0,868 έως 1,085 ppm, για την τοξική  $NH_3$  από 0,182 έως 1,346 % και για το  $NO_2$  από 0,029 έως 0,045 ppm. Η θερμοκρασία ήταν σταθερή στους  $23,5\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

Η αιμοληψία γίνονταν ύστερα από αναισθητοποίηση των ψαριών με σύριγγες που περιείχαν ως αντιπηκτικό παράγοντα την ηπαρίνη. Το αναισθητικό δρούσε πλήρως πάνω στα ψάρια σε διάστημα 1 - 1,5 λεπτών, ενώ η διάρκεια λήψεως αίματος διαρκούσε περίπου 1 - 2 λεπτά. Οπότε το πρώτο ψάρι έμενε περίπου 1 - 1,5 λεπτά μέσα στο νερό με το αναισθητικό και το τελευταίο 15 - 20 λεπτά.

Ο υπολογισμός του αιματοκρίτη έγινε με δύο δείγματα από κάθε ψάρι πριν κλειστούν και οδηγηθούν στην κατάψυξη. Το υπόλοιπο αίμα μέσω της φυγοκέντρισης (10 λεπτά, Hettich Microliter) διαχωρίστηκε σε δύο φάσεις. Η διαυγής υπερκείμενη φάση αποτελεί το πλάσμα και η υποκείμενη αποτελεί τα έμμορφα συστατικά του αίματος.

Οι αιματολογικές αναλύσεις που έγιναν αφορούσαν το πλάσμα του αίματος το οποίο είχε διατηρηθεί στην κατάψυξη. Με τη χρήση των kits ( Elitech ) προσδιορίστηκαν η αλβουμίνη, η χοληστερόλη, η γλυκόζη και τα τριγλυκερίδια. Για την γλυκόζη οι τιμές κυμάνθηκαν από 70,252 έως 103,910, ενώ η περιεκτικότητα του ήπατος σε γλυκογόνο ( mg γλυκογόνου ανά g ήπατος ) παρουσιάστηκε με τιμές από 103,395 έως 184,208.

Παρατηρούμε για τη συγκέντρωση του γλυκογόνου, ότι στις δεξαμενές 1 και 2 ( ψάρια που κατανάλωσαν τροφή A ) παρουσιάζουν την μικρότερη συγκέντρωση, μια μέση κατάσταση εμφανίζουν οι δεξαμενές 5 και 6 ( ψάρια που κατανάλωσαν τροφή C ), ενώ τη μεγαλύτερη παρουσία γλυκογόνου εμφάνισαν οι δεξαμενές 3 και 4 ( ψάρια που κατανάλωσαν τροφή B ).

Τα αποτελέσματα του πειράματος έδειξαν ότι η περιεκτικότητα της γλυκόζης στο πλάσμα του αίματος δεν παρουσίασε σημαντικές στατιστικές διαφορές μεταξύ των δεξαμενών. Αν προσπαθήσουμε όμως να ομαδοποιήσουμε τις μετρήσεις ανά τροφή, οι δεξαμενές 1 και 2 ( τροφή A ) έδωσαν κατά μέσο όρο την περισσότερη συγκέντρωση σε γλυκόζη, οι 3 και 4 ( τροφή B ) την λιγότερη, ενώ οι δεξαμενές 5 και 6 ( τροφή C ) εμφάνισαν μια ισορροπία γλυκογόνου και γλυκόζης.

Αξιοσημείωτο είναι το γεγονός ότι εμφανίζεται μια σταδιακή αύξηση της συγκέντρωσης της γλυκόζης στο πλάσμα του αίματος σε σχέση με τον χρόνο αιμοληψίας δηλ, με το χρονικό διάστημα παραμονής των ψαριών σε κατάσταση αναισθησίας.

Η σχέση των τιμών αυτών στις δεξαμενές του πειράματος δικαιολογείται λόγω της αυτού κάθε αυτού γλυκορυθμιστικής λειτουργίας του ήπατος και εν μέρη στην ποιοτική και ποσοτική σύσταση των τροφών και ιδιαίτερα του ποσοστού των υδατανθράκων ( Παπαδάκης 1995 ).

Έτσι από μετρήσεις της γλυκόζης και γλυκογόνου σε ψάρια, μπορούμε να εξάγουμε συμπεράσματα για το είδος της τροφής τους και κατά επέκταση για την ηθολογία και το περιβάλλον τους. Όλα αυτά όμως είναι σε πρώτα στάδια μελέτης και

απαιτείται πρόσθετη έρευνα για την εύρεση των σχέσεων της διατροφής και της περιεκτικότητας γλυκόζης - γλυκογόνου στα ψάρια.

## Χρονικές μεταβολές στους δείκτες του αίματος.

Είναι γεγονός ότι η συμπεριφορά των ιχθύων δεν είναι ίδια και σταθερή τόσο κατά τις εποχιακές αλλαγές, όσο και κατά τη διάρκεια της ίδιας της ημέρας. Το φαινόμενο αυτό αποτελεί αντικείμενο έρευνας από την πλευρά της ύπαρξης ή όχι μεταβολών των τιμών των αιματολογικών παραμέτρων και εάν ναι, δυνατότητες και τρόποι υπολογισμού αυτών έτσι, ώστε να λαμβάνονται υπόψη στις προσπάθειες υπολογισμού του πραγματικού βαθμού καταπόνησης του οργανισμού.

Εποχιακές και ημερήσιες μεταβολές σε διάφορες μεταβλητές του αίματος έχουν μελετηθεί στο είδος του Αντλαντικού Gadus morhua και στο Αμερικάνικο είδος Hippoglossoides platessoides, έχοντας ως αντικείμενο τις φυσικές διακυμάνσεις της αλατότητας και θερμοκρασίας στην εκβολή του ποταμού St.Lawrence. Σημαντικές εποχιακές διακυμάνσεις βρέθηκαν για όλες τις καταμετρούμενες παραμέτρους ( πλάσμα , παράμετροι όσμωσης, Na super +, Cl super -, K super +, γλυκόζη, κορτιζόλη , αιμοσφαιρίνη και αιματοκρίτης του αίματος). Στη μουρούνα η εποχιακή επίδραση στην αιμοσφαιρίνη του αίματος παρατηρήθηκε βάσει των αλληλοεπιδράσεων του χρόνου , της ώρας, της ημέρας. Σε αυτά τα είδη όλες οι παράμετροι μεταβλήθηκαν σε ωριαία βάση, αν και τέτοιες αλλαγές αντιπροσωπεύουν μόνο μικρή αναλογία ως προς την παραλλακτικότητα που ερμηνεύτηκε με στατιστικό μοντέλο. Στο πλησσί μόνο η οσμωτική σύνθεση στο πλάσμα και ο αιματοκρίτης στο αίμα είχαν 24 ωρη διακύμανση, ενώ οι επιδράσεις της ώρας στην δειγματοληψία ήταν δύσκολο να χαρακτηρισθούν. Γενικά τα αποτελέσματα καταδείχνουν πως και τα δύο είδη εγκλιματίστηκαν στις πειραματικές συνθήκες ( Audet C. et al.1993 ).

Τα επίπεδα της γλυκόζης και των ελευθέρων λιπαρών οξέων στο αίμα του Κυπρίνου ( Cyprinidae ), εμφανίζουν έναν ρυθμό σε καθημερινή βάση. Ερευνήθηκε η

επίδραση δυσμενών συνθηκών θερμοκρασίας σε ημερήσια καθημερινή μεταβολή και οδήγησε στο συμπέρασμα ότι τα επίπεδα των ελευθέρων λιπαρών οξέων στο αίμα στα δύο υπό εξέταση ψάρια και σε θερμόαιμα ζώα, μπορούν να ρυθμιστούν με τον κύκλο γλυκόζης - λιπαρών οξέων ( Malinovskaya, M.V. 1992 ).

Οι παράμετροι της όσμωσης, το  $Cl_2$ , η γλυκόζη, η κορτιζόλη, οι θυροειδείς ορμόνες στο πλάσμα και ο αιματοκρίτης στο αίμα μεταβλήθηκαν εποχιακά σε πέστροφα ( Salvelinus fortinalis ), ηλικίας 1 + , προσαρμοσμένη σε γλυκό νερό και διατηρούμενη κάτω από φυσική φωτοπερίοδο και θερμοκρασία νερού. Επιπρόσθετα οι παράμετροι όσμωσης, η κορτιζόλη και η θυροξίνη, εκδήλωσαν 24 h κυκλικές μεταβολές διαφορετικές από μήνα σε μήνα. Υψηλά επίπεδα κορτιζόλης συνδέονταν με την ωρίμανση του φύλου και πιθανώς με χαμηλές θερμοκρασίες νερού. Εποχιακές κυκλικές μεταβολές των θυροειδών ορμονών στο πλάσμα, φαίνεται να μην επηρεάζονται από την θερμοκρασία του νερού. Οι παράμετροι της όσμωσης, το  $Cl_2$ , η γλυκόζη και η θυροξίνη στο πλάσμα παρουσιάζουν μικρές αλλά σημαντικές εποχιακές αλλαγές, παρόμοιες με τις μεταβολές που παρατηρήθηκαν στον ίδιο χρόνο της διαδικασίας σε άλλα είδη σολωμών κατά την μεταπήδησής τους από γλυκό σε θαλάσσιο νερό ( Audet, C. et al. 1992 ).

## Θερμοκρασία περιβάλλοντος.

Η θερμοκρασία του περιβάλλοντος αποτελεί τον κρισιμότερο παράγοντα για πολλά στάδια της ζωής των ιχθύων. Αυτομάτως αποκτά μεγάλη σημασία ο εντοπισμός και ο έλεγχος των αντιδράσεων του ψαριού που προκαλούνται από την επίδραση δυσμενών θερμοκρασιακών συνθηκών, ή απότομων μεταβολών του θερμοκρασιακού καθεστώτος κυρίως προς χαμηλότερες θερμοκρασίες.

Αλλαγές στις συγκεντρώσεις της αιμοσφαιρίνης, του αιματοκρίτη, του λευκοκρίτη, του  $Cl_2$ , των παραμέτρων όσμωσης, της λακτάσης, γλυκόζης και κορτιζόλης, μετρήθηκαν στην Τιλάπια Oreochromis nicoticus, εκτεθείσα σε χαμηλή θερμοκρασία για 24 h ( 30 - 14 C<sup>0</sup> ) ή 86 h ( 28 - 14 C<sup>0</sup> ). Η αιμοσφαιρίνη αυξήθηκε

μόνο στο πείραμα των 24 ωρών. Στο πλάσμα το  $Cl_2$  μειώθηκε μετά από 62 h στο πείραμα των 86 ωρών. Στο πλάσμα οι παράμετροι όσμωσης, ο λευκοκρίτης και η λακτάση, μειώθηκαν και στα δύο πειράματα. Η γλυκόζη αυξήθηκε σημαντικά μόνο στο πείραμα των 86 ωρών. Η κορτιζόλη αυξήθηκε στο πείραμα των 24 ωρών και μετά μειώθηκε απότομα στο πείραμα των 86 ωρών. Τα αποτελέσματα δείχνουν ότι ο λευκοκρίτης, οι παράμετροι όσμωσης, η λακτάση, η γλυκόζη και η κορτιζόλη στην Τιλάπια παρουσιάζονται ευμετάβλητα στις αλλαγές της φυσιολογίας τους κατά την έκθεσής της σε χαμηλές θερμοκρασίες ( Sun, L.T. et al 1992 ).

Ο συνδυασμός θερμοκρασίας και χειρισμών που προκαλούν καταπόνηση στα εκτρεφόμενα άτομα, αποτελεί μεγάλο κίνδυνο τόσο για την ποιότητα των παραγόμενων προϊόντων, αλλά και για την επιβίωση του εκτρεφόμενου πληθυσμού.

Μια μελέτη αναφέρθηκε στα αίτια θνησιμότητας σε σολωμούς ηλικίας τριών ετών που διαχείμασαν σε θαλάσσιο νερό 34 - 45 ppt και σε θερμοκρασία κοντά σε  $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Οι λειτουργικές διαταραχές και ανωμαλίες στο πεπτικό σύστημα που παρατηρήθηκαν στο ψάρι, αποδόθηκαν στην χαμηλή θερμοκρασία του νερού και στην επίδραση των συνήθων παραγόντων stress στις δεξαμενές των εκτρεφόμενων ψαριών. Συγκριτικά με υγιείς σολωμούς, τα ετοιμοθάνατα ψάρια παρουσίασαν υψηλότερη όσμωση στον ορό του αίματος και γλυκόζη στο αίμα, ως και χαμηλότερη περιεκτικότητα σωματικής υγρασίας και γλυκογόνου στο συκώτι. Πιστεύεται ότι η μείωση ή η πλήρης διακοπή απορρόφησης νερού από τα έντερα σε χαμηλές θερμοκρασίες, είναι μια από τις κυριότερες συνέπειες στην έλειψη ισορροπίας των αλάτων του νερού ( Belkovskij, N.M. et al. 1991 ).

Αντιδράσεις στην φυσιολογία σε ηλικίας ενός έτους Morone saxatilis κατά τον εγκλιματισμό στην θερμοκρασία και περιορισμό της καταπόνησης μελετήθηκαν επίσης και παρατηρήθηκε ότι η θερμοκρασία επηρεάζει σημαντικά την κορτιζόλη, την γλυκόζη, το  $Cl_2$ , του πλάσματος ως και τον αιματοκρίτη όχι όμως και τις παραμέτρους της όσμωσης. Εγκλεισμός σε δίχτυ για 12 λεπτά, έχει ως αποτέλεσμα την αύξηση της κορτιζόλης και της γλυκόζης στο πλάσμα και μείωση του  $Cl_2$ , των

παραμέτρων της όσμωσης και του αιματοκρίτη. Οι παραπάνω παράμετροι επέστρεψαν στα αρχικά τους επίπεδα, όταν απελευθερώθηκαν από το δίχτυ. Οι αλλαγές στην φυσιολογία κατά την διάρκεια της καταπόνησης ήταν πιο απότομες και η αποκατάσταση σε αυτές τις μεταβολές ήταν πιο ομαλή στους 5 - 30 C<sup>0</sup>. Ελάχιστη ποσοτική αντίδραση με παράλληλη ταχεία αποκατάσταση, παρατηρήθηκε στα ψάρια που καταπονήθηκαν σε 10 και 16 C<sup>0</sup>. Εγκλιματίζοντας και μετακινώντας τα άτομα μέσα σε αυτό το εύρος θερμοκρασίας, αναμένεται μείωση των\_σχετιζόμενων αντιδράσεων που προκαλεί η καταπόνηση και της θνησιμότητας έχοντας ως συνέπεια τη βελτίωση της παραγωγής ( Davis, K.B. et al. 1990 ).

Τα επίπεδα γλυκόζης στο αίμα υπολογίστηκαν, σε ελεγχόμενες συνθήκες θερμικής καταπόνησης στο Clarias batrachus σε 35 C<sup>0</sup> για παρατεταμένη περίοδο. Παρατηρήθηκε ότι η ανύψωση του επιπέδου της γλυκόζης στο αίμα σε συνεχόμενες συνθήκες θερμικής καταπόνησης για 18 h, ήταν υψηλά σημαντική ( P = 0.001 ). Στην συνέχεια σημειώθηκε μια βαθμιαία πτώση των επιπέδων της, εξίσου σημαντική ( P = 0,001 ), όταν εφαρμόστηκαν 24 h συνθήκες καταπόνησης ( Akela, B.P. 1987 ).

Μετρήσεις των πειραμάτων στα ψάρια ( Channa punctatus ) που διατηρήθηκαν σε 3 διαφορετικές θερμοκρασίες ( 25, 30 και 35 C<sup>0</sup> ) συγκρίθηκαν με μια ομάδα μαρτύρων που διατηρήθηκαν σε 14 C<sup>0</sup>. Τα ψάρια παρουσίασαν εμφανή σημεία καταπόνησης στους 30 και 35 C<sup>0</sup> και επισημάνθηκε με απώλεια βάρους και αύξηση του ποσοστού θνησιμότητας. Από την άλλη μεριά εκείνα στους 14 και 25 C<sup>0</sup> κέρδιζαν σταθερά βάρος και έδειχναν φυσιολογική αύξηση.

Βιοχημικές μελέτες επιβεβαιώνουν τα συμπτώματα της έντασης της καταπόνησης με στατιστικά σημαντική πτώση επιπέδου της γλυκόζης στο αίμα και εξάντληση των αποθεμάτων του γλυκογόνου στο συκώτι και στους μυς εντός της πρώτης εβδομάδας στους 35 C<sup>0</sup> και στην τέταρτη εβδομάδα στους 30 C<sup>0</sup>. Αυτά τα αποτελέσματα επιβεβαιώνονται από περαιτέρω αιματολογικές αναλύσεις ( Dheer, J.M.S. 1988 ).

Σε πειράματα που διεξάχθηκαν σε εκτρεφόμενα θαλασσινά ψάρια

Oreochromis mossambicus και η θερμοκρασία ελαττώνονταν με 5 θερμοκρασιακές διαβαθμίσεις, ανά ώρα, από μια αρχική τιμή των 20 C<sup>0</sup> σε μια τελική 10 C<sup>0</sup>, βρέθηκε ότι η αναπνευστική συχνότητα προοδευτικά μειώνονταν όσο η θερμοκρασία έπεφτε και παρουσιάστηκε ανεπάρκεια αναπνευστικής λειτουργίας όταν η θερμοκρασία ήταν κάτω των 14 C<sup>0</sup>. Για τη μελέτη του αιτίου αυτού του φαινομένου, η περιεκτικότητα του σακχάρου του αίματος και της καρδιάς, του γαλακτικού οξέως του συκωτιού ( η οποία\_ σχετίζεται με την παραγόμενη θερμότητα, στην κανονική θερμοκρασία του σώματος και την κατανάλωση γλυκόζης και γλυκογόνου ), καθορίστηκαν σε διαφορετικές διαβαθμίσεις θερμοκρασίας ( Lin, Huaying. et al. 1987 ).

Οι συνθήκες θερμοκρασίας παίζουν σημαντικό ρόλο στα άτομα του πληθυσμού που αποτελούν τους γεννήτορες. Ακατάλληλες τιμές θερμοκρασίας, ή απότομες μεταβολές της, μπορούν να προκαλέσουν ανωμαλίες στην αναπαραγωγική διαδικασία, με αποτέλεσμα την υποβάθμιση της ποιότητας των αυγών, τη μείωση της επιβίωσης των νεαρών ιχθυδίων και την αύξηση της θνησιμότητας στα επόμενα στάδια της παραγωγής.

Ενήλικα άτομα ιριδίζουσας πέστροφας και σολωμοί που εκτράφηκαν σε θαλάσσιους κλωβούς μεταφέρθηκαν σε δεξαμενές και κρατήθηκαν κάτω από 9 συγκεκριμένες συνθήκες διαφορετικής θερμοκρασίας και αλατότητας. Αίμα και σπερματικό υγρό ελήφθησαν με τακτικές δειγματοληψίες από τα ψάρια και μετρήθηκαν διάφορα οργανικά και ανόργανα συστατικά. Η επιβίωση και στα δύο, δηλαδή και στις ομάδες των γεννητόρων και στα αυγά στο στάδιο εμφάνισης των ματιών, καθώς και η ξήρανση του υλικού των αυγών υπολογίστηκε και καταγράφηκε. Οι διαφορές φύλου που σημειώθηκαν ακολουθούσαν τις προοδευτικές αλλαγές της γλυκόζης, του Cl<sub>2</sub>, του αιματοκρίτη και την επιβίωση των γεννητόρων. Χαμηλές θερμοκρασίες επιβράδυναν την ωρίμανση του φύλου ανεξάρτητα από την αλατότητα και μόνο μερικά θηλυκά ωοαπόθεσαν σε τέτοιες θερμοκρασίες. Οι γεννήτορες που εκτράφηκαν σε χαμηλή θερμοκρασία σε γλυκό και θαλάσσιο νερό, υπέφεραν από υψηλή θνησιμότητα έχοντας υψηλά επίπεδα Cl<sub>2</sub> ή γλυκόζης στο αίμα. Το υφάλμυρο νερό εμφανίζεται να είναι το πιο ευνοϊκό περιβάλλον, ειδικά για την



εκτροφή γεννητόρων στις υψηλές θερμοκρασίες. Η επιβίωση των γεννητόρων, η αφαίρεση των αυγών από τα θηλυκά, μετά από μάλαξη των κοιλιακών τοιχωμάτων σε αυτή την αλατότητα ήταν υψηλή.

Ανάλυση των φυσιολογικών δεδομένων συγκρινόμενη σε ψάρια υπό διαφορετικές αλατότητες, έδειξαν ότι ήταν περισσότερο σταθερά ( Albrektsen, S. et al. 1988 ).

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ VIII

### ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΤΩΝ ΜΕΤΡΟΥΜΕΝΩΝ ΤΙΜΩΝ ΚΑΤΑΠΟΝΗΣΗΣ

Πρέπει να τονισθεί ότι, σημαντικό ρόλο παίζει ο τόπος στον οποίο γίνεται η δειγματοληψία, δηλαδή εάν πραγματοποιείται σε εργαστηριακό χώρο ή στο πεδίο εκτροφής. Χρήσιμο είναι να γνωρίζει, τόσο ο επιστήμονας που κάνει τις αιματολογικές δειγματοληψίες και αναλύσεις, όσο και ο παραγωγός που χρειάζεται τα αποτελέσματα και τα συμπεράσματα, εάν επηρεάζονται αλλοιώσεις στην εγκυρότητα και στην αξιοπιστία των μετρήσεων λόγω του τόπου στον οποίο λαμβάνει χώρα η συλλογή και η αποθήκευση των δειγμάτων. Ταυτόχρονα πρέπει να λαμβάνεται σοβαρά υπόψη ο τρόπος αποθήκευσης, αφού οι δείκτες του αίματος είναι πολύ ευαίσθητοι σε ακατάλληλες συνθήκες, κυρίως θερμοκρασίας.

#### **Χώρος λήψης δειγμάτων.**

Βασικός στόχος των επιστημόνων και επιθυμία των παραγωγών είναι να βρεθεί μέθοδος ώστε να μπορεί να μετρηθεί η εντοπιζόμενη καταπόνηση στα ψάρια κάτω από συνθήκες εκτροφής, χρησιμοποιώντας απλές αλλά

αξιόπιστες μεθόδους, χωρίς να απέχουν στατιστικά οι μετρούμενες τιμές από τις αντίστοιχες του εργαστηρίου. Προς αυτή την κατεύθυνση πραγματοποιήθηκε πείραμα χωριζόμενο σε 2 μέρη ( Barton & Iwama 1991 ).

Το πρώτο μέρος του πειράματος διεξάχθηκε στο εργαστήριο, όπου εφαρμόστηκε μια σταθερή διαδικασία καταπόνησης σε ιχθύδια Oncorhynchus kisutch μέσου βάρους 34 g, που περιλάμβανε 2, 4, 6, 8 και 24 ωρη διαλογή για 30 sec, έξω από το νερό με δίχτυ ( Walbaum ), ( Wedemeyer et al. 1990 ). Δείγματα αίματος ( από ουραία αγγεία με χρήση ηπαρίνης ) αναλύθηκαν και με τους δύο τρόπους, δηλαδή με βασικές εργαστηριακές και με φορητές μεθόδους ( kit μέτρησης γλυκόζης σε διαβητικούς ) και έδωσαν παρόμοια αποτελέσματα ανάλυσης.

Ένα στάνταρ πρωτόκολο δειγματοληψίας έχει καθιερωθεί για να ελέγχει την ακρίβεια και την ορθότητα των φορητών οργάνων πέρα μιας ευρείας ακτίνας τιμών. Το σύνολο του πλάσματος ή των ερυθροκυττάρων του αίματος ήταν αρκετό για να πραγματοποιηθούν 5 μετρήσεις, καλύπτοντας τιμές αιματοκρίτη εύρους 7 - 60 % ( φυσιολογικές τιμές αιματοκρίτη σε διαχειμάζοντα ψάρια είναι κατά μέσο όρο  $28 + 2\%$  ).

Το δεύτερο μέρος του πειράματος εστιάστηκε σε εξετάσεις που έγιναν στο πεδίο, μια μέθοδο βασισμένη σε εργαστηριακά test. Από παραγωγή μεγάλης ποσότητας σολώμου του Ατλαντικού Salmo salar L. σε εκτροφές ψαριών, λήφθηκαν δείγματα για να υπολογιστεί η καταπόνηση και η κατάσταση υγείας ( από τη νυκτική κύστη ), κατά το στάδιο της μετανάστευσής τους από τους ποταμούς στη θάλασσα.

Κατά τη διάρκεια της διαδικασίας διαλογής σε σολωμούς κάτω του ενός έτους, τα ψάρια μετακινούνταν με δίχτυ από τις δεξαμενές εκτροφής, στη μηχανή διαλογής και μεταφέρονταν σε νέες δεξαμενές εκτροφής.

Τα ψάρια ως εκ τούτου υπόκεινταν και σε άλλους παράγοντες καταπόνησης λόγω περιορισμού κατά το χρονικό διάστημα που πραγματοποιούνταν η διαδικασία διαλογής.

Αν και δεν είναι πάντα δυνατό, έγιναν προσπάθειες δειγματοληψίας από ψάρια, τα οποία ήταν όμοια σε μέγεθος με τα ψάρια της ομάδας A, η οποία αποτελούνταν από ψάρια - μάρτυρες που χρησιμοποιήθηκαν για τον υπολογισμό των φυσιολογικών επιπέδων των καταμετρούμενων μεταβλητών σε μια συνηθισμένη κατάσταση παραγωγής. Έτσι υπήρχαν οι επιδράσεις μεγέθους στην μέτρηση μεταβλητών του αίματος.

Επιπρόσθετα έγιναν ευκαιριακές δειγματοληψίες σε ψάρια, τα οποία πιθανώς είχαν καταπονηθεί από ασθένειες ή χειρισμούς ( ομάδα B ).

Για την αναισθητοποίηση των ψαριών πριν την δειγματοληψία χρησιμοποιήθηκε διάλυμα με MS 222 ( 50 mgL<sup>-1</sup> ).

Η συνολική εικόνα της υγείας των ψαριών για τους πληθυσμούς του ιχθυοτροφείου, προσδιορίστηκε ύστερα από επιτόπιες μακροσκοπικές και νεκροτομικές εξετάσεις.

Οι μετρούμενες μεταβλητές περιλαμβάνουν : γλυκόζη αίματος, πρωτεΐνες, συγκεντρώσεις αιμοσφαιρίνης, αιματοκρίτη, αριθμό ερυθροκυττάρων και λεμφοκυττάρων.

Τα επίπεδα γλυκόζης αίματος, παρατηρήθηκαν να αυξάνονται σημαντικά σε 4 h μετά από συμβάν καταπόνησης ( ζύγισμα, διαλογή ), χρησιμοποιώντας αυτή την μέθοδο πεδίου.

Κάποιες από τις τεχνικές αυτής της μεθόδου παρέχουν πληροφορίες και συμπεράσματα τα οποία είναι αξιόπιστοι δείκτες της καταπόνησης των ψαριών και έχουν δυνατότητα να χρησιμοποιηθούν σε εκτροφές ( χερσαίες ή πλωτές ).

## 1. Εργαστηριακός έλεγχος του stress.

Οι τιμές ελέγχου για την κορτιζόλη και τη γλυκόζη του πλάσματος είχαν φυσιολογικό εύρος τιμών όπως αναφέρεται στην βιβλιογραφία ( Hille 1982 Barton & Iwama 1991 ). Ανέβηκαν σταθερά οι τίτλοι κορτιζόλης και γλυκόζης κατόπιν

χρόνιων διαδικασιών διαλογής, που καταπονούν κι ενοχλούν το ψάρι. Οι τιμές της γλυκόζης στο Minilab ήταν περίπου δύο φορές υψηλότερες από αυτές των βασικών εργαστηριακών δοκιμών, όμως το Minilab ήταν αρκετά ευαίσθητο να εντοπίσει την καταπόνηση, εμφανίζοντας αύξηση στα επίπεδα γλυκόζης, όμοια με τις βασικές εργαστηριακές δοκιμές. Οι τιμές αιμοσφαιρίνης ήταν επίσης ελαφρώς υψηλότερες με τον μετρητή αιμοσφαιρίνης συγκρινόμενες με τις βασικές εργαστηριακές αναλύσεις, αλλά οι διαφορές μεταξύ των δύο μεθόδων ήταν στατιστικά σημαντικές ( $P < 0,05$ ) εντός 4 - 6 h. Συνολικά οι τιμές της αιμοσφαιρίνης δεν δείχνουν να ανταποκρίνονται στους έντονους χειρισμούς κατά τη διαλογή.

Ο αριθμός των ερυθροκυττάρων που καταμετρήθηκε από το Minilab ήταν περίπου 3 φορές μεγαλύτερος από αυτόν που υπολογίστηκε με χειρονακτική καταμέτρηση μέσω μετρητή αιματοκυττάρων. Το μέγεθος των ερυθροκυττάρων επηρεάζεται επίσης από οσμωτική διόγκωση λόγω ορισμένων περιβαντολλογικών αιτιών ( π.χ. υποξία ). Για αυτό τον λόγο οι τιμές που υπολογίζονται με την τεχνική απαρίθμησης των ερυθροκυττάρων, η οποία στηρίζεται στις καταμετρήσεις της θολότητας, μπορεί να αποκλίνουν από το πλήθος των αιματοκυττάρων που προήλθε ύστερα από χειρονακτική καταμέτρηση. Για συγκριτικούς σκοπούς συνιστάται οι τιμές της αιμοσφαιρίνης να υπολογίζονται με Minilab.

Ωστόσο δεν υπάρχουν σημαντικές διαφορές ( $P > 0,05$ ) για τις άλλες μετρούμενες μεταβλητές για τον έλεγχο της καταπόνησης ( αιματοκρίτης, λευκοκρίτης, ποσοστά λεμφοκυττάρων, συγκεντρώσεις Na, Cl<sub>2</sub> στο πλάσμα ), μεταξύ των τιμών των ψαριών του πειράματος και των τιμών ελέγχου των μαρτύρων.

Οι επιτόπιες εξετάσεις ψαριών δεν αποκαλύπτουν διαφορές στην εικόνα των οργάνων μεταξύ καταπονημένων και μη ψαριών. Μεταβολές στα εμφανή μέρη των οργάνων ή των ιστών δεν θα πρέπει να αναμένονται μετά από μικρές περιόδους διαταραχής. Από τη συνολική εικόνα υγείας των ψαριών παρέχεται η δυνατότητα για διάγνωση μεταβολών των φυσιολογικών

τιμών του ψαριού μόνο σε μεγαλύτερες χρονικές και εποχιακές περιόδους.

Σε μια ελεγχόμενη κατάσταση, οι τιμές της γλυκόζης και της αιμοσφαιρίνης, πέρα μιας ευρείας ακτίνας τιμών, ήταν όμοιες τόσο από το Minilab όσο και από τις βασικές εργαστηριακές δοκιμές. Τα χαμηλά τυπικά σφάλματα συνδυαζόμενα με το Minilab έδειχναν υψηλού βαθμού ακρίβεια στην καταμέτρηση. Οι τιμές του Minilab για την γλυκόζη ήταν περίπου 2 φορές υψηλότερες σε σχέση με αυτές που μετρήθηκαν με βασικές εργαστηριακές αναλύσεις, ενώ τα επίπεδα της μετρούμενης γλυκόζης στα test που έγιναν στο χώρο του εργαστηρίου, διέφεραν μόνο κατά 5 %. Ο λόγος για την διαφορά αυτή μεταξύ των δύο ελέγχων είναι άγνωστος, αλλά μπορεί να σχετίζεται με την παραλλακτικότητα της εφαρμοζόμενης δειγματοληψίας που εκδηλώνεται κατά την διάρκεια του ελέγχου της καταπόνησης, συγκρινόμενη με το b - test.

Το αιμογλοβινόμετρο ήταν ικανό να πλησιάζει περισσότερο τη βασική εργαστηριακή ανάλυση στις καταμετρούμενες τιμές αιμοσφαιρίνης των 4 gd / L και υπεράνω. Ωστόσο επίπεδα χαμηλότερα από 4 gd / L ( ισοδυναμεί με αιματοκρίτη των 15 % ), δεν μπορούν να καταμετρηθούν, φτάνοντας στα όρια εντόπισης του μετρητή. Ο αριθμός των ερυθροκυττάρων που καταμετρήθηκε με δια χειρών υπολογισμό, ήταν όμοιος με τα αποτελέσματα του πειράματος καταπόνησης λόγω διαλογής. Ωστόσο η σχέση μεταξύ του Minilab και της χειρονακτικής μεθόδου ήταν γραμμική πέρα μιας ακτίνας καταμετρούμενων τιμών.

Από αυτά τα στοιχεία αναπτύχθηκε εξίσωση γραμμικής καμπύλης, για να περιγράψει την σχέση μεταξύ των μεθόδων βασικών εργαστηριακών δοκιμών και της φορητής μεθόδου. Οι κλίσεις των καμπύλων για την γλυκόζη και την αιμοσφαιρίνη ήταν κοντά στην μονάδα ( 0,94 - 0,97 ), ενώ ο αριθμός των ερυθροκυττάρων που μετρήθηκαν από το Minilab ήταν 3,3 υψηλότερος από τον υπολογιζόμενο με την χειρονακτική μέθοδο υπολογισμού ( κλίση 0,3 ).

Αυτά τα αποτελέσματα δείχνουν ότι πέρα ενός εύρους ελεγχόμενων τιμών, τα φορητά όργανα υπολογισμού δίνουν αξιόπιστες

εκτιμήσεις των επιπέδων της γλυκόζης και της αιμοσφαιρίνης. Με το Minilab συλλέγονται λογικές εκτιμήσεις του πλήθους των ερυθροκυττάρων, ενώ χρησιμοποιώντας την εξίσωση καμπύλης, οι αναγνώσεις κατά την διάρκεια του test πεδίου ήταν ακριβείς.

## 2. Έλεγχος του stress σε ανοικτό πεδίο.

Τα στοιχεία που συλλέχθηκαν κατά την διάρκεια προγράμματος ελέγχου με δειγματοληψία πεδίου, στους πληθυσμούς σολωμού του Ατλαντικού και πέστροφας με φορητές μεθόδους σε εγκαταστάσεις ιχθυοεκτροφής, παρουσίασαν φυσιολογικά εύρη τιμών για όλες τις καταμετρούμενες μεταβλητές και ήταν όμοιες με αυτές που αναφέρονται στην βιβλιογραφία για τα σολωμοειδή ( Hille 1982 : Miller , Hendricks & Cairns 1983 : Barton & Iwana 1991 : Culloty , Cross & O'Halloran 1991 ). Στα ιχθύδια σολωμού του Ατλαντικού στο Rosewall και IBEC που μεγάλωσαν με γρήγορους ρυθμούς από 1 - 20 g κατά την διάρκεια του καλοκαιριού, τα επίπεδα της γλυκόζης στο αίμα μειώθηκαν από 12 στα 5 nmol / lit και μετά ισοσταθμίστηκαν στα 5 - 6 nmol / lit κατά την διάρκεια του φθινοπώρου. Τα επίπεδα της αιμοσφαιρίνης και των ερυθροκυττάρων αυξήθηκαν σημαντικά κατά την διάρκεια του Οκτωμβρίου και σταθεροποιήθηκαν κατά την διάρκεια της μελέτης παραμένοντας για το υπόλοιπο χρονικό διάστημα σταθερά .

Αυτή η παραλλακτικότητα στις καταμετρούμενες μεταβλητές της φυσιολογίας πιθανά συνδύαζεται με τις μεταβολές κατά την ανάπτυξη που λαμβάνουν χώρα στα πρώιμα στάδια της ζωής των ανάδρομων σολωμοειδών ( McCormick & Saunders 1987 ).

Σε αντίθεση η ενήλικη πέστροφα που μελετήθηκε στο WVL, εμφάνισε μικρή παραλλακτικότητα στις τιμές της γλυκόζης, αιμοσφαιρίνης και στον αριθμό των ερυθροκυττάρων. Κατά την διάρκεια των επισκέψεων σε 8 περιοχές με δειγματοληψία που εφαρμόστηκε σε 10 - 12 ψάρια που πιθανώς είχαν καταπονηθεί κατά την διαδικασία διαλογής τα επίπεδα γλυκόζης στο αίμα και κορτιζόλης

μεταβλήθηκαν όπως ο μέσος όρος των δεικτών φυσιολογικής κατάπονησης ( Wedemayer et al. 1990 ).

Τα επίπεδα γλυκόζης στο αίμα αυξήθηκαν σημαντικά (  $P < 0,05$  ) σε διάστημα 4 h μετά την καταπόνηση ( Pickering , Pottinger & Christie 1982 ). Το δείγμα του τετραώρου μετά τη διαλογή επαναλήφθηκε 4 φορές για να υπολογιστεί η σταθερότητα της αντίδρασης της γλυκόζης στο stress, και σε όλες τις περιπτώσεις τα επίπεδα της γλυκόζης στο αίμα παρουσίασαν σημαντικές αυξήσεις μετά τη διαλογή.

Σε αντίθεση, τα επίπεδα κορτιζόλης στο πλάσμα παρουσίασαν σημαντικές αυξήσεις στην 1<sup>η</sup> και στην 3<sup>η</sup> ώρα μετά τη διαδικασία. Όμως δεν διέφεραν σημαντικά (  $P > 0,05$  ) από τις τιμές της καταπόνησης που υπολογίστηκαν 4 h μετά τη διαλογή.

Χρήση της ίδιας τεχνικής για αυτές τις μεταβλητές έγινε από τους Pickering, Pettinger and Christie ( 1982 ), κατά την διάρκεια ανάρρωσης της πέστροφας Salmo trutta L... από έντονη καταπόνηση λόγω διαλογής. Τα παραπάνω στοιχεία καταδεικνύουν ότι τα επίπεδα γλυκόζης στο αίμα που μετρήθηκαν από φορητά όργανα, όπως το Minilab και το Exac Tech Glucose Meter, μπορούν να χρησιμοποιηθούν στις εγκαταστάσεις υδατοεκτροφών για τον εντοπισμό συμβάντων καταπόνησης. Ο χρόνος των 4 h μετά την καταπόνηση είναι το κατάλληλο διάστημα για να εντοπιστεί η αντίδραση των δεικτών του αίματος σε χειρισμούς που προκαλούν stress. Η αναγνώριση μιας διαδικασίας που συνεχώς καταπονεί μια ομάδα ψαριών και αποτελεί μέρος του κύκλου παραγωγής, πρέπει να ακολουθείται από σειρά ενεργειών για την εξομάλυνση της κατάστασης, η οποία θα ενισχύσει τη διαδικασία της ανάπτυξης, της αύξησης και της επιβίωσης.

Μερικές των αιματολογικών μεταβλητών βρέθηκαν να είναι χρήσιμοι δείκτες της καταπόνησης σε συνδυασμό με την διαδικασία διαλογής. Οι τιμές του αιματοκρίτη σε ψάρια ύστερα από διαλογή ήταν πάντα σημαντικά (  $P < 0,05$  ) υψηλότερες από τις τιμές ελέγχου των μαρτύρων. Η αναλογία των λεμφοκυττάρων



μειώθηκε ύστερα από διαλογή, όμως οι διαφορές δεν ήταν στατιστικά σημαντικές ( $P > 0.05$ ) λόγω της υψηλής διακύμανσης του πλήθους των λεμφοκυττάρων ανάμεσα στα ψάρια. Λευκοπενία (μείωση λεμφοκυττάρων) είναι μια συνηθισμένη αντίδραση σε έντονη καταπόνηση και πιθανώς, οδηγεί σε μείωση της ανοσολογικής ικανότητας και σε αυξημένη ευπάθεια σε λοιμώδη νοσήματα (Barton & Iwama 1991).

### 3. Παθογένεια.

Κατά την διάρκεια επιτόπου επισκέψεως στο εκτροφεία IBEC τον Νοέμβριο, (ομάδα Β) διαπιστώθηκε ότι τα ψάρια είχαν μολυνθεί από το Aeromonas salmonicida, αιτιολογικός παράγοντας της δοθιήνωσης. Ενώ ο πληθυσμός σε αυτή τη δεξαμενή εμφάνιζε κανονική, φυσιολογική καλύμβιση διατηρώντας τις διατροφικές του συνήθειες, είχαμε πάνω από 20 θανάτους την ημέρα σε δεξαμενή περίπου 1000 ψαριών. Δεν είχαμε σημαντικές διαφορές ( $P > 0.05$ ) μεταξύ αυτών των ψαριών και των υγείων ψαριών σε οποιεσδήποτε μεταβλητές αίματος που υπολογίσθηκαν, υποδεικνύοντας ότι οι συγκεκριμένες μέθοδοι πιθανώς να μη είναι ικανές και κατάλληλες για τον εντοπισμό παθογενειών κατά τα πρώιμα στάδια της μόλυνσης.

Η συνολική εικόνα υγείας των ψαριών υπολογίσθηκε ύστερα από επιτόπιες μακροσκοπικές και νεκροτομικές εξετάσεις. Σύμφωνα με τις εξετάσεις αυτές διαπιστώθηκε υψηλό ποσοστό μολυσμένων ψαριών με μη φυσιολογικά βράγχια, νεφρά και ήπαρ καθώς και βλάβες στα πτερύγια. Συνεπώς αυτή η διαδικασία μπορεί να αποτελέσει μία τεχνική για διαφορετικό ποσοτικό υπολογισμό υποκειμενικών παρατηρήσεων αναφορικά με τη συμπεροφορά των ψαριών και έτσι μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως σύστημα “πρώιμης προειδοποίησης” για εντοπισμό εκτροπής από μια εικόνα φυσιολογικής κατάστασης υγείας, προτού χρησιμοποιηθούν περισσότερο εξεζητημένες τεχνικές διάγνωσης.

## Αποθήκευση δειγμάτων

Είναι σημαντικό να γνωρίζουμε τις τεχνικές εκείνες που απαιτούνται για επιτυχή αιμοληψία, καθώς και τους παράγοντες εκείνους που επηρεάζουν την εγκυρότητα των μετρήσεων που λαμβάνουν χώρα σε αυτές.

Δύο βασικοί παράμετροι είναι ο χρόνος αποθήκευσης και η θερμοκρασία του περιβάλλοντος χώρου στον οποίο τοποθετούνται τα δείγματα.

## Χρόνος αποθήκευσης και θερμοκρασία.

Μερικά εργαστήρια με στερεότυπη διαδικασία, αποθεματοποιούν δείγματα πριν τα αναλύσουν ή τα προετοιμάζουν για αποθήκευση. Υπάρχουν ωστόσο κάποιες ενδείξεις του χρόνου αποθήκευσης, ο οποίος αποτελεί σημαντική μεταβλητή. Π.χ. Οι Lowe - Jinde & Niimi ( 1983 ) αναφέρουν ότι οι τιμές του αιματοκρίτη στην πέστροφα που αναισθητοποιήθηκε με MS - 222, αυξήθηκαν σημαντικά εντός λίγων λεπτών από τη λήψη του δείγματος.

Οι Korcock και άλλοι ( 1988 ) μελέτησαν τις επιδράσεις της μεθόδου ακινητοποίησης ( με δυνατό κτύπημα αντί αναισθησίας με MS 222 ), του τύπου του αντιπηκτικού ( ηπαρίνη ή EDTA ), του χρόνου ( 0, 1, 3, 24 h ) και της θερμοκρασίας αποθήκευσης ( 0 - 2 C<sup>0</sup> έως 22 - 25 C<sup>0</sup> ), στον αιματοκρίτη, στην αιμοσφαιρίνη, στις συγκεντρώσεις του Na, K, Cl<sub>2</sub> στο πλάσμα, καθώς και στις συγκεντρώσεις του ATP στο υπόλοιπο ίζημα. Η μελέτη οδήγησε στο συμπέρασμα ότι τα δείγματα πρέπει να προετοιμάζονται για ανάλυση και αποθήκευση χωρίς καθυστέρηση.

Τα υπό - δείγματα που απαιτούν όλικό όγκο αίματος, πρέπει να συλλέγονται γρήγορα, ενώ τα υπόλοιπα δείγματα πρέπει να φυγοκεντρίζονται σε χαμηλή θερμοκρασία. Το διαχωριζόμενο πλάσμα πρέπει να απομακρύνεται με μια πιπέτα Pasteur και να μεταφέρεται μέσα σε καλυμένο

πλαστικό σωλήνα / δοχείο. Το πλάσμα που παραμένει στην κορυφή της στήλης του ιζήματος, πρέπει να απορροφάται μέσα από τους πόρους φίλτρου. Εάν τα δείγματα των ερυθροκυττάρων είναι επαρκή, το στρώμα των λευκοκυττάρων που επιπλέει μετά την φυγοκέντριση, πρέπει να αφαιρείται.

Εάν χρειάζονται δείγματα λευκοκυττάρων, απαιτείται πιο λεπτομερής επεξεργασία διαχωρισμού και διαδικασία συγκέντρωσης. Από την στιγμή που τα κυτταρικά συστατικά διαχωρίζονται από το πλάσμα, αυτά μπορούν να αποθηκευτούν τουλάχιστον 6 μήνες χωρίς σημαντικές αλλαγές στην σύνθεσή τους.

Για παράδειγμα, μετά από κατάψυξη των συστατικών σε υγρό άζωτο και αποθήκευση σε  $-75\text{ C}^0$ , υπάρχουν μικρές μεταβολές στους παράγοντες της όσμωσης στο πλάσμα ή στο υδατικό περιεχόμενο και στην ιοντική σύνθεση του ιζήματος. Στο κυτταρικό περιεχόμενο της αιμοσφαιρίνης, οι συγκεντρώσεις των πρωτεϊνών του πλάσματος, η κινητικότητα κατά την ηλεκτροφόρηση και το σχετικό αριθμό των ισομορφών της αιμοσφαιρίνης και της συγκέντρωσης πρωτεϊνών στο πλάσμα, μεταβάλλονται λίγο (Houston & Smeda 1979; Houston, Keen & Gray υπό έκδοση).

Από την άλλη μεριά τα ένζυμα μειώνουν την δράση τους κατά την αποθήκευση. Σαν γενική προφύλαξη, δείγματα πλάσματος και ερυθροκυττάρων δεν πρέπει να επαναψύχονται. Εξαιτίας αυτού, αποφάσεις για δημιουργία υποδειγμάτων, πρέπει να παίρνονται πριν την αποθήκευση. Όταν δεν μπορούν να αποφευχθούν καθυστερήσεις κατά την εξέλιξη, η κατάψυξη είναι απαραίτητη.

Παρ' όλα αυτά τα χαρακτηριστικά του αίματος μεταβάλλονται ακόμα και υπό συνθήκες κατάψυξης. Ο όγκος των ερυθροκυττάρων και το υδατικό περιεχόμενο αυξάνεται, ενώ εμφανίζεται ένα δίκτυο μεταφοράς του Na και  $\text{Cl}_2$  από το πλάσμα προς τα κύτταρα, ενώ σε αντίθετη κατεύθυνση έχουμε μεταφορά K. Συγκεντρώσεις ATP μειώνονται κατακόρυφα, ενώ εκείνες του ADP παρουσιάζουν προσωρινή αύξηση. Κάτω από όλες τις συνθήκες, σημαντικές αλλαγές είναι ήδη εμφανείς εντός 3h στα κατεψυγμένα δείγματα και εντός 1h ή λιγότερο σε θερμοκρασία δωματίου.

Συνδυασμοί αναισθητικών και αντιπηκτικών πρέπει να αποφεύγονται. Το

EDTA σε συνδυασμό με το MS - 222 συνήθως οδηγεί σε αιμόλυση, η οποία αυξάνεται με την αποθήκευση και είναι εντονότερη σε θερμοκρασία δωματίου. Δείγματα που συλλέγονται από μηχανικά κτυπημένα ψάρια με ηπαρίνη, σπάνια παρουσιάζουν αιμόλυση ή αξιόλογες αλλαγές όγκου και σύνθεσης. Ο συνδυασμός κτυπήματος κι ηπαρίνης, αντιπηκτικού και ψυχρής αποθήκευσης με ταχεία διεξαγωγή δειγματοληψίας, εμφανίζουν τα καλύτερα αποτελέσματα.

Η θερμοκρασία του περιβάλλοντος χώρου παίζει σημαντικό ρόλο στην ακεραιότητα των δειγμάτων. Πείραμα για αυτό το σκοπό πραγματοποιήθηκε στο Ινστιτούτο Θαλασσιών Ερευνών στο Ηράκλειο της Κρήτης τον Ιούλιο του 1994, είχε διάρκεια μία εβδομάδα και χρησιμοποιήθηκε λαβράκι ηλικίας 1 συν, απόγονοι γεννητόρων που διατηρούσε το Ινστιτούτο. Το μέγεθος του δείγματος ήταν 44 άτομα από τα οποία έγινε μία φορά αιμοληψία από την ουραία φλέβα χωρίς την θανάτωση των ψαριών. Στην συνέχεια ομογενοποιήθηκε το μίγμα συνεχίζοντας τις επιμέρους εξετάσεις βάση αυτού. Από αυτή την ενέργεια δεν προκύπτει σημαντική τυπική απόκλιση στα αποτελέσματα γιατί :

Είναι λίγα τα δεδομένα στο αντικείμενο αυτό για το είδος του λαβρακιού.

Δεν αναφερόμαστε σε μεμονωμένο ψάρι, αλλά συγκεντρωτικά για τις βιοχημικές παραμέτρους, δεχόμενοι τις τιμές αυτές ως τον μέσο όρο που θα προέκυπτε από την ανάλυση των 44 ψαριών ατομικά.

Το δείγμα χωρίστηκε σε τρία ίσα μέρη τα οποία τοποθετήθηκαν σε τρεις διαφορετικές θερμοκρασίες.

- α. Δωματίου 20 - 23 C<sup>0</sup> ( θερμοκρασία D ).
- β. Ψυγείου ( θερμοκρασία f ).
- γ. Κατάψυξης ( θερμοκρασία F ).

Από κάθε μέρος πήραμε 3 μετρήσεις ανά εκθετική αύξηση της ώρας ( 0, 1, 2, 4, 8,...κ.τ.λ. ) για τον υπολογισμό των βιοχημικών παραμέτρων του αίματος:

Χλώριο.

Χοληστερόλη.

Ολικές πρωτεΐνες.

Ολικά λιπίδια.

Γλυκόζη

Οι μετρήσεις έγιναν με την βοήθεια των kits που αναγράφονται στο τέλος της εργασίας στα παραρτήματα. Οι τιμές που προέκυψαν με την βοήθεια των πινάκων ( Βλέπε παραρτήματα ), όπου αναγράφονται οι φυσιολογικές τιμές των βιοχημικών παραμέτρων για τον άνθρωπο ( δεν υπάρχουν για τα ψάρια ) χρησιμοποιώντας τον μαθηματικό τύπο που βρίσκεται στο αντίστοιχο kit παρουσιάζονται στους πίνακες 1 έως 15. Οι μετρήσεις αναφέρονται σε συγκεντρώσεις mmol / l και σε καθαρές τιμές όπου αντιστοιχούν στις ενδείξεις του σπεκτοφωτόμετρου, ενώ για τα ολικά λιπίδια και πρωτεΐνες, οι συγκεντρώσεις αναφέρονται σε μικτό βάρος ανά όγκο ( g / l ).

**ΠΙΝΑΚΑΣ 1.** Τιμές χλωρίου σε θερμοκρασία δωματίου ( D C<sup>0</sup> ).

	Δείγμα 1	mmol / l	Δείγμα 2	mmol / l	Δείγμα 3	mmol / l
1 h	0,634	143	0,651	147	0,573	130
2 h	0,614	155	0,611	155	0,644	163
4 h	0,539	154	0,513	147	0,528	151
8 h	0,525	143	0,544	145	0,535	143
16 h	0,507	157	0,497	154	-	-
32 h	-	-	0,514	131	0,548	140
64 h	0,518	153	0,549	162	-	-
128 h	0,669	173	0,706	183	0,733	190

ΠΙΝΑΚΑΣ 2. Τιμές χλωρίου σε θερμοκρασία ψυγείου ( f C<sup>0</sup>).

	Δείγμα 1	mmol / l	Δείγμα 2	mmol / l	Δείγμα 3	mmol / l
1 h	0,610	138	0,631	143	0,615	139
2 h	0,559	142	0,579	147	0,569	144
4 h	0,530	151	0,515	147	0,546	156
8 h	0,518	138	0,547	146	0,554	148
16 h	-	-	0,413	128	0,448	139
32 h	0,563	144	0,609	155	0,608	155
64 h	0,531	157	0,503	149	0,545	161
128 h	-	-	0,539	140	0,530	137

ΠΙΝΑΚΑΣ 3. Τιμές χλωρίου σε θερμοκρασία κατάψυξης ( F C<sup>0</sup>).

	Δείγμα 1	mmol / l	Δείγμα 2	mmol / l	Δείγμα 3	mmol / l
1 h	0,626	142	0,583	132	0,616	139
2 h	0,602	152	0,609	154	0,590	149
4 h	0,548	157	0,517	148	0,544	155
8 h	0,536	143	0,533	142	0,551	147
16 h	0,433	134	0,456	141	0,420	130
32 h	0,557	142	0,599	153	0,561	143
64 h	0,506	150	0,512	151	0,519	154
128 h	0,506	131	0,545	141	0,566	147

ΠΙΝΑΚΑΣ 4. Τιμές χοληστερόλης σε θερμοκρασία δωματίου ( D C<sup>0</sup> ).

	Δείγμα 1	mmol / l	Δείγμα 2	mmol / l	Δείγμα 3	mmol / l
1 h	0,603	8,45	0,596	8,35	0,595	8,34
2 h	0,556	9,13	0,578	9,49	0,566	9,29
4 h	0,528	8,37	0,563	8,93	-	-
8 h	0,515	9,44	0,501	9,19	0,541	9,92
16 h	0,520	7,98	0,456	7,00	0,492	7,55
32 h	-	-	0,558	8,04	0,599	8,63
64 h	0,583	9,39	0,596	9,60	0,618	9,95
128 h	-	-	0,597	8,67	0,597	8,67

ΠΙΝΑΚΑΣ 5. Τιμές χοληστερόλης σε θερμοκρασία ψυγείου ( f C<sup>0</sup> ).

	Δείγμα 1	mmol / l	Δείγμα 2	mmol / l	Δείγμα 3	mmol / l
1 h	0,531	7,44	0,512	7,17	0,507	7,10
2 h	0,468	7,68	0,495	8,12	0,494	8,11
4 h	0,472	7,49	0,480	7,61	0,476	7,55
8 h	0,456	8,36	0,452	8,29	0,473	8,67
16 h	0,445	6,83	0,439	6,73	0,440	6,75
32 h	0,521	7,50	0,512	7,37	0,510	7,34
64 h	0,511	8,23	0,515	8,29	0,507	8,17
128 h	0,468	6,80	0,480	6,97	0,502	7,29

ΠΙΝΑΚΑΣ 6. Τιμές χοληστερόλης σε θερμοκρασία κατάψυξης ( F C<sup>0</sup>).

	Δείγμα 1	mmol / l	Δείγμα 2	mmol / l	Δείγμα 3	mmol / l
1 h	-	-	0,538	7,54	0,520	7,29
2 h	0,496	7,70	0,479	7,86	0,473	7,76
4 h	0,451	7,15	0,481	7,63	0,478	7,58
8 h	0,448	8,21	0,471	8,64	0,459	8,42
16 h	0,463	7,10	-	-	0,448	6,87
32 h	0,521	7,50	0,534	7,69	0,525	7,56
64 h	0,482	7,76	0,440	7,09	-	-
128 h	0,514	7,46	0,535	7,77	0,523	7,60

ΠΙΝΑΚΑΣ 7. Τιμές ολικών πρωτεϊνών σε θερμοκρασία δωματίου ( D C<sup>0</sup>).

	Δείγμα 1	g / l	Δείγμα 2	g / l	Δείγμα 3	g / l
1 h	0,257	8,2	0,272	8,7	0,276	8,8
2 h	0,261	8,5	0,278	9,1	0,284	9,3
4 h	0,260	8,5	0,278	9,1	-	-
8 h	0,277	9,3	0,289	9,7	0,280	9,4
16 h	0,262	8,3	0,283	8,9	0,280	8,8
32 h	0,268	8,9	0,255	8,5	0,270	9,0
64 h	0,274	8,4	0,301	9,3	0,272	8,4
128 h	0,280	12,1	0,283	12,2	0,281	12,1



ΠΙΝΑΚΑΣ 8. Τιμές ολικών πρωτεϊνών σε θερμοκρασία ψυγείου ( f C<sup>0</sup> ).

	Δείγμα 1	g / l	Δείγμα 2	g / l	Δείγμα 3	g / l
1 h	0,248	7,9	0,262	8,3	0,265	8,4
2 h	0,239	7,8	0,244	8,0	0,245	8,0
4 h	0,263	8,6	0,268	8,8	0,247	8,1
8 h	0,247	8,3	0,237	7,9	0,244	8,2
16 h	0,243	7,7	0,268	8,5	0,265	8,4
32 h	0,251	8,3	0,262	8,7	0,263	8,7
64 h	0,248	7,6	0,263	8,1	0,268	8,2
128 h	0,275	11,9	0,253	10,9	0,268	11,6

ΠΙΝΑΚΑΣ 9. Τιμές ολικών πρωτεϊνών σε θερμοκρασία κατάψυξης ( F C<sup>0</sup> ).

	Δείγμα 1	g / l	Δείγμα 2	g / l	Δείγμα 3	g / l
1 h	0,250	8,0	0,262	8,3	0,265	8,4
2 h	0,248	8,1	0,267	8,7	0,253	8,3
4 h	0,276	9,0	0,255	8,3	0,251	8,2
8 h	0,243	8,1	0,258	8,6	0,266	8,9
16 h	0,269	8,5	0,274	8,6	0,274	8,6
32 h	0,260	8,6	0,280	9,3	0,260	8,6
64 h	0,266	8,2	0,271	8,3	0,274	8,4
128 h	0,268	11,6	0,276	11,9	0,272	11,7

ΠΙΝΑΚΑΣ 10. Τιμές ολικών λιπιδίων σε θερμοκρασία δωματίου ( D C<sup>0</sup> ).

	Δείγμα 1	g / l	Δείγμα 2	g / l	Δείγμα 3	g / l
1 h	0,883	49,0	0,908	51,0	0,936	52,0
2 h	0,803	32,4	0,791	31,9	0,794	32,0
4 h	1,095	37,8	1,043	36,0	1,037	35,8
8 h	0,776	26,6	0,813	27,8	0,746	25,5
16 h	0,802	27,8	0,876	30,3	0,846	29,3
32 h	0,809	38,2	0,835	39,4	0,825	38,9
64 h	0,981	30,4	0,956	29,6	0,935	28,9
128 h	0,830	52,2	0,832	52,3	0,847	53,3

ΠΙΝΑΚΑΣ 11. Τιμές ολικών λιπιδίων σε θερμοκρασία ψυγείου ( f C<sup>0</sup> ).

	Δείγμα 1	g / l	Δείγμα 2	g / l	Δείγμα 3	g / l
1 h	0,748	42,0	0,759	42,0	0,748	42,0
2 h	0,635	25,6	0,643	25,9	0,586	23,6
4 h	0,845	29,1	0,855	29,5	0,860	29,7
8 h	0,721	24,7	0,735	25,2	0,699	23,9
16 h	-	-	0,686	23,7	0,696	24,1
32 h	0,670	31,6	0,709	33,4	0,723	34,1
64 h	0,887	27,5	0,894	27,7	0,877	27,2
128 h	0,779	49,0	0,785	49,4	0,819	51,5

ΠΙΝΑΚΑΣ 12. Τιμές ολικών λιπιδίων σε θερμοκρασία κατάψυξης ( F C<sup>0</sup> ).

	Δείγμα 1	g / l	Δείγμα 2	g / l	Δείγμα 3	g / l
1 h	0,868	48,0	0,887	50,0	0,888	50,0
2 h	0,709	28,6	-	-	0,708	28,5
4 h	0,892	30,8	-	-	0,870	30,0
8 h	0,683	23,4	0,719	24,6	0,720	24,7
16 h	-	-	0,655	22,7	0,676	23,4
32 h	0,722	34,1	0,685	32,3	0,712	33,6
64 h	0,852	26,4	0,819	25,4	0,822	25,4
128 h	0,908	57,1	0,891	56,0	0,906	57,0

ΠΙΝΑΚΑΣ 13. Τιμές γλυκόζης σε θερμοκρασία δωματίου ( D C<sup>0</sup> ).

	Δείγμα 1	mmol / l	Δείγμα 2	mmol / l	Δείγμα 3	mmol / l
1 h	0,722	13,7	-	-	0,670	12,7
2 h	0,704	11,3	0,765	12,3	0,806	12,9
4 h	0,664	11,1	0,702	11,7	0,724	12,1
8 h	0,671	16,1	0,748	18,0	0,750	18,0
16 h	0,749	12,1	0,786	12,7	0,698	11,3
32 h	0,731	11,2	0,683	10,4	0,758	11,6
64 h	0,213	3,6	0,239	4,0	0,237	4,0
128 h	0,155	2,6	0,162	2,7	0,165	2,8

ΠΙΝΑΚΑΣ 14. Τιμές γλυκόζης σε θερμοκρασία ψυγείου ( f C<sup>0</sup> ).

	Δείγμα 1	mmol / l	Δείγμα 2	mmol / l	Δείγμα 3	mmol / l
1 h	0,810	15,3	0,740	14,0	0,726	13,8
2 h	0,764	12,3	0,793	12,7	0,792	12,7
4 h	0,730	12,2	0,756	12,6	0,763	12,7
8 h	0,741	17,8	0,753	18,1	0,743	17,9
16 h	-	-	0,752	12,1	0,800	12,9
32 h	0,780	11,9	0,712	10,9	0,804	12,3
64 h	0,762	12,7	0,789	13,2	0,798	13,3
128 h	0,761	12,8	0,789	13,2	0,826	13,5

ΠΙΝΑΚΑΣ 15. Τιμές γλυκόζης σε θερμοκρασία κατάψυξης ( F C<sup>0</sup> ).

	Δείγμα 1	mmol / l	Δείγμα 2	mmol / l	Δείγμα 3	mmol / l
1 h	0,712	13,5	0,709	13,4	0,733	13,9
2 h	0,760	12,2	0,770	12,4	0,742	11,9
4 h	0,680	11,3	0,719	12,0	0,714	11,9
8 h	0,670	16,1	0,673	16,2	0,699	16,8
16 h	0,817	13,2	0,790	12,7	-	-
32 h	0,717	11,0	0,671	10,3	-	-
64 h	0,712	11,9	0,747	12,5	0,747	12,5
128 h	0,720	12,1	0,687	11,5	0,701	11,8

Η στατιστική ανάλυση των στοιχείων έγινε με  $\chi^2$  -test , ANOVA ( Βλέπε παραρτήματα , πίνακες 16 έως 25 ).

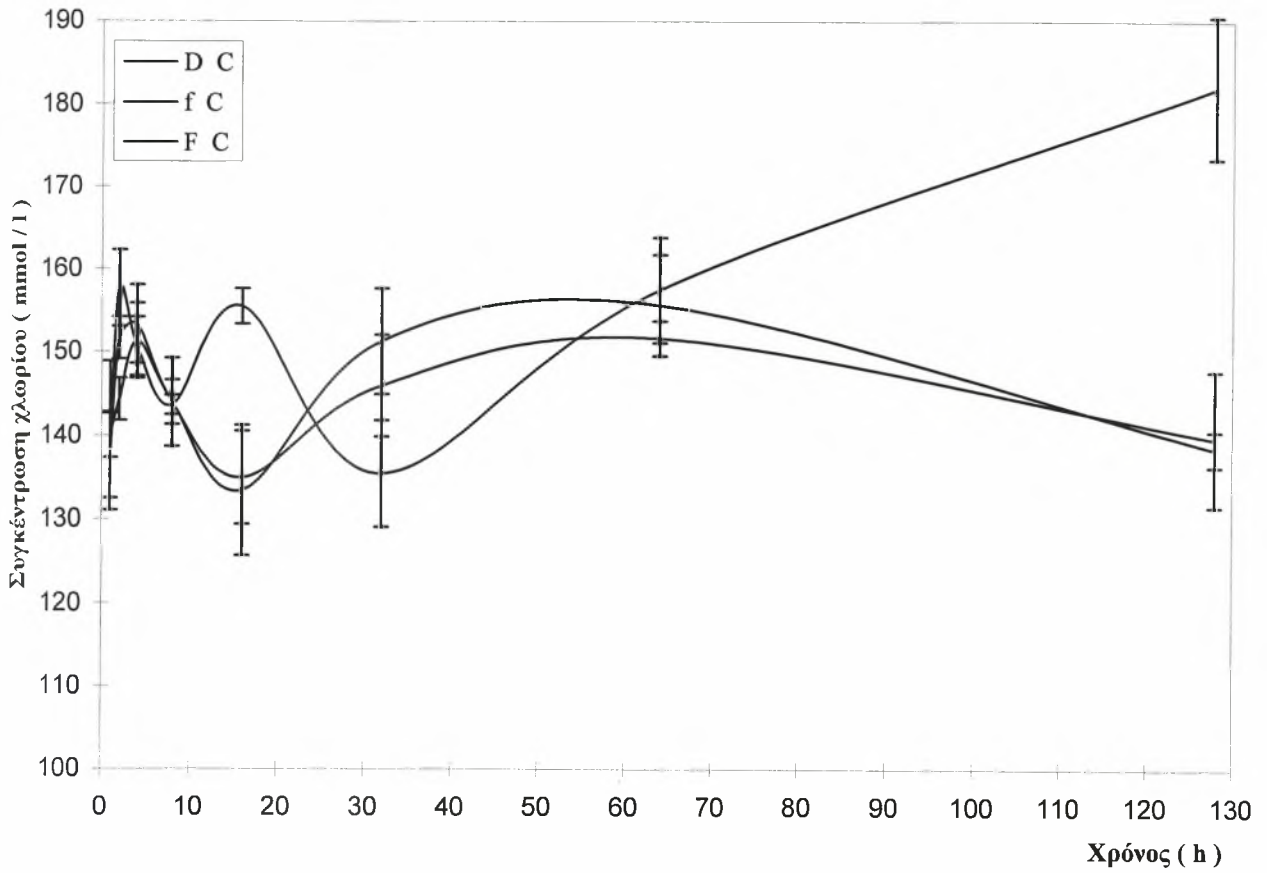
Από τις στατιστικές αναλύσεις ( ANOVA κατά ένα παράγοντα ) εξάγεται το συμπέρασμα , ότι όλοι οι βιοχημικοί παράμετροι του αίματος επηρεάζονται από το χρόνο, εκδηλώνοντας αυξομειώσεις στις τιμές τους ( Βλέπε Παραρτήματα ). Ωστόσο αυτό που είναι σημαντικό είναι ότι μερικοί δείκτες σε συγκεκριμένες θερμοκρασίες αποθήκευσης εμφάνιζαν μικρή μεταβλητότητα, γεγονός που περιγράφεται και από τις εξισώσεις που προκύπτουν ( Βλέπε Παραρτήματα, Παλινδρόμηση ). Η επίδραση του χρόνου στα επίπεδα των ολικών πρωτεϊνών ( μετρούμενα και στις τρεις θερμοκρασιακές καταστάσεις ), του χλωρίου και κυρίως της γλυκόζης που υπολογίστηκαν σε θερμοκρασία δωματίου, εμφανίζεται έντονα και εκφράζεται με γραμμική μορφή. Στους υπόλοιπους δείκτες του αίματος ο παράγοντας χρόνος δεν εκφράζεται γραμμικά.

Η μεταβολή των τιμών των αιματολογικών παραμέτρων ποικίλει και εξαρτάται από τη μορφή της εξίσωσης που αντιστοιχεί σε κάθε περίπτωση.

Οι ταλαντώσεις που εμφανίζονται στις γραφικές παραστάσεις είναι φυσιολογικές, ενώ ενδιαφέρον παρουσιάζει η εξέλιξη των τιμών των αιματολογικών δεικτών στην πορεία του χρόνου ( Σχήμα 24 - 28 ).

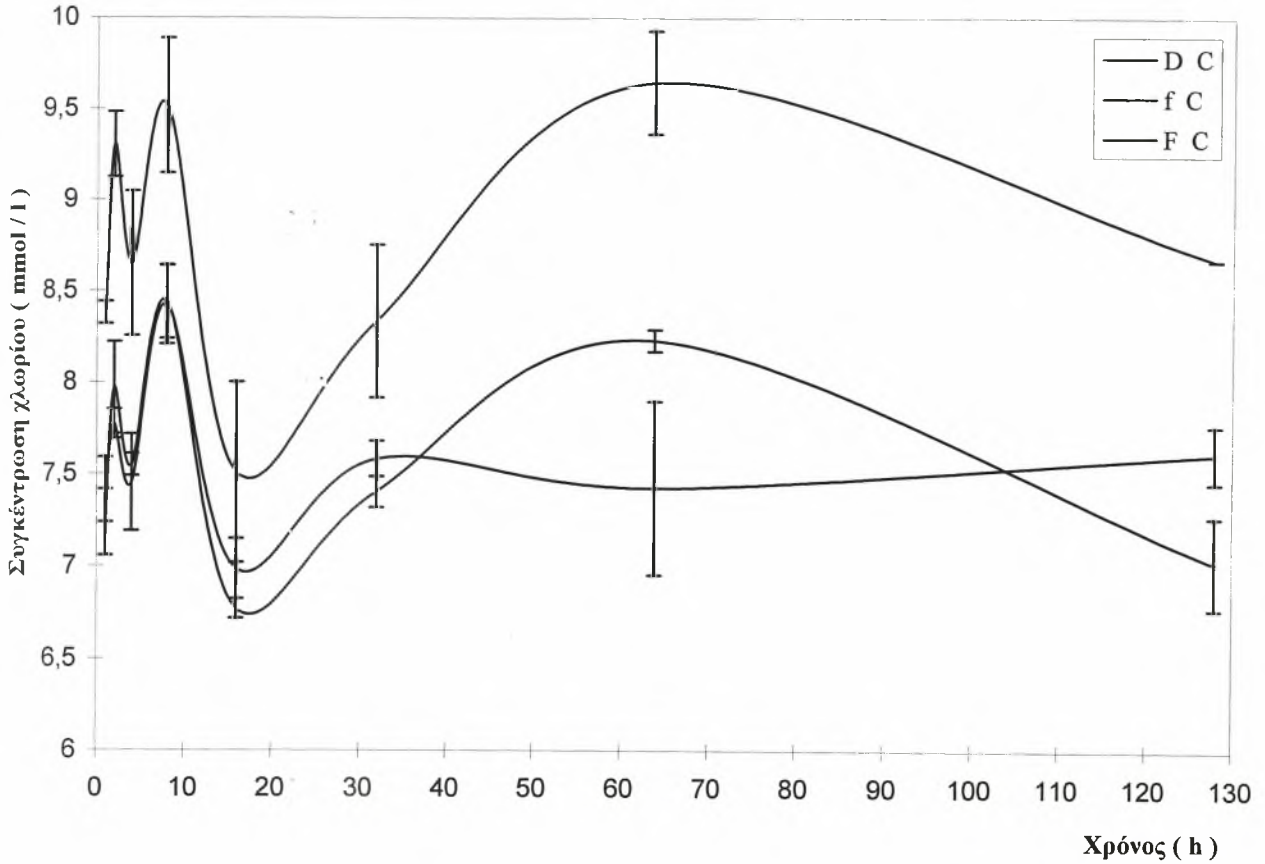
Λάθη επηρεάζονται από τα kits που δίδονται από τις κατασκευαστικές εταιρίες τα οποία συνεχώς μεταβάλλονται και από το γεγονός ότι αυτά έχουν κατασκευασθεί με σκοπό την μέτρηση των βιοχημικών παραμέτρων του αίματος σε ανθρώπους και όχι σε ψάρια.

Η παρατηρούμενη σταθερότητα των τιμών των αιματολογικών παραμέτρων που υπολογίστηκαν, μας οδηγεί στο συμπέρασμα ότι παρέχεται χρονική άνεση στη συλλογή δειγμάτων και στη συνέχεια στη μεταφορά τους στο εργαστήριο για αναλύσεις, όταν πρόκειται για δειγματοληψίες πεδίου, με μεγάλες αποστάσεις.



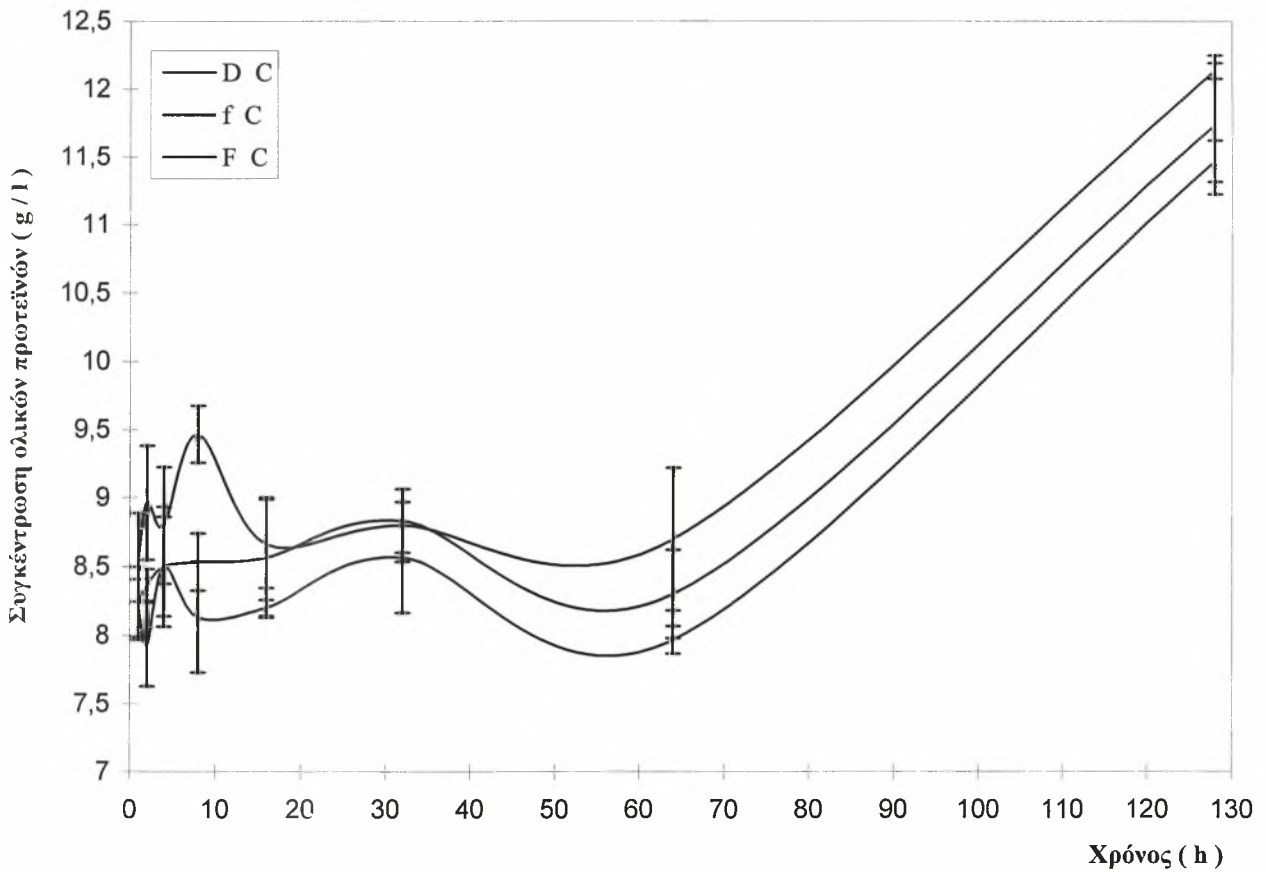
**Μεταβολή χλωρίου σε θερμοκρασίες  
D , f , F, °C , ως προς το χρόνο.**

Σχήμα 24. Διάγραμμα μεταβολής του χλωρίου.



**Μεταβολή χοληστερόλης σε θερμοκρασίες  
D , f , F, °C , ως προς το χρόνο.**

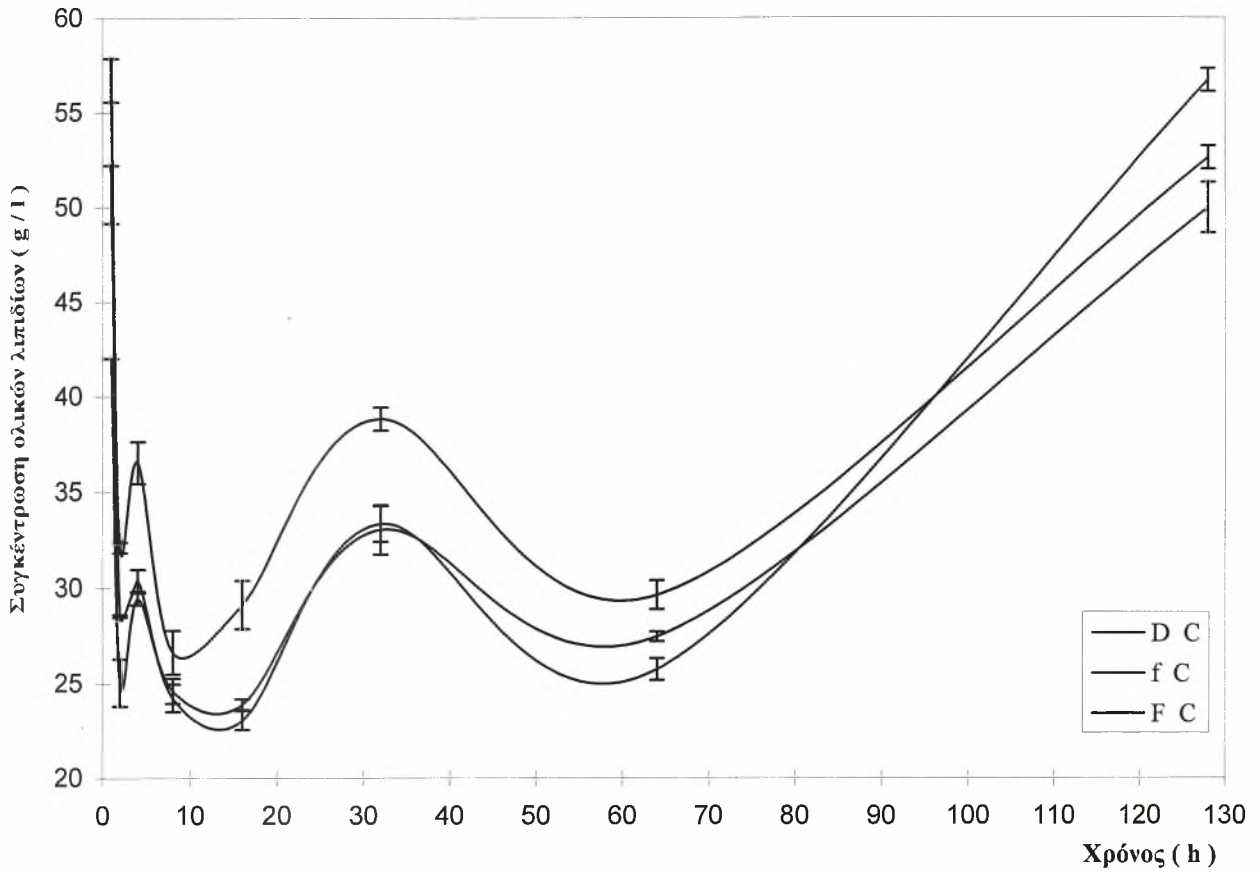
Σχήμα 25. Διάγραμμα μεταβολής της χοληστερόλης.



**Μεταβολή ολικών πρωτεϊνών σε θερμοκρασίες  
D, f, F, °C, ως προς το χρόνο.**

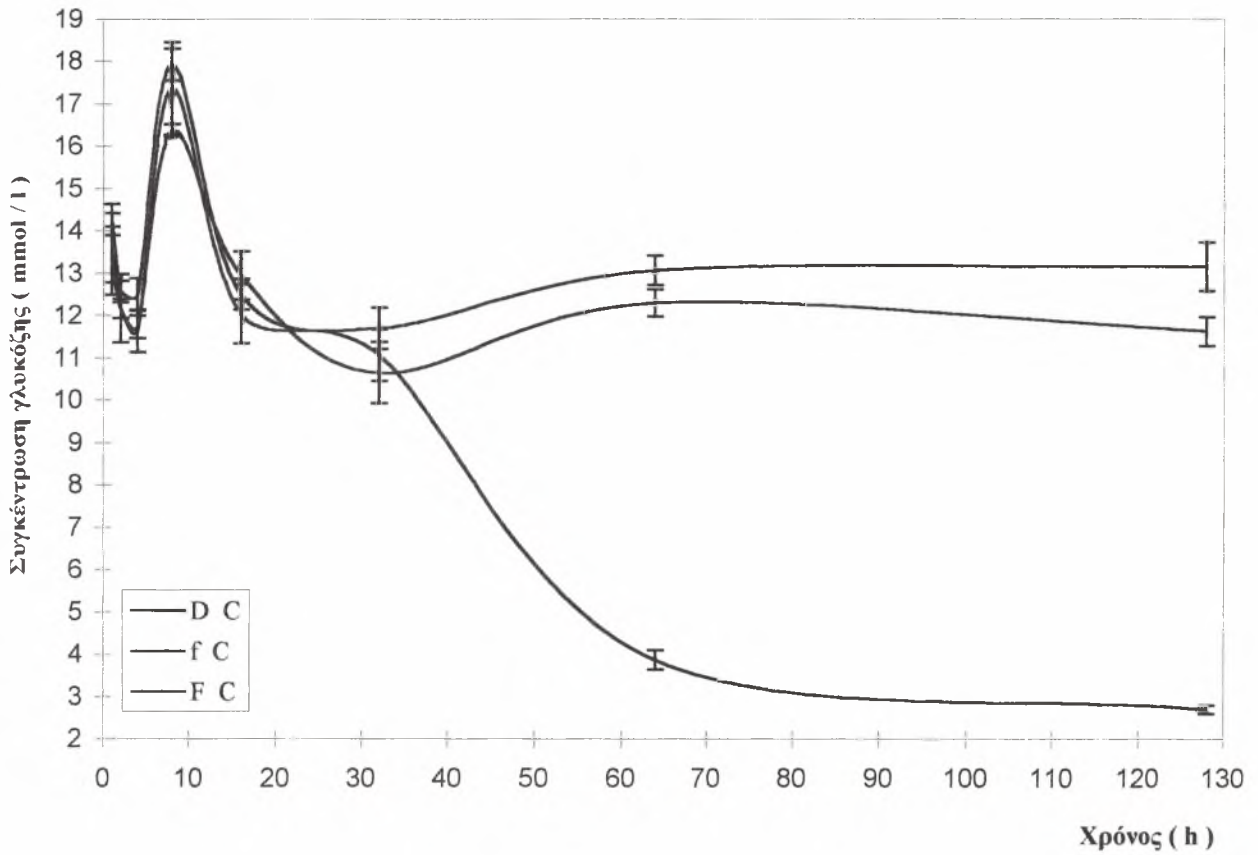
Σχήμα 26. Διάγραμμα μεταβολής ολικών πρωτεϊνών.





**Μεταβολή ολικών λιπιδίων σε θερμοκρασίες  
D, f, F, °C, ως προς το χρόνο.**

Σχήμα 27. Διάγραμμα μεταβολής ολικών λιπιδίων.



Μεταβολή γλυκόζης σε θερμοκρασίες  
D , f , F, °C , ως προς το χρόνο.

Σχήμα 28. Διάγραμμα μεταβολής της γλυκόζης.

Ενώ τα δείγματα που είχαν τοποθετηθεί στο ψυγείο και στην κατάψυξη δεν παρουσίασαν σημαντικές μεταβολές στις τιμές τους, η γλυκόζη παρουσίασε μείωση στα δείγματα εκείνα που φυλάσσονταν σε θερμοκρασία δωματίου.

Συγκριτικά η συμπεριφορά της γλυκόζης στις τρεις συνθήκες θερμοκρασίας εμφανίζεται στο διάγραμμα 28, όπου παρουσιάζονται οι γραφικές παραστάσεις κάθε θερμοκρασιακής κατάστασης ( $P < 0,05$ ).

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΙΧ

### ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.

Σε αυτή την εργασία έγινε προσπάθεια να παρουσιαστεί μια σειρά από τεχνικές δειγματοληψίας αίματος που εφαρμόζονται στα ψάρια, οι δυσκολίες και τα προβλήματα που εμφανίζονται στις αιματολογικές εξετάσεις, οι παράγοντες που επηρεάζουν τους δείκτες του αίματος και ο τρόπος που χρησιμοποιούνται τα στοιχεία για εξαγωγή συμπερασμάτων που αφορούν την κατάσταση των εκτρεφόμενων ατόμων.

Οι πληροφορίες σχετίζονται με τον εντοπισμό αποκλίσεων των μετρούμενων τιμών από τις φυσιολογικές τιμές των « μαρτύρων ». Μεταβολές των δεικτών του αίματος και διάφορων στοιχείων μεταβολισμού, κυρίως της γλυκόζης, σχετίζονται με την κατάσταση της φυσιολογίας των ψαριών. Μελετώντας τις μεταβολές των δεικτών στο αίμα που παρατηρούνται κατά τη διάρκεια της παραγωγικής διαδικασίας, προκύπτουν χρήσιμα συμπεράσματα που σχετίζονται με την καταπόνηση των ψαριών. Σημαντική είναι η πορεία του γλυκογόνου στο ήπαρ και της γλυκόζης στο αίμα, σε σχέση με την χορηγούμενη τροφή και την πειραματική διαδικασία ( γλυκορυθμιστική λειτουργία του ήπατος ).

Οι παραγωγοί επιθυμούν τεχνικές εντοπισμού της καταπόνησης των ψαριών, εύχρηστες και χαμηλού κόστους, ικανές να δώσουν έγκυρα και ακριβή αποτελέσματα και μετρήσεις. Για αυτό το σκοπό αναπτύχθηκαν φορητές συσκευές αιματολογικών αναλύσεων. Οι μετρήσεις που πραγματοποιήθηκαν με το Minilab σε σχέση με αυτές που έγιναν στο εργαστήριο, έδωσαν παρόμοια αποτελέσματα. Όμως για την γλυκόζη το Minilab έδωσε διπλάσια τιμή από αυτή του εργαστηρίου ενώ για τα ερυθροκύτταρα τριπλάσια. Οι τιμές που προκύπτουν από τις δύο μεθόδους πέρα κάποιου σημείου εμφανίζουν μεταξύ τους γραμμική σχέση.

Η άντληση αίματος δεν πρέπει να γίνεται με συνδυασμό αναισθητικών και αντιπηκτικών. Σημαντικό ρόλο στην εγκυρότητα των αποτελεσμάτων των αιματολογικών αναλύσεων παίζει η σωστή προστασία των δειγμάτων αίματος με γρήγορη ψύξη. Οι δείκτες του αίματος μεταβάλλονται με την πάροδο του χρόνου κυρίως σε συνδυασμό με τη θερμοκρασία. Διατηρώντας τα δείγματα σε θερμοκρασία δωματίου παρουσιάζονται μεγάλες αλλοιώσεις στις τιμές, κυρίως στη γλυκόζη, λόγω της συνεχούς γλυκόλυσης από τα ερυθροκύτταρα. Για αυτόν τον λόγο, πρέπει να γίνεται φυγοκέντριση σε χαμηλή θερμοκρασία και διαχωρισμός του ορού.

Ο χρόνος των 4 ωρών μετά την καταπόνηση είναι το κατάλληλο χρονικό διάστημα για να εντοπιστεί η αντίδραση των δεικτών του αίματος σε χειρισμούς που προκαλούν stress. Σημαντικό ρόλο παίζει και η χρονική διαδοχή των εξεταζόμενων ατόμων, αφού τα τελευταία ψάρια στις μετρήσεις σωματομετρικών χαρακτηριστικών παραμένουν 10 - 15 λεπτά σε αναισθησία, μειώνοντας στο ελάχιστο τον ρυθμό της αναπνοής τους με επακόλουθη ελάττωση της συγκέντρωσης του οξυγόνου στο αίμα και στους μυς.

Η διαδικασία της δειγματοληψίας αποτελεί από μόνη της στρεσογόνο παράγοντα, για αυτό και πρέπει να γίνεται με προσοχή και όχι με μεγάλη συχνότητα, χρησιμοποιώντας τεχνικές που ελαχιστοποιούν την καταπόνηση στα ψάρια.

Τελικά ο συνδυασμός της κατάλληλης για κάθε περίπτωση τεχνικής δειγματοληψίας, με τη σωστή προστασία και επεξεργασία των δειγμάτων, παρέχουν τη δυνατότητα στους παραγωγούς να συλλέγουν άμεσα και εύκολα έγκυρες πληροφορίες για την κατάσταση των ψαριών και των παραγόντων που επιφέρουν καταπόνηση, δίνοντας έτσι μια άλλη διάσταση στην οργάνωση της παραγωγικής διαδικασίας με μικρότερη θνησιμότητα και μεγαλύτερο κέρδος.

## BIBΛIOΓΡΑΦΙΑ.

- Aabel,J-P. 1991. Stress of Atlantic salmon cause by handling and grading. AQUACULTURE AND THE ENVIRONMENT. DePauw, N.;Joyce,-J.-comps.1991 no. 14 p.1.
- Akela,-B.P. 1987. Effect of prolonged heat stress on blood glucose level of common Indian cat fish, Clarias batrachus ( L. ). COMP.-PHYSIOL.-ECOL. vol. 12, no. 4, pp. 203-205.
- Albertktsen,-S.; Torrissen,-O.J. 1988. Physiological changes in blood and seminal plasma during the spawning period of maturing rainbow trout held under different temperature and salinity regimes, and the effect on survival of the brookstock and the eyed eggs. COPENHAGEN DENMARK ICES 24 pp.
- Audet,-C, Besner,-M, Murmo,-J & Dutil,-J.-D. 1993. Seasonal and diel variations of varius blood parameters in Atlantic cod ( Gadus morhua ) and American plaice ( Hippoglossoides platessoides ).CAN.-J.-ZOOLOGREV.-CAN.-ZOOLOG. vol. 71, no. 3, pp 611-618.
- Audet,-C.; Claireaux,-G. 1992. Diel and seasonal changes in resting levels of varius blood parameters in brook trout ( Salvelinus fortinalis ). CAN.J.-FISH.-AQUAT.-SCI. vol. 49, no. 5, pp. 870-877.
- Belkovskij,-N.M.;Lega,-Yu.V.;Chernitsij,-A.G. 1991. Failure of water-salt metabolism in rainbow trout, Salmo gairdneri, in sea water at low temperatures. VORP.-IKHTIOL. vol. 31, no. 3, pp. 511-515.
- Blatt,-S.D. & Bora,-P.S. 1985. Further studies on the blood glucose responce to mammalian insulin in normal and partially pancreatectomized catfish, Clarias batrachus ( Linn. ) subjected to different ambient temperatures. J,-ANIM.-MORPHOL.-PHYSIOL. vol.32, no 1-2, pp 55-62.
- Davis,-K.B.;Parker,-N.C. 1990. Physiological stress in striped bass: Effect of acclimation temperatures. AQUACULTURE. vol. 91, no. 3-4, pp 349-358.

- Dheer,-J.M.S. 1988. Haematological, hematopoietic and biochemical responses to thermal stress in an air-breathing freshwater fish, Channa punctatus bloch. J.-FISH-BIOL. vol. 32, no. 2, pp 197-206.
- Διαμαντίδης Γ. 1990. Η Δομή και ο Μεταβολισμός των Υδατανθράκων.ΕΙΣΑΓΩΓΗ ΣΤΗ ΒΙΟΧΗΜΕΙΑ. ΚΕΦ. 5, σελ.117-140,
- Ellis A. E., Roberts R. J., & Tytler P. 1989. Ronald. J. Roberts Fish Pathology Second Edition Bailliere Tindall. The Anatomy and Physiology of Teleosts. pp. 24 - 30.
- Hardy,-D.;Audet,-C. 1990. Evaluation of plasma glucose as an indicator of mild chronic stress in brook charr ( Salvelinus fontinalis ). AQUACULTURE ASSOCIATION OF CANADA CONFERENCE. no. 90-4, pp 54-56.
- Houston H. Arthur. 1990 . Methods for Fish Biology American Fisheries Society, Bethesda Maryland USA. . Blood and Circulation. pp. 173 - 334.
- Iwama G,-K.;-Morgan J.-D.; & Barton B.-A. 1995. Simple field methods for monitoring stress and general condition of fish. AQUACULTURE RESEARCH vol. 26, no. pp. 273-282.
- Κάττουλα Ν. 1994. Αρχές Φυσιολογίας Θρέψης Ιχθύων. Πανεπιστημιακές Σημειώσεις σελ. 3-7 , 107-115.
- Κούτσης Κ. 1996. Αλιευτικά Νέα .Τεύχος 186. σελ. 74.
- Lin,-Huaying;Lou,-Beocheng. 1987. Studyof breathing's change relation to the content of blood sugar and lactic of the liver of Oreochromis mossambicus in the process of temperature decrease. J.- SHANDONG - COLL. - OCEANOL. - SHANDONG. - HAIYANG. -XUEYUAN.-XUEBAO. vol. 17, no. 4, pp. 51-57.
- Malinovskaya,-M.V. 1992. Daily rhythm of free fatty acids and glucose levels in the blood of carp.HYDROBIOL.-J. vol. 28, no. 2, pp 5-12.
- Οικονομίδης Π.Σ. 1993.: Πανεπιστημιακές Παραδόσεις Ιχθυολογίας Αριστοτελείου Πανεπιστημίου Θεσσαλονίκης. σελ. 48-54.



## Βιβλιογραφία

---

- Παπουτσόγλου Σ. 1985.: Εισαγωγή - Σημασία των Υδατοκαλλιεργειών. Εφαρμοσμένη Υδροβιολογία. Μέρος Β' Ειδικό. ΕΙΣΑΓΩΓΗ ΣΤΙΣ ΥΔΑΤΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΕΣ . ΤΟΜΟΣ Α'. σελ. 17-95.
- Sun,-L.T., Chen,-G.-R.; Chang, -C. -F. 1992. The physiological responses of tilapia exposed to low temperatures.J.-THERM.BIOL. vol.17, nr.3, pp.149-153.

# ΠΑΡΑΡΤΗΜΑΤΑ

## ΠΙΝΑΚΕΣ

**Πίνακας Α.** Εξέλιξη της Παγκόσμιας Αλιευτικής Παραγωγής.  
( F.A.O. Statistical Year Book, Rome )

Έτος	Παγκόσμια παραγωγή αλευμάτων σε εκατομμύρια τόννους
1900 - 10	4,0
1924	10,0
1932	10,0
1934	14,0
1938	20,9
1947	18,0
1953	25,0
1956	30,4
1958	32,8
1959	36,3
1960	39,5
1961	42,9
1962	46,3
1963	47,4
1964	51,6
1968	64,0
1973	63,7
1985	85,6
1986	91,4
1987	95,6
1988	98,8
1989	100,3
1990	97,2
1991	97,4
1992	98,8
1993	101,4

**Πίνακας Β.** Ιταλικές Εισαγωγές Ιχθυηρών από Ελλάδα.

Κατηγορία	1992		1993		1994 Ιαν. - Νοέμβρ.	
	Ποσ/τα	Αξία	Ποσ/τα	Αξία	Ποσ/τα	Αξία
Φρέσκα	4,849	75,183	6,250	76,389	8,221	93,454
Κατεψυγμένα	196	851	708	6,194	1,043	12,242
Φιλέτα	-	-	40	337	12	83
Αποξηραμένα	3,300	12,368	3,622	19,655	3,087	15,048
Αλατισμένα						
Οστρακοειδή	183	3,822	160	2,799	171	3,074
Μαλακόδερμα	7,206	17,957	6,087	7,803	5,482	10,438
<b>ΣΥΝΟΛΟ</b>	<b>16,334</b>	<b>100,181</b>	<b>16,887</b>	<b>113,177</b>	<b>18,01</b>	<b>134,399</b>

Ποσότητα ( ποσ/τα ) σε τόννους.

Αξία σε εκατομμύρια λίρες.

Πίνακας Γ. Οικονομικά στοιχεία & κατάταξη εταιριών. ( ΗΜΕΡΗΣΙΑ - 31. 7. 95).

Σειρά		Όνομα εταιρείας	Καθαρά αποτελέσματα	Κύκλος εργασιών
1994	'93		1994	1994
1	3	Νηρέυς Α.Ε.	853.081.046	3.190.790.258
2	1	Υδατ/γειες Δυτικής Ελλάδος Α.Ε.	818.813.216	2.618.182.718
3	2	Ιχθυοτροφεία Σελόντα ΑΕΓΕ	609.124.485	1.482.847.784
4	16	Sea Farm Ionian Α.Ε.	103.133.217	1.029.088.837
5	8	Ευρίπος Ιχθυοπαραγωγική και ιχθυοκ/τική Α.Ε.	80.132.149	865.468.783
6	18	Ιχθυοτροφική Ελλάς Α.Ε.	71.454.947	814.635.031
7	6	Ιχθυοτροφεία Ιθάκης Α.Ε.	49.050.808	535.287.171
8	9	Ιχθυοτροφεία Κεφαλλονιάς Α.Ε.	31.506.700	1.221.917.593
9	-	Nertunus Θαλασσιες καλλιέργειες Α.Ε.	30.349.382	141.098.835
10	13	Πλωτοιχθυοκαλ/γειες Πόρου Ε.Π.Ε.	25.644.028	380.282.822
11	-	Ιχθυοτροφεία Μακρόνησος Α.Ε.	23.762.867	189.861.726
12	24	Ιχθυοτροφεία Όβριου Α.Ε.	23.879.703	72.121.800
13	18	Γαλαξείδι Θαλάσσιες Καλλιέργειες Α.Ε.	16.418.554	934.287.781
14	12	Ιχθυοκελλιέργειες Αγία Α.Ε.	15.160.220	148.958.017
15	-	Ελληνικές τροφές θαλάσσης Α.Ε.Β.Ε.	10.772.248	2.382.324.240
16	-	Αστερίας Α.Ε.	8.288.885	141.860.860
17	-	Μεσογειακές Υδατ/γειες Ε.Π.Ε.	8.108.408	288.454.740
18	22	Hellas Fisheries Α.Ε.	8.002.386	202.844.883
19	11	Ιχθυοτροφεία Αργολίδας	5.286.718	114.437.746
20	-	Aquatic Life Α.Ε.	3.868.480	176.760.058

Πίνακας Δ. Συνολικά μεγέθη των 18 μεγαλύτερων μονάδων ιχθυοκαλλιέργειών. ( ΝΑΥΤΕΜΠΟΡΙΚΗ - 25. 8. 1996 )

Στοιχεία Ισολογισμού	1995 ( σε χιλ. δραχμές )	1994 ( σε χιλ. δραχμές )
Πάγιο Ενεργητικό	19.143.494	16.713.628
Μηχανικός Εξοπλισμός	7.625.460	6.127.155
Συσσωρευμένες Αποσβέσεις	6.455.156	4.556.843
Καθαρά Πάγια	16.997.021	13.123.298
Συμμετοχές	4.826.374	2.110.058
Κυκλοφορούν Ενεργητικό	26.333.893	22.265.166
Αποθέματα	14.351.893	11.769.618
Σύνολο Ενεργητικού	44.936.411	36.533.210
Ίδια Κεφάλαια	21.770.584	13.887.229
Μεσομ. Υποχρεώσεις & Προβλέψεις	4.100.111	4.369.207
Βραχυπρόθεσμες Υποχρεώσεις	19.342.158	18.276.776
Σύνολο Υποχρεώσεων	23.442.270	22.045.459
Πωλήσεις	22.873.061	17.210.897
Μεικτά Κέρδη & Έσοδα	7.555.148	6.200.366
Φόρος Εισοδήματος	732.395	799.502
Δείκτες	( % )	( % )
Περιθώριο Καθαρού Κέρδους	16,3	15,4
Ρευστότητα	1,4	1,2
Απόδοση Σύνολου Ενεργητικού	8,3	7,3
Πηγή : STAT BANK		

# ΠΑΡΑΡΤΗΜΑΤΑ

## ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Ανάλυση διακύμανσης κατά ένα παράγοντα

Χλώριο σε  $T = D^{\circ}\text{C}$  , ως προς το χρόνο.

**ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑ**

Ομάδες	Πλήθος	Άθροισμα	Μέσος όρος	Διακύμανση
Γραμμή 1	3	420	140	79
Γραμμή 2	3	473	157,6666667	21,33333333
Γραμμή 3	3	452	150,6666667	12,33333333
Γραμμή 4	3	431	143,6666667	1,333333333
Γραμμή 5	2	311	155,5	4,5
Γραμμή 6	2	271	135,5	40,5
Γραμμή 7	2	315	157,5	40,5
Γραμμή 8	3	546	182	73

**ΑΝΑΛΥΣΗ ΔΙΑΚΥΜΑΝΣΗΣ**

Προέλευση διακύμανσης	SS	βαθμοί ελευθερίας	MS	F	τιμή-P	κριτήριο F
Μεταξύ ομάδων	4036,79	7	576,6836735	16,3153161	1,69E-05	2,8320954
Μέσα στις ομάδες	459,5	13	35,34615385			
Σύνολο	4496,29	20				

Ανάλυση διακύμανσης κατά ένα παράγοντα

Χλώριο σε  $T = f^{\circ}\text{C}$  , ως προς το χρόνο.

**ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑ**

Ομάδες	Πλήθος	Άθροισμα	Μέσος όρος	Διακύμανση
Γραμμή 1	3	420	140	7
Γραμμή 2	3	433	144,3333333	6,333333333
Γραμμή 3	3	454	151,3333333	20,33333333
Γραμμή 4	3	432	144	28
Γραμμή 5	2	267	133,5	60,5
Γραμμή 6	3	454	151,3333333	40,33333333
Γραμμή 7	3	467	155,6666667	37,33333333
Γραμμή 8	2	277	138,5	4,5

**ΑΝΑΛΥΣΗ ΔΙΑΚΥΜΑΝΣΗΣ**

Προέλευση διακύμανσης	SS	βαθμοί ελευθερίας	MS	F	τιμή-P	κριτήριο F
Μεταξύ ομάδων	1001,42	7	143,0606061	5,82788114	0,002561	2,764196
Μέσα στις ομάδες	343,667	14	24,54761905			
Σύνολο	1345,09	21				



Ανάλυση διακύμανσης κατά ένα παράγοντα

Χλώριο σε  $T = F^{\circ}C$  , ως προς το χρόνο.

#### ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑ

Ομάδες	Πλήθος	Άθροισμα	Μέσος όρος	Διακύμανση
Γραμμή 1	3	413	137,6666667	26,33333333
Γραμμή 2	3	455	151,6666667	6,333333333
Γραμμή 3	3	460	153,3333333	22,33333333
Γραμμή 4	3	432	144	7
Γραμμή 5	3	405	135	31
Γραμμή 6	3	438	146	37
Γραμμή 7	3	455	151,6666667	4,333333333
Γραμμή 8	3	419	139,6666667	65,33333333

#### ΑΝΑΛΥΣΗ ΔΙΑΚΥΜΑΝΣΗΣ

Προέλευση διακύμανσης	SS	βαθμοί ελευθερίας	MS	F	τιμή-P	κριτήριο F
Μεταξύ ομάδων	1027,29	7	146,7559524	5,88003816	0,001641	2,6571954
Μέσα στις ομάδες	399,333	16	24,95833333			-
Σύνολο	1426,63	23				

## ΕΞΟΔΟΣ ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΟΣ

Χλώριο σε  $T = D^{\circ}C$ , ως προς το χρόνο.

Στατιστικά παλινδρόμησης	
Πολλαπλό R	0,769571518
R Τετράγωνο	0,592240321
Προσαρμοσμένο R	0,524280375
Τυπικό σφάλμα	9,950085004
Μέγεθος δείγματος	8

## ΑΝΑΛΥΣΗ ΔΙΑΚΥΜΑΝΣΗΣ

	βαθμοί ελευθερίας	SS	MS	F	Σημαντικότητα F
Παλινδρόμηση	1	862,7769339	862,77693	8,71455	0,025545208
Υπόλοιπο	6	594,0251495	99,004192		
Σύνολο	7	1456,802083			

	Συντελεστές	Τυπικό σφάλμα	t	τιμή-P	Κατώτερο 95%
Τεταγμένη επί την αρχή	144,8183579	4,43946086	32,620708	5,52E-08	133,9553805
Μεταβλητή X 1	0,250796616	0,084957006	2,9520416	0,025545	0,042914158

Υψηλότερο 95%	Κατώτερο 95,0%	Υψηλότερο 95,0%
155,6813352	133,9553805	155,6813352
0,458679074	0,042914158	0,458679074

## ΕΞΟΔΟΣ ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΟΣ

Χλώριο σε  $T = f^{\circ}C$ , ως προς το χρόνο.

Στατιστικά παλινδρόμησης	
Πολλαπλό R	0,033163195
R Τετράγωνο	0,001099797
Προσαρμοσμένο R	-0,16538357
Τυπικό σφάλμα	8,106459438
Μέγεθος δείγματος	8

## ΑΝΑΛΥΣΗ ΔΙΑΚΥΜΑΝΣΗΣ

	βαθμοί ελευθερίας	SS	MS	F	Σημαντικότητα F
Παλινδρόμηση	1	0,434114508	0,4341145	0,006606	0,937864586
Υπόλοιπο	6	394,2881077	65,714685		
Σύνολο	7	394,7222222			

	Συντελεστές	Τυπικό σφάλμα	t	τιμή-P	Κατώτερο 95%
Τεταγμένη επί την αρχή	145,0126517	3,616884617	40,093248	1,61E-08	136,1624474
Μεταβλητή X 1	-0,005625674	0,069215542	-0,081278	0,937865	-0,174990128

Υψηλότερο 95%	Κατώτερο 95,0%	Υψηλότερο 95,0%
153,862856	136,1624474	153,862856
0,16373878	-0,174990128	0,16373878

## ΕΞΟΔΟΣ ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΟΣ

Χλώριο σε  $T = F^{\circ}C$ , ως προς το χρόνο.

Στατιστικά παλινδρόμησης	
Πολλαπλό R	0,148016194
R Τετράγωνο	0,021908794
Προσαρμοσμένο R	-0,141106407
Τυπικό σφάλμα	7,471371083
Μέγεθος δείγματος	8

## ΑΝΑΛΥΣΗ ΔΙΑΚΥΜΑΝΣΗΣ

	βαθμοί ελευθερίας	SS	MS	F	Σημαντικότητα F
Παλινδρόμηση	1	7,502240372	7,5022404	0,134397	0,726496564
Υπόλοιπο	6	334,9283152	55,821386		
Σύνολο	7	342,4305556			

	Συντελεστές	Τυπικό σφάλμα	t	τιμή-P	Κατώτερο 95%
Τεταγμένη επί την αρχή	145,6204493	3,33352524	43,68362	9,63E-09	137,4636009
Μεταβλητή X 1	-0,023386644	0,063792955	-0,366602	0,726497	-0,179482494

Υψηλότερο 95%	Κατώτερο 95,0%	Υψηλότερο 95,0%
153,7772976	137,4636009	153,7772976
0,132709207	-0,179482494	0,132709207

Ανάλυση διακύμανσης κατά ένα παράγοντα

Χοληστερόλη σε  $T = D^{\circ}C$ , ως προς το χρόνο

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑ

Ομάδες	Πλήθος	Άθροισμα	Μέσος όρος	Διακύμανση
Γραμμή 1	3	25,14	8,38	0,0037
Γραμμή 2	3	27,91	9,30333333	0,032533333
Γραμμή 3	2	17,3	8,65	0,1568
Γραμμή 4	3	28,55	9,51666667	0,137633333
Γραμμή 5	3	22,53	7,51	0,2413
Γραμμή 6	2	16,67	8,335	0,17405
Γραμμή 7	3	28,94	9,64666667	0,080033333
Γραμμή 8	2	17,34	8,67	0

ΑΝΑΛΥΣΗ ΔΙΑΚΥΜΑΝΣΗΣ

Προέλευση διακύμανσης	SS	βαθμοί ελευθερίας	MS	F	τιμή-P	κριτήριο F
Μεταξύ ομάδων	10,4758	7	1,49653571	14,7246655	3E-05	2,8320954
Μέσα στις ομάδες	1,32125	13	0,10163462			
Σύνολο	11,797	20				

Ανάλυση διακύμανσης κατά ένα παράγοντα

Χοληστερόλη σε  $T = f^{\circ}C$ , ως προς το χρόνο

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑ

Ομάδες	Πλήθος	Άθροισμα	Μέσος όρος	Διακύμανση
Γραμμή 1	3	21,71	7,23666667	0,032233333
Γραμμή 2	3	23,91	7,97	0,0631
Γραμμή 3	3	22,65	7,55	0,0036
Γραμμή 4	3	25,32	8,44	0,0409
Γραμμή 5	3	20,31	6,77	0,0028
Γραμμή 6	3	22,21	7,40333333	0,007233333
Γραμμή 7	3	24,69	8,23	0,0036
Γραμμή 8	3	21,06	7,02	0,0619

ΑΝΑΛΥΣΗ ΔΙΑΚΥΜΑΝΣΗΣ

Προέλευση διακύμανσης	SS	βαθμοί ελευθερίας	MS	F	τιμή-P	κριτήριο F
Μεταξύ ομάδων	7,30152	7	1,04307381	38,74597033	7,3E-09	2,6571954
Μέσα στις ομάδες	0,43073	16	0,02692083			
Σύνολο	7,7322	23				

Ανάλυση διακύμανσης κατά ένα παράγοντα

Χοληστερόλη σε  $T = F^{\circ}C$  , ως προς το χρόνο

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑ

Ομάδες	Πλήθος	Άθροισμα	Μέσος όρος	Διακύμανση
Γραμμή 1	2	14,83	7,415	0,03125
Γραμμή 2	3	23,32	7,77333333	0,006533333
Γραμμή 3	3	22,36	7,45333333	0,069633333
Γραμμή 4	3	25,27	8,42333333	0,046233333
Γραμμή 5	2	13,97	6,985	0,02645
Γραμμή 6	3	22,75	7,58333333	0,009433333
Γραμμή 7	2	14,85	7,425	0,22445
Γραμμή 8	3	22,83	7,61	0,0241

ΑΝΑΛΥΣΗ ΔΙΑΚΥΜΑΝΣΗΣ

Προέλευση διακύμανσης	SS	βαθμοί ελευθερίας	MS	F	τιμή-P	κριτήριο F
Μεταξύ ομάδων	3,05956	7	0,43708061	9,565468914	0,0003	2,8320954
Μέσα στις ομάδες	0,59402	13	0,04569359			
Σύνολο	3,6536	20				

## ΕΞΟΔΟΣ ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΟΣ

Χοληστερόλη σε  $T = D^{\circ}C$ , ως προς το χρόνο

Στατιστικά παλινδρόμησης	
Πολλαπλό R	0,091056984
R Τετράγωνο	0,008291374
Προσαρμοσμένο R	-0,156993397
Τυπικό σφάλμα	0,767197112
Μέγεθος δείγματος	8

## ΑΝΑΛΥΣΗ ΔΙΑΚΥΜΑΝΣΗΣ

	βαθμοί ελευθερίας	SS	MS	F	Σημαντικότητα F
Παλινδρόμηση	1	0,029526203	0,0295262	0,050164	0,830209541
Υπόλοιπο	6	3,531548449	0,5885914		
Σύνολο	7	3,561074653			

	Συντελεστές	Τυπικό σφάλμα	t	τιμή-P	Κατώτερο 95%
Τεταγμένη επί την αρχή	8,704692745	0,342302759	25,429806	2,44E-07	7,867107454
Μεταβλητή X 1	0,001467156	0,006550574	0,2239736	0,83021	-0,014561534

Υψηλότερο 95%	Κατώτερο 95,0%	Υψηλότερο 95,0%
9,542278035	7,867107454	9,542278035
0,017495845	-0,014561534	0,017495845

## ΕΞΟΔΟΣ ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΟΣ

Χοληστερόλη σε  $T = f^{\circ}C$ , ως προς το χρόνο

Στατιστικά παλινδρόμησης	
Πολλαπλό R	0,223622759
R Τετράγωνο	0,050007138
Προσαρμοσμένο R	-0,108325005
Τυπικό σφάλμα	0,620769626
Μέγεθος δείγματος	8

## ΑΝΑΛΥΣΗ ΔΙΑΚΥΜΑΝΣΗΣ

	βαθμοί ελευθερίας	SS	MS	F	Σημαντικότητα F
Παλινδρόμηση	1	0,121709318	0,1217093	0,315837	0,594476039
Υπόλοιπο	6	2,312129571	0,3853549		
Σύνολο	7	2,433838889			

	Συντελεστές	Τυπικό σφάλμα	t	τιμή-P	Κατώτερο 95%
Τεταγμένη επί την αρχή	7,672447715	0,276970745	27,701293	1,46E-07	6,994724221
Μεταβλητή X 1	-0,002978752	0,005300329	-0,561994	0,594476	-0,0159482

Υψηλότερο 95%	Κατώτερο 95,0%	Υψηλότερο 95,0%
8,350171209	6,994724221	8,350171209
0,009990697	-0,0159482	0,009990697

## ΕΞΟΔΟΣ ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΟΣ

Χοληστερόλη σε  $T = F^{\circ}C$ , ως προς το χρόνο

Στατιστικά παλινδρόμησης	
Πολλαπλό R	0,078397971
R Τετράγωνο	0,006146242
Προσαρμοσμένο R	-0,159496051
Τυπικό σφάλμα	0,440364163
Μέγεθος δείγματος	8

## ΑΝΑΛΥΣΗ ΔΙΑΚΥΜΑΝΣΗΣ

	βαθμοί ελευθερίας	SS	MS	F	Σημαντικότητα F
Παλινδρόμηση	1	0,007195523	0,0071955	0,037106	0,85360501
Υπόλοιπο	6	1,163523575	0,1939206		
Σύνολο	7	1,170719097			

	Συντελεστές	Τυπικό σφάλμα	t	τιμή-P	Κατώτερο 95%
Τεταγμένη επί την αρχή	7,606627937	0,19647867	38,714777	1,98E-08	7,1258616
Μεταβλητή X 1	-0,000724275	0,00375997	-0,192628	0,853605	-0,009924597

Υψηλότερο 95%	Κατώτερο 95,0%	Υψηλότερο 95,0%
8,087394274	7,1258616	8,087394274
0,008476047	-0,009924597	0,008476047

Ανάλυση διακύμανσης κατά ένα παράγοντα

Ολικές πρωτεΐνες σε  $T = D^{\circ}C$ ,  
ως προς το χρόνο.

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑ

Ομάδες	Πλήθος	Άθροισμα	Μέσος όρος	Διακύμανση
Γραμμή 1	3	25,7	8,56666667	0,103333333
Γραμμή 2	3	26,9	8,96666667	0,173333333
Γραμμή 3	2	17,6	8,8	0,18
Γραμμή 4	3	28,4	9,46666667	0,043333333
Γραμμή 5	3	26	8,66666667	0,103333333
Γραμμή 6	3	26,4	8,8	0,07
Γραμμή 7	3	26,1	8,7	0,27
Γραμμή 8	3	36,4	12,1333333	0,003333333

ΑΝΑΛΥΣΗ ΔΙΑΚΥΜΑΝΣΗΣ

Προέλευση διακύμανσης	SS	βαθμοί ελευθερίας	MS	F	τιμή-P	κριτήριο F
Μεταξύ ομάδων	29,6397	7	4,23424431	37,07023225	2,3E-08	2,7066278
Μέσα στις ομάδες	1,71333	15	0,11422222			
Σύνολο	31,353	22				

Ανάλυση διακύμανσης κατά ένα παράγοντα

Ολικές πρωτεΐνες σε  $T = f^{\circ}C$ ,  
ως προς το χρόνο.

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑ

Ομάδες	Πλήθος	Άθροισμα	Μέσος όρος	Διακύμανση
Γραμμή 1	3	24,6	8,2	0,07
Γραμμή 2	3	23,8	7,93333333	0,013333333
Γραμμή 3	3	25,5	8,5	0,13
Γραμμή 4	3	24,4	8,13333333	0,043333333
Γραμμή 5	3	24,6	8,2	0,19
Γραμμή 6	3	25,7	8,56666667	0,053333333
Γραμμή 7	3	23,9	7,96666667	0,103333333
Γραμμή 8	3	34,4	11,4666667	0,263333333

ΑΝΑΛΥΣΗ ΔΙΑΚΥΜΑΝΣΗΣ

Προέλευση διακύμανσης	SS	βαθμοί ελευθερίας	MS	F	τιμή-P	κριτήριο F
Μεταξύ ομάδων	28,8263	7	4,11803571	38,01263736	8,4E-09	2,6571954
Μέσα στις ομάδες	1,73333	16	0,10833333			
Σύνολο	30,5596	23				



Ανάλυση διακύμανσης κατά ένα παράγοντα

Ολικές πρωτεΐνες σε  $T = F^{\circ}C$ ,  
ως προς το χρόνο.

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑ

Ομάδες	Πλήθος	Άθροισμα	Μέσος όρος	Διακύμανση
Γραμμή 1	3	24,7	8,23333333	0,04333333
Γραμμή 2	3	25,1	8,36666667	0,09333333
Γραμμή 3	3	25,5	8,5	0,19
Γραμμή 4	3	25,6	8,53333333	0,16333333
Γραμμή 5	3	25,7	8,56666667	0,00333333
Γραμμή 6	3	26,5	8,83333333	0,16333333
Γραμμή 7	3	24,9	8,3	0,01
Γραμμή 8	3	35,2	11,7333333	0,02333333

ΑΝΑΛΥΣΗ ΔΙΑΚΥΜΑΝΣΗΣ

Προέλευση διακύμανσης	SS	βαθμοί ελευθερίας	MS	F	τιμή-P	κριτήριο F
Μεταξύ ομάδων	28,5733	7	4,08190476	47,32643202	1,6E-09	2,6571954
Μέσα στις ομάδες	1,38	16	0,08625			-
Σύνολο	29,9533	23				

## ΕΞΟΔΟΣ ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΟΣ

Ολικές πρωτεΐνες σε  $T = D^{\circ}C$ ,  
ως προς το χρόνο.

Στατιστικά παλινδρόμησης	
Πολλαπλό R	0,827107051
R Τετράγωνο	0,684106073
Προσαρμοσμένο R	0,631457085
Τυπικό σφάλμα	0,723936538
Μέγεθος δείγματος	8

## ΑΝΑΛΥΣΗ ΔΙΑΚΥΜΑΝΣΗΣ

	βαθμοί ελευθερίας	SS	MS	F	Σημαντικότητα F
Παλινδρόμηση	1	6,809800885	6,8098009	12,99372	0,011302841
Υπόλοιπο	6	3,14450467	0,5240841		
Σύνολο	7	9,954305556			

	Συντελεστές	Τυπικό σφάλμα	t	τιμή-P	Κατώτερο 95%
Τεταγμένη επί την αρχή	8,55228505	0,323001052	26,477576	1,92E-07	7,761929369
Μεταβλητή X 1	0,022281253	0,006181202	3,6046799	0,011303	0,007156387

Υψηλότερο 95%	Κατώτερο 95,0%	Υψηλότερο 95,0%
9,342640731	7,761929369	9,342640731
0,03740612	0,007156387	0,03740612

## ΕΞΟΔΟΣ ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΟΣ

Ολικές πρωτεΐνες σε  $T = f^{\circ}C$ ,  
ως προς το χρόνο.

Στατιστικά παλινδρόμησης	
Πολλαπλό R	0,847701407
R Τετράγωνο	0,718597675
Προσαρμοσμένο R	0,671697288
Τυπικό σφάλμα	0,671307752
Μέγεθος δείγματος	8

## ΑΝΑΛΥΣΗ ΔΙΑΚΥΜΑΝΣΗΣ

	βαθμοί ελευθερίας	SS	MS	F	Σημαντικότητα F
Παλινδρόμηση	1	6,904825414	6,9048254	15,32179	0,007853335
Υπόλοιπο	6	2,703924586	0,4506541		
Σύνολο	7	9,60875			

	Συντελεστές	Τυπικό σφάλμα	t	τιμή-P	Κατώτερο 95%
Τεταγμένη επί την αρχή	7,905680351	0,2995195	26,394543	1,95E-07	7,172782
Μεταβλητή X 1	0,022436172	0,00573184	3,9143052	0,007853	0,008410854

Υψηλότερο 95%	Κατώτερο 95,0%	Υψηλότερο 95,0%
8,638578702	7,172782	8,638578702
0,03646149	0,008410854	0,03646149

## ΕΞΟΔΟΣ ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΟΣ

Ολικές πρωτεΐνες σε  $T = F^{\circ}C$  ,  
ως προς το χρόνο.

Στατιστικά παλινδρόμησης	
Πολλαπλό R	0,870892024
R Τετράγωνο	0,758452917
Προσαρμοσμένο R	0,71819507
Τυπικό σφάλμα	0,619220178
Μέγεθος δείγματος	8

## ΑΝΑΛΥΣΗ ΔΙΑΚΥΜΑΝΣΗΣ

	βαθμοί ελευθερίας	SS	MS	F	Σημαντικότητα F
Παλινδρόμηση	1	7,223842671	7,2238427	18,83988	0,004872691
Υπόλοιπο	6	2,300601773	0,3834336		
Σύνολο	7	9,524444444			

	Συντελεστές	Τυπικό σφάλμα	t	τιμή-P	Κατώτερο 95%
Τεταγμένη επί την αρχή	8,151846114	0,276279423	29,505803	1E-07	7,475814225
Μεταβλητή X 1	0,022948619	0,0052871	4,3404928	0,004873	0,010011542

Υψηλότερο 95%	Κατώτερο 95,0%	Υψηλότερο 95,0%
8,827878003	7,475814225	8,827878003
0,035885695	0,010011542	0,035885695

Ανάλυση διακύμανσης κατά ένα παράγοντα

Ολικά λιπίδια σε  $T = F^{\circ}C$  , ως προς το χρόνο.

#### ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑ

Ομάδες	Πλήθος	Άθροισμα	Μέσος όρος	Διακύμανση
Γραμμή 1	3	148	49,3333333	1,33333333
Γραμμή 2	2	57,1	28,55	0,005
Γραμμή 3	2	60,8	30,4	0,32
Γραμμή 4	3	72,7	24,2333333	0,52333333
Γραμμή 5	2	46,1	23,05	0,245
Γραμμή 6	3	100	33,3333333	0,86333333
Γραμμή 7	3	77,2	25,7333333	0,33333333
Γραμμή 8	3	170,1	56,7	0,37

#### ΑΝΑΛΥΣΗ ΔΙΑΚΥΜΑΝΣΗΣ

Προέλευση διακύμανσης	SS	βαθμοί ελευθερίας	MS	F	τιμή-P	κριτήριο F
Μεταξύ ομάδων	3053,415	7	436,202109	764,5789773	5,78E-16	2,8320954
Μέσα στις ομάδες	7,416667	13	0,57051282			
Σύνολο	3060,831	20				

## ΕΞΟΔΟΣ ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΟΣ

Ολικά λιπίδια σε  $T = D^{\circ}C$  ,  
ως προς το χρόνο.

Στατιστικά παλινδρόμησης	
Πολλαπλό R	0,449100741
R Τετράγωνο	0,201691475
Προσαρμοσμένο R	0,068640055
Τυπικό σφάλμα	9,521231348
Μέγεθος δείγματος	8

## ΑΝΑΛΥΣΗ ΔΙΑΚΥΜΑΝΣΗΣ

	βαθμοί ελευθερίας	SS	MS	F	Σημαντικότητα F
Παλινδρόμηση	1	137,4213662	137,42137	1,515891	0,264309911
Υπόλοιπο	6	543,9230782	90,653846		
Σύνολο	7	681,3444444			

	Συντελεστές	Τυπικό σφάλμα	t	τιμή-P	Κατώτερο 95%
Τεταγμένη επί την αρχή	33,82623289	4,24811787	7,9626399	0,000209	23,43145533
Μεταβλητή X 1	0,10009204	0,081295317	1,2312153	0,26431	-0,098830579

Υψηλότερο 95%	Κατώτερο 95,0%	Υψηλότερο 95,0%
44,22101046	23,43145533	44,22101046
0,299014659	-0,098830579	0,299014659

## ΕΞΟΔΟΣ ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΟΣ

Ολικά λιπίδια σε  $T = f^{\circ}C$  ,  
ως προς το χρόνο.

Στατιστικά παλινδρόμησης	
Πολλαπλό R	0,637094374
R Τετράγωνο	0,405889242
Προσαρμοσμένο R	0,306870782
Τυπικό σφάλμα	7,834460983
Μέγεθος δείγματος	8

## ΑΝΑΛΥΣΗ ΔΙΑΚΥΜΑΝΣΗΣ

	βαθμοί ελευθερίας	SS	MS	F	Σημαντικότητα F
Παλινδρόμηση	1	251,59941	251,59941	4,099127	0,089325689
Υπόλοιπο	6	368,2726734	61,378779		
Σύνολο	7	619,8720833			

	Συντελεστές	Τυπικό σφάλμα	t	τιμή-P	Κατώτερο 95%
Τεταγμένη επί την αρχή	27,61221275	3,495526207	7,8993007	0,000218	19,058962
Μεταβλητή X 1	0,135433848	0,066893132	2,0246301	0,089326	-0,028247869

Υψηλότερο 95%	Κατώτερο 95,0%	Υψηλότερο 95,0%
36,16546351	19,058962	36,16546351
0,299115566	-0,028247869	0,299115566

## ΕΞΟΔΟΣ ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΟΣ

Ολικά λιπίδια σε  $T = F^{\circ}C$  ,  
ως προς το χρόνο.

Στατιστικά παλινδρόμησης	
Πολλαπλό R	0,437930518
R Τετράγωνο	0,191783139
Προσαρμοσμένο R	0,057080328
Τυπικό σφάλμα	13,49363901
Μέγεθος δείγματος	8

## ΑΝΑΛΥΣΗ ΔΙΑΚΥΜΑΝΣΗΣ

	βαθμοί ελευθερίας	SS	MS	F	Σημαντικότητα F
Παλινδρόμηση	1	259,2339876	259,23399	1,42375	0,277824607
Υπόλοιπο	6	1092,469762	182,07829		
Σύνολο	7	1351,70375			

	Συντελεστές	Τυπικό σφάλμα	t	τιμή-P	Κατώτερο 95%
Τεταγμένη επί την αρχή	30,45553834	6,020499546	5,0586398	0,002314	15,72389588
Μεταβλητή X 1	0,137473307	0,115213003	1,19321	0,277825	-0,144442962

Υψηλότερο 95%	Κατώτερο 95,0%	Υψηλότερο 95,0%
45,18718081	15,72389588	45,18718081
0,419389576	-0,144442962	0,419389576

Ανάλυση διακύμανσης κατά ένα παράγοντα

Γλυκόζη σε  $T = D^{\circ}C$ , ως προς το χρόνο.

**ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑ**

Ομάδες	Πλήθος	Άθροισμα	Μέσος όρος	Διακύμανση
Γραμμή 1	3	36,5	12,1666667	0,65333333
Γραμμή 2	3	34,9	11,6333333	0,25333333
Γραμμή 3	3	52,1	17,3666667	1,20333333
Γραμμή 4	3	36,1	12,0333333	0,49333333
Γραμμή 5	3	33,2	11,0666667	0,37333333
Γραμμή 6	3	11,6	3,8666667	0,05333333
Γραμμή 7	3	8,1	2,7	0,01

**ΑΝΑΛΥΣΗ ΔΙΑΚΥΜΑΝΣΗΣ**

Προέλευση διακύμανσης	SS	βαθμοί ελευθερίας	MS	F	τιμή-P	κριτήριο F
Μεταξύ ομάδων	473,13238	6	78,8553968	181,574927	1,86E-12	2,8477274
Μέσα στις ομάδες	6,08	14	0,43428571			-
Σύνολο	479,21238	20				

Ανάλυση διακύμανσης κατά ένα παράγοντα

Γλυκόζη σε  $T = f^{\circ}C$ , ως προς το χρόνο

**ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑ**

Ομάδες	Πλήθος	Άθροισμα	Μέσος όρος	Διακύμανση
Γραμμή 1	3	43,1	14,3666667	0,66333333
Γραμμή 2	3	37,7	12,5666667	0,05333333
Γραμμή 3	3	37,5	12,5	0,07
Γραμμή 4	3	53,8	17,9333333	0,02333333
Γραμμή 5	2	25	12,5	0,32
Γραμμή 6	3	35,1	11,7	0,52
Γραμμή 7	3	39,2	13,0666667	0,10333333
Γραμμή 8	3	39,5	13,1666667	0,12333333

**ΑΝΑΛΥΣΗ ΔΙΑΚΥΜΑΝΣΗΣ**

Προέλευση διακύμανσης	SS	βαθμοί ελευθερίας	MS	F	τιμή-P	κριτήριο F
Μεταξύ ομάδων	79,43971	7	11,34853	49,5809564	3,02E-09	2,7066278
Μέσα στις ομάδες	3,4333333	15	0,22888889			
Σύνολο	82,873043	22				

Ανάλυση διακύμανσης κατά ένα παράγοντα

Γλυκόζη σε  $T = F^{\circ}C$ , ως προς το χρόνο.

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑ

Ομάδες	Πλήθος	Άθροισμα	Μέσος όρος	Διακύμανση
Γραμμή 1	3	40,8	13,6	0,07
Γραμμή 2	3	36,5	12,1666667	0,06333333
Γραμμή 3	3	35,2	11,7333333	0,14333333
Γραμμή 4	3	49,1	16,3666667	0,14333333
Γραμμή 5	2	25,9	12,95	0,125
Γραμμή 6	2	21,3	10,65	0,245
Γραμμή 7	3	36,9	12,3	0,12
Γραμμή 8	3	34,9	11,6333333	0,32333333

ΑΝΑΛΥΣΗ ΔΙΑΚΥΜΑΝΣΗΣ

Προέλευση διακύμανσης	SS	βαθμοί ελευθερίας	MS	F	τιμή-P	κριτήριο F
Μεταξύ ομάδων	58,777879	7	8,39683983	56,0679289	3,6E-09	2,764196
Μέσα στις ομάδες	2,0966667	14	0,1497619			
Σύνολο	60,874545	21				



## ΕΞΟΔΟΣ ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΟΣ

Γλυκόζη σε  $T = D^{\circ}C$  , ως προς το χρόνο.

Στατιστικά παλινδρόμησης	
Πολλαπλό R	0,871959382
R Τετράγωνο	0,760313164
Προσαρμοσμένο R	0,720365358
Τυπικό σφάλμα	2,575266206
Μέγεθος δείγματος	8

## ΑΝΑΛΥΣΗ ΔΙΑΚΥΜΑΝΣΗΣ

	βαθμοί ελευθερίας	SS	MS	F	Σημαντικότητα F
Παλινδρόμηση	1	126,2245516	126,22455	19,03266	0,004756822
Υπόλοιπο	6	39,79197621	6,631996		
Σύνολο	7	166,0165278			

	Συντελεστές	Τυπικό σφάλμα	t	τιμή-P	Κατώτερο 95%
Τεταγμένη επί την αρχή	13,56186419	1,149014659	11,803038	2,23E-05	10,75032455
Μεταβλητή X 1	-0,095927765	0,021988446	-4,362644	0,004757	-0,149731594

Υψηλότερο 95%	Κατώτερο 95,0%	Υψηλότερο 95,0%
16,37340383	10,75032455	16,37340383
-0,042123937	-0,149731594	-0,042123937

## ΕΞΟΔΟΣ ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΟΣ

Γλυκόζη σε  $T = f^{\circ}C$  , ως προς το χρόνο.

Στατιστικά παλινδρόμησης	
Πολλαπλό R	0,176703623
R Τετράγωνο	0,03122417
Προσαρμοσμένο R	-0,130238468
Τυπικό σφάλμα	2,080601604
Μέγεθος δείγματος	8

## ΑΝΑΛΥΣΗ ΔΙΑΚΥΜΑΝΣΗΣ

	βαθμοί ελευθερίας	SS	MS	F	Σημαντικότητα F
Παλινδρόμηση	1	0,837137351	0,8371374	0,193383	0,675512884
Υπόλοιπο	6	25,9734182	4,328903		
Σύνολο	7	26,81055556			

	Συντελεστές	Τυπικό σφάλμα	t	τιμή-P	Κατώτερο 95%
Τεταγμένη επί την αρχή	13,72401239	0,928308591	14,78389	6,02E-06	11,45252144
Μεταβλητή X 1	-0,007812154	0,017764842	-0,439754	0,675513	-0,051281187

Υψηλότερο 95%	Κατώτερο 95,0%	Υψηλότερο 95,0%
15,99550335	11,45252144	15,99550335
0,03565688	-0,051281187	0,03565688

## ΕΞΟΔΟΣ ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΟΣ

Γλυκόζη σε  $T = F^{\circ}C$ , ως προς το χρόνο.

Στατιστικά παλινδρόμησης	
Πολλαπλό R	0,357581018
R Τετράγωνο	0,127864184
Προσαρμοσμένο R	-0,017491785
Τυπικό σφάλμα	1,748427162
Μέγεθος δείγματος	8

## ΑΝΑΛΥΣΗ ΔΙΑΚΥΜΑΝΣΗΣ

	βαθμοί ελευθερίας	SS	MS	F	Σημαντικότητα F
Παλινδρόμηση	1	2,689125869	2,6891259	0,879662	0,38449553
Υπόλοιπο	6	18,34198524	3,0569975		
Σύνολο	7	21,03111111			

	Συντελεστές	Τυπικό σφάλμα	t	τιμή-P	Κατώτερο 95%
Τεταγμένη επί την αρχή	13,12130132	0,78010127	16,819997	2,82E-06	11,21246088
Μεταβλητή X 1	-0,01400161	0,01492863	-0,937903	0,384496	-0,050530678

Υψηλότερο 95%	Κατώτερο 95,0%	Υψηλότερο 95,0%
15,03014176	11,21246088	15,03014176
0,022527458	-0,050530678	0,022527458

# ΠΑΡΑΡΤΗΜΑΤΑ

## ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΕΣ ΑΝΑΛΥΣΕΙΣ ΑΙΜΑΤΟΣ (kit)

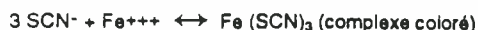
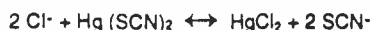
# Chloritest

## Détermination colorimétrique des chlorures

Coffret pour 1 200 déterminations  
6 x 200 ml

### PRINCIPE

Dosage colorimétrique des ions chlorures selon le principe suivant :



### VALEURS USUELLES :

#### Sérum

98 - 107 mmol / l

98 - 107 mEq / l

#### Urine

170 - 250 mEq / 24 heures

### BIBLIOGRAPHIE

1. P. GIRAUDET et coll. - Clin. Chim. Acta. 1970, 28, 323-327.
2. L. SKEGGS, JR., H. HOCHSTRASSET - Clin. Chem. 1964, 10, 918-936.

### REACTIF

Thiocyanate	Thiocyanate mercurique	2 mmol / l
	Chlorure mercurique	0,75 mmol / l
	Nitrate ferrique	20 mmol / l
	Acide nitrique	0,17 %
	Détergent	1,5 %

### STABILITE

Conservation à 20-25°C. La date limite d'utilisation est indiquée sur chaque conditionnement.

### ETALON

Calimat réf. 62 321.

### ECHANTILLONS

Sérum ou plasma recueilli sur héparine ou héparine iodo-acétate.

Urine.

Liquide céphalo-rachidien.

### MATERIEL

L'utilisation de pipettes automatiques et de matériel plastique chlorure de polyvinyle à usage unique est conseillée. Le matériel doit être rigoureusement exempt d'ions chlorures.

### MODE OPERATOIRE

Conserver le réactif à l'abri de la lumière.

Température : \_\_\_\_\_ 20-25° C

Longueur d'onde : \_\_\_\_\_ 450 nm (450 - 510)

Zéro de l'appareil : \_\_\_\_\_ blanc réactif

Dans des tubes à hémolyse, introduire :

	Etalon	Dosage
Etalon	10 µl	-
Echantillon	-	10 µl
Réactif	1 ml	1 ml

Mélanger. Lire la DO après 5 min.

Stabilité de la coloration : \_\_\_\_\_ 30 minutes

Linéarité : \_\_\_\_\_ 50 à 150 mEq / l

Calcul :  $\frac{\text{DO dosage}}{\text{DO étalon}} \times n$

n = taux de l'étalon en mmol / l (ou mEq/l)

### AUTOMATISATION

Protocoles disponibles sur demande.

### PRECAUTIONS

Réactif nocif.

Consulter un médecin en cas d'ingestion.

Eviter le contact avec la peau.

Rincer abondamment en cas de contact.

### CONTROLE DE QUALITE

Exactitude et reproductibilité :

Lyotrol N, Lyotrol P, Unitrol, Unitrol P.

# Chloritest

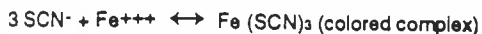
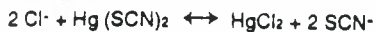
## Colorimetric determination of chloride

Kit for 1 200 determinations

6 x 200 ml

### PRINCIPLE

Colorimetric determination of chloride ions according to the following principle:



### NORMAL VALUES :

#### Serum

98 - 107 mmol / l

98 - 107 mEq / l

#### Urine

170 - 250 mEq / 24 hours

### BIBLIOGRAPHY

1. P. GIRAUDET et coll. - Clin Chim Acta, 1970, 28, 323-327.
2. L. SKEGGS, JR, H. HOCHSTRASSET - Clin. Chem. 1964, 10, 918-938.

### REAGENT

Thiocyanate	Mercuric thiocyanate	2 mmol / l
	Mercuric chloride	0.75 mmol / l
	Ferric nitrate	20 mmol / l
	Nitric acid	0.17 %
	Detergent	1.5 %

### STABILITY

All reagents are stable up to the expiry date given on the label when stored at 20-25°C.

### STANDARD

Calimat ref. 62 321.

### SAMPLES

Serum or plasma collected using heparin or iodoacetate heparin.

Urine.

Cerebrospinal fluid.

### EQUIPMENT

It is advisable to use automatic pipettes and disposable PVC tubes. The equipment must be free from chloride ions.

### PROCEDURE

Store reagent in the dark.

Temperature : \_\_\_\_\_ 20 - 25° C

Wavelength : \_\_\_\_\_ 450 nm (450 - 510)

Zero adjustment : \_\_\_\_\_ reagent blank

Into plastic tubes add :

	Standard	Sample
Standard	10 µl	-
Sample	-	10 µl
Reagent	1 ml	1 ml

Mix. Read absorbance (A) after incubating for 5 min.

The color intensity is stable : \_\_\_\_\_ 30 minutes

Linearity : \_\_\_\_\_ 50 to 150 mEq / l

Calculation :  $\frac{A \text{ sample}}{A \text{ standard}} \times n$

mmol / l : n = standard level in mmol / l (or mEq/l)

### AUTOMATION

Instrument set-up procedures are available on request.

### WARNINGS

Harmful reagent.

Consult a doctor if ingested.

Avoid skin contact.

Rinse thoroughly in case of contact.

### QUALITY CONTROL

Accuracy and between-run reproducibility :

Lyotrol N, Lyotrol P, Unitrol, Unitrol P.

## MPR 3 Hämoglobin 124 729 für 3 x 1000 ml

<b>Packungsinhalt</b>	
<b>Flasche 1</b>	3 x 25 ml K-Hexacyanoferrat-(III)
<b>Flasche 2</b>	3 x 25 ml Kaliumcyanid

### Methode

#### Hämiglobincyanid-Methode

Lit.: van Kampen F. J. u. W. G. Zijlstra, *Chn. Chim. Acta* **6** (1961) 538  
International Committee for Standardization in Haematology, *British Journal of Haematology*, **13** (Suppl. (1961) 71)

### Test prinzip

Hämoglobin + Cyanid + Ferricyanid → Hämiglobincyanid

### Normalwerte

	g/dl	mmol/l (Hb/4)	Literatur
Männer	14-18	8,7-11,2	Wintrobe, M. M.: <i>Clinical Hematology</i> , Lea & Febiger, Philadelphia, Pa., 4th edition (1956)
Frauen	12-16	7,5-9,9	

### Probematerial

Vollblut, Heparin- und EDTA-Blut

Vollblut sofort einsetzen, EDTA- und Heparinblut sind bei +4-25°C vier Tage haltbar.

1 einen Meßzylinder spülen, auf 1000 ml auffüllen und in eine braune Glasflasche gießen,  
2 Braune oder trübe Reaktionslösung darf nicht verwendet werden,  
2 Haltbarkeit: bei +15-25 °C sechs Monate

Vorsicht Gift! Sicherheitspipetten verwenden!  
Lsg. 2 und die Reaktionslösung enthalten Kaliumcyanid.

Konzentrationen der Reaktionslösung  
Kaliumhexacyanoferrat-III: 0,6 mmol/l; Kaliumcyanid: 0,75 mmol/l

### Bestimmungsansatz

Wellenlänge: Hg 546 nm  
Küvette: 1 cm Schichtdicke  
Inkubationstemperatur: 20-25 °C  
Messung gegen dest. Wasser

In ein Reagenzglas pipettieren:	
Reaktionslösung	5,00 ml
Blut	0,02 ml
Pipette durch mehrmaliges Aufziehen und Ausblasen spülen, Lösung gut mischen und bei 20-25 °C inkubieren. Frühstens nach 3 Minuten, spätestens nach 24 Stunden Extinktion der Probe gegen dest. Wasser messen (E).	

### Berechnung

Konzentration (c) des Hämoglobins im Blut:

$$c = 36,77 \times E \text{ [g/dl] bzw.}$$

$$c = 22,82 \times E \text{ [mmol/l] (Hb/4)}$$

Kann nicht bei Hg 546 nm gemessen werden, muß mit dem Hämiglobincyanid-Standardersatz, Best.-Nr.: 125482, standardisiert nach DIN 58931, einmal eine Bezugskurve aufgestellt werden.

### Hinweise

Um ein Verklumpen der Erythrozyten zu vermeiden, nach Zugabe des Blutes zur Reaktionslösung leichtschütteln. Bei Aufbewahrung über mehrere Stunden sind die Reagenzgläser zu verschließen.

Extinktion E	Hämoglobin			Extinktion E	Erythrozyten		
	g/100 ml	Hb/4 mmol/l	%		g/100 ml	Hb-1 mmol/l	%
0,100	3,7	2,3	23,1	0,400	14,7	9,1	91,8
105	39	24	241	405	149	9,2	93,2
110	40	25	252	410	151	9,4	94,3
115	42	26	264	420	153	9,5	96,6
120	44	27	276	430	156	9,7	97,7
125	46	29	287	440	158	9,8	98,7
130	48	30	299	450	160	9,9	99,9
135	50	31	311	460	162	10,0	101,1
140	52	32	322	470	164	10,2	102,3
145	53	33	334	480	166	10,3	103,4
150	55	34	345	490	167	10,4	104,3
155	56	35	356	500	169	10,5	105,6
160	58	36	367	510	171	10,6	107,8
170	61	38	379	520	173	10,7	109,1
175	63	39	389	530	175	10,8	109,1
180	64	40	401	540	177	11,0	110,4
185	66	41	411	550	178	11,1	111,5
188	67	42	422	560	180	11,2	112,5
190	68	43	432	570	182	11,3	113,7
195	70	44	443	580	184	11,4	114,8
200	72	46	454	590	186	11,5	116,0
205	74	47	465	600	188	11,6	117,1
210	75	48	476	610	189	11,6	118,3
215	77	49	487	620	191	11,9	119,5
220	79	50	498	630	192	12,0	120,6
225	81	51	509	640	193	12,1	121,9
230	83	52	520	650	195	12,2	123,0
235	85	53	531	660	197	12,3	124,0
240	86	54	542	670	199	12,4	124,0
245	88	55	553	680	200	12,4	124,0
250	90	56	564	690	202	12,4	124,0
255	92	57	574	700	204	12,4	124,0
260	94	58	586	710	206	12,4	124,0
265	96	59	598	720	208	12,4	124,0
270	99	60	609	730	210	12,4	124,0
275	10,1	62	620	740	211	12,4	124,0
280	10,3	63	631	750	213	12,4	124,0
285	10,5	64	642	760	215	12,4	124,0
290	10,7	66	653	770	217	12,5	124,0
295	10,9	67	664	780	219	12,5	124,0
300	11,0	68	675	790	221	12,5	124,0
305	11,2	70	689	800	222	12,5	124,0
310	11,4	71	703	810	224	12,5	124,0
315	11,6	72	717	820	226	12,5	124,0
320	11,8	73	731	830	228	12,5	124,0
325	12,0	74	745	840	230	12,5	124,0
330	12,1	75	758	850	232	12,5	124,0
335	12,3	76	770	860	233	12,5	124,0
340	12,5	78	782	870	235	12,5	124,0
345	12,7	79	792	880	237	12,5	124,0
350	12,9	80	805	890	239	12,5	124,0
355	13,1	81	816	900	241	12,5	124,0
360	13,2	82	827	910	243	12,5	124,0
365	13,4	83	839	920	245	12,5	124,0
370	13,6	84	850	930	246	12,5	124,0
375	13,8	85	862	940	248	12,5	124,0
380	14,0	86	874	950	250	12,5	124,0
385	14,2	88	886	960	251	12,5	124,0
390	14,3	89	896	970	251	12,5	124,0
395	14,5	90	908	980	251	12,5	124,0



# biosis

ΤΗΝΟΥ 21, 173 43 ΑΓ. ΔΗΜΗΤΡΙΟΣ, ΑΘΗΝΑ  
ΤΗΛ. 9706 936 - FAX: 9250 766

## ΧΟΛΗΣΤΕΡΟΛΗ ΜΕΘΟΔΟΣ: ΕΝΖΥΜΑΤΙΚΗ ΡΑΡ

### Αρχή μεθόδου

CH-Εστέρες  $\xrightarrow{\text{CH-Εστεράση}}$  CH + Λιπαρό οξύ

CH + Ελεύθερη CH  $\xrightarrow{\text{CH-Οξειδάση}}$  Προϊόν + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> + Αμινοφαιναζόνη + Φαινολικό παράγωγο  
 $\xrightarrow{\text{POD}}$  Προϊόν (ερυθρού χρώματος)

CH : Χοληστερόλη      POD : Υπεροξειδάση

### Φυσιολογικές τιμές

	mg%	mmoles/lit
Φυσιολογικά	< 220	< 5.7
Για παρακολούθηση	220 - 260	5.7 - 6.7
Παθολογικά	> 260	> 6.7

### Αντιδραστήρια

1. Χοληστερόλη 200 mg%
2. Ένζυμα και συμπράγοντες
3. Ρυθμιστικό διάλυμα

### Διάλυμα Εργασίας

Σε ένα φιαλίδιο ρυθμιστικού διαλύματος (No3) μεταφέρεται ποσοτικά ένα φιαλίδιο ενζύμων (No2). Αναγράψατε την ημερομηνία παρασκευής.

### Χρόνος ζωής αντιδραστηρίων

Αναγράφεται στο set (1 χρόνος)  
Το διάλυμα εργασίας είναι σταθερό 60 ημέρες στους 4° C

### Τελικές συγκεντρώσεις

Μετά την ανασύσταση η περιεκτικότητα του αντιδραστηρίου είναι:  
Ρυθμιστικό 0.1 M pH 7.0, CE 0.6 U/ml,  
CO 1.0 U/ml, POD 4.0 U/ml, αμινοφαιναζόνη 0.4 mM,  
φαινολικό παράγωγο 10 mM, συμπράγοντες σταθεροποιητές.

### Χρησιμοποιούμενο δείγμα - Σταθερότητα

Ορός ή πλάσμα.  
Σταθερότητα χοληστερόλης στο δείγμα, 6 ημέρες στους 4° C ή 1 μήνας στους -20° C.

### Μέθοδος (Όλοι οι όγκοι δηλώνουν ml)

Μήκος κύματος : 510 nm (500 - 546 nm)  
Θερμοκρασία : 37° C  
Σταθερότητα χρώματος : 1 ώρα  
όπου T : τυφλό, Δ : δείγμα, S : standard

	T	Δ	S
Αντιδραστήριο εργασίας	2.0	2.0	2.0
Χοληστερόλη 200 mg%	-	-	0.02
Απεσταγμένο H <sub>2</sub> O	0.02	-	-
Δείγμα	-	0.02	-
Επίωση 15 min στους 37° C. Ανάδευση και φωτομέτρηση έναντι τυφλού σε μήκος κύματος 510 nm.			

### Υπολογισμοί

$$\text{mg\% Χοληστερόλης} = \frac{A_{\Delta}}{A_S} \times 200$$

$$\text{mmoles/lit Χοληστερόλης} = \frac{A_{\Delta}}{A_S} \times 5.17$$

### Γραμμικότητα

Μέχρι 500 mg% (12.9 mmoles/lit)  
Σε περίπτωση δειγμάτων με τιμές χοληστερόλης μεγαλύτερες από 500 mg% αραιώστε 1:3 (δηλ. 0.1 ml δείγματος + 0.2 ml φυσιολογικού ορού). Επαναλάβετε τον προσδιορισμό και πολλαπλασιάστε τα αποτελέσματα επί 3.

### Σημεία προσοχής

Για γενική ενημέρωση συμβουλευτείτε το φυλλάδιο «Γενικές Αρχές»

### Βιβλιογραφία

1. Allain C.C. et al Clin. Chem. 20 470 (1974)
2. Richmond . Clin. Chem. 19 1350 (1978).
3. Torbutton P.N. et al. Clin. Chem. 20 724 (1974).

### Συσκευασία

1. 2401 4x 50 ml 100 Αναλύσεις
2. 2402 4x100 ml 200 Αναλύσεις
3. 2403 4x200 ml 400 Αναλύσεις



# biosis

ΤΗΝΟΥ 21, 173 43 ΑΓ. ΔΗΜΗΤΡΙΟΣ, ΑΘΗΝΑ  
ΤΗΛ. 9706 936 - FAX: 9250 766

## ΟΛΙΚΕΣ ΠΡΩΤΕΙΝΕΣ ΜΕΘΟΔΟΣ - ΔΙΟΥΡΙΑΣ

### Αρχή Μεθόδου

Σε αλκαλικό περιβάλλον οι πρωτεΐνες σχηματίζουν έγχρωμο σύμπλοκο με ιόντα χαλκού (αντίδραση διουρίας).

### Φυσιολογικές τιμές

	g%
1. Ενήλικες	6.6 - 8.7
2. Νεογνά (μέχρι 4 εβδομάδων)	4.6 - 6.8
3. Βρέφη (2-12 μηνών)	4.8 - 7.6
4. Παιδιά (πάνω από 12 μηνών)	6.0 - 8.0

### Αντιδραστήρια

1. Standard πρωτεϊνών (η τιμή αναγράφεται στο φιαλίδιο)
2. Διάλυμα διουρίας.

### Χρόνος ζωής αντιδραστηρίων

Αναγράφεται στο set (1 χρόνος).

### Τελικές συγκεντρώσεις

Οι συγκεντρώσεις των συστατικών του διαλύματος διουρίας είναι: Τριγυκό-κάλιο-νάτριο 18 mM, ιόντα χαλκού 8 mM, ιωδιούχα 10 mM, καυστικό νάτριο 100 mM.

### Χρησιμοποιούμενο δείγμα - σταθερότητα

Ορός.  
Σταθερότητα πρωτεϊνών στο δείγμα, 6 ημέρες στους 4° C.

### Μέθοδος: (Όλοι οι όγκοι δηλώνουν ml)

Μήκος κύματος : 540 nm (530-570 nm)  
Θερμοκρασία : Περιβάλλοντος (20-30° C)  
Σταθερότητα χρώματος : 2 ώρες  
όπου T: τυφλό, Δ: δείγμα, S: standard

	T	Δ	S
Αντιδραστήριο διουρίας	2.5	2.5	2.5
Standard πρωτεϊνών	-	-	0.05
Δείγμα	-	0.05	-

Ανάδευση, παραμονή 30 min σε θερμοκρασία περιβάλλοντος.  
Φωτομέτρηση έναντι τυφλού, σε μήκος κύματος 540 nm.

### Υπολογισμοί:

$$\text{g\% πρωτεϊνών} = \frac{A_{\Delta}}{A_S} \cdot \text{τιμή προτύπου}$$

ΣΗΜΕΙΩΣΗ: Η τιμή του προτύπου αναγράφεται στο φιαλίδιο

### Γραμμικότητα:

Μέχρι 14 g%

### Σημεία προσοχής

- Για γενική ενημέρωση συμβουλευτείτε το φυλλάδιο «ΓΕΝΙΚΕΣ ΑΡΧΕΣ».

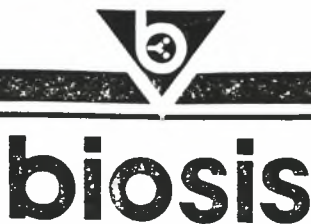
### Βιβλιογραφία:

1. Weichselbaum T.E. Amer.J.Clin.Path. 16 40 (1946).

### Συσκευασία

2907 160 Αναλύσεις (4 × 100 ml)





ΤΗΝΟΥ 21, 173 43 ΑΓ. ΔΗΜΗΤΡΙΟΣ, ΑΘΗΝΑ  
ΤΗΛ. 9706 936 - FAX: 9250 766

## ΛΙΠΙΔΙΑ ΜΕΘΟΔΟΣ: ΦΩΣΦΟΒΑΝΙΛΙΝΗΣ

### Αρχή μεθόδου

Λιπίδια + φωσφοβανιλίνη  $\xrightarrow{H^+}$  χρωμοφόρο προϊόν

### Φυσιολογικές τιμές

400 - 1000 mg% ή 4 - 10 g/l.

### Αντιδραστήρια

1. Ολικά λιπίδια 1000 mg%
2. Διάλυμα φωσφοβανιλίνης.

Απαιτείται και πυκνό  $H_2SO_4$  p.a Merck

### Χρόνος ζωής αντιδραστηρίων

Αναγράφεται στο set (1 χρόνος).

### Χρησιμοποιούμενο δείγμα - Σταθερότητα

Πρόσφατος ορός.

### Προετοιμασία δειγμάτων

Σε σωλήνες των 20 ml προστίθενται

	Δ	S
πυκνό $H_2SO_4$	2.0	2.0
ορός	0.05	-
Ολικά λιπίδια 1000 mg%		0.05
Τοποθέτηση των σωλήνων σε ζέον υδατόλουτρο για 10 min ακριβώς. Ψύξη σωλήνων		

**Μέθοδος:** (όλοι οι όγκοι δηλώνουν ml).

Μήκος κύματος : 530 nm  
Θερμοκρασία : Περιβάλλοντος  
Σταθερότητα χρώματος : 1 ώρα  
όπου T: τυφλό, Δ: δείγμα, S: standard.

	T	Δ	S
Φωσφοβανιλίνη	2.5	2.5	2.5
πυκνό $H_2SO_4$	0.1	-	-
Δείγμα (από τη θέρμανση)	-	0.1	0.1

Έντονη ανάδευση. Παραμονή 20 min σε θερμοκρασία περιβάλλοντος. Φωτομέτρηση έναντι τυφλου στα 530 nm.

### Υπολογισμοί

$$\text{mg\% ολικών λιπιδίων} = \frac{A_{\Delta}}{A_S} \times 1000$$

### Γραμμικότητα:

Μέχρι 4000 mg%

Για δείγματα με μεγαλύτερη τιμή από 4000 mg% αραιώστε το δείγμα με φυσιολογικό ορο σε αναλογία 1:10 (1 μέρος δείγματος και 9 μέρη φυσιολογικού ορού), επαναλάβετε τη θέρμανση με  $H_2SO_4$  και τη μέθοδο. Πολλαπλασιάστε τα αποτελέσματα  $\times 10$ .

### Σημεία προσοχής:

- Όλα τα χρησιμοποιούμενα σκεύη και οι κυψελίδες πρέπει να είναι στεγνά.
- Τα αντιδραστήρια παρουσιάζουν μεγάλο ξώδες, γι' αυτό όταν χρησιμοποιούνται αυτόματες πιπέττες να ξεπλένονται με το διάλυμα.
- Προσοχή στις μεταγίσεις ώστε να μην σχηματίζονται φυσαλίδες που δύσκολα απομακρύνονται.
- Προσοχή στα αντιδραστήρια γιατί είναι καυστικά.

### Βιβλιογραφία

Zollner N. et al J. of Ges.Exp. Med. 135 545 (1962)

### Συσκευασία

3307 160 Αναλύσεις (4  $\times$  100 ml)



# biosis

ΤΗΝΟΥ 21, 173 43 ΑΓ. ΔΗΜΗΤΡΙΟΣ, ΑΘΗΝΑ  
ΤΗΛ. 9706 936 - FAX: 9250 766

## ΣΑΚΧΑΡΟ

ΜΕΘΟΔΟΣ ΕΝΖΥΜΑΤΙΚΗ - GOD-PAP

### Αρχή μεθόδου

Γλυκόζη<sup>GOD</sup> → Γλυκονικό οξύ + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>  
H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> + Αμινοφαιναζόνη + Φαινολικό παράγωγο

POD, Προϊόν (ερυθρού χρώματος)

POD: Υπεροξειδάση GOD: Γλυκόζη Οξειδάση

### Φυσιολογικές τιμές

mg%                      mmolles/lit  
70 - 120                    3.89 - 6.67

### Αντιδραστήρια

#### A. ΣΥΣΚΕΥΑΣΙΑ 2301

1. Γλυκόζη 100 mg%
2. Ενζυμα καί συμπαραγοντες
3. Ρυθμιστικό διάλυμα

#### B. ΣΥΣΚΕΥΑΣΙΑ 2300

1. Γλυκόζη 100 mg%
2. Ενζυμα, ρυθμιστικό και συμπαραγοντες σε στερεά μορφή

### Διαλύματα εργασίας

A. **ΣΥΣΚΕΥΑΣΙΑ 2301**: Σε ένα φιαλίδιο ρυθμιστικού διαλύματος (No 3) μεταφέρεται ποσοτικά ένα φιαλίδιο ενζύμων (No 2).

B. **ΣΥΣΚΕΥΑΣΙΑ 2300**: Διάλυση ενός φιαλιδίου No 2 σε 1000 ml απεσταγμένο H<sub>2</sub>O. Διατήρηση του διαλύματος σε σκουρόχρωμη φιάλη.

Αναγράψατε την ημερομηνία παρασκευής.

### Χρόνος ζωής αντιδραστηρίων

Αναγράφεται στο set (1 χρόνος).

Το διάλυμα εργασίας είναι σταθερό 45 ημέρες στους 4° C

### Τελικές συγκεντρώσεις

Μετά την ανασύσταση η περιεκτικότητα του αντιδραστηρίου είναι:

Ρυθμιστικό 0.2 M pH 8.0, GOD 18 IU/ml, POD 10 U/ml, αμινοφαιναζόνη 0.25 mM, παράγωγο φαινόλης 10 mM, συμπαραγοντες.

### Χρησιμοποιούμενο δείγμα - σταθερότητα

Ορός ή πλάσμα.

Σταθερότητα γλυκόζης στο δείγμα, 7 ημέρες στους 4° C ή 1 μήνας στους -20° C

**Μέθοδος:** (Όλοι οι όγκοι δηλώνουν ml)

Μήκος κύματος : 510 nm (500 - 550 nm)

Θερμοκρασία : 37° C

Σταθερότητα χρώματος : 2 ώρες

όπου T: τυφλό, Δ: δείγμα, S: standard

	T	Δ	S
Αντιδραστήριο εργασίας	2.0	2.0	2.0
Γλυκόζη 100 mg%	-	-	0.02
Απεσταγμένο H <sub>2</sub> O	0.02	-	-
Δείγμα	-	0.02	-
Ανάδευση και επώαση 15 min στους 37° C			
Φωτομέτρηση έναντι τυφλού, σε μήκος κύματος 510 nm.			

### Υπολογισμοί

$$\text{mg\% Γλυκόζης} = \frac{A_{\Delta}}{A_S} \times 100$$

$$\text{mmolles/lit Γλυκόζης} = \frac{A_{\Delta}}{A_S} \times 5.55$$

### Γραμματικότητα

Μέχρι 500 mg% (27.8 mmolles lit)

### Σημεία προσοχής

Γιά γενική ενημέρωση συμβουλευτείτε το φυλλάδιο «ΓΕΝΙΚΕΣ ΑΡΧΕΣ».

### Βιβλιογραφία

Trinder P. Ann.Clin.Bioch. 6 24 (1969)

### Συσκευασία

**2300 2500 Αναλύσεις (5 x 1000 ml)**

**2301 400 Αναλύσεις (4 x 200 ml)**

62-373

07427 A - 09/93

## Lyotrol «N»

*In vitro diagnostic*

Sérum de contrôle multiparamétrique titré d'origine humaine (normal)

Réf. 62 373

Coffret : 8 x 5 ml (lyophilisé)

Lyotrol «N» est un sérum de contrôle lyophilisé, d'origine humaine, multiparamétrique. Il est titré pour les constituants suivants :

- **Electrolytes** : Calcium - Chlorures - CO<sub>2</sub> total - Fer - Lithium - Magnésium - Phosphore - Potassium - Sodium.
- **Substrats** : Acide lactique - Acide urique - Bilirubine - Créatinine - Glucose - Urée.
- **Protéines** : Protéines totales - Albumine - Globulines.
- **Lipides** : Cholestérol - Lipides totaux - Phospholipides - Triglycérides - Glycérol libre.
- **Enzymes** :  $\gamma$ GT - LDH - Phosphatase alcaline - ASAT/GOT - ALAT/GPT.

Les concentrations de ces constituants sont dans une zone usuelle, en particulier au niveau du protéinogramme.

### UTILISATION

Ouvrir avec précaution le flacon afin de ne pas perdre de lyophilisat. Reprendre un flacon par 5 ml d'eau distillée, mesurés avec exactitude. Refermer le flacon.

Laisser reposer quelques minutes, puis terminer la dissolution du produit par retournements successifs du flacon (ne pas agiter).

Lyotrol «N» est à utiliser comme un sérum à doser.

Bien que l'absence d'antigène HBs et d'anticorps anti-HIV et anti-HCV ait été vérifiée, ce produit doit être considéré comme potentiellement infectieux et manipulé avec les précautions habituelles. Aucun test ne peut aujourd'hui apporter la certitude que ce produit dérivé de sang humain ne transmette aucun agent infectieux.

### STABILITE

#### Forme lyophilisée :

Ce produit est stable à 2-8°C jusqu'à la date d'expiration indiquée sur chaque conditionnement.

#### Forme liquide :

Après réhydratation, la durée de conservation est identique à celle d'un sérum, sauf pour les phosphatases alcalines dont le taux est stable seulement 1 heure à 20-25°C et 8 heures à 2-8°C.

Il est recommandé de travailler avec le produit fraîchement repris. Toutefois, les fractions non utilisées peuvent être congelées et décongelées une seule fois sauf pour certains paramètres (cholestérol HDL et LDL) pour lesquels la congélation est déconseillée.

### VALEURS CIBLES

Pour chaque technique sont données la valeur cible et les limites de confiance correspondant aux résultats obtenus par nos laboratoires. Cependant, nous conseillons aux utilisateurs d'établir leurs propres valeurs cibles.

**Remarque** : Les activités enzymatiques indiquées dans la notice Lyotrol «N» ont été établies dans tous les cas sur le produit fraîchement réhydraté.



BIOMÉRIEUX SA au capital de 45 903 000 F / RCS Lyon B 673 620 399  
69280 Marcy-l'Étoile / France / tél. 78 87 20 00 / fax 78 87 20 90  
Imprimé en / Printed in France

62 373

07427 A - 09/93

## **Lytrol «N»**

*For in vitro diagnostic use*

Multiparametric assayed human control serum (normal)

Ref. 62 373

### **STABILITY AND STORAGE**

- **Electrolytes** : Calcium - Chloride - Total CO<sub>2</sub> - Iron - Lithium - Magnesium - Phosphorus - Potassium - Sodium.
- **Substrates** : Lactic acid - Uric acid - Bilirubin - Creatinine - Glucose - Urea.
- **Proteins** : Total protein - Albumin - Globulins.
- **Lipids** : Cholesterol - Total lipids - Phospholipids - Triglycerides - Free glycerol.
- **Enzymes** :  $\gamma$  GT - LDH - Alkaline phosphatase - ASAT/GOT - ALAT/GPT.

The concentration levels of the above are within the expected range values and are especially adapted for use in protein electrophoresis.

### **PROCEDURE**

Open a vial taking care not to lose any of the lyophilisate. Reconstitute the vial with exactly 5 ml of distilled water. Stopper.

Let stand for a few minutes, then dissolve the contents completely by gently inverting the vial (do not shake).

Use Lytrol «N» as a serum sample.

### **Caution :**

This human product has been tested and shown to be negative for HBS antigen, as well as HIV and HCV antibodies. However, this product must be treated as potentially infectious, and handled with care. Furthermore, no known method can offer complete assurance that this human blood product does not contain any infectious agent.

After reconstitution, the solution can be stored as for a serum except for the alkaline phosphatases which remain stable for only 1 hour at 20-25°C, and 8 hours at 2-8°C.

It is recommended that freshly reconstituted control sera are used. However, any remaining solution may be frozen once only, except for certain parameters (cholesterol HDL and LDL) for which freezing is not advised.

### **ASSAY VALUES**

The assay and range values obtained for each technique correspond to the results obtained by our laboratories. However, we recommend that you establish your own assay values.

**Note** : All enzymatic activities given on the package insert have been established using freshly reconstituted Lytrol «N».



BIOMERIEUX SA au capital de 45 903 000 F / RCS Lyon B 673 620 399  
69280 Marcy-l'Étoile / France / tel. 78 87 20 00 / fax 78 87 20 90  
imprime en / Printed in France

# Lytrol «N» Lot n° 136343 série n° 641923

## Sérum de contrôle multiparamétrique titré d'origine humaine (normal)

Réf. 62 371 Coffret : 6 x 5 ml (lyophilisé)  
Réf. 62 372 Coffret : 16 x 5 ml (lyophilisé)

Lytrol « N » est un sérum de contrôle lyophilisé, d'origine humaine, multiparamétrique. Il est titré pour les constituants suivants :

- **Electrolytes** : Calcium – Chlorures – CO<sub>2</sub> total – Fer – Lithium – Magnésium – Phosphore – Potassium – Sodium.
- **Substrats** : Acide lactique – Acide urique – Bilirubine – Créatinine – Glucose – Urée.
- **Protéines** : Protéines totales – Albumine – Globulines.
- **Lipides** : Cholestérol – Lipides totaux – Phospholipides – Triglycérides – Glycérol libre.
- **Enzymes** : Cholinestérase –  $\gamma$  GT – LDH – Phosphatase alcaline – ASAT / GOT – ALAT / GPT.

Les concentrations de ces constituants sont dans une zone usuelle, en particulier au niveau du protéinogramme.

### Utilisation

Ouvrir avec précaution le flacon afin de ne pas perdre de lyophilisat. Reprendre un flacon de 5 ml d'eau distillée, mesurés avec exactitude. Refermer le flacon.

Laisser reposer quelques minutes, puis terminer la dissolution du produit par retournements successifs du flacon (ne pas agiter).

Lytrol « N » est à utiliser comme un sérum à doser.

Bien que l'absence d'antigène HBs et d'anticorps anti HIV ait été vérifiée, ce produit doit être considéré comme potentiellement infectieux et manipulé avec les précautions habituelles. Aucun test ne peut aujourd'hui apporter la certitude que ce produit dérivé de sang humain ne transmette aucun agent infectieux.

### Stabilité

#### Forme lyophilisée :

Ce produit est stable à 2-8 °C jusqu'à la date d'expiration indiquée sur chaque conditionnement.

#### Forme liquide :

Après réhydratation, la durée de conservation est identique à celle d'un sérum, sauf pour les phosphatases alcalines dont le taux est stable seulement 1 heure à 20-25 °C et 8 heures à 2-8 °C.

Il est recommandé de travailler avec le produit fraîchement repris. Toutefois, les fractions non utilisées peuvent être congelées et décongelées une seule fois sauf pour certains paramètres (cholestérol HDL et LDL) pour lesquels la congélation est déconseillée.

### Valeurs cibles

Pour chaque technique sont données la valeur cible et les limites de confiance correspondant aux résultats obtenus par les laboratoires participant à l'établissement des caractéristiques analytiques de Lytrol « N ».

**Remarque** : Les activités enzymatiques indiquées dans la notice Lytrol « N » ont été établies dans tous les cas sur le produit fraîchement réhydraté.

## Multiparametric, assayed, human, control serum (normal)

Ref. 62 371 Pack: 6 x 5 ml (lyophilized)  
Ref. 62 372 Pack: 16 x 5 ml (lyophilized)

Lytrol « N » is a multiparametric, lyophilized, human, control serum. It has been assayed for use in the determination of :

- **Electrolytes** : Calcium – Chloride – Total CO<sub>2</sub> – Iron – Lithium – Magnesium – Phosphorus – Potassium – Sodium.
- **Substrates** : Lactic acid – Uric acid – Bilirubin – Creatinin – Glucose – Urea.
- **Proteins** : Total protein – Albumin – Globulins.
- **Lipids** : Cholesterol – Total lipids – Phospholipids – Triglycerids – Free glycerol.
- **Enzymes** : Cholinesterase –  $\gamma$  GT – LDH – Alkaline phosphatase – ASAT / GOT – ALAT / GPT.

These constituents are within the normal range and are especially suited to protein electrophoresis.

### Directions for use

Open a vial taking care not to lose any of the contents. Reconstitute one vial with exactly 5 ml of distilled water. Stopper.

Let stand for a few minutes then ensure complete dissolution by gently inverting the vial (do not shake).

**Treat Lytrol « N » as a serum sample.**

Although previously tested and shown to be negative for HBsAg and antibodies to HIV, this product should be treated as potentially infectious and therefore handled with care. No known test methods can offer assurance that products derived from human blood will not transmit infectious agent.

### Stability

#### Lyophilized :

At 2-8 °C until the expiration date given on the packaging.

#### Reconstituted :

After rehydration, the solution will keep for as long as a serum will apart from the alkaline phosphatases which remain stable for only 1 hour at 20-25 °C and 8 hours at 2-8 °C.

It is advisable to work with the product freshly reconstituted. Nevertheless, any remaining solution may be frozen and thawed once only, except for certain parameters (cholesterol HDL and LDL) for which freezing is not recommended.

### Assay values

The constant and confidence range obtained by laboratories participating in the establishment of the analytical values of Lytrol « N » are mentioned for each technique.

**Note** : All enzymatic activities given in the insert have been established on freshly reconstituted Lytrol « N ».

Constituant Constituent	Méthode d'analyse Method of analysis	Unités S.I. S.I. units			Unités conventionnelles Conventional units		
		Valeur value	Limites de confiance Confidence limits	Unités Units	Valeur value	Limites de confiance Confidence limits	Unités Units
<b>ELECTROLYTES</b>							
Calcium	Ca-Kit* bleu de méthylthymol <i>methylthymol blue</i>	2,52	2,42 - 2,62	mmol/l	96,9	96,9 - 104,9	mg/l
	Ca-OCF* o-crésolphtaléine <i>o-cresolphthaleine</i>	2,48	2,38 - 2,58		95,3	95,3 - 103,3	
Chlorures Chloride	Chlor-Kit* volumétrie : Hg - QBA <i>volumetry : Hg - QBA</i>		97 - 105			97 - 105	
	Cl-Kit* colorimétrie : Hg - TPTZ <i>colorimetry : Hg - TPTZ</i>	100	96 - 104	mmol/l	96	96 - 104	mEq/l
	Chloritest* colorimétrie : Hg(SCN)2 <i>colorimetry : Hg(SCN)2</i>	98	95 - 103		95	95 - 103	
	Coulométrie Cl 900 / <i>Coulometry Cl 900</i>	97	97 - 101		97	97 - 101	
CO2	Bicarbonates enzymatiques*	11,0		mmol/l	11,0		mEq/l
Fer Iron	Fer-Kit* bathophénantroline disulfonée <i>bathophenanthroline disulfonate</i>	16,9	16,9 - 20,5		0,94	0,94 - 1,14	
	Ferimat-Kit* ferrozine	16,9	16,9 - 20,9	μmol/l	0,94	0,94 - 1,17	mg/l
	Ferentest* ferène S	17,9	15,9 - 19,9		0,89	0,89 - 1,12	
TIBC	TIBC additif** + Fer-Kit*	45,0	45,0 - 65,0		2,52	2,52 - 3,64	
	TIBC additif** + Ferentest*	45,0	45,0 - 65,0	μmol/l	2,52	2,52 - 3,64	
	TIBC additif** + Ferrimat-Kit*	45,0	45,0 - 65,0		2,52	2,52 - 3,64	mg/l
Lithium	Photomètre de flamme / <i>Flame photometer</i>	0,52	0,42 - 0,62	mmol/l	0,52	0,42 - 0,62	mEq/l
Magnésium	Mg-Kit* calmagite	1,02	1,02 - 1,14	mmol/l	24,8	24,8 - 27,7	mg/l
Phosphore minéral Phosphorus (inorganic)	P-Kit* phosphomolybdate - sulfate ferreux <i>phosphomolybdate - ferrous sulphate</i>	1,27	1,17 - 1,37		36,2	36,2 - 42,4	
	Phosphore UV* phosphomolybdate Calibration : étalon primaire <i>primary standard</i>						
	sans déduction du blanc sérum <i>without subtracting serum blank</i>	1,24	1,16 - 1,32		36,0	36,0 - 41,0	
	avec déduction du blanc sérum <i>subtracting serum blank</i>	0,95	0,87 - 1,03	mmol/l	27,0	27,0 - 32,0	mg/l
	Calibration : Calimat sans déduction du blanc sérum <i>without subtracting serum blank</i>	1,15	1,07 - 1,23		33,1	33,1 - 38,1	
avec déduction du blanc sérum <i>subtracting serum blank</i>	0,95	0,87 - 1,03		27,0	27,0 - 32,0		
potassium	Photomètre de flamme / <i>Flame photometer</i>	4,53	4,53 - 4,83	mmol/l	4,53	4,53 - 4,83	mEq/l
odium	Photomètre de flamme / <i>Flame photometer</i>	140	140 - 146	mmol/l	140	140 - 146	mEq/l
<b>UBSTRATS</b>							
acide lactique lactic acid	Lactate PAP*	4,7	4,0 - 5,4	mmol/l	395	395 - 459	mg/l
acide urique uric acid	Acide urique enzymatique UV*	211	191 - 231		32,0	32,0 - 38,8	
	Acide urique PAP*						
	Calibration : étalon primaire <i>primary standard</i>						
	point final sans lecture initiale <i>end point without initial reading</i>	260	230 - 290		38,6	38,6 - 48,7	
	point final avec lecture initiale <i>end point with initial reading</i>	206	176 - 236	μmol/l	29,6	29,6 - 39,7	mg/l
	Calibration : Calimat point final sans lecture initiale <i>end point without initial reading</i>	230	200 - 260		33,7	33,7 - 43,8	
	point final avec lecture initiale <i>end point with initial reading</i>	197	167 - 227		28,1	28,1 - 38,2	
Uricacid-Kit* reactif phosphotungstic <i>phosphotungstic reagent</i>	223	207 - 239		37,5	34,8 - 40,2		
bilirubine bilirubin	Bilirubine-Kit* acide sulfanilique + caféine <i>sulfanilic acid + caffeine</i>	19,7	17,7 - 21,7	μmol/l	11,3	10,3 - 12,7	mg/l
	Bili-T/D* acide sulfanilique + DMSO <i>sulfanilic acid + DMSO</i>	19,6	17,6 - 21,6		11,5	10,3 - 12,6	
créatinine creatinin	Créatinine cinétique* Jaffé	105	89 - 121		11,9	10,1 - 13,7	
	Créatinine-Kit* Jaffé	105	95 - 115	μmol/l	11,8	10,7 - 13,0	mg/l

Reactifs prêts à l'emploi bioMérieux / *bioMérieux ready-to-use reagents*

La saturation est faite avec 1 volume de sérum et 2 volumes de solution saturante.

*Saturation is carried out with 1 volume of serum and 2 volumes of saturating solution.*

Constituant Constituent	Méthode d'analyse Method of analysis	Unités S.I. S.I. units			Unités conventionnelles Conventional units		
		Valeur Value	Limites de confiance Confidence limits	Unités Units	Valeur Value	Limites de confiance Confidence limits	Unités Units
Glucose	Glucose enzymatique PAP* Calibration : étalon primaire primary standard point final / end point cinétique / kinetic Calibration : Calimat point final / end point cinétique / kinetic	5,02 4,29	4,62 - 5,42 4,29 - 5,09	mmol/l		0,83 - 0,98 0,77 - 0,92	g/l
Urée Urea	Urée point final UV* Urée cinétique UV* Urée-Kit S* uréase-Berthelot modifié urease-modified Berthelot	4,00 4,24 4,70	3,60 - 4,40 3,88 - 4,68 4,28 - 5,28	mmol/l		0,22 - 0,26 0,23 - 0,28 0,26 - 0,32	g/l
<b>PROTEINES</b>							
Protéines totales Total protein	Protéines-kit* Calibration : étalon primaire primary standard sans déduction du blanc sérum without subtracting serum blank avec déduction du blanc sérum subtracting serum blank Calibration : Calimat sans déduction du blanc sérum without subtracting serum blank avec déduction du blanc sérum subtracting serum blank	63,6 62,0 61,5	63,2 - 68,0 59,6 - 64,4 59,6 - 64,4 59,1 - 63,9	g/l		63,2 - 68,0 59,6 - 64,4 59,6 - 64,4 59,1 - 63,9	g/l
Albumine Albumin	Albumine-Kit* vert de bromocrésol / bromocresol green Electrophorèse / Electrophoresis		536 - 596	µmol/l		37,0 - 41,1	g/l
Globulines totales Total globulin	Electrophorèse / Electrophoresis						
Alpha 1-globulines Alpha 1 globulin	acétate de cellulose cellulose acetate						
Alpha 2-globulines Alpha 2 globulin	tampon véronal pH 8,6 barbital buffer pH 8.6						
Beta-globulines Beta-globulin	coloration par Ponceau S stained by Ponceau S						
Gamma-globulines Gamma-globulin							
<b>LIPIDES</b>							
Cholesterol	Cholestérol enzymatique PAP*	3,56	3,56 - 4,16	mmol/l		1,38 - 1,61	g/l
Cholesterol HDL	HDL Cholestérol - Phospholipides*	0,76	0,76 - 1,16	mmol/l		0,29 - 0,45	g/l
Cholesterol LDL	LDL Cholestérol - Phospholipides*	2,05	1,65 - 2,45	mmol/l		0,64 - 0,95	g/l
Lipides totaux Total lipids	Lipides-Kit* réactif phosphovanillique phosphovanillic reagent	6,3	5,6 - 7,0	g/l		5,6 - 7,0	g/l
Phospholipides Phospholipias	Phospholipides enzymatiques PAP*	2,13	1,95 - 2,27	mmol/l		1,51 - 1,76	g/l
Phospholipides HDL	HDL Cholestérol - Phospholipides*	0,92	0,77 - 1,07	mmol/l		0,59 - 0,83	g/l
Phospholipides LDL	LDL Cholestérol - Phospholipides*	0,70	0,55 - 0,85	mmol/l		0,42 - 0,66	g/l
Triglycerides	Triglycérides enzymatiques UV* Triglycérides enzymatiques PAP*	1,48 1,43	1,28 - 1,68 1,31 - 1,59	mmol/l		1,12 - 1,47 1,14 - 1,39	g/l
Glycérol libre Free glycerol	Dosage enzymatique Enzymatic assay	0,09		mmol/l			mg/l

Réactifs prêts à l'emploi bioMérieux / bioMérieux ready-to-use reagents

## ENZYMES : METHODES CINETIQUES / KINETIC METHODS

Constituant Constituent	Méthodes d'analyse Methods of analysis	UI à 30°C		UI à 37°C	
		Limites de confiance Confidence limits		Limites de confiance Confidence limits	
Cholinestérase	Enzyline cholinestérase*	3743 - 5064		4913 - 6648	
GGT	Enzyline GGT S*	30 - 41		40 - 54	
LDH	Optimisé / Optimized DGKC	245 - 332		328 - 444	

DGKC : Deutsche Gesellschaft für Klinische Chemie

## ENZYMES : METHODES COLORIMETRIQUES / COLORIMETRIC METHODS

Constituant Constituent	Méthodes d'analyse Methods of analysis	Valeurs cibles Assay values	
		Unités conventionnelles Conventional units	UI
LDH	Déshydrogénases lactiques-Kit* Cabaud-Wroblewski	355 U/ml	-
Phosphatase alcaline Alkaline phosphatase	Phosphatase alcaline-Kit*	8,1 U Kind & King/100 ml	57
ASAT / GOT ALAT / GPT	Transaminases-Kit* Reitman-Frankel	54 U/ml 42 U/ml	- -

\* Réactifs prêts à l'emploi bioMérieux / bioMérieux ready-to-use reagents



62 383

07428 A - 09/93

## **Lytrol «P»**

*For in vitro diagnostic use*

Multiparametric assayed human control serum (pathological)

Ref. 62 383

Kit : 8 x 5 ml (lyophilized)

Lytrol «P» is a multiparametric human lyophilized, control serum, and has been assayed for use in the determination of :

- **Electrolytes** : Calcium - Chloride - Iron - Lithium - Magnesium - Phosphorus - Potassium - Sodium.
- **Substrates** : Uric acid - Bilirubin - Creatinine - Glucose - Urea.
- **Proteins** : Total protein - Albumin - Globulins.
- **Lipids** : Non estentied fatty acids - Cholesterol - Total lipids - Phospholipids - Triglycerides - Free glycerol.
- **Enzymes** :  $\alpha$  Amylase -  $\gamma$  GT - LDH - Acid phosphatase - Alkaline phosphatase - ASAT/GOT - ALAT/GPT.

The concentration levels of the above are within the pathological range.

### **PROCEDURE**

Open a vial taking care not to lose any of the lyophilisate. Reconstitute the vial with exactly 5 ml of distilled water. Stopper.

Let stand for a few minutes, then dissolve the contents completely by gently inverting the vial (do not shake).

Use Lytrol «P» as a serum sample.

### **Caution :**

This human product has been tested and shown to be negative for HBs antigen, as well as HIV antibodies. However, this product must be treated as potentially infectious, and handled with care. Furthermore, no known method can offer complete assurance that this human blood product does not contain any infectious agent.

### **STABILITY AND STORAGE**

#### **Lyophilized :**

Stable at 2-8°C until expiration date given on the packaging.

#### **Reconstituted :**

After reconstitution, the solution can be stored as for a serum except for the alkaline phosphatases which remain stable for only 1 hour at 20-25°C, and 8 hours at 2-8°C. Any remaining solution may be frozen once only. However, it is recommended that freshly reconstituted control sera are used.

### **ASSAY VALUES**

The assay and range values obtained for each technique correspond to the results obtained by our laboratories. However, we recommend that you establish your own assay values.

**Note :** All enzymatic activities given on the package insert have been established using freshly reconstituted Lytrol «P».

Coffret : 8 x 5 ml (lyophilisé)

Lytrol «P» est un sérum de contrôle lyophilisé, d'origine humaine, multiparamétrique. Il est titré pour les constituants suivants :

- **Electrolytes** : Calcium - Chlorures - Fer - Lithium - Magnésium - Phosphore - Potassium - Sodium.
- **Substrats** : Acide urique - Bilirubine - Créatinine - Glucose - Urée.
- **Protéines** : Protéines totales - Albumine - Globulines.
- **Lipides** : Acides gras non estérifiés - Cholestérol - Lipides totaux - Phospholipides - Triglycérides - Glycérol libre.
- **Enzymes** :  $\alpha$ Amylase -  $\gamma$ GT - LDH - Phosphatase acide - Phosphatase alcaline - ASAT/GOT - ALAT/GPT.

Les concentrations de ces constituants sont dans une zone pathologique.

#### UTILISATION

Ouvrir avec précaution le flacon afin de ne pas perdre de lyophilisat. Reprendre un flacon par 5 ml d'eau distillée, mesurés avec exactitude. Refermer le flacon.

Laisser reposer quelques minutes, puis terminer la dissolution du produit par retournements successifs du flacon (ne pas agiter).

Lytrol «P» est à utiliser comme un sérum à doser.

#### Attention :

Bien que l'absence d'antigène HBs et d'anticorps anti-HIV ait été certifiée, ce produit doit être considéré comme potentiellement infectieux et manipulé avec les précautions habituelles. Aucun test ne peut aujourd'hui apporter la certitude que ce produit dérivé de sang humain ne transmette aucun agent infectieux.

#### Forme lyophilisée :

Ce produit est stable à 2-8°C jusqu'à la date d'expiration indiquée sur chaque conditionnement.

#### Forme liquide :

Après réhydratation, la durée de conservation est identique à celle d'un sérum, sauf pour les phosphatases alcalines dont le taux est stable seulement 1 heure à 20-25°C et 8 heures à 2-8°C.

Les fractions non utilisées peuvent être congelées et décongelées une seule fois. Toutefois, il est recommandé de travailler avec le produit fraîchement repris.

#### VALEURS CIBLES

Pour chaque technique sont données la valeur cible et les limites de confiance correspondant aux résultats obtenus par nos laboratoires. Cependant, nous conseillons aux utilisateurs d'établir leurs propres valeurs cibles.

**Remarque :** Les activités enzymatiques indiquées dans la notice Lytrol «P» ont été établies dans tous les cas sur le produit fraîchement réhydraté.

## Lyotrol «P» Lot n° 321492

### Sérum de contrôle multiparamétrique titré d'origine humaine (pathologique)

Ref. 62 381 Coffret : 6 x 5 ml (lyophilisé)  
Ref. 62 382 Coffret : 16 x 5 ml (lyophilisé)

Lyotrol «P» est un sérum de contrôle lyophilisé, d'origine humaine, multiparamétrique. Il est titré pour les constituants suivants :

● **Electrolytes** : Calcium - Chlorures - Fer - Lithium - Magnésium - Phosphore - Potassium - Sodium.

● **Substrats** : Acide urique - Bilirubine - Créatinine - Glucose - Urée.

● **Protéines** : Protéines totales - Albumine - Globulines.

● **Lipides** : Acides gras non estérifiés - Cholestérol - Lipides totaux - Phospholipides - Triglycérides - Glycerol libre.

● **Enzymes** :  $\alpha$  Amylase - Cholinestérase -  $\gamma$  GT - LDH - Phosphatase acide - Phosphatase alcaline - ASAT / GOT - ALAT / GPT.

Les concentrations de ces constituants sont dans une zone pathologique.

#### Utilisation

Ouvrir avec précaution le flacon afin de ne pas perdre de lyophilisat. Reprendre un flacon par 5 ml d'eau distillée, mesures avec exactitude. Refermer le flacon.

Laisser reposer quelques minutes, puis terminer la dissolution du produit par retournements successifs du flacon (ne pas agiter).

Lyotrol «P» est à utiliser comme un sérum à doser.

#### Attention

Bien que ce produit ait été vérifié pour l'absence d'antigène HBs et d'anticorps anti-HIV, il doit être considéré comme potentiellement infectieux et manipulé avec les précautions habituelles. Aucun test ne peut aujourd'hui apporter la certitude que ce produit dérivé de sang humain ne transmette aucun agent infectieux.

#### Stabilité

##### Forme lyophilisée :

Conservation à 2-8 °C jusqu'à la date d'expiration indiquée sur chaque conditionnement.

##### Forme liquide :

Après rehydratation, la durée de conservation est identique à celle d'un sérum, sauf pour les phosphatases alcalines dont le taux est stable seulement 1 heure à 20-25 °C et 8 heures à 2-8 °C.

Les fractions non utilisées peuvent être congelées et décongelées une seule fois. Toutefois, il est recommandé de travailler avec le produit fraîchement repris.

#### Valeurs cibles

Pour chaque technique sont données la valeur cible et les limites de confiance correspondant aux résultats obtenus par les laboratoires participant à l'établissement des caractéristiques analytiques de Lyotrol «P».

**Remarque** : Les activités enzymatiques indiquées dans la notice Lyotrol «P» ont été établies dans tous les cas sur le produit fraîchement rehydraté.

## Lyotrol «P»

### Multiparametric, assayed, human, control serum (abnormal)

Ref. 62 381 Pack: 6 x 5 ml (lyophilized)  
Ref. 62 382 Pack: 16 x 5 ml (lyophilized)

Lyotrol «P» is a multiparametric, lyophilized, human, control serum. It has been assayed for use in the determination of :

● **Electrolytes** : Calcium - Chloride - Iron - Lithium - Magnesium - Phosphorus - Potassium - Sodium.

● **Substrates** : Uric acid - Bilirubin - Creatinin - Glucose - Urea.

● **Protéins** : Total protein - Albumin - Globulins.

● **Lipids** : Non esterified fatty acids - Cholesterol - Total lipids - Phospholipids - Triglycerids - Free glycerol.

● **Enzymes** :  $\alpha$  Amylase - Cholinestérase -  $\gamma$  GT - LDH - Acid phosphatase - Alkaline phosphatase - ASAT / GOT - ALAT / GPT.

These constituents are within the pathological range.

#### Directions for use

Open a vial taking care not to lose any of the contents. Reconstitute one vial with exactly 5 ml of distilled water. Stopper.

Let stand for a few minutes, then invert the vial gently to ensure complete dissolution (do not shake).

Treat Lyotrol «P» as a serum sample.

#### Caution

This product has been tested and found negative for the presence of HBs antigen and anti HIV antibodies. All blood products should be treated as potentially infectious. No known test methods can offer assurance that products derived from human blood will not transmit infectious agent.

#### Stability

##### Lyophilized :

At 2-8 °C until the expiration date given on the packaging.

##### Reconstituted :

After rehydration, the solution will keep for as long as a serum will apart from the alkaline phosphatases which remain stable for only 1 hour at 20-25 °C and 8 hours at 2-8 °C.

Any remaining solution may be frozen and thawed once only. Nevertheless, it is advisable to work with the product freshly reconstituted.

#### Assay values

The constant and confidence range obtained by laboratories participating in the establishment of the analytical values of Lyotrol «P» are mentioned for each technique.

**Note** : All enzymatic activities given in the insert have been established on freshly reconstituted Lyotrol «P».

Constituant Constituent	Méthode d'analyse Method of analysis	Unités S.I. S.I. units			Unités conventionnelles Conventional units		
		Valeur cible Assay value	Limites de confiance Confidence limits	Unités Units	Valeur cible Assay value	Limites de confiance Confidence limits	Unités Units
<b>ELECTROLYTES</b>							
Calcium	Ca-Kit* bleu de méthylthymol <i>methylthymol blue</i>	2,19	2,11 - 2,27	mmol/l	87,8	84,5 - 91,0	mg/l
	Ca-OCP* o-crésolphtaléine <i>o-cresolphthaleine</i>	2,14	2,04 - 2,24		85,8	81,7 - 89,8	
Chlorures Chloride	Chlor-Kit* volumétrie : Hg - QBA <i>volumetry : Hg - QBA</i>	114	110 - 118		114	110 - 118	
	Cl-Kit* colorimétrie : Hg - TPTZ <i>colorimetry : Hg - TPTZ</i>	110	106 - 114	mmol/l	110	106 - 114	mEq/l
	Chloritest* colorimétrie : Hg(SCN)2 <i>colorimetry : Hg(SCN)2</i>	107	103 - 111		107	103 - 111	
	Coulométrie Cl 900 / <i>Coulometry Cl 900</i>	109	107 - 111		109	107 - 111	
Fer Iron	Fer-Kit* bathophénantroline disulfonée <i>bathophenanthroline disulfonate</i>	17,7	16,1 - 19,3		0,99	0,90 - 1,08	
	Ferimat-Kit* ferrozine	18,7	16,7 - 20,7	μmol/l	1,05	0,93 - 1,16	mg/l
	Ferentest* ferène S	17,9	15,9 - 19,9		1,00	0,89 - 1,11	
Lithium	Photomètre de flamme / <i>Flame photometer</i>	0,96	0,84 - 1,08	mmol/l	0,96	0,84 - 1,08	mEq/l
Magnésium	Mg-Kit* calmagite	1,47	1,37 - 1,57	mmol/l	35,7	33,3 - 38,1	mg/l
Phosphore minéral Phosphorus (inorganic)	P-Kit* phosphomolybdate - sulfate ferreux <i>phosphomolybdate - ferrous sulphate</i>	2,30	2,18 - 2,42		71,3	67,5 - 75,0	
	Phosphore UV* phosphomolybdate Calibration : étalon primaire <i>primary standard</i>						
	sans déduction du blanc sérum <i>without subtracting serum blank</i>	2,28	2,18 - 2,38		70,6	67,5 - 73,7	
	avec déduction du blanc sérum <i>subtracting serum blank</i>	2,07	1,97 - 2,17	mmol/l	64,2	61,1 - 67,3	mg/l
	Calibration : Calimat sans déduction du blanc sérum <i>without subtracting serum blank</i>	2,07	1,97 - 2,17		64,2	61,1 - 67,3	
avec déduction du blanc sérum <i>subtracting serum blank</i>	2,07	1,97 - 2,17		64,2	61,1 - 67,3		
Potassium	Photomètre de flamme / <i>Flame photometer</i>	6,04	5,88 - 6,20	mmol/l	6,04	5,88 - 6,20	mEq/l
Sodium	Photomètre de flamme / <i>Flame photometer</i>	125	122 - 128	mmol/l	125	122 - 128	mEq/l
<b>SUBSTRATS</b>							
Acide lactique Lactic acid	Lactate PAP*	4,53	4,23 - 4,83	mmol/l	407	380 - 434	mg/l
Acide urique Uric acid	Acide urique enzymatique UV*	550	510 - 590		92,4	85,6 - 99,1	
	Acide urique PAP*						
	Calibration : étalon primaire <i>primary standard</i>						
	point final sans lecture initiale <i>end point without initial reading</i>	553	523 - 583	μmol/l	92,8	87,8 - 97,9	mg/l
	point final avec lecture initiale <i>end point with initial reading</i>	518	488 - 548		87,1	82,0 - 92,1	
	Calibration : Calimat point final sans lecture initiale <i>end point without initial reading</i>	503	473 - 533		84,6	79,5 - 89,6	
point final avec lecture initiale <i>end point with initial reading</i>	514	484 - 544		86,4	81,4 - 91,4		
Uricacid-Kit* réactif phosphotungstique <i>phosphotungstic reagent</i>	543	513 - 573		91,3	86,2 - 96,3		
Bilirubine Bilirubin	Bilirubine-Kit* acide sulfanilique + caféine <i>sulfanilic acid + caffeine</i>	48,9	45,9 - 51,9	μmol/l	28,6	26,9 - 30,4	mg/l
	Bili-T/D* acide sulfanilique + DMSO <i>sulfanilic acid + DMSO</i>	50,2	47,2 - 53,2		29,4	27,6 - 31,1	
Créatinine Creatinin	Créatinine cinétique* Jaffé	219	194 - 244	μmol/l	24,7	21,9 - 27,5	mg/l
	Créatinine-Kit* Jaffé	236	218 - 254		26,7	24,6 - 28,7	

\* Réactifs prêts à l'emploi bioMérieux / *bioMérieux ready-to-use reagents*

Constituant Constituent	Méthode d'analyse Method of analysis	Unités S.I. S.I. units			Unités conventionnelles Conventional units		
		Valeur cible Assay value	Limites de confiance Confidence limits	Unités Units	Valeur cible Assay value	Limites de confiance Confidence limits	Unités Units
Glucose	<b>Glucose enzymatique PAP*</b> Calibration : étalon primaire <i>primary standard</i> point final / <i>end point</i> cinétique / <i>kinetic</i> Calibration : Calimat point final / <i>end point</i> cinétique / <i>kinetic</i>	10,7 10,6	10,0 - 11,4 9,9 - 11,3	mmol/l	1,93 1,90	1,81 - 2,06 1,77 - 2,03	g/l
Urée Urea	<b>Urée point final UV*</b> <b>Urée cinétique UV*</b> <b>Uréa-Kit S*</b> uréase-Berthelot modifié <i>urease-modified Berthelot</i>	9,9 10,1 10,3	9,1 - 10,7 9,3 - 10,9 9,5 - 11,1	mmol/l	0,59 0,60 0,62	0,55 - 0,64 0,56 - 0,65 0,57 - 0,66	g/l
<b>PROTEINES</b>							
Protéines totales Total protein	<b>Protéines-kit*</b> Calibration : étalon primaire <i>primary standard</i> sans déduction du blanc sérum <i>without subtracting serum blank</i> avec déduction du blanc sérum <i>subtracting serum blank</i> Calibration : Calimat sans déduction du blanc sérum <i>without subtracting serum blank</i> avec déduction du blanc sérum <i>subtracting serum blank</i>	58,6 55,5 56,0 55,5	56,6 - 60,6 53,5 - 57,5 54,0 - 58,0 53,5 - 57,5	g/l	58,6 55,5 56,0 55,5	56,6 - 60,6 53,5 - 57,5 54,0 - 58,0 53,5 - 57,5	g/l -
Albumine Albumin	<b>Albumine-Kit*</b> vert de bromocrésol / <i>bromocresol green</i> <b>Electrophorèse / Electrophoresis</b>	512 61,4 %	482 - 542	µmol/l	35,3 61,4 %	33,3 - 37,4	g/l
Globulines totales Total globulin	<b>Electrophorèse / Electrophoresis</b>	38,1 %			38,1 %		
Alpha 1-globulines Alpha 1 globulin	acétate de cellulose <i>cellulose acetate</i>	2,8 %			2,8 %		
Alpha 2-globulines Alpha 2 globulin	tampon véronal pH 8,6 <i>barbital buffer pH 8.6</i>	8 %			8 %		
Beta-globulines Beta-globulin	coloration par Ponceau S <i>stained by Ponceau S</i>	8,8 %			8,8 %		
Gamma-globulines Gamma-globulin		18,5 %			18,5 %		
<b>LIPIDES</b>							
Acides gras non esterifiés Non-esterified fatty acids	<b>NEFA PAP*</b>	456	416 - 496	µmol/l			
Cholestérol	<b>Cholestérol enzymatique PAP*</b>	2,75	2,51 - 2,99	mmol/l	1,07	0,97 - 1,16	g/l
Lipides totaux Total lipids	<b>Lipides-Kit*</b> réactif phosphovanillique <i>phosphovanillic reagent</i>	4,2	3,7 - 4,7	g/l	4,2	3,7 - 4,7	g/l
Phospholipides Phospholipids	<b>Phospholipides enzymatiques PAP*</b>	1,47	1,35 - 1,59	mmol/l	1,14	1,05 - 1,23	g/l
Triglycérides	<b>Triglycérides enzymatiques UV*</b> <b>Triglycérides enzymatiques PAP*</b>	0,58 0,51	0,48 - 0,68 0,41 - 0,61	mmol/l	0,51 0,45	0,42 - 0,60 0,36 - 0,54	g/l
Glycerol libre Free glycerol	<b>Dosage enzymatique</b> <b>Enzymatic assay</b>	0,09		mmol/l	8,7		mg/l

\* Réactifs prêts à l'emploi bioMérieux / *bioMérieux ready-to-use reagents*

## ENZYMES : METHODES CINETIQUES / KINETIC METHODS

Constituant <i>Constituent</i>	Méthodes d'analyse <i>Methods of analysis</i>	UI à 30°C		UI à 37°C	
		Valeur cible <i>Assay value</i>	Limites de confiance <i>Confidence limits</i>	Valeur cible <i>Assay value</i>	Limites de confiance <i>Confidence limits</i>
α Amylase	Cinétique UV - Maltotétraose <i>Kinetic UV - Maltotetraose</i>	47	40 - 54	71	61 - 82
	Cinétique 405 nm - substrat indirect - PNPG7* <i>Kinetic 405 nm - indirect substrate PNPG7*</i>	60	51 - 69	86	73 - 99
	Cinétique 405 nm - substrat direct - CNPG3* <i>Kinetic 405 nm - direct substrate - CNPG3*</i>	59	50 - 68	88	75 - 102
Cholinestérase	Enzyline Cholinestérase*	4024	3420 - 4628	5159	4385 - 5933
GGT	Enzyline GGT S*	42	36 - 48	56	48 - 65
LDH	Optimisé / <i>Optimized</i> DGKC	349	297 - 401	492	418 - 566
Phosphatase alcaline <i>Alkaline phosphatase</i>	Optimisé / <i>Optimized</i> DGKC	167	142 - 192	215	183 - 247
	Standardisé / <i>standardized</i> SFBC / SSCC-SGKC / NVKC	116	99 - 133	166	141 - 191
ASAT / GOT	Optimisé / <i>Optimized</i> DGKC	85	72 - 98	126	107 - 145
	Standardisé / <i>standardized</i> SFBC / IFCC / SSCC-SGKC	114	97 - 131	177	150 - 203
	Tampon Tris, sans pyridoxal 5' phosphate <i>Tris buffer, without pyridoxal 5' phosphate</i>	90	76 - 103	137	116 - 157
ALAT / GPT	Optimisé / <i>Optimized</i> DGKC	103	88 - 119	137	117 - 158
	Standardisé / <i>standardized</i> SFBC / IFCC / SSCC-SGKC	103	88 - 118	145	123 - 166
	Tampon Tris, sans pyridoxal 5' phosphate <i>Tris buffer, without pyridoxal 5' phosphate</i>	96	82 - 111	133	113 - 152

SFBC : Société Française de Biologie Clinique  
 DGKC : Deutsche Gesellschaft für Klinische Chemie  
 SSCC : Société Suisse de Chimie Clinique

SGKC : Schweizerische Gesellschaft für Klinische Chemie  
 NVKC : Nederlandse Vereniging voor Klinische Chemie  
 IFCC : International Federation of Clinical Chemistry

## ENZYMES : METHODES COLORIMETRIQUES / COLORIMETRIC METHODS

Constituant <i>Constituent</i>	Méthodes d'analyse <i>Methods of analysis</i>
Phosphatase acide <i>Acid phosphatase</i>	Phosphatase acide-Kit*
Phosphatase alcaline <i>Alkaline phosphatase</i>	Phosphatase alcaline-Kit*

25,1 U Kind & King/100 ml

\* Réactifs prêts à l'emploi bioMérieux / *bioMérieux ready-to-use reagents*

## ENZYMES : METHODES CINETIQUES / KINETIC METHODS

Constituant <i>Constituent</i>	Méthodes d'analyse <i>Methods of analysis</i>	UI à 30°C		UI à 37°C	
		Valeur cible <i>Assay value</i>	Limites de confiance <i>Confidence limits</i>	Valeur cible <i>Assay value</i>	Limites de confiance <i>Confidence limits</i>
α Amylase	Cinétique UV - Maltotétraose <i>Kinetic UV - Maltotetraose</i>	47	40 - 54	71	61 - 82
	Cinétique 405 nm - substrat indirect - PNP67* <i>Kinetic 405 nm - indirect substrate PNP67*</i>	60	51 - 69	86	73 - 99
	Cinétique 405 nm - substrat direct - CNPG3* <i>Kinetic 405 nm - direct substrate - CNPG3*</i>	59	50 - 68	88	75 - 102
Cholinestérase	Enzyline Cholinestérase*	4024	3420 - 4628	5159	4385 - 5933
GGT	Enzyline GGT S*	42	36 - 48	56	48 - 65
LDH	Optimisé / <i>Optimized</i> DGKC	349	297 - 401	492	418 - 566
Phosphatase alcaline <i>Alkaline phosphatase</i>	Optimisé / <i>Optimized</i> DGKC	167	142 - 192	215	183 - 247
	Standardisé / <i>standardized</i> SFBC / SSCC-SGKC / NVKC	116	99 - 133	166	141 - 191
ASAT / GOT	Optimisé / <i>Optimized</i> DGKC	85	72 - 98	126	107 - 145
	Standardisé / <i>standardized</i> SFBC / IFCC / SSCC-SGKC	114	97 - 131	177	150 - 203
	Tampon Tris, sans pyridoxal 5' phosphate <i>Tris buffer, without pyridoxal 5' phosphate</i>	90	76 - 103	137	116 - 157
ALAT / GPT	Optimisé / <i>Optimized</i> DGKC	103	88 - 119	137	117 - 158
	Standardisé / <i>standardized</i> SFBC / IFCC / SSCC-SGKC	103	88 - 118	145	123 - 166
	Tampon Tris, sans pyridoxal 5' phosphate <i>Tris buffer, without pyridoxal 5' phosphate</i>	96	82 - 111	133	113 - 152

SFBC : Société Française de Biologie Clinique

DGKC : Deutsche Gesellschaft für Klinische Chemie

SSCC : Société Suisse de Chimie Clinique

SGKC : Schweizerische Gesellschaft für Klinische Chemie

NVKC : Nederlandse Vereniging voor Klinische Chemie

IFCC : International Federation of Clinical Chemistry

## ENZYMES : METHODES COLORIMETRIQUES / COLORIMETRIC METHODS

Constituant <i>Constituent</i>	Méthodes d'analyse <i>Methods of analysis</i>
Phosphatase acide <i>Acid phosphatase</i>	Phosphatase acide-Kit*
Phosphatase alcaline <i>Alkaline phosphatase</i>	Phosphatase alcaline-Kit*

25,1 U Kind & King/100 ml

\* Réactifs prêts à l'emploi bioMérieux / *bioMérieux ready-to-use reagents*