

MEDYCYNA WETERYNARYJNA

ORGAN POLSKIEGO TOWARZYSTWA NAUK WETERYNARYJNYCH

CZASOPISMO POSWIĘCONE NAUCE I PRAKTYCE WETERYNARYJNEJ
ZAŁOŻONE W 1945 R. PRZEZ WYDZIAŁ WETERYNARYJNY W LUBLINIE

REDAKCJA

Redaktor naczelny: prof. dr Edmund PROST

Członkowie Komitetu Redakcyjnego: prof. dr Ryszard BADURA, prof. dr Jerzy MAZURCZAK, prof. dr Stanisław WOŁOSZYN

Sekretarz naukowy: dr Elżbieta PEŁCZYŃSKA

RADA PROGRAMOWA

Dr Anatol BACHAREWICZ, prof. dr Henryk BALBIERZ, prof. dr Władysław BIELAŃSKI, prof. dr Stanisław CAKAŁA, prof. dr Zygmunt EWY, doc. dr Stefan JAKUBOWSKI, prof. dr Lech JASKOWSKI, prof. dr Stefan KOSSAKOWSKI, prof. dr Tadeusz KRZYMOWSKI, prof. dr Zdzisław LARSKI, dyr. dr Henryk LIS, doc. dr Władysław LUTYŃSKI, prof. dr Edward PINKIEWICZ, prof. dr Zbigniew SAMBORSKI, prof. dr Wiktor STEFANIAK, prof. dr Abdon STRYSZAK, prof. dr Eustachy SZELIGOWSKI, doc. dr Krzysztof SWIEŻYŃSKI, prof. dr Marian TRUSZCZYŃSKI, prof. dr Janusz WELENTO, prof. dr Eugeniusz ŻARŃOWSKI

WSPÓŁPRACOWNIKOM, AUTOROM I CZYTELNIKOM NASZEGO CZASOPISMA
WIELE SERDECZNYCH ŻYCZEŃ Z NOWYM ROKIEM 1981

składa
REDAKCJA

CHOROBY ZAKAŻNE I INWAZYJNE

ZYGMUNT CYGAN, IRENA BARCZ

Struktura molekularna i mechanizm działania toksyny tężcowej

Z Zakładu Higieny Weterynaryjnej w Lublinie

Toksyna tężcowa (TT) — stanowiąc produkt metabolizmu laseczek *Cl. tetani* — odpowiada za wszystkie objawy tężca opisywane od czasów Hipokratesa jako triada „zranienie — szczękościsk — śmierć” (85). Według Heyningena i Mellanby (43) czysty preparat tej neurotoksyny posiada aktywność wynoszącą 200 000 000 DLM/mg N, lub 30 000 000 DLM/mg białka i obok jadu botulinowego należy do najpotężniejszych trucizn znanych człowiekowi. Poznanie właściwości fizyko-chemicznych TT, a zwłaszcza jej struktury molekularnej, posiada zasadnicze znaczenie dla wyjaśnienia istoty działania tej niezwyklej proteiny (43). Uzyskane dotychczas wyniki pozwalają sądzić, że różne komponenty molekuly tego jadu są implikowane w proces wiązania, toksyczność i immunogenność (7, 35, 36, 37, 38, 39, 54, 55, 85). Niedawno też przeprowadzone badania rzuciły

nowe światło na rozprzestrzenianie się toksyny tężcowej w organizmie (7, 21, 30, 70). Wyżej przedstawionej problematyce — nie omawianej w piśmiennictwie krajowym — jest poświęcony niniejszy artykuł.

Wytwarzanie toksyny

Bulionowe hodowle *Cl. tetani*, znajdujące się w ekspanencyjnej fazie wzrostu laseczek i rozpoczynającym się procesie ich autolizy, zawierają toksynę tężcową zewnątrzkomórkową — TTZK (12). Można też stwierdzić tzw. toksynę wewnętrzną w samych laseczkach TTWK oraz w endosporach TTWS (73, 74, 75). Właściwości patogenetyczne i antygenowe tych jadów są identyczne, a jedyne różnice polegają tylko na większej wrażliwości termicznej TTZK w porównaniu z TTWK oraz na słabszej wiązalności przez antytoksynę TTWS niż TTWK (75).

Zagadnienie kontroli genetycznej procesów wytwarzania TT jest mało poznane (12). W tym względzie niewiele wyjaśnia fakt wykazania bakteriofagów specyficznych dla *Cl. tetani* (17, 34, 68, 69). Według Hara i wsp. (34) fagi izolowane z toksycznych i atoksycznych hodowli są morfologicznie podobne. Wysłunętej hipotezie o możliwości regulacji produkcji TT przez plazmidy na razie brakuje większego uzasadnienia.

Sprzężenie procesów aktywacji toksynogenezy i sporogenezy, właściwe dla niektórych laseczek z rodzaju *Clostridium*, nie jest cechą bakterii tężca (61, 64). Bowiem toksynogenne szczepy *Cl. tetani* z reguły słabo sporują.

Wyraźny wpływ na wytwarzanie toksyny tężcowej posiadają warunki prowadzenia hodowli bakteryjnych. Dodatek do podłoża cysteiny i kwasu skrobiowego, a także niektórych aminokwasów działa stymulująco (79, 80). Również natlenianie kultur prowadzi do zwiększenia zbiorów TT (82). Natomiast nadmiar glutaminianów w pożywce co prawda pobudza rozwój *Cl. tetani*, ale wpływa także na skrócenie stacjonarnej fazy wzrostu tych beztlenowców i w konsekwencji obniża toksynogenezę (56). Poza tym produkcji toksyny na ogół nie sprzyjają częste pasáže z użyciem płynnych podłoży (60). Podkreślić przy tym należy, że spośród zalecanych pożywek największą wartość posiadają podłoża według Muellera i Millera (58) oraz Lathama i wsp. (48). Uzyskiwane zbiory toksyny wynosiły w pożywce Muellera i Millera 130—150 Lf/ml ($1,3—1,5 \times 10^6$ DLM/ml), a w niebuforowanym i bez wyciągu z serca wołowego podłożu Lathmana od 70 do 90 Lf/ml.

Mechanizm uwalniania toksyny tężcowej (TT) z komórek bakteryjnych nie jest dostatecznie poznany. Wiąże się on z nacięciem („nicking”) molekuly toksyny wydzielanej do płynów hodowli (tzw. toksyna zewnątrzkomórkowa TTK). Odpowiedzialne za ten proces proteazy zostały wykazane w ścianie laseczek *Cl. tetani* (78). Natomiast cząsteczki toksyny wewnątrzkomórkowej TTWK nie są nacięte.

Właściwości fizyko-chemiczne

Toksyna tężcowa jest prostym białkiem o ciężarze molekularnym 150 000 (15, 52, 72). Zawiera ona 15,7% N, 1,04% S i 0,065% P (43). W stanie oczyszczonym jest całkowicie pozbawiona frakcji lipidowych i węglowodanowych (43, 65). Punkt izoelektryczny TT znajduje się przy pH 5,0—5,2. Unieczynnia się ona już w pH 6,0 ale w obecności glicyny zachowuje aktywność nawet przy zakwaszeniu do pH 5,0 (65).

Badanie składu amoniokwasowego toksyny tężcowej nie dało jednoznacznych wyników (14, 24, 29). Bizzini i wsp. (14) wykazali w TT aż 18 różnych aminokwasów. Spośród nich Dawson i Mauritzen (24) nie stwierdzili występowania jedynie tryptofanu, a Dunn i wsp. (29) również alaniny, cystyny, seryny i tyrozyny.

Rozbieżność poglądów zaznacza się także co do roli i składu aminokwasów w ugrupowaniach terminalnych cząsteczek TT. Craven i Dawson (18) negują obecność funkcjonalnych aminokwasów w TTK i TTWK. Natomiast Bizzini i wsp. (13) oraz Holmes i Ryan (45) za końcowe aminokwasy uważają leucynę i glicynę. Ostatnio Helting i wsp. (35) wysunęli hipotezę, że grupę terminalną łańcucha lekkiego („light” — L) tworzy prolina, a ciężkiego („heavy” — H) leucyna.

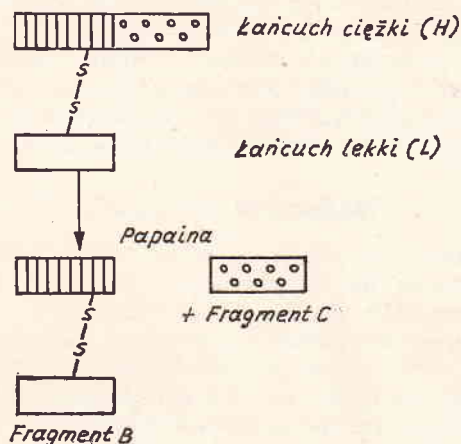
Podstawy struktury molekularnej

Poglądy na temat struktury molekularnej toksyny tężcowej nie są całkowicie zgodne (15, 18, 43, 59). W 1948 r. Pillemer i wsp. (66) oraz Pillemer i Moore (65) wykazali fizyczną niehomogenność czystych preparatów TT zawierających cząsteczki 4,5 S oraz 7 S. Jednocześnie stwierdzono, że przy zachowaniu swoistości antygenowej cząsteczki 7 S były pozbawione toksyczności. Później Largier i Joubert (47) donieśli o biologicznej aktywności molekuł 3,9 S. Zasugerowano przy tym możliwość spontanicznej polimeryzacji cząsteczek toksyny. Na tej podstawie Heyningen i Mellanby (43) wyrazili przypuszczenie, że TT może występować w 2 formach tj. czynnej (monomer o CM 68 000) i nieczynnej (dimer z CM 140 000). Zdaniem Raynaud i wsp. (71) procesowi depolimeryzacji towarzyszy rozbitcie mostków S-S. Jednak powyższej koncepcji nie popierały badania Dawsona i Mauritzena (24) wskazujące na toksyczność preparatów TT o stałej sedymentacji 6,1—6,7 S.

Sporym zagadnieniem jest kwestia liczby podjednostek strukturalnych w molekule TT. Bizzini i wsp. (15) założyli występowanie 2 identycznych polipeptydów (CM 75 000) złożonych z 2 odrębnych łańcuchów (CM 50 000 i 25 000) związanych mostkami S-S. Natomiast Craven i Dawson (18) przyjęli dla toksyny zewnątrzkomórkowej (TTK) obecność 1 polipeptydu dwułańcuchowego, podczas gdy toksynie wewnątrzkomórkowej (TTWK) przypisali strukturę jednołańcuchową (CM 150 000). Powyższe wyniki potwierdzili Matsuda i Yoneda (53, 54, 55), którzy wskazali, że TTWK po łagodnej trypsynizacji przechodzi w formę molekuł rozczepionych z łańcuchem ciężkim H i lekkim L.

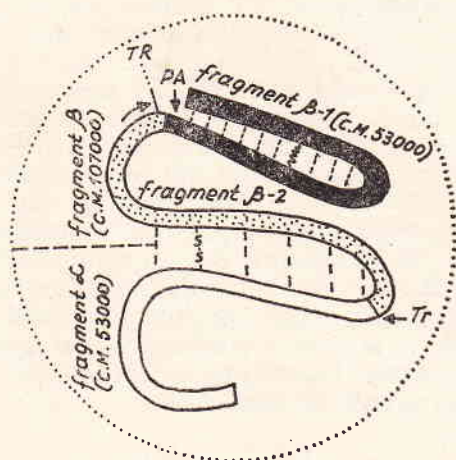
Helting i Zwisler (37) w rezultacie zadziałania papainą na toksynę tężcową zewnątrzkomórkową (TTK) wyodrębnili z niej 2 polipeptydy tj. tzw. fragment C (frag C) z CM 47 000 i fragment B (frag B) o CM 95 000. Frag C, przedstawiając mniejszą komponentę cząsteczki TT, zachowywał zdolność stymulacji przeciwciał antytoksycznych (mostek S—S pozostawał we frag B). Przy zastosowaniu elektroforezy w żelu z SDS i immunodifyzji, fragment C wyraźnie odróżniał się od łańcucha L, zachowując związek z łańcuchem H. W związku z tym Helting i Zwisler (37) przyjęli, że fragment B obejmuje

komplementarną część łańcucha H (pozostała po oddzieleniu frag C) związaną z łańcuchem L przez wiązanie S—S (ryc. 1).



Ryc. 1. Schemat struktury molekularnej toksyny tężcowej według Heltinga i Zwislera (37)

Matsuda i Yoneda (54, 55) stwierdzili, że przy łagodnej trypsynizacji (trypsyny 1 mcg/ml w 25°C przez 1 godz.) toksyny wewnątrzkomórkowej (TTWK) powstają 2 fragmenty, a mianowicie α (CM 53 000) i β (CM 107 000) zachowujące związek antygenowy z toksyną natywną. Frag β (oddzielony od trypsyno-wrażliwego frag α) przy dalszej trypsynizacji (w obecności 2 M mocznika) rozpada się na 2 różne antygenowo podfragmenty, tj. β -1 (odpowiadający frakcji C Heltinga i Zwislera) oraz β -2. Poza tym Matsuda i Yoneda (55) zakładają obecność komponenty „strukturalnie zależnej” („conformation dependent”) cechującą całą molekułę TT (ryc. 2). Wiązania peptydowe — wrażliwe na enzymy — występują pomiędzy komponentami



Ryc. 2. Schemat struktury molekularnej toksyny tężcowej zgodnie z Matsudą i Yonedą (55)

Objaśnienia: Tr = miejsce nacięcia („nicking”) molekuly; TR = punkt trawienia frag β przez trypsynę w obecności 2 M mocznika; PA = miejsce rozbitcia wiązań peptydowych przez papainę; Linia przerywana = wiązanie niekowalencyjne; Linia kropkowana = determinanta „strukturalnie zależna”.

α , β -2 i β -1. Natomiast mostki dwusiarczkowe S—S, niszczone przez detergenty (np. SDS), są zlokalizowane pomiędzy α i β -2 oraz we fragmencie β -1.

Wiązanie TT

Właściwość wiązania przez tkankę nerwową toksyny tężcowej jest znana od dawna jako tzw. „fenomen Wassermanna-Takaki”. Dziś już wiadomo dokładnie, że w neuronie toksynę wiążą tzw. gangliozydy tj. mukolipido — ceramidyl — oligosacharydy zawierające rodniki głównie kwasu neuraminowego, stearynowego i sfingozyny (9, 40, 44). Okazało się przy tym, że efektywność gangliozydów (ggl) jest warunkowana położeniem rodników kwasu neuraminowego (KN). Według Heyningena (41) ggl z 2 przylegającymi rodnikami KN przyłączają 6-krotnie większą ilość toksyny niż gangliozydy o tej samej liczbie rodników KN inaczej położonych. Przy ciężarze molekularnym ggl GIII 1800 i TT 66 000 — średnio 2 molekuly gangliozydu wiążą 1 cząsteczkę toksyny (85).

Proces wiązania TT zdaje się też zależeć od miejsca lokalizacji gangliozydów w neuronie. Dimpfel i wsp. (27) wykazali, że najbardziej aktywne ggl GD1b i GT1 występują w zewnętrznej strukturze komórki. Stąd też powstała sugestia, że TT może oddziaływać jako powierzchniowy marker (27). Komponentę chwytną przypuszczalnie stanowi fragment C, zlokalizowany w łańcuchu H cząsteczki toksyny (11, 39, 42).

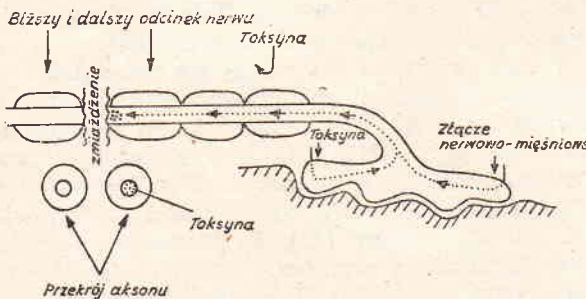
W ostatnich latach zasugerowano obecność receptorów na gangliozydach GD1b i GT1 (33, 49). Komórki tarczycy, posiadające defekt genetyczny związany z brakiem GD1b i GT1, wykazywały gwałtowny spadek aktywności wiązania jednocześnie hormonu tyreotropowego i toksyny tężcowej (33). Powstało więc przypuszczenie, że powyższe ggl są podobne w tkance nerwowej i tarczycy.

Zimmermann (88) oraz Zimmermann i Piffaretti (87) opisali jako receptory pewne struktury wrażliwe na neuraminidazę (1 klasa receptorów) oraz neuraminidazę i β galaktozydazę (2 klasa), a także pozbawione takiej wrażliwości (3 klasa). Receptory klasy 1 i 2 (tzw. swoiste) są charakteryzowane jako zależne od ggl i odpowiedzialne za wiązanie „nieefektywne” (wobec braku objawów choroby), podczas gdy receptory 3-ej klasy (nieswoiste) — niezależne od ggl — warunkują efekt biologiczny (wystąpienie schorzenia). Okazało się przy tym, że zwykle 53% TT łączy się specyficznym. Na uwagę zasługuje, że powyższemu procesowi nie towarzyszą żadne zmiany w komórce (40).

Rozprzestrzenianie się TT w organizmie

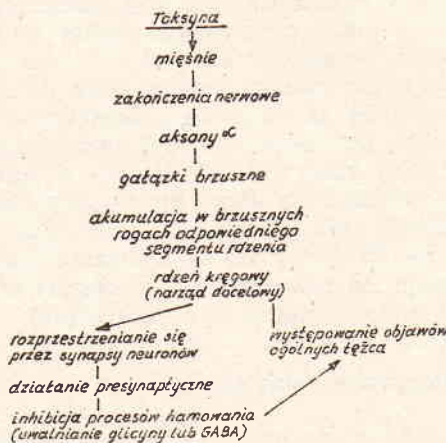
Śród wysuniętych 2 hipotez rozprzestrzeniania się toksyny tężcowej w organizmie tj. drogą krwionośną (1, 2, 3, 4, 5) i nerwową (83)

dziś podtrzymuje się słuszność raczej tylko tej ostatniej. Przemawiają za nią pomysłne próby wywoływania tężca po wprowadzeniu TT do nerwu kulszowego (22) oraz zapobieganie tym objawom przez wywoływane zmiany zwrodnieniowe w motorycznym włóknie nerwowym zakażonego toksyną mięśnia (8, 84). Ostatnio Price i wsp. (70) oraz Stockel i wsp. (77) wprowadzając domięśniowo znakowaną (¹²⁵J) toksynę, przy zmiążdżeniu nerwów tego regionu stwierdzili, że TT gromadzi się w obwodowym aksonie (ryc. 3). Tym samym ustalono, iż toksyna rozprzestrzenia się śródaksonalnie, drogą wstępnego transportu z obwodu do rdzenia kręgowego. Dzienny dystans tej śródaksonalnej transmisji jest oceniany na 75 mm (70). Green i wsp. (30) wykazali przy tym, że transport TT przebiega jako proces selektywny tj. odbywa się za pośrednictwem włókien nerwowych α (w terminologii Erlangera i Gassera).



Ryc. 3. Śródaksonalny transport TT według Price i wsp. (70)

W warunkach naturalnych, toksyna z mięśni lub tkanki podskórnej dociera najpierw do brzusznych korzonków rdzenia, a następnie osiąga brzuszne rogi substancji szarej, co przy dawce 10—15 DLM TT podanej w *m. gastrocnemius* szczurów o wadze 200—300 g następuje w 8—9 godzin (ryc. 4). Wtedy też pojawiają się pierwsze skurcze tężcowe mięśni (46).



Ryc. 4. Schemat rozprzestrzeniania się toksyny tężcowej

W przypadku dożylniej iniekcji TT, czas śmierci zwierzęcia pozostaje w odwrotnej korelacji z wagą jego ciała (83). Sugeruje to, że toksyna jest przenoszona z krwi do mięśni i stąd drogą nerwów do centralnego układu nerwowego (podobnie jak w przypadku transportu TT bezpośrednio z mięśni). Jednak współczesny stan wiedzy całkowicie nie wyklucza drogi hematogennej transmisji TT, co sugerowały dawniejsze badania Abela i wsp. (1, 2, 3, 4, 5).

Mechanizm działania TT

Toksyna tężcowa wykazuje patogenetyczną aktywność na obwodowy i centralny system nerwowy (19, 20, 21, 23, 25, 26, 28, 57, 63, 81). Działanie obwodowe przebiega z supresją procesu uwalniania acetylocholinoi wzbudzonej depolaryzującą K⁺ (10) i z presynaptycznym hamowaniem nerwowo-mięśniowej transmisji (19, 67, 81). Powyższe zaburzenia, zwłaszcza przy niezupełnej neutralizacji TT w rdzeniu kręgowym (57) oraz w przypadku stosowania jako doświadczalnego modelu „złotej rybki” — „goldfish” (26), prowadzą do wystąpienia charakterystycznych dla „miejscowego” tężca wiotkich porażań. Normalnie jednak objawy takie są maskowane dominacją objawów „uogólnionego tężca spastycznego” jako przejawu oddziaływań toksyny na rdzeń kręgowy.

Przy wpływie TT na centralny układ nerwowy dochodzi w rdzeniu do inhibicji neuronów hamujących (tzw. komórki Renshawa), wytwarzających mediatory hamowania tj. przypuszczalnie kwas gamma-amino-masłowy („gamma-amino-butyric acid” — GABA) lub glicynę (19, 20, 21, 63). W konsekwencji tych zaburzeń występuje niewstrzymywany przepływ impulsów pobudzających do drgawek i skurczów mięśniowych (ryc. 4).

W kontekście częściowo już poznanej struktury molekularnej TT zakłada się, że łańcuch L jest odpowiedzialny za główny efekt patogenetyczny (42). Natomiast tzw. fragmentowi B tj. kompleksowi łańcucha L z częścią łańcucha H (komplementarną do frakcji C) przypisuje się rolę w stymulacji objawów sercowo-naczyniowych pojawiających się we wstępnej fazie tężca (16, 62). Poza tym postuluje się, że proces enzymatycznego „nacięcia” molekuly toksyny jest niezbędny dla „ujawnienia” łańcuchów H i L — determinujących wiązanie i biologiczną aktywność toksyny. Słuszność tej hipotezy — w świetle stwierdzenia w organizmie komponenty toksycznej o CM 40 000 — jest bardzo prawdopodobna (32).

Piśmiennictwo

1. Abel J. J.: Science 79, 121, 1934.
2. Abel J. J., Ewans E. A., Hampil B., Lee F. C.: Bull. Johns Hopkins Hosp. 56, 84, 1935.
3. Abel J. J., Firor W. M., Chalian W.: Bull. Johns Hopkins Hosp. 63, 373, 1938.
4. Abel J. J., Hampil B.: Bull. Johns Hopkins Hosp. 57, 343, 1935.
5. Abel J. J., Hampil B., Jonas A. F.: Bull. Johns Hopkins Hosp. 56, 317, 1935.

6. Ambache N., Morgan R. S., Wright G. P.: Br. J. exp. Path. 29, 408, 1948.
7. Arregui A., Logan W. J., Bennett J. P., Snyder S. H.: Proc. natn. Acad. Sci. USA 69, 3485, 1972.
8. Bayliss J. H., Mackintosh J., Morgan R. S., Wright G. P.: J. Path. Bact. 63, 33, 1952.
9. Bernheimer A. W., Heyningen W. E.: J. gen. Microbiol. 24, 121, 1961.
10. Bigalke H., Dimpfel W., Habermann E.: Naunyn — Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 303, 133, 1978.
11. Bizzini B.: Toxicon 15, 141, 1978.
12. Bizzini B.: Microbiol. Rev. 43, 224, 1979.
13. Bizzini B., Blass J., Turpin A., Raynaud M.: Europ. J. Biochem. 17, 100, 1970.
14. Bizzini B., Turpin A., Raynaud M.: Bull. Soc. Chim. biol. 46, 161, 1964.
15. Bizzini B., Turpin A., Raynaud M.: Naunyn — Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 276, 271, 1973.
16. Corbett J. L., Kerr J. H., Prys — Roberts C., Smith A. C., Spalding J. M. K.: Anaesthesia 24, 198, 1969.
17. Cowles P. B.: J. Bact. 27, 163, 1934.
18. Craven C. J., Dawson D. J.: Biochim. biophys. Acta 317, 277, 1973.
19. Curtis D. R.: J. Physiol., Lond. 145, 175, 1959.
20. Curtis D. R., Felix D., Game C. J. A., McCulloch R. M.: Brain Res. 51, 358, 1973.
21. Curtis D. R., de Groot W. C.: Exptl. Brain Res. 10, 203, 1968.
22. Davies J. R., Morgan R. S., Wright E. A., Wright G. P.: Archs int. Physiol. 62, 248, 1954.
23. Davies J. R., Wright E. A.: Br. J. exp. Path. 36, 487, 1955.
24. Dawson D. J., Mauritzen C. M.: Aust. J. biol. Sci. 20, 253, 1967.
25. Diamond J., Mellanby J.: J. Physiol., Lond. 210, 186, 1970.
26. Diamond J., Mellanby J.: J. Physiol., Lond. 215, 727, 1971.
27. Dimpfel W., Huang T. C., Habermann E.: J. Neurochem. 29, 329, 1977.
28. Duchon L. W.: J. Neurol. Sci. 19, 169, 1973.
29. Dunn M. S., Camien M. N., Pillemer L.: Arch. Biochem. 22, 374, 1949.
30. Green J., Erdmann G., Wellhöner H. W.: Nature, Lond. 265, 370, 1977.
31. Habermann E.: Med. Microbiol. Immunol. 159, 80, 1973.
32. Habermann E., Wellkoner H. H., Raker K. O.: Naunyn — Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 299, 187, 1977.
33. Haba W. H., Grollman E. F., Ledley F. D., Meldolesi M. F., Aloj S. M., Hardegree M. C., Kohn L. D.: Endocrinology 102, 844, 1973.
34. Hara T. M., Matsuda M., Yoneda M.: Biken J. 20, 105, 1977.
35. Hellina T. B., Neubauer V., Parschat S., Engelhardt H.: Int. Conf. Tetanus. Ronneby, Sweden 1978.
36. Helting T. B., Rounneberger H. J., Vollerthun R., Neubauer V.: J. biol. Chem. 253, 125, 1978.
37. Helting T. B., Zwisler O.: J. biol. Chem. 252, 187, 1977.
38. Helting T. B., Zwisler O.: w Proc. Fourth Int. Conf., Ed. Merieux, Lyon 1973.
39. Hellina T. B., Zwisler O., Wiegand H.: J. biol. Chem. 252, 194, 1977.
40. Heyningen W. E.: J. gen. Microbiol. 24, 107, 1961.
41. Heyningen W. E.: J. gen. Microbiol. 31, 389, 1963.
42. Heyningen W. E.: FEBS Lett. 68, 5, 1976.
43. Heyningen W. E., Mellanby J.: Microbial Toxins, Ed. Kadis S., Moutie T. C., Ajl S. J., Acad. Press, New York and London 1971.
44. Heyningen W. E., Miller P. A.: J. gen. Microbiol. 24, 107, 1961.
45. Holmes M. J., Ryan W. L.: Infect. Immun. 3, 133, 1971.
46. Kryzhanovsky G. N.: w Principles on Tetanus. Proceedings of the Int. Conf. on Tetanus, Ed. Eckmann L., Stuttgart 1966, s. 155.
47. Largier L. F., Joubert F. J.: Biochim. biophys. Acta 20, 407, 1956.
48. Latham C., Bent D. F., Levine L.: Appl. Microbiol. 10, 146, 1962.
49. Ledley F. D., Lee G., Kohn D., Habig W. H., Herdegree M. G.: J. biol. Chem. 252, 4049, 1977.
50. Lettl A., Nekvasilova K., Moravec K., Stejskal A.: Annls Inst. Pasteur, Paryż 111, 622, 1966.
51. Lettl A., Nekvasilova K., Moravec K., Stejskal A.: Annls Inst. Pasteur, Paryż 111, 622, 1966.
52. Mangalo R., Bizzini B., Turpin A., Raynaud M.: Biochim. biophys. Acta 168, 583, 1968.
53. Matsuda M., Yoneda M.: Biochem. biophys. Res. Commun. 57, 1257, 1974.
54. Matsuda M., Yoneda M.: Infect. 12, 1147, 1975.
55. Matsuda M., Yoneda M.: Biochem. biophys. Res. Commun. 77, 268, 1977.
56. Mellanby J.: J. gen. Microbiol. 54, 77, 1968.
57. Miyasaki S., Ohada K., Muto S., Itokazu T., Masui M., Ebisawa I., Kagabe K., Kimuro T.: Jap. J. exp. Med. 37, 217, 1967.
58. Mueller J. H., Miller P. A.: J. Bact. 67, 271, 1954.
59. Murphy S. G., Plummer T. H., Miller K. D.: Fedn. Proc. 27, 268, 1968.
60. Nielsen K. E.: Acta path. microbiol. scand. 77, 542, 1969.
61. Nishida S., Yamagishi T., Tamai K., Sanada I., Takahashi K.: J. infect. Dis. 120, 507, 1969.
62. Odusote K. A., Sofola O. A.: Naunyn — Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 295, 159, 1976.
63. Osborne R. H., Bradford H. F.: Nature, Lond. 244, 157, 1973.
64. Pavlova I. B., Sergeeva T. I.: Z. Microbiol. Epidem. Immunobiol. 46, 12, 1969.
65. Pillemer L., Moore D. H.: J. biol. Chem. 173, 427, 1948.
66. Pillemer L., Wittler R. G., Burrell J. I., Grossberg D. B.: J. exp. Med. 88, 205, 1948.
67. Prabhu V. G., Oester Y. T.: J. Pharmac. exp. Ther. 138, 241, 1962.
68. Prescott L. M., Altenbern R. A.: J. Bact. 93, 1220, 1967.
69. Prescott L. M., Altenbern R. A.: J. Virol. 1, 1085, 1967.
70. Price D. L., Griffin J., Young A., Peck K., Stocks A.: Science 188, 945, 1975.
71. Raynaud M., Turpin A., Bizzini B.: Annls Inst. Pasteur, Paryż 99, 167, 1960.
72. Robinson J. P., Picklesimer J. B., Pnett D.: J. biol. Chem. 250, 7435, 1975.
73. Rymkiewicz D.: Analiza porównawcza składu antygenowego plynów hodowl. ekstraktów z komórek i ekstraktów z zarodników Clostridium tetani. Praca doktorska. PZH Warszawa, 1962.
74. Rymkiewicz D.: Bull. Acad. Polon. Sci., Cl. VI, 12, 77, 1964.
75. Rymkiewicz D.: Endospory patogennych przedstawicielek rodzaju Clostridium. Praca habilitacyjna, PZH Warszawa, 1973.
76. Seki T., Takaki M., Hirabayashi H., Yamaguchi H.: Med. J. Osaka Univ. 5, 271, 1954.
77. Stöckel K., Schwab M., Thoenen H.: Brain Res. 99, 1, 1975.
78. Timelli R.: C. r. hebd. Seanc. Acad. Sci., Paryż 266, 1, 1968.
79. Tsumashima I., Sato K., Skoji K., Yoneda M., Amono T.: Biken J. 7, 161, 1974.
80. Watt B., Brown R.: J. med. Microbiol. 8, 167, 1975.
81. Wernio A., Stover H., Tonae D.: Naunyn — Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 298, 38, 1977.
82. Wezel A. L.: Versl. Med. Volksgezond. 12, 1, 1967.
83. Wright G. P.: Pharmac. Rev. 7, 413, 1955.
84. Wright G. P., Morgan R. S., Wright G. P.: Br. J. exp. Pathol. 32, 169, 1951.
85. Zacks S. I., Sheff M. F.: Neuropoisons, Ed. Simpson L., New York 1971.
86. Zimmerman J. M.: cyt. wg poz. 19.
87. Zimmerman J. M., Piffaretti J. C.: Naunyn — Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 296, 271, 1977.

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

KOLBERG K.: Czynniki wpływające na wystąpienie rui u macior po odsadzeniu prosiąt. (Factors affecting postweaning oestrus in the sow.) Nor. Vet.-Med. 32, 185—193, 1980 (5).

Wpływ czynników powodujących wystąpienie rui u macior po odsadzeniu prosiąt prześlędzono na 3019 maciorach w 75 stadach w okresie 1977—1978 r. Stwierdzono, że u 52,3% macior pierwiastek ruja wystąpiła w ciągu 7 dni po odsadzeniu, natomiast ruja w tym samym okresie czasu wystąpiła u 77,4% wieloródek. Badania poubojowe jajników macior wybrakowanych z powodu braku rui wykazały u 46,2% pierwiastek i 78,3% wieloródek obecność ciałek żółtych. Anestrus zdiagnozowano po uboju u 38,5% pierwiastek i 13,0% wieloródek. Opóźniający wpływ na wystąpienie rui po odsadzeniu wywierało uboższe żywienie. Obecność knura w tym samym pomieszczeniu w którym znajdowały się maciory nie wpływa na czas pojawienia się rui po odsadzeniu prosiąt.

G.

LIEFMAN C. E.: Szczepienia czynno-bierne koni przeciwko tężcowi. (Combined active-passive immunisation of horses against tetanus.) Aust. vet. J. 56, 119—122, 1980 (3).

Określono stopień nasilenia odporności u koni po szczepieniu szczepionką przeciw tężcowi oraz po szczepieniu czynno-biernym (szczepionką i surowicą odpornościową). Badania przeprowadzono na 9 koniach w wieku 8—12 miesięcy w trzech grupach doświadczalnych. Zwierzętom z grupy I podano w iniekcji podskórnej 1500 j.m. anatoksyny tężcowej, zwierzętom z grupy II podano 1500 j.m. anatoksyny tężcowej i 2 ml szczepionki, zaś zwierzętom z grupy III jedynie szczepionkę w ilości 2,0 ml. Po 4 tygodniach zwierzęta z grupy II i III otrzymały iniekcje 2 ml szczepionki przeciwko tężcowi. Natężenie odporności określono w odczynie neutralizacji na myszkach. U zwierząt ze wszystkich trzech grup uzyskano zadowalającą odporność, przy czym powtórna iniekcja szczepionki przyczyniała się do silnego wzrostu odporności.

G.