

18. Burnside C. E.: Amer Bee J. 85, 354, 1945.
19. Furgala B., Lee P. E.: Virology 29, 346, 1966.
20. Fyg W.: Sweiz. Bienenztg. 81, 147, 1953.
21. Fyg W.: Sweiz. Bienenztg. 81, 387, 1953.
22. Giauffret A., Duthoit J. L., Caucat M. J.: Bull. Apicole 9, 222, 1966.
23. Giauffret A., Duthoit J. L., Poutiers F., Tostain-Caucat M. J.: Bull. Apicole 12, 13, 1969.
24. Giauffret A., Vago C., Rousseau M., Duthoit J. L.: Bull. Apicole 9, 123, 1966.
25. Giordani G., Vecchi M. A.: Nozioni pratiche sulle malattie delle api. L'Apicoltore Italia, Roma, 1973.
26. Grabor O. F., Ziuman B. T., Kerimbaev A. G.: XXIV Int. Beekeeping Congr. 1972, Moskwa, 567.
27. Krieg A.: Grundlagen der Insektpathologie, Darmstadt 1961.
28. Kulincevic J. M., Stairs G. R., Rothenbuhler W. C.: J. Invertebr. Pathol. 14, 13, 1969.
29. Kulincevic J. M., Stairs G. R., Rothenbuhler W. C.: J. Invertebr. Pathol. 16, 423, 1970.
30. Larski Z.: Wirusologia weterynaryjna PWRiL, Warszawa, 1975.
31. Lee P., Furgala B.: J. Invertebr. Pathol. 7, 170, 1965.
32. Lee P., Furgala B.: J. Invertebr. Pathol. 7, 502, 1965.
33. Lee P., Furgala B.: J. Invertebr. Pathol. 9, 178, 1967.
34. Lipa J. L.: Zarys patologii owadów. PWRiL, Warszawa, 1967.
35. Morganthaler O.: Sweiz. Bienenztg. 70, 148, 1947.
36. Morrison G. D.: Rothamsted Conf. 22, 17, 1936.
37. Reinganum C.: J. Invertebr. Pathol. 12, 471, 1968.
38. Reinganum C.: Victorian Plant Res. Inst. 5, 28, 1969.
39. Smirnova N. J.: Apicultura 2, 45, 1965.
40. Smirnova N. J.: XXIV Int. Beekeeping Congr, Moskwa 1972, 985.
41. Steinhilber E. A.: Bact. Rev. 13, 209, 1949.
42. Vago C.: Bull. Apicole 7, 111, 1964.
43. Vago C.: Adv. Virus Res. 13, 247, 1968.
44. White G. F.: Circ. Bur. Ent. USDA 169, 1913.
45. White G. F.: Bull. USDA 431, 1917.
46. Wildy P.: Classification and nomenclature of viruses. Monographs in Virology, Skager, Basel--München--Paris--London--NY--Sydney, 1971.

Adres autora: doc. dr habil. Zdzisław Gliński, ul. Akademicka 12, 20-033 Lublin.

ZYGMUNT CYGAN, TADEUSZ JASTRZEBSKI, REGINA CYGAN

Pierwszy przypadek wyosobnienia *Cl. oedematiens* B jako przyczyny bradсотu owiec w Polsce

Z Zakładu Higieny Weterynaryjnej w Lublinie

Choroby beztlenowcowe stanowią u owiec najważniejszą grupę schorzeń zakaźnych. Wywoływane są one przede wszystkim przez *Cl. perfringens*, *Cl. septicum* i *Cl. oedematiens*. Beztlenowce *Cl. perfringens* są czynnikiem etiologicznym tzw. enterotoksemii (typ C — enteroksemia jagniąt — enterotoxaemia of very young lambs, enterotoksemia owiec — enterotoxaemia of sheep tzw. „struck”; typ D — enterotoksemia owiec — enterotoxaemia of sheep of all ages; 2, 3, 4, 8, 12) i dysenterii (typ B dysenterii jagniąt — lamb desyntery; 16, 17), *Cl. septicum* tzw. „braxy”, dawniej „bradсот północny” (6, 7), a *Cl. oedematiens* — bradсотu tj. „black disease of sheep”, „hepatitis infectiosa necrotica” (1, 9, 10, 11, 15, 20, 21, 23, 24, 25). Spośród tych chorób w Polsce dotychczas stwierdzono enterotoksemię wywołaną przez *Cl. perfringens* D (2) i „braxy” na tle *Cl. septicum* (6, 7). Odnosnie bradсотu owiec dokładniejszych badań etiologicznych dotychczas w Polsce nie przeprowadzono. Wprawdzie Stępkowski i Wołoszyn (20) opisali przypadek tej choroby i wyosobnili *Cl. oedematiens*, jednak nie przebadali tkanek padłych zwierząt na obecność swoistych toksyn i nie ustalili typu wyizolowanego zarazka. Podobnie przedstawia się sprawa w przypadku opisanym ostatnio przez Uziębłą (22). Należy tu podkreślić, że wykazanie toksyny w padłym zwierzęciu i ustalenie typu toksycznego zarazka jest nie zbędnym warunkiem prawidłowej diagnozy, gdyż według Jamiesona (9) nosicielstwo *Cl. oedematiens* B występuje bardzo często u owiec zdrowych, dochodząc nawet do 29%.

Celem niniejszych badań własnych było przeprowadzenie pełnej identyfikacji gwałtownie

przebiegającego w miejscowości „G” schorzenia owiec z objawami beztlenowcowej intoksykacji. W związku z tym badania ukierunkowano na wykazanie w tkankach padłej owcy swoistych toksyn oraz poznanie niektórych właściwości biologicznych, głównie toksycznych, wyosobnionego zarazka.

Materiał i metody

1. Opis choroby. W położonej w miejscowości „G” owczarni, liczącej 60 owiec, w wieku 1—5 lat, rasy krajowej długowłosej, wystąpiły w kilkuniedniowych odstępach nagle zejścia śmiertelne 8 zwierząt. Badaniu rozpoznawczemu poddano 1 padłą owcę. Na sekcji zwłoki zwierzęcia wykazywały silne wzdęcie i pienisto-krwawy wyciek z naturalnych otworów ciała. W tkance podskórnej okolicy przedpiersia i podbrzusza występowały galaretowato-krwiste nacieczenia, zawierające pęcherzyki gazu. Z narządów wewnętrznych najsilniejsze zmiany chorobowe stwierdzono w wątrobie, która wykazywała cechy zwyrodnienia i zawierała pojedyncze szaro-żółte ogniska martwicze wielkości, 0,5—2 cm. Ponadto obserwowano zwyrodnienie mięśnia sercowego z nielicznymi wybroczonymi w nasierdziu, zwiększoną ilością żółtawo-krwistego płynu w worku osierdziowym oraz niezbyt trawieńca i wypełnienie gazem pętki jeli cienkich.

Do badań laboratoryjnych użyto pobrane bezpośrednio po śmierci zwierzęcia próbki wątroby, nerki oraz treści jelit cienkich.

2. Badanie na obecność toksyny. Z pobranych narządów mięsnych i treści jelit sporządzono 50% ekstrakty w płynie fizjologicznym i wirovano przy 4000 obr./min. przez 45 minut. Otrzymane płyny znad osadu rozcieńczano i wprowadzono do otrzewnowo białym myszkom w ilości 0,5 ml w postaci: a) natywnej i b) natywnej ogrzanej 15 min. w 100°C. W ten sam sposób poszukiwano toksyny w płynie nadosadowym z 24 godz. hodowli zarazka (podłoże VF z 0,5% glukozy). Czas obserwacji zakażonych myszy wynosił 2—3 dni.

3. Identyfikacja toksyny. Identyfikację przeprowadzano metodą seroneutralizacji przy pomocy monowalentnych surowic antytoksykacyjnych przeciwko *Cl. oedematiens* A, B, *Cl. perfringens*. A, B, C, D, *Cl. septicum* i *Cl. feseri* — produkcji Wellcome Reagents Ltd. (Anglia). Mysiom wprowadzano dootrzewnowo 0,5 ml toksycznego wyciągu lub hodowli wraz z 0,2 ml surowicy. Czas wiązania wynosił 45 min. w temperaturze 37°C. Czas obserwacji zwierząt — 4 dni. Ponadto w celu zidentyfikowania typu toksyny przeprowadzano analizę wytwarzanych lecytynaz przy użyciu odczynu lecytowitelinowego (LV) według Williamsa (23).

4. Izolacja zarazka. Wyciągi z treści jelit i narządów mięsowych wysiewano na podłoże Zeisslera z neomycyną w modyfikacji własnej (5). Kolonie wykazujące cechy *Cl. oedematiens* wycinano wraz z agarem i wprowadzano na dno podłoża VF z 0,5% glukozy.

5. Identyfikacja zarazka. Obejmowała ona określenie morfologii drobnoustoju i kolonii, właściwości fermentacyjnych i proteolitycznych, zdolności redukowania azotanów, wytwarzania indolu oraz serotypowo swoistej toksyny. Stwierdzone w podłożu VF toksyny poddawano seroneutralizacji na białych myszach według podanej powyżej metody. Identyfikację serotypu toksycznego zarazka prowadzono również na świnkach morskich, które na 24 godziny przed zakażeniem uodporniano 1 ml monowalentnej surowicy antytoksykacyjnej przeciwko *Cl. oedematiens* A i B. Próby zakażenia świnek morskich uodpornionych i nieuodpornionych przeprowadzano przez wprowadzenie domięśniowo mieszaniny 1 ml 24 godzinnej hodowli zarazka (podłoże Wrzoska z 0,5% glukozy) i 1 ml 2,5% roztworu chlorku wapnia.

Wyniki i omówienie

a) Badanie bakteriologiczne. Objęło ono sporządzenie preparatów odciskowych z wątroby oraz z treści jelita cienkiego. W preparacie z wątroby stwierdzono liczne, duże (długość ≥ 10 mikronów) laseczki gramdodatnie z podbiegunowymi, owalnymi zarodnikami (ryc. 1). Uzyskany obraz przypomina laseczki *Cl. oedematiens* B (*Cl. gigas*) opisane przez Zeisslera i Rassfeld (25). Natomiast w treści



Ryc. 1.

jelita cienkiego wykazano głównie krótsze laseczki gramdodatnie, niezarodnikujące, które wyglądem przypominały laseczki *Cl. perfringens* (ryc. 2).

Posiewy na podłożu Zeisslera z neomycyną inkubowane metodą pyrogallolową (5) dopro-

wadziły do wyosobnienia z tkanek wątroby i nerek kolonii hemolitycznych o wyglądzie odpowiadającym laseczkom *Cl. oedematiens* (ryc. 3). Posiewy z jelit zawierały kolonie zidentyfikowane jako *Cl. perfringens*.

Wyosobniony z wątroby, nerek i treści jelit padłej owcy szczep nr 7191 fermentował glukozę, maltozę i mannozę, a nie fermentował laktozy, sacharozy, mannitu, salicyny i glicerolu. Ponadto redukował azotany do azotynów, nieznacznie trawił ściętą surowicę, rozrzedzał 15% żelatynę oraz nie produkował indolu. Powyższe dane odpowiadają właściwościom szczepów grupy *Cl. oedematiens* (18, 19).



Ryc. 2.

b) Badanie tkanek na obecność toksyn letalnych. Wykazało ono, że we wszystkich zbadanych wyciągach natywnych — nieogrzewanych występują substancje toksyczne w ilości: w wątrobie 256 DLM dla myszy (w przeliczeniu na 1 g tkanki), w nerce — 128 DLM, a w treści jelita cienkiego — 32 DLM. Wyciągi ogrzewane (15 minut — 100°C) okazały się nieszkodliwe. Próby seroneutralizacji surowicami anty *Cl. perfringens* A, B, C, D, *Cl. feseri* i *Cl. septicum* oraz *Cl. oedematiens* A dały wynik negatywny. Natomiast pełną neutralizację osiągnięto z surowicą anty *Cl. oedematiens* B. Uzyskane wyniki wskazują, że tkanki padłej owcy zawierały duże stężenia toksyn *Cl. oedematiens* typu B.



Ryc. 3.

c) Identyfikacja lecytynaz w odczynie LV. Podobne wyniki dała identyfikacja wykazanych lecytynaz. Płyny natywne z wątroby, nerki i z hodowli wyosobnionego z nich szczepu *Cl. oedematiens* powodowały wyraźny efekt rozkładu lecytyny, który ulegał zahamowaniu pod działaniem surowicy antytoksykcyjnej przeciwko *Cl. oedematiens* B, a nie był hamowany przez surowice anty *Cl. oedematiens* A i *Cl. perfringens* A. Ograniczono się przy tym do użycia surowicy tylko jednego typu *Cl. perfringens*, ponieważ wszystkie typy tego zarazka produkują lecytynazy antygenowo identyczne. Natomiast *Cl. oedematiens* produkuje dwie antygenowo odmienne lecytynazy tj. gamma — wytwarzaną jedynie przez typ A i beta — charakterystyczną dla typów B i D (13, 14). Powyższe wyniki dowodzą, że w tkankach zwierzęcia oraz w płynie hodowli zarazka występowała lecytynaza beta. Wnosząc z ilości produkowanej lecytynazy oraz z właściwości wyosobnionego szczepu (brak produkcji indolu) badanie niniejsze potwierdziło rozpoznanie zarazka jako *Cl. oedematiens* B.

d) Badanie na świnkach morskich. W celu pogłębienia badań diagnostycznych dodatkowo przeprowadzono ocenę patogenności wyosobnionego szczepu *Cl. oedematiens* B na świnkach morskich. Zakażone świnki morskie nieudpornione surowicą antytoksykcyjną padły w ciągu 18 godzin z objawami zgorzeli gazowej. Padłe zwierzęta wykazywały galaretowato-krwiste nacieki w zakażonej kończynie, kropelki tłuszczu w wysięku oraz niewielkie ilości gazu. Kleistości mięśni i powstania pęcherza odklejonej skóry, występujących przy zakażeniu *Cl. perfringens* A, ani razu nie obserwowano. Spośród świnek morskich zabezpieczonych monowalentnymi surowcami przeciwko *Cl. oedematiens* A lub B pozostały przy życiu tylko zwierzęta uodpornione surowicą anty B.

Całokształt przeprowadzonych badań dowodzi, że przyczyną padania owiec w gospodarstwie „B” była choroba zwana bradsotem, powodowana przez *Cl. oedematiens* B.

Wnioski

1. Przeprowadzone badania potwierdziły, że w Polsce występują choroby owiec typu bradsot wywoływane przez *Cl. oedematiens* B.

2. Prawidłowe rozpoznanie choroby wymaga stwierdzenia i zidentyfikowania w tkankach zwierzęcia obecności toksyny letalnej alfa i lecytynazy beta oraz wyosobnienia odnośnego zarazka.

3. Wskazane jest opracowanie swoistej szczepionki w oparciu o toksynogenne szczepu *Cl. oedematiens* B (pożądane krajowe).

Piśmiennictwo

1. Batty I., Buntain D., Walker P. D.: Vet. Rec. 76, 1115, 1964.
2. Brill J., Meisel H., Rymkiewicz D.: XIII Zjazd Mikrobiologów Polskich, Poznań 1955.
3. Bullen J. J.: Bull. Off. int. Epizoot. 59, 1453, 1963.
4. Bullen J. J., Batty I.: Vet. Rec. 69, 1268, 1957.
5. Cygan Z.: Clostridia w narządach zwierząt zdrowych i padłych, praca doktorska, Lublin 1967.
6. Cygan Z., Kucharski B.: Medycyna Wet. 22, 18, 1966.
7. Golaszewski H.: Medycyna Wet. 8, 163, 1952.
8. Griner L. A., Johnson H. W.: J. Am. vet. med. Ass. 125, 125, 1954.
9. Jamieson S.: J. Path. Bact. 61, 389, 1949.
10. Jamieson S.: Vet. Rec. 62, 772, 1950.
11. Jamieson S., Thompson J. J., Brotherston J. G.: Vet. Rec. 60, 11, 1948.
12. Nilakantan P. R., Kathuria B. K.: Indian J. vet. Sci. 23, 197, 1959.
13. Oakley C. L., Warrack G. H.: J. Path. Bact. 78, 543, 1959.
14. Oakley C. L., Warrack G. H., Clarke P. H.: J. gen. Microbiol. 1, 91, 1947.
15. Osborne H. G.: Aust. vet. J. 34, 301, 1958.
16. Rafyi A., Ardakali M.: Bull. Off. int. Epizoot. 59, 1283, 1963.
17. Saliński T. B.: Vet. Glasn. 6, 464, 1952.
18. Scott J. P., Turner A. W., Vawter L. R.: cyt. wg poz. 14.
19. Smith L. D.S., Claus K. D.: J. Bact. 73, 445, 1955.
20. Stepkowski S., Wotoszyn S.: Medycyna Wet. 12, 142, 1956.
21. Thomson A.: Vet. Rec. 60, 154, 1948.
22. Uzieblo B.: Biuletyn V Zjazdu PTNW, Olsztyn 1974.
23. Williams B. M.: Vet. Rec. 74, 1536, 1962.
24. Williams B. M.: Vet. Rec. 76, 591, 1964.
25. Zeissler J., Rassfeld L.: Arch. vis prakt. Tierheilk. 59, 419, 1929.

Adres autora: doc. dr hab. Zygmunt Cygan, ul. Słowicza 2 m 7, 20-336 Lublin.

Цыган З., Ястшембски Т., Цыган Р. — **Первый случай выделения *Cl. oedematiens* В в качестве причины брадсоты овец в Польше.**

Описали течение патологические изменения и результаты бактериологического исследования овец больных брадсотом в стаде насчитывающем 60 животных. У павшей внезапно овцы установили во время вскрытия пенисто-красное истечение из естественных отверстий тела, студневидно-красные инфильтраты в подкожной ткани под грудью и животом а также единичные серо-желтые некротические фокусы величиной в 0,5—2 см в печени. С подобными изменениями пало всего 8 животных. Из органов павших овец выделили патогенный штамм *Cl. oedematiens* В. Кроме того в содержимом тонких кишек, в почках и в печени установили наличие специфических для этого возбудителя летальных токсинов в количестве от 32 до 256 ДЛМ для мышей а также соответствующей лецитиназы бета. Выделенный штамм подвергли исследованию на некоторые биохимические и токсические свойства.

Cygan Z., Jastrzębski T., Cygan R. — **A first case of the isolation of *Cl. oedematiens* B as a cause of braxy of sheep in Poland.**

The authors described the course and pathological symptoms of braxy in a flock of sheep (60 animals), and the results of bacteriological examinations: presence of specific toxins and/or the microorganism in tissues of the affected animals. The described case concerned a suddenly died sheep, in which the following symptoms were noted during a post-mortem examination: frothy-bloody discharge from natural holes of body, bloody-gelatinous exudate in the subcutaneous tissue of the fore-chest and hypogastrium, disseminated grey-yellow necrotic foci 0.5—2.0 mm in diameter in the liver. Similar signs of the disease appeared in 8 died animals.

In the course of microbiological examinations, there was isolated a pathogenic strain of *Cl. oedematiens* B, and there were found furthermore in the content of small intestines and in the kidney, lethal toxins specific for the bacterium (32—256 DLM for mice) and beta-lecithinase. Some biochemical and toxic properties of the isolated strain were also characterized.