

KRYSTYNA WAWRZKIEWICZ

Występowanie *Candida albicans* u zdrowych kur. Badania mikologiczne i serologiczne

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

Od szeregu lat u ludzi i zwierząt stwierdza się wyraźny wzrost liczby schorzeń grzybiczych, a między innymi kandydiazy. Patogeneza tego schorzenia nie jest dotychczas dostatecznie wyjaśniona. Czynnikiem odgrywającym pewną rolę w patogeniezie kandydiazy jest nosicielstwo grzybów z rodzaju *Candida* u osobników zdrowych. U ludzi obejmuje ono od kilku do kilkudziesięciu procent osób w zależności od miejsca pobrania materiału: najwyższy odsetek grzybów stwierdza się w wymazach z jamy ustnej i pochwy.

Grzyby drożdżopodobne można wykazać również w materiałach pochodzących od zdrowych zwierząt. Stosunkowo najczęściej izoluje się je od ptaków. Baumer (1) badając treści przewodu pokarmowego 100 sztuk niosek stwierdził u 78% nosicielstwo tych drobnoustrojów. Podobnie wysoki odsetek nosicielstwa drobnoustrojów drożdżopodobnych w kale ptaków wodnych obserwowali Kawakita i Van Uden (7) — 54% oraz Midgley i Clayton (10) — 68%. Natomiast Smith (16) stwierdzał drobnoustroje drożdżopodobne w znacznej ilości w przewodzie pokarmowym małą, świń, szczurów, chomików i świnek morskich, a znacznie rzadziej izolował je od drobiu.

Wobec braku doniesień krajowych na temat rozprzestrzeniania się drobnoustrojów drożdżopodobnych u zdrowych ptaków, wydawało się celowym przeprowadzenie takich badań, zwłaszcza że obok człowieka ptaki stanowią grupę zwierząt najbardziej wrażliwych na zakażenie grzybami z rodzaju *Candida*. Szczególnie chodziło o określenie odsetka nosicielstwa *C. albicans*, zarazka który najczęściej jest odpowiedzialny za wywołanie kandydiazy zarówno u ludzi jak i u ptaków. Sprawa nosicielstwa *C. albicans* wiąże się ściśle z zagadnieniem dróg zakażenia tym zarazkiem. U ludzi, u których odsetek nosicielstwa *C. albicans* jest wysoki, decydujące znaczenie odgrywa zakażenie endogenne. Jak sprawa ta przedstawia się u ptaków jest rzeczą dotąd nierozstrzygniętą.

Drugim zagadnieniem było ustalenie przynależności serotypowej szczepów *C. albicans* wyizolowanych od kur. Jeśli chodzi o materiały pochodzenia ludzkiego, to szereg autorów stwierdza zgodnie, że dominującym jest serotyp A. Rozprzestrzenienie serotypów A i B *C. albicans* w świecie zwierzęcym nie było badane.

Ostatni wreszcie moment, na który zwrócono uwagę w pracy to poszukiwanie aglutynin

przeciwko *C. albicans* w normalnych surowicach kurzych i określenie ich miana.

Wiadomo, że znaczna część ludzkiej populacji posiada aglutyniny przeciwko *C. albicans*. Znaczny odsetek dodatnich odczynów aglutynacyjnych w normalnych surowicach ludzkich stwierdziła m. in. Drake (4) — 89%, Doleżalowa (3) — 88%, Stallybrass (18) — 30%. Istnieje natomiast niewielka ilość doniesień na temat występowania aglutynin przeciwko *C. albicans* w normalnych surowicach zwierzęcych. W 1962 roku Doleżalowa (3) przebadala 100 normalnych surowic bydlęcych i stwierdziła w 89% obecność aglutynin, przy czym średnia wysokość miana wynosiła 1:19.

O występowaniu aglutynin anty *C. albicans* w normalnych surowicach ptaków donosi Spiesiwcewa (19) podając iż miano aglutynin w surowicach badanych gęsi wynosiło od 1:400 — 1:1600.

Wobec nielicznych prac odnośnie występowania aglutynin anty *C. albicans* w normalnych surowicach zwierząt i znacznych rozbieżności w wynikach uzyskanych przez wyżej przytoczonych autorów, wydawało się wyższym podjęcie własnych badań w tym kierunku.

Materiał i metody

Badaniom poddano 160 sztuk zdrowych kur pochodzących z gospodarstw indywidualnych. Wymazy z jamy dziobowej i kloaki pobierano w okresie kilkudniowego przetrzymywania ptaków przed ich ubojem w magazynie żywca w Zakładach Jajczarsko-Drobiarskich.

Identyfikację drobnoustrojów przeprowadzono w oparciu o właściwości hodowlane, morfologiczne: test filamentacji wg Ponnappalam i Musa (12), produkcję chlamydospór na podłożu ryżowym z dodatkiem Tween 80, zdolność tworzenia micelium na hodowli komórek zarodka kurzego, właściwości fermentacyjne oraz częściowo za pomocą próby biologicznej.

Przynależność serotypową wyizolowanych szczepów *Candida albicans* określono przy użyciu swoistych surowic odpornościowych metodą precypitacji w żelu agarowym.

Surowice odpornościowe uzyskiwano przez uodpornianie królików szczepami *C. albicans* serotypu A i B, uzyskanymi ze Słowiańskiej Akademii Wiec z Bratysławy wg metody podanej przez Murray i Buckley (11).

Antygeny do precypitacji stanowiły wyciągi wielocukrowe przygotowane wg metody Lancefield, które zdaniem Stallybrassa (17) stanowią o przynależności serotypowej szczepu.

Próbki krwi do aglutynacji pobierano od zdrowych kur w czasie ich uboju w Lubelskich Zakładach Jajczarsko-Drobiarskich. Jako antygen służyła żywa zawiesina *C. albicans* o gęstości ok. 500 milionów drobnoustrojów/ml. Obecność aglutynin w badanych surowicach wykrywano aglutynacją szkiełkową, a wysokość miana określano aglutynacją próbówkową.

Wyniki i omówienie

Ogółem przebadano 160 sztuk kur i wyizolowano 138 szczepów drobnoustrojów drożdżopodobnych. Z tego u 35% ptaków nie stwierdzono w ogóle drobnoustrojów drożdżopodobnych.

Natomiast u 52,5% sztuk izolowano te drobnoustroje z kloaki oraz 33,1% z jamy dziobowej. U 20% ptaków stwierdzono drobnoustroje drożdżopodobne zarówno w jamie dziobowej jak i w kloace (tab. 1). Otrzymane wyniki wskazują na stosunkowo szerokie rozprzestrzenienie drobnoustrojów drożdżopodobnych u zdrowych kur szczególnie w kloace.

Tab. 1. Drobnoustroje drożdżopodobne u kur

Ilość badanych ptaków	Pochodzenie próbek	Ilość zbadanych próbek	Nosicielstwo drobnoustrojów drożdżopodobnych	Ilość izolowanych szczepów <i>C. albicans</i>
160	jama dziobowa	160	54	10
	kloaka	160	84	7
	ogółem	320	138	17

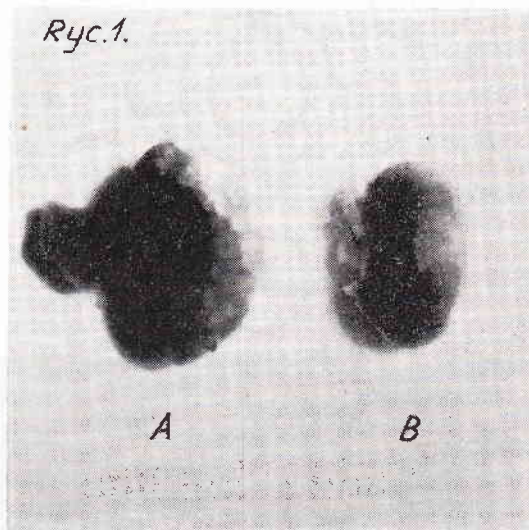
Jednakże przeprowadzone dokładniejsze badania mikologiczne izolowanych 138 szczepów pozwoliły ustalić, że zaledwie 12,3% stanowiły szczepy *C. albicans*, 10,1% szczepów należało do innych gatunków rodzaju *Candida*, a pozostałe 77,6% stanowiły szczepy nie należące do rodzaju *Candida*. Otrzymane wyniki wskazujące na stosunkowo niski odsetek sztuk zdrowych, u których wykryto nosicielstwo *C. albicans*, mogą sugerować że kandydiaza kur w znacznym stopniu może mieć swe źródło w zakażeniu egzogennym. Również Kostin (8) sądzi, że obok kandydiazy posiadającej tło endogenne, w większości przypadków dochodzi do schorzenia w wyniku infekcji egzogennej, przy czym decydującą rolę odgrywa tu przenoszenie *C. albicans* od chorych ptaków na zdrowe. Natomiast Spiesiwcewa (19) jest zdania, że przy powstawaniu kandydiazy szczególne znaczenie ma endogenny sposób zakażenia.

W przypadkach gdy ustrój ptaka jest osłabiony bądź nieodpowiednimi warunkami chowu i żywienia, bądź nieracjonalnym stosowaniem antybiotyków, bądź też przewlekłym schorzeniem, łatwiej dochodzi do zaatakowania go przez grzyby chorobotwórcze, a między innymi *C. albicans*. Dowodem tego są wyniki badań szeregu autorów, którzy z próbek narządów padłych ptaków izolują *C. albicans* w znacznym odsetku. Bisping (2) badając 1005 próbek narządów wewnętrznych padłych kur wyosobnił 336 szczepów drobnoustrojów drożdżopodobnych z czego 25,3% stanowiła *C. albicans*.

Podobnie Prophet (13) z 578 próbek narządów padłego ptactwa dzikiego wyizolował 54go serotypu.

szczepy *C. albicans*, co stanowiło ok. 25% wszystkich wyosobnionych szczepów. Na terenie Polski podobnego typu badania przeprowadziła Różańska i wsp. (14). Autorki przebadaly 165 próbek narządów wewnętrznych od 37 padłych kur i wyizolowały 44 szczepy drobnoustrojów drożdżopodobnych, z których 77% zidentyfikowały jako *C. albicans*. O znacznej częstości występowania *C. albicans* w wolu padłego drobiu donosi również Jordon (6), który na 378 badanych kur u 81 znalazł ten zarazek.

Z 17 wyizolowanych szczepów *C. albicans* wybrano losowo 5 szczepów, których patogenność określono na białych myszach. Stwierdzono, że wszystkie badane szczepy podane i.p. w dawce 2×10^8 powodowały zejście śmiertelne myszek w ciągu 3—16 dni po zakażeniu. Zmiany w postaci drobnych, białych ognisk koncentrowały się głównie w nerkach (ryc. 1), wątrobie, śledzionie i na otrzewnej. Trzustka okazała się i w tym przypadku miejscem szczególnej lokalizacji *C. albicans* na co zwrócono już uwagę w poprzedniej pracy (20). W preparatach odciskowych wykonanych ze zmian obok formy drożdżopodobnej występowała forma micelialna.



Ryc. 1. A — nerka myszy padłej po 7 dniach po dootrzewnowym zakażeniu *C. albicans*. Widoczne zmiany w postaci białych guzków zawierających komórki *C. albicans*. B — nerka normalna myszy (kontrola).

Grzyby drożdżopodobne należące do gatunku *C. albicans* można na podstawie różnic w budowie antygenowej podzielić na 2 grupy serologiczne A i B. Z licznych badań wynika, że w materiale ludzkim różnego pochodzenia (wymazy z jamy nosowo-gardłowej, z pochwy, odbytu, mocz, kał itp.) dominuje serotyp A. Hasenclever i Mitchell (5) 68% izolowanych szczepów *C. albicans* zakwalifikowali do serotypu A, Stallybrass (17) — 75% badanych szczepów, a Laskownicka i wsp. (9) oraz Sefer i wsp. (15) ponad 90% szczepów zaliczyli do te-

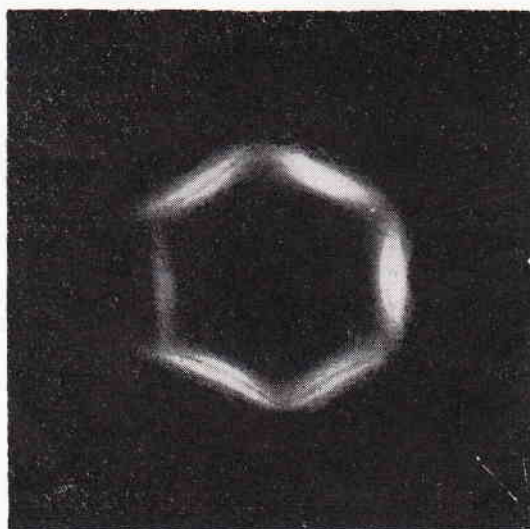
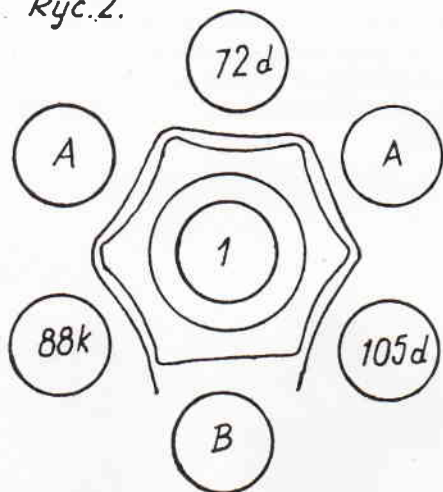
Wobec braku doniesień w dostępnym piśmiennictwie na temat rodzajów serotypów *C. albicans* występujących w materiale zwierzęcym, przy stosunkowo często stwierdzanej kandydiazie u drobiu wydawało się interesującym określenie przynależności serotypowej szczepów *C. albicans* wyizolowanych od kur.

Badania przeprowadzono metodą precypitacji w żelu agarowym. Wykazano, że wszystkie 17 szczepów *C. albicans* izolowane od zdrowych kur należały do serotypu A (ryc. 2). Podobnie więc jak w materiale ludzkim, tak i w materiale pochodzącym od kur dominują szczepy serotypu A *C. albicans*.

W badaniach potwierdzono pogląd Stallybrassa (17), że różnice w budowie antygenowej grupy A i B *C. albicans* dotyczą przede wszystkim frakcji wielocukrowych, których zawartość w szczepach serotypu B jest niższa.

Jak wynika z ryc. 2 przy basenie zawierającym frakcje wielocukrowe szczepu serotypu

Ryc.2.



Ryc. 2. Obraz prążków precypitacyjnych w żelu.

A — frakcje antygenowe szczepu wzorcowego serotypu A.
 B — frakcje antygenowe szczepu wzorcowego serotypu B,
 72d, 88k, 105d — frakcje antygenowe badanych szczepów *C. albicans*.
 1 — surowica odpornościowa królicza anty *C. albicans* serotypu A.

B obserwuje się 2 prążki precypitacyjne wspólne dla obu serotypów, natomiast przy basenach zawierających frakcje wielocukrowe szczepów serotypu A stwierdza się prążek dodatkowy charakterystyczny tylko dla szczepów tego serotypu.

W związku ze stwierdzonym częstym (65%) nosicielstwem drobnoustrojów drożdżopodobnych u zdrowych kur wysunęło się zagadnienie przebadania surowic kurzych na zawartość w nich normalnych aglutynin w stosunku do wybranego drobnoustroju drożdżopodobnego — *C. albicans*. Stwierdzono, że wśród 150 badanych surowic 70,7% wykazywało dodatni odczyn aglutynacji w próbie szkiełkowej, jednak najwyższe miano aglutynin sięgało zaledwie 1:20. W świetle tych wyników budzą zaniepokojenie badania Spiesiwcewej (19), w których autorka stwierdza b. wysokie miano aglutynin tj. od 1:400 do 1:1600 w stosunku do *C. albicans* w surowicach zdrowych gęsi.

Wnioski

1. U zdrowych kur stwierdzono częste nosicielstwo (65%) drobnoustrojów drożdżopodobnych; jednakże odsetek szczepów *Candida albicans* był stosunkowo niski i stanowił 12,3% izolowanych szczepów. W związku z tym sugeruje się, że kandydiaza kur może w znacznym stopniu powstawać w wyniku zakażenia egzogenego.

2. Wszystkie izolowane szczepy *C. albicans* należały do serotypu A.

3. W 70,7% normalnych surowic kur wykazano obecność aglutynin w stosunku do *C. albicans*; najwyższy jednak poziom aglutynin nie przekraczał miana 1:20.

Piśmiennictwo

1. Baumer H.: Vet. Diess., München, 1967.
2. Bisping W.: Zbl. Vet. Med. s. B 10, 325, 1963.
3. Doleżal M.: Arch. Immun. Ther. 10, 109, 1962.
4. Drake C.: J. Immun. 50, 185, 1950.
5. Hasenclaver H., Mitchell W.: J. Bact. 82, 570, 1961.
6. Jordon F.: Br. vet. J. 109, 527, 1953.
7. Kawakita S., Van Uden N.: J. gen. Microbiol., 39, 125, 1965.
8. Kostin W.: Trudy Vses. Inst. Vet. Sanit. 27, 176, 1968.
9. Laskownicka Z., Porebska A., Zemburowa K.: Med. dośw. 18, 171, 1966.
10. Midgley G., Clayton J.: Antonie v. Leeuwenhoek 35 Suppl., E 23, 1969.
11. Murray I., Buckley H.: Symposium on Candida Infections, 44, 1966.
12. Ponnampalam J., Musa J.: Med. J. Malaya 20, 144, 1965.
13. Prophet K.: The wet. Bull. 35, 207, 1965.
14. Różańska M., Samorek-Dzieskanowska E.: Medycyna Wet. 26, 342, 1970.
15. Sefer M. i wsp.: Microbiologia Parazit, Epidem, 14, 81, 1969.
16. Smith H.: J. Bact. 89, 95, 1965.
17. Stallybrass F.: J. Hyg. Camb. 62, 395, 1964.
18. Stallybrass F.: J. Path. Bact. 87, 89, 1964.
19. Spiesiwcewa N.: Mikozy i mikitoksykozy zwierząt, PWRiL, 1969.
20. Wawrzekiewicz K.: Medycyna Wet. 25, 159, 1969.

Adres autora: dr Krystyna Wawrzekiewicz, Lublin. ul. B. Chrobrego 1/19.

Вавжкевич К. — Присутствие грибов *Candida albicans* у здоровых кур. Микологические и серологические исследования.

Исследовали 160 здоровых кур в 65% случаев установили носительство дрожжевидных грибов. Всего выделили 138 штаммов, которые в 12,3% принадлежали к виду *Candida albicans* а в 77,6% к видам не принадлежащим к роду *Candida*. Полученные результаты, указывающие на относительно небольшой процент здоровых птиц-носителей *C. albicans* заставляют предполагать что источником кандидиоза у кур в значительной степени является экзогенная инфекция. Случайно отобранные прототипы оказались патогенными для белых мышей в дозе 2×10^8 клеток; вызванные ими изменения выступали главным образом в почках, поджелудочной железе и в печени. Серологические исследования проведенные методом жел-преципитации с применением специфических кроличьих сывороток и полисахаридов из выделенных штаммов *C. albicans*, установили что все исследованные штаммы принадлежат к серотипу А. Кроме того в 70,7% нормальных сывороток кур установили присутствие агглютининов для *C. albicans*, но самый высокий титр не превышал 1:20.

Wawrzkievicz K. — The appearance of *Candida albicans* in normal hens. Mycological and serological investigations.

Carrier-state of yeast-like organisms was found in 65.0% of 160 normal hens examined. There were isolated 138 strains from which only 12.3% were determined as *Candida albicans*; the rest (77.6%) could not be included to *Candida* spp. The findings pointing to relatively low per cent of carriers of *Candida albicans* may suggest that candidiasis of hens develops in great extent after exogenic infection. At random chosen strains of *C. albicans* proved to be pathogenic for white mice at the dose of 2×10^8 cells. The lesions were mainly found in kidneys, pancreas and liver. Serological test based on double diffusion in agar gel with specific rabbit sera and polysaccharidic fractions, originating from the isolated strains of *C. albicans*, showed that all the strains under study belonged to A serotype. In addition, it was noticed that 70.7% normal hens sera possessed agglutinins against *C. albicans*; the highest titer of agglutinins did not exceed dilution 1:20.

ADAM SZWABOWICZ, KAROL KOTOWSKI
Warszawa Bolesławiec

Próba leczenia trychofitozy bydła paszą wzbogaconą tlenkiem cynku

W ślad za wysuniętą przez Szwabowicza (3, 4) hipotezą, że względny niedobór cynku w paszy powoduje pierwotne uszkodzenie skóry bydła, sprzyjające rozwojowi grzybicy wywołanej przez *Trichophyton verrucosum*, przeprowadzono wstępne orientacyjne doświadczenie żywieniowe bydła dotkniętego trychofitozą.

Do przeprowadzenia doświadczenia wytypowano wypajalnię cieląt jednego z PGR-ów. W wolnostanowiskowym pomieszczeniu wypajalni, o nienajlepszych warunkach zoohigienicznych przy bardzo skąpej ilości ściółki, znajdowały się dwie grupy cieliczek rasy ncb, w wieku około 4 i 5 miesięcy. Obie grupy cieliczek oddzielono od siebie ażurową przegrodą z drewnianych drągów tak, że nie stykały się ze sobą. Korzystały one z wybiegu, również przedzielonego płotem z drewnianych drągów.

Cieliczki 5-miesięczne w liczbie 36, w tym 22 sztuki z uogólnioną strupiąstą postacią grzybicy, potraktowano jako grupę doświadczalną, natomiast cieliczki 4-miesięczne, w liczbie 33, w tym 15 sztuk dotkniętych uogólnioną postacią grzybicy — jako grupę kontrolną.

W zeszkrobinach ze strupów pobranych od kilku zwierząt obu grup stwierdzono *Trichophyton verrucosum*.

Dzienna dawka żywieniowa grupy doświadczalnej składała się z: 1 kg mieszanki C, 5 kg siana łąkowego, 10 kg kiszonki z zielonki żyta z wyką.

Dieta cieliczek kontrolnych, czteromiesięcznych składała się z: 1 kg mieszanki C, 1 kg siana łąkowego, 5 kg kiszonki z zielonki żyta z wyką.

Na podstawie wyliczeń stwierdzono, że zgodnie z założeniami Haaranena (1, 2) względny niedobór cynku w diecie grupy doświadczalnej wynosił 58,1 mg Zn na 1 kilogram suchej masy paszy, czyli, że w całej dziennej dawce żywieniowej niedobór wynosił około 234 mg Zn, co w przeliczeniu na tlenek cynku stanowiło około 292 mg ZnO. Ponieważ według uprzedzeń kierownika PGR-u mogły zaistnieć w ciągu doświadczalnego okresu żywienia pewne zmiany diety, wyliczoną ilość tlenku cynku wyrównano „na wszelki wypadek” do 400 mg ZnO. Tlenek cynku — *Zincum oxydatum* według Farmakopei Polskiej III — w ilości 400 mg dodawano na każdy kilogram mieszanki C, którą podawano wyłącznie grupie zwierząt doświadczalnych. Grupa kontrolna otrzymywała mieszankę C bez dodatku cynku.

Doświadczalne żywienie rozpoczęto 10 listopada 1969 r. i prowadzono je przez 6 tygodni.

Wyniki

Po upływie trzytygodniowego żywienia stwierdzono, że w doświadczalnej grupie zwierząt strupy grzybicze zaczęły samoistnie odpaść, a na chorych miejscach zaczęła odrastać sierść. Równocześnie stwierdzono wyraźną różnicę w ogólnym wyglądzie zwierząt — włos z matowego zmienił się w połyskujący. W gru-