Praca oryginalna *Original paper*

Właściwości inwazyjne szczepów C. perfringens wyizolowanych z nowotworów złośliwych

WIESŁAW CYGAN

Wojewódzki Szpital Specjalistyczny im. Stefana Kardynała Wyszyńskiego, al. Kraśnicka 100, 20-718 Lublin

Cygan W.

Invasive characteristics of C. perfringens strains isolated from malignant neoplasms

Summary

The toxinogenic activity of 12 strains of C. perfringens isolated from tumors and 3 strains from non-malignant lesions deciding on their invasive properties was examined. For this purpose the ability of the isolates to produce α-toxin determined as lecithinase C by the lecithovitellin test (LV) was studied quantitatively, as well as ϑ, κ and μ toxins, and also the ν – factor qualitatively. All except one of the strains (derived from the adenocarcinoma of large intestine) were toxinogenic and consequently, irrespectively of their source, they fall under the criterion of the variant of gas gangrene. Finally, the mechanism of the activity of individual toxins as well as their pathogenetic synergism were discussed from the perspective of spontaneous and nontraumatic gas gangrene, which sometimes complicates the course of malignant neoplasm diseases, usually in a surprising manner, as has been described in publications.

Keywords: cancer, C. perfringens

Inwazyjność *C. perfringens*, w konsekwencji doprowadzająca do ciężkich zakażeń, jest warunkowana możliwością przekraczania bariery jelitowej, tj. głównej niszy ekologicznej drobnoustroju, poza tym zdolnością namnażania się poza jej obrębem i rozprzestrzeniania w organizmie. Zagadnienie to nabrało w ostatnich latach nowego wymiaru. Na aktualności straciły bowiem rany przypadkowe i chirurgiczne – jako bramy wnikania bakterii – natomiast wzrosła rola destrukcyjnych, uszkadzających tkanki oddziaływań nowotworów złośliwych, szczególnie przy jednoczesnym występowaniu rozmaitych, predysponujących do zakażeń, zaburzeń (5, 28). Rzadką, co prawda, infekcją, ale wyjątkowo groźną, w dodatku wciąż mało poznaną, jest pojawianie spontanicznych, przerzutowych ognisk zgorzeli gazowej, niekiedy nawet wyprzedzających diagnozę choroby nowotworowej (14). Etiologicznie wiążą się one z działaniem *C. perfringens* i *C. septicum* (3, 5, 12, 28).

Efekty pustoszącego tkanki rozsiewu *C. perfringens* determinują wytwarzane, liczne toksyny (7, 9, 22, 24) działające głównie jako czynniki letalne oraz chorobotwórcze enzymy (9, 17). Omówienie – w ujęciu patogenetycznym – możliwości inwazyjnych tych beztlenowców wyizolowanych z nowotworów złośliwych człowieka uzasadnia celowość podjętych badań.

Materiał i metody

Izolacja. Szczepy wyosabniano metodą bezpośredniego posiewu zasysanej zawartości ze zmian chorobowych na selektywne podłoże Zeisslera z siarczanem neomycyny (100 µg/ml) oraz poprzez namnażanie sterylnie wyciętych tkanek (ok. 10 × 10 mm) wprowadzanych do pożywki Wrzoska (inkubacja 48-72 godz. w 37°C, atmosfera beztlenowa w anerostacie uzyskiwana zestawem reagentów Gas generating box (bioMérieux, Francja). Kolonie odpowiadające *C. perfringens* wycinano wraz z agarem i namnażano w pożywce Wrzoska (hodowle sprawdzano na brak wzrostu w warunkach tlenowych).

Identyfikacja. Wyosobnione szczepy beztlenowców poddawano identyfikacji gatunkowej w oparciu o właściwości fermentacyjne w stosunku do laktozy, glukozy, sacharozy, maltozy, salicyny i mannitu oraz o cechy proteolityczne w odniesieniu do mleka lakmusowego, 15% żelatyny i ściętej surowicy końskiej (80°C – 1 godz.).

Oznaczanie toksyn

a) jakościowe: stosowano je wstępnie wobec toksyny α (lecytynaza C, fosfolipaza C) i jako jedyne, ostateczne badanie w odniesieniu do czynnika ν (dezoksyrybonukleaza). Lecytynazę wykrywano w podłożu Willisa-Hobbs, a także Naglera, w którym przeprowadzono jednocześnie test neutralizacyjny z użyciem antylecytynazowej surowicy przeciwko *C. perfringens* A, przygotowanej we własnym zakresie. Natomiast obecność czynnika ν wykazywano w pożywce DNAZE Agar zawierającej kwas dezoksyrybonukleinowy (Oxoid, Anglia) w koncentracji 0,2% (posiew linijny, inkubacja w anerostacie, rozkład polimeru DNA uwidoczniony 1 N HCl, wynik dodatni – zona rozjaśnienia dookoła wyrosłych kolonii).

b) ilościowe: mianowano pod tym względem toksynę α i ϑ, nadto κ oraz μ.

Toksynę α badano odczynem lecytowitelinowym LV określając liczbę jednostek zmętnieniowych (najwyższe miano = 1 jedn. zm.) w 1 ml płynu 12 godzinnej hodowli w pożywce VF (wynik dodatni: obecność warstwy tłuszczowej na powierzchni supernatantu). Natomiast jako hemolizynę oznaczono ją wg metodyki opisanej w pracy Cygana (4), ale w miejsce 0,05 M $CaCl_2$ stosowano izotoniczny bufor fosforanowy o pH 6,8, a aktywność lityczną wyrażano liczbą najmniejszych jednostek hemolitycznych zawartych w 1 ml hodowli (Dosis Haemolytica Minima – DHM/ml).

Toksynę κ (kolagenaza) określano ilością wytworzonych w 1 ml hodowli najmniejszych dawek trawiących kolagen A (Dosis Collagenasica Minima, DCM/ml) otrzymany metodą Nageotte-Guoyon (wg 4).

Toksynę μ (hialuronidaza) badano metodą ACRA (Acid Congo Red Alcohol) wg Oakleya i Warrack (18). Za jednostkę aktywności enzymatycznej przyjmowano najmniejszą zawartość czynnika μ powodującą utratę lepkości, tzw. 1 dawki wskazującej odpowiadającą wysokości miana (w odczynie stosowano 8 dawek wsk.).

Wyniki

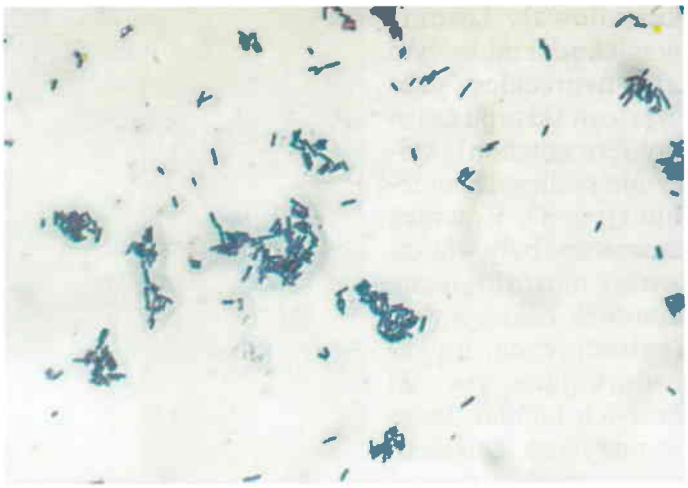
Wszystkie szczepy zidentyfikowano jako *C. perfringens*, bowiem typowe były ich właściwości fermentacyjne (glukoza, laktoza, sacharoza, maltoza +, a mannitol i salicyna –), nadto proteolityczne (nie rozpuszczały ściętej surowicy końskiej, ale na ogół upłynniały żelatynę). Poza tym w sposób charakterystyczny koagulowały kazeinę w mleku lakmusowym z wytworzeniem gąbczastego skrzepu (stromy fermentation), który nie podlegał trawieniu (ryc. 1). Również znamienne były właściwości morfologiczne komórek bakteryjnych (cylindryczne, niezarodnikujące, ryc. 2) oraz ich kolonii, które w pożywce Zeisslera prezentowały postać gładką S i szorstką R, nadto właściwą dla wzrostu toksynogennie defektywnego (hemoliza wyłącznie typu α).

Ryc. 1. Koagulacja przez *C. perfringens* kazeiny w mleku lakmusowym (widoczny gąbczasty skrzep)

Toksynogenność badanych izolatów, warunkującą ich właściwości inwazyjne, ilustruje tab. 1. Wszystkie szczepy przejawiały w pożywce Willisa-Hobbs aktywność lecytynazotwórczą (ryc. 3), swoiście neutralizowaną surowicą przeciwko *C. perfringens* A (ryc. 4). Co więcej, toksynę α (lecytynaza C, fosfolipaza C),

Tab. 1. Skład wytwarzanych toksyn przez szczepy *C. perfringens*

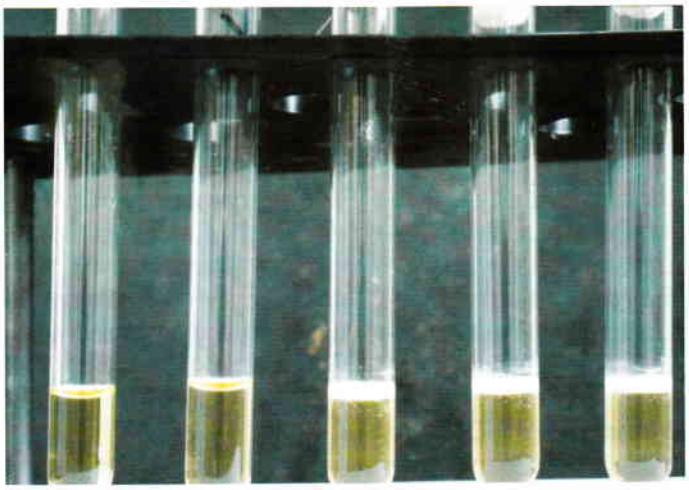
Pochodzenie szczepu	Nr szczepu	Toksyny główne i uboczne						Efekt lecytynazowy w pożywce Naglera		Zidentyfikowany wariant	
		α		ϑ	κ	μ	ν	obecny	swoiście neutralizowany	zgorzeli gazowej	defektywny
		lecytynaza C (jedn. zm./ml)	hemolizyna (DHM/ml)	(DHM/ml)	kolagenaza (DCM/ml)	hialuronidaza (jedn. hial./ml)	dezoksyrybonukleaza				
Gruczolakorak jelita grubego	1	400	400	20	2	1024	+	+	+	+	
	2	800	400	100	2	1024	+	+	+	+	
	3	800	1000	20	1	512	+	+	+	+	
	4	1000	1000	100	2	1024	+	+	+	+	
	5	200	400	100	2	1024	+	+	+	+	
	6	400	200	20	10	512	+	+	+	+	
	7	400	200	10	1	1024	+	+	+	+	
	8	200	200	20	2	250	+	+	+	+	
	9	20	20	–	–	–	–	+	+		+
Rak tarczycy	10	400	400	10	2	512	+	+	+	+	
	11	200	200	10	1	256	+	+	+	+	
	12	800	400	20	2	1024	+	+	+	+	
Wrzodziejące zapalenie okrężnicy	13	200	400	20	1	256	+	+	+	+	
	14	800	400	100	2	512	+	+	+	+	
Wole guzowate tarczycy	15	200	400	20	1	256	+	+	+	+	



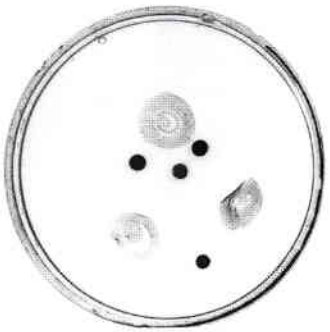
Ryc. 2. Morfologia komórek bakteryjnych *C. perfringens* (pow. 700 ×)

Ryc. 3. Efekt lecytynazowy w pożywce Willisa-Hobbs

Ryc. 4. Wytwarzanie lecytynazy w pożywce Naglera (strefa zmętnienia) i specyficzne hamowanie działania enzymu (brak zmętnienia dookoła kolonii)



Ryc. 5. Probówkowy test lecytynazowy LV (wynik dodatni: obecność warstwy tłuszczowej na powierzchni trzech próbek, obok kontrolne)



Ryc. 6. Odczyn ACRA: krople rozlane, mgiełkowate – obecność toksyny μ, krople zwarte – wynik ujemy

Ryc. 7. Wytwarzanie toksyny ν w pożywce DNAZE Agar (wynik dodatni: zona rozjaśnienia)

którą w dalszych badaniach mianowano odczynem lecytowitelinowym LV (ryc. 5), stwierdzono w ilości ≥ 200 jedn. zm./ml u 14 spośród 15 szczepów (wyjątkiem izolat nr 9 wyizolowany z gruczolakoraka jelita grubego, produkujący jedynie czynnik α, w dodatku w niskiej koncentracji). Wysoka aktywność toksynotwórcza charakteryzowała szczepy wyosobnione zarówno ze zmian kancerogennych, jak i nienowotworowych (wrzodziejące zapalenie okrężnicy, wole guzowate tarczycy). Dotyczyło to wszystkich analizowanych toksyn, tj. α i ϑ, nadto μ (ryc. 6) oraz ν (ryc. 7).

Omówienie wyników

Wszystkie badane szczepy, aczkolwiek zróżnicowane pod względem wyglądu kolonii, zachowały się w sposób ogólnie uznany za typowy dla *C. perfringens* (1, 4, 22, 23). Aktywność toksynogenna tych drobnoustrojów, niezależnie od źródeł ich pochodzenia, nie wykazywała istotnych różnic. Omawiane izolaty, z wyjątkiem jednego szczepu (wyosobniony z gruczolakoraka jelita grubego), wytwarzały główną toksynę α w koncentracji ≥ 200 jedn. zm./ml hodowli. Wiadomo, że taka zawartość jadu koreluje ze zgorzelotwórczym oddziaływaniem tych beztlenowców (4, 5). Co

więcej, analizowane w badaniach własnych laseczki *C. perfringens* produkowały jeszcze toksynę ϑ i κ, nadto μ oraz ν. Dlatego wszystkie te szczepy uznano za wariant zgorzeli gazowej, a tylko jeden – za izolat defektywny.

Stwierdzenie zgorzelotwórczych szczepów *C. perfringens* w zmianach nienowotworowych nie jest szczególnym zaskoczeniem, bowiem częstotliwość ich występowania wydaje się zdecydowanie niższa niż w nowotworach złośliwych (8,8% wobec 30,2%, wg 5). Poza tym, rola przyczynowa tych bakterii w klostridialnych powikłaniach choroby nowotworowej zależy od innych jeszcze – wciąż niedostatecznie poznanych – czynników patogenetycznych.

Niniejsze badania własne nie dowiodły obecności w zmianach rakowych laseczki *C. septicum*. Natomiast od pewnego czasu właśnie głównie z nią łączy się przypadki spontanicznej, nieurazowej zgorzeli gazowej w białaczkach i nowotworowych złośliwych (11, 12, 14, 28, 29). Zaskakujące, że drobnoustrój ten jest mało rozpowszechniony i wyjątkowo tylko wykazywany w składzie normalnej mikroflory jelitowej (12). Tę sprzeczność może wyjaśniać łatwość zarodnikowania *C. septicum* w organizmie i stosunkowo niższa niż u innych beztlenowców wrażliwość na zabójczy wpływ tlenu, a także potrzeba wielokrotnie mniejszej dawki wywołującej martwicę mięśni (26, 28).

Z kolei jako atrybuty *C. perfringens*, ważnego drobnoustroju występującego w komplikacjach choroby nowotworowej, a rozważanego w niniejszej pracy, wymienia się powszechną jego obecność w organizmie (1, 10) i szybkość namnażania (nowa generacja powstaje w ciągu zaledwie 8-10 min., wg 3), poza tym oporność na fagocytozę (obecność otoczki, wg 23), sporą tolerancję na O_2 (1), a co więcej – wytwarzanie wyjątkowo licznych, zabójczo oddziaływujących toksyn (1, 7, 10, 17, 23). Ich wieloraki dewastacyjny wpływ poprzedza namnożenie się drobnoustroju w niedotlenowanych obszarach głównie guzów litych (8, 15). W powodowanej destrukcji tkanek kluczową rolę odgrywa toksyna α, która niszcząc zrąb lecytynowo-sfingomielinowy komórek (20), powoduje ich martwicę nasilającą rozwój *C. perfringens*, co w konsekwencji umożliwia śródkomórkowe szerzenie się infekcji (*infectio intracellularis*). Efekt ten wzmacnia jeszcze leukocytobójcze i hemolityczne działanie tego jadu, nadto agregujące płytki krwi, doprowadzając do zalegania płynów w przestrzeniach pozanaczyniowych (następstwem obrzęki, wg 3). Zaburzona jednocześnie kurczliwość mięśnia sercowego wywołuje spadek ciśnienia tętniczego, wielonarządową niewydolność i septyczny wstrząs (2, 3, 27). W mechanizmie tym współuczestniczy jeszcze toksyna ϑ poprzez relaksację włókien mięśniowych naczyń krwionośnych, spowodowaną uwalnianiem prostacykliny (2) oraz bradykininy (26). Synergistyczne działanie jadów α i ϑ przejawia się także w wywoływaniu silnej, śródnaczyniowej hemolizy krwi obecnej w 15% przypadków beztlenowcowej martwicy mięśni (25). Poza tym, toksyna ϑ, stanowiąc czynnik letalny i cytolityczny, zakłóca przepływ krwi (dysfunkcja endothelium, leukostaza naczyniowa, wg 3, 6, 30) i stymuluje hipoksję (w następstwie wzmożona beztlenowa glikoza, obniżone Eh), a niszcząc leukocyty, głównie w miejscu zakażenia, zwiększa podatność na infekcję (3, 26).

Możliwości inwazyjne wyosobnionych szczepów *C. perfringens* warunkuje jeszcze ich aktywność w zakresie wytwarzanych toksyn κ, μ i ν. Komponent κ jest kolagenazą hydrolizującą kolagen w zainfekowanych tkankach (23). Stanowi on 25% wszystkich białek w organizmie, a jego rozkład powoduje „mazistość" zakażonych mięśni. Po wniknięciu do krwi faktor κ niszczy retikulinowe struktury naczyń krwionośnych, wywołując krwotoki, głównie płucne (23). Natomiast czynnik ν będący dezoksyrybonukleazą zwiększa leukocytobójczy wpływ toksyn α i ϑ, a faktor μ, depolimeryzując kwas hialuronowy niejako otwiera nowy, tym razem międzykomórkowy, szlak do rozprzestrzeniania się *C. perfringens* oraz wytwarzanych toksyn (*infectio intercellularis*). Zatem ten zintegrowany wpływ różnych jadów (21) współdecyduje o nadzwyczaj dynamicznym postępie czoła zgorzeli gazowej, sięgającym 10 cm/godz. (13), szybko doprowadzającym do śmierci chorego wśród toksycznego wstrząsu (3, 16).

Z powyższych rozważań, a także wcześniejszych danych własnych, nieopublikowanych (5), wynika, że obecność chorobotwórczych szczepów *C. perfringens* wcale jeszcze nie wskazuje na ich rolę etiologiczną. Niemniej jednak inwazyjność tych beztlenowców zasiedlających mikrośrodowiska anaerobowe w guzach złośliwych (15) to kluczowy, chociaż patogenetycznie bezwzględnie nie jedyny czynnik współdecydujący o rozwoju zgorzeli gazowej w chorobie nowotworowej. Zakażenia w tej formie powstają – co jest ewenementem – spontanicznie, w dodatku w nieuszkodzonych urazem miejscach organizmu, często odległych od zmian kancerogennych (8, 11, 14, 28, 29). Według dostępnych danych, przypuszczalnie niekompletnych (12, 14), dotychczas opisano kilkaset takich klostridialnych infekcji przebiegających z wysoką śmiertelnością sięgającą 80% (12). Ich wystąpienie łączy się najczęściej z immunosupresją (białaczka, AIDS, cykliczna neutropenia, chemio/radioterapia, wg 19, 26, 28) współistniejącą z szeregiem innych zaburzeń stymulujących namnażanie się toksynogennego drobnoustroju (enteropatia w cukrzycy, nowotworowa niedrożność jelita grubego, owrzodzenia egzofitycznych guzów, uchyłkowatość okrężnicy, wg 5, 25).

Podsumowanie

Badane pod względem toksynogenności szczepy *C. perfringens*, niezależnie od źródeł ich pochodzenia (nowotwory złośliwe, zmiany nienowotworowe), cechowała wysoka aktywność toksynotwórcza w zakresie wytwarzania czynników α, ϑ, κ, μ i ν. Zatem speł-

niały one, niemal bez wyjątku, kryterium zaliczenia ich do wariantu zgorzeli gazowej. Samo jednak stwierdzenie takich drobnoustrojów, nawet w guzach złośliwych, świadczy jedynie o spełnieniu jednego z wielu tylko, za to kluczowego warunku – niezbędnego dla rozwoju infekcji klostridialnej. W takim kontekście przedyskutowano synergizm w działaniu poszczególnych toksyn, także rolę czynników zapoczątkowujących namnażanie inwazyjnych beztlenowców *C. perfringens*, nagle pojawiające się w nieprzewidywalnych miejscach organizmu i nadzwyczaj groźnie wikłające przebieg choroby nowotworowej.

Piśmiennictwo

1. *Allen S. D., Emery C. L., Siders J. A.*: Clostridium, [w:] Manual of Clinical Microbiology, Murray P. R., Baron E. J., Pfaller M. A., Trenover F. C., Yolken R. H. (red.), ASM Press, Washington 1999.
2. *Asmuth D. A., Olson R. D., Hackett S., Bryant A. E., Tweten R. K., Tso J. Y., Zollman T., Stevens D. L.*: Effects of Clostridium perfringens recombinant and crude phospholipase C and theta toxins on rabbit hemodynamic parameters. J. Infect. Dis. 1995, 172, 1317-1323.
3. *Bryant A. E., Stevens D. L.*: The pathogenesis of gas gangrene, [w:] The Clostridia – molecular biology and pathogenesis. Rood J. I., McClane B. A., Songer J. G., Titball R. W. (wyd.), Acad. Press, London-New York-Sydney-Tokyo-Toronto 1997.
4. *Cygan Z.*: Clostridia w narządach zwierząt zdrowych i padłych. Praca doktorska, WSR Lublin 1967.
5. *Cygan W. Z.*: Zmiany nowotworowe, zapalne i rozrostowo-zwyrodnieniowe jelita grubego oraz tarczycy a występowanie w nich beztlenowców Clostridium. Praca doktorska, Akademia Medyczna, Lublin 2001.
6. *Ellemor D. M., Baird R. N., Avad M. M., Boyd R. J., Rood J. I., Emmins J. J.*: Use of genetically manipulated strains of Clostridium perfringens reveales that both alpha-toxin and theta-toxin are required for vascular leukostasis to occur in experimental gas gangrene. Infect Immun. 1999, 67, 4902-4907.
7. *Finegold S. M.*: Anaerobic infections in humans. An overview. Anaerobe 1995, 1, 3-9.
8. *Furste W., Dolor M. C., Rothstein L. B., Vest G. R.*: Carcinoma of the large intestine and nontraumatic, metastatic, clostridial myonecrosis. Dis. Colon Rect. 1986, 29, 899-904.
9. *Hatheway C. L.*: Toxigenic Clostridia. Clin. Microbiol. Rev. 1990, 3, 66-98.
10. *Hatheway C. L., Johnson E. A.*: Clostridium: the spore-bearing anaerobes, [w:] Topley and Wilson's Microbiology and Microbial Infection, Callier L., Bahows A., Sussman M. (red.), vol. II, Systematic Bacteriology, London-Sydney-Auckland 1998.
11. *Kaiser G. W., Milgrom M. L., Lynch J. A.*: Distant nontraumatic clostridial myonecrosis and malignancy. Cancer 1986, 57, 885-889.
12. *Kornbluth A. A., Danzing J. B., Bernstein L. H.*: Clostridium septicum and associated malignancy. Medicine 1989, 68, 30-37.
13. *Kozianka J., Kozuschek W., Edelmann M.*: Der Gasbrand – eine „wenig bekannte" Infektion mit hoher Mortalität. Therapiewoche 1987, 37, 4271-4292.
14. *Kudsk K. A.*: Occult gastrointestinal malignancies producing metastatic Clostridium septicum infections in diabetic patients. Surgery 1992, 12, 765-772.
15. *Lambin P., Theys J., Landuyt W., Rijken P., v.d. Kogel A.*: Colonisation of Clostridium in the body is restricted to hypoxic and necrotic areas of tumours. Anaerobe 1998, 4, 183-188.
16. *Lorber B.*: Gas gangrene and other Clostridium – associated diseases, [w:] Principles and practice of infections diseases, Mandell G. L., Bennett J. E., Dolin R. (wyd.), Churchill Livingstone, Philadelphia, London, Toronto, Montreal, Sydney, Tokyo, Edinburgh 2000.
17. *McDonel J. L.*: Toxins of Clostridium perfringens (types A, B, C, D and E): Pharmacol. Therapy 1980, 10, 617-635.
18. *Oakley C. L., Warrack G. H.*: The ACRA test means of estimating hyaluronidaze, deoxyribonuclease and their antibodies. J. Pathol. Bact. 1951, 63, 45-57.
19. *O'Byrne K. J., Dalgeish A. G., Browning M. J., Steward W. P., Harris A. L.*: The relationship between angiogenesis and the immune response in carcinogenesis and the progression of malignant disease. Europ. J. Cancer 2000, 36, 151-169.
20. *Roggentin P., Schauer R.*: Clostridial sialidases, [w:] The Clostridia – molecular biology and pathogenesis. Rood J. I., McClane B. A., Songer J. G., Titball R. W. (wyd.), Acad. Press, London-New York-Sydney-Tokyo-Toronto 1997.
21. *Schmizu T., Okabe A., Rood J. I.*: Regulation of toxin production in Clostridium perfringens, [w:] The Clostridia – molecular biology and pathogenesis. Rood J. I., McClane B. A., Songer J. G., Titball R. W. (wyd.), Acad. Press, London-New York-Sydney-Tokyo-Toronto 1997.
22. *Smith L. DS.*: The pathogenic anaerobic bacteria. Thomas C. C. (wyd.), USA 1975.
23. *Smith L. DS.*: Virulence factors of Clostridium perfringens. Rev. Infect. Dis. 1979, 1, 254-260.
24. *Songer J. G.*: Clostridial enteric diseases of domestic animals. Clin. Microbiol. Rev. 1996, 9, 216-234.
25. *Spengler U., Stellaard F., Ruckdeschel G., Scheurlen C., Kruis W.*: Small intestinal transit, bacterial growth, and bowel habits in diabetes mellitus. Pancreas 1989, 4, 64-70.
26. *Stevens D. L.*: Necrotizing clostridial soft tissue infections, [w:] The Clostridia – molecular biology and pathogenesis. Rood J. I., McClane B. A., Songer J. G., Titball R. W. (wyd.), Acad. Press, London-New York-Sydney-Tokyo-Toronto 1997.
27. *Stevens D. L., Bryant A. E.*: Pathogenesis of Clostridium perfringens infection: mechanisms and mediators of shock. Clin. Infect. Dis. 1997, 25 (supl. 2), 60-64.
28. *Stevens D. L., Musher D. M., Watson D. A.*: Spontaneous, nontraumatic gangrene due to C. septicum. Rev. Infect. Dis. 1990, 12, 286-296.
29. *Valentine E. G.*: Nontraumatic gas gangrene. Ann. Emerg. Med. 1997, 30, 109-111.
30. *Wierusz-Wysocka B., Zozulińska D.*: Wybrane mechanizmy patogenetyczne przewlekłych powikłań cukrzycy. Diabetologia Pol. 2000, 7, 193-197.

Adres autora: dr n. med. Wiesław Cygan, ul. Ułanów 29/43, 20-554 Lublin

STAN ZAKAŹNYCH CHORÓB ZWIERZĄT W POLSCE

według danych Głównego Inspektoratu Weterynarii w kwietniu 2005 r.*)

1. **Wścieklizna zwierząt dzikich** – wystąpiła w 4 województwach: opolskim (1-1), podkarpackim (1-3), warmińsko-mazurskim (3-3) i wielkopolskim (1-3). Zanotowano ją u 11 lisów.
2. **Wścieklizna zwierząt domowych** – wystąpiła w województwie warmińsko-mazurskim (1-2). Zanotowano ją u 1 psa i 1 kota.
3. **BSE** – stwierdzono w 2 województwach: dolnośląskim (1-1) i podlaskim (1-1).
4. **Zgnilec amerykański pszczół** – wystąpił w 4 województwach: dolnośląskim (1-1), lubelskim (1-1), małopolskim (1-2) i zachodniopomorskim (1-1).

*) W nawiasach podano liczbę powiatów i miejscowości, w których choroba została stwierdzona w okresie sprawozdawczym.