

KRYSTYNA WAWRZKIEWICZ

Badania nad patogenezą kandydiazy

IV. Aktywność fungistatyczna surowic ludzkich i zwierzęcych w stosunku do *Candida albicans*

Katedra Mikrobiologii Wydziału Weterynarii WSR w Lublinie
Kierownik: prof. dr T. JASTRZĘBSKI

Zagadnienie mechanizmu obronnego gospodarza w przypadku infekcji grzybem *C. albicans* nie zostało dotychczas całkowicie wyjaśnione. Szereg autorów sądzi, że decydującą rolę w obronie odgrywa fagocytoza, inni natomiast główne znaczenie przypisują działaniu czynników humoralnych. Winner (24) wykazał, że w surowicach prawie $\frac{1}{3}$ badanych osób występują aglutyniny dla *C. albicans*, a Brody i Finch (3) zwrócili uwagę na podnoszenie się miana aglutynin z wiekiem osobnika. Nie stwierdzili oni jednak spadku miana aglutynin w surowicy pacjentów wykazujących obniżoną odporność w stosunku do infekcji grzybiczej np. z zaawansowaną białaczką lub chłoniakiem (*lymphoma*). W związku z tym sądzą, że przeciwciała aglutynacyjne nie mają większego znaczenia jako czynnik obronny makroorganizmu.

Niektórzy autorzy dużą rolę przypisują nieswoistym, humoralnym czynnikom obronnym. Schade i Caroline (16) wykazali antybakteryjne działanie siderofiliny (transferyny) (7) surowiczej, która w stanie nienasyconym wiąże żelazo, konieczne do wzrostu szeregu drobnoustrojów tlenowych. Inhibicja wzrostu *C. albicans* przez surowicę ma być wynikiem związania przez nienasyconą siderofilinę wolnego żelaza (4, 6). Podobny mechanizm wiązania żelaza został wykazany w hamującym wzroście *C. albicans*, płynnie przesączynowym jamy brzusznej (21).

Na rolę transferyny w systemie obronnym ustroju wskazuje zarówno brak właściwości fungistatycznych surowic noworodków i surowic pochodzących z krwi sznura pępowinowego (w których transferyna jest wysoce wysycona) (19, 20), jak i spadek zdolności inhibicyjnych surowicy przy wprowadzeniu do nich soli żelaza. Za poglądem tym przemawiają również wyniki badań Esterly i wsp. (6), którzy zauważyli że wszystkie surowice posiadające zdolność wiązania nienasyconego żelaza w ilości ponad 200 $\mu\text{g}\%$, wykazują aktywność fungistatyczną podczas gdy surowice o słabszej zdolności wiązania żelaza są nieaktywne. Jednakże nie można tłumaczyć całej zdolności fungistatycznej surowicy wyłącznie aktywnością siderofiliny. Okazało się, że w przypadku zastąpienia surowicy fungistatycznej nienasyconą transferyną, inhibicja wzrostu *Candida* (6) nie występowała.

Zasługuje na uwagę fakt, że dodatek transferyny do pewnych surowic nie wykazujących aktywności fungistatycznej (osobnicy z leuke-

mią, noworodki do 3 tyg. życia) powoduje uaktywnienie ich w stosunku do *C. albicans*, natomiast w przypadku surowicy nieaktywnej, pochodzącej z krwi sznura pępowinowego, dodatek tej samej ilości transferyny nie powoduje pojawienia się właściwości inhibicyjnych.

Szilagyi i wsp. (22) stwierdzili inhibicyjną aktywność w stosunku do *C. neoformans* frakcji α i γ globulin, co świadczy że w tym przypadku aktywność inhibicyjna surowicy związana była nie tylko z siderofiliną która jest β_1 globuliną. Biorąc to wszystko pod uwagę należy sądzić, że w normalnej surowicy oprócz siderofiliny znajduje się jeszcze inny czynnik względnie czynniki posiadające aktywność fungistatyczną.

Lorincz i wsp. (10) wykazali, że świeża surowica ludzka zawiera czynnik silnie hamujący wzrost dermatofitów, który dializuje i jest ciepłochwijny. Blank i wsp. (2) badając wpływ surowicy ludzkiej na wzrost dermatofitów stwierdzili, że na skutek obecności czynnika fungistatycznego w surowicy następuje ograniczenie wzrostu dermatofitów jedynie do warstwy zrogowaciałej. Również Bieluńska (1) obserwowała fungistatyczny wpływ surowicy ludzkiej na rozwój dermatofitów. Szereg innych autorów (12, 13, 14) rozszerzyło pracę Lorincz i wsp. wykazując hamujący wpływ surowicy ludzkiej na wzrost *C. albicans*. Działanie to było przy tym znacznie słabsze w próbkach krwi pochodzących ze sznura pępowinowego, od niemowląt w pierwszych tygodniach życia, oraz od osób z ostrymi zaburzeniami w składzie krwi. Fakt ten mógłby w pewnym stopniu tłumaczyć zwiększoną zapadalność tych osobników na kandydiazę. Surowice osób ze schorzeniami nowotworowymi, nawet w końcowych stadiach choroby, oraz pacjentów z kandydiazą skórną, mikozami systemowymi i cukrzycą, nie wykazywały redukcji aktywności fungistatycznej (5, 14). Zjawisko to przemawia przeciwko powszechnej koncepcji przyjmującej, że stan zmniejszonej ogólnej odporności ustroju sam przez się predysponuje do wystąpienia kandydiazy.

Czynnik fungistatyczny opisany przez Roth'a — nie ulega dializie, jest nieswoisty i względnie termostabilny. Różni się więc od czynnika fungistatycznego opisanego przez Lorincza i wsp. O odmiennej substancji letalnej dla *C. albicans* zawartej w surowicy ludzkiej donoszą Louria i Brayton (11). Wykazany przez nich czynnik dializuje, jest termostabilny i swoisty. Brak go u pacjentów z cukrzycą i schorzeniami nowotworowymi oraz z kandydiazą miejscową i systemową.

Podobną kandydობójczą aktywność (nie związaną z lizozymem łez) stwierdzono w wyciągach z błon śluzowych spojówek (9).

Opisane powyżej dane z piśmiennictwa zdają się wskazywać, że w normalnych surowicach ludzkich występuje szereg różnych czynników, których wzajemne powiązanie warunkuje mechanizm inhibicyjny w stosunku do *C. albicans*. Nie wykluczone jednak, że wykazane róż-

nice między poszczególnymi czynnikami są spowodowane częściowo różną metodyką pracy poszczególnych autorów oraz wahaniami indywidualnymi w składzie surowic odnośnych dawców krwi.

Badania własne miały na celu:

1 — oznaczenie aktywności fungistatycznej w odniesieniu do *C. albicans* próbek zbiorczych surowic ludzkich (co eliminowało indywidualne różnice pomiędzy surowicami poszczególnych osobników) oraz określenie niektórych właściwości ewentualnego czynnika inhibicyjnego;

2 — przebadanie próbek zbiorczych surowic od różnych gatunków zwierząt, co dotychczas nie było prawie opracowane;

3 — określenie wpływu wybranych antybiotyków na aktywność fungistatyczną surowic.

Materiał i metody

Surowice — Do badań użyto mieszanki normalnych surowic zwierzęcych (z wyjątkiem surowicy bydłowej i baraniej, które pochodziły od pojedynczych sztuk) i ludzkich, co pozwalało na eliminację indywidualnych różnic w poziomie substancji inhibicyjnej. Próbkę surowic badano każdorazowo na obecność przeciwciał pko *C. albicans*. Badane surowice dodawano do podłoża w stężeniach od 10%—50%, które następnie zasiewano odpowiednim inokulum grzyba. Przy określaniu termooporności czynnika fungistatycznego, ogrzewano surowice na łaźni wodnej w temp. 60°, 65° i 70° przez 1 godzinę.

Dializa — Badane surowice poddawano dializie w woreczkach celofanowych w stosunku do wody dest. oraz płynu fizjologicznego 0,85% przez okres 24 godz. w temp. pokojowej.

Szczepy — Badania przeprowadzono w oparciu o szczep *C. albicans* nr 50. Dla określenia swoistości czynnika fungistatycznego, wykorzystano następujące szczepy: *C. stellatoidea* nr 2295, *C. tropicalis* nr 2222, *C. pseudotropicalis* nr 2223, *C. krusei* nr 2221, *C. quilliermondi* nr 22916 i *S. cerevisiae*.

Inokulum — stanowiła sopluczyna 20 godz. hodowli zarazka o gęstości 2×10^6 komórek/ml. Podłoża płynne zasiewano 0,1 ml zawiesiny grzyba na 1 ml podłoża, umieszczano na trzęsawce i inkubowano przez 20 godz. w 37°. Podłoża stałe zasiewano 0,1 ml zawiesiny na płytkę w rozcieńczeniach 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} i inkubowano w 37°. Wyniki odczytywano po 2, 3 i 5 dniach.

Badanie zmętnienia — zmętnienie mierzono za pomocą fotometru Pulfricha. Wartość zmętnienia względne obliczano odejmując od wartości zmętnienia próbek po 20 godz. inkubacji, wartość zmętnienia względne tych samych próbek przy 0 godz. inkubacji.

Antybiotyki — W badaniach stosowano oksytetracyklinę w dawce 0,1 mg i 1 mg oraz streptomycynę w dawce 0,05 mg i 0,5 mg/ml surowicy. Surowice z antybiotykami wstrząsano przez 2 godziny w 37° i dodawano w odpowiednim procencie do podłoża. Zastosowano następujące podłoża kontrolne: a) — podłoże zawierające odpowiednie stężenie surowicy i rozpuszczalnika dla oksytetracykliny; b) — podłoża bez surowicy ale z dodatkiem odpowiednich stężeń antybiotyków; c) — podłoże Sabourauda bez surowicy i antybiotyków.

Te same antybiotyki w dawce 10 mg/kg wagi podawano i. m. królikom przez 7 dni (każdy antybiotyk 2 królikom) a następnie surowic ich badano na aktywność fungistatyczną w stosunku do *C. albicans*.

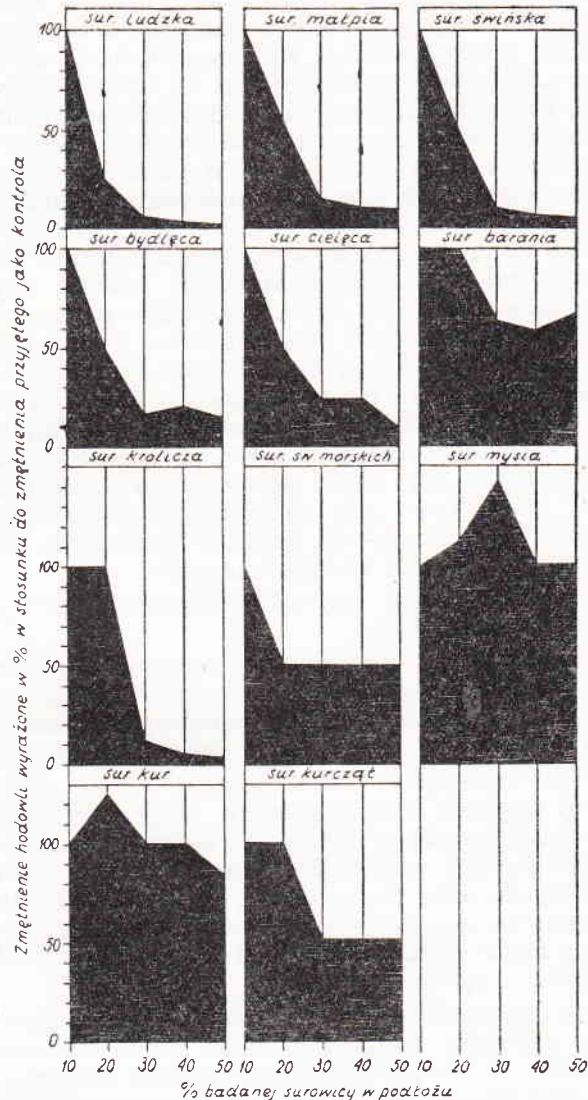
Ocena wyników — Wszelkie obliczenia aktywności wzrostu zarazka przeprowadzono w odniesieniu do kontroli tj. wzrostu lub zmętnienia maksymalnego, które przeważnie występowało w hodowli na podłożach zawierających 10% surowicy. Wzrost, względnie

zmętnienie w tych warunkach oznaczano jako 100%, zmniejszenie dwukrotne jako 50% itp. Błąd metody przy badaniu metodą płytkową Kocha wynosił ok. 17%.

Wyniki i omówienie

1. Aktywność fungistatyczna surowic zwierzęcych i ludzkich.

Badaniom poddano surowice różnych gatunków zwierząt oraz surowicę ludzką. Każdorazowo jako kontrolę nastawiano badanie z surowicą dializowaną. Otrzymane wyniki zebrano



Ryc. 1. Aktywność fungistatyczna surowic ludzkich i zwierzęcych w stosunku do *C. albicans*.

na ryc. 1. Wynika z niej, że aktywność fungistatyczna badanych surowic w stosunku do tego samego szczepu *C. albicans* była różna. Najsilniejszy efekt inhibicyjny obserwowano w surowicach ludzkich, króliczych i świńskich, — znacznie mniej aktywne okazały się surowice cielęce, małpie i bydłowe, a zupełny brak aktywności wykazywały surowice: barania, świnek morskich, myszy, kur i kurcząt. Również Roth i Goldstein (14) wspominają ogólnie, że surowice królika, świni, konia i psa posiadają zdolność

inhibicji wzrostu *C. albicans*. Autorzy nie podają jednak stopnia aktywności badanych surowic, poza tym operowali oni próbkami surowic pochodzącymi od pojedynczych osobników. O aktywności w stosunku do *C. albicans* surowic konia, psa i bawołu donoszą Srivastawa i wsp. (18). Natomiast Summers i Hasenclever (21) nie stwierdzili aktywności inhibicyjnej surowicy mysiej, a Ruchadze (15) surowicy białych szczurów.

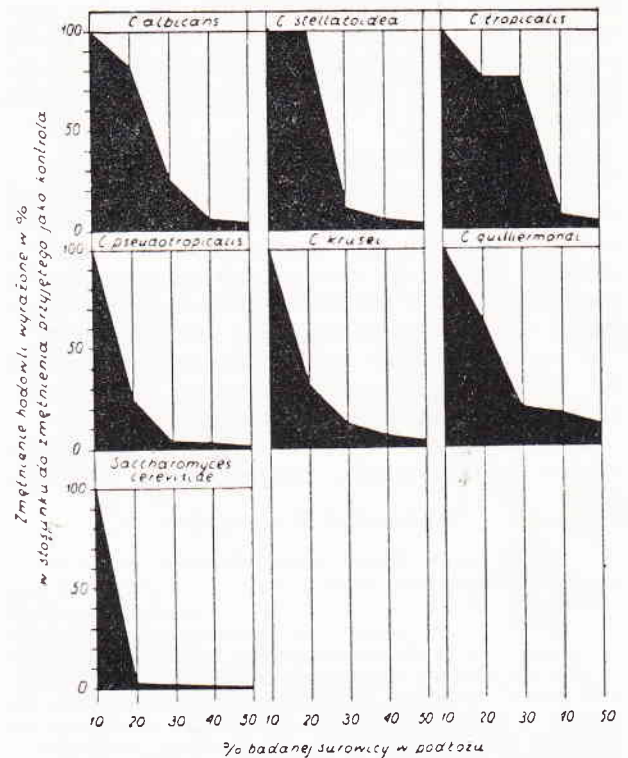
Brak zdolności fungistatycznych w surowicach pochodzących od kur i kurcząt jest bardzo interesujący z punktu widzenia wrażliwości tej grupy zwierząt w stosunku do *C. albicans*. Nasuwa się podejrzenie, że wysoki odsetek kandydiaz zarówno u noworodków ludzkich, surowica których również nie wykazuje aktywności fungistatycznej, jak i u ptaków — jest chociażby częściowo spowodowany brakiem czynnika hamującego wzrost *C. albicans*. Oczywiście inhibicją wzrostu *C. albicans* *in vitro* przez normalne surowice ludzkie czy zwierzęce nie może być bezpośrednio porównywana do złożonych mechanizmów obronnych gospodarza *in vivo*, jednakże może rzucać pewne światło na to zagadnienie. Reasumując można stwierdzić, że poziom zdolności fungistatycznych surowicy zależy nie tylko od wieku osobnika (5, 12) i stanu jego zdrowia (5, 11, 14), ale również — jak wykazały przedstawione badania własne — od gatunku zwierzęcia, od którego pochodzi badana surowica.

2. Właściwości czynnika fungistatycznego surowicy ludzkiej.

a) Zdolności dializacyjne. Stwierdzono, że aktywność fungistatyczna surowic zanika po 24-godzinnej dializie przez celofan; przemawia to za małymi wymiarami cząstek czynnika fungistatycznego.

b) Czynniki fungistatyczny a przeciwciała. Czynniki hamujące wzrost *C. albicans* nie wydaje się być związany z przeciwciałami typu aglutynin lub precypitynin, ponieważ miana badanych surowic w odczynie aglutynacji wahały się w granicach 1:2 — 1:16, a odczyn precypitacji był negatywny.

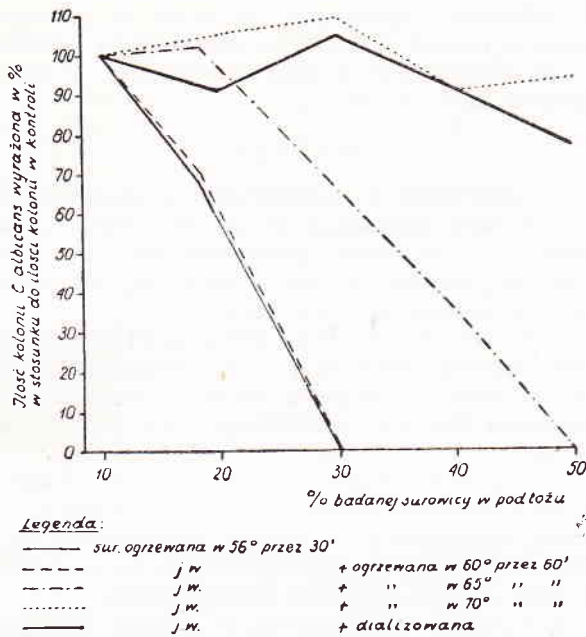
c) Swoistość. — Wyniki badań nad swoistością czynnika fungistatycznego przedstawiono na ryc. 2. Stwierdzono, że czynniki fungistatyczny obecny w normalnej surowicy ludzkiej nie jest swoisty; hamuje on wzrost zarówno *C. albicans* jak i innych gatunków grzybów z rodzaju *Candida* oraz drożdży. Stopień aktywności czynnika inhibicyjnego w stosunku do badanych szczepów jest różny. Najsilniejszy zahamowanie wzrostu obserwowano w przypadku szczepu *S. cerevisiae*. Już dodatek 20% surowicy do podłoża powodował spadek zamięnienia względnego próbek do 2,2% w stosunku do kontroli. Silny stopień inhibicji wzrostu stwierdzono również w przypadku *C. pseudotropicalis*, ale przede wszystkim przy 50% stężeniu surowicy w podłożu. Najsłabszy efekt



Ryc. 2. Aktywność fungistatyczna surowicy ludzkiej w stosunku do grzybów z rodzaju *Candida*.

fungistatyczny wywierała surowica w stosunku do *C. albicans* i *C. tropicalis*. Dodatek 20% i 30% surowicy powodował nieznaczne tylko zahamowanie wzrostu tych szczepów, natomiast 50% stężenie surowicy obniżało intensywność wzrostu w stosunku do kontroli w przypadku *C. albicans* do 4%, i w przypadku *C. tropicalis* 3,1%. Również i inni autorzy (13, 14) stosując odmienną metodykę badań oraz inne szczepy, stwierdzili najsilniejszy efekt fungistatyczny w odniesieniu do drożdży, a najsłabszy w stosunku do *C. albicans* i *C. tropicalis*. Wyniki te w pewnym stopniu mogłyby tłumaczyć dlaczego gatunkiem wywołującym najczęściej schorzenia u ludzi i zwierząt jest właśnie *C. albicans* i *C. tropicalis*.

d) Termooporność. — Wpływ temperatury na czynniki fungistatyczny zawarty w surowicy ludzkiej badano metodą płytkową Kocha. Wyniki doświadczeń ilustruje ryc. 3. Stwierdzono, że czynniki fungistatyczny jest stosunkowo ciepłooporny. Zachowuje on pełną aktywność w surowicy przy ogrzewaniu jej przez 1 godz. w 60°, częściowo tylko jest inaktywowany przy ogrzewaniu surowicy przez 1 godz. w temp. 65°, a całkowicie traci swą aktywność dopiero przy ogrzewaniu surowicy przez 1 godz. w temp. 70°. Obserwacje własne potwierdzają wyniki innych badaczy (11, 12) wspominających o termooporności czynnika fungistatycznego. Żaden jednak z autorów nie scharakteryzował ściśle wytrzymałości cieplnej czynnika hamującego wzrost *C. albicans* w surowicy ludzkiej.



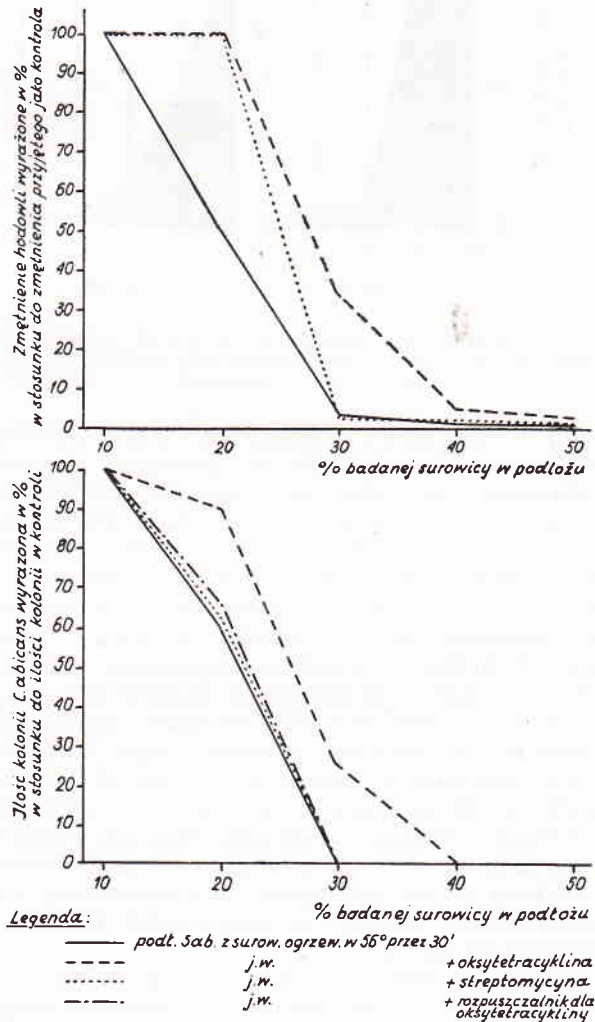
Ryc. 3. Wpływ temperatury na aktywność fungistatyczną surowicy ludzkiej w stosunku do *C. albicans*.

e) Oddziaływanie na morfologię *C. albicans*. — Zaobserwowano, że część kolonii *C. albicans* wyrosłych na podłożu Sabourauda zawierającym wyższe stężenia surowicy ludzkiej posiada zmienioną morfologię. Obok kolonii normalnych stwierdza się pewien odsetek kolonii kremowych, małych (średnica ok. 1,4 mm) lub bardzo małych (średnica ok. 0,6 mm), wykazujących skórzastą konsystencję. Większość z nich posiada pępkokowate wzniesienie w centrum. Preparaty wykonane z tych kolonii wykazują oprócz blastospor, nieliczne formy micelialne oraz chlamydospory, niespotykane nigdy w preparatach przygotowanych z kolonii wyrosłych na podłożu Sabourauda bez surowicy. Komórki *C. albicans* pochodzące z najdrobniejszych kolonii są ok. dwukrotnie mniejsze niż normalne komórki grzyba. Poza tym wyższe stężenia surowicy opóźniały wzrost *C. albicans*; część kolonii wyrastała dopiero po 2 lub 5 dniach inkubacji.

3. Antybiotyki a efekt fungistatyczny surowicy. Wyniki własnych, wcześniejszych badań (23) wykazały, że oksytetracyklina zaostrza przebieg eksperymentalnej kandydiazy u myszek i świnek morskich. Mechanizm tego oddziaływania nie jest jasny. Ponieważ w niniejszej pracy wykazano w normalnych surowicach obecność czynnika fungistatycznego, nasunęło się pytanie czy oksytetracyklina wywiera jakiś wpływ na aktywność fungistatyczną surowic. Badania wykonano dwoma metodami:

a) Badania bezpośrednie. — Określone dawki antybiotyków dodawano do podłoży płynnych, po czym zmętnienie powstające wskutek wzrostu grzybów określano za pomocą fotometru; oraz do podłoży stałych, na których następnie liczono wyrosłe kolonie *C. albicans*. Stwier-

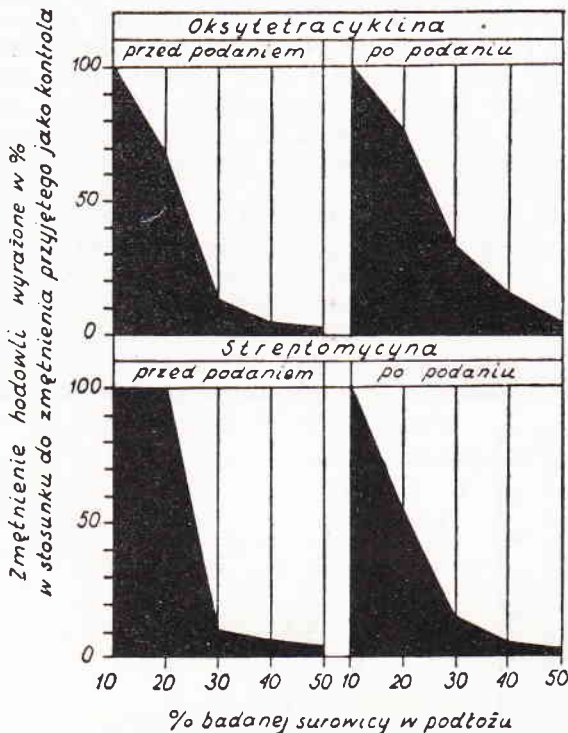
dzono, że zastosowanie 0,1 mg oksytetracykliny oraz 0,05 mg streptomycyny na 1ml surowicy nie wywiera widocznego wpływu na aktywność fungistatyczną surowicy. Natomiast użycie 10× wyższej dawki oksytetracykliny powoduje wyraźne obniżenie aktywności fungistatycznej surowicy przy niezmienionej jej aktywności w przypadku zastosowania 10× wyższej dawki streptomycyny. Wyniki badań zebrano na ryc. 4a i 4b. Badania fotometryczne wykazały, że aktywność fungistatyczna surowicy normalnej i tejże surowicy z dodatkiem streptomycyny była podobna i dość wysoka. Przy 30% stężeniu surowicy zmętnienie względne stanowiło zaledwie ok. 3,2% wartości zmętnienia względnego dla kontroli. Natomiast aktywność fungistatyczna surowicy z oksytetracykliną była wyraźnie obniżona i przy 30% stężeniu surowicy w podłożu, zmętnienie sięgało jeszcze do 33,3%. Badania hodowlane potwierdziły poprzednie obserwacje. Na podłożu z dodatkiem 30% surowicy i oksytetracykliny, ilość wyrosłych kolonii *C. albicans* była zaledwie 4-krotnie niższa niż w kontroli. Natomiast na pod-



Ryc. 4a i 4b Wpływ dodatku antybiotyków na aktywność fungistatyczną surowicy ludzkiej w stosunku do *C. albicans*.

łożu z dodatkiem 30% normalnej surowicy, surowicy i streptomycyny oraz surowicy i rozpuszczalnika dla oksytetracykliny — nie stwierdzono w ogóle wzrostu grzyba.

b) Badania pośrednie — miały na celu przebadanie jak oksytetracyklina i streptomycyna podane i. m. królikom w dawkach leczniczych wpływają na efekt fungistatyczny ich surowic. Wyniki przedstawiono na ryc. 5. Stwierdzono,



Ryc. 5. Wpływ antybiotyków podawanych i. m. królikom na aktywność fungistyczną ich surowic w stosunku do *C. albicans*.

że oksytetracyklina podobnie jak w poprzednich obserwacjach, obniżała w pewnym stopniu aktywność fungistyczną surowic króliczych, co w efekcie powodowało obfitszy wzrost *C. albicans*. Przy stężeniu 30% i 40% surowicy w próbkach, aktywność fungistyczna surowicy króliczej obniżona była średnio 3-krotnie w stosunku do aktywności surowicy tych samych królików przed zastosowaniem preparatu. Zastępuje na uwagę, że Slanetz (17) oraz Gorczyca i McCarty (8) wykazali spadek β_1 globulin w wyniku przedłużonego leczenia tetracyklinami, a Louria i Brayton (11) udowodnili, że substancje w surowicy ludzkiej inhibujące wzrost *C. albicans* migrują właśnie z frakcjami α i β globulinowymi. Podanie królikom w ten sam sposób streptomycyny nie powodowało zmiany w aktywności fungistycznej ich surowic.

Uzyskane wyniki zdają się dowodzić, że oksytetracyklina w warunkach doświadczenia w jakiś sposób inaktywuje częściowo fungistyczną aktywność normalnej surowicy, ułatwiając tym samym namnażanie się w niej

C. albicans. Obserwacja ta może w pewnym stopniu rzucać światło na mechanizm szkodliwego oddziaływania oksytetracykliny w patogenezie kandydiazy.

Wnioski

1. Aktywność fungistyczną w stosunku do *C. albicans* posiadają surowice ludzkie oraz surowice niektórych gatunków zwierząt; stopień aktywności surowicy zdaje się być związany z gatunkiem zwierzęcia,

2. Surowice zarówno kurcząt jak i kur wykazują zupełny brak aktywności fungistycznej, co w pewnym stopniu może tłumaczyć stosunkowo znaczną wrażliwość tych ptaków na zakażenie *C. albicans*,

3. Czynniki fungistatyczne zawarte w surowicach ludzkich i zwierzęcych przechodzi przez błonę celofanową w czasie 24-godzinnej dializy wobec płynu fizjologicznego, co świadczy o jego niskim ciężarze drobinowym,

4. Czynniki fungistatyczne obecne w surowicy ludzkiej charakteryzuje znaczna termooporność; traci on całkowicie swą aktywność dopiero po ogrzaniu surowicy w 70° przez godzinę,

5. Czynniki fungistatyczne zawarte w surowicy ludzkiej nie jest swoisty. Działa on inaktywująco na wzrost nie tylko *C. albicans*, ale również — i to w silniejszym stopniu — na wzrost szeregu innych gatunków grzybów z rodzaju *Candida*, jak również drożdży z rodzaju *Saccharomyces*. Zjawisko to może w pewnym sensie tłumaczyć fakt stosunkowo najczęstsze wywoływania kandydiazy u ludzi i zwierząt przez gatunek *C. albicans*.

6. Oksytetracyklina podana bezpośrednio do surowicy (*in vitro*) lub podana domięśniowo królikom (*in vivo*) powoduje częściowe obniżenie aktywności fungistycznej badanych surowic, ułatwiając tym samym namnażanie się w nich *C. albicans*. Streptomycyna nie ma tego działania. Obserwacja ta może rzucać pewne światło na mechanizm szkodliwego oddziaływania oksytetracykliny w patogenezie kandydiazy.

Piśmiennictwo

1. Bietuńska S.: XVI Zjazd Pol. Tow. Mikrob. (streszczenia) 56, 1967.
2. Blank H., Sagami S., Boyd C., Roth F.: A.M.A. Arch. Derm. 79, 524, 1959.
3. Brody J., Finch S.: Blood 15, 830, 1960.
4. Caroline L. i wsp.: J. Invest. Derm. 42, 415, 1964.
5. Esterly N., Brammer S., Crounse R.: J. Invest. Derm. 49, 248, 1967.
6. Esterly N., Brammer S., Crounse R.: J. Invest. Derm. 49, 437, 1967.
7. Fruton J., Simmonds S.: Biochemia ogólna, W-wa, PZWL, 1966.
8. Gorczyca L., McCarty W.: Antibiot. Chemotherapy 9, 587, 1959.
9. Kozinn P., Caroline L., Taschdjian C.: Science 146, 1479, 1964.
10. Lorincz A., Priestley J., Jacobs P.: J. Invest. Derm., 31, 15, 1958.
11. Louria D., Brayton R.: Nature 201, 309, 1964.
12. Roth F. i wsp.: J. Invest. Derm., 32, 549, 1959.
13. Roth F.: Mycopath. Mycol. Appl., 14, 235, 1961.
14. Roth F., Goldstein M.: J. Invest. Derm., 36, 383, 1961.
15. Ruchadze S.: Zurn. mikr. epid. immunobiol., 7, 135, 1960.
16. Schade A., Caroline L.: Science 104, 340, 1946.
17. Slanetz C.: Antibiot. Chemotherapy 3, 629, 1953.

18. Srivastawa O. i wsp.: The Journal of Antibiotics seria A (Tokyo) 18, 153, 1965.
19. Sturgeon P.: Pediatrics 13, 107, 1954.
20. Sturgeon P.: Brit. J. Haemat., 5, 45, 1959.
21. Summers D., Hasenclever H.: J. Bact., 87, 1, 1964.
22. Szilagyi G., Reiss F., Smith J.: J. Invest. Derm., 46, 303, 1966.
23. Wawrzkiwicz K.: Medycyna Wet., 25, 239, 1969.
24. Winner H.: J. Hyg., 53, 509, 1955.

Adres autora: dr Krystyna Wawrzkiwicz, Lublin, ul. Akademicka 11.

Вавжкевич К. — Исследования по патогенезу кандидиаза. IV. Фунгистатическая активность сывороток людей и животных для гриба *Candida albicans*.

Установили, что самое сильное фунгистатическое действие для *C. albicans* имеют нормальная сыворотка крови людей, кроликов и свиней. Слабее действуют сыворотки телят, обезьян и крупного рогатого скота. Совсем активности не оказались сыворотки овец, морских свинок, мышей, кур и цыплят. Отсутствие фунгистатических свойств сывороток крови кур и цыплят может иметь некоторую связь с большой чувствительностью этих птиц на инфекцию *C. albicans*. Фунгистатический фактор (ФФ) установленный в сыворотках крови людей и животных может проходить через целлофановую пленку что указывает на малые размеры его частиц. ФФ имеет большую теплоустойчивость в сыворотке крови людей он может быть инактивирован только в 1 час в 70°. ФФ человеческой сыворотки неспецифичен; он действует не только на *C. albicans* но, (даже сильнее), на другие грибы из рода *Candida* и дрожжи. Это явление быть может и является причиной самого частого вызывания кандидиаза грибом *C. albicans*.

Окситетрациклин введенный непосредственно в человеческую сыворотку или путем интрамускулярно-

го впрыскивания в сыворотку кролика вызывает частичное понижение фунгистатической активности исследованной сыворотки. Стрептомицин не оказывает этого действия. Замеченный факт быть может объясняет в известной степени механизм вредного влияния окситетрациклина в патогенезе кандидиаза.

Wawrzkiwicz K. — Observations on the pathogenesis of moniliasis. IV. The fungistatic activity of human and animal sera against *Candida albicans*.

It was found that normal human serum, rabbit and pig sera act the most effectively on *C. albicans*. Calf, monkey and cattle sera appeared to be much less effective, and sera of sheep, guinea-pigs, mice, hens and chickens did not influence *C. albicans* at all. The lack of the fungistatic activity of sera from hens and chickens can explain, to some extent, the sensitivity of these birds to *C. albicans* infections. The fungistatic agent contained in human and animal sera filters through a cellophane membrane. It indicates that the molecular weight of that agent is low. It possessed a high thermostability and was inactivated only after 1 hr heating at 70°C. The fungistatic agent contained in human serum shows a nonspecific nature and acts not only on *C. albicans* but also—and even at higher degree—on other *Candida* sp. and other yeasts. This phenomenon may to some extent elucidate why candidiasis caused by *C. albicans* is relatively common. Oxytetracycline administered directly to human sera or intramuscularly in rabbits caused the partial decrease of fungistatic activity of the investigated sera. Streptomycin does not reveal this activity. This observation may explain partly the mechanism of harmful action of oxytetracycline in pathogenesis of moniliasis.

TADEUSZ JASTRZĘBSKI
Lublin

Zakaźna martwica trzustki pstrągów

Zakaźna martwica trzustki pstrągów (*infectious pancreatic necrosis* — IPN) jest to ostra choroba wirusowa wywołująca zwyrodnienie i martwicę trzustki u narybku ryb, głównie rodziny łososiowatych (*Salmonellidae*).

Rys historyczny. Objawy choroby zostały opisane po raz pierwszy u pstrąga źródlanego w USA w 1955 r. przez Wood'a i wsp. (10). Zakaźny charakter choroby wykazali wkrótce potem Śnieszko i wsp. (4, 5). Zarazek został wyosobniony w 1960 r. przez Wolfa i wsp. (7), którzy wykazali również że jest to wirus i potwierdzili doświadczalnie jego znaczenie etiologiczne.

Występowanie. Choroba została stwierdzona u narybku pstrągów: *Salmo trutta morpha fario* (pstrąg strumieniowy), *Salmo gairdneri* (pstrąg tęczowy) i *Salvelinus fontinalis* (pstrąg źródłany) najpierw w Stanach Zjednoczonych Ameryki Północnej (4, 7, 10), a później, prawdopodobnie na tle importu ikry pstrągów, także w Europie a mianowicie we Francji (1, 2). W Polsce nie notowano występowania tego schorzenia.

Etiologia. Chorobę wywołuje mały wirus (IPN) z grupy RNA o średnicy ok. 30 nm (3). Wirus jest eterooporny, zachowuje swą ży-

wotność w +4°C ok. 5 tygodni. W temp. —70° w ciągu 36 tygodni zmniejsza się jego miano o zaledwie 0,5 log. W temperaturze pokojowej w ciągu 27 dni spadku miano nie stwierdzono. Wirus IPN nie wykazuje zdolności hemaglutynacyjnych ani hemadsorpcyjnych w stosunku do krwinek „O” człowieka oraz krwinek pstrąga i kury. Dwa porównane serologicznie szczepy okazały się serologicznie jednolite. Hodowlę wirusa IPN uzyskano w hodowli komórek (HK) gonad pstrągów, zwłaszcza na HK linii stałej RTG-2 Wolfa i Quimby (8).

Można go hodować również na pierwotnych HK innych ryb rodzin *Salmonidae* (łososiowate), *Centrarchidae* (z rzędu okoniowców) i *Cyprinidae* (karpiołate) natomiast nie udaje się to na HK żab i ssaków. Podczas namnażania się wirusa IPN okres latencyjny trwa 5 godzin a okres logarytmicznego wzrostu 12 godzin. Przy hodowli wirusa na linii stałej HK — RTG-2 Wolfa i Quimby zbiór wirusa w przeliczeniu na 1 komórkę wynosi ok 300 TCID₅₀ (od 200 do 700), a maksymalne miano ca 10⁸ TCID₅₀/ml. Cytopatogenne działanie zarazka objawia się przez skurczenie i ziarnistość plazmy, pyknozę jąder, a potem tworzenie się zlepów komórek i odpadanie ich od szkła.