

28. Wittig G.: Am. Zoolog. 2, 257, 1962.
 29. Wittig G.: J. Invertebr. Pathol. 7, 474, 1965.

Adres autora: prof. dr habil. Zdzisław Gliński, ul. Akademicka 12, 20-033 Lublin

Глиньский З., Климонт С. — Активность гемоцитов рабочих пчел в ходе натуральной инфекции *Varroa jacobsoni* Oud.

Натуральная инфекция рабочих пчел, *Apis mellifera* L., *Varroa jacobsoni* Oud. вызывает существенное понижение среднего числа гемоцитов гемолимфы и изменения процентного состава гемоцитов, не влияя на активность гемоцитов, определяемую критерием редукции нитротетразоловой сини (критерий NBT) и на величину индекса NBT. Отсутствие изменений фагоцитарной активности может быть эффектом отсутствия влияния паразита на клеточное плечо иммунитета либо может свидетельствовать о приведении в движение компенсирующих механизмов, восстанавливающих гомеостаз в пределах системы клеток, активных в процессах защиты насекомого. Можно предполагать, что фаго-

цитоз вместе с энзиматической системой, тормозящей активность протеаз паразита, составляет главный механизм иммунитета, приводимый в движение в инфицированном организме.

Gliński Z., Klimont S. — Activity of haemocytes in the worker honey bees in the course of a natural invasion of *Varroa jacobsoni* Oud.

Natural invasion of *Varroa jacobsoni* Oud. in the worker honey bees, *Apis mellifera* L., causes a significant decrease of a total haemocyte count and the differential haemocyte count but it does not affect phagocytic activity of haemocytes in the NBT test and the NBT index. Lack of changes in phagocytic activity of haemocytes may be a result of unaffected cellular protective mechanisms of bees by the parasitic mites or it may point to induction of some compensative mechanisms restoring homeostasis in the cellular branch of immunity. It can be assumed that phagocytosis together with enzymes destroying proteases of the mite form a fundamental mechanism of protection operating in the infested bee host.

KRYSTYNA WAWRZKIEWICZ, JANUSZ WAWRZKIEWICZ

Ocena „in vivo” zjadliwości szczepów rodzaju *Trichophyton**)

Instytut Chorób Zakaźnych i Inwazyjnych Wydziału Weterynaryjnego AR,
 ul. Akademicka 12, 20-033 Lublin

Próby biologiczne, przeprowadzane na zwierzętach laboratoryjnych i doświadczalnych, znajdują szerokie zastosowanie w mikologii, w tym również w badaniach dotyczących dermatofitów.

Eksperymentalną inokulację wykonuje się w celu określenia patogenności i wirulentności szczepów (23), ustalenia stopnia niewrażliwości zwierząt po naturalnym bądź sztucznym zakażeniu (33), po profilaktycznym stosowaniu preparatów przeciwgrzybowych (21), a także dla wykazania efektywności leków antygrzybowych na modelu doświadczalnie zakażonych zwierząt (25). Stosunkowo często wykorzystuje się badanie biologiczne przy ocenie wartości ochronnej szczepionek (2, 11, 24, 35). Niewrażliwość immunizowanych zwierząt w stosunku do ustalonej dawki zjadliwego zarazka świadczy o stopniu nabytej odporności.

Określenie zarówno dawki infekcyjnej, używanej do próby „challenge”, jak i metody eksperymentalnego zakażenia zwierząt nie sprawia na ogół poważniejszych trudności, jeżeli inokulum zawiera bakterie, wirusy, ewentualnie grzyby wywołujące endomykozy. Znacznie trudniej wystandaryzować warunki zakażenia zwierząt dermatofitami. Najczęściej zawieszinę badanego grzyba wciera się w wygoloną i skaryfikowaną skórę (1, 5, 9, 21, 33). Można rów-

nież inokulować zarazek na skórę nieskaryfikowaną (13, 17, 22) lub też — w celu lepszego przylegania grzyba i zabezpieczenia odpowiedniej wilgotności skóry — stosować specjalną taśmę okrywającą (6, 16), względnie zawieszinę zarazka zmieszaną z miodem (28). W ten sposób uzyskuje się na podstawie efektu patogennej informacji ogólnej natury jakościowej, dotyczące chorobotwórczości badanego szczepu lub stanu niewrażliwości zwierzęcia.

Porównanie wirulentności kilku szczepów, podobnie jak określenie metodą biologiczną immunogenności poszczególnych biopreparatów, wymaga stosowania wystandaryzowanych dawek zakażających. Taką próbę standaryzacji inokulum grzyba stanowi metoda komórek polietylenowych Weigla (32), w których jednak warunki rozwoju grzyba różnią się w znacznym stopniu od istniejących przy naturalnym procesie infekcji. Standaryzacja winna uwzględnić nie tylko liczbę żywych elementów grzybowych wprowadzanych na powierzchnię skóry, ale również formę morfologiczną zarazka, rzutuującą niekiedy w znacznym stopniu na zjadliwość szczepu (7, 30).

Celem badań było określenie patogenności szczepów odpowiedzialnych najczęściej za grzybice skórne zwierząt i ustalenie minimalnych dawek infekcyjnych dla ich formy zarodnikowej w zależności od metody zakażenia.

*) Badania finansowane w ramach programu RR-II-24.

Materiał i metody

Szczep. Do badań wykorzystano szczepy: *Trichophyton verrucosum* nr 43 (Tv43) i Z (TvZ), *T. mentagrophytes* nr 1 (Tm1) i *T. mentagrophytes* var. *granulosum* (Tmg), izolowane z terenowych przypadków naturalnej grzybicy, oraz *T. mentagrophytes* nr 23 (Tm23), otrzymany z Central Veterinary Laboratory New Haw, Weybridge, Anglia. Wymienione szczepy namnażano na stałym podłożu Sabourauda przez okres 10–12 dni w temperaturze 37°C. Wyrośnięte hodowle grzybów zawieszano w jałowym 0,85% roztworze NaCl i homogenizowano do uzyskania względnie jednolitej zawiesiny. Po odrzuceniu frakcji słabo zhomogenizowanej, resztę materiału (ok. 80–90% zarodników) rozcieńczano tak, aby liczba c.f.u.ml⁻¹, oznaczana drogą posiewów metodą dwuwarstwową (31) na podłoże stałe, wynosiła ok. 10⁴. Z tej wyjściowej zawiesiny grzyba przygotowywano rozcieńczenia zawierające kolejno 10⁵, 10⁴, 10³ i 10² c.f.u. ml⁻¹.

Zwierzęta. Doświadczenia objęły ogółem 74 świnki morskie o wadze 300–400 g każda oraz 10 sztuk 5–6 tygodniowych cieląt rasy czarno-białej.

Ocenę zjadliwości pięciu szczepów rodzaju *Trichophyton* przeprowadzono na 20 świnkach morskich przeznaczając po 4 sztuki na każdy z badanych szczepów. W celu określenia przydatności różnych metod zakażenia wykorzystano 54 świnki morskie przeznaczając na każdą metodę po 15 zwierząt, a z tego po 3 sztuki na poszczególne szczepy rodzaju *Trichophyton*.

Zjadliwość szczepów dla cieląt określano stosując po 2 sztuki na każdy z badanych szczepów. Badania na tych zwierzętach przeprowadzono w okresie wiosennym przy temperaturze powietrza wahającej się od 11° do 13°C i wilgotności względnej (mierzonej psychrometrem aspiracyjnym) w pomieszczeniach w granicach od 82 do 85%. Ponadto w okresie wiosennym przy temperaturze powietrza sięgającej 14–21°C i wilgotności względnej powietrza wahającej się od 54 do 65%, wykonano dodatkowe zakażenie 4 cieląt.

Metody zakażenia. Świnki morskie zakażano przez dwa kolejne dni w okolicę łopatki i zadu po obu stronach ciała (łącznie 4 pola), stosując jednorazowo po 0,1 ml odpowiedniej zawiesiny grzyba na każde pole o wymiarach ok. 2×2 cm. Materiał wcie-rano: a — bezpośrednio na owłosioną skórę, b — na skórę ręcznie depilowaną, c — na skórę depilowaną i skaryfikowaną drobnopiękarnym papierem szklis-tym, d — na skórę goloną maszynką elektryczną. Każde rozcieńczenie zawiesiny grzybowej badano 3–4 krotnie na różnych świnkach morskich, aby w ten sposób wyeliminować istniejące różnice indywidualne we wrażliwości zwierząt.

U cieląt materiał zakażny wprowadzano przez 3 kolejne dni na depilowaną i skaryfikowaną przy pomocy metalowej szczoteczki skórę, w ilości 0,8 ml, na pole o wymiarach ok. 5×5 cm.

W badaniu uzupełniającym spośród czterech cieląt zakażanych wym. metodą, u dwóch zastosowano przed inokulacją grzyba dodatkowo silne nawilżanie skóry jałową wodą destylowaną. Każde zwierzę było zakażane 4 różnymi stężeniami grzyba w określonych miejscach skóry po obu stronach grzbietu. Świnki morskie obserwowano przez 21 dni, a cielęta 75 dni po zakażeniu.

Kliniczne zmiany grzybicze w miejscach inokulacji potwierdzano badaniem mikologicznym.

Wyniki i omówienie

Wykazano, że spośród badanych szczepów rodzaju *Trichophyton* najbardziej wirulentnym dla świnek morskich okazał się szczep *T. mentagrophytes* v. *granulosum*, który wprowadzony na depilowaną i skaryfikowaną skórę indukował zmiany chorobowe w dawce ok. 10² c.f.u. ml⁻¹ (tab. 1). Identyczne obserwacje poczynili Greenberg i wsp. (14), którzy najniższą dawkę infekcyjną (DIM) zarodników *T. mentagrophy-*

Tab. 1. Ocena zjadliwości szczepów rodzaju *Trichophyton* na świnkach morskich

Szczep	Dawka c.f.u.ml ⁻¹	Intensywność zmian klinicznych na skórze depilowanej i skaryfikowanej															
		7 dni				10 dni				15 dni				21 dni			
		Numer świnki morskiej															
		1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
<i>T. verrucosum</i> Z	10 ³	—	—	±	1+	—	—	1+	1+	±	—	1+	1+	—	—	1+	1+
	10 ⁴	1+	1+	—	—	1+	1+	1+	1+	1+	1+	1+	1+	1+	—	±	1+
	10 ⁵	1+	2+	—	1+	1+	2+	1+	2+	2+	2+	2+	2+	1+	1+	1+	2+
	10 ⁶	1+	2+	1+	1+	1+	2+	1+	2+	2+	3+	2+	2+	1+	2+	2+	2+
<i>T. verrucosum</i> 43	10 ⁴	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	10 ⁵	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	10 ⁶	—	—	—	—	—	—	—	—	1+	1+	—	—	1+	±	—	—
<i>T. mentagrophytes</i> 1	10 ²	—	—	—	—	—	1+	—	1+	—	1+	—	1+	—	±	—	1+
	10 ³	±	—	±	1+	1+	1+	1+	2+	2+	2+	2+	3+	1+	1+	1+	2+
	10 ⁴	1+	±	±	1+	2+	1+	2+	2+	2+	2+	3+	2+	3+	1+	2+	1+
	10 ⁵	1+	1+	1+	1+	2+	2+	1+	2+	3+	3+	3+	3+	2+	2+	3+	2+
<i>T. mentagrophytes</i> 23	10 ²	±	—	—	—	±	1+	—	—	1+	1+	—	—	—	1+	—	—
	10 ³	—	1+	1+	±	1+	1+	2+	1+	1+	1+	3+	2+	±	2+	2+	2+
	10 ⁴	1+	1+	1+	1+	3+	3+	2+	3+	3+	2+	3+	3+	2+	1+	2+	1+
	10 ⁵	1+	1+	1+	1+	3+	3+	3+	3+	3+	3+	3+	3+	2+	1+	2+	2+
<i>T. mentagrophytes</i> var. <i>granulosum</i>	10 ²	±	±	±	1+	±	±	1+	1+	±	1+	2+	3+	±	1+	1+	1+
	10 ³	±	1+	1+	1+	±	2+	2+	2+	1+	3+	3+	3+	±	2+	3+	2+
	10 ⁴	1+	1+	1+	1+	2+	2+	2+	3+	3+	2+	3+	3+	2+	1+	2+	3+
	10 ⁵	2+	1+	1+	2+	3+	2+	2+	2+	3+	3+	3+	1+	3+	3+	2+	1+

Objaśnienia: c.f.u. — liczba jednostek tworzących kolonie; — brak zmian klinicznych; ± podejrzenie zmian klinicznych; 1+ pojedyncze zmiany; 2+ liczne zmiany; 3+ zlewające się zmiany.

tes var. granulorum określili na 10^2 . Pozostałe dwa szczepy *T. mentagrophytes* (Tm1 i Tm23) były nieco mniej patogenne, gdyż zmiany chorobowe występowały w miejscach inokulacji po dawce ok. 10^3 c.f.u. ml^{-1} .

Pierwsze objawy infekcji pojawiły się na 5–7 dzień po zakażeniu, nasilały się do 15 dnia i utrzymywały na ogół na zbliżonym poziomie do 21 dnia obserwacji.

Szczepy *T. verrucosum* wykazały zróżnicowany stopień zjadliwości dla świnek morskich. Szczep *T. verrucosum* Z w dawce ok. 10^3 c.f.u. ml^{-1} powodował zakażenia około 50% inokulowanych zwierząt i dopiero 10 krotnie wyższe stężenie grzyba wywoływało kliniczne zmiany grzybiczy w wszystkich badanych świnkach morskich. Drugi szczep *T. verrucosum* (Tv43) był praktycznie apatogeny, indukował bowiem zmiany stosunkowo późno (15 dzień po zakażeniu) u 50% zwierząt i to jedynie w przypadku użycia najwyższych dawek (ok. 10^6 c.f.u. ml^{-1}) zarazka. Stosując podobną technikę zakażenia Rybnikar i wsp. (23) uznali dawkę *T. verrucosum*, zawierającą ok. 10^3 – 10^4 elementów grzyba/cm², za minimalną dawkę infekcyjną dla świnek morskich, a Cox i Moore (5) dla królików. Zbliżony stopień zjadliwości dla świnek morskich posiadają również szczepy *Microsporum canis* i *Trichophyton equinum* (23) oraz typowe dermatofity antropofilne, tj. *T. rubrum*, *T. tonsurans* czy *E. floccosum* (3). Można by więc wnioskować, że przy ustalonej technice zakażenia, naruszającej w wyraźny sposób naturalną barierę obronną powłok skórnych, różne gatunki dermatofitów cechują się podobnymi właściwościami chorobotwórczymi. Naruszając ciągłość powłok skórnych Christopher (4) wywoływał miejscowe zmiany grzybicze u kur nawet po infekcji *T. mentagrophytes*. Rozpylanie natomiast zarodników grzyba na miejsca o nie naruszonej barierze ochronnej nie powodowało u ptaków jakichkolwiek zmian klinicznych.

Porównując kilka różnych metod zakażenia świnek morskich grzybami rodzaju *Trichophyton*, wykazano wyraźny wpływ sposobu inokulacji na wartość minimalnej dawki zakażającej, zwłaszcza w przypadku szczepów mniej wirulentnych (tab. 2).

Wszystkie szczepy indukowały najbardziej wyrównane i najsilniej zaznaczone zmiany chorobowe na depilowanej i skaryfikowanej skórze. Sama depilacja lub golenie również sprzyjały infekcji, niemniej jednak w takim przypadku minimalna dawka zakaźna np. dla szczepu *T. verrucosum* Z była około 10 krotnie wyższa. Podobnie Rybnikar i wsp. (23) podkreślają, że przy braku skaryfikacji skóry dla wywołania efektu chorobowego u świnek morskich należy użyć około 100-krotnie wyższych dawek badanego szczepu *M. canis*.

Bardziej zjadliwe dla świnek morskich szczepy *T. mentagrophytes* zachowały podobny stopień patogenności zarówno przy inokulacji na skaryfikowaną, jak i nie skaryfikowaną skórę.

Pewne różnice zaznaczyły się jednak w intensywności zmian chorobowych, które w miejscach skaryfikowanych pojawiały się wcześniej, wolniej ustępowały i były bardziej rozległe.

Próby zakażenia świnek poprzez wprowadzenie grzyba na skórę owłosioną również powiodły się, jednak należało wówczas zastosować od 100 do 1000 razy wyższe dawki.

Wyniki dotyczące wirulentności wybranych szczepów rodzaju *Trichophyton* na cielętach przedstawia tab. 3. W odróżnieniu od świnek morskich, cielęta były bardziej wrażliwe na zakażenie szczepem *T. verrucosum* (DIM = 10^2) niż szczepami *T. mentagrophytes* (DIM = 10^3). Intensywność zmian klinicznych u zakażonych cieląt była podobna, jednakże bardziej powierzchowny charakter infekcji w przypadku szczepów *T. mentagrophytes* powodował szybsze odpadanie strupów i samowyleczenie w okresie 50–61 dni po inokulacji. Wnikający głębiej w tkankę szczep *T. verrucosum* Z indukował zmiany utrzymujące się przez 75 dni, tj. do końca obserwacji.

Lepper (17) badając zjadliwość szczepów *T. verrucosum* dla bydła ustalił minimalną dawkę infekcyjną na ok. 10^3 , a Rybnikar i wsp. (23) na 10^4 żywych zarazków (c.f.u.). Rozbieżność wyników może być uwarunkowana zróżnicowaną zjadliwością badanych szczepów, odmiennym wiekiem i kondycją zakażanych zwierząt, jak i specyficznymi warunkami środowiska, tj. wilgotnością i temperaturą pomieszczeń w okresie inkubacji choroby.

Dane zawarte w tab. 4 wskazują, że przy niskiej wilgotności powietrza (54–65%) nawilżenie skóry zwierząt w miejscu inokulacji grzyba sprzyja rozwojowi zmian chorobowych, które występują wcześniej, są bardziej rozległe i utrzymują się dłużej niż u zwierząt kontrolnych. Niektórzy autorzy (8, 27) zalecają stosowanie w zakażeniach doświadczalnych specjalnych opasek, utrzymujące wysoką wilgotność w miejscu inokulacji grzyba. Postępowanie takie odbiega jednak znacznie od warunków naturalnych i jest trudne do realizacji przy zakażaniu cieląt przetrzymywanych w boksach po kilka sztuk. Wyniki badań własnych dowodzą, że nawet jednorazowe silne nawilżenie skóry przed inokulacją grzyba, rzutuje w istotny sposób na przebieg choroby. Podobny zabieg u świnek morskich przed zakażeniem ich szczepem *T. mentagrophytes* stosowali Schankland i wsp. (25). Gheradi i wsp. (10) poprzez wstępne silne nawilżenie wełny i ciągłe nawilżanie miejsc inokulacji przez cały okres badań, uniknęli nawet depilacji przy doświadczalnym zakażaniu owiec dermofilnym szczepem *Dermatophilus congolensis*. Sposób ten, zdaniem autorów najbardziej zbliżony do infekcji w warunkach naturalnych, pozwolił im na właściwą ocenę zjadliwości badanych szczepów. Widać więc jak istotną rolę w rozwoju grzybic skórnych odgrywa wilgotność środowiska, m.in. ze

Tab. 2. Rozwój grzybicy doświadczalnej w zależności od metody zakażenia

Szczep	Skóra owłosiona	Depilacja	Depilacja i skaryfikacja	Golenie
	Minimalna dawka zakaźna (c.f.u.ml ⁻¹)			
<i>T. verrucosum</i> Z	10 ⁶ (śląd)	10 ⁵ (1+)	10 ⁴ (1+)	10 ⁵ (1+)
<i>T. verrucosum</i> 43	brak zmian klinicznych	brak zmian klinicznych	10 ⁶ (śląd)	brak zmian klinicznych
<i>T. mentagrophytes</i> 1	10 ⁶ (1+)	10 ³ (1+)	10 ³ (2+)	10 ³ (2+)
<i>T. mentagrophytes</i> 23	nie badano	10 ³ (1+)	10 ³ (2+)	nie badano
<i>T. mentagrophytes</i> var. <i>granulosum</i>	10 ⁴ (2+)	10 ² (2+)	10 ² (2+)	10 ² (2+)

Objaśnienia jak w tab. 1.

Tab. 3. Zjadliwość szczepów rodzaju *Trichophyton* dla cieląt

Szczep	Ciele nr	Intensywność zmian klinicznych przy dawce ok. 10 ⁵ c.f.u.ml ⁻¹							Minimalna dawka zakaźna c.f.u.ml ⁻¹
		Dzień po zakażeniu							
		6	12	26	40	50	61	75	
<i>T. verrucosum</i> Z	1	—	2+	3+	3+	2+	2+	1+	10 ²
	2	—	2+	2+	3+	2+	1+	1+	
<i>T. mentagrophytes</i> 1	3	—	3+	3+	3+	2+	1+	—	10 ³
	4	—	3+	3+	3+	1+	1+	—	
<i>T. mentagrophytes</i> <i>var. granulosum</i>	5	1+	2+	3+	2+	—	—	—	10 ³
	6	2+	3+	3+	3+	2+	—	—	

Objaśnienia jak w tab. 1. Wilgotność względna powietrza w okresie inokulacji grzyba wynosiła 82—85%.

Tab. 4. Wpływ nawilżania skóry na intensywność zmian klinicznych grzybicy u cieląt

Szczep	Cielę nr	Dawka zakażająca	Intensywność zmian klinicznych					
			Dzień po zakażeniu					
			7	14	20	28	42	50
<i>T. verrucosum</i> Z	7*	10 ²	—	1+	2+	2+	2+	2+
		10 ³	—	2+	3+	3+	3+	3+
		10 ⁴	1+	3+	3+	3+	3+	3+
		10 ⁵	1+	3+	3+	3+	3+	3+
	8	10 ²	—	1+	1+	—	—	—
		10 ³	—	1+	1+	1+	—	—
		10 ⁴	—	2+	2+	2+	2+	2+
		10 ⁵	—	2+	2+	3+	2+	2+
<i>T. mentagrophytes</i> var. <i>granulosum</i>	9*	10 ²	1+	1+	2+	1+	—	—
		10 ³	2+	2+	2+	2+	1+	1+
		10 ⁴	2+	3+	3+	3+	2+	1+
		10 ⁵	3+	3+	3+	3+	3+	2+
	10	10 ²	—	—	—	—	—	—
		10 ³	—	1+	1+	1+	1+	—
		10 ⁴	1+	3+	2+	2+	1+	—
		10 ⁵	2+	3+	3+	2+	2+	1+

Objaśnienia: * — przed inokulacją grzyba miejsca na skórze nawilżano jałową wodą destylowaną, wilgotność względna powietrza w okresie inokulacji grzyba wynosiła 54—65%.

względem na wyjątkową wrażliwość zarodników na wysychanie (15).

Należy sądzić, że w warunkach naturalnych do klinicznych zmian trychofitozy dochodzi wówczas, gdy naruszone są miejscowe bariery ochronne (uszkodzenie naskórka), sprzyjające warunki środowiskowe (wysoka wilgotność i temperatura środowiska) lub też zaburzone ogólne mechanizmy obronne (12, 18).

Wyniki własne wskazujące na wyższą zjadliwość szczepów *T. mentagrophytes* dla świń morskich, a *T. verrucosum* dla cieląt znajdują uzasadnienie w charakterze naturalnych infekcji u tych zwierząt. Najczęstszym bowiem czynnikiem etiologicznym grzybic skóry świń morskich, królików i myszek jest *T. mentagrophytes* i *T. mentagrophytes* var. *granulosum* (19, 26, 34), bydła zaś — *T. verrucosum* (20, 29).

Reasumując należy stwierdzić, że próba „challenge” aby mogła stanowić miarodajną ocenę wartości ochronnej szczepionki musi być przeprowadzona w warunkach możliwie wystandaryzowanych, uwzględniających nie tylko dawkę zarazka i metodę zakażenia, ale także właściwości biologiczne patogenu, podatność makroorganizmu i warunki środowiskowe. Przy niskiej wilgotności środowiska silne nawilżenie skóry przed inokulacją grzyba wydaje się być korzystne. Ponadto przy doświadczalnej infekcji każdego zwierzęcia nie należy ograniczać się jedynie do rekomendowanej minimalnej dawki zakaźnej, która może ulegać modyfikacjom w różnych układach badawczych, ale stosować równocześnie kilka różnych stężeń zarazka, aby w ten sposób uzyskać bardziej obiektywny wynik.

Piśmiennictwo

1. Abu-Samra M. T., Imbabi S. E., El Sheikh M.: Sabouraudia 13, 154, 1975.
2. Brethouwer A. H.: Tijdschr. Diergeneesk. 107, 681, 1982.
3. Chittasobhon N., Smith J. M. B.: J. Invest. Derm. 73, 198, 1979.
4. Christopher K. J.: Philipp. J. vet. Med. 18, 141, 1979.
5. Cox W. A., Moore J. A.: J. Comp. Path. 78, 35, 1968.
6. Desai S. C., Bath M. L.: J. Invest. Derm. 35, 297, 1960.
7. Desai S. C.: Brit. J. Derm. 91, 713, 1974.
8. Dolan M. M., Kligman A. M., Kobylinski P. G., Mottavage M. A.: J. Invest. Derm. 30, 23, 1958.
9. English M. P., Gentles J. G., Ball E. H.: Mycopathologia 67, 179, 1979.
10. Gherardi S. G., Lewer R. P., Sutherland S. S., Howe R. R.: Aust. Vet. J. 61, 304, 1984.
11. Gotowina N. P., Zarkow I. I.: Veterinarija, Moskwa 5, 34, 1984.
12. Górski A.: Pol. arch. Med. Wew. 57, 345, 1977.
13. Green F., Balish E.: J. Invest. Derm. 75, 476, 1980.
14. Greenberg J. H., King R. D., Krebs S., Field R.: J. Invest. Derm. 67, 704, 1976.
15. Hashimoto T., Blumenthal M. J.: Appl. Microbiol. 35, 274, 1978.
16. Jones H. E., Reinhardt J. H., Rinaldi M. G.: Arch. Dermatol. 109, 840, 1974.
17. Lepper A. W.: Res. vet. Sci. 13, 105, 1972.
18. Lestschenko W. M., Fedotow W. P.: Mykosen 25, 237, 1982.
19. Okeke C. N., Gugnani H. C.: Mykosen 26, 264, 1983.
20. Pal H., Singh D. K.: Mykosen 26, 317, 1983.
21. Polak A.: Sabouraudia 23, 501, 1984.
22. Poulain D., Tronchin G., Vernes A., Delabre M., Biquet J.: J. Invest. Derm. 74, 205, 1980.
23. Rybníkar A., Chumela J., Vrzal V.: Acta Vet., (Brno) 54, 73, 1985.
24. Sarkisov A. Ch., Zarkov I. I., Melnik V. G., Jabłochnik L. M.: Tr. Gos. Naučno-kontroln. Inst. Vet. Prep. 29/30, 271, 1980.
25. Shankland G. S., Richardson M. D.: Mykosen 29, 579, 1986.
26. Seiff M., Köhalmi I.: Mykosen 24, 412, 1981.
27. Tagami H., Watanabe S., Ofuji S.: J. Invest. Derm. 61, 237, 1973.
28. Vidon D.: Praca dokt. ser. E. Nr 274, Université René Descartes de Paris, 1973.
29. Wawrzekiewicz K., Kocik T.: Medycyna Wet. 29, 730, 1973.
30. Wawrzekiewicz K., Ziolkowska G.: Mykosen 21, 236, 1978.
31. Wawrzekiewicz K., Ziolkowska G.: Medycyna Wet. 39, 539, 1983.
32. Weigl E.: Mycopathologia 59, 149, 1976.
33. Weiss R., Böhm K. H., Taha El-Sayed M.: Mykosen 20, 54, 1977.
34. Weiss R., Weber A.: Prak. Tierarzt 64, 827, 1983.
35. Wotoszyn S., Andrychiewicz J., Kostro K., Grądzki Z.: Medycyna Wet. 39, 387, 1983.

Adres autora: prof. dr hab. Krystyna Wawrzekiewicz, ul. Chrobrego 1/19, 20-611 Lublin

Вавжкевич К., Вавжкевич Я. — Оценка „in vivo” вирулентности штаммов рода *Trichophyton*

Цель работы состояла в определении вирулентности штаммов рода *Trichophyton* с учетом разных методов инокуляции и условий окружающей среды.

Для исследований использовали 74 морские свинки и 10 5–6-недельных телят, инокулированных затем штаммами *T. verrucosum*, *T. mentagrophytes* и *T. mentagrophytes* var. *granulosum*. Морских свинок инфицировали очередные 2 дня в область лопатки и зада, применяя однократно по 0,1 мл гомогенизированной суспензии гриба, содержащей 10^2 – 10^6 с.ф.у. мл⁻¹. Материал втирали: а) прямо на волосатую кожу, б) депилированную кожу, в) на депилированную и скарифицированную кожу, г) на бритую кожу. У телят вводили в.уп. материал 3 очередных дня на депилированную и скарифицированную кожу в количестве 0,8 мл на площадь 5×5 см. Дополнительно у 2 телят кожу до инокуляции гриба сильно увлажняли дистиллированной водой. Констатировали, что штаммы *T. mentagrophytes* были более вирулентны для морских свинок чем для телят и сохраняли подобную степень патогенности как при инокуляции на депилированную и скарифицированную, так и не скарифицированную кожу. Разницы касались лишь интенсивности болезненных изменений, появившихся на скарифицированных местах раньше и медленнее исчезающих. Инфекция через ввод суспензии гриба прямо на волосатую кожу была возможной при условии, однако, применения ок. 100–1000 раз высушенных доз гриба. Телята оказались более чувствительными к инфекции штаммами *T. verrucosum* ($MID=10^2$) чем *T. mentagrophytes* ($MID=10^3$). *T. mentagrophytes* индуцировал болезненные изменения, клинически похожие на изменения, вызываемые *T. verrucosum*, имевшие, однако, более поверхностный характер, а самоизлечение следовало быстрее чем по инфекции *T. verrucosum*. При низкой влажности воздуха (54–65%) увлажнение кожи животных на месте инокуляции способствовало развитию болезненных изменений, появлявшихся раньше и дольше сохранявшихся и более обширных чем у живых, инфицированных без увлажнения кожи. Результаты собственных исследований продискутировали с данными литературы.

Wawrzekiewicz K., Wawrzekiewicz J. — The „in vivo” evaluation of *Trichophyton* virulence

The aim of the studies was to determine virulence of *Trichophyton* strains taking into account various methods of inoculation of infective material and various environmental conditions. The studies were performed on 74 guinea pigs and 10 calves at the age of 5–6 weeks inoculated with *T. verrucosum*, *T. mentagrophytes* and *T. mentagrophytes* var. *granulosum*. Guinea pigs were inoculated in scapular and hind region every two days with 0.1 ml of homogenized suspension of the fungus containing 10^2 – 10^6 cfu ml⁻¹. The material was rubbed a) directly on hairy skin, b) rubbed on depilated skin, c) on depilated and scarified skin and d) on a shaved skin. In calves the same material was inoculated every three days on depilated and scarified skin at a dose of 0.8 ml

per 5×5 cm² area. In two calves the skin before inoculation was additionally heavily soaked with a distilled water.

It was found that the strains of *T. mentagrophytes* were more virulent for guinea pigs than for calves and that they possessed a comparable virulence after inoculation on the depilated and scarified and on non-scarified skin. Differences concerned only the intensity of pathogenic lesions, because lesions appeared earlier and disappeared slower in scarified skin. Infection by introduction of a fungal suspension directly on hairy skin was possible only when 100–1000 times higher dose of the fungus was used.

Calves appeared to be more susceptible to *T. verrucosum* (MID 10³) than to *T. mentagrophytes* (MID 10³). *T. mentagrophytes* induced pathological lesions resembling clinically those caused by *T. verrucosum*, however, they possessed more superficial character and selfcuring appeared earlier than after *T. verrucosum* infection. At a low relative air humidity (54–65%) soaking of skin at a site of inoculation favoured the development of pathological lesions which appeared earlier persisted longer and were more intensive than in animals inoculated on skin soaked with water. The results are discussed with data of literature.

IRENA BOROWICZ

Wpływ toksyny tężcowej na poziom kwasu gammaaminomasłowego (GABA) w mózgu myszy

Katedra i Klinika Chorób Zakaźnych Akademii Medycznej
ul. Biernackiego 9, 20-089 Lublin

Toksyna tężcowa, produkt metabolizmu *Clostridium tetani*, odgrywa istotną rolę w patogenezie tężca. Zachorowanie wywołane jest przedostaniem się toksyny z miejsca zranienia do ośrodkowego układu nerwowego (OUN) drogą obwodowych nerwów ruchowych i przez korzenie przednie do komórek rogów przednich rdzenia kręgowego lub jąder ruchowych nerwów czaszkowych w pniu mózgu (3, 4, 12, 19, 20).

Przy próbach wyjaśniania mechanizmu działania toksyny dużo uwagi poświęcono synapsie nerwowo-mięśniowej (9, 20). Możliwość bezpośredniego jej wpływu na mięśnie została w zasadzie całkowicie wykluczona (11, 14, 20). W chwili obecnej nie ulega jednak wątpliwości, że osłabia ona uwalnianie acetylocholino z zakończeń presynaptycznych, nie blokuje przy tym receptorów cholinergicznych w błonie postsynaptycznej (7, 14, 23). Dochodzi więc do utworzenia typowego bloku presynaptycznego (14, 23). Efekt ten w złączu nerwowo-mięśniowym prowadzi do czynnościowego odnerwienia mięśni, dlatego też objawy niekontrolowanej ich aktywności należałoby wiązać nie ze zmianami obwodowymi, ale z procesami zachodzącymi w obrębie niektórych kategorii synaps ośrodkowych. Od dawna zresztą wiadomo, że zagrażające życiu nadmierne napięcie mięśniowe jest wynikiem centralnego działania toksyny tężcowej (9, 14, 20). Powszechnie znany jest również fakt, że toksyna tężcowa wybiórczo znosi hamujące działanie kwasu gammaaminomasłowego (GABA) w OUN poprzez zablokowanie jego uwalniania do przestrzeni synaptycznej (5, 8).

Przypuszcza się, że zwiększona aktywność nerwowa i związana z nią gotowość drgawkowa przynajmniej częściowo wynika z zakłócenia równowagi między zawartością poszczególnych układów neuromediatorów w OUN (1). Stwierdzono, że wzrost stężenia przekazników pobudzających: glutaminianu i asparaginianu, bądź

też obniżenie stężenia przekazników hamujących: GABA i gliceryny może być powodem wzmożonej częstości wyładowań w neuronach, co w konsekwencji prowadzi do napadów drgawkowych (2).

Na tej podstawie można wnosić, że różne typy zespołów drgawkowych np. wywołane działaniem leków, czy też napady padaczkowe wiążą się między innymi z uszkodzeniem syntezy lub zaburzeniem funkcji synaptycznego GABA (6, 10).

Celem przeprowadzonych badań było określenie wpływu różnych dawek toksyny tężcowej na poziom podstawowego neuromediatora hamującego — GABA w mózgu myszy.

Materiał i metody

Doświadczenia przeprowadzono na białych myszach, samcach szczepu Albino-Swiss, o masie ciała od 16 do 20 g. Zwierzęta przebywały w warunkach standardowych, miały swobodny dostęp do wody i pożywienia. Na 24 godziny przed rozpoczęciem doświadczeń losowo wybrane myszy grupowano w osobnych klatkach, a badania zarówno zwierząt kontrolnych, jak i doświadczalnych wykonywano w jednym czasie. Podczas trwania eksperymentu utrzymywano stałe warunki otoczenia. Badano całe mózgi myszy, które wypraparowywano po dekapitacji zwierząt.

Toksynę tężcową serii TTe 6 (Biomed Lublin) podawano dootrzewnowo w objętości 0,1 ml/10 g masy ciała myszy. LD₅₀ obliczano na podstawie działania śmiertelnego toksyny w ciągu sześciu dni obserwacji wg metody Litchfielda i Wilcoxa (17). Poziom GABA oznaczano w mózgu myszy metodą Love (18) w modyfikacji Suttona i Simmondsa (22) po 12, 24, 36, 48, 72 i 96 godzinach od podania toksyny tężcowej w dawkach odpowiadających LD₅₀ i 1/2LD₅₀. Ponadto określano zawartość GABA po 24 godzinach od wstrzyknięcia toksyny tężcowej w następujących dawkach: 1/160LD₅₀, 1/80LD₅₀, 1/16LD₅₀, 1/8LD₅₀, 1/4LD₅₀, 1/2LD₅₀, LD₅₀, 2LD₅₀, 4LD₅₀.

Analizę statystyczną otrzymanych wyników przeprowadzono w oparciu o test t-Studenta sprawdzając istotność różnicy pomiędzy średnimi wartościami GABA w grupach kontrolnych i doświadczalnych.