

niowa dawka witamin nie ma bezpośredniego wpływu na poziom odporności przeciwpomrowej.

Uzyskane wyniki odnośnie hamującego wpływu uderzeniowej dawki witamin na rozwój mykoplazmozy wydają się bardzo zachęcające. Oczywiście należy się liczyć, że takie niespecyficzne leczenie nie zawsze daje w warunkach terenowych tak dobre rezultaty. W przebiegu mykoplazmozy oprócz *M. gallisepticum* wchodzi często w grę inne zarazki (np. *E. coli*) jak i przede wszystkim warunki środowiskowe. Nasze doświadczenia przeprowadzone były w warunkach mało sprzyjających rozwojowi tego schorzenia. Pomieszczenie było ciepłe, suche z dobrą wentylacją, a zagęszczenie ptaków niewielkie. W wyjątkowo niekorzystnych warunkach środowiskowych należy się liczyć z koniecznością zastosowania antybiotyków. I w takim jednak przypadku podanie zwiększonej dawki witamin jest bardzo wskazane.

Wnioski

1. Uderzeniowa (3-krotna) dawka „Polfamixu Z” w okresie szczepienia szczepionką „L” wykazała silnie hamujące działanie na rozwój wcześniejszego zakażenia zarazkami *M. gallisepticum*.

2. Dawka taka nie wykazała wyraźnego wpływu na poziom przeciwciał przeciwpomrowych.

3. Stosowanie „Polfamixu Z” zamiast antybiotyków dla zabezpieczenia ptaków przed poszczepienną mykoplazmozą eliminuje możliwość powstawania szczepów zarazków antybioopornych.

Piśmiennictwo

1. Adler H.: Ann. N.Y. Acad. Sci. 79, 703, 1960.
2. Bankowski A.: Brit. Vet. J. 117, 306, 1961.
3. Erion A.: Brit. Vet. J. 117, 296, 1961.
4. Brion A., Fontaine M., Fontaine M. P.: Bull. Off. int. Epiz. 60, 947, 1963.
5. Czakata A.: Bull. of the Veterinary Institute in Pulawy 10(3-4), 5-91, 1967.
6. Corstvet R. E., Sadler W. W.: Am. J. Vet. Res. 27, 1713, 1966.
7. Gross W.: Poultry Sci. 35, 765, 1956.
8. Karczewski W.: Dane niepublikowane.
9. Marek K., Czakata A.: Medycyna Wet. 21, 4, 1965.
10. Van Roekel H., Gray J. E., Shipkowitz N. L., Clarke M. K., Luchini R. M.: Bull. Univ. Mass. Amherst 486, 1977.

Adres autora: dr Mirosława Różańska, Puławy, ul. 22 Lipca 11 m. 4.

Ружаньска М., Рапневска Х., Саморэк-Дзскановска Э. — Влияние витаминной смеси „Polfamix Z” на течение микоплазмоза дыхательных путей у цыплят.

Цыплятам зараженным *M. gallisepticum*, а потом привитым вакциной „L” против болезни Ньюкестль подавали 7 дней начиная от дня вакцинации ударную дозу витаминов в форме 3 г препарата „Polfamix Z” на 1 л питьевой воды. Установили как анатомопатологически так и в реакции торможения гемагглютинации отчетливый тормозящий эффект на развитие послепрививочного микоплазмоза птиц. Препарат не повлиял на развитие иммунитета против псевдоочуме птиц.

Różańska M., Raszevska H., Samorek-Dziekanowska E. — The influence of vitamine mixture „Polfamix Z” on the course of mycoplasmosis of the respiratory tract in chickens.

The chickens infected with *M. gallisepticum* and then vaccinated with the „L” vaccine were administered for seven days (since the day of vaccination) large initial doses of vitamins as „Polfamix Z” (3 g of the drug per 1 l of drinking water). It was found the distinct inhibitory effect of the drug on post-vaccinal mycoplasmosis. This was estimated on the basis of anatomopathological lesions and the level of HI antibodies against *M. gallisepticum*. The investigated drug had no influence on the appearance of immunity against NDV.

MIECZYŚLAW CHAJKOWSKI, JADWIGA MATRAS

Uodparnianie bierne świnek morskich skażonych aerosolowo i dożołądkowo toksyną botulinową typu C

Środek Naukowo-Badawczy Służby Weterynaryjnej
w Puławach

Działanie profilaktyczne lub lecznicze surowicy przeciwbobotulinowej u zwierząt było przedmiotem wielu badań z których wynika, że efekty zależą w głównej mierze od wielkości dawki i drogi skażenia toksyną oraz od sposobu i czasu podawania antytoksyny. Jak podają Iida i wsp. (4) przy dootrzewnowym stosowaniu u białych myszy surowicy odpornościowej i toksyny typu E zwiększenie 3,5-krotne ilości surowicy wystarczało do neutralizacji 10-krotnie większej ilości toksyny. Jeśli toksynę podawano doustnie, a antytoksynę podskórnie to należało zwiększyć jej ilość ponad 1000-krotnie dla neutralizacji 7,5 razy większej toksyny. Ponadto ilość surowicy potrzebnej do unieczynniania toksyny wydatnie zwiększała się przy wydłużaniu okresu między ich stosowaniem. Podob-

nie Jakowlew (5) w swoich badaniach nad bierną odpornością myszek i świnek morskich skażonych toksyną botulinową typu A i B dochodzi do wniosku, że podanie jej drogą oddechową wymaga do ochrony zwierząt większych dawek z doustnym czy podskórnym sposobem skażenia.

Minerwin (8) i Szwedow (11) wykazali w swoich badaniach, że najlepsze wyniki leczenia botulizmu u zwierząt, wywołanego skażeniem enteralnym, uzyskiwali po podaniu surowicy odpornościowej do przewodu pokarmowego dożołądkowo, dodwunastniczo lub do jelita grubego.

Dobre efekty lecznicze po podaniu antytoksyny obserwowali Pitre i Quittet (9) u norek skażonych toksyną botulinową typu C,

Schwartz i Smart (10) u dzikich kaczek i kurcząt chorych na botulizm oraz Swincow i wsp. (12) u kur w początkowym okresie zachorowania.

Przedstawione wyżej badania nad stosowaniem antytoksyny botulinowej w celach zapobiegawczych i leczniczych uwarunkowały cel pracy. Jest nim określenie możliwości działania zapobiegawczego lub leczniczego surowicy przeciwbotulinowej u świnek morskich skażonych toksyną botulinową typu C metodą aerosolową oraz dożołądkową.

Materiał i metody

W badaniach posługiwano się toksyną szczepu Nerz typu C, wyizolowanego w Szwecji przez Dintera z norki padłej wśród objawów botulizmu. Szczep ten w postaci 24 godz. hodowli posiewano w stosunku 1:10 na 5 litrów zmodyfikowanej pożywki Wrzoska i po 6 dniach namnażania sprawdzono moc biologiczną hodowli zakażając dootrzewnowo białe myszy wzrastającymi dziesiętnie rozcieńczeniami w objętości po 0,1 ml. Toksynę strącano tylko z tych hodowli, które wykazały moc nie mniejszą niż 10 000 dawek śmiertelnych w 1 ml dla myszy. Toksyczne hodowle sączone przez warstwę waty dla oddzielenia resztek wątroby i bezpostaciowych strąków pożywki. Po przesączeniu dodawano do hodowli 70% siarczianu amonu *in substantia*, pozostawiano na noc w temperaturze pokojowej i następnie zbierano z powierzchni wytraconą toksynę. Precypitat odwirowywano, dializowano, suszono w suszarce pod próżnią, rozcierano w moździerzu, oznaczano moc toksyczną na białych myszach i przechowywano w zatopionych ampułkach w temperaturze +4°C. Do doświadczeń aerosolowych używano toksyny o mianie $LD_{50} = 10^{-6,75}$, a do zatrucia dożołądkowego $LD_{50} = 10^{-7,75}$ przy czym rozpuszczano ją w 0,1 M buforze fosforanowym (pH 6,7) z dodatkiem 0,2% żelatyny (1).

Surowicę przeciwbotulinową typu C otrzymano przez uodpornianie anatoksyną koni i zawierała ona 770 J.A. w ml. Przechowywano ją w lodówce w stanie zliofilizowanym, a przed użyciem liofilizat rozpuszczano w takiej ilości wody destylowanej aby ml zawierał 1 000 J.A.

Doświadczenia przeprowadzano na białych myszach, samcach i samicach, o ciężarze ciała około 20 g, oraz na świnkach morskich samcach i samicach, o ciężarze ciała 250–400 g. Surowicę podawano zwierzętom podskórnie lub dootrzewnowo. Zakażenia aerosolowego drogą powietrzną dokonywano w komorze metalowej IWK-1, a obliczanie dawek toksyny przeprowadzano podobnie jak w poprzedniej pracy (3). Wilgotność względna w czasie rozpylania wynosiła 51–100%, a temperatura 16–27°C.

Tab. 2. Przeżywalność świnek morskich uodpornionych biernie przeciw skażeniu dożołądkowemu toksyną botulinową typu C

Dawka surowicy toksyny	Dni po podaniu surowicy										
	1	2	4	8	12	16	20	24	28	32	
1 J. A. 1 DLM	0/3*)	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	2/3	2/3	3/3
1 J. A. 10 DLM	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	2/3	3/3				
1 J. A. 100 DLM	0/3	0/3	0/3	0/3	2/3	3/3					
5 J. A. 10 DLM	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	1/3	2/3	3/3			

*) w liczniku liczba zwierząt padłych, w mianowniku skażonych.

Surowicę antytoksyczną stosowano u świnek morskich profilaktycznie przed zatruciem toksyną botulinową lub leczniczo po zatruciu. Do każdego rodzaju badań używano 4 szt. zwierząt oraz jedną świnkę morską kontrolną, której nie podawano surowicy. Zwierzęta wykorzystywane w doświadczeniach obserwowano w ciągu 10 dni.

Wyniki

1. Surowica przeciwbotulinowa podawana zapobiegawczo przed skażeniem aerosolowym.

Surowicę podawano świnkom morskim podskórnie w dawce 1–5 J.A./g c. c., a następnie skażono jednorazowo po 3 szt. w grupie i 1 szt. kontrolną 1–10 DLM toksyny botulinowej w czasie 1–28 dni od chwili podania surowicy. Obserwowano przeżywalność użytych do doświadczeń zwierząt, a uzyskane wyniki przedstawia tab. 1.

Tab. 1. Przeżywalność świnek morskich uodpornionych biernie przeciw skażeniu aerosolowemu toksyną botulinową typu C.

Dawka surowicy toksyny	Dni po podaniu surowicy							
	1	2	4	8	12	16	20	24
1 J. A. 1 DLM	0/3*)	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	3/3
1 J. A. 10 DLM	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	2/3	3/3	
5 J. A. 10 DLM	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	2/3	3/3	

*) w liczniku liczba zwierząt padłych, w mianowniku skażonych.

2. Surowica przeciwbotulinowa podawana zapobiegawczo przed zatruciem dożołądkowym.

Metodykę badania stosowano podobnie jak w doświadczeniu poprzednim. Wyniki ujęto w tab. 2.

3. Surowica przeciwbotulinowa podawana leczniczo po zatruciu aerosolowym.

Świnki morskie zatrutowo toksyną botulinową w komorze aerosolowej dawkami 1–10 DLM i następnie po określonym okresie czasu podawano im jednorazowo drogą podskórną lub do-

otrzewnową surowicę w ilości 1—10 J.A./g c. c. U zwierząt notowano przeżywalność, co ilustruje tab. 3:

Tab. 3. Przeżywalność świnek morskich skażonych aerosolowo toksyną botulinową typu C i leczonych surowicą

Dawka toksyny surowicy	Droga podania surowicy	Godziny po zatruciu toksyną					
		1	2	4	8	12	16
1 DLM 1 J. A.	podskórnice	0/3*)	0/3	0/3	1/3	2/3	3/3
10 DLM 1 J. A.	podskórnice	0/3	2/3	3/3			
10 DLM 5 J. A.	podskórnice	0/3	0/3	3/3			
10 DLM 5 J. A.	dootrzewnowo	0/3	0/3	3/3			
10 DLM 10 J. A.	podskórnice	0/3	0/3	2/3	3/3		
10 DLM 10 J. A.	dootrzewnowo	0/3	0/3	2/3	3/3		

*) w liczniku liczba zwierząt padłych, w mianowniku skażonych.

4. Surowica przeciwbotulinowa podawana leczniczo po zatruciu dożołądkowym.

Świnki morskie zatrutowano toksyną botulinową dawkami 1—100 DLM i po określonym okresie czasu podawano surowicę podskórnice lub dootrzewnowo. Wyniki obserwacji przedstawia tab. 4.

Tab. 4. Przeżywalność świnek morskich skażonych dożołądkowo toksyną botulinową typu C i leczonych surowicą

Dawka toksyny surowicy	Droga podania surowicy	Godziny po zatruciu toksyną						
		1	2	4	8	12	16	20
1 DLM 1 J. A.	podskórnice	0/3*)	0/3	0/3	0/3	2/3	2/3	3/3
10 DLM 1 J. A.	"	0/3	0/3	3/3				
10 DLM 1 J. A.	"	0/3	2/3	3/3				
10 DLM 5 J. A.	"	0/3	0/3	3/3				
10 DLM 5 J. A.	dootrzewnowo	0/3	0/3	2/3	3/3			
100 DLM 5 J. A.	podskórnice	0/3	1/3	3/3				
100 DLM 5 J. A.	dootrzewnowo	0/3	1/3	3/3				
10 DLM 10 J. A.	podskórnice	0/3	0/3	1/3	3/3			
10 DLM 10 J. A.	dootrzewnowo	0/3	0/3	0/3	3/3			
10 DLM 20 J. A.	podskórnice	0/3	0/3	1/3	2/3	3/3		

*) w liczniku liczba zwierząt padłych, w mianowniku skażonych

Wszystkie kontrolne świnki morskie zatrutowane toksyną botulinową metodą aerosolową lub dożołądkową bez podawania surowicy, padały z objawami botulizmu.

Omówienie

Przeprowadzono doświadczenia nad przeżywalnością świnek morskich uodpornianych biernie surowicą przeciw skażeniu aerosolowemu (tab. 1) i dożołądkowemu (tab. 2) toksyną botulinową typu C. Jak wynika z uzyskanych danych podanie podskórnice zwierzętom doświadczalnym 1 J.A./g c. c. antytoksyny chroniło je do 20 dni przed inhalacyjnym skażeniem dawką 1 DLM lub do 12 dni przed dawką 10 DLM. Przy zwiększeniu ilości surowicy do 5 J.A./g c. c. i podaniu 10 DLM toksyny okres przeżywalności świnek wynosił również 12 dni. Przeprowadzone doświadczenia wykazały, że czas ochronnego działania surowicy wynoszący 20 dni przy dawce toksyny 1 DLM różni się w sposób istotny ($x^2 = 6,43$) od czasu 12 dni przy dawce 10 DLM. Podobnie okres skutecznego podawania antytoksyny różni się istotnie ($x^2 = 5,14$) dla dawek 1 i 10 DLM. Natomiast nie ma różnicy między czasem ochronnego działania surowicy u świnek morskich, którym podano 1 lub 5 J.A. surowicy i 10 DLM toksyny.

Przy dożołądkowym skażeniu świnek morskich uodpornionych biernie surowicą odpornością uzyskano podobne wyniki (tab. 2) jak w doświadczeniu poprzednim. Jedynie w grupie

zwierząt którym podawano podskórnie 1 J.A./g c. c. surowicy i następnie skażano je dawką 100 DLM toksyny, obserwowano ochronne jej działanie do 8 dni. Czas ochronnego działania surowicy do 20 dni przy dawce 1 J.A./g c. c. i 1 DLM toksyny różni się w sposób istotny od czasu 12 dni po zwiększeniu dawki do 10 DLM. Brak jest natomiast istotnej różnicy między działaniem 1 i 5 J.A. surowicy oraz 10 DLM toksyny.

Poza tym przeprowadzono badania nad możliwością leczenia za pomocą surowicy antytoksykcyjnej świnek morskich skażonych toksyną metodą aerosolową (tab. 3.) lub dożołądkową (tab. 4). Jak wynika z uzyskanych danych (tab. 2) surowica podawana zwierzętom w dawce 1 J. A./g c.c. chroniła je przed śmiercią tylko w czasie 4 godz. po skażeniu aerosolowym dawką 1 DLM i przez 1 godz. po podawaniu 10 DLM. Po zwiększeniu dawki surowicy do 5 i 10 J.A./g c. c. podawanej podskórnie lub dootrzewnowo przy 10 DLM toksyny czas leczniczego działania wynosił 2 godz. i nie różnił się istotnie w zależności od ilości wprowadzonej surowicy.

Przy dożołądkowym podawaniu (tab. 4) świnkom morskim toksyny botulinowej w dawkach 1, 10 i 100 DLM czas leczniczego działania surowicy stosowanej podskórnie w ilości 1 J.A./g c. c. wynosił odpowiednio 8, 2 i 1 godz. i dla tych dawek toksyny różnił się w sposób istotny. Przy skażeniu 10 DLM udało się zachować przy życiu świnki, którym podano 5 J.A./g c. c. podskórnie lub dootrzewnowo do 2 godz. od chwili skażenia, a po podaniu 100 DLM do 1 godz. Przy zachowaniu dawki 10 DLM toksyny i zwiększeniu ilości podawanej surowicy do 10—20 J.A./g c. c. zwierzęta przeżywały okres 2 godz.

Uzyskane wyniki badań wskazują na podobne właściwości ochronne surowicy u świnek morskich skażonych zarówno drogą aerogenną jak i dożołądkową. Natomiast przy badaniu działania leczniczego surowicy stwierdzano lepszy efekt u zwierząt skażonych dożołądkowo.

Jak wynika z przeprowadzonych badań surowica antytoksykcyjna stosowana u zwierząt w celach zapobiegawczych wykazuje działanie ochronne przed skażeniem toksyną botulinową przez okres kilkunastu dni. Powyższe obserwacje własne jak również wyniki badań Jakowlewa (5) przemawiają za koniecznością podawania surowicy odpornościowej zwierzętom narażonym na skażenie toksyną botulinową.

Przy stosowaniu antytoksykcyjnej jako środka leczniczego należy uwzględnić okres czasu od chwili zastosowania toksyny botulinowej do wystąpienia porażenia cholinergicznego u zwierząt. Okres ten trwa krótko na wyizolowanych preparatach nerwowo-mięśniowych, przy czym surowica okazuje się bezskuteczna już po kilku minutach działania toksyny na zakończenie

nerwowe (2). Antytoksykcyjną więc ochrania skutecznie tylko te zakończenie nerwowe, które nie zetknęły się jeszcze z toksyną. Poza tym w większości przypadków trudno jest określić ilość wprowadzonej do organizmu toksyny, co znowu powoduje trudność w ustaleniu potrzebnej ilości surowicy odpornościowej. Jednakże przeprowadzone badania i uzyskane wyniki badań własnych jak również obserwacje innych autorów (4, 6, 7) potwierdzają od dawna znaną ogólną zasadę immunologiczną, że o uzyskaniu efektów w leczeniu botulizmu u ludzi i zwierząt decyduje jak najwcześniejsze zastosowanie dużych dawek specyficznej antytoksykcyjnej.

Przy określaniu właściwości leczniczych surowicy przeciwbotulinowej u świnek morskich stosowano dwie drogi jej podawania — podskórnią i dootrzewnową, przy czym nie stwierdzono istotnej różnicy w efektywności wyników leczenia. Minerwin (8) zaleca podawanie surowicy antytoksykcyjnej bezpośrednio do przewodu pokarmowego człowieka czy zwierzęcia zatrutego *per os*. Jednakże po skażeniu aerosolowym najbardziej skuteczną pozostaje droga parenteralnego podawania surowicy.

Wnioski

Na podstawie uzyskanych wyników badań można przedstawić następujące wnioski:

1. Podawanie surowicy przeciwbotulinowej świnkom morskim w dawce 1—5 J.A./g c. c. zabezpiecza je przed zachorowaniem na botulizm na okres 12—20 dni przy skażeniu aerosolowym lub dożołądkowym dawką 1—10 DLM toksyny typu C.

2. Surowica przeciwbotulinowa stosowana u świnek morskich w celach leczniczych po skażeniu aerosolowym 10 DLM toksyny typu C chroni je przed śmiercią, jeśli zostanie podana w dawce 5—10 J.A./g c. c. nie później jak 2 godz. po zatruciu. Po skażeniu dożołądkowym czas leczniczego działania surowicy u zwierząt jest nieco dłuższy, a dawka 100 DLM toksyny ogranicza podawanie jej tylko do 1 godz.

Piśmiennictwo

1. Boroff E. A., Fleck U.: J. Bact. 92, 1589, 1966.
2. Burgen A. S., Dickens F., Zatman L. J.: J. Physiol. 109, 10, 1949.
3. Chajkowski M.: Medycyna Wet. 24, 8, 1968.
4. Iida H., Ono I., Karashimada T.: Botulism 1966, Chapman and Hall Limited, London, 1967.
5. Jakowlew J. A.: Żur. Mikr. Epid. Imm. 29, 62, 1958.
6. Lemetayer E., Nicol E., Gurard O., Corvazier R., Cheyrour M.: Bull. Acad. Vet. France, 26, 391, 1953.
7. Matwiejew K. I.: Botulizm, Miedgiz, Moskwa, 1959.
8. Minerwin S. M.: Botulizm 1966, Chapman and Hall Limited, London, 1967.
9. Pitre J., Quittet P. L.: Bull. Acad. Vet. France, 31, 379, 1958.
10. Schwartz L. K., Smart G.: J. Am. Vet. Med. Ass. 143, 103, 1963.
11. Szwedow E. M.: Żur. Mikr. Epid. Imm. 30, 72, 1959.
12. Swincow P. M., Uszakow A. A., Skrbabin K. I.: Bolieznii ptic. Sielchozgz, Moskwa, 1951.

Adres autora: dr Mieczysław Chajkowski, Puławy, ul. Wojska Polskiego 5 m. 9.