

44. Rouse B. T., Grewal A. S., Babiuk L. A., Fujimiyu J.: Inf. Immun. 660, 18, 1977.
45. Rouse B. T., Wardley R. C., Babiuk L. A.: Inf. Immun. 1433, 13, 1976.
46. Rouse B. T., Wardley R. C., Babiuk L. A., Mukkur T. K. S.: J. Immun. 1957, 118, 1977.
47. Ryżewska A.: Immunologia pol. 11, 6, 1981.
48. Schmitz B.: Antikörpervermittelte Zytotoxizität der Peripheren Leukozyten des Rindes: Untersuchungen zur Altersabhängigkeit und IgG Subklassenspezifität. Praca dokt., Giessen 1980.
49. Smith G. S., Lumsden J. H.: Adv. vet. Immun. 261, 4, 1983.
50. Smolen J. E., Kochak H. W., Weissman G.: J. clin. Invest. 1077, 65, 1980.
51. Straub O. C.: Bovine Herpesvirusinfektion, VEB Gustav Fischer Verlag, Jena 1978.
52. Tchórzewski H.: Acta physiol. Pol. 1, 33, 1982.
53. Wardley R. C., Babiuk L. A., Rouse B. T.: Can. J. Microbiol. 1222, 22, 1976.
54. Wardley R. C., Rouse B. T., Babiuk L. A.: J. Reticulo-endothel. Soc. 29, 19, 1976.
55. Wrigh D. C.: Adv. Host. Defense Mech. 75, 1, 1982.
56. Wrigh D. G., Gallin J. T.: J. Immun. 285, 123, 1979.

Adres autora: dr Wiesław Depuła, ul. Bohaterów Warszawy 4, 66-400 Gorzów Wlkp.

KRYSTYNA WAWRZKIEWICZ, GRAŻYNA ZIÓŁKOWSKA

Chlamidospory *Trichophyton verrucosum*

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

Chlamidospory stanowią jeden z typów zarodników bezpiciowych wytwarzanych przez różne gatunki grzybów chorobotwórczych. Są to duże kuliste formy, o podwójnej ścianie komórkowej zawierające skupienia protoplazmy i materiałów zapasowych (13, 18). Układają się pojedynczo lub po kilka na końcach nitek grzybni (terminalnie), w ich przebiegu (interkalarnie) lub z boku nitek (lateralnie), przy czym średnica zarodników przewyższa zawsze średnicę wytwarzających je strzępek wegetatywnych.

Chlamidospory — zarodniki przetrwalnikowe (spoczynkowe) powstają najczęściej jako reakcja drobnoustroju na warunki środowiska odbiegające od optymalnych dla rozwoju grzyba np. wyczerpywanie się substancji pokarmowych, brak odpowiedniego substratu, zwiększone stężenie dwutlenku węgla (1) lub po prostu starzenie się hodowli (12). Charakterystyczne chlamidospory wytwarza m.in. *Candida albicans* (6, 11), *Histoplasma capsulatum* (1, 17), *Mucor* czy *Fusarium* (17). Wyjątkowo ten typ spor obserwuje się u dermatofitów, jakkolwiek podręczniki mikologii (5, 14, 17), charakteryzując ogólnie ich mikromorfologię, wymieniają chlamidospory obok innych zarodników.

Szczególnie uboga w elementy morfologiczne jest grzybnia *Trichophyton verrucosum*. W preparatach mikroskopowych wykonanych bezpośrednio z materiału chorobowego lub z hodowli na podłożu Sabourauda, spotyka się przede wszystkim inwazyjną postać zarazka tj. artrospory.

Bardzo nieliczni autorzy wspominają o chlamidosporach wytwarzanych przez *T. verrucosum*. Scott w 1976 r. (16) charakteryzując nowy wariant *T. verrucosum* tzw. *T. verrucosum* var. *autotrophicum* izolowany ze zmian grzybiczych owiec podaje, że przy podwyższonej temperaturze wzrostu ma on zdolność produkowania chlamidospor. Ostatnio Ditrich i Otčenašek (4) izolowali również od owiec szczep *T. verrucosum*, który na podłożu Sabourauda z glukozą w temperaturze 27°C tworzył po 30 dniach inkubacji kolonie zawierające strzępki

z interkalarnymi i terminalnymi chlamidosporami o średnicy od 4—12 µm.

Obecna praca omawia warunki, w których wytwarzane są chlamidospory przez szczepy *T. verrucosum* izolowane od bydła.

Materiał i metody

Materiał do badań stanowiło 6 wybranych losowo szczepów laboratoryjnych *Trichophyton verrucosum*: nr 43, nr 41, nr 7, nr 8, nr 208, nr Z, które wysiewano na następujące podłoża:

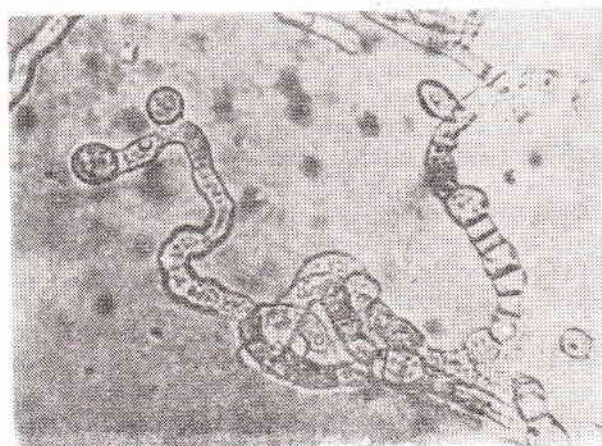
- klasyczne podłoże Sabourauda,
- podłoże Sabourauda, w którym dodatek 4% glukozy zastąpiono analogiczną ilością sacharozy, galaktozy, sorbitolu i mannitolu,
- podłoże Sabourauda bez dodatku cukru.

Wytapowane szczepy *T. verrucosum* posiewano równolegle metodą tradycyjną oraz techniką dwuwartkową (19) i inkubowano w temperaturze 37°C.

Badania powtarzano kilkakrotnie w różnym czasie, ustalając warunki, w których systematycznie stwierdzano obecność przetrwalników.

Wyniki i omówienie

Mikromorfologia szczepów *Trichophyton verrucosum* zależy w znacznym stopniu od składu podłoża. Na klasycznym podłożu Sabourauda z dodatkiem 4% glukozy, *T. verrucosum* wytwarza charakterystyczne artrospory i nielicz-



Ryc. 1. Terminalne i lateralne ułożenie chlamidospor *T. verrucosum*. Hodowla 4-dniowa na podłożu Sabourauda bez cukru. Pow. 600 ×

Tab. 1. Wytwarzanie chlamidospor przez szczepy *Trichophyton verrucosum*

Badany szczep nr	Posiewy metodą dwuwarstwową						Posiewy metodą tradycyjną					
	Podłoże Sabourauda z dodatkiem 4%											
	G	S	Ga	So	M	Bc	G	S	Ga	So	M	Bc
43	—	+++*	++	++	+	+++	—	+++	++	++	+	+++
41	—	+++	++	++	+	+++	—	+++	++	++	+	+++
208	—	+++	++	++	+	+++	—	+++	++	++	+	+++
Z	—	+++	++	++	+	+++	—	+++	++	++	+	+++
7	—	+++	++	++	+	+++	—	+++	++	++	+	+++
8	—	+++	++	++	+	+++	—	+++	++	++	+	+++

Objaśnienia: G — glukoza, S — sacharoza, Ga — galaktoza, So — sorbitol, M — mannitol, Bc — bez cukru, * — ilością plusów różnicowano intensywność produkcji chlamidospor.

ne nitki grzybni. Aleurospory można obserwować m.in. na podłożu z kazeiną i ekstraktem drożdżowym (7), podłożu wzbogaconym leucyną i witaminami (15), pożywce z krwią (9) czy podłożu ryżowym (20). Obecne badania wykazały, że usunięcie z podłoża Sabourauda glukozy lub zastąpienie jej innym cukrem indukuje produkcję form przetrwalnikowych — chlamidospor (tab. 1). Zarodniki te tworzą się zarówno w przebiegu nitek, na ich końcach, a także na bocznych odgałęzieniach osiągając wielkość 5—7 µm (ryc. 1).

Przy namnażaniu szczepów *T. verrucosum* metodą dwuwarstwową zarówno wzrost grzybów, jak i wytwarzanie chlamidospor odbywa się stosunkowo szybko tj. w ciągu trzech dni inkubacji w temp. 37°C. Te same szczepy wysiane metodą kłutą, rosną nieco wolniej (4—5 dni) i później tworzą chlamidospory (7 dni). Zaobserwowano przy tym, że formy przetrwalnikowe łatwiej znajduje się w preparatach z materiału pobranego z głębi, aniżeli z warstw powierzchniowych kolonii wrastającej w podłoże.

Stosunkowo najłatwiej typowe formy przetrwalnikowe uzyskiwano na bezcukrowym podłożu Sabourauda, ewentualnie na podłożu Sabourauda z dodatkiem 4% sacharozy. W warunkach tych wszystkie badane szczepy tworzyły regularnie chlamidospory. Wprowadzenie do podłoża w miejsce glukozy — galaktozy lub sorbitolu indukowało również produkcję zarodników przetrwalnikowych, jednakże stosunkowo rzadziej wykrywanych w preparatach mikroskopowych. Na podłożu Sabourauda z mannitolem chlamidospory pojawiały się jedynie sporadycznie.

Uwzględniając zdolność *T. verrucosum* do namnażania się na podłożu Sabourauda bez glukozy, mogłoby wydawać się, że obecność tego cukru w pożywce nie jest konieczna.

Usunięcie glukozy z podłoża w przypadkach, w których zachodzi potrzeba uzyskania dużej masy grzyba, np. przy przemysłowej produkcji szczepionki, prowadziłoby do znacznego obniżenia kosztu wytwarzania preparatu. Jednakże pojawianie się na podłożu Sabourauda bez glukozy form przetrwalnikowych dowodzi, że warunki hodowli odbiegają od warunków opty-

malnych, w których powstaje głównie postać inwazyjna grzyba-artrospory.

Uzyskane wyniki wskazują więc, że jakkolwiek *T. verrucosum* może namnażać się na podłożu Sabourauda, gdzie glukoza zastąpiona jest innym cukrem, a nawet na pożywce bezcukrowej, to jednak obecność glukozy wydaje się zapewniać prawidłowy jego rozwój.

W ogóle glukoza odgrywa istotną rolę zarówno w kształtowaniu obrazu morfologicznego grzybów, jak i w ich procesach metabolicznych. Egzogenna glukoza działa np. supresyjnie na produkcję elastazy i keratynazy (10) u rozmaitych dermatofitów, stanowiąc przyczynę mylnej niekiedy interpretacji aktywności proteolitycznej szczepów (10). Inhibycyjny efekt CO₂ w odniesieniu do wzrostu *T. mentagrophytes* (8), a także *T. verrucosum* (badania własne) uwidacznia się jedynie wówczas, gdy podłoże zawiera odpowiednie stężenie glukozy. Obecność glukozy w podłożu jest również niezbędnym warunkiem indukującym tworzenie przez *T. mentagrophytes* artrospory (8) i zwiększonej ilości makrokonidiów (2, 3) w środowisku o podwyższonej zawartości CO₂.

W świetle przytoczonych danych wydaje się więc, że dokładne poznanie mechanizmów przemian glukozy przez dermatofity stanowi ważne zagadnienie m.in. dla głębszego zrozumienia patogeny dermatomikoz.

Piśmiennictwo

1. Bartnicki-Garcia S., Nickerson W. J.: J. Bacteriol. 84, 829, 1962.
2. Chin B., Knight S. G.: J. gen. Microbiol. 16, 642, 1957.
3. Chin B., Knight S. G.: J. gen. Microbiol. 30, 113, 1963.
4. Dittich O., Otčenášek M.: Vet. Med. 27, 425, 1982.
5. Dvořák J., Otčenášek M.: Mycological diagnosis of animal dermatophytoses. Academia Praha 1969.
6. Hayashi N., Toshitani S.: Mykosen, 26, 140, 1983.
7. Kane J., Smitka C.: J. clin. Microbiol. 8, 740, 1978.
8. King R., Dillavou C. L., Greenberg J. H., Jeppsen J. C., Jaeger J. S.: Can. J. Microbiol. 22, 1720, 1976.
9. Krempf-Lamprecht L., Barfuss T., Metz J.: Mykosen, 25, 527, 1982.
10. Meevootisom V., Niederpruem D. J.: Sabouraudia, 17, 91, 1979.
11. Meinhof W., Laschka P., Scherwitz Ch.: Mykosen, 18, 291, 1975.
12. Müller E., Loeffler W.: Mykologie. Grundriss für Naturwissenschaftler und Mediziner. Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 33, 1971.
13. Palyusk M.: Mykosen, 23, 525, 1980.
14. Prochacki H.: Podstawy mikologii lekarskiej. PZWL, 1975.
15. Ragot J., Clerivet A.: Sabouraudia, 10, 284, 1972.
16. Scott D. B.: Trans. Br. mycol. Soc. 67, 342, 1976.
17. Spišiwcewa N. A.: Mikrozy i mikotoksykozy zwierząt, PWRL 1969, s. 108, 266.

18. Vanbreuseghen R., De Vroey Ch., Takashio M.: Practical guide to medical and veterinary mycology. Masson publ., New York 1978.
19. Wawrzekiewicz K., Ziółkowska G.: Medycyna Wet. 39, 539, 1983.
20. Wawrzekiewicz K., Ziółkowska G., Klimont S.: Pol. Arch. Wet. (w druku).

Adres autora: prof. dr Krystyna Wawrzekiewicz, ul. B. Chrobrego 1/19, 20-336 Lublin

Вавжевич К., Зюлковская Г. — Хламидоспоры *Trichophyton verrucosum*

Для исследований применили 6 по жребии избранных штаммов *T. verrucosum*, которые высевали классическим и двухслойным методом на различные модификации питательной среды Sabourauda. Легче всего получали типичные хламидоспоры на бессахарной питательной среде Sabourauda и на питательной среде Sabourauda, в которой глюкозу замещено аналогическим количеством сахарозы. Введение в питательную среду вместо глюкозы галактозы или сорбитола также индуцировало продукцию спор, но в ограниченном количестве. В среде с маннитом хламидоспоры появлялись лишь изредка.

Двухслойный метод позволял обнаружить рост гриба и образование хламидоспор уже на 3 день инкубации, тогда как классический метод посевов удлинял процесс до 5—7 дней.

Полученные результаты показывают, что хотя *T. verrucosum* может размножаться на среде Sabourauda без глюкозы, то, однако, правильное его развитие происходит в среде с глюкозой.

Wawrzekiewicz K., Ziółkowska G. — Chlamydospores of *Trichophyton verrucosum*

For examinations six strains of *T. verrucosum*, chosen at random, were seeded according to classic method and two-layer method on different Sabouraud's modified media. Most easily typical chlamydospores were achieved on Sabouraud's medium without sugar and on the medium in which glucose was replaced by analogous amount of sucrose. Introduction of galactose or sorbitol instead of glucose also induced the production of spores though in a limited number. In the medium with mannitol chlamydospores appeared sporadically only. Two-layer method enabled to observe the growth of the fungus and chlamydospores production as soon as on day 3rd, while the classic method of seeding prolonged this process to 5—7 days. The findings indicate that *T. verrucosum* may be propagated on Sabouraud's medium without glucose but its characteristic growth occurs in the presence of glucose contained in that medium only.

ZOFIA GOS, ANTONI J. FUROWICZ, ALINA HEJMAN

Badania nad wpływem uodporniania bukatów inaktywowaną formaliną zawiesziną szczepu *Propionibacterium acnes* na kształtowanie się odporności typu komórkowego*

Zakład Mikrobiologii Zootechnicznej Instytutu Biologicznych Podstaw Hodowli Zwierząt
Wydziału Zootechnicznego A.R. ul. dr. Judydy 12, 71-460 Szczecin

Z poznanych dotychczas immunostymulatorów, niezwykle silną aktywność wykazują bez-tlenowce „maczugowce” *P. acnes* (1, 2, 3, 8, 10, 27). Według Adlana i Reida (2) podobnie silną aktywność wykazują także szczepy *P. avidum* (typ I i II), nieco mniejszą natomiast *P. acnes* typ II (ATCC 12930). Stwierdzono, iż drobnoustroje te działaniem swoim przewyższają endotoksyny, a nawet prątki (10).

Antygeny *P. acnes* (PA) mogą powodować stymulację, a w niektórych przypadkach supresję odpowiedzi immunologicznej. Dlatego też działanie tych drobnoustrojów określa się terminem immunomodulacji (8). Mechanizm ten nie został do końca wyjaśniony. Zależy on od wielu czynników, takich jak: gatunek oraz szczep *Propionibacterium*, czas preimmunizacji, dawka immunostymulatora i antygeny, droga podania oraz gatunku zwierząt użytych do badań (13, 26).

Stwierdzono, że aktywność immunostymulacyjna (związana z glikopeptydem, lipopolisacharydami oraz estrami 6,6'-L-trehalozą występującymi w komórkach *P. acnes*), manifestuje się w organizmie zwierząt wzmożeniem proliferacji makrofagów i aktywowaniem fagocytarnych funkcji (1, 3, 15, 24). Powodują one

również wzrost monocytów krwi obwodowej, które pełnią zasadniczą rolę w obronie przeciwbakteryjnej (5). Procesowi aktywizacji monocytów i makrofagów towarzyszy wydzielanie pozakomórkowe lizosomalnych enzymów, przy czym lizozym uznano za wyznacznik sprawności głównie przeciwnowotworowej fagocytów (19). Stwierdzono ponadto, iż pobudzanie przez szczepy PA makrofagów ma pośrednio bardzo duży wpływ na zwiększenie się w organizmie wyższym liczby komórek cytotoksycznych NK (typu — natural killer) oraz limfocytów T (typu — helper i CLT), jak również K (15). Obecność tych elementów decyduje o sprawnej obronie przeciwnowotworowej oraz przeciwbakteryjnej, uzależnionej od mechanizmów swoistej i nieswoistej odporności komórkowej.

Wzbudzona przez *P. acnes* odporność chroni przeciw niektórym zakażeniom bakteryjnym (6, 16) i wirusowym (8). Odnosnie działania antywirusowego zwrócono uwagę, że niektóre szczepy PA, zwłaszcza t. I, mają właściwości indukowania substancji o charakterze interferonu, działającej inhibicyjnie na replikację wirusowych kwasów nukleinowych w komórkach zakażonego organizmu (6). Sugiyama i Epstein (25) opisali ciekawe zjawisko stymulacji proliferacji ludzkich limfocytów T oraz jednoczes-

* Praca wykonana w ramach problemu badawczego MR.II. 10, Kontrakt Nr 3-C-IV.