

WPŁYW STOSOWANIA ANTYBIOTYKOTERAPII NA MIKROBIOTĘ GRZYBICZĄ JAMY USTNEJ LUDZI – BADANIA WSTĘPNE

Mateusz Ossowski

Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Wydział Nauk o Zwierzętach i Biogospodarki
Katedra Higieny Zwierząt i Zagrożeń Środowiska
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4734-8293>
e-mail: mateusz.ossowski@student.up.edu.pl

Łukasz Wlazło

Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Wydział Nauk o Zwierzętach i Biogospodarki
Katedra Higieny Zwierząt i Zagrożeń Środowiska
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1086-182X>
e-mail: lukasz.wlazlo@up.lublin.pl

Martyna Kasela

Uniwersytet Medyczny w Lublinie, Katedra i Zakład Mikrobiologii Farmaceutycznej
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9791-2932>
e-mail: kasela.martyna@gmail.com

Bożena Nowakowicz-Dębek

Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Wydział Nauk o Zwierzętach i Biogospodarki
Katedra Higieny Zwierząt i Zagrożeń Środowiska
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2510-1062>
e-mail: bozena.nowakowicz@up.lublin.pl

Dagmara Kuca

Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie,
SKN Ochrony Środowiska, Sekcja Higieny Środowiska i Higieny Pracy
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5530-7005>
e-mail: kucadagmara@gmail.com

Patrycja Korniak-Tracz

Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, SKN Ochrony Środowiska,
Sekcja Higieny Środowiska i Higieny Pracy
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2758-1792>
e-mail: korniak.patrycja@gmail.com

Streszczenie: Celem niniejszej pracy było wykazanie zależności pomiędzy stosowaniem antybiotykoterapii a składem grzybiczym jamy ustnej człowieka. Przeprowadzono badania mające na celu wykazanie korelacji między stosowaniem antybiotykoterapii a zmianą liczebności grzybów w obrębie błony śluzowej jamy ustnej. Analizy mikrobiologiczne potwierdziły, iż stosowanie antybiotyków powoduje znaczny wzrost liczebności grzybów drożdżopodobnych z rodzaju *Candida* w obrębie jamy ustnej, predysponując do występowania kandydoz.

Słowa kluczowe: antybiotyki, kandydoza, jama ustna, *Candida albicans*

WPROWADZENIE

W jamie ustnej obecnych jest wiele drobnoustrojów, których funkcja w postępowaniu chorobowym nie jest precyzyjnie poznana. Drożdżaki z rodzaju *Candida* stanowią składnik mikrobioty błon śluzowych jamy ustnej i gardła ludzi, przy czym częstość kolonizacji tych drobnoustrojów w poszczególnych grupach społecznych czy wiekowych może być znacznie zróżnicowana [Yang i in. 2011]. Co więcej, intensywna kolonizacja jamy ustnej przez *Candida* spp. połączona z występowaniem chorób, tj. cukrzyca, jest uznawana za główny czynnik rozwoju endogennej kandydozy [Zomorodian i in. 2016]. Grzybice jamy ustnej są ważnym zagadnieniem dla lekarzy o różnych specjalizacjach oraz stanowią problem o zasięgu globalnym. Infekcje te wcześniej były znane jako schorzenie niemowląt oraz osób o obniżonej odporności, dzisiaj wyraźnie są związane ze zmianami demograficznymi i gwałtownym rozwojem medycyny. Kandydozy jamy ustnej należą do zakażeń oportunistycznych i są jednocześnie najczęściej spotykanym zakażeniem ludzi o etiologii grzybiczej. Stosowanie antybiotyków oraz leków immunosupresyjnych stanowi główny czynnik predysponujący do zwiększenia częstości występowania zakażeń grzybiczych. Antybiotyki i leki immunosupresyjne przez zakłócenie procesu naturalnej kolonizacji bakteryjnej, a także tłumienie układu odpornościowego stwarzają korzystne warunki do rozwoju grzybów. Chociaż zakażenia jamy ustnej mogą być powodowane przez wiele gatunków z rodzaju *Candida*, to najczęściej izolowanym czynnikiem etiologicznym jest *Candida albicans*. Drożdżak ten jest także drobnoustrojem, który najczęściej powoduje zakażenia u ludzi zdrowych oraz stanowi czynnik etiologiczny śmiertelnych zakażeń w grupach wysokiego ryzyka, np. u pacjentów z obniżoną odpornością [Abu-Elteen i in. 2006; Biliński i in. 2008; Paczkowska i in. 2010].

Kandydoza błony śluzowej jamy ustnej ma zwykle charakter zakażenia endogennego. Ma ona powiązanie z powszechnym stosowaniem antybiotyków, leków immunosupresyjnych, a także leczeniem nowotworów, które powodują zaburzenie składu mikroflory jamy ustnej. Do powstania grzybicy jamy ustnej usposabia również podeszły wiek, cukrzyca, niedoczynność tarczycy, niedobory żelaza i witamin [Meurman i in. 2007; Paczkowska i in. 2010]. Objawy chorobowe grzybicy jamy ustnej charakteryzują się zaczerwienieniem, bolesnością,

obrzemieniem oraz suchością błony śluzowej. Po okresie 2–3 dni mogą się pojawić białe naloty, które po pewnym czasie pozwalają się łatwo zdjąć. Ich barwa pod wpływem powietrza zmienia się na biało-żółtą lub biało-brązową. Często występuje również zapalenie kąć ust [Jopek-Sady 2013]. W leczeniu kandydozy jamy ustnej i gardła skuteczne są głównie: azole stosowane miejscowo (np. klotrimazol w tabletkach rozpuszczających się w jamie ustnej), azole doustne (np. flukonazol), a także doustne polieni (np. amfoterycyna B w zawiesinie). W przypadku zakażeń nawracających lub opornych na leczenie należy zastosować azole, które wchłaniają się po podaniu doustnym (np. ketokonazol) w zawieszynie lub dożylnie. Leczenie rozwiniętej infekcji grzybiczej jest kosztowne, a często również nieskuteczne. Dużą nadzieję w zwalczaniu zakażeń grzybiczych wiąże się z zastosowaniem leków profilaktycznych podawanych pacjentom z grupy wysokiego ryzyka [Hetmanowska 2004]. W przypadku grzybicy jamy ustnej zalecana jest dieta z ograniczeniem węglowodanów, produktów wysoko przetworzonych i z wysokim indeksem glikemicznym. Należy spożywać duże ilości jarzyn i owoców, kefiru, jogurtu, a także kwaśnego mleka, które zawierają żywe kultury bakterii. Należy również pamiętać o spożyciu minimum dwóch litrów płynów dziennie, co zapobiega wzrostowi ilości toksyn w organizmie. Podczas stosowania diety nie można zapomnieć o tłoczonych na zimno, wysokiej jakości olejach roślinnych, tj. olej rzepakowy czy lniany, które są źródłem kwasów omega-3. Należy stale przestrzegać zasad zdrowego odżywiania, a także stosować preparaty zarówno probiotyczne, jak i prebiotyczne [Jopek-Sady 2013].

Z powyższych powodów celem naszych wstępnych badań było wykazanie zależności pomiędzy stosowaniem antybiotykoterapii a liczebnością i składem gatunkowym grzybów zasiedlających jamę ustną człowieka.

MATERIAŁ I METODY

Materiał do badań stanowiły wymazy pobrane od 6 osób zdrowych, które w ostatnim miesiącu nie przyjmowały żadnych leków antybiotykowych lub suplementów diety, oraz 7 osób, które są w trakcie leczenia antybiotykowego. Materiał pobrano rano za pomocą sterylnego patyczka wymazowego z powierzchni migdałków oraz tylnej ściany gardła. Następnie wymazy posiewano na stałe podłoże Sabouarda oraz podłoże krwawe (agar z 5% dodatkiem krwi baraniej) i inkubowano przez 24–48 godzin w temperaturze 37°C. Po okresie inkubacji wyrosłe kolonie zliczano, a następnie oceniano morfologicznie oraz mikroskopowo, stosując barwienie metodą Grama. Izolaty zaklasyfikowane jako grzyby drożdżopodobne przesiewano redukcyjnie na podłoże Sabouarda z chloramfenikolem. Po uzyskaniu wzrostu czystych kultur grzybiczych wyselekcjonowane izolaty identyfikowano do gatunku, wykorzystując komercyjne testy biochemiczne API (ang. *analytical profile index*) firmy BioMerieux Polska oraz program komputerowy ApiWeb. Uzyskane wyniki przedstawiono w formie tabeli.

WYNIKI

W przeprowadzonych badaniach wśród osób stosujących antybiotykoterapię występowanie drożdżaków stwierdzono u 78,43% badanych, przy zaobserwowanych wzrostach bardzo licznych kolonii grzybów. W grupie osób niestosujących w ostatnim miesiącu antybiotykoterapii stwierdzono ich występowanie jedynie w 33,3% przypadków i były to pojedyncze kolonie grzybów. Występowanie grzybów strzępkowych wykazano u 3 osób przyjmujących antybiotyki (42,86% badanych) oraz u 1 osoby zdrowej (16,67% badanych). Należy nadmienić, iż obecność zarodników grzybów strzępkowych w badanym materiale najprawdopodobniej wynikała z zainhalowania ich drogą aerogenną, gdyż nie stanowią one naturalnie występujących grzybów w obrębie śluzówki jamy ustnej. Szczegółowe wyniki badań przedstawiono w tabeli 1.

Podczas identyfikacji gatunkowej przeprowadzonej za pomocą komercyjnych testów biochemicznych API wykazano, że 100% uzyskanych izolatów grzybów drożdżopodobnych to drożdżaki należące do gatunku *Candida albicans*.

Tabela 1. Występowanie grzybów w obrębie śluzówki jamy ustnej badanych osób

	Nr próby	Przyjmowany antybiotyk (grupa)	Natężenie wzrostu grzybów
W trakcie leczenia	1	Roksytromycyna (makrolid)	<i>Candida albicans</i> (+) grzyby strzępkowe (+)
	2	Cefuroksym (β-laktam)	bw
	3	Azytromycyna (makrolid)	<i>Candida albicans</i> (+++)
	4	Klindamycyna (linkozamid)	<i>Candida albicans</i> (+) grzyby strzępkowe (+)
	5	Amoksycylina (β-laktam)	<i>Candida albicans</i> (++) grzyby strzępkowe (+)
	6	Tetracyklina (tetracykliny)	<i>Candida albicans</i> (+++)
	7	Amoksycylina (β-laktam)	bw
Osoby zdrowe	8	–	grzyby strzępkowe (+)
	9	–	bw
	10	–	<i>Candida albicans</i> (+)
	11	–	bw
	12	–	<i>Candida albicans</i> (+)
	13	–	bw

Objaśnienia: +++ wzrost bardzo liczny; ++ wzrost liczny; + pojedyncze kolonie; bw – brak wzrostu.

DYSKUSJA

Zgodnie z danymi zawartymi w pracach Kubickiej-Musiał i in. [2011] oraz Petkowicz i in. [2006] główną przyczyną predysponującą do rozwoju grzybic jest przede wszystkim przyjmowanie antybiotyków, ale także leków immunosupresyjnych, w tym glikokortykoidów. Innymi czynnikami jest stosowanie cyto-

statyków i radioterapia podczas terapii nowotworowych. Najczęściej występującym czynnikiem etiologicznym kandydoz jamy ustnej są drożdżaki *Candida albicans*, rzadziej *C. tropicalis*, *C. glabrata*, *C. krusei*. Grzyby drożdżopodobne z rodzaju *Candida* są często naturalnym składnikiem mikrobioty błony śluzowej przewodu pokarmowego, oddechowego, moczowo-płciowego oraz skóry, gdzie przy prawidłowo funkcjonującym układzie immunologicznym nie wywołują zakażeń. Warto zaznaczyć, że nawet w 50% przypadków obserwuje się występowanie komensalizmu między człowiekiem a tymi mikroorganizmami [Raška i in. 2007; Staniszevska i in. 2012]. Wśród wszystkich drożdżaków z rodzaju *Candida*, dominującym gatunkiem jest *Candida albicans* (70%). Jest to patogen oportunistyczny, który w stanach zaburzeń odporności doprowadza do zakażeń grzybiczych, zarówno powierzchniowych, jak i inwazyjnych kandydoz systemowych, przy których odnotowuje się wysoką śmiertelność – od 30 do aż 70%. Jedną z przyczyn doprowadzających do infekcji jest m.in. stosowanie terapii empirycznych, czego konsekwencją jest długotrwałe przyjmowanie nieodpowiednich leków przeciwdrobnoustrojowych [Staniszevska i in. 2012].

W badaniach przeprowadzonych przez Huang i Wang [2003] wykazano, iż stosowanie antybiotyków szerokowachlarzowych powoduje zwiększenie populacji grzybów drożdżopodobnych w przewodzie pokarmowym od 10 do 100 razy, a także zmianę gatunku drożdżaków z *Candida albicans* na inne. Częstość kolonizacji, a także gęstość komórek drożdży na błonie śluzowej przewodu pokarmowego zależy od rodzaju stosowanej antybiotykoterapii. Największy przyrost stężenia populacji drożdżaków podczas ostatniego dnia leczenia powoduje amoksylicyna/klawulanian, zaś najmniejszy przyrost – ampicylina [Samonis 1994]. Uzyskane wyniki wstępnych badań własnych potwierdzają wpływ stosowania antybiotykoterapii na liczebność grzybów w obrębie błony śluzowej jamy ustnej. W badaniach własnych wykazano, że najczęściej występującym grzybem jest *Candida albicans*, zarówno wśród osób stosujących leki przeciwdrobnoustrojowe, jak i wśród osób zdrowych. Stosowanie antybiotykoterapii nie wpływa na skład mikoflory jamy ustnej. W badaniach na myszach przeprowadzonych przez Noverr i in. [2004] zwierzętom podawano przez 5 dni antybiotyk o szerokim spektrum działania w wodzie do picia w celu zmniejszenia całkowitej flory bakteryjnej, a następnie pojedynczą dawkę doustną. W czwartym dniu leczenia zaobserwowano podwyższoną ilość grzybów *Candida albicans*. Gdy przerwano leczenie antybiotykem, liczba anaerobowych bakterii jelitowych uległa zwiększeniu. Poziom drożdży z rodzaju *Candida* w przewodzie pokarmowym spadł podczas odbudowy naturalnej flory fizjologicznej, lecz pozostawał podwyższony do 12 dnia po zakończonym leczeniu. Drożdże z rodzaju *Candida* były wówczas znajdowane w kale zwierząt. *Candida albicans* nie powodował jawnych objawów choroby i nie rozpowszechniał się z przewodu pokarmowego. Grzyby drożdżopodobne, do których należy *Candida albicans*, mają szerokie spectrum działania. Ich znaczenie w ontocenoze jamy ustnej jest niejednoznaczne. Znaczna część autorów artykułów naukowych uważa, iż w zdrowej jamie ustnej bytują one jako

komensale, w ten sposób można uznać je za element fizjologicznej mikrobioty. Inni natomiast stwierdzają, że grzyby te są patogenem, który może powodować drożdżycę wieloogniskowe narządów, w tym także jamy ustnej [Akpan, Morgan 2002]. Wśród 100 badanych pacjentów okazało się, że 30 z nich jest zakażona tym patogenem. Przyjmowane jest, że spośród ludzi będących nosicielami grzybów drożdżopodobnych większość cierpi na kandydozy [Nasution 2013]. Wśród kilkunastu odmian drożdżaków w największym stopniu rozpowszechnionym grzybem nękającym organizm człowieka nadal jest *Candida albicans*.

KONKLUZJE

1. Badania potwierdziły postawioną hipotezę badawczą i wykazały korelację między stosowaniem antybiotykoterapii a liczebnością grzybów zasiedlających błony śluzowe jamy ustnej.
2. Przyjmowanie antybiotyków powoduje znaczne zwiększenie liczebności drożdży z gatunku *Candida albicans*.
3. Antybiotykoterapia nie wpływa na skład gatunkowy grzybów zasiedlających jamę ustną.

Title: The Effect of Antibiotic Therapy on Fungal Microbiota of the Human Mouth – Preliminary Studies

Summary: The aim of this study was to show the relationship between the use of antibiotic therapy and the fungal composition of the human mouth. Studies have been conducted to show a correlation between the use of antibiotic therapy and a change in the number of fungi within the oral mucosa. Microbiological analyzes confirmed that the use of antibiotics causes a significant increase in the number of *Candida* fungi in the oral cavity, predisposing to candidiasis.

Keywords: antibiotics, candidiasis, oral cavity, *Candida albicans*

BIBLIOGRAFIA

1. Abu-Elteen K.H., Hamad M.A., Salah S.A. (2006), *Prevalence of oral Candida infections in diabetic patients*, "Bahrain Medical Bulletin", nr 28 (1), s. 1–8.
2. Akpan A., Morgan R. (2002), *Oral candidiasis*, "Postgraduate Medical Journal", nr 78 (922), s. 455–459. DOI: <https://doi.org/10.1136/pmj.78.922.455>.
3. Biliński P., Seferyńska I., Warzocha K. (2008), *Diagnostyka i leczenie układowych zakażeń grzybiczych w onkologii*, „Onkologia w Praktyce Klinicznej”, nr 4 (1), s. 15–24.
4. Hetmanowska E. (2004), *Zakażenia grzybicze: profilaktyka tańsza od leczenia*, www.medexpress.pl.

5. Huang M.Y., Wang J.H. (2003), *Impact of antibiotic use on fungus colonization in patients hospitalized due to fever*, "Journal of Microbiology Immunology and Infection", nr 36 (2), s. 123–128.
6. Jopek-Sady A. (2013), *Grzybica jamy ustnej*. Praca specjalizacyjna z zakresu farmacji aptecznej, Kołobrzeg, <https://docplayer.pl/2059475-Grzybica-jamy-ustnej.html>
7. Kubicka-Musiał M., Musiał S.T., Wierucka-Młynarczyk B., Hüpsch-Marzec H. (2011), *Częstość występowania infekcji grzybiczej oraz ocena lekowrażliwości grzybów z rodzaju Candida u pacjentów z objawami pieczenia błony śluzowej jamy ustnej*, „Dental and Medical Problems”, nr 48 (3), s. 364–370.
8. Meurman J.H., Siikala E., Richardson M., Rautemaa R. (2007), *Non-Candida albicans Candida yeasts of the oral cavity*, "Communicating Current Research and Educational Topics and Trends in Applied Microbiology", nr 1 (1), s. 719–731.
9. Nasution A.I. (2013), *Virulence factor and pathogenicity of Candida albicans in oral candidiasis*, "World Journal of Dentistry", nr 4 (4), s. 267–271. DOI: <https://doi.org/10.5005/jp-journals-10015-1243>.
10. Noverr M.C., Noggle R.M., Toews G.B., Huffnagle G.B. (2004), *Role of antibiotics and fungal microbiota in driving pulmonary allergic responses*, "Infection and Immunity", nr 72 (9), s. 4996–5003. DOI: <https://doi.org/10.1128/IAI.72.9.4996-5003.2004>.
11. Paczkowska I., Wójtowicz A., Malm A. (2010), *Wybrane aspekty farmakoterapii kandydoz*, „Terapia i Leki”, nr 66, s. 539–543.
12. Petkowicz B., Skiba-Tatarska M., Wysokińska-Miszczyk J. (2006), *Kandydoza jamy ustnej*, „Gerontologia Polska”, nr 14 (4), s. 160–164.
13. Raška M., Běláková J., Křupka M., Weigl E. (2007), *Candidiasis — Do we need to fight or to tolerate the Candida fungus?*, "Folia Microbiologica", nr 52 (3), s. 297–312.
14. Samonis G., Gikas A., Toloudis P., Maraki S., Vrentzos G., Tselentis Y., Bodey G. (1994), *Prospective study of the impact of broad-spectrum antibiotics on the yeast flora of the human gut*, "European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases", nr 13 (8), s. 665–667. DOI: <https://doi.org/10.1007/BF01973996>.
15. Staniszweska M., Bondaryk M., Piłat J., Siennicka K., Magda U., Kurzątkowski W. (2012), *Czynniki zjadliwości Candida albicans*, „Przegląd Epidemiologiczny”, nr 66, s. 629–633.
16. Yang Y.L., Leaw S.N., Wang A.H., Chen H.T., Cheng W.T., Lo H.J. (2011), *Characterization of yeasts colonizing in healthy individuals*, "Medical Mycology", nr 49, s. 103–106. DOI: <https://doi.org/10.3109/13693786.2010.487076>.
17. Zomorodian K., Kavooosi F., Pishdad G.R., Mehriar P., Ebrahimi H., Bandegani A., Pakshir K. (2016), *Prevalence of oral Candida colonization in patients with diabetes mellitus*, "Journal de Mycologie Médicale", nr 26, s. 103–110. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.mycmed.2015.12.008>.