

31. Mehnert B.: Tierärztl. Umsch. 13, 343, 1958.  
 32. Mehnert B. i wsp.: Zbl. Vet. Med. 11A, 97, 1964.  
 33. Menna M. Di.: J. Gen. Microbiol. 12, 54, 1955.  
 34. Munch-Peterson E.: Zbl. Bakt. I Orig. 189, 234, 1963.  
 35. Nejczeb S.: Ref. zurnal 15, 455, 1961.  
 36. Okabe Y.: Zbl. Bakt. I Orig. 111, 187, 1929.  
 37. Prophet K.: Vet. Bull. 35, 207, 1965.  
 38. Roth F.: Mycopath. Mycol. Appl. 14, 235, 1961.  
 39. Ruchadze E.: Zurnal mikr. epid. immunobiol. 7, 135, 1960.  
 40. Saez H.: Rec. Med. Vet. 135, 629, 1959.  
 41. Schwebel S.: Arch. Derm. Syph. (Chicago) 72, 476, 1955.  
 42. Scuro L. i wsp.: Ref. zurnal 5, 494, 1961.  
 43. Soroczyńska J., Wachowska M.: Streszczenie prac XV zjazdu PTM, 127, 1963.  
 44. Stenberg H., Turunen A.: Nordisk Vet. Med. 17, 31, 1965.  
 45. Uden N. Van i wsp.: J. Gen. Microb. 15, 151, 1956.  
 46. Uden N. Van, Do Corno Sousa L., Farinha M.: J. Gen. Microb. 19, 435, 1958.  
 47. Uden N. Van, Do Corno Sousa L.: J. Gen. Microb. 27, 35, 1962.  
 48. Wawrzkieviczowa K., Pietrzyk J.: Zwierzęta laboratoryjne IV, 85, 1966.  
 49. Wilson J.: Archs. Derm. 85, 254, 1962.  
 50. Woods J., Manning S., Patterson W.: J. Am. Med. Assoc. 145, 207, 1951.

Adres autorki: dr Krystyna Wawrzkievicz, Lublin, ul. Akademicka 11.

STANISŁAW WOŁOŻYŃ

## Badania nad właściwościami i budową antygenową *Histoplasma farciminosum* (*Cryptococcus farciminosus* — Rivolta) Cz. III. Analiza spektrofotometryczna i chromatograficzna

Katedra Epizootiologii Wydziału Weterynarii WSR w Lublinie  
Kierownik: prof. dr S. KRAUSS

Celem pracy było przeprowadzenie analizy spektrofotometrycznej w podczerwieni grzybni *Histoplasma farciminosum* oraz dla porównania innych grzybów chorobotwórczych. Postanowiono również określić skład wielocukrów i aminokwasów grzybni *Hist. farciminosum* oraz *Hist. capsulatum* metodą chromatografii bibułowej. Prace z tego zakresu w piśmiennictwie mikologicznym są stosunkowo nieliczne (3, 4, 6, 7, 11, 13, 14, 16), a odnośnie *Hist. farciminosum* brak jest w ogóle jakichkolwiek danych na ten temat (1, 2, 15). W związku z tym, podjęcie tego rodzaju badań wydało się uzasadnione, tak ze względów poznawczych jak i praktycznych.

### ANALIZA ABSORPCYJNA W PODCZERWIENI

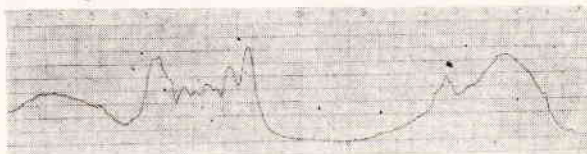
#### Materiał i metody

Zbadano 8 szczepów *Hist. farciminosum* (nr nr: 1, 3, 5, 91-IP, 94-IP, 96-IP, V-4033, V-4788), 2 szczepy *Hist. capsulatum* (Rv 11928, Rv 14665) oraz *Crypt. neoformans* (3078), *Crypt. terreus* (A 933), *Cand. albicans* (2293), *Trich. mentagrophytes* (3970) i *Trich. verrucosum* (21/65). Pochodzenie szczepów podano w części drugiej pracy (17). Wymienione grzyby namnażano na podłożach płynnych RTN (17) i Salvi-na-Hotila (12). Z odwodnionej acetonem i wysuszonej w próżni grzybni przygotowano tabletki, przy czym każdorazowo brano po 2 mg substancji badanej i 300 mg KBr. Oznaczenia wykonano w spektrofotometrze f-my C. Zeiss Jena, model UR-10 i powtórzono je dla każdego szczepu trzykrotnie.

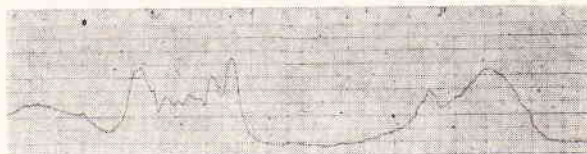
#### Wyniki

Wyniki przedstawiono na spektrogramach (fot. 1—6). Antygeny pełne postaci micelialnych (M) i drożdżowych (Y) *Hist. farciminosum* wykazały identyczny kontur widma w zakresie częstości  $\nu=4000-400\text{ cm}^{-1}$ . Jak widać na fot. 1 i 2 dla *Hist. farciminosum* stwierdzono:

1. Intensywne pasmo od  $3600-3000\text{ cm}^{-1}$  typowe dla wiązań wodorowych grup hydroksylowych i aminowych,
2. Ostre pasmo w zakresie  $3000-2800\text{ cm}^{-1}$ , typowe dla alifatycznych węglowodorów,



Fot. 1. Spektrogram postaci drożdżowej (Y) *Hist. farciminosum*



Fot. 2. Spektrogram postaci micelialnej (M) *Hist. farciminosum*

3. Pasma w zakresie  $1680-1660\text{ cm}^{-1}$ , typowe dla grup karbonylowych typu amidowego i deformacyjnych drgań grup NH,
4. Ponadto ekstrema absorpcji w pasmach:  $1560\text{ cm}^{-1}$  (wiązania amidowe II rzędu);  $1450, 1420-1380, 1320\text{ cm}^{-1}$  (grupy  $\text{CH}_2$  deformac.),  $1250, 1090-1040\text{ cm}^{-1}$  które mogą być przypisane drganiom deformacyjnym węgiel-tlen (grupy hydroksylowe, wiązania estrowe).

Antygeny pełne *Hist. capsulatum* (fot. 3) wykazały bardzo zbliżony kontur widma ze zwiększoną intensywnością w zakresie  $1680-1520\text{ cm}^{-1}$ .

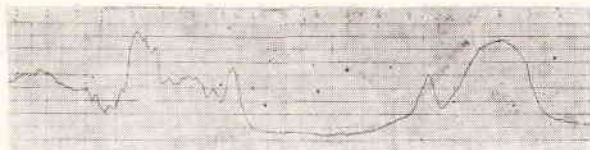


Fot. 3. Spektrogram postaci drożdżowej (Y) *Hist. capsulatum*

Antygeny pełne *Crypt. neoformans* i *Crypt. terreus* dały identyczny zarys widma (fot. 4). W porównaniu z *Hist. farciminosum* i *Hist. capsulatum* stwierdzono zwiększoną intensywność przy  $1160$  i  $1030\text{ cm}^{-1}$  i trzy dodatkowe

pasma absorpcji przy liczbach falowych 930, 860 i 770  $\text{cm}^{-1}$ , a więc w zakresie od 1000 do 700  $\text{cm}^{-1}$  typowym dla drgań CH.

Zarys widma *Cand. albicans* (fot. 5) był zbliżony do widma grzybów rodzaju *Cryptococcus* z tym, że widoczne jest dodatkowe ostre pasmo przy 1760  $\text{cm}^{-1}$ . W paśmie tym, typowym dla podwójnych wiązań karbonylowych, widać maksimum wolnej grupy karbonylowej, którego brak przy *Hist. farciminosum*. Ponadto w odróżnieniu od spektrogramu *Cryptococcus* spostrzegano w zakresie od 1000 do 700  $\text{cm}^{-1}$  tylko jedno ostre pasmo przy 820  $\text{cm}^{-1}$ . *Trich. mentagrophytes* i *Trich. verrucosum* (fot. 6) wykazały identyczne zarysy widma, a w porównaniu z *Hist. farciminosum* stwierdzono dwa ostre pasma od 3000—2800  $\text{cm}^{-1}$  i dodatkowe pasmo przy liczbie falowej 1760  $\text{cm}^{-1}$ .



Fot. 4. Spektrogram *Cryptococcus neoformans*



Fot. 5. Spektrogram *Candida albicans*



Fot. 6. Spektrogram *Trichophyton verrucosum*

### Omówienie wyników

Spektrofotometrię absorpcyjną w podczerwieni stosowano tak do identyfikacji bakterii jak i do badania frakcji antygenowych i różnych wyciągów bakteryjnych. Riddle i wsp. (10) przebadali tą metodą 650 szczepów 33 rodzajów bakterii i stwierdzili że poszczególne rodzaje, gatunki, a niekiedy nawet typy, posiadają charakterystyczne widma absorpcji.

Na tej podstawie autorzy ci ułożyli katalog widm, typowych dla badanych rodzajów i proponują użycie go do szybkiej diagnostyki bakteriologicznej. Metoda ta nie znalazła jeszcze pełnego potwierdzenia i szerszego zastosowania ale spotkała się z żywym zainteresowaniem. Bardzo istotnym momentem przy tego rodzaju oznaczeniach jest ściśle ujednoczenie sposobu hodowli i przygotowania próbek. O'Connor i wsp. (8) wykazali, że ekstrakty acetonowe przygotowane w sposób standardowy, zachowują widma charakterystyczne dla

bakterii z których są przygotowane, a uzyskane wyniki są powtarzalne.

Analiza w podczerwieni wzbudziła również zainteresowanie mikologów. Levine i wsp. (7) stwierdzili, że frakcje wielocukrowe poszczególnych gatunków *Cryptococcus* dają podobne widma różniące się jedynie intensywnością. Spektrogramy drożdżaków oznaczył Simons (14), a niektórych dermatofitów Carwley i wsp. (3).

Antygeny pełne badanych szczepów *Hist. farciminosum* dały identyczne spektrogramy niezależnie od postaci wzrostowej i podłoża użytego do namnożenia grzybnii. Wyniki te były powtarzalne. Z pozostałych, najbardziej zbliżony był zarys spektrogramu *Hist. capsulatum*, natomiast wyraźne i łatwo uchwytnie różnice obserwowano u grzybów z rodzaju *Cryptococcus*, *Candida* i *Trichophyton*. Wskazuje to na celowość badań w tym kierunku. Ewentualna ocena przydatności tej metody dla identyfikacji grzybów, wymaga przebadania większej ilości szczepów pokrewnych gatunków i rodzajów. Zaletą tej metody jest możliwość szybkiego wykonania oznaczeń na małej ilości materiału (kilka mg) co w bakteriologii czy mikologii jest sprawą bardzo istotną. Spektrogramy stanowią obiektywną i wygodną formę dokumentacji. Obserwowana powtarzalność wyników wskazuje na możliwość stosowania tej metody dla szybkiej kontroli przygotowanych antygenów, co zwłaszcza dla badań nad strukturą antygenową ma bardzo istotne znaczenie.

### CHROMATOGRAFICZNA ANALIZA WIELOCUKRÓW

#### Materiał i metody

Do badań użyto grzybnie postaci Y i M trzech losowo wybranych szczepów *Hist. farciminosum* (nr nr: 5, 94-IP, 402) namnożonych na podłożu RTN i Salvina-Hottla (SH) oraz frakcje wielocukrowe (WW i Ck) tych samych szczepów, przygotowane do odczynów serologicznych. Ponadto poddano analizie grzybnie postaci Y *Hist. capsulatum* (Rv 14665). Oznaczenia powtórzone dwukrotnie dla tych samych szczepów namnożonych na innych seriach podłoży. 20 mg suchej masy grzybnii zalewano 1 ml 1/N  $\text{H}_2\text{SO}_4$  i hydrolizowano w łaźni wodnej w 100° przez 12 godzin. Po ochłodzeniu hydrolizat filtrowano, zobojętniano wodorotlenkiem baru do pH 4,5 i oddzielano osad przez wirowanie.

Chromatografię wykonywano w układzie opracowanym przez Yermyn-Isherwooda (5) na bibule Whatman 4.

Poszczególne cukry identyfikowano przez porównanie ich współczynników rozdzielu (RF) z 0,5% roztworem wzorcowych cukrów nanoszonych na bibulę jednocześnie z badanymi próbkami.

### Wyniki

Wyniki chromatografii przedstawia tab. 1 oraz fot. 7 i 8.

Jak wiwać z tab. 1, fot. 7 i 8 analiza chromatograficzna grzybnii postaci Y i M *Hist. farciminosum*, namnożonej na podłożu RTN, wykazała w kolejności od linii startu obecność

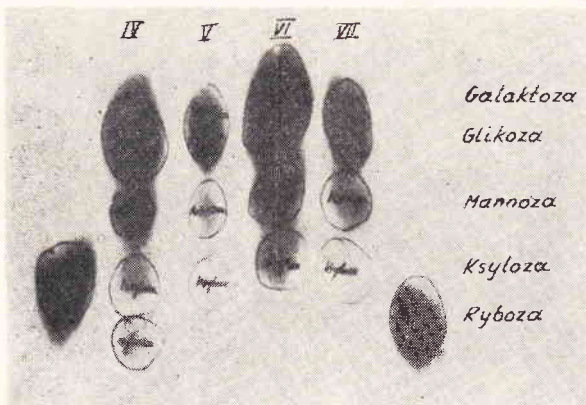
Tab. 1. Wyniki chromatografii wielocukrów *Hist. farciminosum*, *Hist. capsulatum* oraz frakcji antygenowych WW i Ck.

Szczep	Rodzaj cukrowców				
	galaktoza	glikoza	mannoza	ksyloza	ryboza
<i>Hist. farc.</i> Y i M (namn. na RTN)	+	+	+	+	(+)
<i>Hist. farc.</i> Y i M (namn. na SH)	+	+	+	+	
<i>Hist. caps.</i> Y (namn. na SH)	+	+	+	+	
Antygeny WW i Ck. <i>Hist. farc.</i>	+	+	+	+	

( ) oznacza nieregularne występowanie



Fot. 7. Chromatogram wielocukrów I — postać Y *Hist. farciminosum* (RTN), II — postać Y *Hist. farciminosum* (SH), III — postać M *Hist. farciminosum* (SH)



Fot. 8. Chromatogram wielocukrów IV — postać M *Hist. farciminosum* (RTN), V — antygen WW *Hist. farciminosum* (RTN), VI — postać M *Hist. capsulatum* (SH), VII — antygen Ck *Hist. farciminosum* (SH)

5 cukrowców, a mianowicie: galaktozę, glikozę, mannozę, ksylozę i rybozę. Ten ostatni występował jednak nieregularnie, gdyż na ogólną ilość 12 badanych próbek stwierdzono jego obecność 9 razy, w tym u 2 szczepów postaci Y i 1 szczepu postaci M dwukrotnie, a u pozostałych jednorazowo. W grzybni tych samych szczepów *Hist. farciminosum* oraz *Hist. capsulatum*, namnożonych na podłożu Salvina-Hottla stwierdzono w obydwu powtórzeniach galaktozę, glikozę, mannozę i ksylozę. Podobne wyniki dała analiza chromatograficzna naj-

bardziej aktywnych i swoistych frakcji wielocukrowych WW i Ck *Hist. farciminosum*, pomimo że w dwóch przypadkach grzybnia wyjściowa, z której przygotowano te antygeny, zawierała również rybozę. Przy porównywaniu poszczególnych próbek spostrzegano niejednakową intensywność plam, szczególnie w odniesieniu do mannozy i ksylozy, które dla postaci micelialnych były wyraźnie słabsze, co wskazuje na pewne różnice ilościowe. Najintensywniej barwiły się plamy glikozy i galaktozy, chociaż rozdział ich był słaby.

#### Omówienie wyników

Przeprowadzone oznaczenia wykazały, że grzybnia *Hist. farciminosum* namnożona na podłożu syntetycznym Salvina-Hottla zawierała zawsze te same cukrowce, niezależnie od postaci wzrostowej. W grzybni z podłoża RTN, w skład którego oprócz określonych chemicznie komponentów wchodziła surowica cieleca, notowano dodatkowo nieregularne występowanie rybozy, co najprawdopodobniej związane było z różną ilością kwasów nukleinowych w badanych próbkach. Wskazuje to na możliwości występowania różnic w składzie chemicznym cukrowców *Hist. farciminosum*, zależnie od składu podłoża użytego do namnażania grzybni. Droughet i Segretain (4) stosując tę samą metodę chromatografii stwierdzili w grzybni *Crypt. neoformans* kwas glukoronowy, mannozę i ksylozę, zaś inni badacze (cyt. wg 12) również galaktozę.

Stachow i Rzucidło (16) badając składniki cukrowce grzybni i konidii 7 szczepów *Scopulariopsis brevicallus*, wyizolowanych z przypadków akauliozy paznokci wykazali we wszystkich te same cukrowce. W grzybni badacze ci stwierdzili galaktozę, glikozę, mannozę, ksylozę, rybozę i ramnozę, a w konidiach te same cukrowce prócz ksylozy przy czym, podobnie jak u *Hist. farciminosum*, najbardziej obficie występowała galaktoza, glikoza i mannoza. Wymienione cukrowce, a szczególnie glikozę i mannozę w zestawieniach z innymi, znajdowano również u grzybów innych rodzajów np. *Candida*, *Torulopsis*, *Trichophyton* i *Saccharomyces* (Seeliger — 12, 13).

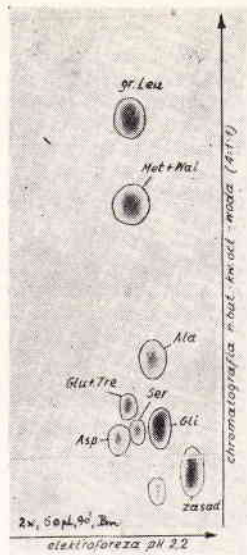
Nieznacne różnice w składzie chemicznym pozwalają przyjąć, że próbki grzybni *Hist. farciminosum* i *Hist. capsulatum* miały podobny zestaw cukrowców. Dla badań nad strukturą antygenową *Hist. farciminosum* istotny był fakt, że najbardziej swoiste frakcje antygenowe zawierały te same cukrowce, niezależnie od tego z jakiej grzybni je uzyskano.

#### ANALIZA CHROMATOGRAFICZNA AMINOKWASÓW

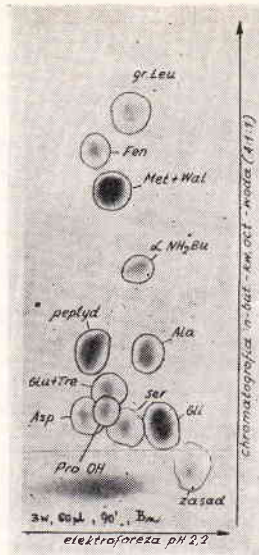
##### Materiał i metody

Do badań użyto grzybnię w postaci Y i M dwóch szczepów *Hist. farciminosum* (5, 94-IP) oraz 1 szczepu *Hist. capsulatum* (Rv-14664) namnożonych na podłożach RTN i Salvina-Hottla. Przygotowanie wyciągów. Suchą masę grzybni ekstrahowano kolejno





Fot. 11



Fot. 12

Fot. 11. Elektrochromatogram, — 2 w — aminokwasy wolne, postać M Hist. farc.

Fot. 12. Elektrochromatogram, — 3 w — aminokwasy wolne, postać Y Hist. caps.

matogramie aminokwasów wolnych (fot. 12) tuż ponad plamą kwasu glutaminowego i treoniny była najprawdopodobniej jakimś peptydem (intensywne wybarwienie ninhydryną). U *Hist. capsulatum* utożsamiono wszystkie te same co u *Hist. farciminosum* aminokwasy, a ponadto tryptofan, kwas  $\alpha$ -aminomasłowy, hydroksyprolinę oraz jako prawdopodobne kwas  $\beta$ -aminomasłowy i asparaginę (tab. 2). Te dwa ostatnie oraz tryptofan pojawiły się dopiero po hydrolizie (fot. 14). Kwas  $\alpha$ -aminomasłowy i hydroksyprolina wystąpiły jedynie w elektrochromatogramie aminokwasów wolnych (fot. 12). Zanikanie ich po hydrolizie tłu-

maczyć można różnicą stężeń pomiędzy wyciągami. Optymalne stężenie ustalone dla dobrego rozdzielenia aminokwasów związanych a również ilość nakropionego materiału były 12-krotnie niższe niż dla aminokwasów wolnych. Prawdopodobnie w tym stężeniu były te dwa aminokwasy niewykrywalne. Nie można również wykluczyć, że zostały one zniszczone w procesie hydrolizy.

Omówienie wyników

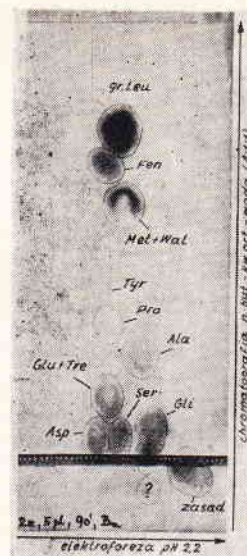
Prace dotyczące składu aminokwasowego grzybów chorobotwórczych są stosunkowo nieliczne. Uzman i wsp. (cyt. wg 13) stwierdzili u *Crypt. neoformans* 16 aminokwasów, przy czym brak było różnic jakościowych i ilościowych pomiędzy szczepami otoczkowymi a bezotoczkowymi. U *Aspergillus usarii*, Kotow i wsp. (6) wykryli 17 aminokwasów z tym, że notowano wyraźne różnice ilościowe, zależnie od wieku hodowli. Sarbhoy (11) badał wielocukry i aminokwasy grzybów rzędu *Mucorales* i doszedł do wniosku, że oznaczenie składu aminokwasów może być przydatne w różnicowaniu poszczególnych rodzajów, a nawet odmian.

U badanych szczepów *Hist. farciminosum* niezależnie od ich postaci wzrostowej wykazano 15 aminokwasów, natomiast u postaci drożdżowej *Hist. capsulatum* 20, w tym 18 utożsamionych ściśle i 2 jako prawdopodobne. Uzyskane wyniki są porównywalne, gdyż użyte podłoża, wiek hodowli i metody doświadczenia były identyczne. Trudno jest oczywiście ocenić czy ten bogatszy skład aminokwasowy *Hist. capsulatum* ma jakiś związek z jego właściwościami biologicznymi. Warto jedynie wspomnieć, że frakcje proteiny (N) *Hist. capsulatum* były w odczynie immunoelektroforezy z homologiczną surowicą bardziej aktywne niż te same frakcje *Hist. farciminosum*. Poza tym *Hist. capsulatum* posiadał znacznie silniejsze właściwości immunogenne.

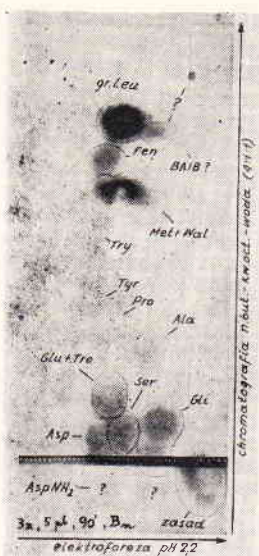
Mimo niewątpliwych walorów jakie metoda ta posiada dla poznania składu chemicznego grzybów, nie można przeceniać jej przydatności dla różnicowania gatunków, jak to czyni Sarbhoy (11). Wprawdzie skład aminokwasów jest uwarunkowany genetycznie, ale pełny ich zestaw w mikroorganizmach zapewniają tylko optymalnie dobrane podłoża. Poza tym zachodzić mogą pewne straty w procesie hydrolizy, jak to obserwowano u *Hist. capsulatum*. Spostrzeżenie to wskazuje na celowość jednoczesnego analizowania prócz aminokwasów związanych (6, 11) również aminokwasów wolnych, gdyż pozwala to na poznanie bardziej pełnego ich składu w danym mikroorganizmie.

Piśmiennictwo

1. Ainsworth G. C., Austwick P. C. K.: Fungal Diseases of Animals. C.A.B., Norwick — England, Ch. 4, 22—26, 1959.
2. Bullen J. J.: Jour. R. Army Vet. Cps., 21, 158, 1950 i 22, 8, 1951.
3. Carwley E. P. i wsp.: Jour. Investig. Dermatol., 22, 273, 1954.



Fot. 13



Fot. 14

Fot. 13. Elektrochromatogram, — 2 z — aminokwasy związane, postać M Hist. farciminosum

Fot. 14. Elektrochromatogram, — 3 z — aminokwasy związane, postać Y Hist. capsulatum

4. Drouhet E., Segretain G.: Ann. Inst. Pasteur, 79, 891, 1950.
5. Jermyn M. A., Isherwood F. A.: Biochem. Jour. 44, 402, 1949.
6. Kotow W. B., Konowatow S. A., Owczarow A. K.: Mikrobiologia 24, 6, 952, 1965.
7. Levine S., Ewans E. E., Kabler P. W.: Jour. Inf. Dis. 104, 269, 1959.
8. O'Connor R. T., Mc Call E. R., Dupre E. F.: Jour. Bact. 73, 303, 1957.
9. Opieńska-Blauth J., Tomaszewski L.: Metody chromatograficzne w badaniach aminokwasów ze szczególnym uwzględnieniem aminoacyduril. PZWL, W-wa, 1966.
10. Riddle J. W. i wsp.: Jour. Bact. 72, 593, 1956.
11. Sarbhoy A. K.: Mycopath. et Mycol. Appl. 19, 1, 37, 1963.
12. Seeliger H. P. R.: Immunobiologisch-serologische Nachweisverfahren bei Pilzkrankungen, str. 605-718 podrecznika pt.: Die Pilzkrankheiten der Haut durch Hefen, Schimmel, Aktinomyeten und verwandte Erreger. Springer Verlag, Berlin, 1963.
13. Seeliger H. P. R.: Ergebn. Mikrobiol. Immun. Forsch. exp. Ther. B, 32, 23, 1959.
14. Simons S., Hedrick L. R.: Jour. Bact. 69, 4, 8, 1955.
15. Spiesiewicz N. A.: Mikrozy i mikotoksikozy ziwotnych. Moskwa, 79-100, 1964.
16. Stachow A., Rzucidlo L.: Med. Dośw. i Mikr. 14, 3, 253, 1962.
17. Wołoszyn S.: Medycyna Wet., 24, 3, 1968.

Adres autora: dr Stanisław Wołoszyn, Lublin, ul. Akademicka 11.

### Волошин С. — Свойства и антигенная структура *Histoplasma farciminosum*. III. Спектрофотометрический и хроматографический анализ.

Установили методом спектрофотометрического анализа в инфракрасном изучении характеристические спектрограммы для исследованных штаммов родов *Histoplasma*, *Candida* и *Trichophyton* в диапазоне от 4000 до 400 см<sup>-1</sup>, что показывает на возможность использования этого метода для контроля грибковых антигенов предназначенных для серологических исследований. Мицелий обеих форм роста (Y, M) *Hist. farciminosum* имел одинаковый состав полисахаридов и аминокислот. Мицелий размноженный на среде по Salvin-Hottl содержал галактозу, глюкозу, маннозу и ксилозу; в разведке на среде RTN наблюдали иногда также рибозу.

Методом хроматографии установили в грибнице форм Y и M *Hist. farciminosum* 15 аминокислот (gr Leu, Fen, Met+Wal, Tyr, Pro, Ala, Glu+Tre, Gli, Ser, Asp, Hist, Arg+Liz). В мицелии *Hist. capsulatum* (формы Y) кроме вышеназванных 15 аминокислот нашли еще 5 (Try, —NH<sub>2</sub>, Bu, Pro—OH и вероятно BAIB и Asp NH<sub>2</sub>). Описанные результаты показывают на возможность применения в.н. метода в качестве вспомогательного для дифференциации обоих видов.

### Wołoszyn S. — The investigations on the nature and antigenic structure of *Histoplasma farciminosum*. Part III. The spectrophotometric and chroma + ographic analysis.

The spectrophotometric analysis in infra-red showed the characteristic spectrogrammes for the investigated fungi of the genus of *Histoplasma*, *Cryptococcus*, *Candida* and *Trichophyton* within the limits of 4000 — 400 cm<sup>-1</sup>. This fact shows the possibility of using this method in the control of mycotic antigens destined for the serological investigations. The mycelium of both of the increasing forms (Y, M) *Hist. farciminosum* had the same polysaccharides and amino acids. The mycelium multiplied on the culture medium of Salvin — Hottl contained galactose, glucose, mannose, xylose and in the mycelium of the RTN culture medium also the irregular occurrence of ribose was noted. 15 amino acids were indentified in the mycelium of Y and M from of *Hist. farciminosum* by the chromatographic method namely gr-Leu, PhAl, Meth + Wal, Tyro, Pro, Ala, Glu + Threo, Gly, Str, Asp, Hist, Arg + Lys.

In the *Hist. capsulatum* (Y form) mycelium 5 more amino acids were noted (Tryp, —NH<sub>2</sub>, Bu, HO-Pro and perhaps BAIB and Asp NH<sub>2</sub>). These results show the probable possibility of using this method as a help in differentiation of these two kinds of *Histoplasma*.

STANISŁAW WOŁOSZYN

## Badania nad właściwościami i budową antygenową *Histoplasma farciminosum* (*Cryptococcus farciminosus* — Rivolta) Cz. IV. Oznaczenie wrażliwości na niektóre antybiotyki przeciwgrzybicze

Katedra Epizootologii Wydziału Weterynarii WSR w Lublinie  
Kierownik: prof. dr S. KRAUSS

Celem badań było oznaczenie wrażliwości *Histoplasma farciminosum* na niektóre, stosowane obecnie w lecznictwie, antybiotyki przeciwgrzybicze. W dostępnym piśmiennictwie nie spotkano żadnych prac dotyczących tego zagadnienia i dlatego podjęcie takich badań wydało się celowe tak ze względów poznawczych jak i praktycznych. Warto bowiem podkreślić, że dotychczas brak jest skutecznych środków w leczeniu epizootycznego zapalenia naczyń chłonnych u koni (1, 4, 9, 15, 16).

### Materiał i metody

W badaniach posługiwano się następującymi preparatami:

1. Gryzeofulwina — (Grisovin Gloxo Lab., England)
2. Nystatyna — (prod. Polfa — Kraków zawierająca 3500 j. w 1 mg)
3. Amfoterycyna B — (Fungizone — Sguibb — amp. á 50 mg)

4. Trychotecyna — (prod. Inst. Antybiotyków — Moskwa)

Oznaczenia przeprowadzano na podłożach płynnych *Salvina* — Hottla z 5 losowo dobranymi szczepami postaci drożdżowej i 5 postaci micelialnej *Histoplasma farciminosum*. (nr nr 2, 5, 94-IP, V-4033, V-4574). Pochodzenie szczepów podano w drugiej części pracy (Wołoszyn — 19). Najpierw sporządzono roztwory wyjściowe antybiotyków w odpowiednich rozpuszczalnikach, gryzeofulwiry w 96° alkoholu (10 mg/ml), nystatyny w dwumetyloformamidzie (10 mg/ml), oraz trychotecyny w acetonie (1000 mg/ml). Następnie rozcieńczano je buforem fosforanowym i kolejne rozcieńczenia dodawano w ilości 0,1 na 4,9 ml podłoża tak, aby uzyskać stężenia 50, 40, do 10; 9, 8, 7, do 1; 0,9, 0,8 do 0,1 µg/ml podłoża. Na tak przygotowane podłoże posiewano po 0,1 ml 3 tyg. hodowli *Hist. farciminosum*, którą bezpośrednio przed tym rozbijano przez 1 godz. na trzęsawce, celem uzyskania homogenej zawiesiny grzybni.

Kontrolę stanowiło podłoże bez antybiotyku (K-I) oraz 3 podłoża z dodatkiem najwyższych kolejnych rozcieńczeń samego rozpuszczalnika (K-II). Aktyw-