

Szczepy krajowe oznaczono symbolami WPI-3/G-4/68 i WPI-3/G/82/68**).

Do wstępnej identyfikacji wyosobnionych szczepów zastosowano test hemadsorbcji, hamowania hemadsorbcji, hemaglutynacji, odczyn seroneutralizacji (SN), immunoprecypitacji w żelu agarowym. Ponadto badano wrażliwość na eter wg metody Singh i Cicy (16) oraz na pH-3 wg metody Kelera i wsp. (13).

Odczyn SN wykonano z trzema surowicami przygotowanymi na królikach dla trzech szczepów wirusa parainfluenzy-3 wyosobnionych w Stanach Zjedn. Am. Półn. oznaczonych SF-4, C3F-I, C3F-II oraz dwu szczepów wyosobnionych przez autora w Polsce i oznaczonych jak wyżej.

Wyniki

Z wymazów z nosa cieląt wyosobniono szczep wirusa które powodowały w hodowli komórek nerki cielęcej w pasażu wyjściowym efekt cytopatogeny po 72 godzinach, w następnych pasażach efekt cytopatogeny pojawiał się po 48—72 godzinach. W zakażonych komórkach nerki cielęcej po zabarwieniu hematoksyliną i eozyną stwierdzono występowanie ciałek wtrętowych cytoplazmatycznych i wewnątrzjądrowych oraz pojawienie się komórek olbrzymich. Wyosobnione szczepy wirusa mają zdolność hemadsorbcji i hemaglutynacji krwinek czerwonych świnki morskiej. Miano TCID₅₀ wyosobnionych szczepów wirusa uzyskane w hodowli nerki cielęcej obliczone wg metody Reeda i Muencha wynosiło dla szczepu G-4/68 10^{-6,5}/0,1 ml dla szczepu G-82/68 10^{-5,8}/0,1 ml dla szczepu SF-4 10^{-6,5}/0,1 ml.

Identyfikacja serologiczna dowodzi, że izolowane szczepy są szczepami wirusa parainfluenzy-3. Wykazują wrażliwość na eter i na

pH = 3, co potwierdza ich przynależność do grupy myxowirusów. Próba precypitacji w żelu agarowym wykonana mikro i makro metodą dała wynik dodatni. Uzyskano podobne linie precypitacyjne dla wszystkich trzech antygenów badanych wirusów co świadczyłoby o podobieństwie antygenowym wyosobnionych szczepów krajowych do szczepu SF-4.

Porównane właściwości hemadsorbcji, hemaglutynacji, działania cytopatogenego, indukowania powstawania ciałek wtrętowych, wrażliwość na eter i pH = 3 oraz zachowanie się w odczynie immunoprecypitacji wykazało całkowitą zgodność cech izolowanych szczepów z amerykańskim szczepem SF-4 wirusa parainfluenzy-3.

Piśmiennictwo

1. Baldwin D. E., Marshall R. G., Wessman G. E.: Am. J. vet. Res. 28, 127, 1967.
2. Betts A. O., Jennings A. R., Omar A. R., Page Z. E., Spence J. B., Walker R. G.: Vet. Rec. 76, 382, 1964.
3. Bögel K., Klinger L.: Virusinfektion Mh. Tierh. 13, 129, 1961.
4. Bürki F.: Path. Microbiol. 26, 717, 1963.
5. Buczek J.: Medycyna Wet. 25, 470, 1969.
6. Dawson P.: Res. vet. Sci. 8, 81, 1964.
7. Dawson P., Darbyshire J. H., Lamont P. H.: Res. vet. Sci. 6, 108, 1965.
8. Haralambiev H., Pawlow N.: Arch. exp. Vet. Med. 22, 5, 1968.
9. Inaba Y., Omari T., Kono M., Matumoto M.: Jap. I. exp. Med. 33, 313, 1963.
10. Inaba Y., Kono M., Omari T., Matumoto M.: Nat. Inst. Anim. Hlth, Qt. Tokyo, 145, 1964.
11. Inaba Y., Kono M., Omari T., Matumoto M.: Nat. Inst. Anim. Hlth, Qt. Tokyo, 5, 59, 1965.
12. Jurmanova K., Mensik J.: Acta virol., Prague, 11, 164, 1967.
13. Kettler A., Hamparian V. V., Hilleman M. R.: Proc. Soc. exp. Biol. Med., 110, 821, 1962.
14. Reisinger R. C., Heddeston K. L., Manthol C. A.: J. Am. vet. Med. Ass. 135, 147, 1959.
15. Reisinger R. C.: Ann. N. Y. Acad. Sci. 101, 576, 1962.
16. Singh K. V., El Cicy I. F.: Can. J. comp. Med. vet. Sci. 31, 3, 1967.
17. Swent R. L.: J. Am. vet. med. Ass. 150, 2, 1967.

Adres autora: dr Jerzy Kita, Warszawa, ul. Grochowska 272.

** WPI — Wirus parainfluenzy, G — Garwolin, rok izolacji i numer cielęcia.

ZYGMUNT CYGAN, TADEUSZ JASTRZEBSKI

Pierwszy przypadek wyosobnienia w Polsce szczepu *Cl. botulinum C*

Katedra Mikrobiologii Wydziału Weterynarii WSR w Lublinie
Kierownik: prof. dr T. JASTRZEBSKI

Zakład Higieny Weterynaryjnej w Lublinie
Kierownik: dr T. DĄBROWSKI

Rozpoznanie botulizmu opiera się na badaniu klinicznym, na wykryciu toksyny oraz na stwierdzeniu obecności toksynotwórczych szczepów. Metoda kliniczna jest najprostsza, ale pozwala raczej na postawienie podejrzenia o botulizm niż na rozpoznanie. Najpewniejsze wyniki daje wykazanie toksyny w karmie i w padłym zwierzęciu. Jednak wbrew panującej często opinii wykrycie toksyny przy botulizmie C nie jest łatwe. Składa się na to cały szereg czynników. Przede wszystkim toksyna C łatwo ulega inaktywacji pod działaniem enzymów proteolitycznych, a także powstającego przy gniciu wysokiego pH, które przy opóźnionym przesłaniu materiału jest zjawiskiem częstym. Poza tym norki, o które tu najczęściej chodzi, są bardzo wrażliwe na toksynę C. Doustna minimalna dawka śmiertelna toksyny C dla nor-

ki jest ok. 25 razy mniejsza od dawki śmiertelnej innych typów jądów botulinowych, co utrudnia wykazanie obecności tej toksyny na zwykłych zwierzętach laboratoryjnych (8, 9). W związku z tym Dinter i Kull (2) wyrażają pogląd, że przy botulizmie C u norek „wykazanie toksyny jest wyjątkiem, a nie regułą”. Podobną opinię można znaleźć u Prevot i Brygoo (7). Jeszcze większe trudności napotyka wyosobnienie i identyfikacja toksynotwórczego szczepu. Szczepy *Cl. botulinum C* w odróżnieniu od pozostałych typów wyjątkowo łatwo ztracają zdolności toksynotwórcze stanowiące podstawowe kryterium identyfikacyjne zarazka. W związku z tym przypadki wyosobnienia szczepów *Cl. botulinum C*, co poza znaczeniem diagnostycznym ma dużą wartość dla badań nad różnymi właściwościami zaraz-

Tab. 1. Badania na obecność toksyny

Badany wyciąg (20%)		Dawka 0,2 ml i. p. w rozcieńczeniach:							Objawy chorobowe u zakażonych myszek
Materiał	Rodzaj	nie-rozc.	1/5	1/10	1/20	1/40	1/100	1/1000	
Karma	a. natywny	+	+	+	+	+	nb	nb	mało charakteryst. botulizm zdrowe
	b. natywny z antyb.	+	+	+	+	±	nb	nb	
	c. natywny ogrzewany	-	nb	nb	nb	nb	nb	nb	
Treść żołądka i jelit	a. natywny	+	+	±	-	nb	nb	nb	botulizm zdrowe
	c. natywny ogrzewany	-	nb	nb	nb	nb	nb	nb	
Wątroba	a. natywny	+	nb	nb	nb	nb	nb	nb	botulizm

Objaśnienia: + = śmierć wszystkich zakażonych myszek
 ± = śmierć 30–50% zakażonych myszek
 - = myszki zdrowe
 nb = nie badano

ka i nad produkcją surowic i szczepionek, są dosyć rzadkie. Nawet w słynnej specjalistycznej pracowni beztlenowcowej prof. Prevot częstość wyosabniania zarazka w przypadkach botulizmu nie przekracza 14%. W piśmiennictwie krajowym mamy jak dotąd tylko 1 przypadek wykrycia i zidentyfikowania toksyny (10). Nie opisano natomiast ani razu wyosobnienia odnośnego szczepu.

Badania własne miały na celu:

- wyosobnienie krajowego szczepu *Cl. botulinum C*,
- poznanie jego właściwości biologicznych,
- przedyskutowanie w oparciu o zebrane doświadczenia i dane z piśmiennictwa odpowiedniej metody izolacji i identyfikacji zarazka.

Materiał i metody

Materiał do badania pochodził z przypadku masowego zatrucia w 4 hodowlach nerek otrzymujących karmę ze wspólnej paszarni. Hodowle powyższe liczyły ogółem 34 zwierzęta stada podstawowego i 186 sztuk przychowka. Przypadki śmierci stwierdzono rano następnego dnia po wieczornym rozdaniu karmy. U żywych jeszcze chorych zwierząt obserwowano zwiotczenie mięśni oraz porażenie tylnych kończyn. Ogółem padło 168 sztuk przychowka (90,3%), natomiast w stadzie podstawowym upadków ani zachorowań nie było. Zasługuje na podkreślenie fakt, że stado podstawowe było uodpornione szczepionką Norvac C, natomiast przychowek nie był szczepiony. Posiewy bakteriologiczne wykonane w ZHW (rutynowe w kierunku bakterii tlenowych) dały wynik negatywny. Również negatywnie wypadły wykonane przez ZHW badania chemiczne w kierunku trucizn.

Do badań własnych użyto resztki niezużytej karmy oraz wątroby i treść przewodu pokarmowego padłych zwierząt.

Badanie na obecność toksyny

Badane materiały rozdrabniano, rozcieńczano pł. fiz. 1:5, ekstrahowano 4–8 godz. przy 3000 obr./min. Otrzymane wyciągi wprowadzano dootrzewnowo lub podskórnym białym myszkom w ilości 0,2 ml w postaci: a) natywnej, b) natywnej z dodatkiem 400 j/ml penicyliny i 200 j/ml streptomocyny, c) natywnej ogrzewanej 15 min. w 100°C. Zwierzęta obserwowano 3 dni. W ten sam sposób poszukiwano toksyny również w płynie nadosadowym 6-dniowej wstępnej hodowli z materiałów badanych na podłożu Wrzoska oraz w płynie uzyskanych później 6-dniowych hodowli czystych szczepów.

Identyfikacja toksyny

Identyfikację przeprowadzano metodą seroneutralizacji przy pomocy monowalentnych surowic antytoksyucznych pko *Cl. botulinum A, B, C, D, E i F, Cl. oedematiens A i B, Cl. septicum i Cl. perfringens A, B, C, i D* produkcji Biomed, Wellcome Research Laboratories (Anglia) względnie Minzdrav (ZSRR). Stosowano 0,2 ml toksycznego badanego wyciągu lub hodowli oraz 0,1 ml surowicy. Czas wiązania wynosił 45 min. w temp. 37°. Czas obserwacji zwierząt 4 dni.

Izolacja zarazka

Wyciągi z karmy, treści żołądka i jelit wysiewano na podłoże Wrzoska i inkubowano 6 dni w temp. 37°. Materiał z próbek, których płyn nadosadowy w ilości 0,2 ml wywoływał u myszek porażenie wiotkie i śmierć, przesiewano na podłoże wg Horodniceanu i Sasarmana w modyfikacji własnej (4) oraz na podłoże Zeisslera dla otrzymania czystych kultur. Kolonie wykazujące cechy *Cl. botulinum* wycinano wraz z agarem i wprowadzano na dno pożywki Wrzoska.

Identyfikacja zarazka

Wyosobnione szczepy poddawano identyfikacji. W tym celu określano morfologię zarazka i kolonii, właściwości biochemiczne i proteolityczne, zdolność wytwarzania indolu i skatolu oraz toksyny. Stwierdzone toksyny poddawano seroneutralizacji na białych myszach 0,2 ml płynu nadosadowego z 6-dniowej hodowli oraz 0,1 ml odpowiednich surowic; czas wiązania 45 min. w temp. 37°, okres obserwacji myszy 4 dni. Poza tym stosowano odczyn precypitacji dyfuzyjnej Ouchterlony'ego oraz odczyn immunofluorescencji wg metodyki użytej w pracach poprzednich (5). Dla kontroli stosowano antygeny z różnych gatunków i typów szczepów wzorcowych rodzaju *Clostridium*.

Wyniki i omówienie

Wyniki badania na obecność toksyny zestawiono w tab. 1. Wynika z niej, że dawka 0,2 ml i.p. 20% wyciągu z karmy spowodowała śmierć myszek w rozcieńczeniu do 1:40 włącznie, zarówno w grupie „a” jak i „b”. Jednak porażenie wiotkie charakterystyczne dla botulizmu obserwowano tylko w grupie „b” otrzymującej wyciąg natywny z antybiotykami. W grupie „a” objawy wskazywały raczej na zakażenie ogólne. Badanie bakteriologiczne wyciągu „a” wykazało w nim poza tlenowcami obecność *Cl. oedematiens A, Cl. septicum, Cl. perfringens A i Cl. sporogenes*. Nieco słabsze

działanie toksyczne stwierdzono przy badaniu 20% wyciągu z treści żołądka i jelit (1:10) oraz z wątroby (nierozc.). Ogrzewanie całkowicie niszczyło toksyczność wszystkich badanych wyciągów co dodatkowo potwierdza charakter biologiczny stwierdzonych jądów.

Wyniki identyfikacji toksyny uzyskano przy pomocy próby seroneutralizacji na myszkach. Jak widzimy z tab. 2, właściwości neutraliza-

Tab. 2. Wyniki seroneutralizacji wyciągów z karmy i treści przewodu pokarmowego

Rodzaj materiału	SN z surowicą przeciwiwko:				
	Cl. botulinum C	Cl. botulinum A, B, D, E, F,	Cl. oedematiens A, B	Cl. septicum	Cl. perfringens A, B, C, D
Wyciąg z karmy nieogrzany bez antybiotyków (a)	±	+	+	+	+
Wyciąg z karmy nieogrzany z antybiotykami (b)	-	+	+	+	+
Wyciąg z treści jelit nieogrzany (a)	-	+	+	+	+

Objaśnienia: + = śmierć myszek
± = śmierć części zakażonych myszek
- = myszki zdrowe

cyjne dla zbadanych toksycznych wyciągów posiadała tylko surowica pko *Cl. botulinum* C. Surowice pko serotypom *Cl. botulinum* A, B, D, E i F oraz *Cl. oedematiens* A, B i *Cl. septicum*, a także *Cl. perfringens* A, B, C, D — nie wykazały jakichkolwiek właściwości neutralizacyjnych. Należy podkreślić, że warunkiem przeprowadzenia pełnej seroneutralizacji wyciągu z karmy było zastosowanie dodatku antybiotyków. Wyciąg z treści żołądka i jelit był całkowicie neutralizowany, bez zastosowania dodatku antybiotyków, prawdopodobnie w związku z odmiennym składem towarzyszącej flory bakteryjnej.

Izolację szczepu *Cl. botulinum* (J3C) przeprowadzano z 6-dniowej wstępnej hodowli karmy w podłożu Wrzoska, przesiewanej na zmodyfikowane podłoże Horodniceanu i Sasarmanna. Metody tej wg dostępnego piśmiennictwa dotychczas nie stosowano. Zaletą metody jest umożliwienie wzrostu większości patogennych *Clostridium*. Jest to jednak zarazem i jej wadą gdyż pojedyncze, powoli rosnące kolonie *Cl. botulinum* C są trudne do znalezienia wśród olbrzymiej masy innych łatwiej i szybciej rosnących beztlenowców. W związku z tym wyosobnieniem szczepu *Cl. botulinum* C, przy użyciu tej metody było b. pracochłonne, gdyż wymagało olbrzymiej ilości przesiewów i przebadania ponad 100 szczepów na czystość i właściwości toksynotwórcze. Próby ogrzewania hodowli wstępnej na podłożu Wrzoska dały wynik negatywny gdyż eliminowały wprawdzie wzrost znacznej części flory beztlenowcowej niezarodnikującej i trudno zarodnikujących gatunków *Clostridium*, ale w istniejących wa-

runkach, równocześnie likwidowały *Cl. botulinum* C. Być może przy użyciu podłoża pobudzającego sporulację *Cl. botulinum* C, można by metodę ogrzewania zastosować, jednak zagadnienie to wymaga dalszych badań (ze względu na zarodnikowanie jednocześnie innych *Clostridium*).

Wyosobniony szczep *Cl. botulinum* oznaczony J3C rośnie na podłożu Zeisslera w postaci puszystych, delikatnych, hemolizujących, różnej wielkości kolonii. W podłożu Wrzoska wzrost występuje przede wszystkim na dnie próbówki wśród kostek wątroby, przy stosunkowo słabym zmętnieniu bulionu. Po 2—4 dniach hodowli zaznacza się „przejaśnienie” pożywki. Właściwości biochemiczne wyosobnionego szczepu zebrano w tab. 3. Jak widzimy z niej nie odbiegają one od ogólnie opisanych u tego gatunku *Clostridium*. Zasluguje na podkreślenie aktywność wyosobnionego szczepu w stosunku do węglowodanów co wg Doutre (3) ma być jedną z cech *Cl. botulinum* C podtypu alfa. Wyosobniony krajowy szczep *Cl. botulinum* C (J3C) cechuje duża labilność cech toksynotwórczych. Zarówno w podłożu VF jak i podłożu Wrzoska produkowana toksyna była dosyć słaba (1 Dlm = 0,2 x 10⁻² ml). Swoistą neutralizację stwierdzono jedynie przy użyciu surowicy pko *Cl. botulinum* C.

Tab. 3. Właściwości biochemiczne wyosobnionego szczepu *Cl. botulinum* (J3C)

Szczep	Substrat											
	laktoza	glikoza	sacharoza	maltoza	mannit	salicyna	glicerol	mleko lakmu-sowe	żelatyna	ścięta surowica	indol	skatol
J3C	-	+	-	+	-	+	-	(drobne strzępki)	-	-	-	-

Objaśnienia: + = wynik dodatni próby
- = wynik ujemny próby

Odczyn immunofluorescencji wykonano przy pomocy przygotowanych we własnym zakresie konjugat gamma globulin dla badanego szczepu J3C. Wyniki zestawiono w tab. 4. Odczyn wypadł dodatnio zarówno z wzorcowymi szczepami *Cl. botulinum* C i D jak i *Cl. oedematiens*. Wyniki te potwierdzają opinię Prevot i Brygoo (7) o podobieństwie serotypów *Cl. botulinum* C i D oraz stwierdzone przez nas uprzednio pokrewieństwo *Cl. botulinum* C z antygenami komórkowymi *Cl. oedematiens* (1). Mniej informatywne wyniki dał odczyn Ouchterlony'ego: dodatnie odczyny poza szczepami *Cl. botulinum* C i D oraz *Cl. oedematiens* wystąpiły z częścią szczepów innych typów *Cl. botulinum*. Jednak i w tym przypadku powinowactwa antygenowe nie wykraczały poza

Tab. 4. Odczyn serologiczne szczepów wzorcowych *Clostridium* z surowicą pko wyosobnionemu szczepowi *Cl. botulinum* J3C

Rodzaj odczynu serologicznego	Gatunek i typ <i>Clostridium</i>														
	Cl. botulinum A (5)	Cl. botulinum B (7)	Cl. botulinum C (2)	Cl. botulinum D (1)	Cl. botulinum E (3)	Cl. botulinum F (3)	Cl. oedematiens A, B, D (3)	Cl. tetani	Cl. septicum	Cl. fesceri (1)	Cl. sordelli (2)	Cl. histolyticum (2)	Cl. perfringens A, B, D (3)	Cl. sporogenes (3)	Cl. bifermentans
Precypitacja dyfuzyjna w żelu agarowym	+	-	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
Immunofluorescencja	-	-	+	+	-	-	+	0	-	-	-	-	-	-	-

Objaśnienia: + = wynik dodatni próby
± = wynik dodatni z częścią szczepów

-- = wynik ujemny
cyfry w nawiasach = ilość zbadanych szczepów

związki z gatunkiem *Cl. botulinum* i *Cl. oedematiens*. Być może wyosobnienie surowicy antyzarodnikowej zredukowałoby ilość odczynów międzytypowych.

Reasumując osiągnięte wyniki, należy przyjąć, że wyosobniony z zatrucia nerek szczep J3C należy do grupy *Cl. botulinum* typu C (prawdopodobnie podtypu alfa).

Piśmiennictwo

1. Cygan Z., Jastrzębski T.: *Medycyna Wet.* 25, 588, 1969.
2. Dinter Z., Kull K. E.: *Nord. Vet. Med.* 3, 297, 1951.
3. Doutré M. P.: *Bull. Off. int. Epizoot.* 67, 1497, 1967.
4. Jastrzębski T., Cygan Z., Nowak J.: *Medycyna Wet.* 24, 586, 1968.
5. Jastrzębski T., Cygan Z.: *Medycyna Wet.* 25, 653, 1969.
6. Meisel H.: *Bull. Off. int. Epizoot.* 9-10, 1163, 1967.
7. Prevot A. R., Brygoo E. R.: *Ann. Inst. Pasteur, Paris*, 85, 544, 1953.
8. Skulberg A., Valland M.: *Acta vet. scand.* 10, 137, 1969.
9. Tjåberg T. B., Skulberg A.: *Nord. Vet. Med.* 20, 313, 1968.
10. Wilczyński M., Ostojczuk W., Olszewski A., Szymajda W.: *Medycyna Wet.* 22, 354, 1966.

Adres autora: prof. dr Tadeusz Jastrzębski, Lublin, ul. Akademicka 12.

Цыган З., Ястшембски Т. — Первый случай изолирования в Польше штамма *Cl. botulinum* C.

Штамм изолировали из второго в Польше случая ботулизма норок подтвержденного установлением специфического токсина в корме и в тканях павших животных. Количество токсина в корме равнялась ок. 200 а в содержании желудка норки ок. 25 DLM (i.p. для мыши) на 1 г материала. Токсин был термолабильный и был специфически нейтрализован сывороткой против *Cl. botulinum* C, но не против токсина *Cl. perfringens* A, B, C, и D, *Cl. septicum*, *Cl. oedematiens* A и B а также *Cl. botulinum* A, B, D, E, и F. Штамм изолировали путем посева в 6 суточной предварительной культуры в среде Вжоска на собственную модификацию среду Horodniceau — Sasarman. Изолированный штамм (J3C) оказался *Cl. botulinum* C, вероятно подтипом альфа. Штамм J3C разлагает глюкозу, мальтозу, салицин, вызывает появление комочков в лакмусовом молоке, не разлагает лактозы, сахарозы, маннитола, глицерола, не вызывает желатинизации и свернутой сыворотки, не вызывает образования индола и скатола. Токсинообразование неравномерное: последние серии токсина были слабые (1 DLM для белой выщи равнялась $0,2 \times 10^{-2}$ мл). Идентификацию штамма провели при помощи реакции серонейтрализации токсина, реакции преципитации по Ouchterlony и иммунофлуоресценции. Положительный результат преципитации бактериального гетерогенного антигена получили с сыворотками против *Cl. botulinum* C и D, *Cl. oedematiens* A, B, и D, частично *Cl. botulinum* A а отрицательный результат с сыворотками против *Cl. botulinum* B и F, *Cl. tetani*, *Cl. fesceri*, *Cl. sordelli*, *Cl. histolyticum*, *Cl. perfringens* A, B, и D, *Cl. sporogenes*, *Cl. bifermentans*. Положительный результат методом иммунофлуоресценции из выше названных сывороток получили только с

коньюгатай против *Cl. botulinum* C и D, *Cl. oedematiens* A, B и D. Обсудили условия успешного установления ботулинового токсина в корме и в тканях павших животных.

Cygan Z., Jastrzębski T. — The first case of type C *Clostridium botulinum* isolation in Poland.

The strain has been isolated from the second case of botulism in minks, confirmed by the demonstration of toxin in food and in tissues of dead animals. The amount of the toxin in the food was about 200 and in the content of stomach of the minks about 25 DLM per 1 g (intraperitoneally for mice). The toxin was destroyed after heating and was inactivated by the serum anti-C *Clostridium botulinum*. The toxin was not neutralized by the sera against: 1. *Cl. perfringens* A, B, C, D; 2. *Cl. septicum*; 3. *Cl. oedematiens* A, B and 4. *Cl. botulinum* A, B, D, E, F. The *Cl. botulinum* strain was isolated by means of inoculation of six day old preliminary culture onto Horodniceanu and Sasarman's medium in own modification. The isolated strain (J3C) was determined as *Cl. botulinum* C, most probably, alpha subtype. The strain splitted glucose, maltose, salicin, and coagulated lacmus milk, did not split lactose, sucrose, mannitol and glycerol; did not dissolve gelatine and coagulated serum; indole and scatole were not produced. The strain varied very much as to its ability to produce the toxin; the toxin later of that strain was weak (1 DLM for mouse was $0,2 \times 10^{-2}$ ml). The identification of the strain was carried out by seroneutralization test, precipitation test in agar gel, and by means of immunofluorescence. The positive precipitation was obtained with the heated antigens against the sera of *Cl. botulinum* C and D, *Cl. oedematiens* A, B, D and also, to some extent, with sera of *Cl. botulinum* A. The negative reactions were with the sera against: *Cl. botulinum* B and F, *Cl. tetani*, *Cl. fesceri*, *Cl. sordelli*, *Cl. histolyticum*, *Cl. perfringens* A, B, D; *Cl. sporogenes* and *Cl. bifermentans*. The positive immunofluorescence test took place only with the sera against *Cl. botulinum* C and D, and *Cl. oedematiens* A, B, D. With the other sera the reactions was negative. In addition, there were examined and discussed the conditions in order to demonstrate the presence of *Cl. botulinum* toxins in food and tissues of dead animals.

GALLAGHER J., SPENCE J. B.: Zespół sercowo-wątrobowy u indycząt (A cardio-hepatic syndrome in turkey pouls). *Vet. Rec.*, 86, 201, 1970 (7).

U indycząt na farmie liczącej 200 sztuk wystąpił syndrom sercowo-żołądkowy. Indyczęta zaczęły padać nagle wśród łagodnych zaburzeń ze strony układu oddechowego. Na sekcjach stwierdzano rozstrzeń i zwiotczenie mięśnia serca, stwardnienie wątroby, przekrwienie bierne nerek i płuc. W preparatach histologicznych z wątroby notowano wakuolizację i martwicę komórek mięszu wątroby oraz hiperplazję tkanki limfoidalnej. Bardzo często ogniska tkanki limfoidalnej były otoczone naciekami heterofilów. Zaprzyczynę zespołu sercowo-wątrobowego autorzy uważają czynnikiem zakaźny.

Z. G.