

MARIA PROST
Lublin

Nowe dane na temat etiologii i zwalczania zespołu posocznicy karpia

Pierwsze badania na temat etiologii posocznicy karpia pochodzą jeszcze z roku 1930 (24). Stwierdzono wtedy, że jest to choroba zakaźna, wywołana przez bakterie. W ciągu około 40 lat pogląd ten przeważał, a za główny czynnik etiologiczny uważano gatunek bakterii *Aeromonas punctata*. Rozróżniano dwie postaci posocznicy karpia: ostrą i przewlekłą, różniące się zmianami chorobowymi. Często, lecz nie zawsze, z tkanek chorych ryb udawało się izolować *A. punctata*. W roku 1971 ukazała się praca zmieniająca całkowicie dotychczasowe poglądy na etiologię posocznicy. Uznano bowiem, że choroba ta składa się z dwu samodzielnych jednostek chorobowych o różnej etiologii. Autorzy tej pracy (15) twierdzili, że dawna postać ostro posocznicy jest chorobą o wirusowej etiologii, zaś dawna postać przewlekła nie jest chorobą wirusową, a czynnik wywołujący ją nie został wtedy jeszcze określony. Obu wyodrębnionym z dotychczasowej posocznicy chorobom nadano nazwy: wiosenna wiremia karpia oraz *erythrodermatitis*. Jak zwykle w nauce nowy pogląd znalazł zwolenników i przeciwników, a przede wszystkim stał się bodźcem do przeprowadzenia dalszych badań nad etiologią dotychczasowej posocznicy karpia.

Wykonane w wielu krajach prace (głównie we Francji, Jugosławii, W. Brytanii i Związku Radzieckim) potwierdziły słuszność podziału dawnej posocznicy karpia na dwie jednostki chorobowe. Izolowano wielokrotnie wirusa wywołującego wiosenną wiremię karpia i nadano mu nazwę *Rhabdovirus carpio*. Jego materiałem genetycznym jest RNA. Wiriony mają rozmiary 70×180 um, a kształt wielościenny. Optimum wzrostu wirus ten osiąga w kulturze komórkowej FHM w temperaturze $20-22^\circ\text{C}$. Wywołuje efekt cytotatyczny w komórkach kultury po 1—10 dniach inkubacji. W temperaturze 100°C ginie po 5 minutach, zaś temperatury 5 do 20° obniżają znacznie jego zdolność zakaźną. Izolowanym i namnożonym w hodowli wirusem udaje się zakazić zdrowe karpie i wywołać u nich typowe dla wiosennej wiremii objawy chorobowe. Badania doświadczalne (1) wykazały, że w razie obecności wirusów w środowisku wodnym miejscem wnikania ich do organizmu ryby są skrzelka. Dwie godziny po zakażeniu tylko w tym narządzie bowiem udaje się stwierdzić ich obecność. W komórkach skrzelki odbywa się pierwsze namnażanie *Rhabdovirus carpio*. Następnie cząstki wirusa są przenoszone do narządów, w których replikacja ich jest najbardziej intensywna, tj. do nerek, wątroby, śledziony, serca i przewodu pokarmowego.

Wydalanie cząstek wirusa odbywa się wraz z odchodami karpia.

Zakażenie karpia jest możliwe również przez przeniesienie wirusa z ryb chorych na zdrowe za pośrednictwem splewki *Argulus foliaceus*. Ze skorupiaków tych pasożytujących na chorych na wiosenną wiremię karpia udało się wyizolować *Rhabdovirus carpio* (20). Po przeniesieniu splewek z chorych na zdrowe karpie pojawiły się u tych ryb objawy wiosennej wiremii. Z komórek tych ryb izolowano *Rhabdovirus carpio* jeszcze po 102 dniach, zaś z kału po 99 dniach po zakażeniu (18, 19).

Diagnoza wiosennej wiremii polega na izolacji cząstek wirusa inokulowanych i namnażanych w hodowli komórkowej, na obserwacji efektu cytotatycznego w komórkach hodowli oraz na badaniu immuno-diagnostycznym przy pomocy testu neutralizacji z użyciem surowicy immunizowanych królików lub świnek morskich. Stwierdzono, że surowica królików zawierająca przeciwciała przeciw wirusowi zakaźnej martwicy trzustki ryb łososiowatych nie powoduje neutralizacji *Rhabdovirus carpio* (6). Pomocniczą wskazówką diagnostyczną wiosennej wiremii może być również stwierdzenie eozynofilnych ciałek wtrętowych w komórkach mózgowych (6, 11, 25).

Wiosenna wiremia karpia jest chorobą pojawiającą się najczęściej wiosną po podwyższeniu się temperatury wód. Są jednak przypadki zachorowań i w okresie jesiennym, przy czym przebieg choroby w tej ostatniej porze roku jest bardzo podobny do tego, jaki występuje wiosną (19).

Wielokrotna izolacja *Rhabdovirus carpio* z chorych na wiosenną wiremię karpia oraz eksperymentalne wywołanie tej choroby po podaniu zdrowym rybam wydają się niezbicie udowadniać wirusową etiologię tej choroby. Zastanawiające jest więc, dlaczego przez około 40 lat etiologia bakteryjna posocznicy karpia nie wzbudzała zastrzeżeń, a wielokrotnie wyosobniane z chorych karpia bakterie *Aeromonas punctata* uważano za główny czynnik etiologiczny? Wydaje się, że istniały tu co najmniej dwie przyczyny: 1) obok innych bakterii pałeczki z rodzaju *Aeromonas* występują powszechnie w środowisku wodnym oraz w tkankach ryb, co udaje się stwierdzić badaniem bakteriologicznym. Drobnoustroje te mogą niejednorodnie uzyskiwać właściwości patogeniczne dla ryb. Wszystkie te fakty sprzyjały powstaniu poglądu o decydującej i wyłącznej ich roli w etiologii posocznicy karpia, 2) w warunkach hodowlanych u karpia występują często obie jednostki chorobowe —

dziś wyodrębniane z dawnej posocznicy. Dlatego też łatwo mógł powstać pogląd, że jest to jedna choroba.

Wiosenna wiremia karpia, jak każda choroba wirusowa, nie jest łatwa do zwalczania. Znane nam środki lecznicze nie są skuteczne przeciw wirusom. Dlatego też zwalczanie tej choroby opierać się powinno głównie na zapobieganiu. Obok tradycyjnych metod zapobiegawczych sięgnięto obecnie po metodę nową w profilaktyce chorób ryb. Od roku 1977 w literaturze pojawia się bowiem coraz więcej prac na temat immunoprofilaktyki tej choroby. Badania nad produkcją i występowaniem przeciwciał neutralizujących *Rhabdovirus carpio* (3, 7, 13, 17) wykazały, że u karpia istnieje odpowiedź immunologiczna na zakażenie tym wirusem. Stwierdzono u tych ryb obecność przeciwciał w surowicy krwi, przy czym intensywność ich produkcji jest zależna od temperatury — jest ona znacznie większa w temperaturze 25°C aniżeli w 13—14°C (13). Przeciwciała pojawiają się u karpia zarówno po zakażeniu wirusem znajdującym się w wodzie (3), jak i po podaniu rybom w iniekcji dootrzewnowej (14). Obecność przeciwciał neutralizujących w surowicy krwi karpia można stwierdzić do 5-ciu miesięcy po zakażeniu, ale tylko 2 miesiące trwa maksymalne ich miano (3). Zaobserwowano, że aktywność neutralizująca wykazuje 5 frakcji białkowych surowicy krwi karpia, jednak najbardziej wyrażona aktywność występuje we frakcji immunoglobulinowej IgM (13). Próby hyperimmunizacji karpia przez powtarzane 4-krotnie co 2—3 tygodnie podawanie dootrzewnowe *Rhabdovirus carpio* nie dały wyraźnego efektu w aktywności przeciwwirusowej surowicy krwi (13). Stwierdzono również, że dawka podanego wirusa nie ma widocznego wpływu na intensywność odpowiedzi immunologicznej u karpia (13). Dalsze badania wykazały jednak (3), że u karpia zakażonych dootrzewnowo można wywołać syntezę interferonu, a podanie wyższej dawki wirusa powoduje szybszą i intensywniejszą produkcję tego czynnika obronnego. Odpowiedź immunologiczna u karpia jest specyficzna. Wykazano to w badaniach eksperymentalnych z użyciem trzech różnych rbdowirusów: wyosobnionego ze szczupaków, tołpyg i karpia. Aktywność neutralizująca stwierdzano tylko w przypadku podania rbdowirusów izolowanych z tych samych gatunków ryb. Krzyżowa immunizacja dała wynik ujemny (7).

Wszystkie omówione wyżej wyniki badań prowadzą do jednego, praktycznego celu, to jest do opracowania metody szczepień karpia przeciw wiosennej wirerii jako jedynej, realnej możliwości zwalczania tej choroby w warunkach hodowli masowej. Pierwsze doświadczenia na ten temat zostały już wykonane (14). Trzynastomiesięcznym karpom podawano dootrzewnowo i doustnie różne dawki żywego *Rhabdovirus carpio*. W obu przypadkach stwierdzono utrzymywanie się odporności przez 9 miesięcy.

Po 11 miesiącach odporność u immunizowanych karpia znacznie się zmniejszyła. Najbardziej interesujące są jednak wyniki przeprowadzonych równocześnie badań nad aktywnością przeciwciał neutralizujących w surowicy tych ryb. Przeciwciała te były obecne tylko przez 2 miesiące po szczepieniu, a u wielu karpia zarówno po podaniu dootrzewnowym, jak i doustnym nie udało się w ogóle stwierdzić obecności przeciwciał pomimo istniejącej odporności. Wynika z tego, że w surowicy krwi u tych ryb neutralizujące przeciwciała nie stanowią głównego mechanizmu obronnego. Konieczne są więc dalsze intensywne badania tego mechanizmu. W każdym razie immunoprofilaktyka jest postępowaniem zapobiegawczym, które w przyszłości na pewno będzie miało praktyczne zastosowanie przeciw wiosennej wirerii karpia. Możemy już obecnie powiedzieć, że zastosowanie wakcynacji wywołuje odporność u karpia. Procesy obronne karpia są słabo wyrażone w niskich temperaturach wody w okresie wiosennym, dlatego też szczepień należałoby dokonywać latem lub wczesną jesienią. Trwająca przez kilka miesięcy odporność może uchronić karpia przed infekcją w czasie następnej wiosny (14).

Pomimo trudności w terapii chorób wirusowych badania nad zastosowaniem chemicznych środków leczniczych u ryb są jednak prowadzone. W Japonii np. wykonano badania (23) nad leczeniem trzech wirusowych chorób ryb łososiowatych przy użyciu kwasu askorbinowego i izoaskorbinowego z połączeniem z solami metalu ciężkiego np. z siarczanem miedzi. Rybom podawano te związki doustnie w kapsułkach lub z karmą, w iniekcjach dootrzewnowych oraz w kąpielach. Uzyskano pozytywne efekty lecznicze we wszystkich tych sposobach podania, przy czym opracowano dawki dla każdego z nich. Wyniki tych badań dają pewną nadzieję na możliwość stosowania terapii chorób wirusowych ryb.

Etiologii *erythrodermatitis*, drugiej jednostki chorobowej odpowiadającej dawnej postaci przewlekłej posocznicy karpia, początkowo nie udało się określić. Wyniki ówczesnych badań (15) wskazywały, że musi to być czynnik bakteryjny. Wyosobnienie i hodowla tych drobnoustrojów na różnych pożywkach nie udawały się. Stwierdzono, że bakterie te nie są wrażliwe na działanie penicyliny, natomiast inne antybiotyki jak chloramfenikol, kanamycyna, neomycyna, oksytetracyklina i streptomycyna likwidują ich zdolność zakaźną.

W wyniku dalszych badań nad etiologią *erythrodermatitis* (4) wyizolowano z kilku karpia ze zmianami martwicznymi skóry bakterie z rzędu *Cytophagales*. Bakterie namnożone na specjalnej dla tych drobnoustrojów pożywce tzw. agarze Ordala wcierano w skaryfikowaną skórę zdrowych karpia i uzyskano typowe objawy i śmiertelność u ryb. Wyniki tych badań wydawały się tak przekonujące, że bakterie z rzędu *Cytophagales* uznano za decydujący

czynnik etiologiczny *erythrodermatitis*. Dalsze badania (5) wykazały jednak niesłuszność tego poglądu. Z badanych karpki pochodzących z 5-ciu różnych gospodarstw leżących na terenie Jugosławii i jednego w RFN wyizolowano inne drobnoustroje, które uznano za główny czynnik etiologiczny *erythrodermatitis*. Stwierdzono, że są to pałeczki z gatunku *Aeromonas salmonicida*, gramujemne fakultatywnie anerobowe, nieruchliwe, dające pozytywny test cytochromowy. Wymiary tych bakterii wynoszą: $0,7-1,4 \times 0,3-0,6 \mu\text{m}$. Na stałych pożywkach tworzą one kolonie niepigmentowane, rozkładają glukozę bez produkcji gazu. W hodowli rosną najintensywniej w temperaturze 27°C na podłożu zawierającym tryptozę i dodatek końskiej surowicy krwi, a także ampicylinę i polimiksynę B. Bez tych substancji bardzo łatwo przestają inną florę bakteryjną. Nie rosną na wielu pożywkach używanych w bakteriologii, a między innymi na pożywce agarowej stosowanej w hodowli *A. salmonicida* izolowanych z ryb łososiowatych i wywołujących u nich chorobę zwaną wrzodzienicą. Są odporne na penicylinę, ampicylinę i siarczan polimiksyny B. Natomiast są wrażliwe na tetracyklinę (5).

Słuszność uzyskanych wyników badań opisanych wyżej została potwierdzona w dalszych pracach innych autorów wykonanych w roku 1978 (12) oraz w 1979 (27). Badania te wykazały identyczność bakterii wyosobnionych z chorych na *erythrodermatitis* karpki z poprzednio wyizolowanymi w Jugosławii i RFN. Stwierdzono wrażliwość *A. salmonicida* na chloramfenikol, erytromycynę, Furazolidon, neomycynę i oksytetracyklinę. Identyczność tych bakterii wykazano również przy pomocy badania serologicznego (27). Uzyskano bowiem odczyn precipitacji bakterii *Aeromonas salmonicida* izolowanych z chorych karpki pochodzących z różnych rejonów geograficznych. Odczyn ten można również uzyskać po izolowaniu bakterii *A. salmonicida* z ryb łososiowatych. Nie uzyskano precipitacji z *Aeromonas hydrophila*, ani też z *A. punctata*. Po eksperymentalnym, podskórnym zakażeniu zdrowych karpki wyizolowanymi bakteriami *A. salmonicida* w określonej dawce w temperaturze 20°C pojawiają się typowe zmiany skórne w postaci owrzodzeń oraz śmiertelność po kilku dniach. Podskórne zakażenie pstrągów powoduje również wysoką śmiertelność. Powstałe po doświadczalnym zakażeniu zmiany anatomo-patologiczne u ryb łososiowatych są podobne do występujących przy wrzodzienicy, ale niepodobne do zmian skórnych u karpki w przebiegu *erythrodermatitis*. Wyniki tych badań wskazują na pewne pokrewieństwo *A. salmonicida* izolowanych z karpki i ryb łososiowatych. Cechy tych bakterii obserwowane podczas hodowli na pożywkach ujawniają jednak pewne różnice między nimi. *Aeromonas salmonicida* z ryb łososiowatych jest pałeczką produkującą w podłożu tyrozynę przechodzącą w melaninę, czego brak u *A. salmonicida* izolo-

wanych z karpki. Wyosobnienie bakterii wywołujących *erythrodermatitis* możliwe jest jedynie ze skóry chorych karpki; nie udaje się ono z narządów wewnętrznych. Izolacja tych bakterii ze skóry jest możliwa raczej w pierwszym stadium choroby (9—10 dni po zakażeniu), w czasie którego u zakażonych karpki występują jedynie wybroczyny i depigmentacja skóry. W stadium późniejszym po wystąpieniu owrzodzeń wyosobnienie *A. salmonicida* jest znacznie trudniejsze (26). Przeżywalność bakterii wywołujących *erythrodermatitis* w środowisku wodnym trwa tylko kilka godzin (8, 9). Nie rozmnażają się one ani w wodzie, ani też w mule dennym (10). Doświadczalne zakażenie karpki udaje się tylko przez podanie bakterii do skórnicy, a wywołanie zmian skórnych tylko w temperaturze wody powyżej 15°C . W niższej temperaturze karpki pozostają jednak nosicielami tych drobnoustrojów i po podwyższeniu się temperatury pojawiają się u nich typowe zmiany chorobowe i śmiertelność. Wskazywałoby to na możliwość przeżywania tych bakterii przez okres zimowy w organizmie karpki-nosicieli (9). Przypuszcza się, że w rozprzestrzenieniu infekcji odgrywają dużą rolę pasożyty zewnętrzne, a szczególnie splewki i pijawki.

Badania eksperymentalne (26) wykazały, że bakterie *A. salmonicida* giną bardzo szybko w tkankach ryb martwych. Ryby padłe nie są więc źródłem infekcji w stawach.

Zwalczanie *erythrodermatitis* powinno opierać się na zapobieganiu i leczeniu. Spośród metod profilaktycznych należy wymienić: dobre osuszanie stawów po odłowach, nie zarybianie obsadą sprowadzoną z zewnątrz w razie pojawienia się choroby w danym obiekcie hodowlanym, zwalczanie pasożytów zewnętrznych, a zwłaszcza splewek i pijawek, kontrola lekarska umożliwiająca ustalenie, które z gospodarstw należy uznać za dotknięte infekcją, nie wywożenie z nich obsady na zarybianie stawów w innych gospodarstwach, dezynfekcja stawów i narzędzi połowu, umiejętne i ostrożne obchodzenie się z rybami w czasie odłowów i transportu.

Należy przypuszczać, że podobnie jak przeciw wiosennej wirerii, również i przeciw *erythrodermatitis* w przyszłości wykonywane będą próby zastosowania immunoprofilaktyki. Na razie jednak brak doniesień w literaturze na ten temat.

Leczenie *erythrodermatitis* można przeprowadzać przy pomocy antybiotyków i preparatów furanowych. Oprócz stosowanej w Polsce detreomycyny podawanej karpkiom w iniekcjach, karmie i kąpielach zalecana jest (12) tetracyklina do karmy (2 kg na tonę paszy), oksytetracyklina dootrzewnowo w iniekcji (1—3 mg na 100 g masy ciała ryby) lub kąpeli w basenach w roztworze oksytetracykliny w ilości 80—200 g na 1000 l wody przez 12 godzin.

Dotychczasowe wyniki badań na temat etiologii dawnej posocznicy karpki są dostatecznie

przekonujące, by akceptować zamiast niej istnienie dwu jednostek chorobowych o odmiennej etiologii. W praktyce bardzo często obie te choroby występują u karpia równocześnie. Wydaje się więc, że można przyjąć w tym przypadku określenie „zespół posocznicy”. Pogląd taki reprezentują dziś niektórzy ichtiopatolodzy (2, 16, 21, 22).

Piśmiennictwo

1. Ahne W.: J. Fish Dis. 1, 265, 1978.
2. Amlacher E.: Taschenbuch der Fischkrankheiten. VEB Gustav Fischer Verl. Jena, 1976.
3. Baudony A. M., Merle G., Danton M.: Bull. Off. int. Epizoot. 87, 437, 1977.
4. Bootsma R.: Aquaculture 2, 317, 1973.
5. Bootsma R., Fijan N., Blommaert J.: Vet. Arhiv 47, 291, 1977.
6. Bucke D., Finlay J.: Vet. Rec. 104, 69, 1979.
7. Clerx J. P. M., Horzinek M. C., Osterhaus A. D. M. E.: J. gen. Virol 40, 297, 1978.
8. Dubois-Darnaudpeys A.: Contribution à l'épidémiologie de la furunculose des Salmonidés; Devenir de Aeromonas salmonicida dans l'environnement dulçaquicole. Praca dokt., l'Université Pierre et Marie Curie, Paris, 1976.

9. Dubois-Darnaudpeys A., Tuffery G.: Bull. Off. int. Epizoot. 87, 443, 1977.
10. Dubois-Darnaudpeys A., Tuffery G.: Bull. Acad. vét. Fr. 51, 101, 1978.
11. Faktorovič K. A.: Probl. Paraz. 69, 83, 1969.
12. Fijan N.: Ribarstvo 33, 27, 1978.
13. Fijan N., Petrinc Z., Stancl Z., Dorson M., Le Berre M.: Bull. Off. int. Epizoot. 87, 439, 1977.
14. Fijan N., Petrinc Z., Stancl Z., Kezie N., Teskeredzic E.: Bull. Off. int. Epizoot. 87, 441, 1977.
15. Fijan N., Petrinc Z., Sulmanovič D., Zwillenberg Z.: Vet. Arch. 41, 125, 1971.
16. Ghittino P., Beccaria E., Ferrari A.: Riv. It. Piscic. Ittiop. 15, 1, 1980.
17. Hill B. J.: Bull. Off. int. Epizoot. 87, 455, 1977.
18. Pfeil-Putzien C.: Bull. Off. int. Epizoot. 87, 457, 1977.
19. Pfeil-Rutzien C.: Zentbl. Vet. Med. 25 B, 319, 1978.
20. Pfeil-Putzien C., Baath C.: Bert. Münch. tierärztl. Wschr. 91, 445, 1978.
21. Prost M.: Choroby wirusowe i bakteryjne ryb. Akademia Rolnicza w Lublinie, 1976.
22. Roberts R. J.: Fish pathology. Baillière Tindall, London, 1978.
23. Sano Tokuo, Oshima Takeo, Kamata Tokio. Pat. SSA, kl. 424/280, nr 4110457, 1978.
24. Schüperclaus W.: Z. Fisch. 28, 289, 1930.
25. Stankiewicz E.: Acta Ichthyol. Piscat. 7, 35, 1977.
26. Tuffery G., Dehand G.: Bull. fr. Piscicult. 275, 83, 1979.
27. Wiedemann H.: Dtsch. tierärztl. Wschr. 86, 176, 1979.

Adres autora: prof. dr Maria Frost, ul. Akademicka 12, 20-033 Lublin.

DANUTA SZEROW

Badania nad działaniem kąpeli narybku karpia w roztworach detreomycyny w zwalczaniu posocznicy karpia

Z Zakładu Higieny Weterynaryjnej we Wrocławiu

Korzystne działanie detreomycyny (chloramfenikolu) przeciw posocznicy karpia było stwierdzone przez wielu autorów. Stosowane w praktyce dootrzewnowe iniekcje detreomycyny są bardzo dootrzewnowe i u małego narybku karpia nie dają pozytywnych wyników, głównie ze względu na możliwość uszkodzenia narządów wewnętrznych podczas wykonywania zabiegu (7). W okresie wczesnej wiosny często mało przydatny jest też sposób podawania antybiotyku w paszy, gdyż narybek słabo żeruje w niskiej temperaturze wody.

Działaniu kąpeli w roztworach chloramfenikolu w zwalczaniu posocznicy karpia poświęcono nieliczne publikacje. Podają one na ogół rezultaty wycinkowych badań, opartych przeważnie na obserwacjach przeżywalności ryb doświadczalnych w warunkach akwaryjnych lub terenowych, a dawki antybiotyku podawane w tych pracach wykazują duże rozbieżności (1, 2, 3, 4, 9, 12, 13). Jednorazowe oznaczenia chloramfenikolu w surowicy karpia były dokonywane jedynie po 24 godzinnej kąpeli ryb (14, 15). Rozbieżności w dawkowaniu chloramfenikolu drogą kąpeli i nie wyjaśniona dokładnie skuteczność tego zabiegu, który mógłby posiadać duże znaczenie praktyczne, stanowiły podstawę do podjęcia badań własnych.

Celem pracy była ocena działania kąpeli narybku karpia w roztworach detreomycyny, z uwzględnieniem czynników wpływających na skuteczność zabiegu, oraz określenie optymalnych warunków kąpeli przydatnych do celów praktycznych.

Materiał i metody

Badania laboratoryjne

Badania przeprowadzono na klicznie zdrowym narybku karpia określając:

— stężenie detreomycyny w surowicy krwi narybku (ciężar 40–50 g) po kąpeli w szeregu roztworach tego leku w temperaturze środowiska wodnego 10–12°C. Jest to najczęściej występująca temperatura wody podczas zarybiania stawów na Dolnym Śląsku. Do kąpeli ryb służyły roztwory detreomycyny o koncentracjach wzrastających od 100 do 1000 mg/l, a czas kąpeli wynosił od 0,5 do 24 godzin. Badania przebiegały w 21 grupach liczących po 15–42 ryb i łącznie użyto w nich 467 sztuk narybku. Kąpiel ryb przeprowadzano w szklanych akwariach o pojemności 40 l, stosując gęstość obsady 4–8 szt/l. Roztwory wodne detreomycyny produkcji krajowej sporządzano z uprzednio rozpuszczonej detreomycyny w alkoholu etylowym w stosunku 1:10 w temperaturze 70°C. Dla każdej grupy sporządzano świeży roztwór. Krew do oznaczeń pobierano z żyły ogonowej. Oznaczenia detreomycyny przeprowadzano po 2, 6, 12 i 24 godzinach, aż do czasu, kiedy nie udało się metodą dyfuzyjną wykazać antybiotyku w krwi. Oznaczenia powtarzano 4–5 razy z czego obliczano średnią; — wpływ temperatury na poziom i czas utrzymywania się detreomycyny w surowicy krwi narybku z uwzględnieniem temperatury 7–8°C i 18–20°C. Warunki kąpeli (koncentracja i czas kąpeli) oraz sposób pobierania krwi i oznaczania detreomycyny były takie same jak w poprzednich badaniach; — wpływ ciężaru ciała na poziom i czas utrzymywania się antybiotyku w surowicy z użyciem trzech wielkości narybku; 25–30 g, 40–50 g i 80–100 g. Ryby kapano przez 1 godzinę w roztworze leku o stężeniu 1000 mg/l w temp. 10–12°C, poziom detreomycyny oznaczano po 24, 48 i 72 godzinach po zakończeniu kąpeli, powtarzając każde oznaczenie sześciokrotnie; — przydatność roztworu detreomycyny do wykonywania wielokrotnych kąpeli z użyciem 10 różnych grup narybku o ciężarze 20–25 g kapanego przez 1 godzinę w roztworze o koncentracji 1000 mg/l w