

23. Larski Z.: Medycyna Wet. 48, 243, 1992.  
 24. Larski Z.: Medycyna Wet. 51, 4, 1995.  
 25. Larski Z.: Medycyna Wet. 51, 499, 1995.  
 26. Larski Z.: Medycyna Wet. 52, 479, 1996.  
 27. Lasmezias C. I., Deslys J.-P., Demaimay R., Adjou K. T., Hauw J.-J., Dormont D.: J. gen. Virol. 77, 1601, 1996.  
 28. Lasmezias C. I., Deslys J.-P., Demaimay R., Adjou K. T., Lamoury F., Dormont D., Robalin O., Ironside J., Hauw J.-J.: Nature 381, 743, 1996.  
 29. Marschang F.: Tierärztl. Umsch. 50, 554, 1995.  
 30. Moennig V.: Prakt. Tierarzt 77, 83, 1996.  
 31. Molenda J.: Medycyna Wet. 50, 353, 1994.  
 32. Murali-Krishna K., Ravi V., Manjunath R.: J. gen. Virol. 77, 705, 1996.  
 33. Pejsak Z.: Medycyna Wet. 46, 129, 1990.  
 34. Phillpotts R. J., Venugopal K., Brooks T.: Arch. Virol. 141, 743, 1996.  
 35. Polak M. P., Zmudzinski J. F.: Medycyna Wet. 50, 297, 1994.  
 36. Rana B. K., Singh U. P., Taneja V.: World J. Microbiol. Biotechnol. 12, 301, 1996.  
 37. Reed C. A.: J. Amer. Vet. Med. Ass. 207, 1534, 1995.  
 38. Roliński Z., Wernicka-Furmaga R., Kowalski C.: Medycyna Wet. 44, 461, 1988.  
 39. Roliński Z., Wlaz P.: Medycyna Wet. 46, 142, 1990.  
 40. Roliński Z., Wlaz P.: Życie wet. 69, 360, 1994.  
 41. Roliński Z., Wlaz P., Kowalski C., Pacholczyk S.: Medycyna Wet. 50, 65, 1994.  
 42. Rymkiewicz D., Wysokińska T.: Przegl. Epidemiol. 44, 337, 1990.  
 43. Schreuder B. E. C., van Keulen L. J. M., Vromans M. E. W., Langeveld J. P. M., Smits M. A.: Nature 381, 563, 1996.  
 44. Siebert S., Auer S., Heinen E., Kretzdorn D., Strube W.: Tierärztl. Umsch. 50, 530, 1995.  
 45. Staroniewicz Z., Birger M.: Medycyna Wet. 46, 278, 1990.  
 46. Tang D., DeVit M., Johnston S. A.: Nature 356, 152, 1992.  
 47. van Keulen L. J. M., Schreuder B. E. C., Melen R. H., Mooiharkes G., Vroman M. E. W., Langeveldt J. P. M.: J. clin. Microbiol. 34, 1228, 1996.  
 48. Wernicki A., Rzedzicki J.: Medycyna Wet. 44, 85, 1988.  
 49. Wróblewski A. K.: Problemy nr 11, 3, 1986.

Adres autora: prof. dr hab. Zdzisław Larski, Kortowo, bl. 105, 10-957 Olsztyn

ZYGMUNT CYGAN

artykuł przeglądowy

# Właściwości, mechanizm działania i rola chorobotwórcza toksyny alfa *C. perfringens*

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

*C. perfringens* należy do najważniejszych i najczęściej występujących chorobotwórczych laseczek *Clostridium* (9, 17, 30, 50, 51). Drobnoustrój wytwarza szereg głównych toksyn letalnych (ang. major toxins – alfa, beta, epsilon, jota) stanowiących o wyróżnianiu 5 typów toksycznych zarazka (A, B, C, D, E, wg 30), których odrębność antygenowa i specyficzny dla nich mechanizm oddziaływania determinują rolę chorobotwórczą poszczególnych serotypów (22, 32). Przybliżenie w odniesieniu do toksyny alfa tej problematyki – w pewnym z konieczności tylko zarysie – jest celem tego artykułu.

## Właściwości

Toksyna alfa (fosfolipaza C, lecytynaza C, komponent alfa, czynnik alfa) jest wytwarzana przez laseczki wszystkich serotypów *C. perfringens* (51), ale w najwyższej koncentracji przez przynależne do typu A (30, 32, 41, 50). Jej wytwarzanie determinują geny vir R i vir S (28, 29) zlokalizowane w przypadku toksyny alfa przypuszczalnie w miejscu plc chromosomu (5, 42). Spekuluje się, że struktura plc stanowi aktywator odpowiedzialny za poziom toksyny alfa wytwarzanej przez szczep *C. perfringens*

(42). Sekwencja około 100 nukleotydów plc koduje jej właściwości enzymatyczne (także aktywność jako sfingomielinazy, wg 26), stanowiącej pojedynczy polipeptyd (43). Jego region końcowy N, zawierający grupę tyrozyny, przypuszczalnie odpowiada za wpływ letalny i hemolityczny, nadto enzymatyczny oraz agregujący płytki (37, 44, 57, 61). Natomiast odcinek C o prawdopodobnej homologii z arachidonato 5-lipooksygenazą warunkuje efekt zapalny (63). Podkreślić należy, że usunięcie regionu C redukuje ale nie znosi całkowicie aktywności toksyny alfa jako sfingomielinazy (63).

Osobliwością komponenty alfa jest fakt, że zawiera w swoim składzie jony  $Zn^{++}$ , zatem posiada właściwość enzymatyczną cynko-metalo-fosfolipazy C (lecytynaza C), oddziaływującej letalnie (63), nekrotycznie (31) i hemolizująco (43, 59) – w przeciwieństwie do analogicznej lecytynazy spotykanej u innych bakterii, w tym *Bacillus cereus*, ale pozbawionej podobnej aktywności (28, 70).

Ciężar molekularny toksyny alfa wynosi od 43 000 (25) do 54 000 (51), a punkt izoelektryczny osiąga w pH 5,4 (51, 52), przy którym ujawnia się obecność 2 form jadu (alfa A, alfa B, wg 49, 52). Sugahara i Ohsaka (56) rozdzielili toksynę alfa również na

dwie molekularne formy L<sub>1</sub> i L<sub>2</sub> (punkty izoelektryczne odpowiednio 5, 3, i 5, 6) bez utraty jej aktywności biologicznej (52, 53). Z trypsyną wiąże się funkcję inaktywującą toksyny (51), natomiast stymulująco działają jony Ca<sup>++</sup> (niezbędne w wiązaniu z substratem) i Zn<sup>++</sup> (wpływ aktywujący). Titball i wsp. (61) inkorporowali fragmenty genu fosfolipazy, o analogicznym ciężarze molekularnym (polipeptyd 399. aminokwasowy, wg 65).

Różne laseczki *Clostridium* (*C. barati*, *C. bifermentans*, *C. paraperfringens*, *C. absonum*, wg 35, 40) produkują także fosfolipazę C podlegającą neutralizacji antytoksyną alfa, aczkolwiek proces ten wymaga wyższej koncentracji przeciwciał (51). Dawkę letalną oczyszczonej toksyny alfa *C. perfringens*, w przeliczeniu na kg/masy ciała myszy (iniekcja drogą i.v.), wyliczono na 3 µg (47) – 5 µg (4).

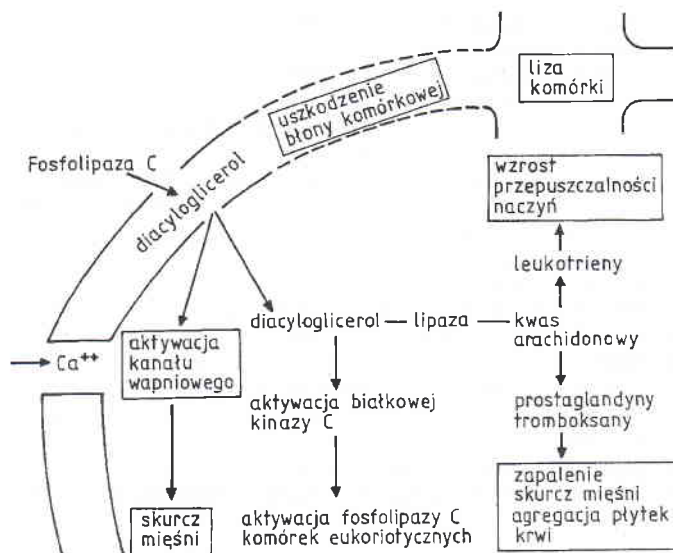
Toksyna alfa rozpuszcza erythrocyty w reakcji zwanej „hot-cold” (określa warunki termiczne dla lizy krwinek, wg 59, 62). Erythrocyty owcze zawierają dużo sfingomieliny ale niewiele fosfatydycholiny (11), zatem możliwe, że w 4°C następuje hydroliza struktur sfingomielinowych, a efekt lityczny w 37°C wskazuje – dodatkowo jeszcze – na rozpad fosfatydycholiny (61).

Komponent alfa *C. perfringens* jest w zasadzie ciepłowrażliwy (inaktywacja w 60-70°C). Część toksyny łatwo jednak wytwarza nierozpuszczalny kompleks z wapniem i fosforem, możliwy do oddzielenia wirowaniem. Ponowne ogrzanie w 100°C warunkuje wystąpienie fenomenu odzyskiwania fosfolipazy (uwolniona w części z powyższego, mało stabilnego, połączenia enzymu z jonami Ca<sup>++</sup>, wg 51, 69). Silnie unieczynniają lecytynazę związki redukujące (kwas tioglikolanowy, cysteina, siarkowodór, wg 51).

Poszczególne wpływy toksyny alfa (letalny, jako fosfolipazy, hemolityczny, agregujący płytki) nie podlegają jednakowej redukcji przez użyte związki chemiczne (N-acetylimidazol, tetranitrometan, N-etylmalemid). Pewne struktury jadu alfa, zwłaszcza związane z histydyną i tyrozyną, w różny sposób ulegają temu oddziaływaniu (m.in. nie zmienia się efekt lecytynazowy), co może dowodzić istnienia kilku determinantów aktywności biologicznej toksyny, wg 44).

### Mechanizm działania

Toksyna alfa (fosfolipaza C) hydrolizuje fosfatydycholinę błon fosfolipidowych komórek (45, 61) uwalniając – jako produkty końcowe – fosforocholesterol i 1, 2 diacyloglicerol (29). Niszczy także, aczkolwiek słabiej, struktury sfingomielinowe (połączenia sfingozyny z fosforocholesteroliną, wg 27, 43). Następstwem jest martwica komórek (wpływ głównie cytolityczny, wg 43), nadto działanie leukocy-



Ryc. 1. Mechanizm działania toksyny alfa

tobójcze i hemolityczne (9, 12). Ostatecznie prowadzi to do bradykardii, zaburzeń w krążeniu i śmiertelnego wstrząsu (55, 63).

Szczegółowy mechanizm działania na komórki eukariotyczne toksyny alfa – jako fosfolipazy C – przedstawia ryc. 1, wg 61, zmodyfikowana. Wynika z niej, że uszkodzenie błony komórkowej – przez powstały z rozpadłego fosfolipidu diacyloglicerol – aktywuje reakcję kaskadową kwasu arachidonowego i stymuluje białkową kinazę C, nadto uczynnia kanały wapniowe.

Lizę błon komórkowych przez toksynę alfa poprzedza związanie jej przy udziale jonów Ca<sup>++</sup> z wywołaniem następowej hydrolizy fosfatydycholiny pod warunkiem, że ciśnienie powierzchniowe komórki nie przekracza 35-40 dyn/cm (34), a zbliżoną wartość stwierdza się m.in. w erythrocytach owczych (31-35 dyn/cm, wg 12), które też najłatwiej ulegają lizie (61).

Powstały diacyloglicerol wpływa na komórkę aktywując bezpośrednio kaskadę kwasu arachidonowego po konwersji diacyloglicerolu – wewnątrzkomórkową lipazą – w monoacyloglicerol (13, 16). Pośrednią natomiast drogę stwarza stymulacja śródkomórkowej fosfolipazy A<sub>2</sub> (20, 21). Mechanizmy te prowadzą do wytworzenia tromboksanu A<sub>2</sub>, potężnego mediatora odpowiedzi zapalnej (16) i prostaglandyn (13). Odpowiedzią na ich wpływ jest stan zapalny i skurcz obwodowych naczyń krwionośnych (angiospasmus), poprzedzony aktywacją kanałów Ca<sup>++</sup> (44), nadto agregacja płytek (16). Powstałe zaburzenia polegają na zakłócaniu w przepływie krwi (niedokrwienie, *ischaemia*) z następowym niedotlenieniem (hypoksia) nasilającym rozwój laseczki *C. perfringens* (61). Inne pochodne kwasu arachidonowego, tj. leukotrieny (C<sub>4</sub>, D<sub>4</sub>) wzmagają z kolei przepuszczalność (perspiratio, wg 58) naczyń krwionośnych skóry doprowadzając do zalegania płynów w przestrzeniach pozanaczynio-

wych (3, 46). Wyrażano sugestię, że powstały w wyniku działania fosfolipazy C diacyloglicerol imituje wpływ enzymów normalnych komórek eukariotycznych służąc jednocześnie jako wtórny „messenger” (informator, wg 3) dla ich własnych fosfolipaz w reakcjach o sprzężeniu zwrotnym (15, 61).

Według Smitha (51) wstrzyknięta dożylnie toksyna alfa powoduje:

- uszkodzenie śródbłonna kapilar naczyniowych prowadzące do wzrostu ich przepuszczalności,
- początkowo skrócenie, a następnie przedłużenie czasu krzepnięcia krwi przez wpływ na ich płytki (następstwem miękkiej skrzep),
- toksyczny wpływ na wątrobę, szczególnie na ich mitochondria. Po domięśniowej natomiast iniekcji toksyny alfa wiąże się ona z błoną komórek w sposób nieodwracalny (1, 24, 54).

### Wywołane choroby

Największe znaczenie przypisuje się toksynie alfa *C. perfringens* A w wywoływaniu zgorzeli gazowej (51, 67), powstającej w wyniku pourazowego niedokrwienia tkanek (*ischaemia*) i następowego ich niedotlenienia (*hypoxia*). Stan ten jest wywoływany często zaciśnięciem tętnic podczas zabiegu amputowania kończyn (36, 53, 61). Rozwinięciem się zgorzeli gazowej zagrażają rany odnoszone w trakcie wojen (predysponująca rola ciał obcych w powstawaniu infekcji, wg 36, 58) i w wypadkach komunikacyjnych (24, 66). Podobne, chociaż znacznie mniejsze ryzyko, stwarzają zabiegi chirurgiczne, zwłaszcza na zmienionym – przez różne procesy chorobowe – przewodzie pokarmowym (26). Poza tym zakażenia takie spotyka się w septycznych poronieniach (23), nadto w rozległych oparzeniach (10) oraz cukrzycy (22), przebiegającej z zaburzonym – w końcowym stadium schorzenia – krążeniem obwodowym krwi (6). Wyjątkowo zdarza się spontaniczny rozwój choroby, ewidentnie nie związanej z urazem (60). Opisywano również endogenne infekcje np. powstałe w wyniku perforacji przez proces nowotworowy okrężnicy (26), w której drobnoustroj normalnie rezyduje (53, 54).

Decydujący w rozwoju zgorzeli gazowej jest cytotoxiczny wpływ fosfolipazy C (51, 61, 62, 67), niszczącej lecytynowo-sfingomielinowy zrab błon komórkowych, co warunkuje szerzenie się śródkomórkowo infekcji (*infectio intracellularis*, wg 6) przez ciągłość tkanek (*per continuitatem*) na zdrowe, nieuszkodzone urazem obszary – warunkując ostateczny obraz zgorzeli gazowej, w istocie będącej beztlenowcową martwicą mięśni (*myonecrosis anaerobica*, wg 4, 6, 31, 53).

Namnożenie *C. perfringens* A w jelitach, a nawet wytworzenie w nich toksyny, spotyka się u pacjentów z reumatoidalnym zapaleniem stawów (38). Zatem całkiem możliwa wydaje się być sugestja, że

wytwarzany przez czynnik alfa stan zapalny odgrywa rolę przyczynową w chorobie Leśniowskiego-Crohna (19, 20).

W przeciwieństwie do powyższych ustaleń udział toksyny alfa w enterotoksemii zwierząt nie jest taki pewny (9, 54). Uznając bowiem za beztlenowcową enterotoksemię ostrą, zwykle śmiertelną chorobę charakteryzującą się występowaniem w treści jelit i we krwi głównych egzotoksyn *C. perfringens* wytworzonych w wyniku gwałtownego namnożenia się zarazka w przewodzie pokarmowym (18, 53) – zaskakuje w przypadku toksyny alfa fakt, że z reguły nie jest ona wykrywana (4, 8, 32, 53) z powodu szybkiego wiązania przez receptory błon komórkowych, zatem *in situ* działania (7, 9). Ponieważ przypadki nie spełnienia założeń powyższej definicji są niemal regułą (7, 8, 9, 32, 54) podważa to dłuższe utrzymywanie takiej formuły beztlenowcowej enterotoksemii, tym bardziej że narasta znaczenie – niejako kompensacyjnie – klinicznych przejawów zaistniałych oddziaływań toksycznych i określania liczby laseczek *C. perfringens* A jako dowodu ich namnożenia w jelitach (9, 51, 54). Spośród tych nowych, a diagnostycznie znaczących uzewnętrznienie w oddziaływaniu toksyny alfa najbardziej przekonują różnorakie oznaki uszkodzenia czerwonych krwinek (hemoliza, hemoglobinuria, żółtaczka, cyt. wg 9, 36, 48), a niekiedy nawet możliwość wykrycia we krwi antytoksyny alfa (68). Zaznaczyć należy, że w zakażeniach cieląt na tle *C. perfringens* A, u których nie stwierdzano toksyny alfa, liczba drobnoustroju osiągała  $1,2 \times 10^9$ – $6,3 \times 10^{10}$ /g treści jelitowej (7).

Zdarza się, że bramy wejścia *C. perfringens* A – jako źródła toksyny alfa – pozostają nieznane (40, 64) i nawet tak powstałą toksoinfekcję charakteryzuje gwałtowny przebieg (padnięcia we wstrząsie w ciągu 3 godzin) z uogólnioną hemolizą, nadto anurią (40) oraz śmiertelnością sięgającą 100% (39, 40). W dawniejszych opisach, sprzed 10 lat (39), objawy silnej hemolizy, wywołane oddziaływaniem komponenty alfa, zdarzały się zwykle w komplikacjach poporodowych i poaborcyjnych (23, 39). Obecnie natomiast częściej ujawniają się one jako zakażenia endogenne, tj. występują np. przy spadku odporności w chorobie nowotworowej (2, 19), nadto predylekcyjnie towarzyszą ropniom wątroby (33) i schorzeniom dróg żółciowych (14).

Wskazano na przydatność immunoprofilaktyki w ograniczaniu chorobotwórczego wpływu toksyny alfa w zachorowaniach zwierząt, głównie jako zgorzeli gazowej, aczkolwiek dotychczas nie sprawdzono czy przygotowywane toksoidy nie zawierały innych jeszcze antygenów *C. perfringens* A (61). Niemniej wiadomo, że można uzyskać poliwalentną szczepionkę (przykładem anatoksyna o składzie *C. perfringens* – *C. septicum* – *C. novyi*) prezentującą wysoką wartość uodparniającą (83%–94% owiec za-



bezpieczonych, czas trwania niewrażliwości na zakażenie około jednego roku). Przydatność praktyczną preparatu określa stopień zaistniałego ryzyka zwierząt na toksoinfekcję (zalecana preimmunizacja, głównie przed zabiegami na kończynach, nadto w rejonach występowania stacjonarnych zachorowań, wg 61).

#### Piśmiennictwo

1. Aikat B., Dible J. H.: J. Path. Bact. 71, 461, 1956.
2. Becker R. C., Giuliani M., Savage R. A.: Surg. Oncol. 35, 13, 1987.
3. Berridge M. J.: A. Rev. Biochem. 56, 159, 1987.
4. Bird R. A., Lew M. G., Stephen J.: FEBS Lett. 44, 279, 1974.
5. Canard B., Cole S.: Proc. Natl. Acad. Sci., USA 86, 6676, 1989.
6. Cygan Z.: Choroby beztlenowcowe zwierząt, wyd. Akademia Rolnicza w Lublinie 1991.
7. Cygan Z., Buczek J.: Medycyna Wet. 50, 316, 1994.
8. Dart A. J., Pascoe R. R., Gibson J. A., Harrower B. J.: Aust. vet. J. 65, 330, 1988.
9. Daube G.: Anns Méd. vét. 136, 5, 1992.
10. Davies D. M.: Scand. J. Plast. Reconstr. Surg. 13, 73, 1979.
11. De Gier J., Deen L. K.: Biochim. biophys. Acta 49, 286, 1961.
12. Demel R., Zwaal R. F., Roelofsens J.: Biochim. biophys. Acta 406, 97, 1975.
13. Diener M., Egleme C., Rummel W.: Europ. J. Pharmacol. 200, 267, 1991.
14. Elliott D. L., Goldberg L., Shlitt S. C.: Archs intern. Med. 144, 635, 1984.
15. Exton J. H.: J. biol. Chem. 265, 1, 1990.
16. Fujii Y., Sakurai J.: Br. J. Pharmac. 97, 119, 1989.
17. Girando Conesa L. C., Vannelli S. A., Uzal F. A.: Vet. Res. Comm. 19, 451, 1995.
18. Giner L. A.: Bull. Off. int. Epizoot. 59, 1443, 1963.
19. Grutzmeier S.: Acta med. scand. 218, 341, 1985.
20. Gustafson C., Tagesson C.: Scand. J. Gastroenterol. 25, 369, 1990.
21. Gustafson C., Sjodahl R., Tagesson C.: Scand. J. Gastroenterol. 25, 1151, 1990.
22. Hatheway Ch. L.: Clin. Microbiol. Rev. 1, 66, 1990.
23. Heimbach R. D.: HBO Review 1, 41, 1980.
24. Hitchcock C. R., Demello F. J., Haglin J. J.: Surg. Clin. North Am. 55, 1403, 1975.
25. Jolivet-Reyraud C., Moreau H., Alouf J. E.: Meth. Enzymol. 165, 91, 1988.
26. Kizer K. W., Ogle L. C.: Ann. Emerg. Med. 10, 307, 1981.
27. Krug E. L., Kent C.: Archs Biochem. Biophys. 231, 400, 1984.
28. Little C., Aurebekk B., Otnaess A.: FEBS Lett. 52, 175, 1975.
29. Lyrstis M.: Mol. Microbiol. 12, 761, 1994.
30. MacDonell J. L.: Pharmac. Ther. 70, 617, 1980.
31. MacDonell J. L.: Toxins of Clostridium perfringens types A, B, C, D and E. [w:] Pharmacology of bacterial toxins, ed. F. Dorner and J. Drews, Pergamon Press, Oxford 1986.
32. Manteca Ch., Daube G.: Anns Méd. vét. 138, 155, 1994.
33. Mera C. L., Freesman M. H.: Clin. Pediatr. 23, 126, 1984.
34. Moreau H., Pieroni G., Jolivet-Reyraud C.: Biochem. Easton 27, 2319, 1988.
35. Nakamura S. T., Shimamura T., Hayase H., Nishida S.: Int. J. syst. Bact. 23, 419, 1973.
36. Niilo L.: Canad. Vet. J. 21, 141, 1980.
37. Ohsaka A., Tsuchiya M., Oschio C., Suzuki K.: Toxicon 16, 333, 1978.
38. Ollagen B.: Intestinal Clostridium perfringens in arthritis and allied conditions, [w:] Infection and immunology in the rheumatic disease, ed. D. C. Dumonde, Oxford 1976.
39. Pritchard J. A., Whalley R. P.: Am. J. Obstet. Gynecol. 111, 484, 1981.
40. Rogstad B., Ritland S., Lunde S., Hagen A. G.: Infection 21, 60, 1993.
41. Rood J. I., Cole S. T.: Microbiol. Rev. 55, 621, 1991.
42. Rood J. I., Lyrstis M.: Trends Microbiol. 3, 192, 1995.
43. Saint-Joanis B., Garnier R., Cole S. T.: Mol. Gen. Genet. 219, 453, 1989.
44. Sakurai J., Fujii Y., Torii K., Kobayashi K.: Toxicon 27, 317, 1989.
45. Sakurai J., Ochi S., Tanaka H.: Infect. Immun. 62, 717, 1994.
46. Samuelsson B.: Science 220, 568, 1983.
47. Sato H., Kamyama S., Murata R.: Jap. J. med. Sci. Biol. 25, 53, 1972.
48. Shimizu T.: J. Bact. 176, 1616, 1994.
49. Sigurdarson S., Thorsteinsson T.: Vet. Rec. 126, 517, 1990.
50. Smith L. DS.: The pathogenic anaerobic bacteria, ed. Ch. C. Thomas, Springfield 1975.
51. Smith L. DS.: Rev. Infect. Dis. 1, 254, 1979.
52. Smyth C. J., Arbuthnot J. P.: J. med. Microbiol. 7, 41, 1974.
53. Sterne M.: Br. vet. J. 137, 444, 1981.
54. Sterne M., Batty I.: Pathogenic Clostridia, ed. Butterworths, London and Boston 1975.
55. Stevens D. L., Troyer B. E., Merrick D. T.: J. infect. Dis. 57, 272, 1988.
56. Sugahara T., Ohsaka A.: Jap. J. med. Sci. Biol. 23, 61, 1970.
57. Sugahara T., Takahashi T., Yamaya S., Ohsaka A.: Jap. J. Med. Sci. Biol. 29, 255, 1976.
58. Sugahara T., Takahashi T., Yamaya S., Ohsaka A.: Toxicon 15, 81, 1977.
59. Takahashi T., Sugahara T., Ohsaka A.: Meth. Enzymol. 71, 710, 1981.
60. Thys J. P., Ectors P., Noel P.: Postrad. Med. J. 56, 501, 1980.
61. Titball R. W.: Microbiol. Rev. 57, 347, 1993.
62. Titball R. W., Hunter S. E., Martin K. L.: Infect. Immun. 57, 367, 1989.
63. Titball R. W., Leslie D. L., Harvey S., Kelly D.: Infect. Immun. 59, 1872, 1991.
64. Tsai I. K., Yen M., Ho I., Cheng D. L.: Scand. J. infect. Dis. 21, 467, 1989.
65. Tso J. Y., Seibel C.: Infect. Immun. 57, 468, 1989.
66. Unsworth I. P., Skarp P. A.: Med. J. Aust. 140, 256, 1984.
67. Willis T. A.: Clostridia of wound infection, ed. Butterworths, London 1969.
68. Worrall E. E., Natalia L., Partoutomo S.: Vet. Rec. 121, 278, 1987.
69. Young P. R., Snyder W. R., McMahon R. F.: Biochem. J. 280, 407, 1991.
70. Zwaal R. F., Roelofsens B., Comfurnis P.: Biochim. Biophys. Acta 233, 474, 1971.

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

Katedra Chorób Wewnętrznych Wydziału Medycyny Weterynaryjnej  
AR-T w Olsztynie, organizuje w dniach 12-13 września 1997 r.

Konferencję Naukową nt.

## Choroby cieląt, jagniąt i prosiąt

Zgłoszenia uczestnictwa i prac referatowych proszę nadsyłać na adres Katedry  
ul. Oczapowskiego 14, 10-957 Olsztyn, w nieprzekraczalnym terminie do 20 kwietnia br.

Przypuszczalny koszt uczestnictwa (noclegi, wyżywienie) ok. 65 zł dziennie,  
koszty materiałów konferencji – 20 zł.