

37. Zwierz J., Konarska D., Mądrala J., Wasilewska E.: Pol. Tyg. Lek. 39, 1496 (1961).
 38. Zwierz J., Zwierzchowski J., Durlakowa I., Karmańska K.: Med. Wet. 2, 65 (1956).
 Adres autora: prof. dr Józef Zwierz, Wrocław, Nowy Targ 21 m. 4.

Звезж Ю., Карманьска К., Конарска Д. — **Противолептоспирозные антитела в сыворотках животных и людей.**

Исследовали на лептоспироз сыворотки 2791 людей и 11 867 животных (6445 лошадей, 2114 крупного рогатого скота, 1025 собак, 1004 лисиц, 917 свиней и 362 овцы). Положительные результаты в реакции агглютинации установили у 41.69% лошадей, 15.76% крупного рогатого скота, 62.54% собак, 45.12% лисиц, 15.16% свиней, 2.49% овец и 32.28% людей. Уровень положительного титра колебался в пределах от 100 до 204 800. Во многих случаях очередные исследования выявляли рост титра, а в нескольких — серологическое исследование было подтверждено изолированием лептоспир. Благодаря применению в реакции агглютинации всех актуальных стандартных штаммов

лептоспир установили, между прочим, антилептоспирозные противотела для *L. medianensis* в сыворотке человека и для *L. cynopteri* в сыворотках человека, собаки и коровы, что по данным доступной авторам литературы является первым того рода наблюдением.

Zwierz J., Karmańska K., Konarska D. — **Leptospirosis antibodies in the serum of animals and humans.**

The authors tested 2791 people and 11.867 animals for leptospirose (6.445 horses, 2.114 cattle, 1.025 dogs, 1.004 foxes, 917 pigs and 362 sheep). A positive result in the agglutination test was found in 41.69% of horses, 15.75% of cattle, 62.54% of dogs, 45.12% of foxes, 15.16% of pigs, 2.49% of sheep and 32.28% of humans. Titres varied from 1.100 to 1.204800. In many cases successive test revealed a rise in titre, in a few the serological tests were confirmed by the isolation of a strain. Using all the present standard strains in the agglutination test, inter alia the authors found antibodies of anti-*L. medianensis* in the human serum, an anti-*L. cynopteri* in the human-, dog- and cowserum. As is learnt from the literature available, this is the first report of this kind.

ZYGMUNT CYGAN, KRYSZYNA WAWRZKIEWICZOWA

Clostridium perfringens typu A w stanach zapalnych przewodu pokarmowego zwierząt

Wojewódzki Zakład Higieny Weterynaryjnej w Lublinie
 Kierownik: dr TADEUSZ DĄBROWSKI

Katedra Mikrobiologii Wydziału Wet. WSR w Lublinie
 Kierownik: prof. dr TADEUSZ JASTRZĘBSKI

Typ A *Clostridium perfringens* w patologii człowieka odgrywa poważną rolę zarówno w przypadkach zgorzeli gazowych jak i zatruc pokarmowych (5, 9, 12, 14, 15, 17, 19, 33). Spornym i niezupełnie jeszcze wyjaśnionym problemem jest udział typu A *Clostridium perfringens*, lub niektórych jego odmian w stanach zapalnych jelit i zatruciach pokarmowych u zwierząt (26). Typ A *Cl. perfringens* jest drobnoustrojem bardzo rozpowszechnionym w przyrodzie i może być wyosobniany z przewodu pokarmowego zdrowych ludzi i zwierząt (10, 20, 21, 32). W związku z tym wyosobnienie tego drobnoustroju z materiału chorobowego nie stanowi dowodu co do ewentualnej jego roli etiologicznej w schorzeniu. Dlatego też Sterne i Thomson (31) zalecają ostrożność przy analizowaniu przypadków sugerujących możliwość udziału *Cl. perfringens* typu A w niezżytach jelit i enterotoksemiach zwierząt. Autorzy zalecają konieczność ujęcia kompleksowego obejmującego przede wszystkim badanie bakteriologiczne treści przewodu pokarmowego na obecność zarazków i toksyn letalnych, zmiany anatomopatologiczne, oraz semiotykę schorzenia. Istnieją jednak doniesienia zdające się wskazywać na udział *Cl. perfringens* typu A zarówno w niezżytach przewodu pokarmowego, jak i w enterotoksemiach u zwierząt. Rose i Edgar (28) uważają, że typ A wywołał opisane przez nich przypadki enterotoksემii przebiegającej z objawami żółtaczki u bydła w Austrii. Podobne wnioski wysunął Schofield (29), który izolował typ A od bydła w

Kalifornii. W 1958 r. Shirley (30) doniósł o epizootii „enteritu” u cieląt w St. Zjednoczonych, a Mc Gowan (16) opisał enterotoksęmię u owiec. W obu ostatnich przypadkach czynnikiem patogennym miały być laseczki *Cl. perfringens* typu A. O udziale tych laseczek w toksoinfekcjach pokarmowych zwierząt mięsożernych donoszą także prace Prevot i wsp. (25) oraz Boulay i Boulay (1). Pierwsi z nich opisali cztery epizootie u nerek przebiegające z objawami zatrucia pokarmowego i z dużą śmiertelnością. Drudzy donieśli o wyosobnieniu szczepów typu A *Cl. perfringens* zarówno z treści przewodu pokarmowego, jak i z karmy psów padłych w następstwie pokarmowej toksoinfekcji. Prevot i wsp. (25) podają, że w okresie od 1949 do 1961 zarejestrowano we Francji 51 ognisk schorzeń beztlenowcowych u różnych gatunków zwierząt domowych wywołanych przez typ A *Cl. perfringens*. Autorzy podkreślają fakt wyosobnienia jedynie typu A, podczas gdy w latach wcześniejszych dominowały typy zwierzęce *Cl. perfringens*. Schorzenia wywołane przez typ A przebiegały bądź w formie ostrych enterotoksემii, bądź w formie zwykłych niezżyków; niekiedy cechowały je jedynie stany zapalne nerek, wątroby, otrzewnej, dróg żółciowych itp.

Rola *Cl. perfringens* w etiologii schorzeń przewodu pokarmowego u drobiu była do niedawna jeszcze sprawą sporną. Dopiero w 1961 r. Parish (23, 24) udowodnił udział *Cl. perfringens* w tzw. „necrotic enteritis” u ptaków rzeźnych. Drobnoustrojem odpowiedzialnym za to

schorzenie okazały się laseczki termooporne *Cl. perfringens* typu C. W tym samym okresie *Prevot* (25) wyosobnił w czystej hodowli *Cl. perfringens* typu A z narządów padłego z objawami intoksykacyjnymi gołębia pocztowego. W piśmiennictwie krajowym znaczenie typu A *Cl. perfringens* w zatruciach pokarmowych u ludzi podkreślił pierwszy *Meisel* (19).

W weterynarii polskiej problem ten nie został dotąd należycie opracowany. Przypadki licznych schorzeń przewodu pokarmowego u zwierząt analizowane są przeważnie rutynowo, z nastawieniem przede wszystkim na izolację drobnoustrojów tlenowych, głównie z rodziny *Enterobacteriaceae*. Bardzo często jednak, wobec niemożności ustalenia patogennej roli izolowanych tlenowych drobnoustrojów, etiologia choroby nie zostaje rozpoznana.

Badania własne

Badania własne miały na celu wykrycie przyczyn zachorowań w tuczarniach świń w Z. i w B., oraz upadków w fermach brojlerów.

Przypadek 1. W tuczarniach świń Z. i B. woj. lubelskiego, w grudniu i styczniu 1964/65 r. zanotowano liczne zachorowania świń, przebiegające z objawami zatrucia pokarmowego. Zachorowania wystąpiły u ok. 20–30% całego, liczącego ok. 2000 sztuk pogłowia. Ogółem poddano ubojowi z konieczności, ewentualnie padło ok. 100 sztuk świń. Schorzenie charakteryzowały ostre stany zapalne żołądka i jelit, objawy intoksykacji, a niekiedy również objawy ze strony układu nerwowego w postaci nieźorności ruchów i nadmiernego pobudzenia. Sekcyjnie u 11 badanych sztuk stwierdzono ostry, krwotoczny stan zapalny błony śluzowej żołądka i jelit. Przewód pokarmowy wykazywał przeładowanie zalegającą karmą, pętle jelit wypełniały gaz, a przynależne węzły chłonne krezkowe były powiększone i przekrwione. Z wywiadu wynikało, że zwierzęta karmiono intensywnie, podając oprócz zasadniczej paszy objętościowej wysokobiałkowe kiszonki przygotowane z treści zwaça z dodatkiem krwi i melasy, mieszanki T oraz śruty zbożowej.

Przypadek 2. W dwóch fermach brojlerów w wieku 3 i 5 tygodni wystąpiły masowe zachorowania z objawami intoksykacyjnymi i biegunką, obejmujące ok. 30% stada. Stado liczyło ogółem ok. 3000 sztuk. Padło ponad 300 ptaków. U badanych 40 sztuk stwierdzono sekcyjnie martwicowo-krwotoczny stan zapalny błony śluzowej jelit cienkich, wypełnionych pęplinną zawierającą banieczki gazu, podbarwioną krwią treścią pokarmową. Zmiany dotyczyły głównie jelita biodrowego i czczego, słabiej były zaznaczone w dwunastnicy, nigdy ich nie obserwowano w jelitach ślepych. Przypominały one zmiany obserwowane przez *Parish'a* (22) w przypadku „necrotic enteritis” brojlerów. W tkance podskórnej i w mięśniach mostka stwierdzano znaczne ilości gazu, a narządy mięsne wykazywały cechy zwyrodnieniowe. Serce wypełniała niekrzepnąca, zhemolizowana krew. W wywiadzie ustalono, że ptaki otrzymywały zmienioną fizykalnie mieszankę DK.

Materiał i metody

Materiał do posiewów stanowiły próbki karmy, kału, wycinki jelit, narządy mięsne, a u świń także węzły chłonne. Badanie objęło sporządzanie preparatów bezpośrednich z błony śluzowej zmienionych chorobowo partii jelit cienkich, oraz posiewy. Hodowle prowadzono w warunkach tlenowych — na podłożu agarowym z krwią baranią i na SS, oraz w beztlenowych — na podłożu Zeisslera, Mc Clunga i Wrzoska

Ogółem wyizolowano 44 szczepy. Identyfikację szczepów przeprowadzono metodą biochemiczną, badając ich własności fermentacyjne w stosunku do laktozy, glikozy, sacharozy, maltozy, mannitu, salicyny, eskuliny, mleka lakmusowego oraz rozpuszczanie żelatyny. Chorobotwórczość drobnoustrojów określano wprowadzając domięśniowo świnkom morskimi w dawce 0,5 ml 24 godz. hodowli na podłożu Wrzoska. Wszystkie badane szczepy poddano analizie toksyn badając je *in vitro* na obecność toksyn alfa, beta, epsylon, teta i kappa. Toksynę alfa badano metodą *Van Heyningena* (11) i na podłożu Mc Clunga. Toksynę beta wykrywano metodą śródskrórną wg *Warracka* (34). Toksyny epsylon szukano stosując trypsynowanie filtratów badanych hodowli i treści jelit wg *Bullena* (2). Toksynę teta wykrywano odczynem hemolitycznym wg *Van Heyningena* (11). Toksynę kappa oznaczano działaniem badanych filtratów na kollagen A wg *Delaunay* i wsp. (14). Przeprowadzono również poszukiwania toksyn w treści przewodu pokarmowego i w wątrobie *in vitro*. W tym celu materiał odwirowywano, odsączono przez filtr Seitz'a i z otrzymanym filtratem wykonywano odczyn lecyto-vitelinowy wg *Van Heyningena* (11). Antygeny toksyczne filtratów hodowli oraz treści przewodu pokarmowego badano również próbą śródskrórną *in vivo* na świnkach morskich albinosach, oraz próbą dożylną na myszkach białych (3 myszki na każdy szczep w dawce 0,5 ml). W przypadkach wykrycia obecności toksyn letalnych w badanych filtratach wykonywano zubożenie ich surowicą wzorcową antytoksyczną przeciwko typowi A *Cl. perfringens* produkcji Warszawskiej Wytwórni Surowic i Szczepionek. Surowica ta zawierała w 1 ml ok. 2500 j. antytoksycznych. Neutralizację wykonano wg metodyki zalecanej przez *Warracka* (34). Zubożone filtry wstrzykiwano w ilości 0,5 ml w skórę białych świń morskich.

Spośród wyizolowanych szczepów 30 poddano badaniu na ciepłooporność wytwarzanych zarodników wg metodyki podanej w pracy *Cygan* i *Wawrzkiwiczowa* (3).

Próbki zawartości jelit wszystkich badanych zwierząt poddano badaniom parazytologicznym.

Wyniki

W badaniu bakteriologicznym w preparatach bezpośrednich z błony śluzowej jelit cienkich stwierdzano mikroskopowo prawie wyłącznie olbrzymie ilości laseczek odpowiadających morfologicznie *Cl. perfringens*. Przy bezpośrednich posiewach badanego materiału na podłoża stałe w warunkach tlenowych nie obserwowano wzrostu drobnoustrojów patogennych, w warunkach beztlenowych uzyskiwano również niemal zawsze czyste hodowle laseczek. Izolowane laseczki posiadały kształt cylindryczny z równo obciętymi biegunami, wytwarzały otoczkę, nie posiadały ruchu i na zwykłych podłożach nie tworzyły zarodników. Na podłożu Zeisslera wyrastały po 48 godz. inkubacji kolonie soczewkowate, wypukłe, o brzegach gładkich lub lekko pofałdowanych, otoczone najczęściej strefą podwójnej hemolizy (beta i alfa). Na podłożu Mc Clunga dokoła kolonii obserwowano zawsze strefę zmętnienia świadcząca o obecności lecytynazy. Wszystkie izolowane szczepy rozkładały laktozę, glikozę, sacharozę i maltozę; nie rozkładały mannitu, salicyny i eskuliny. Mleko ścinały już po kilku godzinach z wytworzeniem gąbczastego, kurczącego się skrzepu. Większość badanych szczepów rozpuszczała żelatynę. Z 19 szczepów poddanych badaniu na zjadliwość — 8 po domięśniowej iniekcji powodowało w ciągu 36 godz. śmierć świń morskich z objawami obrzęku gazowego, a 4 szczepy jedynie mierny obrzęk w miejscu iniekcji. Pozostałe szczepy nie powodowały żadnych zmian, nawet przy dawkach zwiększonych do 1,5 ml. Badanie toksynotwórczych właściwości szczepów wykonane *in vitro* wg *Meisla* (18) wykazało obecność toksyn alfa u wszystkich badanych szczepów. Natomiast w badaniach *in vivo* na świnkach morskich wykryto

toksynę alfa tylko w 18 przypadkach, co stanowi ok. 33%. Tego rodzaju wynik świadczy o większej czułości testu lecyto-vitelinowego od prób biologicznych na świnkach morskich szczepionych śródskórnice, co pokrywa się z obserwacjami Warracka (34). Toksynę teta stwierdzono u 11 szczepów, a toksynę kappę u 14. Nie stwierdzono obecności toksyn beta, epsilon i jota. Badania *in vivo* wykonane na myszkach białych zakażanych dożylnie lub dootrzewnowo filtratami hodowli i treści jelit pozwoliły stwierdzić obecność toksyna letalnych w 15 na 48 badanych próbek. Toksyny te we wszystkich badanych przypadkach zubożytniały się surowicą wzorcową anty typowi A *Cl. perfringens*. Właściwości martwicowe (wg metody Rafyi i Ardahali, 26) wykazano w 18 filtratach na ogólną ilość 48 badanych. We wszystkich przypadkach obserwowano żółto-zieloną martwicę skóry bez wybroczyn, charakterystyczną dla typu A *Cl. perfringens*.

Zaden z badanych 39 szczepów nie wytwarzała zarodników wytrzymujących 1-godzinne ogrzewanie w temperaturze 100°.

Badanie parazytologiczne dało wynik negatywny, jedynie w kilku przypadkach stwierdzono oocysty kokcydii.

Zestawienie wyników przeprowadzonych badań podano w tab. 1.

Tabela 1. Ogólne zestawienie wyników prowadzonych badań

Pochodzenie próbki	Jakość przebadanych próbek		Jakość wyizolowanych szczepów		Wykrywalność toksyn						Wykrywalność toksyn w badaniach <i>in vitro</i>						
	w filtratach		w filtratach		lefałnych		niekrolizujących		Zubożenie toksyn surowicą anty typ: A i B		w filtratach		alfa	teta	kappa	Ciepłoporność 1h-100°	zarodnikowa
	hodowli	treści jelit i wątroby	hodowli	treści jelit	hodowli	treści jelit	hodowli	treści jelit	hodowli	treści jelit	hodowli	treści jelit					
	mysz i świnka lub i.p.	mysz i świnka l.c.	mysz i świnka l.c.	mysz i świnka l.c.	mysz i świnka l.c.	mysz i świnka l.c.	mysz i świnka l.c.	mysz i świnka l.c.	mysz i świnka l.c.	mysz i świnka l.c.	mysz i świnka l.c.	mysz i świnka l.c.					
świnie	24	32	7/32	8/19	0/0		10/32	0/1	7/32	0/0	32/32	10/32	11/32	0/18			
	plaki	15	12	5/10	0/0	4/6	9/10	4/5	6/10	2/4	12/12	1/12	3/12	0/12			

Objaśnienia: licznik - ilość dodatnich wyników, mianownik - ilość przebad. szczepów / mysz / próbek

Omówienie wyników

Jak wynika z przeprowadzonych badań oraz z zestawienia zawartego w tab. 2, wszystkie wyizolowane przez autorów szczepy z przypadków zachorowań świń, jak również ptaków należały do typu A *Cl. perfringens*. Świadczą o tym dodatnie wyniki próby neutralizacji toksyny przez antytoksynę A *Cl. perfringens*, oraz skład antygenów toksycznych badanych

szczepów. Część szczepów tworzyła toksynę teta i kappa, żaden nie produkował toksyny beta i epsilon oraz jota. U wszystkich badanych szczepów stwierdzono toksynę alfa. Według Nygrena (22) właśnie toksyna alfa spełnia zasadniczą rolę w procesie chorobowym. Rozkłada ona bowiem lecytynę na digliceryd kwasów tłuszczowych i fosforocholinę, a powstała fosforocholina ma być odpowiedzialna za wystąpienie stanu chorobowego. Autor ten uważa, że każdy drobnoustrój produkujący toksynę alfa jest potencjalnie zdolny do wywołania zatrucia pokarmowego. W świetle powyższego są całkowicie słuszne zalecenia Sterna i Thompsona (31) dotyczące poszukiwania, w przypadkach stanów zapalnych przewodu pokarmowego wywołanych przez *Cl. perfringens*, przede wszystkim toksyn w zawartości jelit. Wynik ujemny nie ma jednak pełnego znaczenia dowodowego, gdyż spostrzeżenia Duncan i wsp. (6), Goudie i Duncan (8), Goudie (7) oraz Weipers (35) wskazują na obecność w kale substancji neutralizujących toksynę alfa *Cl. perfringens*. Substancja ta wydaje się spełniać doniosłą rolę w utrzymaniu oporności śluzówki zdrowego jelita w stosunku do obecnych w zawartości jelit laseczek *Cl. perfringens*. Czynnikiem neutralizującym alfa toksynę posiada naturę proteolitycznego enzymu zbliżonego do trypsyny i stanowi niespecyficzny mechanizm obronny przewodu pokarmowego przed toksyną alfa. Dlatego niewykrycie toksyny alfa w zawartości jelit, przy jednoczesnym stwierdzeniu znacznej ilości laseczek w preparatach odciskowych, oraz łatwym uzyskiwaniu czystych hodowli zakładanych bezpośrednio na podłożach stałych (przypadek dotyczący zachorowania świń), nie może wykluczyć udziału *Cl. perfringens* w procesie chorobowym.

W badaniach własnych, w przypadku dotyczącym drobiu, wykazano z łatwością obecność toksyny alfa w filtratach zawartości jelit. W przypadku świń otrzymano wynik negatywny. Mogło to być zarówno następstwem obecności substancji neutralizujących fosfolipazę C, jak i stosunkowo lżejszym przebiegiem schorzenia, brakiem materiału od sztuk padłych (dysponowano materiałem od sztuk dobitych), oraz ograniczonym ilościowo materiałem badanym. Wydaje się, że istnieją zasadnicze różnice w patogenezie beztlenowcowych nieżyłtów przewodu pokarmowego u ludzi i zwierząt. U ludzi stany zapalne przewodu pokarmowego są przeważnie następstwem spożycia pokarmów, w których namnożyły się masowo laseczki z gatunku *Cl. perfringens*. U zwierząt natomiast w pewnych warunkach może dojść do zachorowania, nawet w przypadku spożycia pokarmów zawierających niezbyt duże ilości chorobotwórczych laseczek. Takie sprzyjające warunki wydają się zachodzić szczególnie często przy intensywnym żywieniu zwierząt pokarmami wysokobiałkowymi, co prowadzi w następstwie do zalegania

Tabela 2. Porównanie własności izolowanych szczepów z własnościami szczepów *Clostridium perfringens* typów A, B, C, D i F

Typ	Autor	Wytwarzane toksyny					Ciepłoporność zarodników
		główne		poboczne			
		alfa	beta	epsilon	teta	kappa	
Typ A	szcypy zairuc Warrack ^x	+	-	-	-	(+)	termooporne
	szcypy zgorzeli gazowej Warrack ^x	+	-	-	(+)	(+)	termowrażliwe
	szcypy zairuc Hobbs ^{xx}	(++)	-	-	-	(++)	termooporne
	szcypy zgorzeli gazowej Hobbs ^{xx}	+	-	-	(++)	+	termowrażliwe
Typ B	Warrack	+	+	+	(+)	-	termowrażliwe
	Hobbs	+	+	+	+	+	termowrażliwe
Typ C	Warrack	+	+	-	+	+	termowrażliwe
	Hobbs	+	+	-	+	+	termowrażliwe
Typ D	Warrack	+	-	+	(+)	(+)	termowrażliwe
	Hobbs	nie podaje					
Typ F ^{xxx}	Warrack	+	+	-	(++)	-	termooporne
	Hobbs	+	+	-	-	-	termooporne
Szcypy 1-44	Cygan Wawrzyszewiczowa	+	-	-	(++)	(++)	termowrażliwe

Objaśnienia: ^x - Warrack (34), ^{xx} - Hobbs (12) ^{xxx} - Warrack (34) zalicza jako podgrupę do typu C
 - żaden szcyp nie wytwarza + wszystkie szcypy wytwarzają
 (+) większość szczepów wytwarza (++) niektóre szcypy wytwarzają

i застою кармы в желтых, oraz do wybitnej alkalizacji zawartości jelit. Oba te czynniki sprzyjają gwałtownemu namnożeniu się *Cl. perfringens* w przewodzie pokarmowym zwierząt. Wydaje się, że taki właśnie mechanizm patogenezy schorzenia można by przyjąć dla obu omawianych powyżej przypadków. Zasługuje również na uwagę stwierdzenie niskiej ciepłoporności zarodników. Jest ono jednak całkowicie wytłumaczalne.

Izolowanie z przypadków „enteritów” człowieka drobnoustrojów wytwarzających zarodniki ciepłoporne jest związane ze spożyciem pokarmów gotowanych przygotowanych poprzedniego dnia i od razu nie zjedzonych. Szczepy posiadające zarodniki ciepłoporne przetrzymują proces gotowania, a jednocześnie odlenione podłoże stwarza im pomyślne warunki dla kiełkowania. U zwierząt natomiast, ze względu na inny mechanizm patogenezy niezbytów przewodu pokarmowego selekcja szczepów z zarodnikami ciepłopornymi nie zachodzi.

Reasumując wyniki pracy należy przyjąć, że *Cl. perfringens* typ A może być w pewnych przypadkach czynnikiem etiologicznym stanów zapalnych błony śluzowej przewodu pokarmowego u świń i kurcząt.

Piśmiennictwo

1. Boulay P., Boulay G.: Rec. Med. Vet. 89, 223, (1963).
2. Bullen J. J.: J. Path. Bact. 64, 201, (1952).
3. Cygan Z., Wawrzkieviczowa K.: Medycyna Wet. XXI, (1965).
4. Lelaunay M. i wspótp.: Ann. Inst. Past. 16, 76, (1919).
5. Dishe F. E., Elek S. D.: Lancet 2, 71, (1957).
6. Luncan S. i wspótp.: J. Path. Bact. 67, 282, (1954).
7. Goudie J. G.: J. Path. Bact. 78, 17, (1959).
8. Goudie J. G., Luncan S.: J. Path. Bact. 72, 381, (1956).
9. Habermann E.: Brit. med. J. 711, (1960).
10. Hayward N. J.: Bull. Off. Int. Epiz. 59, 1401, (1963).
11. Van Heyningen W. E.: Bioch. J. 35, 1257, (1941).
12. Hocbs B. C. i wspótp.: J. Hyg. 51, 75, (1953).
13. Hocbs B. C.: J. appl. Bact. 28, 74, (1965).
14. Ignatovich Z. A., Vitvker V. S.: Vopr. Pit. 1, 74, (1964).
15. Mc Clung L. S.: J. Bact. 50, 229, (1954).
16. Mc Gowan B., Moulton J. M., Boed S.: J. Amer. Vet. Med. Ass. 133, 219, (1958).
17. Lenkova V. I., Lenkova V. A., Shvets M. Ya.: Zhurnal mikrob. epidem. i immunobiol. 8, 131, 1965.
18. Meisel H.: Med. Dośw. i Mikrob. 7, 27, (1955).
19. Meisel H.: Zeszyty Probl. Nauki Polsk. IV, 93, (1955).
20. Meisel H.: Med. Dośw. i Mikrob. 4, 359, (1960).
21. Nakagawa M. i wspótp.: Med. and Biol. 63/2, 93, (1964).
22. Nygren B.: Acta Path. Microbiol. Scand. Suppl. 160, (1962).
23. Parish W. E.: J. Comp. Path. Therap. 71, 377, (1961).
24. Parish W. E.: J. Comp. Path. Therap. 71, 394, (1961).
25. Prevot A. R. i wspótp.: Bull. Acad. Vet. Fr. 34, 267, (1961).
26. Rafiyi A., Ardahali M.: Off. Int. Epiz. 55, 999, (1961).
27. Rafiyi A., Ardahali M.: Bull. Off. Int. Epiz. 59, 1283, (1963).
28. Rose A. L., Edgar G.: Aust. Vet. J. 12, 212, (1936).
29. Schofield F. W.: J. Amer. Vet. Med. Ass. 126, 196, (1955).
30. Shirley J.: Vet. Rec. 70, 478, (1958).
31. Sterne M., Thompson A.: Bull. Off. Int. Epiz. 59, 1437, (1963).
32. Taylor A. W., Gordon W. S.: J. Path. Bact. 50, 271, (1940).
33. Turner G. C. i wspótp.: J. Path. Bact. 82, 529, (1961).
34. Warrack G. H.: Bull. Off. Int. Epiz. 59, 1393, (1963).
35. Weipers W. L., Harper E., Warrack G. H.: J. Path. Bact. 87, 271, (1964).

Adres autora: Zygmunt Cygan, lek. wet., Lublin, Droga Męczenników Majdanka 42a.

Цыган З., Вавжкевич К. — *Clostridium perfringens* типа А в воспалительных процессах желудочно-кишечного тракта животных.

Описаны случаи анаэробной энтеротоксемии у убойных цыплят и свиней промышленного откорма. Исследовали 24 пробы внутренних органов, экс-

крементов и кормов свиней, изолируя 32 штамма *Cl. perfringens* и 15 проб кишечника и кормов лавших цыплят выращивая 12 штаммов *Cl. perfringens*.

На основании нейтрализации токсинов антитоксином *Cl. perfringens* А и анализа токсических антигенов изолированных штаммов все изолированные штаммы причислены к группе *Cl. perfringens* А. Принимая во внимание эпизоотические данные и результаты лабораторных исследований (особенно установление токсина в содержимом кишечника, получение чистых культур из непосредственных посевов) авторы полагают, что *Cl. perfringens* А может привести к энтеротоксемии у животных.

Cygan Z., Wawrzkievicz K. — *Clostridium perfringens* type A in inflammatory states of the alimentary tract in animals.

The authors described cases of anaerobic enterotoxemia in slaughter chickens and pigs fattened for industry. 24 samples from internal organs, faeces and food of the pigs were examined in the laboratory, from which 32 strains of *Cl. perfringens* were isolated; and 15 samples of intestines and food of the chickens were examined, from which 12 strains of *Cl. perfringens* were isolated.

On the basis of neutralization of the toxins by antitoxin A *Cl. perfringens*, and of the composition of toxic antigens of the isolated strains, the authors consider that all the strains isolated belong to type A *Cl. perfringens*. Taking into account the эпизоотiological data of the disease and the results of laboratory tests (especially the presence of toxin in the intestine tissue, the obtaining of pure cultures from direct inoculations of the material etc.) the authors suggest that type A *Cl. perfringens* may play a role in the occurrence of enterotoxemia in animals.

Cygan Z., Wawrzkieviczowa K. — *Clostridium perfringens* du type A dans les états inflammatoires du canal digestif des animaux.

Les auteurs décrivent les cas d'entérotaxémie anaérobie chez les poulets d'abattoir et les porcs d'engraissement industriel. Ils investigèrent: 24 échantillons d'organes internes, de matières fécales et de fourrage des porcs et isolèrent 32 souches de *Cl. perfringens*, ainsi que 15 échantillons de segments d'intestins et du fourrage de poulets péris en isolant 12 souches de *Cl. perfringens*.

En se basant sur la neutralisation des toxines par l'antitoxine A de *Cl. perfringens*, ainsi que sur la composition des antigènes toxiques des souches éliminées, les auteurs constatèrent, que toutes les souches éliminées appartiennent au type A de *Cl. perfringens*. En prenant en considération les données эпизоотologiques de la maladie, ainsi que le résultat des investigations de laboratoire (surtout la présence de la toxine dans le contenu des intestins et l'obtention de cultures pures d'encensemements directs du matériel etc.) les auteurs suggèrent, que *Cl. perfringens* du type A peut prendre part à l'apparition de la toxémie chez les animaux.

Cygan Z., Wawrzkieviczowa K. — *Clostridium perfringens* Typus A. in Entzündungsprozessen des Darmtraktes bei Tieren.

Es wurden Fälle einer anaeroben Enterotoxemie bei Schlachthühnern und industriell gemästeten Schweinen beschrieben. Im Laboratorium wurden 24 Proben der inneren Organe, Kot- und Futterproben der Schweine untersucht, wobei 32 Stämme *Cl. perfringens* isoliert wurden. Weiters wurden 15 Proben der Darmausschnitte und Futterproben der verendeten Hühner untersucht wobei man im allgemeinen 12 Stämme *Cl. perfringens* isolierte. Auf Grund der Neutralisation der Toxine durch Antitoxin A.

Cl. perfringens sowie die Zusammensetzung toxischer Antigene der isolierten Stämme, alle isolierten Stämme gehören dem Typus A Cl. perfringens. Im Bezug auf epizootologische Angaben der Erkrankung und Ergebnisse der laboratorischen Untersuchungen

(im Besonderen die Toxinanwesenheit im Darminhalt, reine Kulturen aus unmittelbarer Aussaat des benutzten Materials u.s.w.) suggerieren die Verfasser, dass Cl. perfringens Typus A. in Entstehung der Enterotoxemie bei Tieren teilnehmen kann.

JERZY MIERZEJEWSKI

Toksyna botulinowa w świetle najnowszych badań

Ośrodek Badawczy Służby Weterynaryjnej — Puławy

Mimo stałego wzrostu higieny żywienia botulizm stanowi nadal poważny problem sanitarny i gospodarczy. We wszystkich krajach z wyjątkiem USA najczęstszą przyczyną zatruc botulinowych u ludzi są produkty pochodzenia zwierzęcego (10, 18). Poważne zagrożenie zatruc botulinowych stanowią też niewłaściwie przygotowane produkty rybne (16).

Botulizm jako masowe zatrucie występuje często również u zwierząt domowych i dzikich. W Afryce Płd. i Australii botulizm atakuje głównie bydło i owce, występując w formie wielkich epizootii (34). W USA i Kanadzie botulizm występuje u bydła, koni i ptactwa (2, 36), a zwłaszcza w pewnych ogniskach przyrodniczych u dzikich kaczek (11). W Europie jest stwierdzany przeważnie u koni i norek (2, 3, 7, 8, 15, 27, 28, 31), rzadziej u bydła (29). Enzozę botulinową u koni opisano w Polsce (25, 26). O masowych zatruciach norek z objawami odpowiadającymi zatruciu botulinowemu sygnalizują terenowi lekarze weterynarii. Należy podkreślić, że niektóre jednostki chorobowe zwierzęce, jak „tyfus rdzeniowy koni” i „zakazne porażenie opuszkowe” bydła, opisywane dawniej jako wirusowe, zostały ostatecznie uznane za zatrucia toksyną botulinową (24).

Właściwy czynnik etiologiczny botulizmu — toksyna wytwarzana przez laseczkę botulinową zajmuje nadal pierwsze miejsce wśród największych znanych trucizn. Mimo dużych osiągnięć badawczych, głównie autorów amerykańskich (20), toksyna botulinowa kryje jeszcze nadal w sobie wiele tajemnic, na które współczesna wiedza biologiczna nie jest w stanie dać zadowalających wyjaśnień. Celem tego referatu jest omówienie niektórych własności toksyny botulinowej oraz podkreślenie tych zagadnień, jakie są jeszcze do rozwiązania wraz z hipotetycznymi, bądź doświadczalnymi próbami ich tłumaczeń.

1. Postać fizyko-chemiczna

Już od dawna wiadano, że toksyna botulinowa zachowuje się jak białko wobec związków denaturujących i rozpuszczalników. Dopiero jednak dzięki badaniom prowadzonym w latach powojennych wykazano, że toksyna jest globulinopodobnym, prostym białkiem, a więc związkiem składającym się wyłącznie z aminokwasów (4).

Tab. 1. Skład aminokwasowy toksyny botulinowej wg Buchlera (4)

1. Asparagina	1370	11. Arginina	239
2. Kwas glutamin.	953	12. Prolina	203
3. Izoleucyna	820	13. Glicyna	166
4. Leucyna	708	14. Tryptofan	82
5. Tyrozyna	672	15. Metionina	64
6. Treonina	642	16. Fenylalanina	64
7. Lizyna	477	17. Histydyna	60
8. Walina	406	18. Cystyna	40
9. Alanina	394	19. Cysteina	20
10. Seryna	374		
		Ogólna ilość	7754

W polu elektroforetycznym oczyszczona toksyna wędruje jednorodnie. Szybkość elektroforetyczna, w zależności od metody oczyszczania wynosi $2,75 \times 10^{-5}$ do $4,1 \times 10^{-5}$ (1,30). Podczas analitycznego wirowania osadza się jako prosty związek przy różnych wartościach pH z kwaśnej i zasadowej strony punktu izoelektrycznego (punkt izoelektryczny znajduje się przy pH 5,6). Stała sedimentacji S_{20} równa się 17,3, stała dyfuzji w zależności od preparatu od $1,79 \times 10^{-7}$ $\text{cm}^2/\text{sek.}^{-1}$ do $2,13 \times 10^{-7}$ $\text{cm}^2/\text{sek.}^{-1}$ (30).

Tab. 2. Stałe fizyczne toksyny botulinowej wg Lamanna i Abramsa

1. Stała elektroforetyczna	$2,69 - 2,75 \times 10^{-5}$ $4,1 \times 10^{-5}$ $\text{cm}^2/\text{sek.}$
2. Stała dyfuzji D_{20}	$1,79 \times 10^{-7}$ $\text{cm}^2/\text{sek.}^{-1}$ $2,13 \times 10^{-7}$ $\text{cm}^2/\text{sek.}^{-1}$
3. Stała sedimentacji S_{20}	17,3

Pod wpływem działania siarczanu amonu o nasyceniu 0,1—0,3 przy temp. 4°, lub pod wpływem innych związków wysalających, a nawet strącalników białkowych oczyszczona toksyna łatwo krystalizuje tworząc małe, podobne do igieł kryształy.



Ryc. 1. Obraz mikroskopowy kryształów toksyny botulinowej pow. 320. Preparat własny

Mimo ustalenia wskaźników jednorodności, stwierdzono pewne własności fizyczne, które dotychczas są niewytłumaczalne. Np. wysoko oczyszczona i krystaliczna toksyna botulinowa typu A w buforach lekko alkalicznych o sile jonowej 0,13 lub wyżej dysocjuje na dwie frakcje, różniące się między sobą ciężarem cząsteczkowym. Wraz ze wzrostem siły jonowej buforu wytrącają się początkowo cząsteczki mające większy ciężar (frakcja grubocząsteczkowa), a następnie cząsteczki o mniejszym ciężarze (frakcja drobnocząsteczkowa). Do wytrącenia tych ostatnich trzeba użyć buforu o pH 7,5 i o sile jonowej 1,0. Ciężar molarny ich wynosi od 40.000 do 100.000. Frakcja drobnocząsteczkowa wykazuje 2—3 razy większą moc toksyczną w porównaniu z toksyną krystaliczną (35). W dotychczasowych badaniach otrzymano dysocjację tylko około 20% krystalicznej toksyny, co tłumaczy się istnieniem równo-