

18. Butler J. E.: J. Am. vet. med. Ass. 795, 1973.
19. Cabello G., Levieux B.: Ann. Rech. Vet. 9, 309, 1978.
20. Chaupman H. A., Johanson J. S., Cooper M. D.: J. Immunol. 112, 555, 1974.
21. Curtis J., Bourne F. J.: Biochem. biophys. Acta 319, 236, 1971.
22. Franek M., Procházka Z., Franz J., Krejčí J., Menšík J.: Acta vet., Brno 44, 93, 1975.
23. Habe F.: Die quantitativen Veränderungen der Immunglobuline in Blutserum der Ferkel bei verschiedenen Aufzuchtverfahren. Praca dokt., Giessen, Justus-Liebig-Universität, 1974.
24. Habe F.: Arh. poljopr. nauke 31, 67, 1978.
25. Hrušovský F.: Immunglobuliny u fetov ošipanych a ich dynamika v sere čiřakov, v mledzive a mleku prasnic. Praca hab. 1974, Kořice.
26. Jacobs J. M. C., Gondswaard J.: Tijdschr. Diergeneesk. 21, 1257, 1977.
27. Jarořkova L.: Acta vet., Brno 46, 55, 1977.
28. Jarořkova L., Trebichavský J., Riha I., Kovarzi F., Holub M.: Europ. J. Immunol. 3, 818, 1973.
29. Jensen P. T.: Acta path. microbiol. scand. C, 85, 441, 1977.
30. Jensen P. T., Pedersen K. B.: Acta vet. scand. 20, 60, 1979.
31. Jönsson A.: Acta vet. scand. 43, 1, 1973.
32. Karpit I. M., Zakow M. S., Piwowar L. M.: Veterinarija, Moskva 12, 29, 1979.
33. Kim Y. B., Bradley S. G., Watson D. W.: J. Immunol. 97, 52, 1966.
34. Kim Y. B., Bradley S. G., Watson D. W.: J. Immunol. 97, 189, 1966.
35. Kim Y. B., Bradley S. G., Watson D. W.: J. Immunol. 101, 224, 1968.
36. Laskowski M.: Zszyty Prob. Post. Nauk Roln. 163, 139, 1975.
37. Martinsson K.: Acta vet. scand. 13, 191, 1972.
38. Murata H., Namioka S.: J. Comp. Path. 87, 431, 1977.
39. Person J. M.: Red. Med. vet. 152, 149, 1976.
40. Pery P.: Recl. Med. vet. 152, 143, 1976.
41. Porter P.: Biochim. biophys. Acta 181, 381, 1969.
42. Porter P.: Adoptive Immunization of the Neonate by Breast Factorst in Immunology of Breast Milk. Ed. P. L. Orga and D. Dayton, Raven Press, New York, 197, 1979.
43. Porter P., Hill I. R.: Immunology 18, 565, 1970.
44. Porter P., Noakes D. E., Allen W. D.: Immunology 18, 245, 1970.
45. Porter P., Parry S. H., Allen W. D.: Significance of immune mechanisms in relation to enteric infections of the gastrointestinal tract in animals — in Immunology of the Gut. Ciba Foundation Symposium 46 (new series) 55, 1977.
46. Pospíšil Z., Franz J., Menšík J.: Acta vet., Brno 44, 87, 1975.
47. Procházka Z., Franek M., Krejčí J.: Zentbl. Vet. Med. 26, 366, 1979.
48. Prokeřova L., Kovarn F., Jarořkova L., Kostka J., Havranek T., Rejnek J.: Develop. Comp. Immunology 3, 127, 1979.
49. Prokeřova J., Rejnek J., Sterzl J.: Acta vet., Brno 46, 83, 1977.
50. Prokeřova L., Rejnek J., Sterzl J., Travníček J.: Folia microbiol. Praga 14, 372, 1969.
51. Prokeřova L., Rejnek J., Sterzl J., Travníček J.: Ontogeny development of immunoglobulins in pigs. w Developmental Aspects of Antibody Formation and Structure. Ed. Sterzl J., Riha J., Prague and Acad. Press. New York, London 757, 1970.
52. Sandholm M., Honkanen-Buzalski T.: Acta vet. scand. 20, 469, 1979.
53. Senft B., Klobasa F., Habe F.: Züchtungskunde 47, 87, 1975.
54. Shimizu M., Pan I. C., Hess W. R.: Am. J. Vet. Res. 37, 309, 1976.
55. Steinach G., Meyer H.: Mh. Vet.-Med. 32, 103, 1977.
56. Sterzl J., Šima P., Medlin J., Tlaskalova H., Mondel L., Nordin A.: Induction of the primary response, preparation of the secondary responses and tolerance. w Developmental Aspects of Antibody Formation and Structure. Ed. Sterzl J., Riha J., Proc. Symp. Academia Prague and Acad. Press, New York, London, 865, 1970.
57. Svendsen J., Brown P.: Res. vet. Sci. 15, 65, 1973.
58. Symons D. B. A., Clerkson C. A.: Immunology 38, 601, 1979.
59. Symons D. B. A., Lay C. A., Mac Donald A. N.: Int. Archs Allergy appl. Immun. 54, 67, 1977.
60. Trebichavský I., Jarořkova L., Kovaru F., Prokeřova L.: IUIS Symposium — Course on Cell Surface Receptors in Immune Mechanism, Jablonna (Warszawa), Poland, July 28—31, 1980.
61. Vaerman J. P.: Studies on IgA immunoglobulins in man and animals. Praca dokt., Univ. Catholique de Louvian Sintal., Louvian, Belgium, 1970.
62. Yabiki T., Kashiwazaki M., Naunoka S.: Am. J. vet. Res. 35, 1483, 1974.

Adres autora: dr Wiesław Deptuła, ul. Boh. Warszawy 4, 66-400 Gorzów Wlkp.

JAN DĄBROWSKI, JERZY MIERZEJEWSKI

## Botulizm bydła

Z Ośrodka Naukowo-Badawczego Służby Weterynaryjnej w Puławach

Spośród licznych jednostek chorobowych bydła do stosunkowo mało znanych, a być może z tego względu rzadko rozpoznawanych, należy botulizm — toksoinfekcja wywołana przez toksynogenną laseczkę beztlenowcową *Clostridium botulinum*.

Pierwsze wzmianki o botulizmie bydła odnotowano w latach osiemdziesiątych XIX w. na terenie USA i Australii. W okresie powojennym botulizm bydła opisywano we Francji, Turcji, Danii, ZSRR, Norwegii (2, 8, 9, 12, 16—20). W ostatnim dziesięcioleciu liczba publikacji dotyczących tej choroby systematycznie wzrasta. Pochodzą one głównie z tych krajów, gdzie wcześniej botulizm u bydła nie był stwierdzany: Senegal i Mauretania, Izrael, Wielka Brytania, Holandia, NRD (3, 4, 6, 7, 10, 11, 13, 19).

Enzootycznie botulizm bydła występuje w postaci naturalnych ognisk, gdzie gleba jest uboga w pierwiastki mineralne (głównie fosfor i wapń). Bydło w porze bezdeszczowej na skutek braku w paszy tych pierwiastków zjada padłe, małe gryzonie, chcąc instynktownie wyrównać niedobory mineralne. W gorącym klimacie w trupach zwierząt szybko namnażają

się bakterie autochtoniczne, do których zalicza się toksynogenne szczepy *C. botulinum*. W ten sposób dochodzi do toksoinfekcji bydła, gdyż zjadane zwłoki zwierząt zawierają nie tylko laseczki *C. botulinum*, lecz również i toksynę. Epizootie botulizmu powodują duże straty ekonomiczne, zarówno z powodu padnięć zwierząt, jak i spadku produkcji zwierzęcej. Botulizm występuje przeważnie u krów mlecznych (2, 4, 8, 11, 14), rzadziej u jałówek i cieląt (6, 10). W NRD Kiupel i wsp. (13) opisali botulizm w stadzie 107 krów mlecznych, z których w ciągu 5 dni zachorowało 19 sztuk, a 14 padło. W ZSRR Almiejew (2) opisał botulizm w podobnym stadzie, w którym 16 krów zachorowało, a 10 padło.

Botulizm u bydła jest wywołany przez różne typy laseczki botulinowej. Najczęściej izoluje się z przypadków chorobowych *C. botulinum* typ C (6, 8, 10, 11, 13, 14, 15, 17, 18), rzadziej typ D (12, 16) oraz typ B (4). Okres inkubacji choroby wynosi od 2 do 6 dni. Choroba może występować w postaci klinicznej nadostrej (trwa kilka godzin), ostrej (2 do 3 dni), podostrej (3 do 7 dni), przewlekłej (do 3 tygodni) oraz nietypowej.

Pierwszymi objawami botulizmu była jest utrata apetytu, spadek mleczości, zaparcia, zwolnienie ruchów żwacza, aż do wystąpienia atonii. Charakterystycznymi objawami są porażenia języka, gardła, żuchwy i krtani, w następstwie czego występują zaburzenia w pobieraniu, połykaniu i żuciu pokarmu. Porażony język zwisa między wargami, towarzyszy temu zazwyczaj ślinotok. Pobierana z trudem karma gromadzi się w pobliżu gardła na skutek porażenia aparatu połykania. W następnym stadium choroby, w wyniku porażenia motorycznego układu nerwowego w całym organizmie dochodzi do zaburzeń w koordynacji ruchów. Chód staje się sztywny, zwierzęta zataczają się, upadają i nie są w stanie podnieść się o własnych siłach. Zwykle po 1—2 dniach występuje zupełne porażenie. W ostatnim stadium przypadków ostrych pojawia się rozszerzenie źrenic oraz postępujące zaburzenia w oddychaniu. Temperatura i tętno są w normie. Przy postaci nietypowej obserwuje się głównie podniecenie nerwowe. Przypadki samowyleczenia występują rzadko i dotyczą przeważnie postaci przewlekłej.

Zmiany sekcyjne przy botulizmie była nie są charakterystyczne. W tylnej części jamy gębowej często można stwierdzić resztki karmy. W narządach mięsnych stwierdza się zatrzymanie krwi. Wątroba jest krucha, po nacięciu wycieka ciemna krew. Zwykle też obserwuje się naczyniaki naczyń dwunastnicy oraz różnego stopnia zmiany zapalne w przewodzie pokarmowym, głównie w jelicie cienkim. Naczynia krętkowe są silnie przekrwione. Pod nasierdziem oraz w rdzeniu przedłużonym i mózdzku mogą występować wybroczyny. Badaniem histopatologicznym tkanki mózgowej stwierdza się nacieczenia okołonaczyniowe, wylewy krwawe oraz wypełnienie krwią naczyń mózgowych. W mięśniu sercowym mogą również występować nacieczenia okołonaczyniowe, a także zwyrodnienie śródbłonna naczyń, w wątrobie rozpad struktury beleczkowej. W rozpoznawaniu choroby podstawowe znaczenie ma wykrycie obecności toksyny. Do badań na obecność toksyny najbardziej odpowiednim materiałem jest krew, wątroba oraz treść pokarmowa żwacza i jelit. Przeprowadza się również badania bakteriologiczne, do których pobiera się zawartość żwacza i wycinki narządów wewnętrznych, przede wszystkim wątroby, a także karmę i wodę.

Należy jednak podkreślić, że wyizolowanie *C. botulinum* nie wystarcza do potwierdzenia botulizmu. Müller (15) wykazał bowiem obecność *C. botulinum* typu C w wątrobach u 4% badanych krów w rzeźni. W każdym więc przypadku należy dążyć do wykrycia toksyny. Zdaniem Daviesa i wsp. (6) oraz Smarta i wsp. (19) przy zbyt długim przetrzymywaniu pobranych prób w warunkach pozachłodniczych również wykrycie toksyny botulinowej nie stanowi pe-

wnego dowodu, że zwierzę padło na botulizm. Według spostrzeżeń tych autorów wzrost *C. botulinum* i produkcja toksyny może nastąpić po śmierci zwierzęcia, zanim zostaną wykonane badania laboratoryjne. W takich przypadkach należy ostrożnie interpretować wyniki. Autorzy ci zalecają, aby próbki do badań pobierać bezpośrednio po zejściu śmiertelnym zwierzęcia i zamrażać. Z kolei badania Allisona i wsp. (1) wykazały, że toksyna *C. botulinum* typu C ulega szybko inaktywacji *in vitro* w obecności treści żwacza. Autorzy sugerują, że unieczynnianie tej toksyny przez mikroflorę żwacza może ewentualnie tłumaczyć względnie dużą tolerancję przeżuwaczy na doustne dawki toksyny botulinowej, w przeciwieństwie do wrażliwości na toksynę botulinową podawaną innymi drogami.

Mając na uwadze przedstawione dane, rozpoznanie choroby winno opierać się na dokładnym wywiadzie, a szczególnie na ustaleniu jakości i źródła karmy. Choroba występuje najczęściej u zwierząt otrzymujących tę samą partię karmy (siana, wysłoków, kiszonki). Przy stawianiu rozpoznania należy także wykluczyć choroby wynikające z niedoborów mineralnych (porażenie poporodowe i tęczykę pastwiskową na tle niedoboru magnezu) oraz zatrucia herbicydami, ołowiem, DDT, HCH i związkami fosforoorganicznymi, mikotoksykozy, a także niektóre choroby bakteryjne i wirusowe m. in. listeriozę, wściekliznę i chorobę Aujeszky. Ważnym elementem rozpoznania różnicującego jest wykluczenie obecności substancji toksycznych w paszy a także określenie poziomu potasu i magnezu w surowicy krwi zwierząt. Określenie poziomu magnezu nabiera szczególnej wagi w związku ze stwierdzeniem Seidla i wsp. (cyt. 13), według których niedobór magnezu hamuje wydzielanie acetylocholin, odpowiedzialnej za przekazywanie impulsów z nerwów do mięśni. W związku z tym niedobór magnezu wywierałby wpływ synergistyczny przy toksoinfekcji botulinowej była.

Reasumując należy podkreślić, że rozpoznanie należy opierać na wywiadzie, objawach klinicznych (postępujące porażenie kończyn, języka, gardła), wykryciu toksyny we krwi, w tkankach, treści pokarmowej, względnie w paszy oraz wyizolowaniu *C. botulinum*.

Ze względu na wysoką śmiertelność (80 do 100%) powodzenie w leczeniu uzależnione jest od jak najwcześniejszego postawienia rozpoznania i ustalenia źródła intoksykacji. Zasadniczym środkiem dotychczas stosowanym skutecznie we wczesnym stadium zatrucia botulinowego jest swoista surowica przeciwko toksynie botulinowej (4). Dużą rolę w zapobieganiu botulizmowi odgrywa swoista profilaktyka poprzez szczepienie była anatoksyną (3, 5). Dotyczy to tych terenów, gdzie botulizm występuje stacjonarnie.

Ważnym przedsięwzięciem w zapobieganiu botulizmowi jest usuwanie padłych gryzoni

(myszy, szczury) z paszy, m. in. z kiszzonek. Jak stwierdził Müller (14) toksyna botulinowa może być wytwarzana przez *C. botulinum* w trupach małych zwierząt, które dostają się przypadkowo z zieloną do silosu. Toksyna z trupów może przenikać do kiszonki. Należy też zwrócić uwagę na zanieczyszczone ściekami zbiorniki wodne na pastwiskach, gdyż jak wykazali Kiupel i wsp. (13) mogą być one źródłem toksyny. Stwierdzenie botulizmu w krajach o podobnych warunkach klimatycznych do naszych pozwala przypuszczać, że i w Polsce mogą występować nierozpoznawane przypadki botulizmu bydła. W związku z tym w każdym przypadku wystąpienia u krów porażen podobnych do opisanych wskazane jest przeprowadzanie badań laboratoryjnych w kierunku botulizmu.

## Piśmiennictwo

1. Allison M. J., Moloy S. E., Matson R. R.: Appl. Env. Microbiol. 32, 685, 1976.

2. Almiejew Ch. Sz.: Mh. Vet.-Med. 23, 178, 1968.
3. Borgai U., Cohen A., Benado A.: Refuah vet. 30, 135, 1973.
4. Brenkink H. J., Wagenaar G., Wensing T., Notermans S., Poulos P. W.: Tijdschr. Diergeneesk. 103, 303, 1978.
5. Dalling T.: Bull. Off. int. Epizoot. 59, 1650, 1963.
6. Davies A. B., Roberts T. A., Smart J. L., Bradshaw P. R.: Vet. Rec. 94, 412, 1974.
7. Doutre M. P., Chambon J.: Econ. Med. anim. 12, 117, 1971.
8. Fjølstad M., Klund T.: Nord. VetMed. 21, 609, 1969.
9. Glawisching E.: Wien. tierärztl. Mschr. 52, 784, 1965.
10. Gruys E., Binkhorst G. J., van der Berchen J., Meljers R., Haagsma J.: Tijdschr. Diergeneesk. 102, 983, 1977.
11. Haagsma J., Laak E. A., Ter Osinga A., Feenstra P.: Tijdschr. Diergeneesk. 102, 330, 1977.
12. Hâkioglu F.: Dt. tierärztl. Wschr. 64, 421, 1957.
13. Kiupel H., Seils G., Radtke A.: Mh. Vet.-Med. 34, 164, 1979.
14. Müller J.: Bull. Off. int. Epizoot. 59, 1379, 1963.
15. Müller J.: Bull. Off. int. Epizoot. 67, 1473, 1967.
16. Pamucku A. M.: Zentbl. VetMed. 1, 707, 1954.
17. Prevot A. R., Sillio R., Proutre J.: Annals Inst. Pasteur, 89, 513, 1955.
18. Prevot A. R., Sillio R., Quntin M.: Bull. Acad. vet. Fr. 26, 73, 1953.
19. Smart J. L., Roberts T. A.: Vet. Rec. 101, 201, 1977.

Adres autora: dr Jan Dąbrowski, ul. Kołłątaja 40 m. 18, 24-100 Puławy.

ZYGMUNT CYGAN, IRENA BARCZ, TADEUSZ SIKORSKI

## Wpływ antygenów pełnych i ściany komórkowej beztlenowców *P. acnes* na rozwój nabłoniaka Guerin szczurów

Z Zakładu Higieny Weterynaryjnej w Lublinie

Niezwykła zdolność antygenów *P. acnes* (APA) do indukowania odporności przeciwko przeszczepialnym nowotworom zwierząt doświadczalnych stała się tematem wyjątkowo nasilonych ostatnio badań (1, 8, 12, 15, 16, 19, 26, 30, 31, 32). W pewnych warunkach — wywołanej przez APA immunostymulacji — stwierdzano wyraźną niewrażliwość zwierząt na przeszczepy allogeniczne i syngeniczne nowotworów (1, 18, 20). Niekiedy podanie APA zwierzętom dotkniętym nowotworem powodowało regresję pierwotnych guzów (12, 31, 36) i hamowanie wtórnych przerzutów (6, 28). Powyższe efekty immunizacyjne powstawały zwykle po podaniu antygenów pełnych (AP) *P. acnes* (1, 12, 18, 20). Natomiast brak jest bliższych danych co do stopnia aktywności — w tym zakresie — ściany komórkowej (SK) tych beztlenowców. Poza tym podkreślić należy, że właściwości przeciwnowotworowe APA były dotychczas badane tylko u szczepów izolowanych od człowieka (1, 6, 12, 36). Natomiast szczepy zwierzęce *P. acnes* pod tym względem nie zostały jeszcze sprawdzone.

W związku z powyższym celem niniejszej pracy było przebadanie aktywności antygenów pełnych i ściany komórkowej zwierzęcego szczepu („IB 18”) *P. acnes* wobec nabłoniaka (*epithelioma* — Eph) Guerin szczurów.

### Materiał i metody

Zwierzęta. Badania przeprowadzono na szczurach Wistar/Bog, samicach w wieku 4 miesięcy (Hodowla Zwierząt Doświadczalnych w Przeźmirowie k/Poznań).

Pochodzenie nowotworu. Przeszczepialny nabłoniak (Eph) uzyskany przez Guerin i Guerin (11) ze spontanicznego gruczolaka macicy szczura i od tego czasu pasażowany wyłącznie na szczurach — otrzymano od dr J. Bogajewskiego (Hodowla Zwierząt Doświadczalnych w Przeźmirowie k/Poznań).

Przeszczepianie nowotworu. Pobrany od szczura wycinek guza przenoszono do połączonych płynów odżywczych Hanksa i Parkera (stosunek 1:1) z dodatkiem 5% surowicy cielęcej. Z kolei zbitą tkankę rozdrabniano i dodawano 0,125% trypsyny (WSS Lublin). Czas trawienia — na mieszadle magnetycznym — w temp. 20°C wynosił 5 godzin. Odwirowany osad zawieszano w roztworze płynów Hanksa — Parkera i przy pomocy komory Thoma obliczano liczbę komórek nowotworowych. Ich żywotność sprawdzano przez zabarwienie 1% błękitem trypanu. Szczury zakażano podskórnie dawką 10<sup>4</sup> komórek („Dosis Infectiva” — DI<sub>100</sub>) w objętości 1 ml. Po zaobserwowaniu rozrostu nowotworowego przeprowadzano co 2 dni pomiary — suwakiem — najdłuższej średnicy rosnącego guza.

Szczep bakteryjny. W badaniach użyto szczep *P. acnes* („IB18”) wyosobniony ze zmian nekrotyczno-ropnych w wątrobie gęsi. Został on wyselekcjonowany w ZHW w Lublinie — z grupy 12 innych szczepów *P. acnes* — jako najaktywniejszy immunostymulator.

Antygeny immunostymulacyjne. Namnożone w ciągu 3—5 dni, w podłożu Wrzodka z dodatkiem 0,5% surowicy końskiej, beztlenowce *P. acnes* (szczep „IB18”) wirowano w ciągu 45 minut przy 3000 obr. na min, a uzyskany osad, po zawieszeniu w 0,85% NaCl z 0,4% formaliny, przetrzymywano w 37°C przez 18 godzin. Następnie komórki bakteryjne ponownie odwirowywano i suszono w 37°C. Wysuszony osad tych bakterii stanowił tzw. anigen pełny (AP), przetrzymywany do dalszych badań w 4°C. Poza tym z osadu bakteryjnego uzyskiwano ścianę komórkową (SK) metodą Riveros-Moreno i wsp. (26). W tym celu sporządzano homogenną zawiesinę komórek bakteryjnych w 0,1 M buforze Tris — HCl, rozbijanych ultradźwiękami w aparacie MSI. Płyn nadosadowy, od-