

FRANCISZEK KAMYSZEK

Przeżywalność spor *Trichophyton mentagrophytes* w przewodzie pokarmowym muchy domowej (*Musca domestica*)

Zakład Higieny Weterynaryjnej w Poznaniu
Kierownik: dr T. ŁOSINSKI

W badaniach własnych nad rolą much w biernym przenoszeniu chorobotwórczych grzybów określono wpływ na to zjawisko takich czynników jak: czasokres kontaktowania się z grzybem (2), pory roku (3) oraz warunki bioklimatyczne (temperatura, wilgotność, ochładzanie) (4).

Doświadczenia na świnkach morskich wykazały, że w dogodnych warunkach owady te mogą przenosić grzyby na zwierzęta (5). W trakcie prowadzonych badań zaobserwowano, że w czasie kontaktowania się much z hodowlą grzyba, owady zjadały grzybnię. W związku z tym powstało pytanie, jaki jest dalszy los spożytych spor grzybiczych w przewodzie pokarmowym much, czy wydalone wraz z kałem zachowują właściwości wzrostu na sztucznych podłożach i chorobotwórczość dla zwierząt. Zagadnienie to stało się tematem niniejszej pracy.

Materiał i metody

Doświadczenia prowadzono w 2 okresach tj. od kwietnia do sierpnia 1966 r. i od maja do sierpnia 1967 r. Cały cykl badań podzielono na dwie części: pierwsza obejmowała badania na muchach, druga na świnkach morskich.

Część I. Do badań użyto 1000 much w 5 grupach (3 doświadczalne, 2 kontrolne).

Muchy doświadczalne w ilości 935 sztuk, zakażono drogą kontaktu z 12–14 dniową hodowlą patogenego grzyba *Trichophyton mentagrophytes* var. *gypseum* (szczerp muzealny ZHW Poznań nr 85/65). Został on wyhodowany z materiału pobranego z hodowli wielkostadnej od krowy z klinicznymi objawami grzybicy skóry. Po 5 godzinnym kontakcie z grzybem, muchy podzielono na 3 grupy i poddano kąpeli. Grupę I kąpiano w 1%, II w 2% roztworze formaliny przez 0,5 min. a potem przenoszono każdą sztukę do oddzielnej odpowiednio oznaczonej próbówki z podłożem Sabourauda w której pozostawa przez

30 min. Z podłoż, muchy przenoszono do jałowych ponumerowanych próbek na 1 godzinę. Oddawany przez nie kał w tych próbkach, wysiewano na podłoże Sabourauda. Po godzinie, muchy poddawano 5 min. kąpeli w 70% roztworze alkoholu, w czasie której wszystkie padały. Po odcięciu i rozdrobnieniu narządów gębowych, skrzydeł i odnóży wykonywano posiewy. Następnie dokonywano mikrosekcji tułowia. Czynność tę przeprowadzono pod lupą stereoskopową przy powiększeniu 15–25 krotnym wg następującej kolejności. Muchę układano grzbietowo na jałowym szkiełku podstawowym i przytrzymując igłą przecinano nożykiem preparacyjnym powłoki brzuszne, odsłaniało jelito i po jego wypreparowaniu odcinano końcowy odcinek, układano na oddzielnym jałowym szkiełku. Technika posiewu polegała na bardzo dokładnym rozdrobnieniu zawartości jelita, a następnie za pomocą zgiętego wyjałowionego drucika przenoszono możliwie najdrobniejsze cząsteczki na agar skośny (Sabourauda) dokonując 3–5 posiewów na jednej próbówce.

Muchy z grupy III, po 5 godzinnym kontaktowaniu się z grzybem poddawano kąpeli w 5% fenolu przez 1 minutę zamiast w roztworze formaliny. Śmierć następowała w ciągu 24–40 sekund. Po wypłukaniu ich w wodzie destylowanej, wysiewano po odcięciu rozdrobnione narządy pyszczkowe, skrzydła i odnóży oraz po wypreparowaniu końcowy odcinek jelita. Podobne zabiegi wykonano na sztukach z grup kontrolnych, z tym jednak, że cykl postępowania z muchami w grupie IV był identyczny, jak w grupie II, w V natomiast jak w III-ciej.

Posiany materiał (narządy pyszczkowe, skrzydła, odnóży i jelita) od much z wszystkich 5 grup umieszczono w termostacie w temp. 25–27° C i inkubowano go przez 21 dni kontrolując wzrost. Za dodatnie uznano próby, w których nastąpił wzrost grzybów z kału lub jelita, względnie z kału i jelita przy równocześnie ujemnym wyniku posiewu powłok zewnętrznych. Brak wzrostu z powłok zewnętrznych i jelita lub kału oraz wzrost tylko z powłok zewnętrznych uznano za wyniki ujemne. W przypadku równoczesnego wzrostu grzybów z powłok zewnętrznych i jelita lub kału, próby oceniono jako wątpliwe (tab. 1).

Ocena wzrostu grzybów z jelit natrafiała na duże trudności, gdyż około 60–70% hodowli było zanieczy-

Tab. 1. Wyniki badań hodowlanych much doświadczalnych i kontrolnych

Grupa	Wysiany materiał	Ilość much	Powłok zewn. (+)	Powłoki zewn. jelito kał (±)	Kał (+)	Jelito (+)	Kał i jelito (+)	Próby (—)	Ogółem		
									ujemne (—)	wątpliwe (±)	dodatnie (+)
			sztuk	%	%	%	%	%	%	%	%
doświadczalne	I	235	10,7	23,4	17,0	20,4	4,7	23,4	34,1	23,8	42,1
	II	220	18,2	20,5	16,4	22,7	5,4	16,8	35,0	20,5	44,5
	III	480	4,3	2,3	—	48,8	—	44,6	48,9	2,3	48,8
	razem	935	9,2	12,0	8,1	35,5	2,5	32,7	41,9	12,0	46,1
kontrolne	IV	30	—	—	—	—	—	100,0	100,0	—	—
	V	35	—	—	—	—	—	100,0	100,0	—	—
	razem IV i V	65	—	—	—	—	—	100,0	100,0	—	—

szczone pleśniakami względnie innymi drobnoustrojami. Dopiero drogą kilkakrotnych przesiewów doprowadzono pierwotne kultury do czystej postaci hodowlanej. Niekiedy wzrost drobnoustrojów był tak silny, że całkowicie uniemożliwiał odczyt. W takim przypadku do przesiewu używano podłoża Sabourauda z dodatkiem aktydionu względnie penicyliny i streptomycyny. W sumie z 935 much z przewodu pokarmowego względnie z kału uzyskano 431 czystych szczepów, co stanowi 46,1%.

Część II. Użyto 16 świnek morskich o wadze 300—440 g, po szczegółowych oględzinach. Mimo, iż nie stwierdzono żadnych objawów nasuwających podejrzenie grzybicy, od 8 losowo wybranych osobników z całego pogłowia pobrano włosy i badano je mikroskopowo i drogą posiewów. Z żadnej nie wyizolowano chorobotwórczych dermatofitów. Następnie wyksubano włosy z grzbietu, a skórę przetarto 70% roztworem alkoholu. Tak przygotowane świnki podzielono na 3 grupy, z których 2 stanowiły zwierzęta doświadczalne, pozostała kontrolna.

Tab. 2. Wyniki badań przeprowadzonych na świnkach morskich

Grupa		Ogólna ilość zwierząt	Ilość zwierząt zakażonych	Grzybica stwierdzona		
				kliniczne	mikroskopowo	hodowanie
doświadczalne	I	2	2	2	2	2
	II	10	10	10	9	10
kontrolne	III a	2	—	—	—	—
	III b	2	—	—	—	—
Razem	—	16	12	12	11	12

W tym czasie 12-dniową hodowlę grzyba *Trichophyton mentagrophytes* (szczep używany do zakażenia i wyizolowany z jelit much) przygotowano do zakażenia zwierząt. W tym celu za pomocą czy zebrało kolonie z podłoża Sabourauda, a następnie dodano podgrzanego miodu i ostrożnie zmieszano w moździerzu. Tak przygotowaną zawiesinę wtarto za pomocą papieru ściernego w skórę okolicy grzbietu (Rivalier, cyt. wg 1). Do zakażenia zwierząt w grupie I użyto szczepu wyjściowego z którym kontaktowały się muchy, w II grupie 5 szczepów wyizolowanych z przewodu pokarmowego much. Każdym szczepem zakażono po 2 świnki. Świnki kontrolne podzielono na 2 podgrupy (a i b), z tym że zwierzętom z podgrupy b wtarto podgrzany miód. Świnki doświadczalne i kontrolne przebywały we wspólnym pomieszczeniu w oddzielnych klatkach po 2 sztuki.

Już 6 dnia, u kilku sztuk stwierdzono przekrwienie skóry dobrze widoczne szczególnie u zwierząt z jasnym umaszczeniem (białym, żółtym) oraz silne łuszczenie naskórka. Od 6—8 dnia pojawiły się strupy u niektórych małe, ograniczone, powierzchowne względnie głębsze lub bardziej rozlane u innych osobników. W okresie 6—9 dni zmiany skórne o różnym nasileniu wystąpiły u wszystkich zakażonych zwierząt, u kontrolnych badanie kliniczne dało wynik ujemny.

W dniach 9 i 10 po zakażeniu, pobrano zeszkrobiny i badano pod mikroskopem. W 2 próbach z grupy I i 9 w grupie II stwierdzono artrospory grzybów. U jednej doświadczalnej i u zwierząt kontrolnych mikroskopowo elementów grzybiczych nie stwierdzono.

Pobrany materiał wysiano również na podłożu Sabourauda z dodatkiem aktydionu. W 12 próbach wyhodowano szczep grzyba *Trichophyton mentagrophytes*, a więc użyty do zakażenia. Badanie hodowlane 4 prób pobranych od świnek kontrolnych dało wynik negatywny.

Omówienie i dyskusja

Wykazano, że muchy domowe kontaktujące się bezpośrednio z hodowlą chorobotwórczych grzybów zjadały je, a następnie wydalają wraz z kałem. Posiewy kału oraz treści z końcowego odcinka jelita dały wynik dodatni. Nie udało się jednak wyizolować spor grzybów od wszystkich badanych much. Spośród 935 much doświadczalnych, tylko od 431 sztuk tj. od 46,2% wyhodowano grzyb *Trichophyton*. Najniższy procent dodatnich wyników stwierdzono w grupie: I — 42,1%, w II — 44,5%, a najwyższy w III — 48,8%.

W celu uniknięcia ewentualnego zanieczyszczenia kału lub treści jelit w czasie dokonywania sekcji przez elementy grzybicze znajdujące się na powłokach zewnętrznych, muchy kłapano w 1 lub 2% roztworze formaliny w ciągu 30 sekund. Jednak nie wszystkie spory grzybów zostały usunięte lub inaktywowane w czasie kąpieli o czym świadczy duża ilość wyników wątpliwych, w grupach I (23,8%) i II (20,5%). Najmniejszą ilość wyników wątpliwych (2,3%) uzyskano w grupie III, w której muchy poddano kąpieli w 5% roztworze fenolu w ciągu 1 minuty.

W wysianych cząsteczkach narządów głowych, skrzydeł i odnóży stwierdzono również obecność grzybów. Wyniki te jednak pominięto, gdyż były one tematem dociekań opisanych w poprzednich publikacjach (2, 3, 4, 5). Również Koch (6) wykazał duży udział much w biernym przenoszeniu dermatofitów.

Badania własne nad przeżywalnością spor grzybów wykazały, że *Trichophyton mentagrophytes* przebywając w przewodzie pokarmowym muchy, nie stracił swoistych cech wzrostu ani patogenności. Obraz kliniczny u świnek morskich zakażonych szczepem wyjściowym much nie różnił się od zmian spowodowanych szczepem przepasazowanym przez jelita much.

Oceniając wyniki badań nad przeżywalnością spor grzybów w przewodzie pokarmowym much stwierdzono, że owady te oprócz biernego przenoszenia chorobotwórczych grzybów na narządach pyszczkowych, skrzydłach, odnóżach, mogą przenosić je przez kał wydalany na zewnątrz. W aspekcie biernego przenoszenia spor grzybów przez muchy należy również uwzględnić pewne fizjologiczne właściwości przewodu pokarmowego much. Muchy bowiem po obfitym najedzeniu, część pożywienia łącznie z połkniętymi drobnoustrojami zwracają na zewnątrz. Wyrzucona z wola za pomocą ssawek zawartość staje się pokarmem dla tego samego lub innego osobnika, a tym samym dalszym źródłem zarażenia (7).

Biorąc pod uwagę przenoszenie grzybów na zewnętrznych, a także wydalanie elementów grzybiczych wraz ze zwróconym pożywieniem względnie z kałem należy stwierdzić, że muchy odgrywać mogą dużą rolę w epidemiologii grzybic skórnych.

Wnioski

1) Muchy kontaktujące się z hodowlą grzybów zjadały je, a następnie wraz kałem wydalają na zewnątrz.

2) Spory grzybów wydalone wraz z kałem zachowały swoiste cechy wzrostu na podłożach sztucznych i okazały się patogenne dla świnek morskich.

Piśmiennictwo

1. Alkiewicz J.: Mikologia lekarska, PZWL, 1966.
2. Kamyszek F.: Medycyna Wet., 21, 622, 1965.
3. Kamyszek F.: Wiadomości Parazyt., 11, 567, 1965.
4. Kamyszek F.: Medycyna Wet., 23, 727, 1967.
5. Kamyszek F.: Medycyna Wet., 24, 146, 1968.
6. Koch H. A.: Insekten als Überträger vom Dermatomykosen. III Symposium Dermatologicum Internationale. Abstracta, Bratislava 1966.
7. Zóttowski Z.: Entomologia sanitarna. Muchówki. MON, Warszawa 1956.

Adres autora: dr Franciszek Kamyszek, Poznań 7, ul. Głogowska 168, m. 3.

Камышек Ф. — Выживаемость спор *Trichophyton mentagrophytes* в пищеварительном тракте домашней мухи (*Musca domestica*).

Установили, что мухи, которые имели возможность контакта с культурой гриба *Trichophyton mentagrophytes*, ели ее, а потом удаляли с калом споры. Из кала и из содержания конечного участка кишек были изолированы чистые культуры гриба. Изолированные грибы были морфологически неизменены и сохраняли характерные свойства роста на искусственных средах и патогенность для морских свинок.

Kamyszek F. — The viability of spores of *Trichophyton mentagrophytes* in the alimentary tract of the housefly (*Musca domestica* L.).

The author investigated the viability of spores of *Trichophyton mentagrophytes* and found the houseflies fed with a culture of pathogenic fungus excreted its spores with faeces. The pure fungus strain was isolated from the faeces and from the contents of the posterior part of the intestine. The fungus was not morphologically changed and retained its natural ability to grow in artificial media. It appeared to be pathogenic for guinea pigs.

FIZJOLOGIA I PATOLOGIA ROZRODU ORAZ SZTUCZNE UNASIENIANIE

ROMAN HOPPE, WOJCIECH KARCZEWSKI, JERZY JĘDRUCH

Wpływ oksytocyny na cykl płciowy i płodność u jałówek i krów*)

Katedra Położnictwa i Patologii Rozrodu Wydziału Weterynarii SGGW w Warszawie
Kierownik: prof. dr R. HOPPE

Amstrong i Hansel (1) donieśli w 1959 roku, że podawanie jałówkom oksytocyny we wczesnej fazie cyklu rujowego powoduje zahamowanie rozwoju ciała żółtego i wystąpienie przedwczesnej rui i owulacji. Inni autorzy potwierdzili to działanie oksytocyny u jałówek i krów (2, 5). Uzyskuje się je u wysokiego % zwierząt, lecz nie u wszystkich; u krów potrzebne są wyższe dawki. Hansel (1965, 2) w oparciu o szereg badań wysunął tezę, iż oksytocyna w tej fazie cyklu hamuje wydzielanie bądź uwalnianie z przysadki LH, który to hormon jest jego zdaniem u bydła hormonem luteotropowym. Uważa on, że LH, wydzielony dla pobudzenia owulacji, podtrzymuje rozwój ciała żółtego od 2 do 4 dnia cyklu. Między 4 a 7 dniem potrzebne zaś jest dodatkowe pobudzenie luteotropowe przez LH, wyłącznie którego hamuje dalszy rozwój i wydzielanie ciała żółtego.

Ponieważ wydaje się, że oksytocyna podana parenteralnie jest hormonem nie wywołującym głębszego ubocznego działania w organizmie, i szybko ulega unieczynnieniu, użycie jej dla pobudzania reprodukcji zwierząt byłoby uzasadnione.

Nie jest jednak wiadomo, czy zwierzęta zapłodnione w przedwczesnej rui miałyby nor-

malny przebieg ciąży i czy rozwój ich potomstwa byłby prawidłowy, oraz czy podawanie oksytocyny nie może wywołać utraty płodności. Celem niniejszych badań było przeto sprawdzenie, czy można przedwczesne ruje wykorzystywać w hodowli bydła.

Materiał i metody

2 dziewiczym jałówkom rasy n.c.b. w wieku 2 lat o prawidłowym cyklu rujowym wstrzykiwano podskórnie 100 j.m. oksytocyny*, w 3—5 dniu posteostrum; po każdym cyklu, w którym podawano oksytocynę, w następnym jej nie podawano. Stan jajników kontrolowano co drugi dzień rektalnie. W trzecim skróconym cyklu jałówkę Nr 1, a w czwartym jałówkę Nr 2 pokryto płodnym buhajem i obserwowano przebieg ciąży. Po wycieleniu u krowy Nr 1 przepuszczono 4, a u krowy Nr 2 2 cykle rujowe, po czym krowie Nr 2 podano w 2 kolejnych cyklach wpierw po 100 a następnie 2 razy dziennie po 100 j.m. oksytocyny. Później obu krowom podawano 2 x dziennie po 200 j.m. w 3—5 dniu posteostrum po doju. Po każdej serii zastrzyków 1—2 cykle pozostawiono bez interwencji. W 3 i 2 skróconym cyklu (odpowiednio) pokryto obie krowy tym samym buhajem, który był użyty w pierwszym doświadczeniu. Przez okres 3 miesięcy podawania oksytocyny notowano wydajność mleczną krów.

Wyniki

Jak ilustruje tabela 1, u obu jałówek dzienna dawka 100 j.m. oksytocyny podawana przez

*) Praca przedstawiona na VI Międzynarodowym Kongresie Reprodukacji Zwierząt w Paryżu w 1968 r.

*) Hypophysis pars posterior, Polfa, Warszawa.