

14. Cybanov S. Z., Sergeev V. A., Balyseva V. I.: Vop. Virus. 27, 80, 1982.
15. Derbyshire J. S.: Can. J. comp. Med. 38, 425, 1974.
16. Dlovsky M., Ognyanov D.: VetMed. Nauki, Sof. 12, 52, 1975.
17. Dunne H. W., Wand J. T., Ammerman E. H.: Infect. Immun. 4, 619, 1971.
18. Đurišić S., Mihajlović B., Kuzmanović M., Marianov M.: Acta vet., Belgrad, 26, 99, 1976.
19. Eskildsen M., Overby E., Sorensen K. J.: Dan. Veterinaertidsskr. 58, 189, 1975.
20. Forman A. J., Pass D. A., Connaughton I. D.: Aust. vet. J. 58, 136, 1982.
21. Goel Y. P., Malik B. S.: Indian J. Anim. Hith. 14, 45, 1975.
22. Hahnfeld H., Hahnfeld E.: La maladie de Teschen, w Traité des maladies a virus animaux, red. H. Röhrer, t. 2, Vigot Frères Editeurs, Paris 1973.
23. Hazlett D. T. G., Derbyshire J. B.: Can. J. comp. Med. 40, 370, 1976.
24. Hazlett D. T. G., Derbyshire J. B.: Can. J. comp. Med. 41, 257, 1977.
25. Hazlett D. T. G., Derbyshire J. B.: J. comp. Path. 88, 467, 1978.
26. Herand N.: Contribution a l'etude d'enterovirus porcins. Praca dokt. Ecole Nat. Vét. d'Alfort 1975.
27. Herrmann J. E., Hendry R. M.: J. Clin. Microbiol. 10, 210, 1979.
28. Hoorens J., Pensearet M., Leunen J.: Vlaams Diergeneesk. Tijdschr. 47, 391, 1978.
29. Huang J. C.: Diss. Abstr. Inter. 37B, 3288, 1977.
30. Huang J., Gentry R. F., Zarkower A.: Am. J. vet. Res. 41, 469, 1980.
31. Hubschle O. J. B., Rajanrison I., Koko M., Rakotondramary E., Rasiofomanana P.: Dt. tierärztl. Wschr. 90, 86, 1983.
32. Idriss U. A.: Veterinarija, 2, 33, 1983.
33. Jastrzębski T.: Arch. exp. VetMed. 15, 408, 1961.
34. Jastrzębski T., Buczek J.: Medycyna Wet. 17, 342, 1962.
35. Jastrzębski T., Buczek J.: Annls Univ. Mariae Curie-Skłodowska Sect. DD, 22, 39, 1967.
36. Jastrzębski T., Górski J., Buczek J.: Annls Univ. Mariae Curie-Skłodowska Sect. DD, 22, 61, 1967.
37. Jastrzębski T.: Enterovirusinfektionen, w Handbuch der Virusinfektionen bei Tieren, red. H. Röhrer, t. 5/2, VEB Gustav Fischer Verlag, Jena 1969.
38. Knowles N. J., Buckley L. S., Pereira H. G.: Arch. Virol. 62, 201, 1979.
39. Knowles N. J., Buckley L. S.: Res. vet. Sci. 29, 113, 1980.
40. Knowles N. J.: Br. vet. J. 139, 19, 1983.
41. Kresse J. I., Snyder M. L., Fynskov P. H., Stewart W. C.: Can. J. comp. Med. 41, 355, 1977.
42. Larski Z.: Medycyna Wet. 11, 589, 1955.
43. Lynch J. A., Binnington B. D., Hoover D. M.: Can. J. Com. Med. 48, 233, 1984.
44. Matthews R. E. F.: Intervirology, 12, 239, 1979.
45. McAdaragh J. P., Anderson G. A.: Proc. 18th Annu. Am. Ass. Vet. Lab. Diag. 69, 1975.
46. Melnick J. L., Agol V. I., Bachrach H. L., Brown F., Cooper P. D., Piers W., Gard S., Gaar J. H. S., Ghendon J., Kasza L., LaPlaca M., Mandel B., McGregor S., Mohanty S. B., Plummer G., Rneckert R. R., Schaffer F. L., Tagaya I., Tyrrell D. A. J., Voroshilova M., Wenner H.: Intervirology, 4, 303, 1974.
47. Morimoto T., Dunne H. W., Wang J. T.: Am. J. Vet. Res. 29, 2275, 1968.
48. Metianu T., Virat J., Coung T., Penin P.: Recl. Med. vet. 151, 491, 1975.
49. Moscovici C., Ginevri A., Mazzaracchio V.: Zooprofilassi, 11, 417, 1956.
50. Munidry W., Pensaert M., Boute P.: Vlaams diergeneesk. Tijdschr. 45, 241, 1976.
51. Popova V. I., Osljankin B. G., Vishnyakova V. I.: Sov. Agric. Sci., 5, 35, 1977.
52. Rzepova G.: Biul. Vsesojuz. Inst. Eksp. Vet. 28, 10, 1977.
53. Romanenko V. F.: Veterinarija, 10, 61, 1972.
54. Romanenko V. F., Gavrilov V. I., Sjurin V. N.: Vop. Virus. 6, 731, 1974.
55. Romanenko V. F.: Veterinarija, 12, 71, 1977.
56. Sibalin M.: Acta vet. scand. 4, 1, 1963.
57. Singh K. V., Bohl E. H., Birkeland J. M.: Am. J. vet. Res. 20, 568, 1959.
58. Singh K. V.: Cornell Vet. 52, 71, 1962.
59. Sulochana S., Derbyshire J. B.: Vet. Microbiol. 2, 205, 1978.
60. Sulochana S., Derbyshire J. B.: Vet. Microbiol. 3, 23, 1978.
61. Sulochana S., Derbyshire J. B.: Kerala J. vet. Sci, 9, 111, 1978.
62. Vieira R. P.: Revta port. Cienc. vet. 76, 253, 1981.
63. Zoletto R.: Vet. Ital. 1, 16, 1965.
64. Zesterev V. N., Serdeev V. A., Kolomycev A. A., Evseev V. M.: Veterinarija, 4, 24, 1984.
65. Zulinski T., Jastrzębski T., Buczek J.: Annals Univ. Mariae Curie-Skłodowska Sectio DD, 22, 55, 1967.

Adres autora: dr Tadeusz Koziół, ul. Kochanowskiego 94a, 51-601 Wrocław

ZYGMUNT CYGAN, STANISŁAW TERESZCZUK*, ZYGMUNT PEJSKAK*, KAZIMIERZ TARASIUK*, WIESŁAW CHWESIUK, MIROŚLAWA TOMASZEWSKA

C. perfringens C przyczyną enzootii enterotoksemii u prosiąt-osesków

Zakład Higieny Weterynaryjnej, ul. Słowicza 2, 20-336 Lublin

* Zakład Badań Chorób Świń Instytutu Weterynarii, ul. Partyzantów 57, 24-100 Puławy

Enterotoksemia u prosiąt-osesków (*Enterotoxaemia porcellorum*) przebiega najczęściej w formie martwiczych stanów zapalnych jelit cienkich (*Enteritis necroticans* — EN) i jest wywołana działaniem toksyn *C. perfringens* C (10, 33). Choroba ta, rejestrowana w wielu krajach, między innymi w Anglii (10) i na Węgrzech (33) oraz w USA (1, 3), Danii (15 — 19) i RFN (21), a także w Holandii (26) i w Hiszpanii (28), stanowi nieraz przyczynę poważnych strat gospodarczych, zwłaszcza w większych chlewniach (20).

W Polsce schorzenie to nie było dotychczas notowane, zatem i sam opis choroby nie jest dostatecznie spopularyzowany.

EN należy — w swojej istocie — do grupy beztlenowcowych enterotoksemii. Według Grinera (12) charakteryzują się one ostrym przebiegiem i obecnością w treści jelit oraz we krwi toksyn różnych typów *C. perfringens*. Dlatego rozpoznanie tych toksoinfekcji wymaga wykrycia specyficznych jądów i wyosobnienia wytwarzających je beztlenowców (31, 32).

W złożonym patomechanizmie EN znaczenie poszczególnych toksyn, produkowanych przez

C. perfringens C, nie jest jednakowe, ale podkreśla się zgodnie szczególną rolę komponenty letalnej beta (2, 14, 29, 30). Natomiast bardziej podrzędną funkcję spełniają inne antygeny, tj. alfa (hialuynaza) i kappa (kolagenaza), a nadto mi (hialuronidaza), ni (deзоксырибонуклеаза) i hemolizyna (czynnik teta). Odpowiadają one za odrębność szczepów *C. perfringens* C — izolowanych z różnych materiałów, stanowiąc jednocześnie podstawę do wyróżnienia szeregu podtypów (31).

W związku z powyższym, celem badań było rozpoznanie choroby u prosiąt ssących, manifestującej się krwawą biegunką, a poza tym przedstawienie opisu występujących zachorowań oraz scharakteryzowanie wyosobnionych beztlenowców, zwłaszcza w zakresie ich aktywności toksynogennej.

Materiał i metody

Badane zwierzęta. W celach diagnostycznych otrzymano 5 prosiąt dwudniowych wykazujących objawy krwawej biegunki. Zwierzęta te, pochodzące z chlewni „M”, poddano oględzinom i ubojowi, a następnie — po zarejestrowaniu zmian chorobowych — pobrano podwiązane odcinki jelit cienkich do posiewów i badań na zawartość toksyn bakteryjnych.

Posiewy i izolacja. Badania obejmowały poszukiwanie chorobotwórczej mikroflory beztlenowej i tlenowej. Dla wykrycia beztlenowców dokonywano wysiewów — na pożywkę Zeisslera — materiałów pobranych z błony śluzowej jelit, po uprzednim usunięciu pokrywających ją zewnętrznych mas martwiczych. Założone hodowle inkubowano przez kilkanaście godzin, w 37°C, metodą pyrogalloyową według Pestiego (25). Podejrzone hodowle wycinano wraz z agarem i wprowadzano na dno probówek z podłożem Wrzoska, wzbogaconym o dodatek 10% surowicy końskiej. Uzyskane w ten sposób kultury sprawdzano na brak zanieczyszczeń mikroflorą tlenową (wysiewy na pożywkę Zeisslera, namnażanie w atmosferze tlenowej). Jednocześnie sprawdzano występowanie tlenowców — w badanych próbach — poprzez wysiewy na pożywkę rutynową, tj. agar z krwią i SS (czas inkubacji w 37°C — 2 dni).

Poszukiwanie toksyny. Z zawartości jelit cienkich sporządzano 50% wyciągi w płynie fizjologicznym z dodatkiem antybiotyków (400 j/ml penicyliny i 200 µg/ml streptomycyny), a uzyskany po odwirowaniu (4000 obr./min.) płyn znad osadu wprowadzano w dawce 0,5 ml — w formie natywnej i po trypsynizacji (supernatant poddany działaniu 2% trypsyny, inkubacja w 37°C w ciągu 45 min.) — dootrzewnowo myszom (czas obserwacji zwierząt — 3 dni).

Odczyn seroneutralizacji. Dla zidentyfikowania toksyny w wyciągach i w płynie odwirowanych hodowli bakteryjnych (podłoże VF z 0,5% glukozy) stosowano monowalentne surowice antytoksyczne *C. perfringens* (Wellcome Reagents Ltd. Anglia). W tym celu wprowadzano dootrzewnowo myszom 0,5 ml toksycznego ekstraktu, lub supernatantu hodowli bakteryjnej, wraz z 0,2 ml surowicy antytoksycznej (czas wiązania reagentów — 45 min. w 37°C, okres obserwacji zwierząt — 3 dni).

Identyfikacja zarazka. Obejmowała ona określenie morfologii drobnoustroju i kolonii, a poza tym podstawowych właściwości fermentacyjnych i proteolitycznych, jak również aktywności w zakresie wytwarzania indolu oraz serotypowo swoistej toksyny.

Oznaczenie toksyn. U wybranego szczepu nr 75, spośród 5 wyosobnionych, oznaczono skład ilościowy produkowanych jądów, tj. alfa, beta i kappa oraz mi i ni.

Toksynę alfa mianowano określając działanie lecytynazowe 24-godzinnych kultur bakteryjnych w pożywce VF (aktywność enzymatyczną wyrażano jako ilość jednostek zmętnieniowych w 1 ml).

Antygen beta badano sprawdzając efekt letalny supernatantu 24-godzinnej hodowli zarazka w podłożu VF według Guillaumie i Kreugera (13), a uzyskane wyniki przedstawiano w dawkach DLM₁₀₀/ml. Poza tym oznaczano nekrotyzujący wpływ toksyny na skórę świnki morskiej (śródkórna iniekcja 0,1 ml płynu).

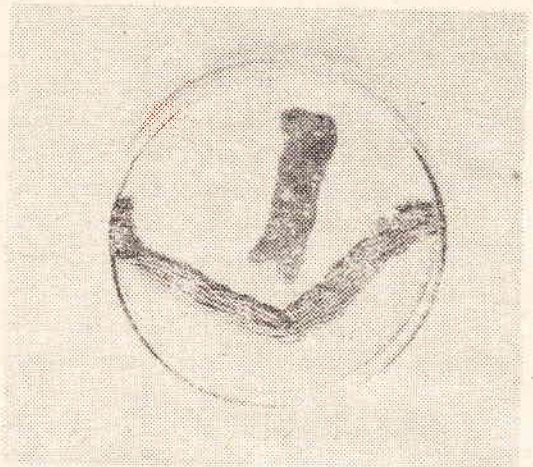
Czynnik kappa poszukiwano — przy użyciu kolagenu — metodą opisaną w pracy Cygana (7).

Toksynę mi indentyfikowano testem ACRA według Oakleya i Warrack (24). Za jednostkę aktywności hialuronidazy przyjmowano najmniejszą ilość enzymu powodującą utratę lepkości tzw. 1 dawki wskazującej (dosis indicating) kwasu hialuronowego (WSS Warszawa), a ostateczne rezultaty przeliczano na aktywność 1 ml płynu hodowli.

Komponentę ni diagnozowano metodą leukocytową według Warrack i wsp. (34). Moc enzymu wyrażano jako najwyższe rozcieńczenie hodowli (miano toksyny) powodujące destrukcję jąder 50% leukocytów krwi króliczej w ciągu 24-godzinnej inkubacji rozmazu w 37°C.

Wyniki i omówienie

Przebieg zachorowań. Choroba, która wybuchła w chlewni „M” dotyczyła najczęściej prosiąt 2—3 dniowych, wyjątkowo młodszych, a nigdy starszych. Głównym objawem klinicznym



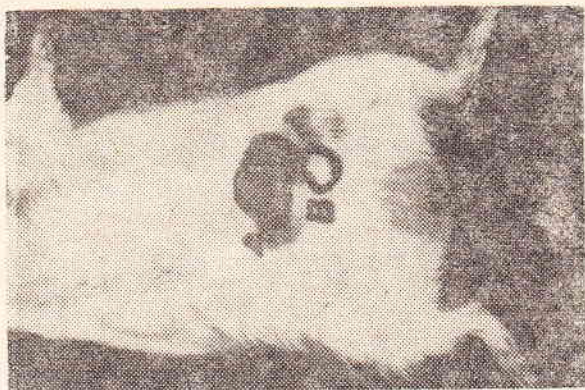
Ryc. 1. Martwica błony śluzowej jelita padłego prosięcia (obok wycinek jelita bez zmian)

— w przebiegu nadostrym schorzenia — była krwawa biegunka. W innych przypadkach obserwowano kał płynny z pęcherzykami gazu, zwykle żółtawo-zielonkawy, względnie szarobiałe, i w tej podostrej formie choroby notowane były wymioty i sporadyczne wyzdrowienia. Z reguły jednak występowały gwałtowne padnięcia, które po krótkim trwaniu biegunki obejmowały wszystkie zwierzęta w miocie. Rzadziej przy życiu pozostawało po kilka prosiąt, ale na ogół nie więcej jak 3—4 oeski. Do wyjątków należały przypadki zachorowań pojedynczych zwierząt w miocie. Enzootia ta — w rocznym czasie jej trwania — spowodowała śmierć ponad 400 prosiąt-osesków.

Wiek chorujących zwierząt, jak również stwierdzone symptomy schorzenia i niezwykle ostry jego przebieg, nasunęły już *a priori* podejrzenie beztlenowcowej enterotoksemii, gdyż opis podobnej enzootii można znaleźć w doniesieniach różnych autorów (1, 16, 17, 33).

Rozpoznanie choroby. Przeprowadzone badania anatomopatologiczne dostarczyły dodatkowych danych przemawiających za słusznością postawionej diagnozy wstępnej. Podczas sekcji zwierząt stwierdzono bowiem obecność szarżółtawych nalotów suchej martwicy, pokrywającej grubą warstwą błonę śluzową na różnej długości jelit cienkich (biodrowe i czcze), ale nigdy grubych (ryc. 1). W następstwie powstały — widoczne nawet od zewnątrz — zgrubienia ściany przewodu pokarmowego. Poza tym, w jamie brzusznej znajdowano u niektórych prosiąt zwiększoną zawartość krwistego płynu. Zmiany takie są uważane za patognomiczne dla beztlenowcowej enterotoksemii na tle *C. perfringens* C (1, 10, 11, 14—17, 33). Różnią się one natomiast od spotykanych w kolibakteriozie i TGE.

Za ostateczne potwierdzenie toksoinfekcji wywołanej przez *C. perfringens* C uważa się wykrycie — w zawartości jelita — letalnej toksyny beta, będącej równocześnie dermatotoksyną, a także wyosobnienie zarazka (32). Badania



Ryc. 2. Efekt martwicy skóry u świnki morskiej (wyciąg natywny — miejsce A) i brak zmian (ekstrakt z antytoksyną C — oznaczenie B)

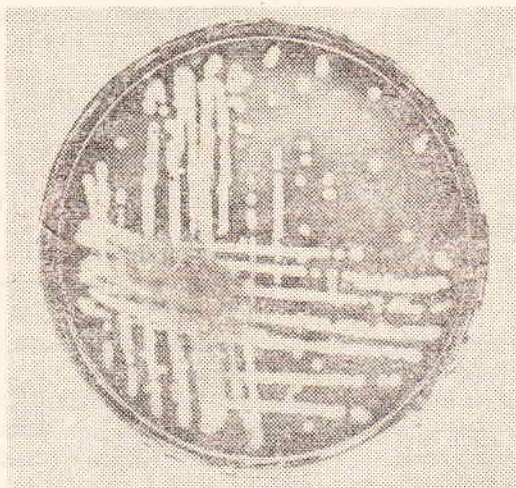


Ryc. 3. Komórki bakteryjne szczepu nr 75 *C. perfringens C*

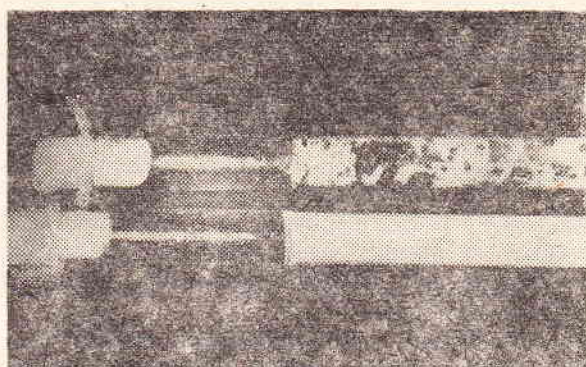
własne dowiodły, że podanie ekstraktów natywnych myszom powodowało ich śmierć w ciągu 10—14 godzin (wyciągi trypsynowe traciły aktywność letalną). Natomiast u świnek morskich płyny te wywoływały — po iniekcji śródskórnej — powstawanie czerwonej nekrozy o nieregularnym brzegu. Podkreślić należy, że całkowitą neutralizację toksyczności wyciągów uzyskano jedynie z surowicą antytoksyczną przeciwko *C. perfringens C*. Ryc. 2 przedstawia wywołany efekt martwicy (miejsce iniekcji A) i brak takiego działania (oznaczenie B).

Wynik ten wskazuje niezbicie na obecność — w jelicie padłych prosiąt — toksyny beta, swoistej dla *C. perfringens C*. Według Dallinga i Ressa (9) oraz Sakurai i Duncana (29) jest ona inaktywowana przez trypsynę, tj. enzym czyniący protoksynę epsilon stanowiącą dodatkowy komponent serotypu B. Zatem etiologia omawianej enzootii wiązała się wyłącznie — wobec wykrycia tylko toksyny beta — z *C. perfringens C*.

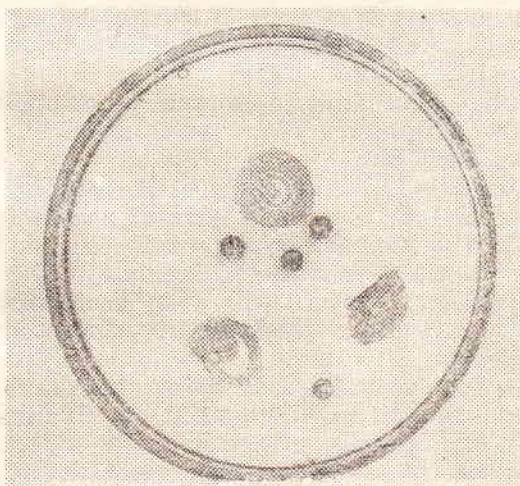
Charakterystyka zarazka. Z zawartości jelit, pobranej od 5 prosiąt, wyizolowano — przy braku chorobotwórczych tlenowców — ogółem 5 szczepów (nr 75—79) drobnoustrojów beztlenowych, które przedstawiały krótkie i względnie grube laseczki gramodatnie, o ostro uciętych biegunach (ryc. 3). W pożywce Zeisslera



Ryc. 4. Morfologia kolonii szczepu nr 75



Ryc. 5. Koagulacja mleka przez szczep nr 75



Ryc. 6. Kropki rozpadające się (obecność hialuronidazy) i zwarte (brak enzymu w próbie kontrolnej)

tworzyły charakterystyczne kolonie z 2 strefami hemolizy, tj. zewnętrzną alfa i centralną beta (ryc. 4). Taki typ wzrostu stanowi immanentną cechę beztlenowców *C. perfringens* (5, 7, 32). Również właściwości fermentacyjne wskazywały na ten gatunek *Clostridium* (laktoza, glukoza, sacharoza i maltoza +, ale mannit, salicyna i indol—). Poza tym wszystkie izolaty koagulowały — w sposób charakterysty-

Tab. 1. Właściwości toksynogenne szczepu nr 75 *C. perfringens* C

Szczep	*Toksyny główne				*Toksyny uboczne		
	alfa (jedn. zm.)	beta (DLM ₁₀₀)	epsilon	jota	kappa	mi (dawki wsk.)	ni (miano)
nr 75	40	128	—	—	—	256	32

Objaśnienie: * — zawartość w 1 ml hodowli w pożywce VF

czny dla *C. perfringens* — kazeinę mleka z wytworzeniem gąbczastego skrzepu (ryc. 5).

Jeden szczep, tj. nr 75, poddano bliższej analizie jego aktywności toksynogennej, a rezultaty tych badań przedstawia tab. 1. Wynika z niej, że izolat ten produkował 2 główne antygeny toksyczne, a mianowicie czynniki alfa (40 jedn. zm./ml) i beta (128DLM₁₀₀ ml) a sposób toksyn ubocznych enzym mi (256 dawek wsk./ml) oraz ni (miano 32). O obecności hialuronidazy świadczyło powstawanie — stwierdzonych metodą ACRA — kropli rozpadających się w mgiełkę, a więc całkowicie różnych od kropli zwartych (brak enzymu) próby kontrolnej (ryc. 6). Stwierdzony zatem skład toksyn okazał się również typowy dla *C. perfringens* C (aktywność letalna i nekrotyzująca supernatantu hodowli była zubożenią wyłączenie przez antytoksynę C).

W patogenezie enterotoksemii beztlenowcowej prosiąt-osesków główną rolę spełnia toksyna beta (20). Przedstawia ona — pod względem struktury molekularnej — pojedynczy łańcuch polipeptydowy o ciężarze 30 000 daltonów i aktywności odpowiadającej dawce dla myszy DL₅₀=1,78 µg (29). Czynniki beta, wywołując destrukcję kosmków jelitowych, umożliwiając zarazki kolonizację błony oraz przenikanie do krwi i limfy (20).

Toksyna alfa, wytwarzana przez szczep nr 75, nie wydaje się posiadać większego znaczenia w patomechanizmie choroby. Enzym ten bowiem nie wywiera — w niskiej koncentracji (40 jedn. zm./ml) — żadnych wpływów chorobotwórczych, co wynika z wcześniej przeprowadzonych badań (8).

Pewnym ewenementem było stwierdzenie w hodowli izolatu nr 75 czynnika mi (hialuronidaza). Na ogół nie występuje on w kulturach szczepów wyosabnianych od prosiąt (4, 10, 16, 17, 33). Tak więc pełną ekspresję zmian chorobowych w beztlenowcowej enterotoksemii tych zwierząt determinuje toksyna beta, aczkolwiek nie można całkowicie wykluczyć ewentualnych wpływów enterotoksyny, na którą świnię wykazują wrażliwość (27).

Wnioski

1. W Polsce pojawiła się nowa, dotychczas nie rejestrowana choroba prosiąt-osesków o etiologii związanej z działaniem beztlenowców *C. perfringens* C.

2. Wyosobniony krajowy szczep nr 75 okazał się typowy w zakresie wytwarzania głównych antygenów toksycznych alfa i beta, ale za pewną osobliwość należy uznać jego aktywność hialuronidazogenną, której z reguły są pozbawione izolaty pochodzące od prosiąt.

3. Powstała potrzeba podjęcia prac nad opracowaniem swoistej szczepionki przeciwko beztlenowcowej enterotoksemii prosiąt-osesków, w oparciu o toksynogenne szczepy *C. perfringens* C.

Piśmiennictwo

- Barnes D. M., Moon H. W.: J. Am. vet. med. Ass. 144, 1391, 1964.
- Bergeland M. E.: Clostridial infections, w: Diseases of swine, red. Leman A. D., USA 1981, s. 418.
- Bergeland M. E., Dermody T. A., Sorensen D. K.: Proc. U.S. Livestock Sanit. Ass. 70, 601, 1966.
- Brooks M. E., Sterne M., Warrack G. H.: J. Path. Bact. 74, 185, 1957.
- Buxton A., Fraser G.: Animal microbiology. Blackwell Sci. Publ. Oxford 1977, s. 221.
- Estola T., Stenberg H.: Nord. VetMed. 15, 35, 1963.
- Cygan Z.: Clostridia w narządach zwierząt zdrowych i padłych. Praca dokt., WSR Lublin, 1967.
- Cygan Z., Cygan R.: Medycyna Wet. 32, 287, 1976.
- Dalling T., Roos H. E.: J. comp. Path. 51, 235, 1938.
- Field H. L., Gibson E. A.: Vet. Rec. 67, 31, 1955.
- Field H. L., Goodwin R. F.: J. Hyg., Camb. 57, 81, 1959.
- Griner L. A.: Bull. Off. int. Epizoot. 59, 1443, 1963.
- Guillaumie M., Kreguer A.: Rev. Immunol. Ther. 15, 47, 1951.
- Hauschild A. H.: Cl. perfringens A, B, C, D, E, w: Microbiol toxins, red. S. Kadis, T. C. Montie, S. J. Ajl, Acad. Press. New York—London 1971.
- Hogh P.: Nord. VetMed. 17, 1, 1965.
- Hogh P.: Acta vet. scand. 8, 26, 1967.
- Hogh P.: Acta vet. scand. 8, 301, 1967.
- Hogh P.: Acta vet. scand. 10, 57, 1969.
- Hogh P.: Acta vet. scand. 10, 84, 1969.
- Johansen U., Menger S., Urwerth W.: Proc. Int. Pig Vet. Soc., Barcelona, 1986, s. 173.
- Matthias D., Illner D., Bauman G.: Arch. exp. VetMed 22, 417, 1968.
- Mészáros J., Pesti L.: Acta vet. hung. 15, 465, 1965.
- Moon H. W., Bergeland M. E.: Can. vet. J. 6, 159, 1965.
- Oakley C. L., Warrack G. H.: J. Path. Bact. 63, 45, 1951.
- Pesti L.: Acta vet. hung. 15, 447, 1965.
- Plaisier A. J.: Tijdschr. Diergeneesk. 96, 324, 1971.
- Popoff M. R., Jestin A.: Am. J. vet. Res. 46, 2147, 1985.
- Riera P., Costa L. L., Casadevall P., Vendrell J.: Proc. Int. Pig Vet. Soc., Barcelona, 1986, 170.
- Sakurai J., Duncan C. L.: Infect. Immun. 21, 678, 1978.
- Smith L. D.S.: Rev. infect. Dis. 1, 254, 1979.
- Smith L. D.S., Holdeman L. V.: The pathogenic anaerobic bacteria. C. Thomas — Publisher, Springfield 1968, s. 201.
- Sterne M., Batty I.: Pathogenic Clostridia. Butterworths, London — Boston, 1975, s. 79.
- Szent-Ivanyi T., Szabo S.: Acta vet. hung. 6, 217, 1956.
- Warrack G. H., Bidwell E., Oakley C. L.: J. Path. Bact. 63, 293, 1951.

Adres autora: prof. dr hab. Zygmunt Cygan, ul. Żelazowej Woli 6 m 13, 20-854 Lublin

Цыган З., Терещук С., Пейсак З., Тарасюк К., Хвещук В., Томашевская М. — *C. perfringens* C причиной энзоотии энтеротоксемии у поросят-сосунов

Описали энзоотию анаэробной энтеротоксемии у 2—3-дневных поросят-сосунов, во время которой пало за 1 год свыше 400 животных. Распознавание болезни подтвердили изолированием из содержи-

мого тонких кишек палочек *C. perfringens* C и обнаружением в нем специфического токсина бета (летальной реакцией с использованием мышей и некротизирующей реакцией на морских свинках). Изолированных 5 штаммов подвергли подробному анализу относительно морфологически-ферментативных свойств и способности к производству специфического токсина бета, а 1 из них, т.е. изолят nr 75 проверили также в полном диапазоне токсигенной активности (отметили следующие концентрации образующих в среде VF токсинов: альфа — 40 ед. изм./мл, бета — 128 DML₁₀₀/мл, m_i — 256 доз ук./мл и ni — титр 32).

Cygan Z., Tereszczuk S., Pejsak Z., Tarasiuk K., Chwesiuk W., Tomaszewska M. — *Clostridium per-*

fringens C aetiological agent of enzootic enterotoxemia in suckling piglets

Enterotoxemia was described in 2—3 days old suckling piglets; it caused death in 400 animals in a year. Diagnosis of the disease was confirmed by isolation of *Cl. perfringens* C from the content of the small intestines and by discovery of specific beta-toxin in the bacilli. Five strains were isolated and they were examined for morphological and biochemical properties and also for specific beta-toxin production. One isolate designated as № 75 was assessed for complete toxic activity. There were found the following concentrations of VF toxins: alpha — 40 units/ml, beta — 128 DLM₁₀₀/ml, m_i — 256 ind. doses/ml and ni — titer = 32.

JANUSZ WAWRZKIEWICZ, JERZY PŁATAKIS, BARBARA DZIEDZIC

Zmieniony odczyn precypitacji w żelu agarowym i jego zastosowanie w rozpoznawaniu enzootycznej białaczki bydła

Instytut Chorób Zakaźnych i Inwazyjnych AR, ul. Akademicka 12, 20-033 Lublin

Pozytywne wyniki namnażania wirusa enzootycznej białaczki bydła *in vitro* w hodowlach komórkowych (10, 11, 18), a także wykazanie swoistych przeciwciał antywirusowych u zakażonych zwierząt (5, 19), stworzyły podstawy do opracowania swoistych metod serologicznych, wykorzystywanych dla celów diagnostycznych. Spośród różnych odczynów serologicznych, stosowanych w praktyce laboratoryjnej, najpopularniejszym jest odczyn podwójnej immunodiffuzji w żelu agarowym (AGID) według metody Ouchterlonyego (20). Wynika to głównie z prostoty jego wykonania przy równocześnie wysokiej swoistości, warunkowanej zazwyczaj jakością antygeny, produkowanego przez różne firmy i laboratoria. W porównaniu do innych odczynów serologicznych, takich jak test ELISA, odczyn radioimmunologiczny, czy też próba hamowania tworzenia się zespólni, jest on znacznie mniej czuły (1, 3, 6, 7, 12, 13, 14, 16, 22), aczkolwiek umożliwia wykrycie swoistych przeciwciał już na 16 dzień po sztucznym zakażeniu bydła (14). W warunkach jednak naturalnego zakażenia się bydła odczyn ELISA, dzięki bardzo dużej czułości, pozwala na wcześniejsze wykazanie swoistych przeciwciał antywirusowych, tj. na 5 tygodni przed ich wykryciem metodą AGID. Ta wysoka czułość odczynu prowadzić może jednak niekiedy do niewłaściwej oceny stanu zdrowia młodych zwierząt, karmionych siarą krów zakażonych wirusem enzootycznej białaczki bydła (EBB). W wyniku bowiem pobrania wraz z siarą swoistych przeciwciał i ich utrzymywania się przez długi okres czasu w ustroju — nawet przez 9 miesięcy (4) mogą one być błędnie uznane za swoiste białka przeciwwirusowe powstałe jako rezultat odporności czynnej. W takich przypadkach zdrowe sztuki mogą być potraktowane jako zakażone.

Badania własne miały na celu ocenę zmienionego schematu nastawiania odczynu precypitacji oraz składu podłoża wzbogacanego dodatkiem glikolu polietylenowego na wyniki reakcji precypitacji w przypadku EBB.

Materiał i metody

Antygen. Do badań użyto antygeny diagnostycznego, wyprodukowanego przez Instytut Weterynarii (seria nr 5333 oraz A 386), rozpuszczonego w wodzie destylowanej według zaleceń producenta.

Podłoże do precypitacji. Roztwór żelu agarowego przygotowywano przez rozpuszczenie Bacto-agaru firmy Difco w buforze Tris-HCl o pH 7,2 z zawartością 8,5% chlorku sodowego. Podłoże zmodyfikowane zawierało 4% glikolu polietylenowego o m.c.z. 6000 (PEG 6000), natomiast zmiana schematu nastawiania odczynu polegała na zwiększeniu średnicy baseników z surowicę do 10 mm, przy nie zmienionej średnicy studzienki (5 mm) zawierającej antygen. Odległość między basenikiem z antygenem a studzienkami z surowicą wynosiła 5 mm; grubość żelu — 2,5 mm.

Wyniki odczytywano po 24, 48 i 72 godzinach od momentu nastawienia odczynu, przetrzymując płytki w komorze wilgotnej w temperaturze 22°C.

Surowice. Surowice bydłce w liczbie 118 pochodziły z zakażonej obory WOPR województwa wrocławskiego.

Wyniki i omówienie

Uzyskane dane zebrano w tab. 1. Na 118 surowic badanych metodą obecnie obowiązującą, wyniki zdecydowanie dodatnie uzyskano w 53 przypadkach (44,91%), a wątpliwe w 9 (7,62%). Zwiększenie natomiast średnicy baseników z surowicami z 5 mm do 10 mm, a tym samym ponad 3-krotne powiększenie objętości studzienek (z 35 ul do 115 ul) podwyższyło liczbę wyników dodatnich z 49,91% do 77,9%. Wprowadzenie do żelu agarowego glikolu polietylenowego (PEG 6000) w ilości 4% wpłynęło wyraźnie korzystnie na występowanie intensywności reakcji precy-