

MIROŚLAWA RÓŻAŃSKA, ELŻBIETA SAMOREK-DZIEKANOWSKA

## Dalsze obserwacje nad wpływem antybiotyków na przebieg doświadczalnej kandydiazy u kurcząt

Zakład Badania Chorób Drobiu Instytutu Weterynarii w Puławach  
p.o. Kierownika: dr W. KARCZEWSKI

Wielu autorów donosi o występowaniu kandydiazy w związku z częstym stosowaniem antybiotyków z grupy tetracyklin zarówno w terapii, profilaktyce jak i żywieniu zwierząt (2, 4, 7, 11). Tripathy i wsp. (9) wykazali współzależność pomiędzy grzybiczymi zmianami w błonie śluzowej wola indycząt, a paszą zawierającą dużą ilość chlorotetracykliny i ubogą w witaminę A. Sieburth i Roth (8) stwierdzili intensywne namnażanie się *C. albicans* w przewodzie pokarmowym ptaków żywionych paszą z dodatkiem oksytetracykliny i chlorotetracykliny. Także Mayeda (5) opisał kilka przypadków kandydiazy u kurcząt i indycząt w wyniku skarmiania ich paszą zawierającą antybiotyki z grupy tetracyklin.

Doniesienie niniejsze stanowi kontynuację badań prowadzonych przez autorów nad wpływem oksytetracykliny podawanej w wodzie do picia na rozwój *C. albicans* u kurcząt sztucznie zakażonych (6). Celem obecnej pracy jest porównanie wpływu tetracykliny, chlorotetracykliny i oksytetracykliny podawanych przez długi okres czasu kurczętom sztucznie zakażonym *C. albicans* oraz prześledzenie wpływu tychże antybiotyków na możliwość rozwinięcia się kandydiazy u kurcząt niezakażonych.

### Materiał i metody

Do zakażenia ptaków użyto zawiesiny szczepu *C. albicans* nr 40 przygotowanej w sposób podany w pracy poprzedniej (6).

W badaniach stosowano tetracyklinę w postaci Wetacykliny (Biowet) w dawce 2,5 g na litr wody, oksy-

tetracyklinę w postaci Mepataru (Polfa) w dawce 4 g na litr wody i chlorotetracyklinę (Polfa) w dawce 100 mg na litr wody. Antybiotyki podawano kurczętom w wodzie do picia codziennie przez okres 12 tygodni.

Do doświadczenia użyto jednodniowych piskląt krzyżówek typu mięsnego. Ptaki otrzymujące antybiotyki przebywały przez cały czas doświadczenia w bateriach na różnych poziomach, natomiast kurczęta kontrolne przebywały w oddzielnych klatkach w tych samych pomieszczeniach. Wszystkie ptaki żywiono mieszkanką DKA Starter i DKA Finisz.

Pierwsze doświadczenie przeprowadzono na 80 pisklątach, które podzielono na 4 grupy po 20 sztuk w każdej. Od drugiego dnia życia pisklątom grupy A podawano tetracyklinę, grupy B oksytetracyklinę i grupy C chlorotetracyklinę. Siódmego dnia życia kurczęta z grupy A, B i C oraz kurczęta grupy kontrolnej D, nie otrzymującej antybiotyków, zakażano do wola 4-krotnie w odstępach 24 godzinnych drożdżopodobną formą *C. albicans* w ilości około 250 mln blastospor na piskle.

Przed zakażeniem pobrano kał od wszystkich badanych ptaków, natomiast po zakażeniu jedynie od kurcząt wybranych losowo do uboju. Kał badano na obecność drożdżaków wg metody opisanej w pracy poprzedniej (6).

Z grupy A, B, C i D zabijano i sekcjonowano po 2 ptaki w 1, 2, 4 i 6 tygodniu i po 4 ptaki w 8, 10 i 12 tygodniu po zakażeniu. Na sekcji badano przewód pokarmowy na obecność zmian anatomo-patologicznych. Zeskrobiny z wola, po uprzednim traktowaniu 10% KOH, badano pod mikroskopem na obecność elementów micelialnych. Z poszczególnych odcinków przewodu pokarmowego prowadzono posiewy na agarze Sabourauda. Identyfikacje wyizolowanych drobnoustrojów przeprowadzono w oparciu o test filamentacji oraz częściowo o produkcję chlamydospor na agarze ryżowym z Tween 80 i właściwości biochemiczne.

Tab. 1. Zmiany anatomo-patologiczne i wyniki reizolacji *C. albicans* u kurcząt zakażonych

Grupa	Szczep <i>C. albicans</i>	Antybiotyki	Ilość kurcząt	Zmiany anatomo-patologiczne *					Micelialne elementy w zeskrobinie z wola	Reizolacja <i>C. albicans</i> na agarze Sabouraud					
				Przełyk	Wole	Żołądek	Jelito cienkie	Jelito grube		Przełyk	Wole	Żołądek	Jelito cienkie	Jelito grube	Ogółem
				Średnie nasilenie zmian						% ptaków	% reizolatów				
A	Zakażone szczepem nr 440	Tetracyklina	20	0,50	1,70	0,35	0,55	0,40	35	45	65	25	45	30	42
B		Oksytetracyklina	20	0,55	1,45	0,45	0,55	0,30	50	55	85	50	40	20	50
C		Chlorotetracyklina	20	0,60	1,40	0,40	0,50	0,30	55	65	75	30	45	50	64
D		Kontrola (bez antybiotyków)	20	0,25	0,75	0,20	0,25	0,10	10	10	35	10	10	0	15

\*) Opis zmian w tekście

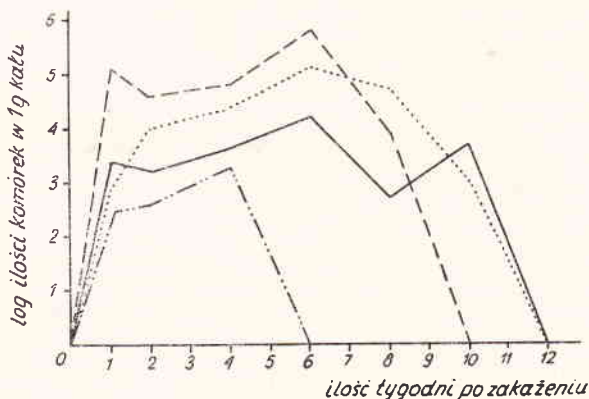
W drugim doświadczeniu 54 pisklęta podzielono na 4 grupy. Grupa AA, BB i CC po 10 piskląt w każdej i grupa E 14 piskląt. Kurczętom grupy AA podawano tetracyklinę, grupy BB oksytetracyklinę i grupy CC chlorotetracyklinę, począwszy od 2-go dnia życia. Ptaki grupy E kontrolne nie otrzymywały antybiotyków. W doświadczeniu tym raz w tygodniu pobierano kał od ptaków wszystkich grup i badano go na obecność grzybów drożdżopodobnych.

Z grup AA, B i CC poddawano ubojowi diagnostycznemu po 2 ptaki po 2, 4 i 8 tygodniach oraz po 4 ptaki po 12 tygodniach. Natomiast w grupie kontrolnej E 2 ptaki sekcjonowano w 2 tygodniu badania i po 4 kurczęta w terminach jak wyżej. Przed ubojem pobierano wymazy z jamy dziobowej za pomocą jałowych wacików i posiewano na podłoże Sabourauda celem izolacji grzybów. Badania sekcyjne i inne badania mikologiczne przeprowadzano jak w doświadczeniu I.

Wyniki i omówienie

W toku badań stwierdzono wyraźne różnice pomiędzy grupą kontrolną ptaków, które otrzymywały jedynie *C. albicans* a grupami otrzymującymi antybiotyki, zarówno w ilości i w czasie wydalania drożdżaków z kałem jak i w stopniu nasilenia zmian anatomo-patologicznych w przewodzie pokarmowym. Otrzymane wyniki przedstawiono na ryc. 1 oraz tab. 1.

Ryc. 1. Wpływ antybiotyków na ilość komórek *C. albicans* w kale kurcząt zakażonych



Legenda: --- grupa A *C. albicans* + tetracyklina  
 — " B " + oksytetracyklina  
 ..... " C " + chlorotetracyklina  
 - - - - " D *C. albicans* bez antybiotyków

Jak wynika z analizy wyników doświadczenia, u wszystkich badanych ptaków już 7-go dnia po zakażeniu uzyskano wzrost kolonii *C. albicans* w posiewach z kału (ryc. 1). Niemniej jednak kurczęta grup otrzymujących antybiotyki wydalają o 0,5 do 2,7 log więcej komórek *C. albicans* z kałem niż kurczęta grupy kontrolnej (D). W grupie kontrolnej maksimum wydalania komórek *C. albicans* wypadło na 4 tydzień po zakażeniu ( $10^{3,3}$  blastospor w 1 g kału) natomiast od 6-go tyg. nie reizolowano już grzybów. W grupach otrzymujących antybiotyki maksimum wydalania (od  $10^{4,3}$  do  $10^{5,8}$  blastospor w 1 g kału) wystąpiło w 6-tym tygodniu. Najwięcej komórek *C. albicans* stwierdzono w kale kurcząt otrzymujących tetracyklinę, jednak ich wydalanie ustało około 10 tyg, po zakażeniu. W grupach otrzymujących oksytetracyklinę i chloro-

tetracyklinę wydalanie było nieco mniejsze ale trwało do 12-go tygodnia po zakażeniu.

W żadnej grupie kurcząt nie obserwowano objawów chorobowych, ptaki były dobrej kondycji, mimo to po uboju w grupach ptaków zakażonych *C. albicans* i otrzymujących antybiotyki stwierdzono wyraźne zmiany anatomo-patologiczne głównie w górnym odcinku przewodu pokarmowego (tab. 1). Błona śluzowa wola, czasami zgrubiała, była pokryta grudkowatymi, białymi nalotami przypominającymi ścięte mleko. Naloty te układały się ogniskowo lub pokrywały znaczną część śluzówki. Niekiedy stwierdzano nadmierną ilość biało-mlecznego, gęstego śluzu z domieszką krwi. W przelyku u większości ptaków stwierdzano zwiększoną ilość śluzu, a tylko u 1-go ptaka z grupy A i u 1-go z grupy C na błonie śluzowej widoczne były pojedyncze, drobne ogniska. U niektórych ptaków, wszystkich grup, żołądek gruczołowy wypełniony był gęstym, biało-mlecznym śluzem, czasami z domieszką krwi. Stwierdzano także u ptaków zakażonych wybroczyny punkcikowate i placowate na błonie śluzowej jelita cienkiego i grubego. Powyższe zmiany notowano we wszystkich grupach już 7-go dnia po rozpoczęciu eks-

Tab. 2. Wpływ antybiotyków na stopień nasilenia zmian anatomopatologicznych u kurcząt niezakażonych

Grupa	Antybiotyki	Ilość ptaków	Średnie nasilenie zmian anatomo-patologicznych *)				
			Przelyk	Wole	Żołądek	Jelito cienkie	Jelito grube
AA	Tetracyklina	10	0,3	0,5	0	0,1	0
BB	Oksytetracyklina	10	0,2	0,3	0	0,2	0,3
CC	Chlorotetracyklina	10	0,2	0,2	0	0,5	0,3
E	Kontrola (bez antybiotyków)	14	0,1	0,07	0	0,3	0,2

\*) opis zmian w tekście

perymentu. W grupach otrzymujących antybiotyki utrzymywały się one do końca badania, natomiast w grupie kontrolnej jedynie do 8-go tyg. po zakażeniu. Również częstotliwość i nasilenie tych zmian było w grupach kurcząt otrzymujących antybiotyki znacznie większe niż w grupie kontrolnej. Dla uwidocznienia tych różnic, nasilenie zmian u poszczególnych kurcząt oznaczono cyframi od 0 do 3, a następnie wyciągano średnią arytmetyczną. W ten sposób średnie nasilenie zmian w wolu, w grupach ptaków o-

trzymujących antybiotyki, wynosiło od 1,40 do 1,70, a w grupie kontrolnej 0,75. Natomiast nie stwierdzono większych różnic pomiędzy grupami otrzymującymi różne antybiotyki, z wyjątkiem zmian w wolu, które były najczęstsze i najsilniejsze w grupie A otrzymującej tetracyklinę.

Badanie preparatów bezpośrednich, niebarwionych, z zeszkobin z wola ptaków otrzymujących antybiotyki, pozwoliło stwierdzić obecność *C. albicans*, przy czym obok formy drożdżopodobnej obserwowano formę micelialną grzyba w granicach od 35 do 55% w poszczególnych grupach (tab. 1). W grupie kontrolnej ptaków zakażonych, nie otrzymujących antybiotyków, formę micelialną stwierdzono u 10% badanych ptaków w 2 tyg. po zakażeniu. Podobne wyniki uzyskano w pracy poprzedniej (6). Wg szeregu autorów i własnych obserwacji wydaje się, że obecność formy micelialnej można uznać za przejaw wzmożonej patogenności grzybów (1, 3, 10).

Grzyby reizolowane z przewodu pokarmowego ptaków wszystkich grup, przy czym głównym narządem zawierającym drożdżaki było wole i przelyk, w mniejszym stopniu jelita i żołądek (tab. 1). W grupach B i C dodatnie posiewy uzyskiwano przez 12 tygodni a w grupie A, za wyjątkiem 1-go ptaka, w 2-ch ostatnich badaniach nie reizolowano *C. albicans* mimo stwierdzania zmian anatomo-patologicznych. Natomiast w grupie D ptaków kontrolnych tylko w 4-ch pierwszych badaniach uzyskano obfity wzrost drożdżaków. W większości przypadków reizolowano czyste kultury *C. albicans*, a tylko u 2-ch ptaków z grupy B i u 1-go z grupy D obok kolonii *C. albicans* stwierdzono *C. tropicalis* i *C. pseudotropicalis*.

W poprzednim doniesieniu (6) wykazano, że ptaki trzymane w warunkach laboratoryjnych

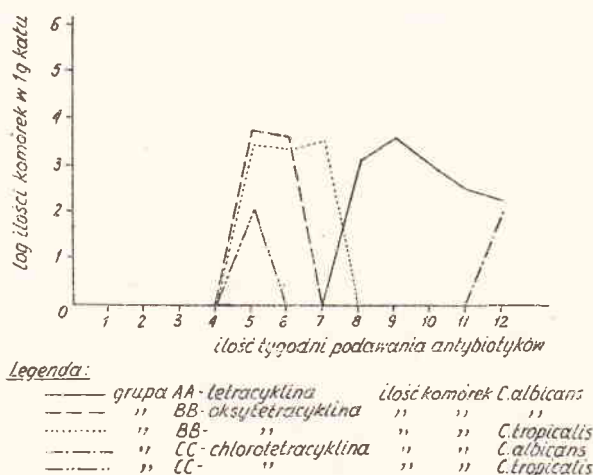
po podaniu oksytetracykliny wydalają z kałem komórki grzybów drożdżopodobnych, mimo, że nie były sztucznie zakażane. Wydało się celowe dokładniejsze prześledzenie wpływu różnych antybiotyków na możliwość rozwinięcia się kandydiazy u ptaków, którym nie podawano *C. albicans*. W tym celu nastawiono doświadczenie II. Wyniki badań zestawiono na ryc. 2 i tab. 2 i 3.

W toku badań wykazano, że w grupie BB ptaków, które dostawały oksytetracyklinę w wodzie do picia, pomiędzy 4 a 8 tyg. badania pojawiły się komórki drożdżaków w kale, które zidentyfikowano jako *C. albicans* i *C. tropicalis*. W tym czasie ilość ich utrzymywała się niemal na tym samym poziomie, około  $10^{3,7}$  komórek *C. albicans* i około  $10^{3,4}$  komórek *C. tropicalis* w 1 g kału. W dalszych badaniach nie wykrywano już drożdżaków w posiewach z kału ale pojawiły się grzyby nie należące do rodzaju *Candida*. Natomiast w grupie AA ptaków, które dostawały tetracyklinę, jakkolwiek drożdżaki pojawiły się w posiewach z kału 3 tyg. później niż w grupie BB, to okres ich wydalania był dłuższy. W posiewach z kału uzyskiwano czysty wzrost *C. albicans*. Średnio ptaki tej grupy wydalają około  $10^{3,0}$  komórek *C. albicans* w 1 g kału. W grupie CC ptaków, otrzymujących chlorotetracyklinę, obserwowano sporadyczne wydalanie komórek drożdżopodobnych. W 5-tym tyg. badania w posiewach z kału uzyskano wzrost mieszany. Obok kolonii *C. tropicalis* pojawiły się grzyby nie należące do rodzaju *Candida*. W ostatnim tygodniu badania w posiewach z kału uzyskano czysty wzrost kolonii *C. albicans*. U ptaków kontrolnych, nie otrzymujących antybiotyków, w żadnym badaniu nie stwierdzano w posiewach z kału grzybów drożdżopodobnych (ryc. 2).

Tab. 3. Wyniki izolacji grzybów drożdżopodobnych u kurcząt niezakażanych otrzymujących antybiotyki

Badany narząd	Grupa AA — tetracyklina			Grupa BB — oksytetracyklina			Grupa CC — chlorotetracyklina			Grupa E — bez antybiotyków		
	Ilość zbadanych próbek	Ilość szczepów grzybów drożdżopodobnych	Ilość szczepów <i>C. albicans</i>	Ilość zbadanych próbek	Ilość szczepów grzybów drożdżopodobnych	Ilość szczepów <i>C. albicans</i>	Ilość zbadanych próbek	Ilość szczepów grzybów drożdżopodobnych	Ilość szczepów <i>C. albicans</i>	Ilość zbadanych próbek	Ilość szczepów grzybów drożdżopodobnych	Ilość szczepów <i>C. albicans</i>
Jama dziobowa	10	7	4	10	3	2	10	2	1	14	2	1
Przelyk	10	7	5	10	3	2	10	3	1	14	2	1
Wole	10	6	6	10	4	3	10	3	2	14	3	1
Żołądek	10	2	2	10	2	1	10	1	1	14	0	0
Jelito cienkie	10	3	2	10	2	2	10	1	1	14	0	0
Jelito grube	10	3	2	10	2	2	10	0	0	14	0	0
Ogółem	60	28	21	60	16	12	60	10	6	84	7	3
% wyizolowanych szczepów		46,6	35		26,6	20		16,6	10		8,3	5

Ryc. 2. Wpływ antybiotyków na ilość komórek grzybów drożdżopodobnych w kale kurcząt niezakażonych



W 2-ch pierwszych ubojach diagnostycznych w żadnej grupie kurcząt nie notowano zmian anatomo-patologicznych. Zmiany te w postaci drobnych, pojedynczych nalotów serowatych lub tylko zwiększonej ilości śluzu stwierdzono u poszczególnych ptaków grupy AA, BB i CC dopiero między 8, a 12 tyg. badania (tab. 2). Kurczęta grupy kontrolnej, za wyjątkiem 1-go ptaka u którego przelyk i wole wypełnione było śluzem, nie wykazywały zmian anatomo-patologicznych. W grupach AA i CC równolegle z pojawieniem się drożdżaków w kale izolowano je także z jamy dziobowej, przy czym w grupie AA występowały one znacznie częściej. W grupie BB jak i w grupie kontrolnej E pojawiły się w wymazach z jamy dziobowej grzyby drożdżopodobne między 8 a 12 tyg. badania przy ujemnych posiewach z kału. Ogółem z 44 wymazów z jamy dziobowej wyizolowano 14 szczepów, z tego 8 stanowiły szczepy *C. albicans* (tab. 3). W grupach ptaków otrzymujących antybiotyki z badanych narządów uzyskiwano obfity wzrost drożdżaków na agarze Sabourauda, jednakże w największym odsetku izolowano je z ptaków grupy AA (46,6%). Także w grupie ptaków kontrolnych stwierdzono wzrost pojedynczych kolonii drożdżaków (8,3%). Na podstawie dokładniejszych badań mikologicznych 42 wyizolowane szczepy zaliczono do gatunku *C. albicans*, 12 szczepów do innych gatunków z rodzaju *Candida* a 7 stanowiły szczepy nie należące do rodzaju *Candida*.

Przeprowadzone doświadczenia potwierdziły wyniki poprzednich badań własnych, jak również innych autorów (5, 6, 8, 9). Antybiotyki, podawane doustnie przez dłuższy okres czasu, powodowały silne namnażanie się grzybów w przewodzie pokarmowym oraz wydalanie ich z kałem, zarówno u ptaków sztucznie zakażonych *C. albicans* jak i u ptaków niezakażonych. Po sztucznym zakażeniu, zarówno kurczęta otrzymujące antybiotyki jak i kontrolne wydalają komórki grzybów z kałem. Jednakże ptaki, które dostawały antybiotyki wydalają drożdżaki w

znacznie większych ilościach i przez okres dłuższy. Natomiast u kurcząt niezakażonych wydalanie komórek grzybów z kałem obserwowano jedynie u ptaków otrzymujących antybiotyki. U ptaków kontrolnych, grupy E, przyjętymi metodami takiego wydalania nie stwierdzano mimo, że z ich przewodu pokarmowego można było izolować grzyby drożdżopodobne.

Z przebiegu obu doświadczeń trudno wyciągnąć wnioski odnośnie różnic między poszczególnymi antybiotykami co do właściwości stymulujących wzrost grzybów drożdżopodobnych. W doświadczeniu I najwięcej komórek drożdżaków wydalają kurczęta otrzymujące tetracyklinę, jednakże wydalanie to było krótsze niż w przypadku innych antybiotyków. Przy badaniu mikologicznym narządów wewnętrznych kurcząt sztucznie zakażonych najczęściej izolowano grzyby drożdżopodobne od ptaków otrzymujących chlorotetracyklinę (64%). Natomiast w doświadczeniu II najczęściej izolowano drożdżaki z narządów wewnętrznych ptaków otrzymujących tetracyklinę (46,6%). W kale tych kurcząt komórki grzybów pojawiły się najpóźniej, ale ich wydalanie trwało najdłużej.

#### Wnioski

1. Długotrwałe, doustne podawanie tetracykliny, oksytetracykliny lub chlorotetracykliny ptakom zakażonym *C. albicans* powodowało silniejsze namnażanie się grzybów w przewodzie pokarmowym, w porównaniu z ptakami kontrolnymi nie otrzymującymi antybiotyków.

2. Długotrwałe stosowanie tych antybiotyków u kurcząt zakażonych powodowało powstanie znacznie silniejszych zmian anatomo-patologicznych charakterystycznych dla kandydiazy, mimo, że nie wystąpiły objawy kliniczne schorzenia.

3. Podawanie tych antybiotyków kurczętom niezakażonym sztucznie, które były nosicielami grzybów drożdżopodobnych, powodowało namnożenie się tych drobnoustrojów w przewodzie pokarmowym. Ptaki te wydalają komórki grzybów z kałem w przeciwieństwie do ptaków grupy kontrolnej nie otrzymujących antybiotyków.

4. Nie stwierdzono większych różnic między stosowanymi antybiotykami odnośnie ich właściwości stymulujących namnażania się grzybów z rodzaju *Candida* w przewodzie pokarmowym kurcząt.

#### Piśmiennictwo

- Balish E., Svihta G.: J. Bact. 92, 1812, 1966.
- Bergmann M., Lipsky H.: Med. Klin. 59/18, 732, 1964.
- Hurley R.: J. Path. Bact. 92, 57, 1966.
- Kashkin P., Krassitnicov N., Nekachalov V.: Mycopath. Mycol. Appl. 14, 173, 1961.
- Mayeda E.: Avian Dis. 5, 232, 1961.
- Różańska M., Samorek-Dziewanowska E.: Medycyna Wet. 27, 337, 1971.
- Seelig M.: Am. J. Med. 40, 387, 1966.
- Sieburth J. N., Roth F. J.: J. Bact. 67, 460, 1954.
- Tripathy S. B., Kenzy S. G., Mathey W. J.: Avian Dis. 11, 327, 1967.
- Waurzkievicz K.: Medycyna Wet. 25, 269, 1969.
- Woloszczenko J., Jelszina M., Zykowa O.: Wopr. epidemiol. mikrobiol. profilakt. kiszecz. infekcyj. Kijów, 244, 1964.

Adres autora: dr Mirosława Różańska, Puławy, Al. Partyzantów 57, Instytut Weterynarii.