

## Piśmiennictwo

1. Zootechnika, 1. 2, Wl. Herman (red), PWRIL, Warszawa 1987.
2. Dodd F. H., Kingwill R. G.: Proc. Nat. Inst. Res. Dairyring 1960, s. 25.
3. Flis I., Flis J., Groniek H., Groniek W., Zieliński Z.: Medycyna Wet. 29, 281, 1973.
4. Grajewski H., Mazur J., Wiśniowski J.: Medycyna Wet. 28, 672, 1972.
5. Jackson E. R.: Vet. Rec. 87, 2, 1970.
6. Kostrzyński S.: Medycyna Wet. 36, 99, 1980.
7. Kozanecki M., Kostrzyński S.: Medycyna Wet. 43, 522, 1987.
8. Krzyżanowski J., Wawron W., Wrona Z., Malinowski E., Moryś L.: Medycyna Wet. 31, 237, 1975.
9. Krzyżanowski J., Malinowski E., Koziej J., Mazur Z.: Medycyna Wet. 37, 356, 1981.
10. Malinowski E., Krzyżanowski J.: Medycyna Wet. 38, 161, 1982.
11. Oliver J.: Proc. Internat. Dairy Federation. Doc. 85, s. 188, 1975.
12. Ramisz A., Damm A., Serafin Cz., Stasiak A., Czerwonka K., Grzebinoga K.: Medycyna Wet. 26, 159, 1970.
13. Samborski Z.: Medycyna Wet. 25, 449, 1969.
14. Samborski Z.: Medycyna Wet. 29, 321, 1973.
15. Wiśniowski J., Grajewski H.: Zesz. probl. Post. Nauk rol. 95, 399, 1969.

Adres autora: dr Marek Kozanecki, ul. Ireny 85, 05-806 Komorów

Козанецкий М., Бужинский А., Дрождж А., Бжозовский П., Костшинский С. — **Уровень инфекции вымси у коров доенных механически и вручную в индивидуальных хозяйствах**

Цель работы состояла в определении уровня инфекции молочной железы коров доенных вручную и механически, в индивидуальных хозяйствах, в которых не боролись с маститом.

В дольном молоке исследуемых коров отмечались чаще всего коагулазо-отрицательные стафилококки и стрептококки безмолочности (таб. 1). В пастбищном сезоне наблюдался вышний уровень

инфекции проб дольного молока от коров, доенных механически. Долей, свободных от микроорганизмов, было в коровниковом сезоне 65,8% этот для обоих способов доения. В пастбищном сезоне процент растет в коровниках с доением вручную и уменьшается в коровниках с механическим доением.

Наиболее значительные различия в структуре инфекций молочной железы у инфицированных коров были связаны с появлением *Streptococcus agalactiae*. Его наличие было отмечено в 29,7% всех инфицированных долей у коров, доенных механически, и 44% долей коров, доенных вручную (таб. 2).

Kozanecki M., Burzyński A., Drożdż A., Brzozowski P., Kostrzyński S. — **The level of udder infection in cows mechanically and hand milked in individual farms**

The objective of the work was to determine the level of udder infections in cows hand and mechanically milked in individual farms in which mastitis was not under a control. Coagulase-negative staphylococci and lactic streptococci were prevalent in milk from individual quarters (Tab. 1). In grazing season a higher percentage of quarter milk of cows mechanically milked was infected. In a stabulation period percentage of quarters free of infection was identical for two methods of milking and reached 65.8%. In grazing season this percentage increases in cowsheds with a hand milking and lowers in cowsheds with a mechanical milking. The most significant differences in a structure of udder infections in infected cows concerned the prevalence of *Streptococcus agalactiae*. It was found in 29.7% of infected quarters in cows mechanically milked and in 44% of quarters in cows hand milked (Tab. 2).

WITOLD OLECH

## Przydatność histochemicznego określania glikogenu w wątrobie karpi do oceny ich zdrowotności\*)

Katedra Epizootiologii i Klinika Chorób Zakaźnych Wydziału Weterynaryjnego AR, Pl. Grunwaldzki 45, 50-366 Wrocław

### Material i metody

Histochemicznymi badaniami glikogenu w wątrobie zwierząt wyższych zajmuje się wielu autorów. W dostępnej literaturze, poświęconej badaniam glikogenu w wątrobie ryb, znalaziono tylko jedną pracę (1). Dotyczy ona kroczków karpia ( $K_2$ ) zdrowych i chorych na różne postaci posocznicy.

W prezentowanej pracy badano wątrobę karpia jednorocznych ( $K_1$ ) i dwuletnich ( $K_2$ ) zdrowych i chorych na SVC — wiosenną wiremię karpia, CE — krwotoczne zapalenie skóry karpia i ZPP (SBI) — zapalenie pęcherza pławnego, aby stwierdzić o ile te zakaźne choroby wpływają na zawartość glikogenu w tym narządzie. Równocześnie próbowano ustalić czy histochemiczny odczyn na glikogen może stanowić wykładnik tych zmian w celu dokładniejszego określenia zdrowotnego stanu karpia hodowlanych, a przede wszystkim ich przydatności do dalszej hodowli.

\*) Praca finansowana przez Instytut Rybactwa Śródlądowego w Olsztynie.

Badaniom poddano 75 karpia hodowlanych, pochodzących z ośmiu Państwowych Gospodarstw Rybackich, w tym 36 sztuk  $K_1$  o wadze 30—140 g i 39 sztuk  $K_2$  o wadze 100—350 g.

Na podstawie badań klinicznych i sekcyjnych zarówno  $K_1$ , jak i  $K_2$  dzielono na grupy: ryby zdrowe i chore. Karpie  $K_1$  chore wykazywały zmiany charakterystyczne dla bezobjawowej postaci zapalenia pęcherza pławnego (ZPP) oraz ZPP powikłanego przez krwotoczne zapalenie skóry karpia (CE). Natomiast u  $K_2$  stwierdzone zmiany wskazywały na występowanie wiosennej wiremii karpia (SVC) o podostym przebiegu.

Badania przeprowadzono wiosną (25.III.—21.V.1982 r.) w kilku seriach oraz latem (3.VIII.1982 r.). Grupa ryb badana latem zawierała jedynie karpie zdrowe, gdyż w tym okresie nie było już na naszym terenie stawów wykazujących obecność wspomnianych chorób. W okresie badań wiosennych ryby zdrowe miały wyraźnie wypełnione jelito, natomiast u chorych stwierdzono niewielkie ilości pokarmu naturalnego w tym narządzie.

Wycinki wątroby pobierano w czasie sekcji, którą wykonywano na terenie gospodarstwa (ryb nie transportowano do pracowni) i utrwalano w płynie AFA. Glikogen wykrywano wg metody Besta (2) z pominię-

ciem barwienia jąder komórkowych hematoksyliną. Grubość skrawków wynosiła 10  $\mu\text{m}$ . Skrawki trawione amylazą stanowiły kontrolę reakcji. Aby ograniczyć czas badań zastosowano płyn utrwalający bez dodatku kwasu pikrynowego oraz wybrano najorostrzą reakcję do histochemicznego wykrywania glikogenu.

Intensywność odczynu porównywano przy użyciu mikroskopu i określono: bardzo mocny (++++) — przy jednorodnej intensywnie wybarwionej masie wypełniającej całą komórkę wątrobową; mocny (+++) — gdy reakcja miała charakter ziarnisty, a każdy hepatocyt był mocno wypełniony glikogenem (ryc. 1); średni (++) — gdy komórki wątrobowe były słabiej wypełnione ziarnami glikogenu (ryc. 2); słaby (+) — gdy ilość ziaren w komórkach była mniejsza niż poprzednio; brak odczynu (-) wystąpił tylko w preparatach kontrolnych (ryc. 3). Natomiast oznaczenia — odczyn wątpliwy (+-) używano w tych przypadkach, kiedy ziarna glikogenu były nieliczne i nie występowały we wszystkich hepatocytach. Przeglądu preparatów (celowo zaszyfrowanych dla większego zobiektywizowania wyników) dokonano nie sugerując się przynależnością ryb do grupy chorych lub zdrowych.

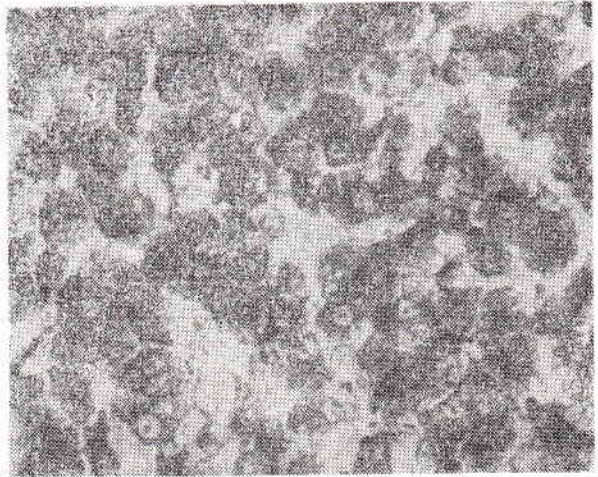
### Wyniki i omówienie

Wyniki badań przedstawiono w tab. 1.

Jak wykazały wyniki przeprowadzonych badań u karpia zdrowych ( $K_1$  i  $K_2$ ) intensywność odczynów na zawartość glikogenu w wątrobie, w zdecydowanej większości, określono jako reakcję mocną (+++) i bardzo mocną (++++)). U  $K_1$ , ten zakres intensywności odczynu stwierdzono u czterokrotnie (13:3), a u  $K_2$  sześciokrotnie (18:3) większej liczby osobników w porównaniu z tymi, które zaszeregowano do grup z odczynem średnim (++) i słabym (+). Należy podkreślić, że odczyn słaby stwierdzono tylko u jednego karpia  $K_1$ . Ryba ta była w dobrej kondycji, ważyła 50 g i była o 5—10 g cięższa od kilku innych, pochodzących z tego samego stawu, nadto podczas sekcji nie stwierdzono żadnych zmian. Trudno więc wyjaśnić, co spowodowało słabą reakcję u tej ryby. Mimo to wydaje się, że u karpia zdrowych intensywność odczynu poniżej poziomu średniego (++) nie powinna występować. Można więc przyjąć, iż zakres intensywności reakcji między bardzo mocną a średnią jest zjawiskiem normalnym dla osobników zdrowych i w pełni żerujących. Powyższe stwierdzenie wydaje się potwierdzać fakt występowania odczynu mocnego (+++) u czterech spośród pięciu zbadanych karpia serii letniej (u jednego odczyn określono jako średni), a zaliczonych do grupy ryb zdrowych.

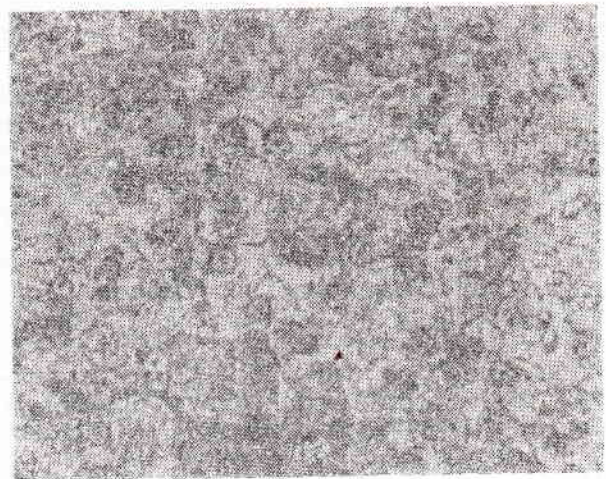
U ryb chorych ( $K_1$  i  $K_2$ ) na ZPP lub SVC najwyższy poziom intensywności odczynu określono jako średni (++)). Poziom ten (u karpia zdrowych najniższy) wykazała tylko połowa badanych osobników. U pozostałych 50% chorych karpia intensywność reakcji okazała się jeszcze słabsza i kształtowała się w granicach odczynu słabego i wątpliwego.

W przypadku ryb chorych równocześnie na dwie choroby, tj. na ZPP i CE ( $K_1$ ), mimo małej liczby zbadanych osobników, wyniki badań wskazują na jeszcze bardziej zdecydowane przesunięcie poziomu reakcji w kierunku odczynu

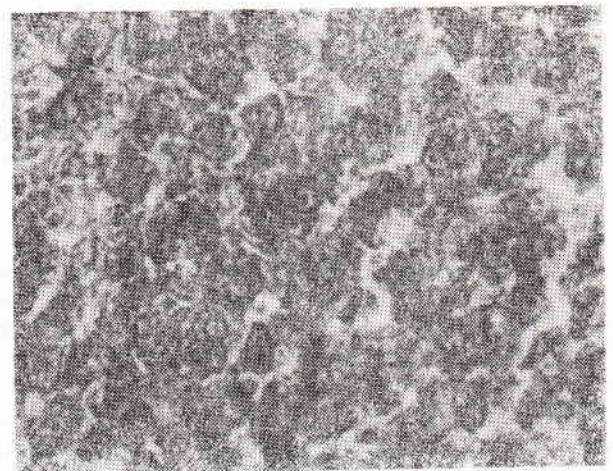


Ryc. 1. Odczyn na glikogen w wątrobie karpia, wykonany metodą Besta\*). Jego intensywność określano jako mocną (+++). Pow. ok. 300X

Objaśnienie: \*) — jąder komórkowych nie podbarwiano.



Ryc. 2. Odczyn na glikogen w wątrobie karpia, wykonany metodą Besta\*). Jego intensywność określano jako średnią (++)). Pow. ok. 300X



Ryc. 3. Skrawek wątroby karpia trawiony amylazą\*). Brak odczynu na glikogen. Pow. ok. 300X

Tab. 1. Porównanie intensywności odczynów na glikogen w wątrobie karpi K<sub>1</sub> i K<sub>2</sub> zdrowego i chorego

Ryby		Intensywność odczynu i liczba przypadków					Razem
zdrowe	chore	b.mocny (+++)	mocny (++)	średni (+)	słaby (+)	wątpliwy (+-)	
K <sub>1</sub>	—	3	10	2	1	0	16
K <sub>2</sub>	—	4	14	3	0	0	21
—	K <sub>1</sub> - ZPP (SBI)	0	0	7	5	3	15
—	K <sub>1</sub> - ZPP; CE	0	0	1	1	3	5
—	K <sub>2</sub> - SVC	0	0	9	7	2	18
razem:		7	24	22	14	8	75

Objaśnienia: ZPP (SBI) — zapalenie pęcherza pławnego, CE — krwotoczne zapalenie skóry karpi, SVC — wiosenna wiremia karpi.

ujemnego. Bowiem u trzech, spośród pięciu badanych sztuk, stwierdzono odczyn wątpliwy, a u jednej słaby. Ryba piąta wykazała intensywność odczynu na średnim poziomie.

Tak więc u ryb chorych na jedną chorobę (ZPP lub SVC) stosunek intensywności odczynu określonego jako średni do słabego i wątpliwego ma się jak 1:1, w przypadku karpi chorych na dwie choroby (ZPP i CE) ten stosunek wynosi odpowiednio 1:4.

Aby móc porównać wyniki badań własnych z wynikami Amlachera (1) należałoby ujednoczyć oznaczenia intensywności odczynu. Przyjmując, że autor ten określa „odczyn w normie” lub „normalne zachowanie się odczynu” jako reakcję „mocnopozytywną” ++ i „pozytywną” + (Amlacher podaje znaki plus bez nawiasów), to w prezentowanych badaniach oznaczono ten zakres jako reakcje bardzo mocną (+++), mocną (++) i średnią (+). Pozostałe odczyny w obu pracach oznaczono podobnie tj. „słabopozytywny” (+) — słaby (+) (znak plus w nawiasie w obu pracach) z tym, że Amlacher w swoich badaniach uzyskał również wyniki „ujemne” (-), których w niniejszej pracy nie stwierdzono. Występowały natomiast reakcje określone jako wątpliwe (+-).

Porównując wyniki badań własnych z wynikami uzyskanymi przez Amlachera (1) można przyjąć, iż są one u ryb zdrowych niemal identyczne. W obu pracach odczyn słaby stwierdzono tylko u jednej ryby, pozostałe badane osobniki wykazywały intensywność odczynu na glikogen w wątrobie w granicach od średniego „pozytywnego” wzwyż. Powyższe rezultaty uzyskał Amlacher badając ogółem 24 szt. zdrowych kroczków, zaś badania własne obejmowały 16 — K<sub>1</sub> i 21 — K<sub>2</sub>, łącznie 37 karpi zdrowych. Godnym podkreślenia jest fakt zbieżności uzyskanych wyników u K<sub>1</sub> i K<sub>2</sub>, mimo, iż narybek jako organizm młodszy i delikatniejszy jest bardziej wrażliwy na zmiany zachodzące w srodowisku.

Z porównania, w obu pracach, rezultatów badań przeprowadzonych u ryb chorych wynika, że nie są one tak bardzo zbieżne, jak w przypadku ryb zdrowych. Podobieństwo dotyczy jednak wyraźnie ogólnej tendencji zachowania się

intensywności odczynu, tj. przesuwania się go w kierunku reakcji ujemnej. Najwyraźniej widać to porównując wyniki otrzymane u kroczków chorych na „podostrą formę posocznicy z wodobrzuszem” (1) z K<sub>2</sub> chorymi na SVC o podostym przebiegu. W badaniach własnych intensywność odczynu u poszczególnych osobników była następująca: 9 przypadków — odczyn średni, 7 — słaby, — 2 — wątpliwy (tabela 1), a stosunek intensywności odczynu średniego do słabego i wątpliwego wynosi, o czym już wspomniano, jak 1:1. Amlacher uzyskał w 5 przypadkach — odczyn „słabopozytywny” (+) i w 6 — „ujemny”, a więc powyższy stosunek przedstawia się u niego jak 0:11. Wynika stąd, że intensywność odczynu jest w tym wypadku zdecydowanie przesunięta w kierunku odczynu ujemnego. Różnice te wystąpiły prawdopodobnie dlatego, że kroczi użyte do badań własnych przebywały w stawie niemal do ostatniej chwili przed dokonaniem sekcji\* i uzyskaniem materiału. Mogły więc pobierać pokarm naturalny i pobierały go w niewielkich ilościach, na co wskazują wyniki sekcji jelita. Miały zatem, w pewnym stopniu, możliwość stałego uzupełniania zasobów energetycznych. Natomiast kroczi badane przez Amlachera przebywały w betonowych basenach oraz w stawach doświadczalnych i mimo, iż otrzymywały pokarm (jęczmień) widocznie nie wykorzystywały go. Ponadto uległy stresowi wskutek transportu. Różnice otrzymanych rezultatów mogły wystąpić też stąd, iż badania obu grup ryb przypadły na różne stadium przebiegu choroby, a więc różny stopień uszkodzenia komórek wątrobowych. Wreszcie sam proces zakażenia karpi był w obu doświadczeniach różny: w niniejszej pracy naturalny, w badaniach Amlachera sztuczny (doświadczalny), zakażenie to, jak można wnioskować miało charakter mieszany, tj. pałeczkami *Aeromonas* i zarazkiem przesączalnym.

Na tym przykładzie widać wyraźnie, że gdyby należało określić (przy podobnym obrazie sekcyjnym) przydatność ryb użytych do badań własnych i zbadanych przez Amlachera do dalszej hodowli, to na podstawie uzyskanych rezultatów niewątpliwie rokowanie byłoby znacznie korzystniejsze dla obsady, z której pobrano materiał do badań własnych.

Tendencja przesuwania się intensywności odczynu w kierunku reakcji ujemnej jest zachowana również przy porównywaniu wyników uzyskanych w badaniach własnych u  $K_1$  chorego na ZPP oraz na ZPP i CE z odpowiednimi wynikami, uzyskanymi przez Amlachera (1) u  $K_2$  chorego na „podostłą formę posocznicy bez wodobrzusza” oraz na „chroniczną formę posocznicy z niewielkim wodobrzuszem”. Porównanie takie nie będzie pozbawione podstaw mimo różnicy wieku u porównywanych ryb, szczególnie jeśli przyjmie się pogląd o wspólnej etiologii ZPP i SVC.

Zestawiając wyniki uzyskane przy ZPP i „podostrej formie posocznicy bez wodobrzusza” w obu pracach otrzymano stosunek intensywności odczynu średniego („pozytywnego”) do słabego i wątpliwego („slabopozytywnego” i „ujemnego”) właściwie taki sam. Mimo drobnych różnic można przyjąć, iż wyraża się on jak 1:1 (1:1,5). Dla ZPP ten stosunek wyniósł z 7 przypadków zaliczonych do odczynu średniego, 5 — słabego i 3 — wątpliwego, a dla „podostrej formy posocznicy bez wodobrzusza” z 7 przypadków reakcji „pozytywnej”, 9 — „slabopoztywnej” i 2 — „ujemnej”.

Nie wykazują też większych różnic wyniki, które uzyskano w badaniach u  $K_1$  chorych na ZPP+CE w stosunku do  $K_2$  chorego na „chroniczną formę posocznicy z niewielkim wodobrzuszem”. Stosunek liczby przypadków zaliczonych do odczynu średniego („pozytywnego” wg Amlachera) w odniesieniu do słabego i wątpliwego („slabopozytywnego” i „ujemnego”) jest praktycznie również taki sam i wyraża się jak 1:4 (1:5). Mimo, że został on w obu pracach uzyskany na podstawie małej liczby badań — 5 (6) ryb, w dodatku będących w różnym wieku, to jednak tendencja stwierdzona na podstawie badań własnych, związana z przesuwaniem się reakcji w kierunku ujemnej, przy zapadaniu rybną na dwie choroby w pełni została potwierdzona wynikami, które otrzymał Amlacher.

Jak wynika z badań własnych i omawianych badań Amlachera, u karpia (podobnie jak u zwierząt wyższych), w przypadku każdej choroby zakaźnej, przebiegającej z uszkodzeniem wątroby oraz brakiem łaknienia, występuje spadek intensywności odczynu, a więc i prawdopodobnie poziomu glikogenu w tym narządzie. Będzie on, jak się wydaje, niezależnie od wieku tym większy, im przebieg procesu będzie ostrzejszy, lub jeśli ryby zapadną na więcej niż jedną chorobę.

### Wnioski

1. U ryb chorych na SVC, CE, ZPP i ZPP+CE następuje wyraźne zmniejszenie intensywności odczynu na glikogen w wątrobie  $K_1$  i  $K_2$  w porównaniu do karpia zdrowych. Odczyn kształtuje się u karpia chorych w przedziale od średniego do wątpliwego, u zdrowych — od średniego do bardzo mocnego.

2. Histochemiczne badanie intensywności reakcji na glikogen w wątrobie ryb może stanowić element diagnostyczny, pozwalający bliżej określić ogólny stan zdrowia karpia, a tym samym ich przydatność do dalszej hodowli.

### Pismienictwo

1. Amlacher E.: Arch. Fischereiw. 9, 97, 1953.
2. Baginski S.: Technika mikroskopowa. PWN, Warszawa 1965.

Adres autora: dr Witold Olech, ul. Legnicka 24/36, 53-673 Wrocław

Olech W. — Пригодность гистохимического определения содержания гликогена в печени карпов для оценки состояния их здоровья

Исследовали 75 карпов, в том числе 36 шт. однолетков —  $K_1$  и 39 двухлетков —  $K_2$ . У больных  $K_1$  наблюдалась бессимптомная форма воспаления плавательного пузыря (ZPP), а также ZPP с осложнением в виде кровотоочивого воспаления кожи карпов (CE). Зато у  $K_2$  проявилась весенняя краснуха карпов (SVC) в индустриальной форме. Вырезки печени фиксировали в жидкости АГА, гликоген обнаруживали по методу Беста (2). Срезы, травленные амиллазой, являлись контролем реакции. Интенсивность реакции сравнивали с помощью микроскопа и определяли: очень сильная (+++), сильная (+++), средняя (++), слабая (+), а также сомнительная (+-). У здоровых карпов интенсивность реакции, в большинстве случаев, определяли как сильную (31 особь), 6 остальных особей отнесли к группе со средней (5) и слабой (1) реакциями. У больных с ZPP и SVC самый высокий уровень реакции определяли как средний (16), у остальных 17 особей — как слабой (12) и сомнительной (5).  $K_1$  — с ZPP + CE проявили интенсивность, ещё более направленную к отрицательной реакции — среднюю (1), слабую (1), сомнительную (3). Полученные результаты указывают на то, что у карпов, болеющих SVC, ZPP и ZPP + CE, отмечается резкое снижение интенсивности реакции на гликоген в печени  $K_1$  и  $K_2$  по сравнению со здоровыми, а также, что гистохимическое исследование гликогена в этом органе может являться элементом диагноза, определяющими ближе общее состояние здоровья карпов.

Olech W. — Usefulness of histochemical determination of glycogen in the liver of carps for the estimation of their health condition

The experiment was carried out on 75 carps including fry in the first year of breeding — group  $K_1$  and in the second year of breeding —  $K_2$  (39 carps). The diseased  $K_1$  showed asymptomatic swim-bladder inflammation of carps (SBI) and complicated by erythrodermatitis (CE)  $K_2$  exhibited subacute spring viraemia of carps (SVC). The samples of the liver were fixed in AFA liquid, and glycogen was detected by Best's method. The sections digested with amylase served as controls of the reaction. The intensity of the reaction was observed under a microscope and was estimated as: very strong (+++), strong (+++), moderate (++), weak (+), doubtless (+-). The reaction of healthy carps was usually strong or very strong (in 31 individuals); in the remaining 6 individuals it was moderate and in 1 only weak. In diseased carps with the signs of SBI and SVC the reaction was moderate (in 16 individuals). In other 17 individuals the reaction was weak (12) and in 5 — doubtless.  $K_1$  with diagnosed SBI+CE showed a tendency to negative reaction (moderate — 1, weak — 1, doubtless — 3). The findings prove that young carps suffering from SVC, SBI and SBI+CE exhibit reduced levels of responsiveness to glycogen in  $K_1$  and  $K_2$  livers in comparison to controls. Moreover, histochemical assessment of glycogen in the liver can be a diagnostic element determining a general health of carps.