

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⁻¹, 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, —NH₂, Bu, Pro—OH и вероятно BAIB и Asp NH₂). 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⁻¹. 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, —NH₂, Bu, HO-Pro and perhaps BAIB and Asp NH₂). 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 Epizootiologii 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-

ność nystatyny i amfoterycyny sprawdzano za pomocą wzorcowego szczepu *Sacch. cerevisiae* (97609) wg metody podanej przez Polfa Kraków, a gryzeofulwiny i trychotecyny szczepem *Trich. mentagrophytes* (3970).

W podobny sposób oznaczono fungistatyczne działanie wymienionych antybiotyków na postać pasożytniczą *Hist. farciminosum*. Próbkę ropy wolne od flory bakteryjnej i pleśni rozcieńczono 1:5 jałowym płynem fizjologicznym i rozbito na trzęsawce. Następnie każdą próbkę posiewano po 0,1 ml na 8 próbkach z 5 ml podłoża Salvina — Hottla. Po trzykrotnym powtórzeniu, do badań wytypowano 5 próbek, które każdorazowo dały wzrost przynajmniej w 6 próbkach (tj. $\frac{3}{4}$ posiewanych).

W oznaczeniach z antybiotykami każdą próbkę posiewano jednocześnie na 3 podłoża bez antybiotyku (K-I), przyjmując jako kontrolę dodatnią wzrost przynajmniej w 2 próbkach.

Podłoża zasiane postacią drożdżową i micelialną inkubowano przez 4 tygodnie, a postacią pasożytniczą — 12 tygodni.

Postać drożdżową trzymano w 37°C., a micelialną i pasożytniczą w 25°C. Oznaczenia powtórzone trzykrotnie i jako dawkę fungistatyczną przyjęto średnią arytmetyczną ze stężeń, przy których nastąpiło całkowite zahamowanie wzrostu.

Wyniki przedstawiono w tab. 3

Tab. 3. Średnie dawki fungistatyczne w μg na 1 ml podłoża

Antybiotyk	<i>Hist. farciminosum</i>			Kontrola aktywności antybiotyków	
	postać drożdż.	postać micel.	postać pasożyt.	<i>Sacch.* cer.</i>	<i>Trich. ment.</i>
	5	5	5	9763	3970
nystatyna	1,8 (1,0—3,0)	6,2 (5,0—8,0)	4,1 (3,0—5,0)	2,9	9,4
amfoterycyna B	0,4 (0,2—1,0)	3,3 (2,0—5,0)	2,5 (2,0—4,0)	1,2	2,8
gryzeofulwina	4,5 (3,0—6,0)	12,8 (9,0—20,0)	11,9 (7,0—20,0)	powyżej 50,0	3,1
trychotecyna	0,8 (0,5—1,0)	3,6 (3,0—5,9)	7,8 (4,0—10,0)	7,2	1,6

* — kontrola aktywności po 72 godz. inkubacji w 37°.

Średnie stężeń fungistatycznych w posiewach kontrolnych na aktywność były zbliżone do podawanych w odnośnym piśmiennictwie (3, 6, 7, 11, 17) poza nystatyną, której średnia dla *Trich. mentagrophytes* była prawie dwukrotnie wyższa. Najsilniejsze działanie fungistatyczne dla postaci drożdżowych i micelialnych *Hist. farciminosum*, przy stosunkowo małym rozrzucie, wykazały amfoterycyna B i trychotecyna, natomiast dla postaci pasożytnej — amfoterycyna B i nystatyna. Średnie dawki fungistatyczne dla postaci micelialnej były kilkakrotnie wyższe niż dawki dla postaci drożdżowej. W posiewach kontrolnych K -II stwierdzono wzrost jak w K-I, co pozwala na wykluczenie fungistatycznego działania samych rozpuszczalników.

O m ó w i e n i e w y n i k ó w

W ostatnich latach dużo uwagi poświęca się zagadnieniu stosowania antybiotyków fungistatycznych czy fungicydnych w leczeniu

chorób grzybiczych. Spośród wielu wyosobnionych dotychczas w leczeniu znalazły zastosowanie nystatyna, amfoterycyna B, gryzeofulwina oraz trychomycyna. Cechuje je brak aktywności przeciwbakteryjnej. Brown i wsp. (3) wykazali, że nystatyna podawana u myszy jednocześnie z chlorotetracykliną zapobiega wtórnym kandydiom przewodu pokarmowego oraz działa leczniczo przy zakażeniach doustnych *Candida albicans*. Gosh (8) stwierdził, że amfoterycyna B i nystatyna już w minimalnych dawkach fungistatycznych obniżają u *Candida albicans* zawartość fosfataz, wolnych aminokwasów, kwasu rybonukleinowego i dezoksyrybonukleinowego. Nystatyna ze względu na brak rozpuszczalności w wodzie, stosowana jest głównie w kandydiach przewodu pokarmowego u ludzi. Uzyskanie w ostatnich latach rozpuszczalnych w wodzie oraz aktywnych w obecności surowicy soli sodowych nystatyny pozwala przypuszczać, że antybiotyk ten znajdzie zastosowanie również w leczeniu innych grzybic narządowych (Coeciki i Rapi — 5). Postulat ten w chwili obecnej spełnia amfoterycyna B, która daje pewne efekty przy bardzo groźnych, uważanych do niedawna za nieuleczalne, grzybicach narządowych jak kryptokokozą oraz histoplazmozą (Emmons i Piggott — 6, Polemann — 14). Pozostałe dwa antybiotyki gryzeofulwina oraz trychotecyna wykazują dużą skuteczność w leczeniu dermatomikoz ludzi i zwierząt (Polemann — 14, Nikiforow — 12).

Badania własne, aczkolwiek bardzo wycinkowe w tym zakresie pozwoliły stwierdzić, że *in vitro* wzrost *Hist. farciminosum* jest hamowany przez te antybiotyki, przy czym najsilniejsze fungistatyczne działanie na postać pasożytniczą wykazały nystatyna, amfoterycyna B i trychotecyna. Trychotecyna jest jednak preparatem toksycznym (Freeman — 7) i dlatego może być i jest stosowana tylko miejscowo przy dermatomikozach (Nikiforow — 12). Emmons i Piggott (6) oraz Tsubura i Schwarz (18) badając skuteczność amfoterycyny, gryzeofulwiny i trychomycyny wykazali, że podobnie jak przy innych lekach, nie zawsze wyniki otrzymane *in vitro* są powtarzalne *in vivo* i dlatego zaleca się wykonywanie takich oznaczeń na zwierzętach laboratoryjnych. Brak właściwości chorobotwórczych *Hist. farciminosum* dla zwierząt laboratoryjnych nie pozwolił jednak na przeprowadzenie tego rodzaju testu. Tym niemniej uzyskane rezultaty wskazują na możliwość wypróbowania badanych antybiotyków a zwłaszcza amfoterycyny B i ewentualnie rozpuszczalnych w wodzie pochodnych nystatyny w leczeniu epizootycznego zapalenia naczyń chłonnych koni, co jest godne uwagi, gdyż wszystkie dotychczas stosowane w tej chorobie leki najczęściej zawodzą (Ainsworth i Austwick — 1, Bullen — 4, Hagan — 9, Spiesiwcewa — 16). Brak toksyczności, wybiórcze działanie na grzyby oraz moż-

liwość podawania tych preparatów jednocześnie z antybiotykami przeciwbakteryjnymi pozwala przypuszczać, że mogą one okazać się przydatne nawet w przypadkach skomplikowanych wtórnymi zakażeniami bakteryjnymi, co przy tej chorobie nie jest sprawą rzadką. Przy stosowaniu tego rodzaju leczenia liczyć się należy z możliwością pojawiania się szczepów opornych na antybiotyki przeciwgrzybicze, chociaż w dostępnym piśmiennictwie nie spotykano danych na temat poza pracą Penna (13) który w warunkach doświadczalnych przy powtarzanych zakażeniach *Candida* obserwował spadek skuteczności leczniczego działania nystatyny ze 100 do 83%.

Poza tym własne spostrzeżenia potwierdziły obserwacje Artisa i Bauma (2) oraz Lonesa i Peacocka (10) o wyższej oporności postaci micelialnych grzybów na działanie antybiotyków fungistatycznych.

Piśmiennictwo

1. Ainsworth G. C., Austwick P. C. K.: Fungal Diseases of Animals. C. A. B., Norwick — England, Ch. 4, 22—26, 1959.
2. Artis D., Baum G. L.: Mycopath. et Mycol. Appl. 22, 2, 225, 1964.
3. Brown R., Hazen E. L., Mason A.: Science, 117, 609, 1953.
4. Bullen J. J.: Jour. R. Army Vet. Cps. 21, 158, 1950 i 22, 8, 1951.
5. Coeck P., Rapi G.: Chemotherapia, 6, 319, 1963.
6. Emmons C. W., Piggott W.: Antibiot. and Chemother. 9, 550, 1950.
7. Freeman G. G.: Jour. Gen. Microbiol. 12, 213, 1955.
8. Gosh A., Gosh J. J.: Ann. Biochem. and Exptl. Med. 23, 4, 113, 1963.
9. Hagan A. W., Bruner D. W.: The infectious diseases animals. Ithaca, New York, 538—549, 1961.
10. Lones G. W., Peacock C. L.: Amer. Rev. Resp. Diseases, 84, 4, 529, 1961.
11. Louria D. B., Feder N., Emmons C. W.: Antibiotics Annual, 870, 1956—1957.
12. Nikiforow E.: Sielskochozajstwiennoje proizvodstvo, 5, 34, 1965.
13. Penn A.: Mycopath et Mycol. Appl. 19, 3, 229, 1963.
14. Polemann G.: Klinik und therapie der Pilzkrankheiten. G. Thieme, Stuttgart, 1961.
15. Singh T., Vermani B.M.L., Bhalla N. P.: Indian Jour. of Vet Science and Anim. Husbandry, 35, 2, 111, 1965.
16. Spiesiwcewa N. A.: Mikozy i mikotoksikozy zwierząt. Moskwa, 79—100, 1964.
17. Sternberg T. H., Wright E. T., Oura M.: Antibiotics Annual 568, 1955—1956.
18. Tsubura E., Schwarz J.: Mycopath. et Mycol. Appl. 14, 1, 55, 1961.
19. Wołoszyn S.: Medycyna Wet. 24, 1968.

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

Волошин С. — Свойства и антигенная структура *Histoplasma farciminosum*. IV. Исследования по резистентности к некоторым противогрибковым антибиотикам.

Исследовали in vitro резистентность паразитической мицелиальной (М) и дрожжевой формы (У) *Hist. farciminosum* к следующим антибиотикам: гризефульван, нистатин, амфотерацин В и трихотецин.

Установили, что самое сильное фунгистатическое действие на формы роста У и М *Hist. farciminosum* имеют амфотерацин В (0,4 и 3,3 мкг/мл) и трихотецин (0,8 и 3,6 мкг/мл), а на паразитическую форму амфотерацин (2,5 мкг/мл) и нистатин (4,1 мкг/мл).

Полученные результаты показывают на возможность испробования этих антибиотиков, а особенно амфотерацина В и может быть препаратов нистатина для лечения эпизоотического лимфангоита лошадей.

Wołoszyn S. — The investigations on the nature and antigenic structure of *Histoplasma farciminosum*. Part. IV. The typing of the susceptibility on some antimycotic antibiotics.

The author typed in vitro the susceptibility of the parasitic, mycelial and yeast forms of *Histoplasma farciminosum* to the following antimycotic antibiotics: Griseofulvin, Nystatin, Amphotericin B and Trichothecin. The strongest fungistatic action on the two growth forms (Y and M) of *Histoplasma farciminosum* was that of Amphotericin B (0,4 and 3,3 μg/ml) and Trichothecin (0,8 and 3,6 μg/ml) and on the parasite from Amphotericin B (2,5 μg/ml) and Nystatin (4,1 μg/ml). The results obtained show the possibility of applying of these antibiotics, especially Amphotericin B and maybe Nystatin derivatives in the treatment of epizootic lymphangitis of horses.

KAZIMIERZ MAREK

HELENA RASZEWSKA, ANNA CAKAŁA

Wpływ zakażenia *Mycoplasma gallisepticum* na kurczęta szczepione przeciwko rzekomemu pomorowi ptaków

Zakład Chorób Drobni Instytutu Weterynarii w Puławach

Kierownik: prof. dr K. MAREK

W ostatnim dziesięcioleciu wśród chorób drobiu na pierwszy plan wysuwa się zespół schorzeń dróg oddechowych. Czynnikiem zakaźnym, który prawie zawsze w tym zespole występuje jest *Mycoplasma gallisepticum*. Zarazek ten, chociaż stosunkowo słabo chorobotwórczy, w połączeniu z innymi czynnikami zakaźnymi wywołuje często schorzenia o dość ostrym przebiegu, powodujące niejednokrotnie wysokie straty ekonomiczne. Z zarazków, które poza *M. gallisepticum* odgrywają czynną rolę w tym zespole, należy wymienić m. in. *E. coli*, wirus zakaźnego zapalenia oskrzeli (IBV), zakaźnego zapalenia krtani i tchawicy (ILTV)

oraz wirus pomoru rzekomego ptaków (NDV) — (Adler — 1, Gross — 9, Brion i wsp. — 4). W tym ostatnim przypadku chodzi głównie o słabo patogenne szczepy tego zarazka, o znacznym powinowactwie do układu oddechowego.

W naszym kraju rzekomy pomór ptaków przebiega na ogół w postaci ostrej, powodującej wysoką śmiertelność. Izolowane szczepy wirusa są pantropowe, a tylko w nielicznych przypadkach udaje się stwierdzić w terenie szczepy o małej zjadliwości (13). Jednakże za takie można uważać szczepy naturalnie lub