

szczepów *Cl. perfringens* typu A, które są przyczyną zatruc pokarmowych. Pierwsza metoda wykrywania obecności enterotoksyny polega na wprowadzeniu hodowli form wegetatywnych lub wyciągu sporządzonego z zarodnikujących komórek do światła pętli jelitowej. Później stwierdzono, że u świnki morskiej po iniekcji podskórnej enterotoksyny występuje przekrwienie w miejscu jej wprowadzenia. Większość najnowszych metod serologicznych (immunodyfuzja, odczyn odwróconej hemaglutynacji biernej, odczyn immunofluorescencji) zostały opracowane w laboratorium kierowanym przez autora. Metody serologiczne cechują się bardzo wysoką czułością, przy czym najwyższą czułość wykazuje odczyn immunofluorescencji.

Tab. 6. Szczepy enterotoksyczne *Cl. perfringens* typ A badane u ludzi przez okres 6 miesięcy (20 osób).

Średnia ilość na 1 g kału	$10^3 - 10^4$
Odsetek szczepów pod postacią zarodników w kaale	40
Fluktuacja wydalania przez nosicieli silnie zakażonych	100 - 1000 razy

Ekologia zatruc pokarmowych wywołanych przez typ A *Cl. perfringens*

Typ A występuje powszechnie w środowisku, najczęściej jednak w przewodzie pokarmowym: 75% szczepów *Cl. perfringens* typu A izolowanych od bydła, 60% szczepów izolowanych od piskląt i 90% szczepów izolowanych od ludzi wytwarzało enterotoksynę. Ten wysoki odsetek szczepów toksynotwórczych izolowanych od

człowieka wiąże się prawdopodobnie ze spożyciem pokarmów poddanych obróbce termicznej i zawierających zarodniki odporne na działanie temperatury (możliwość selekcji w kierunku zdolności do zarodnikowania i wytwarzania enterotoksyny). Badania przeprowadzone u ludzi wykazały dużą zmienność w ilości wydalanych zarazków przez silnie zakażonych nosicieli (tab. 6).

Przeciwciała przeciwko enterotoksynie wytwarzanej przez *Cl. perfringens* stwierdzono u dużego odsetka ludzi. Stwierdzono je u 72% Brazylijczyków (Bello Horizonte) i 65% Amerykanów (Davis, Kalifornia) — pracowników i studentów uczelni weterynaryjnych. Utrzymywanie się mian dodatnich na prawie nie zmienionym poziomie przez okres co najmniej czterech miesięcy może przemawiać za znacznie częstszym występowaniem zatruc na tle *Cl. perfringens*, aniżeli jest to odnotowywane. Jednakże nie można również wykluczyć i takiej możliwości, że przeciwciała te były wytwarzane u nosicieli bezobjawowych dużych ilości *Cl. perfringens* w przewodzie pokarmowym. W porównaniu do człowieka w przewodzie pokarmowym bydła i kurcząt występuje *Cl. perfringens* w małych ilościach. U kurcząt ponadto liczba zarazków obniża się wraz z wiekiem.

Przedstawione dane wskazują na człowieka jako na najważniejszy rezerwuuar *Cl. perfringens* typu A oraz na potencjalną możliwość wytwarzania enterotoksyny przez wszystkie szczepy należące do typu A.

ZYGMUNT CYGAN

Zagadnienie enterotoksyny *Cl. perfringens* A

Z Zakładu Higieny Weterynaryjnej w Lublinie

Znaczenie *Cl. perfringens* w patologii człowieka i zwierząt polega przede wszystkim na wywoływaniu zatruc pokarmowych (1, 10, 21, 22, 32) oraz zakażeń przyranych, głównie w formie „myonecrosis” (2, 30). Enterotoksemie zwierząt oraz zakażenia przyranne ludzi i zwierząt stanowią zagadnienie wymagające oddzielnego opracowania. W niniejszej pracy zostanie przedstawiona tylko problematyka enterotoksyny *Cl. perfringens* A, związana bezpośrednio z zatruciami pokarmowymi.

Zatrucia pokarmowe na tle *Cl. perfringens* sa wywołane przez laseczki serotypu A (10, 21, 22), niekiedy również i C (9, 23, 33). Istota patogenetycznego działania tych drobnoustrojów jest zupełnie odmienna. W odniesieniu do *Cl. perfringens* A główną rolę patogenetyczną spełnia enterotoksyna, natomiast w przypadku *Cl. perfringens* C — toksyna beta. Obraz zmian anatomo-patologicznych w zatruciu jest rów-

niez różny. Enterotoksynie przypisuje się objawy typowego „enteritis acuta”, natomiast toksynie beta — „enteritis necroticans”. Enterotoksyna *Cl. perfringens* A powoduje u człowieka ostre, szybko na ogół ustępujące objawy zatrucia, przebiegające z reguły bez gorączki. Zejścia śmiertelne występują rzadko i dotyczą jedynie osób starszych i wyniszczonych.

Zatrucia pokarmowe związane z toksyną beta *Cl. perfringens* C przebiegają daleko ciężiej, z dużą śmiertelnością dochodzącą do kilkudziesięciu procent.

Historia. Zagadnienie patogenetyczności zatruc na tle *Cl. perfringens* A zostało rozwiązane w latach 1967—1971 dzięki pracom badaczy amerykańskich, głównie Duncana i Stronga oraz kanadyjskich tj. przede wszystkim Hauschilda, Niilo i Dorwarda. Autorzy ci wyszli z założenia, że wcześniejsza hipoteza Nygrena (28) przypisująca największą rolę enteropatogenetyczną

fosfolipazie C (lecytynaza C, toksyna alfa) jest niesłuszna, gdyż już z dawniejszych badań autorów angielskich wynika, że szczepy *Cl. perfringens* A (tzw. „wariant zatruc pokarmowych Hobbs”) cechuje niska toksynogenność w zakresie wytwarzania fosfolipazy, a poza tym enzym ten jest inaktywowany przez soki trawienne, głównie trypsynę (5, 16). Hauschild i wsp. (16) zakwestionowali również pogląd Nygrena (28), że zasadniczy czynnik w mechanizmie zatrucia stanowi fosforocholeolina, powstała w wyniku enzymatycznej hydrolizy lecytyny. Rezultatem ich badań było wykrycie zupełnie nowego czynnika cytotoksycznego, który okazał się enterotoksyną.

Właściwości enterotoksynogene *Cl. perfringens*. Zdolność do wytwarzania omawianej enterotoksyny stwierdzono u szczepów *Cl. perfringens* A, pochodzących z przypadków zatruc pokarmowych w Anglii i USA i to zarówno wytwarzających zarodniki ciepłoporne jak i ciepłowrażliwe (6, 15, 16). Ponadto ustalono, że nie wszystkie szczepy *Cl. perfringens* A, należące do tzw. „serotypów aglutynacyjnych zatruc pokarmowych Hobbs” — produkowały enterotoksynę; wiązać się to mogło z powstaniem atoksynogennych i asporogennych mutantów (4). U szczepów *Cl. perfringens* A, pochodzących z przypadków zgorzeli gazowej dotychczas enterotoksyny nie wykazano (5). Badań nad enterotoksynogennością laseczek innych serotypów toksycznych *Cl. perfringens* dotychczas na szerszą skalę nie przeprowadzono.

Enterotoksynogeneza. Wytwarzanie enterotoksyny jest procesem uwarunkowanym genetycznie i sprzężonym ściśle ze sporulacją (3, 7, 18). Enterotoksyna jest produkowana wyłącznie w fazie sporulacyjnej wzrostu zarodka, nigdy w fazie wegetatywnej. Stosując blokadę sporogenezy w różnych jej okresach wykazano, że czynnik ten pojawia się już pod koniec III stadium. Enterotoksynę można wykazać zarówno w komórce jak i poza komórkami w środowisku zewnętrznym (7, 18). Enterotoksynę wewnątrzkomórkową, biologicznie aktywną zawierają sporulujące hodowle już w 2 godz. wzrostu (3). Jednak w największych ilościach stwierdza się ją w hodowlach 11 godzinnych (3). Pozakomórkowo pojawia się ona w wyniku lizy sporangium (3). Proces ten zaczyna się już zwykle w 10 godzinie sporogenezy a kończy się na ogół w 24 godz. inkubacji.

Zasługuje na podkreślenie, że enterotoksyna może być produkowana również „*in vivo*” tj. w przewodzie pokarmowym, pod warunkiem, że drobnoustrój znajdzie sprzyjające warunki do namnażania się i sporulacji (17, 18). Niezależnie od miejsca powstania tj. „*in vitro*” lub „*in vivo*”, wykazuje ona całkowitą identyczność immunologiczną i farmakologiczną (19).

Zagadnienie akumulacji enterotoksyny w komórce bakteryjnej pozostaje niezupełnie jeszcze

wyjaśnione. Duncan (3) wysunął początkowo 2 hipotezy dla wyjaśnienia tego zjawiska. Pierwsza hipoteza uznawała możliwość pewnej „nadprodukcji” białek powstałych w fazie sporulacji, natomiast druga przyjmowała syntezę protein zupełnie odrębnych. Ostatnio Duncan i wsp. (4) wykazali w cytoplazmie sporulujących komórek szczepów enterotoksynogennych stałą obecność morfologicznych struktur tzw. „paracrystalline inclusion” (parakrystalicznych wtrętów), stanowiących przypuszczalnie specyficzny antygen enterotoksyny. Identyczność enterotoksyny i „inclusion” sugeruje wykazana w preparatach wysokococzyszczonej toksyny tendencja do ich agregacji. Bardzo więc prawdopodobne, że każdy wtręt („inclusion”) stanowi taki agregat podjednostek białkowych enterotoksyny, powstałych w procesie sporogenezy.

Właściwości enterotoksyny. Jest związkiem białkowym, termolabilny, dający się inaktywować w temp. 60°C w ciągu 10 min., niedializujący przez błony półprzepuszczalne, posiadający ciężar cząsteczkowy 36 000 i punkt izoelektryczny przy pH=4,3 (7, 13, 18). Toksyczność dla myszy wysokococzyszczonego preparatu wynosi 2000 DLM/mg azotu. Toksyna łatwo ulega strąceniu przez siarczany amonu (18) i inaktywacji przez pronazę (7). Natomiast nie niszczą jej trypsyna, lipaza i amylaza. Enterotoksyna działa w zakresie temperatur od +37° do -21°C; posiada maksymalną aktywność przy pH=6 do 11; przy pH=1 i 12 ulega inaktywacji. Immunoelktroforetycznie tworzy 3 aktywne komponenty, 1 główną oraz 2 dodatkowe, przypuszczalnie z niej pochodzące (13).

Enterotoksyna jest dobrym antygenem i indukuje w organizmie przeciwciała (26). Pod względem immunologicznym jest jednorodna, niezależnie od produkującego ją serotypu aglutynacyjnego (24, 25).

Enterotoksyna podana enteralnie wywołuje w ciągu ok. 2,5 godz. objawy „enteritis” u królików (8, 14, 31), małą (20), owiec (15, 16) i cieląt (27). Wykazać ją można ponadto testem śródskórnym i w podwiązanych pętlach jelitowych (11, 12, 14). Wprowadzona śródskórnie świnkom morskim i królikom powoduje rumień, swoiście zobojętniany surowicą antyenterotoksyczną (18). W podwiązanych pętlach jelitowych w następstwie stanu zapalnego i gromadzenia się płynu wysiękowego powstaje charakterystyczne rozdęcie. Ostatecznie dojść może do wyraźnej destrukcji kosmków jelitowych, a nawet do całkowitego ich zniszczenia.

Patogeneza. Mechanizm działania enterotoksyny na przewód pokarmowy nie został jeszcze poznany. Wiadomo jednak, że szczepy *Cl. perfringens* stymulują w komórkach śluzówki aktywność cyklaz adenylowych tj. enzymów katalizujących syntezę cyklicznego 3,5 AMP z ATP (29) oraz pobudzają funkcję wy-

dzielniczą trzustki i w ten sposób wpływają na intensywność dojelitowej sekrecji. Niewykluczone, że współdziałają w tym mechanizmie również zaburzenia w absorpcji jelitowej, związane z gospodarką sodu oraz zaburzenia w filtracji, powstałe w następstwie zwiększonej przepuszczalności naczyniowej i ciśnienia hydrostatycznego.

Znaczenie nowowykrytej enterotoksyny. Wykazanie w hodowlach *Cl. perfringens* A nowej, nieznanej dotąd toksyny jest istotne dla lepszego zrozumienia etiopatogentycznych mechanizmów zatruc pokarmowych oraz ważne jest też ze względów epizootologicznych. W świetle tego odkrycia, zatrucia pokarmowe mogą przebiegać w formie toksykoz preformowaną już w pokarmie toksyną, lub infekcji przewodu pokarmowego szczepami produkującymi „in situ” toksynę. Dotychczas bowiem zatrucia na tle *Cl. perfringens* A uważano raczej za zwykłe intoksykacje.

Znaczenie epizootologiczne enterotoksyny jest związane z powstaniem nowych możliwości wyjaśnienia spornego od wielu lat problemu enterotoksemii na tle *Cl. perfringens* A. W takich przypadkach, większość badaczy wyraża na ogół negatywny pogląd o roli etiologicznej *Cl. perfringens* A. Wynika on głównie z niemożności udowodnienia działania w organizmie hipotetycznej toksyny alfa (fosfolipaza C). Być może, że wyjaśnienie tego zagadnienia stanie się możliwe po przeprowadzeniu badań w kierunku enterotoksyny.

Piśmiennictwo

1. Boulay P., Boulay G.: Rec. Med. vet. 89, 223, 1963.
2. Cygan Z., Wawrzkiwicz K.: Medycyna Wet. 9, 518, 1966.
3. Duncan C. L.: J. Bact. 113, 932, 1973.
4. Duncan C. L., King G. J., Friebe W. R.: J. Bact. 114, 845, 1973.
5. Duncan C. L., Sugiyama, Strong D. H.: J. Bact. 95, 1560, 1960.
6. Duncan C. L., Strong D. H.: Can. J. Microbiol. 15, 765, 1969.
7. Duncan C. L., Strong D. H.: J. Bact. 100, 86, 1969.
8. Duncan C. L., Strong D. H.: Infect. Immunity 3, 167, 1971.
9. Egerton J. R., Walker P. D.: J. Path. Bact. 88, 275, 1964.
10. Hall H. E., Angelotti R., Lewis K. H., Foter M. J.: J. Bact. 85, 1094, 1963.
11. Hauschild A. H. W.: Can. J. Microbiol. 16, 651, 1970.
12. Hauschild A. H. W.: J. Milk Food Techn. 34, 596, 1971.
13. Hauschild A. H. W., Hilsheimer R.: Can. J. Microbiol. 17, 1425, 1971.
14. Hauschild A. H. W., Hilsheimer R., Rogers C. G.: Can. J. Microbiol. 17, 1475, 1971.
15. Hauschild A. H. W., Niilo L., Dorward W. J.: J. infect. Dis. 117, 379, 1967.
16. Hauschild A. H. W., Niilo L., Dorward W. J.: Appl. Microbiol. 16, 1233, 1968.
17. Hauschild A. H. W., Niilo L., Dorward W. J.: Can. J. Microbiol. 16, 331, 1970.
18. Hauschild A. H. W., Niilo L., Dorward W. J.: Can. J. Microbiol. 16, 339, 1970.
19. Hauschild A. H. W., Niilo L., Dorward W. J.: Can. J. Microbiol. 17, 987, 1971.
20. Hauschild A. H. W., Walcroft M. J., Campbell W.: Can. J. Microbiol. 17, 1141, 1971.
21. Hobbs B. C.: J. appl. Bact. 28, 74, 1965.
22. Hobbs B. C., Smith M. E., Oakley C. L., Warrack G. H., Cruickshank J. C.: J. Hyg. Camb. 51, 75, 1953.
23. Murrell T. G. C., Roth L.: Med. J. Aust. 1, 61, 1963.
24. Niilo L.: Infect. Immunity 3, 100, 1971.
25. Niilo L.: Can. J. Microbiol. 19, 521, 1973.
26. Niilo L., Hauschild A. H. W., Dorward W. J.: Can. J. Microbiol. 17, 391, 1971.
27. Niilo L., Dorward W. J.: Res. vet. Sci. 12, 376, 1971.
28. Nygren B.: Acta path. microbiol. scand. Suppl. 160, 1962.
29. Rosen O. M., Rosen S. M.: Arch. Biochem. 141, 346, 1970.
30. Smith L. D. S., George R. L.: J. Bact. 51, 271, 1946.
31. Strong D. H., Duncan C. L., Perna: Infect. Immunity 3, 171, 1971.
32. Sutton R. G. A., Hobbs B. C.: J. Hyg. Camb. 66, 135, 1968.
33. Zeissler J., Rossfeld-Sternberg L.: Br. med. J. 12, 267, 1949.

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

MARCIN SZULC, JACEK SZCZAWIŃSKI, MAŁGORZATA IWANŃSKA

Zawartość fluoru w tkankach krów z terenów objętych skażeniami przemysłowymi w aspekcie oceny sanitarno-higienicznej mięsa

Z Katedry Higieny Produktów Zwierzęcych Wydziału Weterynaryjnego AR w Warszawie

Do licznych substancji chemicznych wprowadzanych przez zakłady przemysłowe do biosfery, a więc skażających środowisko, należą również związki fluoru.

Jak wynika z dotychczasowych, stosunkowo nielicznych, danych z piśmiennictwa (2, 5, 8, 12, 17), największą ilość związków fluoru emitują huty aluminium oraz fabryki nawozów fosforowych. Obok nich jednak, skażenia środowiska fluorem mogą również występować w otoczeniu innych zakładów przemysłowych, jak np.: fabryk fluorków, wytwórni środków owadobójczych, hut i zakładów wytrawiania szkła, zakładów grawerowania metali (2, 13, 17).

Można wyrazić obawę, że w miarę rozwoju przemysłu zasięg i intensywność skażeń środowiska związkami fluoru będą wykazywały tendencje wzrostowe, analogicznie jak przy innych pyłach i dymach przemysłowych.

W Polsce, w otoczeniu niektórych fabryk, zwłaszcza hut aluminium oraz zakładów przetwórstwa siarki i produkcji superfosfatu, powstają również skażenia środowiska związkami fluoru nawet tak intensywne, że występują dość liczne przypadki fluorozoy zwierząt, stającą się przyczyną ich ubojów z konieczności. W takiej sytuacji pojawia się problem oceny