

GRZYBY DROŹDZOPODOBNE – WYSTĘPOWANIE U ZWIERZĄT

BOŻENA DWORECKA-KASZAK I MAŁGORZATA BIEGAŃSKA

Wydział Medycyny Weterynaryjnej SGGW, Katedra Nauk Przedklinicznych, Zakład Wirusologii, Mykologii i Immunologii, Pracownia Mykologii, ul Ciszewskiego 8, 02-786 Warszawa; Tel +48 22 853-09-18; E-mail: dworecka@alpha.sggw.pl

ABSTRACT. Yeast-like fungi – occurrence in animals. The yeast-like fungi are typical opportunistic microorganisms which may be a part of normal commensally ontocenosis. Many species of *Candida* genus may be also a cause of *candidosis* in human and animals. Clinical symptoms occurred customly in patient with cellular immunity deficiencies. Horizontal (person-to-person) form of transmission is also possible, including family infection or group infection in animals, mostly in birds. According to actual data, zoonotic status of candidosis is still not fully documented. In animals, candidosis more often occurs as endogenic infection. The separate problem is infection of animals with significance suppressed immune system, e.g. with tumor diseases. In necroscopy investigation very often in these animals disseminated candidosis has been observed. On different way the infections of *Candida* spp. are manifested in birds, when *Candida albicans* occurs as marginal population of normal intestinal ontocenosis. During stress the intestinal fungal population is growing up for critical value and typical crop candidosis is developing. In our routine diagnostic work we have isolated *Candida* strains from nutritional tract in laboratory mice. This yeast were isolated also from the bottom of the boxes and from mice faeces.

Key words: animals, *Candida*, *candidosis*.

Grzyby drożdżopodobne zaliczane do workowców z rodzaju *Candida*, *Geotrichum* lub do podstawczaków z rodzaju *Trichosporon*, *Rhodotorula*, *Cryptococcus* i inne (De Hoog i wsp. 2000) są uznawane przez wielu autorów za typowo oportunistyczne i mogą stanowić składnik normalnej ontocenozy np. skóry, jamy ustnej i przewodu pokarmowego zarówno ludzi jak i zwierząt (Di Salvo 1985, Volks 1999, Pressler i wsp 2003, strony internetowe: http://www.biochemie.web.med.uni.muenchen.de/Yeast_Biology/15_fungi.htm, <http://www.med.sc.edu:85/mycology/mycology-1.htm>, <http://thebody.com/pinf/jan/04/ois.html>). W sprzyjających warunkach taka kolonizacja może być przyczyną wewnątrzsobniczej, endogennej reaktywacji zakażenia i doprowadzić na skutek nadmiernego zwiększenia liczebności populacji grzybów do powstania grzybic uogólnionych (Krohne 2000, Sena i wsp 2003). Od wielu lat w literaturze naukowej trwają dyskusje, jaki stan zasiedlenia organizmu żywiciela grzybami drożdżopodobnymi wiąże się z transmisjami wewnątrzsobniczymi i jest już wskazaniem do podjęcia leczenia. Zasiedlenie ustroju żywiciela zarówno ludzkiego, jak i zwierzęcego jest zależne od predyspozycji osobniczych i sprzyjających wa-

runków środowiska zewnętrznego. Wiele gatunków grzybów z rodzaju *Candida* może być przyczyną chorób – kandydoz u ludzi i zwierząt. *Candida albicans* izolowana jest od 40% do 80% u ludzi zdrowych, bez objawów klinicznych i około 30% do 50% zwierząt, z materiałów pobranych z jamy ustnej, pochwy, napletka i kału. Do klinicznej manifestacji zakażenia dochodzi zwykle u pacjentów mających zaburzenia odporności komórkowej lub między składnikami ontocenozy, co może być skutkiem przedłużającej się terapii lekami steroidowymi, hormonalnymi, antybiotykami lub lekami immunosupresyjnymi. Kandydozy towarzyszą też często chorobom pierwotnym takim jak cukrzyca typu 1 lub inne endokrynopatie (niedoczynność przytarczyc, nadnerczy, tarczyc, bądź zakażenie uaktywnia się w momencie zmiany statusu hormonalnego np. w przebiegu ciąży lub w okresie pokwitania (Di Salvo 1985, Volks 1999, Meshbesh 2000, strony internetowe: <http://www.magma.ca/~amoeba/Candida/Parasites/Immunity>, <http://www.pfizer.com.au/DiseasesCandida.aspx>, <http://www.purehealthsystems.com/canida.html>). Mimo najczęściej stwierdzanego zdecydowanie endogenego charakteru zakażenia, często możliwa jest również transmisja międzyosobnicza, o czym świadczą zakażenia rodzinne lub masowe zachorowania w stadach zwierząt, zwłaszcza u ptaków. Do dziś status kandydozy jako zoonozy jest nieustalony. W literaturze naukowej brak jednoznacznych dowodów przemawiających za możliwością przekazania czynnika etiologicznego tej grzybicy ze zwierząt na człowieka. Nie opisano także jak dotąd szczególnych właściwości biotypów *C. albicans* swoistych dla różnych gatunków żywiciela. Istnieje zatem duże prawdopodobieństwo, że zwierzęta mogą być rezerwuarem tych grzybów dla ludzi.

Klinicznie zakażenie grzybami z rodzaju *Candida* może mieć bardzo zróżnicowany przebieg i nasilenie: od ostrego, podostrego przez przewlekły do epizodycznego. Zmiany mogą być zlokalizowane w obrębie wszystkich tkanek i narządów. Opisano kandydozę jamy ustnej, tchawicy, przełyku, oskrzeli, płuc, przewodu pokarmowego, układu moczowego, pochwy a także skóry gładkiej lub owłosionej oraz płytki paznokciowej. Grzyby obecne w płynach ustrojowych powodują *meningitis* lub *endocarditis*, a w przebiegu fungemii, krążąc z krwią lub chłonką, dostają się do narządów wewnętrznych, powodując w nich ogniska martwicy. Mogą uszkadzać ściany naczyń krwionośnych lub działać toksycznie na elementy morfotyczne krwi. Obraz histopatologiczny tych zmian jest też bardzo zróżnicowany, od zmian zapalnych o niewielkim nasileniu poprzez rozległy naciek komórkowy, do zmian o charakterze ziarniniakowym. Już Hippokrates po raz pierwszy użył terminu „thrush” dla opisanego zmian w obrębie jamy ustnej w przebiegu kandydozy. Grzyby należące do rodzaju *Candida* są na czwartym miejscu na liście czynników wywołujących zakażenia szpitalne u ludzi. U pacjentów z kandydemią śmiertelność osiąga wysoki odsetek (Volks 1999, http://www.biochemie.web.med.uni.muenchen.de/Yeast_Biology/15_fungi.htm). Grzyby te są również najczęściej odpowiedzialne (70%) za *oropharyngeal candidosis* u pacjentów z AIDS (Spellberg i wsp. 2003).

Jak już wspomniano, manifestacja zakażenia grzybami z rodzaju *Candida* w dużej mierze zależy od kondycji samego żywiciela niż zjadliwości szczepów. *Candida* są grzybami polimorficznymi i mogą tworzyć grzybnie prawdziwą i rzekomą (*mycelium* i *pseudomycelium*). Zdolność transformacji komórek wegetatywnych jest związana z patogennością tych mikroorganizmów. Wydaje się, że faza *pseudomycelium* jest ich najbardziej inwazyjną formą. Wzrost strzępek może być blokowany przez inaktywację czynników transkrypcyjnych Cph1p i Efg1p, należących do białkowych kinaz aktywowanych mitogenem (MAPK). Wykazano, że mutacja tych genów *cph1* i *efg1* powoduje znaczne zredukowanie wirulencji szczepów w zakażeniach doświadczalnych w przebiegu kandydozy uogólnionej na modelu zwierzęcym. Sygnałem do rozpoczęcia morfogenezy u *Candida albicans* są również zewnętrzne czynniki stresu, takie jak np. gwałtowna zmiana temperatury lub pH środowiska, odpowiednio pobudzające lub hamujące pH-wrażliwe geny (PHR1 i PHR2). (http://www.biochemie.web.med.uni.muenchen.de/Yeast_Biology/15_fungi.htm). Opisano również inne czynniki odpowiedzialne za wirulencję szczepów *Candida*. Tak, jak u wielu innych patogenów, wirulencja tych grzybów zależy również od zdolności rozpoznawania żywiciela. Związanie komórek grzyba z białkami komórki żywiciela, o co konkurują również bakterie, zapobiega ich usunięciu z organizmu. Częsteczkami odpowiedzialnymi za rozpoznawanie żywiciela są u *Candida* adhezyny, które wiążą wiele różnych zewnątrzkomórkowych białek macierzy w komórkach ssaków, takich jak fibrynoektyna, laminina, fibrynogen i kolagen. Zdolność adherencji np. do ludzkich komórek nabłonka błony śluzowej policzka jest warunkowana u *Candida* obecnością aglutyninopodobnych sekwencji, przypominających białka alfa-aglutyniny *S. cerevisiae*. Inną ważną w adherencji biomolekułą są swoiste dla strzępek i filamentów białka zewnętrznej warstwy mannoprotein *Candida*, posiadające amino-terminalne domeny na powierzchni, które prawdopodobnie są zintegrowane z beta-glukanem ściany komórkowej grzybów. Na adherencję grzybów wpływają też białka należące do rodziny integryn na receptorach komórek ssaków. Niezbędne są również białka membranowe (alfa-1,2-mannosyltransferaza). Enzymami, których wydzielanie stwierdzono u wirulentnych szczepów są proteinaza aspartylowa i fosfolipaza. Komórki żywiciela posiadają receptory PRRs (ang. pathogen pattern recognition receptors), które rozpoznają różne strukturalne i molekularne znaczniki na powierzchni mikroorganizmów i indukują wrodzoną odpowiedź immunologiczną. Jednym z takich receptorów jest receptor mannozowy na makrofagach, wiążący węglowodory. Inny receptor, swoisty dla beta-glukanów, jest konieczny do fagocytozy komórek *Candida* (Meshbesher 2000, Sena i wsp. 2003). W mechanizmach odporności przeciw zakażeniom grzybami *Candida* uwzględnia się współdziałanie odpowiedzi humoralnej i komórkowej. Komórki Th1 pomocnicze wydzielające gamma interferon (IFN-gamma), ale nie interleukinę 4 (Il-4) stymulują odpowiedź typu I, dla której charakterystyczna jest intensywna fagocytoza. Odwrotnie komórki Th2, które wydzielają interleukinę 4 (Il-4),

a nie gamma interferon (IFN-gamma), stymulują odpowiedź typu II, charakteryzowaną przez indukcję wysokiego poziomu przeciwciał i supresję aktywności fagocytarnej. Wydaje się, że odpowiedź typu I chroni organizm w przypadku zarówno rozsiaanej kandydozy jak i związanej z błonami śluzowymi, podczas kiedy przy rozsianej postaci grzybicy istotniejsza jest odpowiedź typu II. Podczas kandydemii dochodzi do upośledzenia obu tych mechanizmów, co sugeruje, że komórki Treg (regulacyjne) lub Th3, które wydzielają immunosupresyjne cytokiny takie jak IL-10 i TGF-beta (ang. transforming growth factor beta) i regulują odporność żywiciela w odpowiedzi na wysoki poziom komórek *Candida*. W ostatnich badaniach wykazano, że typ odpowiedzi generowanej w narządach nielinfatycznych może być całkiem inny niż typ podobnej odpowiedzi powstającej w narządach takich jak śledziona czy węzły chłonne, aczkolwiek nadal mechanizmy tej odpowiedzi są niewyjaśnione do końca. Wiadomo jednak na pewno, że np. w doświadczalnych zakażeniach typ odpowiedzi bardzo zależny jest od wielkości *inoculum* komórek *Candida* (Spellberg i wsp. 2003).

Kandydozy u zwierząt są na ogół również zakażeniami endogennymi. U młodych osobników dochodzi często do zasiedlania przewodu pokarmowego na skutek błędów żywieniowych: gwałtownej zmiany karmy powodującej niestrawność, biegunki, zmiany proporcji składników ontocenoz narządów układu trawiennego, czego konsekwencją jest podawanie antybiotyków i nadmierny rozwój populacji grzybów. Zakażenia grzybami z rodzaju *Candida* obserwuje się również często w przypadkach *mastitis* – zapalenia gruczołu mlekowego, w wyniku „dowymieniowego” stosowania antybiotyków o szerokim spektrum działania i steroidów. Grzyby izolowane bywają również z układu rozrodczego u zwierząt, zwłaszcza w hodowlach wielkostatadnych, a transmisja zakażenia z jednego zwierzęcia na drugie spowodowana jest technologią procesu krycia zwierząt, np. sztuczną inseminacją i wprowadzaniem cewników do układu rozrodczego, a także szerokim i nadmiernym profilaktycznym stosowaniem antybiotyków i leków steroidowych. Sporadycznie grzyby z rodzaju *Candida* bywają izolowane ze zmian skórnych lub jamy ustnej, gardła i jamy nosowej zwierząt towarzyszących człowiekowi: najczęściej, psów, rzadziej kotów lub małych gryzoni (Lehmann 1985, Krohne 2000, Biegańska i Dworecka-Kaszak 2003, Pressler i wsp. 2003). Na ogół jednak stanowią wtedy czynnik towarzyszący zakażeniom bakteryjnym. Oddzielnym problemem są zakażenia grzybami *Candida* u zwierząt ze znacznie obniżoną sprawnością układu immunologicznego, np. u zwierząt z chorobą nowotworową. W badaniach wykonywanych *post mortem* bardzo często u tych zwierząt stwierdza się uogólnioną kandydozę narządową.

Zakażenia omówionymi grzybami nieco inaczej przebiegają u ptaków. *Candida albicans* zwykle występuje jako marginalna populacja ich normalnej ontocenozy jelitowej. W czasie stresu dochodzi do nadmiernego namnożenia się grzybów i rozwija się typowa kandydoza wola (ang. crop). Chore ptaki nie przybierają na wadze, często wymiotują i stają się apatyczne. U młodych zwierząt następuje zahamowa-

nie wzrostu, występuje biegunka i opóźnione opróżnianie zawartości wola. Często pojawiają się również charakterystyczne serowate, białe naloty na błonach śluzowych jamy ustnej i w okolicy dzioba, co związane jest również z niedoborami witaminy A. Zmiany w obrębie jamy ustnej i nosowej mają tendencje do proliferacji. Może to stwarzać mechaniczną przeszkodę i prowadzi do zaburzeń w oddychaniu, co jeszcze bardziej pogłębia osłabienie ptaków. Zaburzenia w opróżnianiu wola często powodują, że dochodzi do zakwaszenia jego zawartości. Wtedy na jego wyściółce pojawia się szara warstwa przypominająca cienką błonę, zmiany mogą też ulegać nasilonym procesom zapalnym i przybierać postać wrzodziejącą. Ściany wola stają się cieńsze i tracą napięcie mięśniowe, a ptaki zwracają pokarm, który zalega często w okolicy dzioba lub widoczne są jego resztki na upierzeniu głowy i szyi.

Kandydoza u ptaków rozwija się, kiedy następuje namnażanie się grzybów. Czynniki usposabiającymi mogą być: inwazje pasożytów, niedożywienie, choroby zakaźne, hypowitaminoza A lub podawanie spleśniałej karmy, a także złe warunki higieniczne bytowania ptaków lub przedłużająca się terapia antybiotykowa. Choroba jednakże ma tendencje do szerzenia się w stadzie, dlatego powinno się izolować ptaki z objawami klinicznymi. Młode ptaki są szczególnie podatne na wystąpienie grzybicy, która może ujawniać się również u piskląt, co sugeruje przypuszczenie, że powierzchnia skorupki jaj kontaminowana grzybem może być źródłem zakażenia. W badaniach anatomopatologicznych wykazano zmiany zarówno w obrębie klatki piersiowej, jak i rozsiane w narządach wewnętrznych (Buchter i Miles, Improved Aviculture Management May Prevent Candidiasis in Birds, http://edis.ifas.ulf.edu/BODY_VM031).

Zwierzęta, zwłaszcza laboratoryjne, są najczęściej stosowanym modelem eksperymentalnym w badaniu uogólnionej kandydozy. Zwykle ocenia się udział poszczególnych elementów odpowiedzi immunologicznej, zarówno komórkowej jak i humoralnej, w obronie przed zakażeniem grzybami z rodzaju *Candida*. Do doświadczeń używane są często myszy lub szczury z wywołaną eksperymentalnie immunosupresją, które zakaża się następnie drogą dożylną lub dootrzewnową akseniczną hodowlą wirulentnych szczepów *Candida albicans* (Joshi i Joshi 2000). W naszych rutynowych badaniach diagnostycznych stwierdziliśmy występowanie grzybów z rodzaju *Candida* w przewodzie pokarmowym myszy pochodzących z hodowli laboratoryjnych. Grzyby te izolowane były również z odchodów mysich zbieranych w klatkach i ściółki. U zwierząt klinicznie nie obserwowano żadnych objawów, a ich kondycja fizyczna i wygląd zewnętrzny były prawidłowe. Ze skrawków narządów wewnętrznych śledziony i wątroby pobranych od poddanych eutanazji losowo wybranych zwierząt wyizolowano *Candida albicans* i *Candida guilliermondii*. Badania histopatologiczne tych narządów nie były prowadzone. W literaturze naukowej brakuje danych na temat składu normalnej fizjologicznej flory przewodu pokarmowego myszy, jak również spontanicznie występujących infekcji u dziko żyjących przedstawicieli tych gryzoni. Wydaje się jednak, że fakt zasiedlania grzy-

bami drożdżopodobnymi przewodu pokarmowego myszy powinien być uwzględniany przy doborze zwierząt laboratoryjnych przeznaczonych do badań nad mechanizmami patogenezы kandydozy.

W naszych rutynowych badaniach diagnostycznych izolowaliśmy również szczepy szerokiego spektrum grzybów drożdżopodobnych, głównie z rodzaju *Candida*, *Trichosporon* i *Rhodotorula* z przewodu pokarmowego zwierząt egzotycznych, tzn. węży, nietoperza lub małych egzotycznych gryzoni. Węże były sprowadzane przez hodowcę z różnych zakątków świata, poddawane kwarantannie w czasie której wykonywane były rutynowe badania sanitarne. Klinicznie zwierzęta nie wykazywały żadnych objawów choroby. Warunki, w jakich hodowane są węże w terrariach tzn. wysoka wilgotność i temperatura około 30°C, ściółka (mieszanina kory drzew i gleby), wydają się tworzyć sprzyjające środowisko do bytowania grzybów, w tym również drożdżopodobnych.

Jak już wspomiano, grzyby z rodzaju *Candida* uważane są za normalny składnik ontocenoz narządowych u ludzi i zwierząt. Pacjenci zgłaszają się do lekarza w przypadkach wystąpienia wyraźnych objawów klinicznych i dopiero wtedy próbuje się ustalić czynnik etiologiczny odpowiedzialny za wywołanie choroby. W takim aspekcie izolacja grzybów drożdżopodobnych zawsze stanowi pewien dylemat dla lekarza, który musi podjąć decyzję o ewentualnym leczeniu, tym bardziej, że do rzadkości należy izolacja tych grzybów w czystej kulturze, jako jedyne go czynnika etiologicznego. W przypadku wykrycia *Candida* w wycinkach narządów, we krwi lub płynach ustrojowych pobranych za pomocą biopsji lub punkcji, rola tych grzybów w patogenezie jest bezdyskusyjna. Wątpliwości lekarza budzą jednak przypadki, kiedy grzyby te izoluje się z przewodu pokarmowego, narządów płciowych lub skóry.

W literaturze od dawna prowadzone są dyskusje na temat konieczności podjęcia interwencji terapeutycznej w takich przypadkach. Autorzy różnych publikacji podają różne kryteria, między innymi związane z liczebnością populacji izolowanych grzybów oraz oceną ich zdolności konwersji od komórki pączkującej do fazy micelialnej.

Z ekologicznego punktu widzenia ewolucyjna rola grzybów była zawsze związana z procesem „oczyszczania”, tzn. wydalania do środowiska związków organicznych pochodzących z martwych tkanek i struktur po uprzednim rozłożeniu na czynniki prostsze, i w ten sposób włączania ich do obiegu materii w przyrodzie. W czasie ewolucji jednakże niektóre mikroorganizmy, w tym niektóre grzyby, przystosowały się do pasożytniczego trybu życia, doprowadzając w efekcie do śmierci żywiciela. W tym kontekście grzyby, również *Candida*, które z saprofitów na drodze oportunisty łatwo stają się pasożytami, nie mogą być uważane za normalny składnik ontocenoz narządowych zarówno u ludzi jak i u zwierząt.

LITERATURA

- Biegańska M., Dworecka-Kaszak B. 2003. Charakterystyka szczepów *Candida* sp. izolowanych w latach 2001-2002 od zwierząt. *Mikologia Lekarska* 10: 275-283.
- Buchter G., Miles D. Improved Aviculture Management May Prevent *Candidiasis* in Birds. http://edis.ifas.ulf.edu/BODY_VM031.
- De Hoog G.S., Guarro J., Gene J., Figueras M.J. 2000. Atlas of Clinical Fungi. Centraalnureau voor Schimmelcultures/Universitat Rovira i Virigili.
- Di Salvo A. 1985 Yeasts. <http://www.med.sc.edu:85/mycology/mycology-3.htm>.
http://www.biochemie.web.med.uni.muenchen.de/Yeast_Biology/15_Pathogenic_fungi.htm.
<http://www.med.sc.edu:85/mycology/mycology-1.htm>.
<http://www.magma.ca/~amoeba/Candida/Parasites/Immunity>.
<http://www.pfizer.com.au/DiseasesCandida.aspx> .
<http://www.purehealthsystems.com/candida.html>.
<http://thebody.com/pinf/jan/04/ois.html>.
- Joshi K.R., Joshi H. 2000. In vitro immunity of rat peritoneal m macrophages to cancer *The Indian Journal of Chest Diseases Allied Sciences* 42: <http://www.ijed-as.org/OctDec2000>
- Krohne S.G. 2000. Canine systemic fungal infections. *Veterinary Clinics of North American: Small Animal Practice* 30: 1063-90
- Lehmann P.F. 1985. Immunology of fungal infections in animals. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 10: 33-69.
- Meshbesh B. 2000. To Yeast or Not to Yeast <http://www.purehealthsystems.com/candida.html>
- Pressler B.M., Vaden S.L., Lane I.F., Cowgill L.D., Dye J.A. 2003. *Candida spp* urinary tract infections in 13 dogs and seven cats, predisposing factors, treatment, and outcome. *The Journal of the American Animal Hospital Association* 39: 263-70.
- Sena J., Nai-Ying Zheng K., Clavijo M., Nussenzweig M. 2003. Normal host defense during systemic candidiasis in mannose receptor-deficient mice. *Infection and Immunity* 71: 437-445.
- Spellberg B., Phan Trang Quynh J., Edwards J.E., French S., Filler S. 2003. Parenchymal organ, and not splenic immunity correlates with survival during disseminated candidiasis. *Infection and Immunity* 71: 5756-5764.
- Volks T. 1999. Tom Volks Fungus of the Month for January 1999. http://botit.botany.wisc.edu/toms_fungi/jan99.html

Zaakceptowano do druku 30 lipca 2004