

Różnicowanie wewnątrzgatunkowe szczepów *Candida albicans* (Robin, 1853) Berkhout, 1923 z inwazji wieloogniskowych – parametry ich identyczności lub podobieństwa¹

Interspecies differentiation of *Candida albicans* (Robin, 1853) Berkhout, 1923 strains from multifocal invasions – their identity or similarity parameters

Barbara Modrzewska, Alicja Kurnatowska

Katedra Biologii i Parazytologii Lekarskiej Uniwersytetu Medycznego w Łodzi, Plac Hallera 1, 90-647 Łódź;
E-mail: barbara.modrzewska@umed.lodz.pl

ABSTRACT. The subject of analysis is a pathogenic species of fungi that has the highest prevalence in the world – *Candida albicans*. The aim of this study was to determine the identity and similarity of strains for the diagnosis of multifocal (concerning two or more organs) invasions. The material was comprised of 210 strains isolated from 83 women from 6 various ontocenoses: in group I – from the vagina, oral cavity and rectum, in group II – from the vagina and oral cavity, in group III – from the oral cavity, oesophagus, stomach, duodenum and rectum. Three tests were used in this study; API 20 C and API 20 AUX tests were used to differentiate interspecies biochemical features, and identify the codes of individual strains, while the API ZYM test was used to evaluate extracellular hydrolase activity and compare their enzymograms. Strain biotyping was also conducted with the use of binomial distribution 1:4:6:4:1. Comparing the codes of strains from successive sections of the alimentary tract identified penta-focal, tetra-focal, tri-focal and bi-focal invasions. The analysis of the enzymograms from all strains allowed the diagnosis of tri-focal and bi-focal candidosis. Consecutive hydrolase activity and biotyping evaluation demonstrated the similarity of strains from various ontocenoses. Interspecies differentiation of *Candida albicans* strains is relevant for the determination of the identity and similarity of strains, leading to multifocal infection diagnosis and localization, as well as choosing appropriate treatment.

Key words: *Candida albicans*, interspecies differentiation, multifocal invasions, identity or similarity of strains

Wstęp

Prewalencja *Candida albicans* jest najwyższa w świecie wśród grzybów chorobotwórczych dla człowieka i wielu zwierząt. Warto dodać, że dotychczas dla *C. albicans* nie wykryto stadium teleomorficznego, znanego już dla około połowy gatunków *Candida* opisanych w XX w. jako „gatunki siostrzane”, rozmnażające się płciowo, np. dla *C. kefyr* (Beijerinck, 1889) Van Uden et Buckley, 1970 jest to *Kluyveromyces marxianus* (Hansen, 1888) Van Der Walt, 1971. Można mieć nadzieję, że opisanie takie-

go gatunku dla *C. albicans* – oparte o procedury związane ze stadium rozwoju teleomorficznego – pomoże w opanowaniu jego zwiększającej się inwazyjności [1].

C. albicans należy do gatunków najczęściej wykrywanych w inwazjach wieloogniskowych, tj. takich, w których określony gatunek grzyba w tym samym czasie występuje w dwóch lub większej liczbie ognisk (narządów) żywiciela. Zarażenia te stanowią niebezpieczeństwo powikłania chorób podstawowych, nawrotów grzybic oraz uogólnienia zarażenia (inwazja uogólniona) poprzez transmisję

¹Finansowane przez UM w Łodzi 503-1013-1

grzyba do krwi lub płynu mózgowo-rdzeniowego [2].

Celem pracy było określenie wybranych wewnątrzgatunkowych cech fenotypowych szczepów wcześniej rozpoznanych jako *C. albicans*, wyodrębnionych z zarażeń wieloogniskowych u kobiet oraz zbadanie cech biochemicznych, prowadzące do oznaczenia kodów i enzymogramów hydrolaz zewnątrzkomórkowych – enzymów wpływających na patogenność grzybów – ważnych dla ustalania identyczności lub podobieństwa szczepów z różnych ontocenozy, tych samych osób.

Material i metody

Materiał do badań stanowiło 210 aksenicznych szczepów, wyodrębnionych od 83 kobiet (wiek: 18–60 lat) z tylnego sklepienia pochwy po założeniu jałowego, suchego wziernika. Jednocześnie popłuczyny jamy ustnej przenoszono na bulion oraz odrębnie na agar Sabourauda (SGA); wymaz z okolicy rectum lub kał posiewano na takie same podłoża. Z przewodu pokarmowego uzyskiwano dodatkowo podczas gastroduodenoskopii – jeśli były wskazania do tego zabiegu – treść z przełyku, żołądka i dwunastnicy.

Postępowanie w diagnostyce mikologicznej, oparte o cechy morfologiczne, makroskopowe i mikroskopowe, opisano we wcześniejszej pracy [3]. W obecnym opracowaniu różnicowano ok. 60 wewnątrzgatunkowych cech biochemicznych każdego szczepu, stosując testy firmy bioMérieux: API 20 C oraz API 20 C AUX. W toku tej analizy, przed rozpoczęciem dalszych badań, potwierdzano rozpoznanie gatunku *C. albicans* ułatwione przez zastosowanie numerycznej identyfikacji, podanej w odrębnym katalogu (Analytical Profile Index, bioMérieux, Lyon, 1990). W oparciu o sumaryczne dane, uzyskane z kolejnych doświadczeń ustalano kody dla poszczególnych szczepów. Uzupełniano te badania testem (API ZYM, bioMérieux), pozwalającym na analizę aktywności 19 hydrolaz zewnątrzkomórkowych (enzymogramy). Dodatkowo wprowadzono biotypowanie szczepów – opracowanie oryginalne – z wykorzystaniem rozkładu dwumianowego (1:4:6:4:1), w odniesieniu do wybranych enzymów: arylamidazy walinowej, fosfohydrolazy naftolowej AS-BI, α -glukozydazy i N-acetylo- β -glukozyloamidazy [4].

Badania prowadzono w dwóch grupach pacjentek (I, II) zgłaszających się do naszej Katedry z nawracającą kandydozą pochwy. W pierwszej grupie

porównano 99 szczepów wyizolowanych z trzech ontocenozy: pochwy, jamy ustnej oraz rectum; w drugiej 56 szczepów pochodzących z dwóch ontocenozy: pochwy i jamy ustnej. Trzecią grupę (III) stanowiły osoby z dolegliwościami z przewodu pokarmowego, z którego wyhodowano łącznie 55 szczepów z: jamy ustnej, przełyku, żołądka, dwunastnicy oraz rectum.

Wyniki i dyskusja

Wyróżniająca wśród szczepów *Candida* duża zmienność wewnątrzgatunkowa *C. albicans* uzasadnia ich rozległą diagnostykę: kodowanie cech biochemicznych – rozpoznawanie kodów, ocenę aktywności hydrolaz zewnątrzkomórkowych (enzymogramy) oraz analizę biotypów.

Oznaczenie kodów dla wyodrębnionych szczepów zamyka dane charakteryzujące rozpoznanie gatunku; ich katalog zawiera około 50 różnych zapisów *C. albicans*, podczas gdy dla innych gatunków wyodrębniono tylko kilka kodów (od 1 do 5). Pojedyncze związki organiczne, oznaczane odrębnie warunkowały zapis kodu. Najczęściej notowany w naszej Katedrze kod 2576174 stanowił wzorzec porównywany z kodami innych szczepów uzyskanych w toku dalszych badań (Tabela 1). Nie tylko jest opisywany w odniesieniu do szczepów *C. albicans* z przewodu pokarmowego dzieci i osób dorosłych, lecz także wykrywany wśród szczepów izolowa-

Tabela 1. Opisy kodów aksenicznych szczepów *Candida albicans*

Table 1. Description of codes of asexual *Candida albicans* strains

Kod – grupy ABCDEFG/ Codes - groups ABCDEFG	Opis, zmiany/Description, changes*
2576174	A: glukoza
	B: 2-keto-D-glukonian i ksyloza
	C: adonitol, ksylitol i galaktoza
	D: sorbitol i L-metylo-D-glukozyd
	E: N-acetylo-D-glukozamina
	F: maltoza, sacharoza, trehaloza
	G: obecne strzępki lub pseudostrzępki
2176174	w B: tylko 2-keto-D-glukonian
2776174	w B: dodatkowo L-arabinoza
2566174	w C: adonitol i galaktoza

* zmiany wobec kodu 2576174 / Changes towards to code 2576174

Tabela 2. Porównanie prevalencji szczepów *Candida albicans* o różnych kodach (odsetki \pm błąd frakcji) wykrywanych w kolejnych narządach przewodu pokarmowego

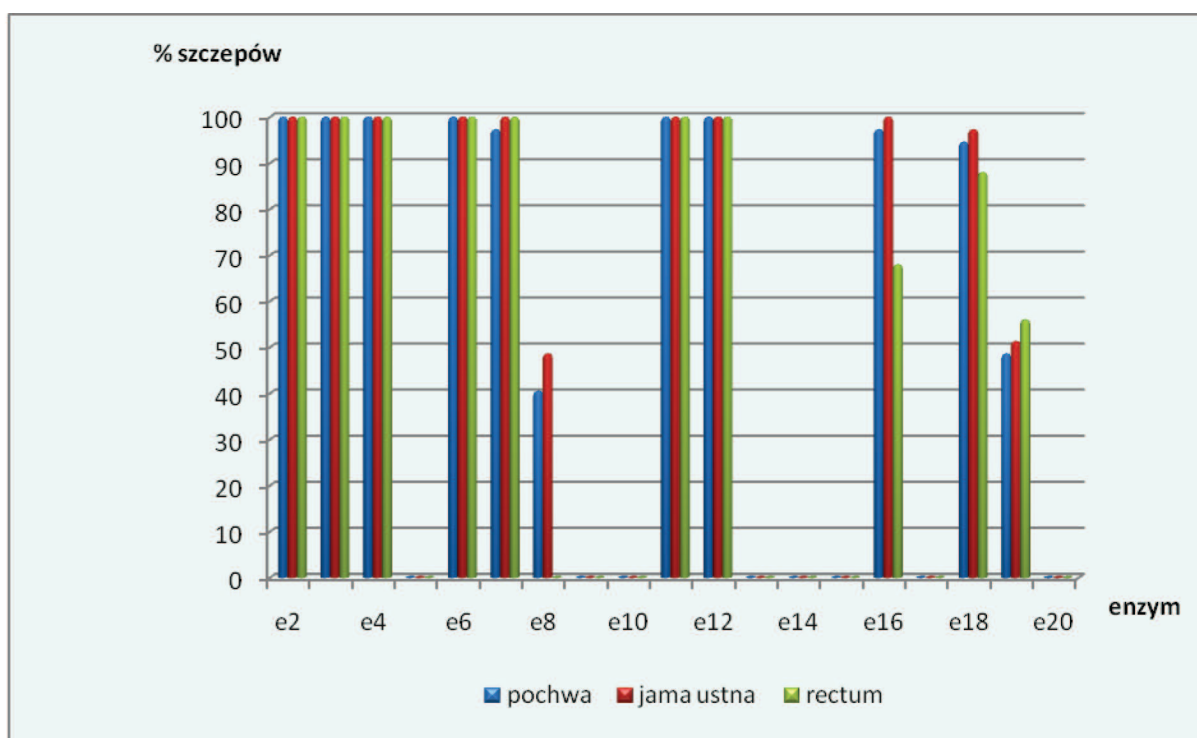
Table 2. Comparison of the prevalence of *Candida albicans* strains with various codes (percentage \pm fraction error) detected in successive organs of alimentary tract

jama ustna oral cavity	przełyk oesophagus	żołądek stomach	dwunastnica duodenum	rectum
2576174 (25,4 \pm 4,8%)	2576174 (1,2 \pm 1,2%)	2576174 (1,2 \pm 1,2%)	2576174 (18,7 \pm 4,2%)	2576174 (27,8 \pm 1,9%)
2566174 (1,2 \pm 1,2%)			2566174 (1,2 \pm 1,2%)	2566174 (1,2 \pm 1,2%)
2576134 (1,2 \pm 1,2%)		2576134 (1,2 \pm 1,2%)	2576134 (1,2 \pm 1,2%)	2576134 (1,2 \pm 1,2%)
2176174 (1,2 \pm 1,2%)	2176174 (1,2 \pm 1,2%)		2176174 (1,2 \pm 1,2%)	2176174 (1,2 \pm 1,2%)
2172174 (1,2 \pm 1,2%)				2172174 (2,4 \pm 1,7%)
6176174 (1,2 \pm 1,2%)			6176174 (1,2 \pm 1,2%)	

nych od kobiet, badanych podczas akcji profilaktyki raka szyjki macicy oraz skarżących się na dolegliwości w zakresie narządów płciowych. Warto dodać, że w tych grupach kobiet wykazano aż 16 różnych kodów szczepów *C. albicans* związanych z ontocenozą pochwy [5].

W niniejszej pracy, w ontocenozach przewodu

pokarmowego zbadanych kobiet, zapisano 6 różnych kodów dla szczepów z treści jamy ustnej, 2 z przełyku, 2 z żołądka, 5 z dwunastnicy i 5 z rectum. Należy zwrócić uwagę (Tabela 2) na wykrycie we wszystkich omawianych narządach szczepów *C. albicans* o numerze kodu 2576174 (25,4 \pm 4,77%). Dalsze kody – po jednym szczepie



Rys. 1. Sumaryczna ocena hydrolaz wykrytych we wszystkich szczepach *Candida albicans* z określonych ontocenozy (grupa I)

Fig. 1. Summary hydrolase estimation detected in all *Candida albicans* strains from specified ontocenes (group I)

Tabela 3. Zestawienie enzymów hydrolitycznych testu API ZYM i ich substratów
 Table 3. List of hydrolytic enzymes from API ZYM test and their substrates

Numer Number	Enzym/Enzyme	Hydrolizowany substrat Hydrolysed substrate	pH	Klasyfikacja* Classification*
kontrola	0	0	0	0
e ₂	fosfataza zasadowa	2-naftylofosforan	8,5	3.1.3.1
e ₃	esteraza (C4)	2-naftylomaślan	6,5	3.1.1.6
e ₄	lipaza esterazowa (C8)	2-naftylokapronian	7,5	3.1.1.3
e ₅	lipaza (C14)	2-naftylomirystylan	7,5	3.1.1.3
e ₆	arylamidaza leucynowa	L-leucylo-2-naftyloamid	7,5	3.4.11.14
e ₇	arylamidaza walinowa	L-walinylo-2-naftyloamid	7,5	3.4.11.14
e ₈	arylamidaza cystynowa	L-cystynylo-2-naftyloamid	7,5	3.4.11.14
e ₉	trypsyna	N-benzolo-DL-arginino-2-naftyloamid	8,5	3.4.4.4
e ₁₀	α-chymotrypsyna	N-glutarylo-fenylalanino-2-naftyloamid	7,5	3.4.4.5
e ₁₁	fosfataza kwaśna	2-naftylofosforan	5,4	3.1.3.2
e ₁₂	fosfohydrolaza naftolowa AS-BI	naftolu-AS-BI-fosforan	5,4	3.1.3.31
e ₁₃	α-galaktozydaza	6-Br-2-naftylo-αD-galaktopiranoza	5,4	3.2.1.22
e ₁₄	β-galaktozydaza	2-naftylo-βD-galaktopiranoza	5,4	3.2.1.23
e ₁₅	β-glukuronidaza	naftolu-AS-BI-βD-glukuronid	5,4	3.2.1.31
e ₁₆	α-glukozydaza	2-naftylo-αD-glukopiranoza	5,4	3.2.1.20
e ₁₇	β-glukozydaza	6-Br-2-naftylo-βD-glukopiranoza	5,4	3.2.1.21
e ₁₈	N-acetylo-β-glukozyloaminidaza	1-naftylo-N-acetylo-βD-glukozyloamid	5,4	3.2.1.50
e ₁₉	α-mannozydaza	6-Br-2-naftylo-αD-mannopiranoza	5,4	3.2.1.24
e ₂₀	α-fukozydaza	2-naftylo-αL-fukopiranoza	5,4	3.2.1.51

* Według Nomenclature Committee of the International Union of Biochemistry and Molecular Biology (1992) / According to Nomenclature Committee of the International Union of Biochemistry and Molecular Biology (1992)

(1,20±1,20%) – zapisano: 2566174 w jamie ustnej, dwunastnicy, rectum; 2576134 – w jamie ustnej, żołądka, dwunastnicy, rectum; 2176174 – w jamie ustnej, przełyku, dwunastnicy, rectum; 2172174 – w jamie ustnej, rectum; 6176174 – w jamie ustnej, dwunastnicy. W oparciu o prezentowane wyniki rozpoznano w przewodzie pokarmowym, wywołane przez *C. albicans* kandydozy: pięcioogniskowe, czteroogniskowe, trójogniskowe i dwuogniskowe. Wcześniej wykryte u dzieci, z podejrzeniem choroby wrzodowej lub zaburzeń wchłaniania, grzyby rodzaju *Candida* izolowano podczas gastroduodenoskopii z układu trawiennego u ponad 80% pacjentów, rozpoznając także od jednoogniskowych do pięcioogniskowych inwazji [6].

Poszukując identyczności enzymogramów szczepów, w oparciu o ocenę aktywności hydrolaz zewnątrzkomórkowych (Tabela 3), analizowano pary zapisów z różnych ontocenz kolejnych grup ko-

biet. W pierwszej grupie, w której oceniano trzy ontocenozy, uzyskano 37 szczepów z pochwy, 37 z jamy ustnej i 25 z rectum, a więc do ich jednoczesnego porównania wykorzystano po 25 zapisów (Tabela 4). Identyczność stwierdzono dla 9 (12,0±3,75%) szczepów, rozpoznając trójogniskowość zarażenia *C. albicans* u 3 pacjentek. Otrzymując 10 (20,0±5,66%) takich samych enzymogramów szczepów z pochwy i rectum oraz 6 (12,0±4,59%) z jamy ustnej i rectum, potwierdzono dwuogniskowość inwazji, łącznie u 8 kobiet. Warto podkreślić, że dla szczepów pochodzących z pochwy i jamy ustnej uzyskano aż 36 (48,6±5,81%) takich samych zapisów enzymogramów, a więc u 18 pacjentek zarażenie dotyczyło tych dwóch narządów. Enzymami najczęściej wydzielanymi do środowiska przez *C. albicans* były: fosfataza zasadowa, esteraza (C4), lipaza esterazowa (C8), arylamidaza leucynowa, arylamidaza walinowa, fosfataza kwaśna, fosfohy-

Tabela 4. Enzymogramy hydrolaz zewnątrzkomórkowych szczepów *Candida albicans* (grupa I)
 Table 4. Enzymograms of extracellular hydrolases of *Candida albicans* strains (group I)

Nr szczepu	K	Zapisy enzymów szczepów z ontocenozy pochwy										
1	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇	e ₈	e ₁₁	e ₁₂	e ₁₆	e ₁₈	e ₁₉
2	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇		e ₁₁	e ₁₂	e ₁₆	e ₁₈	e ₁₉
3	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇	e ₈	e ₁₁	e ₁₂	e ₁₆	e ₁₈	e ₁₉
4	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇		e ₁₁	e ₁₂	e ₁₆	e ₁₈	e ₁₉
5	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇		e ₁₁	e ₁₂	e ₁₆	e ₁₈	
6	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇		e ₁₁	e ₁₂	e ₁₆	e ₁₈	
7	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇	e ₈	e ₁₁	e ₁₂		e ₁₈	
8	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇		e ₁₁	e ₁₂	e ₁₆	e ₁₈	e ₁₉
9	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇		e ₁₁	e ₁₂	e ₁₆	e ₁₈	
10	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇	e ₈	e ₁₁	e ₁₂	e ₁₆	e ₁₈	
11	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇	e ₈	e ₁₁	e ₁₂	e ₁₆		
12	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇		e ₁₁	e ₁₂	e ₁₆	e ₁₈	e ₁₉
13	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇		e ₁₁	e ₁₂	e ₁₆	e ₁₈	e ₁₉
14	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇	e ₈	e ₁₁	e ₁₂	e ₁₆	e ₁₈	
15	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇	e ₈	e ₁₁	e ₁₂	e ₁₆	e ₁₈	
16	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇	e ₈	e ₁₁	e ₁₂	e ₁₆	e ₁₈	e ₁₉
17	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇		e ₁₁	e ₁₂	e ₁₆	e ₁₈	e ₁₉
18	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇		e ₁₁	e ₁₂	e ₁₆	e ₁₈	e ₁₉
19	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇		e ₁₁	e ₁₂	e ₁₆	e ₁₈	
20	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇		e ₁₁	e ₁₂	e ₁₆	e ₁₈	
21	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇	e ₈	e ₁₁	e ₁₂	e ₁₆	e ₁₈	
22	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇	e ₈	e ₁₁	e ₁₂	e ₁₆	e ₁₈	
23	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇		e ₁₁	e ₁₂	e ₁₆	e ₁₈	
24	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇		e ₁₁	e ₁₂	e ₁₆	e ₁₈	
25	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇	e ₈	e ₁₁	e ₁₂	e ₁₆	e ₁₈	e ₁₉
26	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇		e ₁₁	e ₁₂	e ₁₆	e ₁₈	e ₁₉
27	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇		e ₁₁	e ₁₂	e ₁₆	e ₁₈	e ₁₉
28	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆		e ₈	e ₁₁	e ₁₂	e ₁₆	e ₁₈	e ₁₉
29	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇	e ₈	e ₁₁	e ₁₂	e ₁₆	e ₁₈	e ₁₉
30	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇		e ₁₁	e ₁₂	e ₁₆	e ₁₈	e ₁₉
31	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇		e ₁₁	e ₁₂	e ₁₆		e ₁₉
32	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇		e ₁₁	e ₁₂	e ₁₆	e ₁₈	e ₁₉
33	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇		e ₁₁	e ₁₂	e ₁₆	e ₁₈	
34	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇	e ₈	e ₁₁	e ₁₂	e ₁₆	e ₁₈	
35	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇	e ₈	e ₁₁	e ₁₂	e ₁₆	e ₁₈	
36	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇		e ₁₁	e ₁₂	e ₁₆	e ₁₈	
37	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇		e ₁₁	e ₁₂	e ₁₆	e ₁₈	

Nr szczepu	K	Zapisy enzymów szczepów z ontocenozy jamy ustnej										
1	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇	e ₈	e ₁₁	e ₁₂	e ₁₆	e ₁₈	e ₁₉
2	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇	e ₈	e ₁₁	e ₁₂	e ₁₆	e ₁₈	e ₁₉
3	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇	e ₈	e ₁₁	e ₁₂	e ₁₆	e ₁₈	e ₁₉
4	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇		e ₁₁	e ₁₂	e ₁₆	e ₁₈	e ₁₉
5	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇		e ₁₁	e ₁₂	e ₁₆	e ₁₈	e ₁₉
6	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇	e ₈	e ₁₁	e ₁₂	e ₁₆	e ₁₈	e ₁₉
7	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇	e ₈	e ₁₁	e ₁₂	e ₁₆	e ₁₈	e ₁₉
8	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇		e ₁₁	e ₁₂	e ₁₆	e ₁₈	e ₁₉
9	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇		e ₁₁	e ₁₂	e ₁₆	e ₁₈	
10	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇	e ₈	e ₁₁	e ₁₂	e ₁₆	e ₁₈	
11	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇	e ₈	e ₁₁	e ₁₂	e ₁₆	e ₁₈	
12	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇		e ₁₁	e ₁₂	e ₁₆	e ₁₈	e ₁₉
13	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇		e ₁₁	e ₁₂	e ₁₆	e ₁₈	
14	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇		e ₁₁	e ₁₂	e ₁₆	e ₁₈	
15	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇	e ₈	e ₁₁	e ₁₂	e ₁₆	e ₁₈	
16	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇	e ₈	e ₁₁	e ₁₂	e ₁₆	e ₁₈	e ₁₉
17	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇		e ₁₁	e ₁₂	e ₁₆	e ₁₈	e ₁₉
18	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇		e ₁₁	e ₁₂	e ₁₆	e ₁₈	e ₁₉
19	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇		e ₁₁	e ₁₂	e ₁₆	e ₁₈	
20	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇		e ₁₁	e ₁₂	e ₁₆		e ₁₉
21	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇	e ₈	e ₁₁	e ₁₂	e ₁₆	e ₁₈	
22	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇	e ₈	e ₁₁	e ₁₂	e ₁₆	e ₁₈	
23	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇	e ₈	e ₁₁	e ₁₂	e ₁₆	e ₁₈	
24	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇		e ₁₁	e ₁₂	e ₁₆	e ₁₈	
25	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇		e ₁₁	e ₁₂	e ₁₆	e ₁₈	e ₁₉
26	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇	e ₈	e ₁₁	e ₁₂	e ₁₆	e ₁₈	e ₁₉
27	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇	e ₈	e ₁₁	e ₁₂	e ₁₆	e ₁₈	e ₁₉
28	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇	e ₈	e ₁₁	e ₁₂	e ₁₆	e ₁₈	e ₁₉
29	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇	e ₈	e ₁₁	e ₁₂	e ₁₆	e ₁₈	e ₁₉
30	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇	e ₈	e ₁₁	e ₁₂	e ₁₆	e ₁₈	
31	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇		e ₁₁	e ₁₂	e ₁₆	e ₁₈	e ₁₉
32	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇		e ₁₁	e ₁₂	e ₁₆	e ₁₈	
33	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇	e ₈	e ₁₁	e ₁₂	e ₁₆	e ₁₈	
34	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇		e ₁₁	e ₁₂	e ₁₆	e ₁₈	
35	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇		e ₁₁	e ₁₂	e ₁₆	e ₁₈	
36	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇		e ₁₁	e ₁₂	e ₁₆	e ₁₈	
37	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇		e ₁₁	e ₁₂	e ₁₆	e ₁₈	

Nr szczepu	K	Zapisy enzymów szczepów z rectum									
1	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇	e ₁₁	e ₁₂	e ₁₆		
2	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇	e ₁₁	e ₁₂	e ₁₆		
3	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇	e ₁₁	e ₁₂	e ₁₆	e ₁₈	e ₁₉
4	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇	e ₁₁	e ₁₂	e ₁₆	e ₁₈	
5	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇	e ₁₁	e ₁₂	e ₁₆	e ₁₈	
6	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇	e ₁₁	e ₁₂	e ₁₆	e ₁₈	e ₁₉
7	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇	e ₁₁	e ₁₂	e ₁₆	e ₁₈	e ₁₉
8	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇	e ₁₁	e ₁₂	e ₁₆		e ₁₉
9	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇	e ₁₁	e ₁₂	e ₁₆	e ₁₈	
10	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇	e ₁₁	e ₁₂	e ₁₆	e ₁₈	e ₁₉
11	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇	e ₁₁	e ₁₂	e ₁₆	e ₁₈	e ₁₉
12	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇	e ₁₁	e ₁₂	e ₁₆	e ₁₈	e ₁₉
13	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇	e ₁₁	e ₁₂		e ₁₈	e ₁₉
14	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇	e ₁₁	e ₁₂		e ₁₈	e ₁₉
15	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇	e ₁₁	e ₁₂		e ₁₈	e ₁₉
16	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇	e ₁₁	e ₁₂		e ₁₈	e ₁₉
17	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇	e ₁₁	e ₁₂		e ₁₈	e ₁₉
18	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇	e ₁₁	e ₁₂		e ₁₈	e ₁₉
19	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇	e ₁₁	e ₁₂		e ₁₈	
20	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇	e ₁₁	e ₁₂		e ₁₈	
21	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇	e ₁₁	e ₁₂	e ₁₆	e ₁₈	
22	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇	e ₁₁	e ₁₂	e ₁₆	e ₁₈	e ₁₉
23	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇	e ₁₁	e ₁₂	e ₁₆	e ₁₈	
24	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇	e ₁₁	e ₁₂	e ₁₆	e ₁₈	
25	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇	e ₁₁	e ₁₂	e ₁₆	e ₁₈	

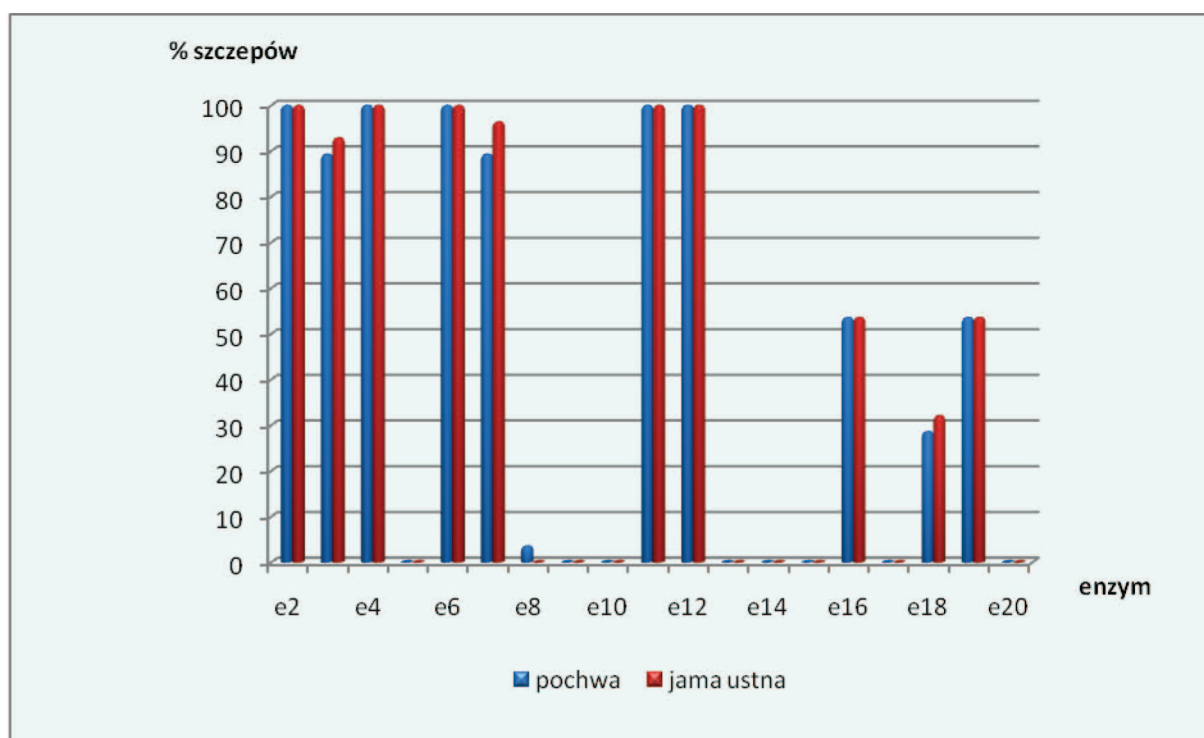
Objaśnienia/Explanations:

szcypy o enzymogramach identycznych w ontocenozie pochwy i jamy ustnej / strains with identical enzymograms in ontocenosis of vagina and oral cavity;

szcypy o enzymogramach identycznych w ontocenozie pochwy i rectum / strains with identical enzymograms in ontocenosis of vagina and rectum;

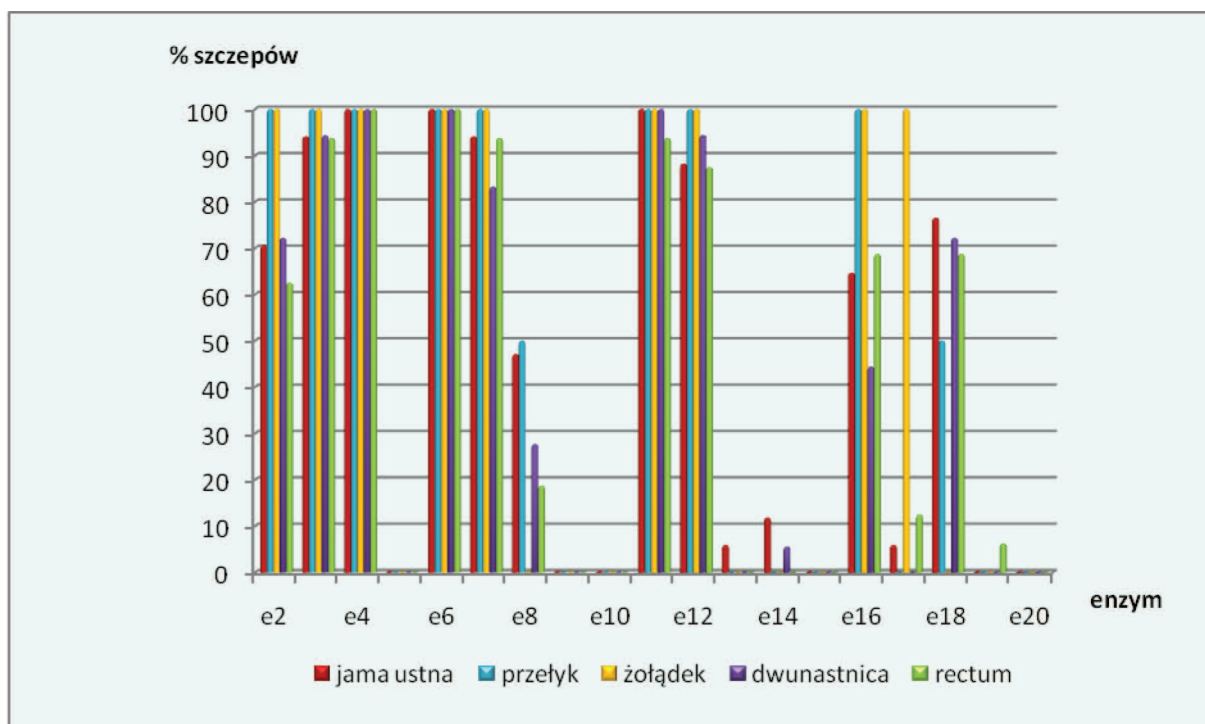
szcypy o enzymogramach identycznych w ontocenozie jamy ustnej i rectum / strains with identical enzymograms in ontocenosis of the oral cavity and rectum;

szcypy o enzymogramach identycznych w trzech ontocenozach / strains with identical enzymograms in three ontocenosis



Rys. 2. Sumaryczna ocena hydrolaz wykrytych we wszystkich szczepach *Candida albicans* z określonych ontocenoż (grupa II)

Fig. 2. Summary hydrolase estimation detected in all *Candida albicans* strains from specified ontocenoses (group II)



Rys. 3. Sumaryczna ocena hydrolaz wykrytych we wszystkich szczepach *Candida albicans* z określonych ontocenoż (grupa III)

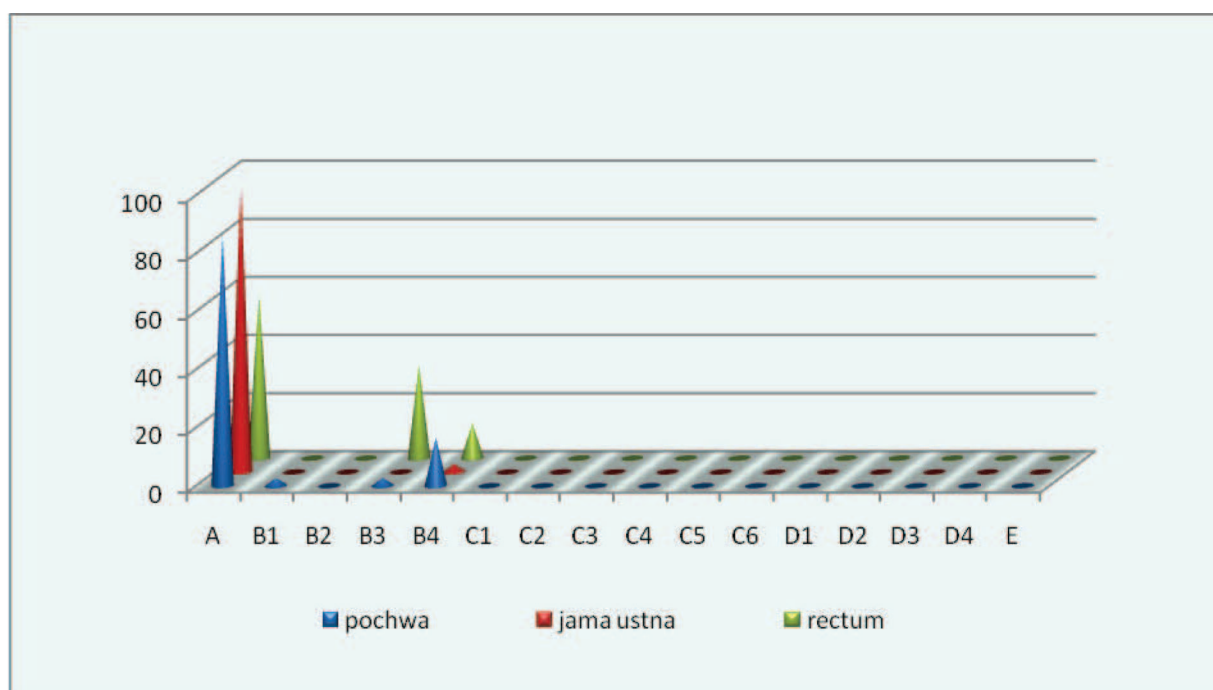
Fig. 3. Summary hydrolase estimation detected in all *Candida albicans* strains from specified ontocenoses (group III).

drolaza naftolowa AS-BI, α -glukozydaza (Rys. 1). Rzadziej wykrywano N-acetylo- β -glukozyloaminidazę, arylamidazę cystynową i α -mannozydazę; w szczepach wyizolowanych z rectum nie ujawniono arylamidazy cystynowej. W omawianych ontocenozach brak było szczepów o aktywności: lipazy (C14), trypsyny, α -chymotrypsyny, α -galaktozydazy, β -galaktozydazy, β -glukuronidazy, β -glukozydazy oraz α -fukozydazy. W pochwie nieco rzadziej niż w jamie ustnej stwierdzano obecność grzybów wydzielających do środowiska: arylamidazę walinową, arylamidazę cystynową, α -glukozydazę, N-acetylo- β -glukozyloaminidazę oraz α -mannozydazę. Natomiast w rectum, w porównaniu do pozostałych ontocenoz, jedynie sporadycznie obserwowano szczepy charakteryzujące się aktywnością α -glukozydazy i N-acetylo- β -glukozyloaminidazy.

W drugiej grupie – z której wyizolowano po 28 szczepów z pochwy i jamy ustnej – stwierdzono identyczność 36 (64,3±6,4%) z nich, a więc rozpoznano inwazję dwuogniskową u 18 kobiet (Tabela 5). Zauważono znaczne podobieństwo pozostałych szczepów obu ontocenoz; większość enzymów była wydzielana do środowiska równie często (Rys. 2). Były to: fosfataza zasadowa, lipaza esterażowa (C8), arylamidaza leucynowa, fosfataza kwasna, fosfohydrolaza naftolowa AS-BI, α -glukozyda-

za i α -mannozydaza. Zaobserwowano także brak aktywności tych samych hydrolaz – lipazy (C14), trypsyny, α -chymotrypsyny, α -galaktozydazy, β -galaktozydazy, β -glukuronidazy, β -glukozydazy, α -fukozydazy – z wyjątkiem jednego szczepu, o aktywności arylamidazy cystynowej, wyizolowanego z pochwy, którego nie wyodrębniono z jamy ustnej. Niewielkie różnice w enzymogramach opisywanych szczepów odnotowano dla esteraży (C4), arylamidazy walinowej i N-acetylo- β -glukozyloaminidazy, które częściej pojawiały się w grzybach wykrywanych w jamie ustnej.

W trzeciej grupie kobiet porównywano zapisy enzymogramów hydrolaz zewnątrzkomórkowych szczepów pochodzących z 5 ontocenoz: 17 z jamy ustnej, 2 z przełyku, 2 z żołądka, 18 z dwunastnicy i 16 z rectum (Tabela 6). Warto zwrócić uwagę, że istnieje duża różnorodność materiału pochodzącego z kolejnych odcinków przewodu pokarmowego (Rys. 3). Na podstawie identyczności szczepów wykrytych w dziesięciu parach porównywanych ontocenoz (jama ustna i przełyk, jama ustna i żołądek, jama ustna i dwunastnica, jama ustna i rectum, przełyk i żołądek, przełyk i dwunastnica, przełyk i rectum, żołądek i dwunastnica, żołądek i rectum, dwunastnica i rectum) stwierdzono dwuogniskowość zarażenia łącznie u 9 kobiet (jama ustna i przełyk, ja-



Rys. 4. Porównanie biotypów szczepów *Candida albicans* z określonych ontocenoz (grupa I)

Fig. 4. Comparison of biotypes of *Candida albicans* strains from specified ontocenoses (group I)

Tabela 5. Enzymogramy hydrolaz zewnątrzkomórkowych szczepów *Candida albicans* (grupa II)Table 5. Enzymograms of extracellular hydrolases of *Candida albicans* strains (group II)

Nr szczepu	K	Zapisy enzymów szczepów z ontocenozy pochwy										
1	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇	e ₁₁	e ₁₂	e ₁₆	e ₁₈	e ₁₉	
2	0	e ₂		e ₄	e ₆	e ₇	e ₁₁	e ₁₂	e ₁₆			
3	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇	e ₁₁	e ₁₂	e ₁₆		e ₁₉	
4	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇	e ₁₁	e ₁₂			e ₁₈	
5	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇	e ₁₁	e ₁₂	e ₁₆	e ₁₈		
6	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇	e ₁₁	e ₁₂				
7	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆		e ₁₁	e ₁₂	e ₁₆		e ₁₉	
8	0	e ₂		e ₄	e ₆	e ₇	e ₁₁	e ₁₂	e ₁₆			
9	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇	e ₁₁	e ₁₂	e ₁₆	e ₁₈	e ₁₉	
10	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇	e ₁₁	e ₁₂	e ₁₆	e ₁₈	e ₁₉	
11	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇	e ₁₁	e ₁₂	e ₁₆	e ₁₈	e ₁₉	
12	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇	e ₁₁	e ₁₂	e ₁₆			
13	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇	e ₁₁	e ₁₂		e ₁₈	e ₁₉	
14	0	e ₂		e ₄	e ₆	e ₇	e ₁₁	e ₁₂	e ₁₆	e ₁₈	e ₁₉	
15	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆		e ₁₁	e ₁₂			e ₁₉	
16	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆		e ₁₁	e ₁₂			e ₁₉	
17	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇	e ₁₁	e ₁₂	e ₁₆		e ₁₉	
18	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇	e ₈	e ₁₁	e ₁₂	e ₁₆	e ₁₉	
19	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇	e ₁₁	e ₁₂			e ₁₉	
20	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇	e ₁₁	e ₁₂			e ₁₉	
21	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇	e ₁₁	e ₁₂				
22	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇	e ₁₁	e ₁₂				
23	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇	e ₁₁	e ₁₂	e ₁₆			
24	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇	e ₁₁	e ₁₂				
25	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇	e ₁₁	e ₁₂			e ₁₉	
26	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇	e ₁₁	e ₁₂				
27	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇	e ₁₁	e ₁₂	e ₁₆			
28	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇	e ₁₁	e ₁₂				
Nr szczepu	K	Zapisy enzymów szczepów z ontocenozy jamy ustnej										
1	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇	e ₁₁	e ₁₂	e ₁₆	e ₁₈	e ₁₉	
2	0	e ₂		e ₄	e ₆	e ₇	e ₁₁	e ₁₂	e ₁₆			
3	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇	e ₁₁	e ₁₂	e ₁₆		e ₁₉	
4	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇	e ₁₁	e ₁₂				
5	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇	e ₁₁	e ₁₂	e ₁₆	e ₁₈		
6	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇	e ₁₁	e ₁₂				
7	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇	e ₁₁	e ₁₂	e ₁₆		e ₁₉	
8	0	e ₂		e ₄	e ₆	e ₇	e ₁₁	e ₁₂	e ₁₆			
9	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇	e ₁₁	e ₁₂	e ₁₆	e ₁₈	e ₁₉	
10	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇	e ₁₁	e ₁₂	e ₁₆	e ₁₈	e ₁₉	

11	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇	e ₁₁	e ₁₂	e ₁₆	e ₁₈	e ₁₉
12	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇	e ₁₁	e ₁₂			
13	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇	e ₁₁	e ₁₂		e ₁₈	e ₁₉
14	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇	e ₁₁	e ₁₂	e ₁₆	e ₁₈	e ₁₉
15	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆		e ₁₁	e ₁₂			e ₁₉
16	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇	e ₁₁	e ₁₂			e ₁₉
17	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇	e ₁₁	e ₁₂			e ₁₉
18	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇	e ₁₁	e ₁₂	e ₁₆		e ₁₉
19	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇	e ₁₁	e ₁₂			e ₁₉
20	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇	e ₁₁	e ₁₂			e ₁₉
21	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇	e ₁₁	e ₁₂			
22	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇	e ₁₁	e ₁₂		e ₁₈	
23	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇	e ₁₁	e ₁₂	e ₁₆		
24	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇	e ₁₁	e ₁₂			
25	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇	e ₁₁	e ₁₂			e ₁₉
26	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇	e ₁₁	e ₁₂	e ₁₆	e ₁₈	
27	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇	e ₁₁	e ₁₂	e ₁₆		
28	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇	e ₁₁	e ₁₂	e ₁₆		

Objaśnienia/Explanations:

szczepy o enzymogramach identycznych w ontocenozie pochwy i jamy ustnej / strains with identical enzymograms in ontocenosis of vagina and oral cavity

ma ustna i dwunastnica, przełyk i dwunastnica, przełyk i rectum, żołądek i rectum, dwunastnica i rectum), natomiast u jednej z nich rozpoznano trójogniskowość (jama ustna, żołądek i rectum). Skupiając się na analizie grzybów z gatunku *C. albicans* wykrywanych w dwóch najbardziej odległych względem siebie narządach – jamie ustnej i rectum – identyczność zapisu enzymogramów uzyskano dla 6 (18,2±6,72%) szczepów. Na ich podobieństwo wskazuje duża liczba takich samych hydrolaz wydzielanych do podłoża niemal równie często, a mianowicie: esterazy (C4), lipazy esterazowej (C8), arylamidazy leucynowej, arylamidazy walino-owej oraz fosfohydrolazy naftolowej AS-BI. W szczepach z obu narządów nie były aktywne: lipaza (C14), tripsyna, α-chymotrypsyna, β-glukuronidaza, a także α-fukozydaza. Aktywność fosfatazy zasadowej, arylamidazy cystynowej, fosfatazy kwasnej i N-acetylo-β-glukozyloaminidazy częściej wykrywano w szczepach pochodzących z jamy ustnej niż z rectum, natomiast rzadziej ujawniano w nich α-glukozydazę oraz β-glukozydazę. W rectum nie było szczepów wykazujących aktywność α-galaktozydazy i β-galaktozydazy, które sporadycznie izolowano z jamy ustnej; dodatkowo w rectum występował jeden szczep o aktywności α-mannozydazy,

której nie wykryto w szczepach pochodzących z jamy ustnej.

Podsumowując wyniki analizy enzymogramów hydrolaz zewnątrzkomórkowych, warto podkreślić, że spośród wszystkich pacjentek aż u 35 wykryto zarażenia dwuogniskowe obejmujące: pochwę i jamę ustną, pochwę i rectum, rectum i jamę ustną, jamę ustną i przełyk, jamę ustną i żołądek, jamę ustną i dwunastnicę, przełyk i dwunastnicę, przełyk i rectum, żołądek i rectum oraz dwunastnicę i rectum. Inwazje trójogniskowe rozpoznano u 4 kobiet, wykrywając *C. albicans* w ontocenozach: pochwy, rectum i jamy ustnej oraz jamy ustnej, żołądka i rectum.

Dalszym elementem analizy było wykorzystanie rozkładu dwumianowego (1:4:6:4:1) do uporządkowania biotypów w oparciu o cztery enzymy: arylamidazę walinową, fosfohydrolazę naftolową AS-BI, α-glukozydazę i N-acetylo-β-glukozyloaminidazę (Tabela 7).

W grupie pierwszej najwięcej (56,0±9,93% – 97,3±2,66%) było szczepów o biotypie A (aktywność czterech enzymów) we wszystkich ontocenozach; w wyższym procencie izolowanych z jamy ustnej niż z pochwy lub rectum (Rys. 4). Biotypem często (32,0±9,33%) oznaczanym dla szczepów

Tabela 6. Enzymogramy hydrolaz zewnątrzkomórkowych szczepów *Candida albicans* (grupa III)Table 6. Enzymograms of extracellular hydrolases of *Candida albicans* strains (group III)

Nr szczepu	K	Zapisy enzymów szczepów z ontocenozy jamy ustnej																	
1	0	e ₃	e ₄		e ₆	e ₇			e ₁₁	e ₁₂									
2	0	e ₃	e ₄		e ₆	e ₇	e ₈		e ₁₁	e ₁₂			e ₁₆		e ₁₈				
3	0	e ₃	e ₄		e ₆	e ₇			e ₁₁	e ₁₂			e ₁₆		e ₁₈				
4	0	e ₃	e ₄		e ₆	e ₇	e ₈		e ₁₁	e ₁₂					e ₁₈				
5	0	e ₂		e ₄	e ₆	e ₇	e ₈		e ₁₁						e ₁₈				
6	0	e ₃	e ₄		e ₆	e ₇	e ₈		e ₁₁	e ₁₂			e ₁₆		e ₁₈				
7	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇	e ₈		e ₁₁	e ₁₂		e ₁₄	e ₁₆		e ₁₈				
8	0	e₂	e₃	e₄	e₆	e₇	e₈		e₁₁	e₁₂			e₁₆		e₁₈				
9	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇	e ₈		e ₁₁		e ₁₃	e ₁₄	e ₁₆		e ₁₈				
10	0	e ₂	e ₃	e ₄	-	e ₆	e ₇	-	-	-	e ₁₁	e ₁₂	-	-	-	e ₁₆	e ₁₇	-	-
11	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇			e ₁₁	e ₁₂			e ₁₆						
12	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇			e ₁₁	e ₁₂			e ₁₆		e ₁₈				
13	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇			e ₁₁	e ₁₂					e ₁₈				
14	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇	e ₈		e ₁₁	e ₁₂					e ₁₈				
15	0	e₂	e₃	e₄	e₆	e₇			e₁₁	e₁₂			e₁₆						
16	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆				e ₁₁	e ₁₂			e ₁₆		e ₁₈				
17	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇			e ₁₁	e ₁₂					e ₁₈				
Nr szczepu	K	Zapisy enzymów szczepów z ontocenozy przełyku																	
1	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇			e ₁₁	e ₁₂			e ₁₆						
2	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇	e ₈		e ₁₁	e ₁₂			e ₁₆		e ₁₈				
Nr szczepu	K	Zapisy enzymów szczepów z ontocenozy żołądka																	
1	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇			e ₁₁	e ₁₂			e ₁₆	e ₁₇					
2	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇			e ₁₁	e ₁₂			e ₁₆	e ₁₇					
Nr szczepu	K	Zapisy enzymów szczepów z ontocenozy dwunastnicy																	
1	0	e ₃	e ₄		e ₆	e ₇	e ₈		e ₁₁	e ₁₂									
2	0	e ₃	e ₄		e ₆	e ₇			e ₁₁	e ₁₂			e ₁₆		e ₁₈				
3	0	e ₃	e ₄		e ₆	e ₇			e ₁₁	e ₁₂					e ₁₈				
4	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆				e ₁₁	e ₁₂									
5	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆				e ₁₁	e ₁₂					e ₁₈				
6	0	e ₃	e ₄		e ₆	e ₇			e ₁₁	e ₁₂			e ₁₆		e ₁₈				
7	0	e ₃	e ₄		e ₆	e ₇			e ₁₁	e ₁₂									

8	0	e ₂	e ₄	e ₆	e ₇	e ₁₁	e ₁₂			
9	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇	e ₁₁	e ₁₂		
10	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇	e ₈	e ₁₁	e ₁₂	e ₁₄ e ₁₆ e ₁₈
11	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇	e ₈	e ₁₁	e ₁₂	e ₁₆ e ₁₈
12	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇		e ₁₁	e ₁₂	e ₁₆ e ₁₈
13	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇		e ₁₁	e ₁₂	e ₁₆ e ₁₈
14	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇		e ₁₁	e ₁₂	e ₁₆ e ₁₈
15	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇	e ₈	e ₁₁		e ₁₈
16	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆			e ₁₁	e ₁₂	e ₁₆ e ₁₈
17	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇		e ₁₁	e ₁₂	e ₁₈
18	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇		e ₁₁	e ₁₂	e ₁₈
Nr szczepu	K	Zapisy enzymów szczepów z rectum								
1	0	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇	e ₁₁	e ₁₂			e ₁₆
2	0	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇		e ₁₂			e ₁₆
3	0	e ₃	e ₄	e ₆		e ₁₁	e ₁₂			
4	0	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇	e ₈	e ₁₁	e ₁₂		e ₁₆ e ₁₈
5	0	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇	e ₈	e ₁₁	e ₁₂		e ₁₆ e ₁₈
6	0	e ₂	e ₄	e ₆	e ₇	e ₈	e ₁₁			e ₁₈
7	0	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇		e ₁₁			e ₁₆ e ₁₈
8	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇	e ₁₁	e ₁₂		e ₁₆ e ₁₇ e ₁₈ e ₁₉
9	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇	e ₁₁	e ₁₂		e ₁₆
10	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇	e ₁₁	e ₁₂		e ₁₆ e ₁₇
11	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇	e ₁₁	e ₁₂		e ₁₆ e ₁₈
12	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇	e ₁₁	e ₁₂		e ₁₈
13	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇	e ₁₁	e ₁₂		e ₁₆ e ₁₈
14	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇	e ₁₁	e ₁₂		e ₁₆ e ₁₈
15	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇	e ₁₁	e ₁₂		e ₁₈
16	0	e ₂	e ₃	e ₄	e ₆	e ₇	e ₁₁	e ₁₂		e ₁₈

Objaśnienia/Explanations:

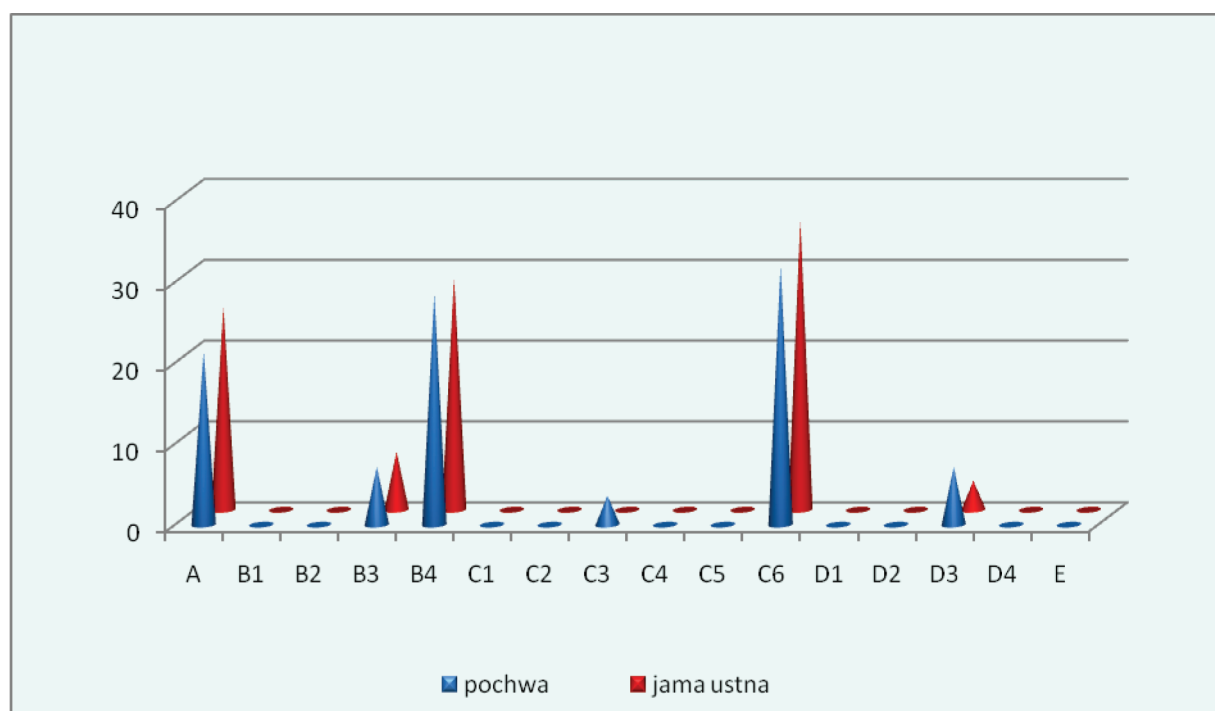
szczepy o enzymogramach identycznych w ontocenozach jamy ustnej i przełyku / strains with identical enzymograms in ontocenosis of the oral cavity and oesophagus ;

szczepy o enzymogramach identycznych w ontocenozach jamy ustnej i dwunastnicy oraz przełyku i dwunastnicy / strains with identical enzymograms in ontocenosis of the oral cavity and duodenum, oesophagus and duodenum;

szczepy o enzymogramach identycznych w ontocenozach jamy ustnej, żołądka i rectum / strains with identical enzymograms in ontocenosis of the oral cavity, stomach and rectum ;

szczepy o enzymogramach identycznych w ontocenozach jamy ustnej i żołądka / strains with identical enzymograms in ontocenosis of the oral cavity and stomach;

szczepy o enzymogramach identycznych w ontocenozach przełyku i rectum / strains with identical enzymograms in ontocenosis of the oesophagus and rectum.

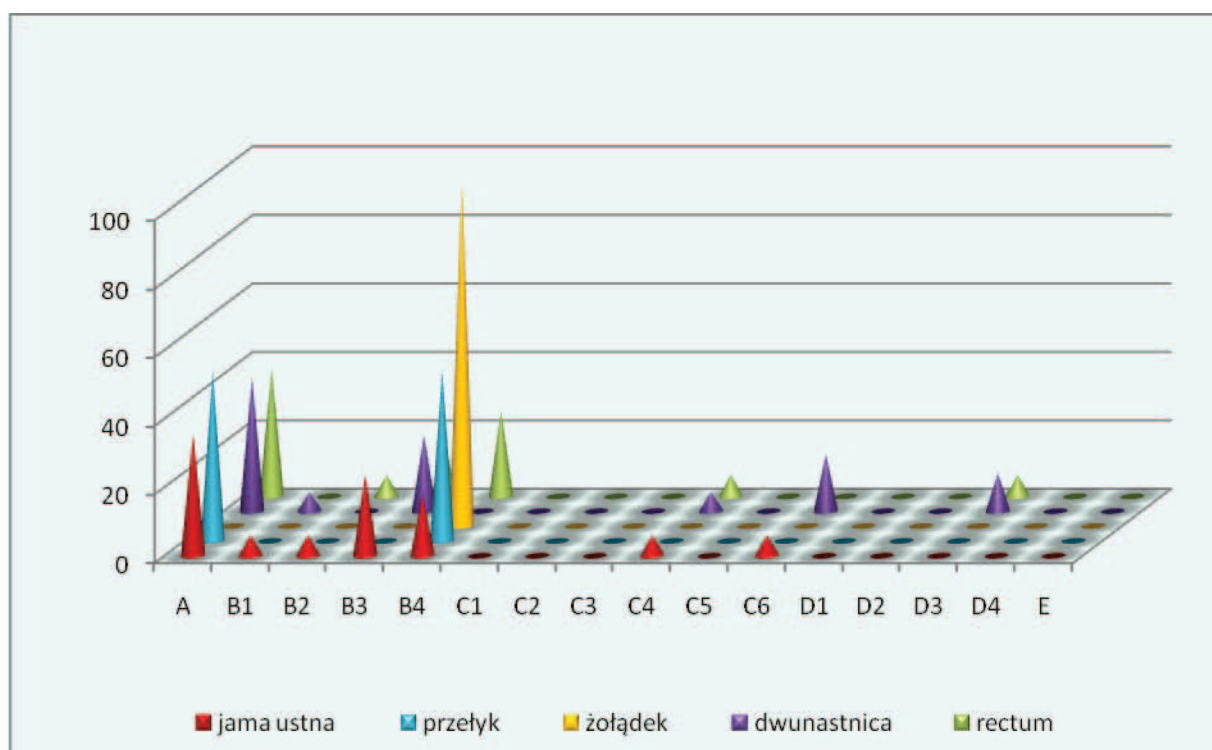


Rys. 5. Porównanie biotypów szczepów *Candida albicans* z określonych ontocenoz (grupa II)

Fig. 5. Comparison of biotypes of *Candida albicans* strains from specified ontocenoses (group II)

z rectum był B3 (aktywność trzech enzymów: aryamidazy walinowej, fosfohydrolazy naftolowej AS-BI i N-acetylo- β -glukozyloaminidazy), który w materiałach pochodzących z pochwy występował sporadycznie, a z jamy ustnej nie był wykrywany. W rectum i pochwie dość często ($12,0 \pm 6,5\%$ i $16,6 \pm 6,12\%$) obserwowano szczepo o biotypie B4

(aktywność aryamidazy walinowej, fosfohydrolazy naftolowej AS-BI i α -glukozydazy), które w jamie ustnej ujawniano rzadko. W materiałach z pochwy dodatkowo odnotowano biotyp B1 (aktywność fosfohydrolazy naftolowej AS-BI, α -glukozydazy i N-acetylo- β -glukozyloaminidazy), którego nie zapisało dla pozostałych szczepów.



Rys. 6. Porównanie biotypów szczepów *Candida albicans* z określonych ontocenoz (grupa III)

Fig. 6. Comparison of biotypes of *Candida albicans* strains from specified ontocenoses (group III)

Tabela 7. Biotypowanie szczepów *Candida albicans* izolowanych z różnych narządów człowieka (oryginał A. Kurnatowska)Table 7. Biotyping of *Candida albicans* strains isolated from different human organs (original A. Kurnatowska)

Grupa/Group	Biotyp/Biotype	e7	e12	e16	e18
A	A	+	+	+	+
B	B1	–	+	+	+
	B2	+	–	+	+
	B3	+	+	–	+
	B4	+	+	+	–
C	C1	–	–	+	+
	C2	–	+	–	+
	C3	–	+	+	–
	C4	+	–	–	+
	C5	+	–	+	–
	C6	+	+	–	–
D	D1	–	–	–	+
	D2	–	–	+	–
	D3	–	+	–	–
	D4	+	–	–	–
E	E	–	–	–	–

Objaśnienia/Explanations: e7 – arylamidaza walinowa (valine arylamidase),

e12 – fosfohydrolaza naftolowa AS-BI (naphthol-AS-BI-phosphohydrolase),

e16 – α -glukozydaza (α -glucosidase),

e18 – N-acetylo- β -glukozyloaminidaza (N-acetyl- β -glucosaminidase)

Dane dotyczące grupy drugiej wskazują na wysoki odsetek ($21,4 \pm 7,75\%$ – $25,0 \pm 8,18\%$) szczepów o aktywności czterech enzymów – biotyp A (Rys. 5). Spośród biotypów grupy B najczęściej opisywanym był B4, rzadziej występował biotyp B3. Najwyższe odsetki ($32,1 \pm 8,82\%$ – $35,7 \pm 9,05\%$) dla tych szczepów odnotowano dla biotypu C6 (aktywność dwóch enzymów: arylamidazy walinowej i fosfohydrolazy naftolowej AS-BI). Sporadycznie obserwowano biotyp D3 (aktywność tylko fosfohydrolazy naftolowej AS-BI).

W trzeciej grupie kobiet najczęściej ($35,3 \pm 11,6\%$ – $38,9 \pm 11,5\%$) wykrywano szczepy o biotypie A (Rys. 6). Często rozpoznawano biotypy z grupy B; w jamie ustnej i dwunastnicy najbardziej liczny ($23,5 \pm 10,3\%$ i $22,2 \pm 9,79\%$) był zapis biotypu B3, w rectum – B4 ($25,0 \pm 10,8\%$). W materiałach z jamy ustnej i rectum podobnie często odnotowywano biotyp B2, nie obserwowany w szczepach z dwunastnicy. W rectum nie było szczepów o biotypie B1, które wykryto w jamie ustnej i w dwunastnicy. Wśród biotypów z grupy C w tych trzech narządach znalazły się pojedyncze szczepy o zapisie C4, natomiast

C6 nie był obecny tylko w materiałach z rectum. W treści jamy ustnej nie odnotowano biotypu z grupy D; w dwunastnicy i rectum ujawniono *C. albicans* o zapisie D3. W przypadkach szczepów wyizolowanych z żołądka, oba należały do biotypu C1, natomiast wśród pochodzących z przełyku – A i B4.

Wewnątrzgatunkowe różnicowanie *C. albicans* okazało się przydatne w rozpoznawaniu identity lub podobieństwa szczepów pochodzących z różnych ontocenz narządowych tych samych osób. Analizowanie enzymogramów 19 hydrolaz zewnątrzkomórkowych – odpowiedzialnych za patogenność szczepów – jest ważne dla ustalania wewnątrzustrojowej transmisji grzyba, podobnie jak wcześniej zastosowany rozkład aktywności proteolitycznej *in vitro* szczepów *Candida sp.* wyizolowanych od pacjentów [7]. Zestaw czterech enzymów (arylamidaza walinowa, fosfohydrolaza naftolowa AS-BI, α -glukozydaza, N-acetylo- β -glukozyloaminidaza), opisywanych wyprowadzonym przez nas rozkładem dwumianowym Newtona (1: 4: 6: 4: 1), jest istotny w różnicowaniu wewnątrzgatunkowym *C. albicans*.

Literatura

- [1] Kurnatowska A. 2006. Charakterystyka wybranych gatunków grzybów, z uwzględnieniem nowego podziału systematycznego. W: *Mikologia Medyczna*. (Red. A. Kurnatowska, P. Kurnatowski). Promedi, Łódź: 93-202.
- [2] Kurnatowska A. 1995. Grzybnice wieloogniskowe i uogólnione. W: *Wybrane zagadnienia mikologii medycznej*. (Red. A. Kurnatowska). Promedi, Łódź: 174-196.
- [3] Kurnatowska A., Kurnatowski P. 2008. Metody diagnostyki laboratoryjnej stosowanej w mikologii. *Wiadomości Parazytologiczne* 54: 177-185.
- [4] Kurnatowska A. 2006. Różnicowanie wybranych cech wewnątrzgatunkowych grzybów oraz przykłady biotypowania szczepów. W: *Mikologia Medyczna*. (Red. A. Kurnatowska, P. Kurnatowski). Promedi, Łódź: 203-212.
- [5] Ogrodziński M.J., Kurnatowska A. 2007. Prewalencja oraz cechy fenotypowe grzybów wyodrębnionych z narządów płciowych kobiet w badaniach przesiewowych i klinicznych w regionie Pomorsko-Drawskim. *Mikologia Lekarska* 14: 190-194.
- [6] Kurnatowski M. 2006. Grzybnice układu trawiennego. W: *Mikologia Medyczna*. (Red. A. Kurnatowska, P. Kurnatowski). Promedi, Łódź: 247-264.
- [7] Kurnatowska A., Różga A., Gołąb-Lipińska M. 1993. Proteolityczna aktywność szczepów *Candida* – parametr ich identyczności lub podobieństwa. *Medycyna Doświadczalna i Mikrobiologia* 45: 385-387.

Wpłynęło 20 lipca 2010

Zaakceptowano 30 sierpnia 2010