

## ENTAMOEBA MOSHKOVSKII JAKO DOGODNY OBIEKT DYDAKTYCZNY

W naszych zakładach dydaktycznych dla demonstracji morfologii i biologii pełzaków najczęściej posługujemy się amebami wolnożyjącymi. Mało która pracownia prowadzi dość kłopotliwą hodowlę ameb pasożytniczych. Celem niniejszej notatki jest zwrócenie uwagi na *Ent. moshkovskii*, który to gatunek morfologicznie prawie nie różni się od *Ent. histolytica* — najważniejszego pełzaka chorobotwórczego, a ponadto hoduje się *in vitro* bardzo łatwo i posiada wiele cech dogodnych dla szkolenia. Szczep pierwotniaka znajduje się w Instytucie Medycyny Morskiej w Gdańsku, skąd wszystkie zainteresowane zakłady mogą go otrzymać.

Historia badań. W r. 1938 dr L. E. Czająa, pracowniczka Instytutu Malarii i Parazytologii Lekarskiej w Moskwie, prowadząc badania epidemiologiczne nad pierwotniakami jelitowymi człowieka, spotkała w wodach ściekowych i kanałach miejskich amebę, których trofozoity i cysty zupełnie przypominały *E. histolytica*. Odmienne jednak właściwości biologiczne, jak wzrost i ruch w stosunkowo niskich temperaturach oraz niepatogenność szczepu dla człowieka i zwierząt pozwoliły autorce na opisanie nowego gatunku — *Ent. moshkovskii* — nazwanego na cześć kierownika działu Instytutu prof. S. D. Moskowskiego (Czająa: *Med. Parazit.*, 10.2.1941). W dalszych badaniach stwierdzano tego samego pierwotniaka w różnych okolicach już nie tylko Moskwy, ale Związku Radzieckiego, m. in. na południu w Gruzji i Taszkencie oraz na północy w Leningradzie. Pojawiły się również wyniki badań nad nową amebą w Brazylii (Amara i Leal, 1949, 1950, 1952) oraz w Anglii (Neal, 1950, 1953). Jest bardzo prawdopodobne, że pierwotniak ten występuje kosmopolitycznie, a więc również i w Polsce. Bardzo interesująca jest rola tej amebę, która posiada tak wiele wspólnych cech z formą pasożytniczą i niekiedy silnie patogenną. Dotychczasowe próby uzjadliwienia *E. moshk.* w szczep

chorobotwórczy nie powiodły się. Literatura dotycząca tematu liczy już kilkanaście pozycji.

**H o d o w l a l a b o r a t o r y j n a.** *E. moshkovskii* z łatwością rośnie na bardzo prostych podłożach. W naszej pracowni, podobnie jak w Moskwie, utrzymuje się na pożywce Pawłowej (*Med. Paraz.*, 7. 2. 1938).

W skład jej wchodzi płyn buforowy: NaCl 8,5; Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 0,5938, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0,4539 i *aqua dest.* 1 000,0. Po rozpuszczeniu soli płyn filtruje się przez watę i gazę, rozlewa do kolb i sterylizuje w autoklawie przy 1 atm. przez 30 min. Płyn ten daje się przechowywać dłuższy czas. Przed posiewem dodaje się surowicy końskiej lub wołowej w ilości 5 ml na 100 ml płynu, po czym gotową już pożywkę rozlewa się do sterylnych probówek po 5 — 8 ml. Do każdej probówki dodaje się ponadto 1 — 2 oczka skrobi ryżowej uprzednio wysterylizowanej w 180°C przez 40 — 60 min. pH pożywki wynosi ok. 6,8. Pożywka ta znajduje zastosowanie do hodowli różnych pierwotniaków, np. *Ent. histolytica*, *Balantidium coli*, *Trichomonas* itp.

Przesiewy *E. moshk.* robimy normalnie, przenosząc kilka kropli osadu do następnej probówki, zwykle co 2 albo 4 tygodnie. Najsilniejszy wzrost pierwotniaków uzyskuje się po 10 — 15 dniach od posiania. *Ent. moshk.* rośnie w temperaturach różnych od +8° do +37°C. Normalnie hodujemy je w ciepłocie pokojowej.

Niemal w każdej kropli płynu pobranego z dna pożywki znajdujemy bardzo liczne ameby żywo poruszające się. Posiadają one jądra z charakterystycznym dla *E. histolytica* układem chromatyny. W celu zademontrowania zjawiska fagocytozy można do kultury wpuścić kilka kropli krwi. Po pewnym czasie sfagocytowane krwinki znajdziemy w amebach.

Cysty *E. moshk.* posiadają wyraźną jasną otoczkę. Prawie zawsze zawierają liczne ciała chromatoidalne, podczas gdy w cystach *E. histol.* występują one tylko w 40 — 45%. Niedużych różnic można się poza tym dopatrzeć w preparatach barwionych. Cysty *E. moshk.* mają silniej wyrażone wakuole glikogenowe, a ich jądra są przeważnie prawidłowo zbudowane, choć niekiedy mają różne wymiary. W budowie jąder *E. histol.* zdarzają się częstsze odchylenia.

W ogóle cysty *E. histol.* występują bardzo rzadko w kulturach, podczas gdy w przypadku *E. moshk.* są one znacznie częstsze. Jeżeli zaś chcemy otrzymać cysty *E. moshk.* w dużych ilościach, czy to dla demonstracji, czy badań, postępujemy następująco: zwykły 1,5% agar (bez bulionu i peptonu) rozpuszczony w płynie fizjologicznym z ewentualnym (niekoniecznie) dodatkiem surowicy (1:20) rozlewa się na płytki Petriego. Gdy po kilkunastu minutach ostygnie, ale jeszcze nie stwardnieje, wpuszczamy na powierzchnię kilka kropli pobranych z dna po-

żywki płynnej, w której rozmnożyły się ameby. Każdą kroplę przykrywamy szkiełkiem przykrywkowym, które po pewnym czasie przykleja się do podłoża.

Tego rodzaju kultury *E. moshk.* możemy przechowywać dość długo, np. przez miesiąc w temperaturze pokojowej lub lodówki. Gdy zachodzi potrzeba demonstracji cyst, odrywamy szkiełko, zeszkrobujemy z jego powierzchni materiał czy to do kropli płynu fizjologicznego, czy płynu Lugola, w której oglądamy duże ilości torbieli. Można również całe szkiełko, po uprzednim utrwaleniu, zabarwić i przygotować preparaty stałe pod balsamem.

Sporządzanie trwałych preparatów z trofozoitów. Najlepsze preparaty z pierwotniaków uzyskuje się przez szybkie ich utrwalenie „na mokro”, np. w sublimacie. Przy posługiwaniu się materiałem z hodowli metoda ta jest niedogodna, bo większość pasożytów nie przykleja się do szkiełka, lecz zostaje splukana do płynu utrwalającego. Częściowo zapobiega temu powlekanie szkiełka białkiem jaja kurzego lub surowicą, którą można też dodawać do zawiesiny materiału. Zabieg ten posiada jednak ujemne strony. Ameby, szczególnie wrażliwe na zmianę środowiska, mają na preparacie inny wygląd aniżeli w obserwacji bezpośredniej. Są one mniejsze, bardziej zaokrąglone z licznymi przyklejonymi bakteriami.

Czajka (*Med. Paraz.*, 18.5.1949) opracowała specjalną, godną polecenia metodę. Sterylny 1,5% agar rozlewa się na płaskie szkło w warstwie grubości ok. 2 mm. Po ostygnięciu wycina się skalpelem małe kwadraciki o krawędzi ok. 1 cm, które układa się np. po 3 na szkiełku podstawowym gładką powierzchnią, a więc uprzednio dolną, do góry. Pipetą pasteurowską pobiera się badany materiał (zwykle osad kultury) i po małej kropli wpuszcza na każdy kwadracik agaru. Następnie kładzie się na nie szkiełka przykrywkowe i całość pozostawia się na  $\frac{1}{2}$  godz. w temperaturze pokojowej lub termostatu (można w komorze wilgotnej), w którym to czasie ameby pełzają w agarze na powierzchni szkiełka przykrywkowego. Z kolei, ułożone na dnie płytki Petriego preparaty zalewa się ostrożnie płynem utrwalającym, np. Schaudinna. Część szkiełek przykrywkowych odrywa się przy tym i wypływa, inne natomiast pozostają przyklejone, a płyn utrwalający przenika pod nie. Po 20 — 30 min. odrywamy te ostatnie i przenosimy do alkoholu dla dalszych normalnych zabiegów. W ten sposób na szkiełkach przykrywkowych mamy jakby odciski płytki agarowej oraz liczne przyklejone i utrwalone ameby o wyglądzie zupełnie naturalnym, nieraz z wypustkami protoplazmatycznymi. Opisana pokrótce metoda wymaga pewnej wprawy.

Zarówno szczepy pierwotniaka, jak i opisane szczegóły techniczne zawdzięczam dr Lidii Emilianownej Czaja, której w tym miejscu składam podziękowanie.

ENTAMOEBA MOSHKOVSKII KAK PODХОДЯЩИЙ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЙ  
ОБЪЕКТ

*Entamoeba moshkovskii* opisanая Л. Е. Чалаей в 1941 году, является отличным дидактическим объектом. В морфологическом отношении очень напоминает *E. histolytica* и вместе с тем легко выращивается на питательных средах. Описаны методы культур, поддержания кист и приготовления устойчивых препаратов, согласно исследованиям упомянутого автора.

ENTAMOEBA MOSHKOVSKII AS A SUITABLE EXPERIMENTAL OBJECT

*Entamoeba moshkovskii* described by L. E. T s c h a l a y a in 1941 is an excellent didactic object. Morphologically it is very much alike *E. histolytica* and is easily to be cultured on media. There are described methods of culturing, maintaining of cysts and of achieving permanent preparations, according to the investigations of the above mentioned author.