

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ENOTA MEDODDELČNEGA ŠTUDIJA MIKROBIOLOGIJE

Tadej FURLAN

**KANDIDEMIJE V DVEH NAJVEČJIH
BOLNIŠNICAH V LJUBLJANI V OBDOBJU OD
01.01.2000 DO 31.03.2008**

DIPLOMSKO DELO

Univerzitetni študij

Ljubljana, 2009

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ENOTA MEDODDELČNEGA ŠTUDIJA MIKROBIOLOGIJE

Tadej FURLAN

**KANDIDEMIJE V DVEH NAJVEČJIH BOLNIŠNICAH V
LJUBLJANI V OBDOBJU OD 01.01.2000 DO 31.03.2008**

DIPLOMSKO DELO
Univerzitetni študij

**CANDIDEMIA IN TWO BIGGEST HOSPITALS IN LJUBLJANA
FROM THE FIRST JANUARY 2000 TO THE THIRTY-FIRST
MARCH 2008**

GRADUATION THESIS
University studies

Ljubljana, 2009

Diplomsko delo je zaključek dodiplomskega univerzitetnega študija mikrobiologije na Biotehniški fakulteti Univerze v Ljubljani. Raziskovalno delo je bilo opravljeno v Laboratoriju za diagnostiko glivičnih infekcij na Inštitutu za mikrobiologijo in imunologijo Medicinske fakultete v Ljubljani.

Študijska komisija dodiplomskega študija mikrobiologije je za mentorico diplomske naloge imenovala prof. dr. Katjo Seme, za somentorico as. dr. Tadejo Matos in za recenzenta prof. dr. Alojz Ihan.

Mentorica: prof. dr. Katja Seme, dr. med..

Somentorica: asist. dr. Tadeja Matos, dr. med.

Recenzent: prof. dr. Alojz Ihan, dr.med.

Komisija za oceno in zagovor:

Predsednica: prof. dr. Darja Žgur Bertok, univ. dipl. biol.

Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za biologijo

Članica: prof. dr. Katja Seme, dr. med.

Univerza v Ljubljani, Medicinska fakulteta, Inštitut za mikrobiologijo in imunologijo

Članica: asist. dr. Tadeja Matos, dr. med.

Univerza v Ljubljani, Medicinska fakulteta, Inštitut za mikrobiologijo in imunologijo

Član: prof. dr. Alojz Ihan, dr. med.

Univerza v Ljubljani, Medicinska fakulteta, Inštitut za mikrobiologijo in imunologijo

Datum zagovora:

Delo je rezultat lastnega raziskovalnega dela.

Tadej Furlan

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

- ŠD Dn
 DK UDK 579.61: 616-078(043)= 163.6
 KG glivične bolezni/ kandidemije/ Slovenija/ incidenca/ *Candida albicans*/
Candida glabrata/ občutljivost za antimikotike/ amfotericin B/ kaspofungin/
 vorikonazol/ flukonazol/ dejavniki tveganja/ umrljivost
 AV FURLAN, Tadej
 SA SEME, Katja (mentorica) / MATOS, Tadeja (somentorica) / IHAN, Alojz
 (recenzent)
 KZ SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101
 ZA Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Enota medoddelčnega študija
 mikrobiologije
 LI 2009
 IN KANDIDEMIJE V DVEH NAJVEČJIH BOLNIŠNICAH V LJUBLJANI V
 OBDOBJU OD 01.01.2000 DO 31.03.2008
 TD Diplomsko delo (univerzitetni študij)
 OP X, 65 str., 18 pregl., 12 sl., 1 pril., 60 vir.
 IJ SI
 JI sl/en
 AI Incidenca glivičnih okužb v zadnjih desetletjih narašča, kar je v največji meri posledica vse večje populacije kritično bolnih in imunsko oslabljenih bolnikov. V zadnjih desetletjih se povečuje uporaba širokospektralnih antibiotikov, razvijajo se nova citotoksična zdravila za zdravljenje rakavih bolezni, povečuje se število bolnikov, ki se zdravijo s presaditvijo krvotvornih matičnih celic in čvrstih organov. Zaradi tega prihaja do porasta primerov kandidemije, ki jo povzročajo glive rodu *Candida*. V nalogi smo si zadali cilj opredeliti incidenco kandidemij v dveh največjih bolnišnicah v Ljubljani, Univerzitetnem kliničnem centru (UKC) in Onkološkem inštitutu (OI), analizirati spekter povzročiteljev in ovrednotiti občutljivost izolatov za štiri antimikotike v obdobju od 01.01.2000 do 31.12.2007. V tem obdobju smo zabeležili 223 epizod kandidemij pri 206 bolnikih. Ugotovili smo, da incidenca kandidemij v UKC kaže počasen naraščajoč trend. Na OI pa zelo varira. Pri analizi občutljivosti smo ugotovili, da je občutljivost *C. albicans* za amfotericin B, kaspofungin in vorikonazol 100 %, za flukonazol pa tudi presega 99 %, ter da je občutljivost sevov *C. glabrata* za flukonazol nizka (18,2 %). Pri tem sevu smo ugotovili pogosto navzkrižno odpornost proti vorikonazolu (62,5 %). V obdobju od 01.01.2000 do 31.03.2008 smo v istih bolnišnicah skušali analizirati osnovne bolezni in stanja bolnikov z epizodami kandidemij, opredeliti dejavnike tveganja za kandidemijo, vire okužbe, načine zdravljenja, zaplete in izid bolezni v obdobju. Ugotovili smo, da je bila kandidemija pogosto povezana s kirurškimi posegi (46,3 %), kroničnimi boleznimi (40,1 %) in malignimi obolenji (35,4 %) ter da med najpomembnejše dejavnike tveganja sodijo zdravljenje v enotah za intenzivno terapijo, prejetje večtirne antibiotične terapije, žilni katetri, parenteralna prehrana, sepsa, prejetje kortikosteroidov in kronična ledvična odpoved. Ugotovili smo, da je umrljivost kljub ustreznemu načinu zdravljenja zelo visoka. Celokupna umrljivost bolnikov s kandidemijo po 30 dneh je bila kar 56,4 %.

KEY WORDS DOCUMENTATION

- DN Dn
- DC UDC 579.61: 616-078(043)= 163.6
- CX fungal diseases/ candidemia/ Slovenia/ incidence/ *Candida albicans*/
Candida glabrata/ susceptibility to antimycotics/ amphotericin B/
casposfungin/ voriconazole/ fluconazole/ risk factors/ mortality
- AU FURLAN, Tadej
- AA SEME, Katja (supervisor) / MATOS, Tadeja (co-advisor) / IHAN, Alojz
(reviewer)
- PP SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101
- PB University of Ljubljana, Biotechnical Faculty, Interdepartmental Programme in
Microbiology
- PY 2009
- TI CANDIDEMIA IN TWO BIGGEST HOSPITALS IN LJUBLJANA FROM
THE FIRST JANUARY 2000 TO THE THIRTY-FIRST MARCH 2008
- DT Graduation Thesis (University studies)
- NO X, 65 p., 18 tab., 12 fig., 1 app., 60 ref.
- LA SI
- AL sl/en
- AB The incidence of fungal infections in the last two decades is increasing. This is largely a result of the increasing population of critically ill and immunocompromised patients. This is due to the increasing use of broad-spectrum antibiotics, developing new cytotoxic drugs for the treatment of cancer, increasing the number of transplantations. This is why the *Candida* genus has spread so much. The objective of our task was to define the incidence of candidemia in two largest hospitals in Ljubljana, Univerzitetni klinični center and Onkološki inštitut. We intended also to analyze the spectrum of pathogens and to evaluate the sensitivity of isolates to four antimycotics in the period from the first january 2000 to the thirty-first december 2007. In this period we examined 206 patients. In total, those patients had 223 epizodes of candidemia. We found out that the incidence in Univerzitetni klinični center is slowly increasing. On the other side, the incidence in Onkološki inštitut is quite variable. When we analyzed the susceptibility, we found out that *C.albicans* is 100 % susceptible to amfotericin B, casposfungin and voriconazole. It is also more than 99 % susceptible to fluconazole. The resistance of *C.glabrata* is very high. In the same hospitals we evaluated the diseases of the patients with candidemia. This was analyzed in the period from the first january 2000 to the thirty-first march 2008. We tried to define the risk factors, source of infection, treatment, complications and outcome of treatment. Candidemia was related with the surgery (46,3 %), cronic diseases (40,1 %) and malignant diseases (35,4 %). The most important risk factors were hospitalization in the intensive care unit, receiving broad spectrum antibiotics, central venous catheters, parenteral nutrition, sepsis, receiving corticosteroids and renal failure. When we analyzed the mortality we found out that it was very high. The 30 day mortality was 56,4 %.

KAZALO VSEBINE

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA	III
KEY WORDS DOCUMENTATION	IV
KAZALO VSEBINE	V
KAZALO PREGLEDNIC	VII
KAZALO SLIK	VIII
KAZALO PRILOG	IX
KAZALO OKRAJŠAV	X
1 UVOD	1
1.1 NAMEN DELA	2
2 PREGLED OBJAV	3
2.1 KLASIFIKACIJA, EKOLOGIJA, GLAVNE LASTNOSTI RODU <i>Candida</i>	3
2.2 OKUŽBE KI JIH POVZROČAJO VRSTE IZ RODU <i>Candida</i>	5
2.2.1 Kandidoza sluznic	5
2.2.2 Sindromi kožne kandidoze	5
2.2.3 Kronična mukokutana kandidoza	6
2.2.4 Kandidoza notranjih organov in organskih sistemov	8
2.2.4.1 Kandidoza centralnega živčnega sistema	8
2.2.4.2 Kandidoza dihal	8
2.2.4.3 Kandidoza srca	9
2.2.4.4 Kandidni endokarditis	9
2.2.4.5 Kandidoza sečil	9
2.2.4.6 Kandidni artritis in osteomielitis	10
2.2.4.7 Kandidoza peritoneja, jeter in vranice	10
2.2.4.8 Endoftalmitis in horiorretinitis	11
2.2.4.9 Akutna diseminirana kandidoza in kandidemija	11
2.3 PATOGENEZA, VIRULENČNI DEJAVNIKI IN DEJAVNIKI TVEGANJA ZA NASTANEK OKUŽB Z GLIVAMI RODU <i>Candida</i>	14
2.4 EPIDEMIOLOGIJA KANDIDEMIJE	16
2.5 DIAGNOSTIKA SISTEMSKE KANDIDOZE	17
2.6 ZDRAVLJENJE IN PREVENTIVA GLIVIČNIH SEPS POVZROČENIH Z GLIVAMI RODU <i>Candida</i>	20
2.7 ANTIMIKOTIKI	22
2.7.1 Polieni	22
2.7.2 Azoli	23

2.7.3 Ehinokandini	23
2.8 METODE ZA TESTIRAJE OBČUTLJIVOSTI GLIV ZA ANTIMIKOTIKE	24
3 MATERIAL IN METODE	27
3.1 RETROSPEKTIVNA ANALIZA	27
3.2 PROCESIRANJE HEMOKULTUR IN IDENTIFIKACIJA GLIV KVASOVK	27
3.3 TESTIRANJE OBČUTLJIVOSTI	29
3.4 EPIDEMIOLOŠKI PODATKI BOLNIŠNIC	30
3.5 STATISTIČNA ANALIZA	30
4 REZULTATI	31
4.1 INCIDENCA KANDIDEMIJ	31
4.2 SPEKTER OSAMLJENIH GLIV RODU <i>Candida</i> IZ HEMOKULTUR	32
4.3 OBČUTLJIVOST IZOLATOV RODU <i>Candida</i> IZ HEMOKULTUR ZA ANTIMIKOTIKE	38
4.4 OSNOVNE BOLEZNI, DEJAVNIKI TVEGANJA, NAČIN ZDRAVLJENJA IN IZID BOLEZNI	41
5 RAZPRAVA IN SKLEPI	46
5.1 RAZPRAVA	46
5.2 SKLEPI	51
6 POVZETEK	52
7 VIRI	54
ZAHVALA	63
PRILOGE	64

KAZALO PREGLEDNIC

Preglednica 1: Klinične oblike površinskih okužb z glivami rodu <i>Candida</i> (Richardson in Warnock, 2003).	7
Preglednica 2: Klinične oblike globokih in diseminiranih okužb z glivami rodu <i>Candida</i> ...	12
Preglednica 3: Mejne vrednosti minimalnih inhibitornih koncentracij (MIK) za posamezne antimikotike.....	24
Preglednica 4: Koncentracijska območja gradienta antimikotikov na Etestu.....	24
Preglednica 5: Spekter vrst rodu <i>Candida</i> iz hemokultur po posameznih letih v obdobju 01.01.2000 do 31.12.2007	33
Preglednica 6: Spekter gliv rodu <i>Candida</i> osamljenih iz hemokultur po starostnih skupinah	35
Preglednica 7: Spekter gliv rodu <i>Candida</i> osamljenih iz hemokultur pri bolnikih nad in pod 65 let.....	35
Preglednica 8: Spekter gliv rodu <i>Candida</i> osamljenih iz hemokultur glede na spol	36
Preglednica 9: Spekter gliv rodu <i>Candida</i> osamljenih iz hemokultur glede na uporabljen izolacijski sistem.....	36
Preglednica 10: Vrstni spekter gliv rodu <i>Candida</i> osamljenih iz hemokultur po oddelkih....	37
Preglednica 11: Občutljivost izolatov rodu <i>Candida</i> iz hemokultur za amfotericin B in flukonazol.....	39
Preglednica 12: Občutljivost izolatov rodu <i>Candida</i> iz hemokultur za vorikonazol in kaspofungin	39
Preglednica 13: Občutljivost izolatov rodu <i>Candida</i> za amfotericin B in flukonazol z interpretacijami.	40
Preglednica 14: Občutljivost izolatov rodu <i>Candida</i> za vorikonazol in kaspofungin z interpretacijami.	41
Preglednica 15: Osnovne bolezni 147 bolnikov z dokazano kandidemijo hospitalizirani na OI in UKC od 01.01.2000 do 31.03.2008	42
Preglednica 16: Vrsta kirurškega posega pri 68 bolnikih z dokazano kandidemijo	42
Preglednica 17: Dejavniki tveganja pri 147 bolnikih z dokazano kandidemijo	43
Preglednica 18: Izid kandidemije po 30. dneh glede na osamljeno vrsto.....	45

KAZALO SLIK

Slika 1: Mikroskopska slika <i>C. albicans</i> (Christina's, 2007).....	4
Slika 2: Etest (UHSM, 2008)	26
Slika 3: Hemokulturni aparat BacT/ALERT 3D (BioMerieux, Lyon, Francija)	28
Slika 4: Steklениčke za aerobno in anaerobno rast baterij ter otroška steklenička	28
Slika 5: Diferencialno kromogeno gojišče CHROMagar Candida (Frilabo, 2006)	29
Slika 6: API Candida	29
Slika 7: Incidenca kandidemij v obdobju 01.01.2000-31.12.2007 na Univerzitetnem kliničnem centru (UKC) in Onkološkem inštitutu (OI) v Ljubljani /10.000 bolnišničnih oskrbnih dni	31
Slika 8: Incidenca kandidemij v obdobju 01.01.2000-31.12.2007 na Univerzitetnem kliničnem centru (UKC) in Onkološkem inštitutu (OI) v Ljubljani /1000 sprejemov	32
Slika 9: Celokupen spekter osamljenih gliv rodu <i>Candida</i> iz hemokultur v obdobju od 01.01.2000 do 31.12.2007	33
Slika 10: Vrstni spekter gliv rodu <i>Candida</i> osamljenih iz hemokultur po posameznih letih v obdobju od 01.01.2000 do 31.12.2007.....	34
Slika 11: Vrstni spekter gliv rodu <i>Candida</i> osamljenih iz hemokultur po oddelkih	38
Slika 12: Načini in število zdravljenih bolnikov s kandidemijo	45

KAZALO PRILOG

Priloga A: Protokol bolnikov s pozitivnimi hemokulturami.....	64
----------------------------------------------------------------------	----

KAZALO OKRAJŠAV

CFW	angl. calkoufluor white
CLSI	angl. Clinical and Laboratory Standards Institute
CRP	C reaktivni protein
CVK	centralni venski kateter
ECMM	angl. European Confederation of Medical Mycology
EORTC	angl. European Organization for Research and Treatment of Cancer
IFICG	angl. Invasive Fungal Infection Cooperative Group
KOH	kalijev hidroksid
KOPB	kronično obstruktivna pljučna bolezen
MIK	minimalna inhibitorna koncentracija
MSG	angl. Mycoses Study Group
OI	Onkološki inštitut
PCR	verižna reakcija s polimerazo (angl. Polymerase chain reaction)
PNA-FISH	angl. peptide nucleic acid fluorescent in situ hybridization
PTC	prokalcitonin
R	neobčutljiv (angl. resistant)
S	občutljiv (angl. susceptible)
S-DD	občutljiv odvisno od doze (angl. susceptible dose dependent)
SABA	Sabouraud agar
UKC	Univerzitetni klinični center v Ljubljani

1 UVOD

Incidenca glivičnih okužb v zadnjih desetletjih narašča, kar je v največji meri posledica vse večje populacije kritično bolnih in imunsko oslabljenih bolnikov. V zadnjih desetletjih se povečuje uporaba širokospektralnih antibiotikov, razvijajo se nova citotoksična zdravila za zdravljenje rakavih bolezni, povečuje se število bolnikov, ki se zdravijo s presaditvijo krvotvornih matičnih celic in čvrstih organov.

Med izredno raznoliko in veliko skupino gliv jih približno 200 vrst lahko povzročajo bolezni pri človeku. Med njimi ostajajo vrste iz rodu *Candida* še vedno najpomembnejši povzročitelji oportunističnih glivičnih okužb. Poleg površinske kandidoze, kjer so prizadeti zlasti koža in nohti povzročajo kvasovke iz rodu *Candida* tudi sistemsko kandidozo. Pri sistemski kandidozi glive vdrejo v krvni obtok, iz krvnega obtoka se lahko razširijo v druge organe in povzročijo težko potekajočo bolezen. Umrljivost je kljub ustreznemu načinu zdravljenja še vedno visoka in se giblje okrog 40%. Večje tveganje za nastanek sistemskih glivičnih okužb imajo bolniki z malignimi obolenji, tisti, ki se zdravijo s presaditvijo krvotvornih matičnih celic in čvrstih organov, bolniki z vstavljenimi žilnimi katetri, tisti, ki prejemajo kortikosteroide in druga imunosupresivna zdravila, širokospektralne antibiotike, so na dializi, umetni ventilaciji in prejemajo parenteralno prehrano (Ostrosky-Zeichner, 2004). Glive iz rodu *Candida* so v ZDA četrti najbolj pogost izolat iz hemokultur hospitaliziranih bolnikov (Edmond in sod., 1999; Hajjeh in sod., 2004). Incidenca je precej višja v ZDA (1,5 na 10.000 bolnišničnih dni) kot v evropskih državah (Tortorano in sod., 2006). V Evropi le ta variira od 0,26 do 0,73 na 10.000 bolnišničnih dni (Tortorano in sod., 2006; Lagrou in sod., 2007).

V zadnjih letih je prišlo v nekaterih centrih do spremembe spektra povzročiteljev kandidemij v korist vrst ne-*Candida albicans*. Čeprav je še vedno iz krvi največkrat izolirana gliva *Candida albicans*, jo vedno bolj zamenjujeta *Candida glabrata*, ki je manj občutljiva za antimikotike iz skupine azolov, ter *Candida krusei*, ki je naravno odporna proti flukonazolu (Spellberg in sod., 2006, Hajjeh in sod., 2004). Te spremembe so verjetno v največji meri povezane z večjo uporabo flukonazola, ki se uporablja tako za profilakso kot za zdravljenje (Hajjeh in sod., 2004). Največ tovrstnih poročil izhaja iz ZDA, poročila iz evropskih držav pa so si nasprotujoča. Nekateri centri na Nizozemskem so poročali o dvakratnem porastu incidence kandidemij s premikom proti ne-*albicans*

vrstam že v zgodnjih 90 letih (Marchetti in sod., 2004). Norveška študija pa iz istega obdobja prikazuje stabilno incidenco in spekter povzročiteljev (Marchetti in sod., 2004). Glede na velike razlike v epidemioloških podatkih med posameznimi bolnišnicami in centri je zato pomembno, da zdravniki dobro poznajo svojo lokalno epidemiološko situacijo, saj so ti podatki ključni za najbolj učinkovito in smotrno načrtovanje zdravljenja.

1.1 NAMEN DELA

Namen naše raziskave je bil:

- opredeliti incidenco kandidemij v dveh največjih bolnišnicah v Ljubljani, Univerzitetnem kliničnem centru in Onkološkem inštitutu, analizirati spekter povzročiteljev in ovrednotiti občutljivost izolatov za štiri antimikotike; flukonazol, vorikonazol, amfotericin B in kaspofungin v obdobju od 01.01.2000 do 31.12.2007.
- analizirati osnovne bolezni in stanja bolnikov z epizodami kandidemij, opredeliti dejavnike tveganja za kandidemijo, vire okužbe, načine zdravljenja, zaplete in izid bolezni v obdobju od 01.01.2000 do 31.03.2008.

2 PREGLED OBJAV

Prvi opisi belih oblog na sluznici ustne votline, ki ustrezajo okužbi povzročeni z glivami rodu *Candida*, imenovani soor, izhajajo že iz časov Hipokrata in Galena. Leta 1861 je Zenker prvi natančno opisal primer sistemske okužbe. V začetku 40. let se je z začetkom široke uporabe antibiotikov začela tudi doba nenadnega širšega pojavljanja in številnih opisov novih manifestacij okužb, ki jih povzročajo vrste iz rodu *Candida* (Edwards, 2005).

2.1 KLASIFIKACIJA, EKOLOGIJA, GLAVNE LASTNOSTI RODU *Candida*

Med pomembnejšimi značilnostmi rodu *Candida* je njegova ubikvitarnost (Fidel in sod., 1999). Rod spada v razred *Fungi imperfecti*, red *Moniliales* in družino *Cryptococcaceae* (Fidel in sod., 1999; Sinnott in sod., 1987). Poznamo več kot 150 vrst rodu *Candida*. Pri človeku je med najpogosteje patogenimi opisanih le devet: *Candida albicans*, *Candida guilliermondii*, *Candida krusei*, *Candida parapsilosis*, *Candida tropicalis*, *Candida pseudotropicalis*, *Candida lusitaniae*, *Candida dubliniensis* in *Candida glabrata*.

C. albicans lahko osamimo iz zemlje, živali, bolnišničnega okolja, neživih predmetov in hrane. Tudi ne-*albicans* vrste lahko živijo v in na živalih ali na neživih predmetih. Vrste rodu *Candida* so le redko laboratorijski kontaminanti. So normalni komenzali človeka, najdemo jih na koži, sluznici prebavil, v izmečku, ženskih spolovilih, urinu bolnikov s stalnim urinskim katetrom. Znana je precej visoka incidenca kolonizacije kože zdravstvenega osebja (Pfaller, 1996). So del normalne flore kože, sluznic pri vsaj 20% normalne populacije. Spadajo med oportunistične glive. Okužbe se pojavijo, ko se normalna flora spremeni, ali ko se zmanjša odpornost organizma. To omogoča glivam, da se nenormalno razmnožijo ali celo hematogeno razširijo. Najbolj pogosto jih izoliramo iz ustne votline. Najdemo jih pri približno 31% do 55% zdravih posameznikov (Fidel in sod., 1999). Med različnimi vrstami prevladuje *C. albicans* (Banerjee in sod., 1991; Beck-Sague in Jarvis, 1993). Čeprav je večina okužb s *Candida* spp. endogenega izvora, je poznana pot prenosa tudi s človeka na človeka. Opisani so primeri soora na sluznici novorojenčkov, ki je bil pridobljen ob porodu transvaginalno (Blaschke-Hellmessen, 1998), in balanitis, ki je nastal pri spolnem kontaktu s partnerko, ki je imela *Candida* vaginitis (Mayser, 1999). Prav tako je pomembno, da je okužba z glivami rodu *Candida* lahko tudi bolnišnično

pridobljena, bodisi preko kontaminiranih predmetov ali rok zdravstvenega osebja (Pfaller, 1996; Fowler in sod., 1998).

Glive rodu *Candida* so kvasovke; to so glive, ki obstajajo predvsem v enocelični obliki. Celice, imenovane tudi blastospore so okroglih do ovalnih oblik, premera 4-6 μm , razmnožujejo se z brstenjem. Niso zahtevne za rast. Na standardnem mikološkem gojišču po Sabouradu (SABA) pri temperaturi inkubacije 37°C v 48 do 72 urah rastejo v obliki kremno belih, voščenih kolonij premera 1 do 2mm. Imajo vonj po kvasu. Pri direktnem mikroskopskem pregledu kulture ali kliničnih vzorcev opisujemo blastospore, pseudohife. Izjema je le *Candida glabrata*, ki ne izdeluje pseudohif. Po Gramu se barvajo pozitivno, za boljšo prepoznavo se klinični material lahko pred direktnim mikroskopiranjem obdela z 10-20% KOH, ki odstrani epitelijske celice, ali pa se preparat pobarva s fluorescentnim barvilom (CFW, *angl.* calkoulfluor white), ki specifično obarva le glivne strukture.

Mikroskopske značilnosti opazujemo s svetlobnim mikroskopom. Na koruznem agarju zrastejo na vrhu pseudohif za *C. albicans* značilne večje celice, obdane z debelejšo celično steno in jih imenujemo klamidospore. Mestoma se ob pseudohifah kopičijo gručaste blastospor (Matos, 2002) (Slika 1.).



Slika 1: Mikroskopska slika *C. albicans* (Christina's, 2007)

2.2 OKUŽBE KI JIH POVZROČAJO VRSTE IZ RODU *Candida*

Okužbe z glivami imenujemo mikoze, okužbe povzročene z glivami rodu *Candida* pa kandidoze ali kandidaze. Lahko jih razdelimo v nekaj skupin: povrhnja kandidoza sluznic in kože, kronična mukokutana kandidoza, kandidoza notranjih organov, sindrom diseminirane kandidoze in kandidemija (Preglednica 1).

2.2.1 Kandidoza sluznic

Okužba sluznic je najpogostejša oblika povrhnje kandidoze. Sluznica ustne votline je lahko prizadeta v obliki psevdomembranozne kandidoze - soor, eritematozne ali atrofične kandidoze in hiperplastične ali hipertrofične kandidoze. Pri prvi vidimo na površini sluznice nežne bele obloge, ki se med seboj zlivajo, pri čemer nastajajo psevdomembrane. Sestavljajo jih micelij gliv, odluščene epitelijske celice, levkociti, bakterije, keratin, nekrotično tkivo in ostanki hrane. Obloge lahko odstranimo, pri čemer nastane boleča in krvaveča rana. Oralna kandidoza lahko nastane ob dolgotrajnem antibiotičnem zdravljenju, lahko jo odkrijemo pod zobno protezo. Pogosta je pri bolnikih, ki imajo raka, so na kemoterapiji, ali obsevajo področje ustne votline in pri bolnikih, ki prejemajo steroide v obliki pršil za zdravljenje astme. Kronična, trdovratna orofaringealna kandidoza je značilna in pogosta pri bolnikih z aidsom. Njen pojav je pogosto znak prehoda okužbe s HIV v aids. Med zelo pogoste sluznične oblike kandidoze spada tudi vulvovaginitis. Spremljajo ga oteklina, bolečine, srbež zunanega spolovila in belkast izcedek, ki ga pretežno sestavljajo psevdomicelij in odluščene epitelijske celice. Ocenjujejo, da za vsaj eno epizodo tega vnetja zbolijo kar 75% vseh žensk v fertilem obdobju. Najpomembnejši dejavniki tveganja za njen nastanek so antibiotično zdravljenje, oralni kontraceptivi, nosečnost in sladkorna bolezen (Edwards, 2005).

2.2.2 Sindromi kožne kandidoze

Kožna kandidoza se najpogosteje pojavlja na mestih, ki so manj izpostavljena zračenju in so zato pogosto topla in vlažna, področja med prsti, pod dojkami in kožnimi gubami trebuha, koža pod pazduhami, perigenitalna področja in področja okoli anusa. Okužbe so

pogostejše pri osebah s prekomerno telesno težo in pri sladkornih bolnikih. Enak mehanizem nastanka okužbe ima tudi dermatitis pod pleniciami. V začetku se kažejo spremembe kože v obliki površinskih papul, vezikul in pustul, koža je pordela, lezije imajo nejasne robove, pogosto jih spremlja več manjših satelitnih sprememb v obliki papul in pustul. Najpogostejši klinični simptomi so bolečina in srbenje. Pri ljudeh, ki imajo zaradi poklica pogosto vlažne roke ali noge (pomivalke, čistilke, frizerji, športniki) se lahko razvije vnetje na koži med prsti. Kaže se v obliki rdečine in bolečih razpok. Pogosto jo spremlja tudi prizadetost enega ali več nohtov. O paronihiji govorimo, če je vneto obnohtno tkivo, onihomikoza je glivična okužba nohta. Ta postane zadebeljen, lomljiv, odstopa od podlage, s časom porumeni ali se razbarva. Opisanih je več oblik kožnih lezij, ki se lahko pojavijo ob diseminirani kandidozi. Ena najpogostejših je v obliki rdečkastih nodulov - vozličev, premera 0,5 - 1cm, ki se razporejajo po celem telesu. Diagnozo potrdimo z dokazom povzročiteljev v direktnem mikroskopskem preparatu, kultivacijo in s histološkim pregledom (Richardson in Warnock, 2003).

2.2.3 Kronična mukokutana kandidoza

Osnova kronične mukokutane kandidoze je imunska pomanjkljivost, ki je največkrat povezana z moteno funkcijo limfocitov T. Pri več kot polovici bolnikov se pojavljajo tudi motnje v delovanju žlez z notranjim izločanjem in hormonskim statusom. Okužba prizadane kožo, sluznice las, nohte in vztraja ne glede na ustrezno antimikotično zdravljenje, ki sicer pozdravi okužbo. Večinoma se bolezen pokaže že v zgodnjem otroštvu. Prve manifestacije so običajno v ustni votlini, sledijo okužbe nohtov in kože. Klinične slike so lahko zelo raznolike in se kažejo s posamično prizadetostjo nohtov pa vse do obsežnih sprememb kože, ki vodijo v pohabljenost (Edwards, 2005).

Preglednica 1: Klinične oblike površinskih okužb z glivami rodu *Candida* spp. (Richardson in Warnock, 2003)

Sindromi površinskih okužb z glivami rodu <i>Candida</i>	Glavne značilnosti in najpogostejši klinični znaki
Kandidoza sluznic	
Soor – kandidoza ustne votline	Bele obloge na površini ustne sluznice
Kandidni esofagitis	Težko požiranje, bolečine za prsnico. Vnetje je lahko v sklopu s kandidozo ustne votline ali samostojno.
Kandidoza prebavil	Poleg sprememb v ustni votlini in požiralniku se najpogosteje pojavlja v želodcu, v obliki posameznih ali številnih površinskih erozij, ulceracij, psevdomembran ali celo perforacij.
<i>Candida</i> vaginitis	Nosečnice, bolnice s sladkorno boleznijo, antibiotiki, kontraceptivi.
Sindromi kožne kandidoze	
Generalizirana kožna kandidoza	Nenavadna oblika kožne kandidoze. Razširjen izpuščaj preko trupa in ekstremitet, intenzivnejši na mestih, ki so vlažna. Proces se začne s posamičnimi lezijami, ki se kasneje zlivajo med seboj. Zbolevajo tako otroci, kot odrasli.
Interdigitalna kandidoza	Kožica med prsti je pordela, macerirana, prisotne tudi bele fisure; spremembe so boleče. Poklici: pomivalke, čistilke, športniki
Kandidni folikulitis	Okužba lasnih foliklov.
Kandidni balanitis	Lahko nastane ob spolnem odnosu s partnerko s <i>Candida</i> vaginitisom. Kaže se z bolečinami in srbenjem. Okužba s s penisa lahko razširi na skrotum, perigenitalno in ingvinalno regijo.
Kožne lezije ob diseminirani kandidozi	Nodularne lezije po celem telesu, pogosta nevtropenija. Se nadaljuje

Sindromi površinskih okužb z glivami rodu <i>Candida</i>	Glavne značilnosti in najpogostejši klinični znaki
Paronihija in onihomikoza	Kandidoza nohtov in obnohtnega tkiva. Pogosto povezana z intedigitalno kandidozo.
Intertrigo	Za vse tri oblike kožne kandidoze je značilno, da je koža na prizadetem področju pogosto vlažna, področja do topla. Vnetne spremembe v obliki pustul, papul, vezikul in eritema, spremljajo bolečine in srbenje.
Dermatitis pod pleniciami	
Perianalna kandidoza	
Kronična mukokutana kandidoza	Povezana je z motnjami v celično posredovani imunosti, pogosto jo spremljajo endokrinopatije. Spekter kliničnih slik je zelo raznolik.

2.2.4 Kandidoza notranjih organov in organskih sistemov

2.2.4.1 Kandidoza centralnega živčnega sistema

Možganski parenhim in meninge so najpogosteje prizadeti v okviru hematogene, diseminirane okužbe s *Candida* spp. V 90% je povzročitelj *C. albicans*. Približno polovica bolnikov s prizadetostjo mening ima lezije tudi v drugih notranjih organih. Če okužba prizadane možganski parenhim se to kaže najpogosteje v obliki številnih mikroabscesih, zelo redko so abscesi vidni na slikah računalniške tomografije. Poleg komplikacij diseminirane kandidoze lahko pride do meningitisa tudi ob okužbi ventrikularnega šanta, po poškodbi ali iatrogeno ob lumbalni punkciji ali nevrokirurškem posegu.

2.2.4.2 Kandidoza dihal

Pljučnica s *Candida* spp. je lahko povzročena ob endobronhialni inokulaciji pljuč, in se kaže kot lokalizirana ali difuzna bronhopneumonija. Ta mehanizem nastanka velja za izredno redek dogodek. Pljuča so najpogosteje prizadeta ali kot posledica hematogenega razsoja, v obliki drobnih difuznih infiltratov, ki jih je težko ločiti od kongestivnega srčnega popuščanja ali okužbe s *Pneumocystis jirovecii* (Richardson in Warnock, 2003).

2.2.4.3 Kandidoza srca

Delež bolnikov, ki imajo ob diseminirani kandidozi prizadet miokard variira od 8,4% do 93%. Kaže se v obliki številnih mikroabsecov. Kot samostojni povzročitelj so *Candida* spp. opisane tudi pri gnojnem perikarditisu, ali pa so pridružene nekaterim drugim kot je *Aspergillus* spp. (Richardson in Warnock, 2003).

2.2.4.4 Kandidni endokarditis

Povzročitelji okoli 70% glivičnih endokarditisov so vrste iz rodu *Candida* spp. *Candida* endokarditis se pojavlja v povezavi z naslednjimi dejavniki: predhodna bolezen srčnih zaklopk, odvisniki od heroina, kemoterapija zaradi rakavih bolezni, umetne srčne zaklopke, dolgotrajna vstavitev žilnih katetrov, predhodni bakterijski endokarditis. Od naštetih dejavnikov je v več kot polovici primerov, nastanek *Candida* endokarditisa, povezan z kirurškim posegom na srcu. Patogenetski mehanizem glivičnega endokarditisa še ni popolnoma pojasnjen. Verjetno pa pri tem sodeluje več dejavnikov. Bolniki, ki gredo na operacijo srca so običajno izpostavljeni večim antibiotikom, prejemajo parenteralno terapijo. Vsi ti naštetni so dejavniki tveganja za kandidemijo. Poškodba endokarda in umetni materiali, ki se implantirajo ob operacijah pa predstavljajo ustrezno kotišče za lokalizacijo gliv. Simptomi in znaki glivičnega endokarditisa se ne razlikujejo od bakterijskega endokarditisa, le da so emboli, ki izhajajo iz kotišča običajno večji. Najpogosteje so prizadeti aortna in mitralna zaklopka. Najpogostejše komplikacije so perforacija zaklopke, miokarditis, kongestivno srčno popuščanje in embolični pojavi. Večina bolnikov s *Candida* endokarditisom ima pozitivno hemokulturo (Edwards, 2005).

2.2.4.5 Kandidoza sečil

Kandidurija je lahko posledica ledvične prizadetosti, pogosteje pa je odraz kolonizacije spodnjih sečil ali okužbe ob vstavljenem stalnem urinskem katetru. Klinični simptomi so podobni kot pri bakterijskem cistitisu, pri večini pa je kandidurija asimptomatska. V večini primerov po odstranitvi katetra pride do normalizacije urina. Najpogostejše osamljena vrsta je *C. albicans*, v visokem deležu, približno 30% pa osamimo vrsto *C. glabrata*.

Nekoliko pogostejše jo osamimo pri bolnikih s sladkorno boleznijo. Je trdovratna za zdravljanje. Ledvična kandidoza je v veliki večini povezana s hematogeno diseminacijo in redkeje z ascendentnim širjenjem okužbe. Ocenjujejo, da ima kar 80% bolnikov z diseminirano kandidozo prizadete tudi ledvice. Iz tega razloga bi morali pri septičnem bolniku s persistentno kandidurijo posumiti na možnost sistemske okužbe (Richardson in Warnock, 2003).

2.2.4.6 Kandidni artritis in osteomielitis

Sta redki obliki kandidoze. Obe obliki okužbe se običajno razvijeta kot pozen zaplet hematogene diseminacije pri nevtropeničnih bolnikih in novorojenčkih z nizko porodno težo. Najpogosteje so prizadeta lumbalna vretenca in veliki sklepi. Najpogostejši simptomi so lokalna bolečina in oteklina. Povišana temperatura ni nujno prisotna. Do okužbe kosti in sklepov lahko pride tudi iatrogeno ob kirurških posegih ali po poškodbah.

2.2.4.7 Kandidoza peritoneja, jeter in vranice

Kandidoza peritoneja nastane kot komplikacija peritonealne dialize, kirurških operacij ali perforacije prebavil. Predhodna antibiotična terapija je pomemben dejavnik tveganja za njen nastanek. Proces v peritoneju ostane običajno lokaliziran v trebuhu in le v približno četrtini primerov pride do diseminacije. To se zgodi v primerih, ko je peritonitis povzročen s perforacijo prebavil. Peritonitis kot komplikacija peritonealne dialize diseminira izredno redko. Najpogostejši klinični simptomi in znaki so povišana telesna temperatura, bolečine v trebuhu, občutljivost trebušne stene, paralitični ileus (Richardson, 2003).

Hepatosplenična kandidoza je pomemben klinični problem zlasti pri imunsko oslabljenih bolnikih in je izredno trdovratna za zdravljenje. Večina teh okužb se manifestira v času, ko začne število levkocitov naraščati. Poleg jeter in vranice so pogosto prizadete tudi ledvice. S slikovnimi diagnostičnimi metodami lahko prikažemo v teh organih številne abscese (Edwards, 2005). Poleg povišane telesne temperature se pojavijo tudi bolečine v trebuhu, zaradi povečanih jeter in vranice. Hemokulture ostajajo običajno negativne. Mikroskopski pregled bioptičnih vzorcev običajno potrdi diagnozo, osamitev mikroorganizmov pa je pozitivna le v 30% (Richardson in Warnock, 2003).

2.2.4.8 Endoftalmitis in horioretinitis

Do okužbe oči s *Candida* spp. lahko pride po hematogeni poti ali ob poškodbi. *Candida* lahko prizadene praktično vse strukture oči. Ob hematogeni diseminaciji povzročitelji povzročijo vnetje mrežnice in roženice, vnetje pa se lahko nato razširi v zrklo in povzroči endoftalmitis s tvorbo abscesov. Zdravljenje endoftalmitisa je težavno in pogosto pušča trajne poškodbe. V 70. letih so ocenjevali delež *Candida* endoftalmitisa ob kandidemiji na približno 30%. Zaradi boljše empirične in profilaktične terapije se je ta delež v zadnjem času zmanjšal. Najznačilnejši simptomi endoftalmitisa so nejasen vid, motnjave in bolečine očesnega zrkla. Če okužba ostane nezdravljena, lahko napreduje v nekrozo mrežnice in trajno izgubo vida. Pri pregledu očesnega ozadja okulisti vidijo za glivični endoftalmitis značilne belorumene lezije nejasnih robov. Končna diagnoza je potrjena s histopatološkim prikazom ali osamitvijo povzročiteljev iz bioptov zrkla. Najpogostejši povzročitelj je *C. albicans* (Richardson in Warnock, 2003).

2.2.4.9 Akutna diseminirana kandidoza in kandidemija

Kandidemija je definirana kot osamitev *Candida* spp. iz hemokulture. Lahko vodi do kandidoze notranjih organov. Je ključen diagnostični znak akutne diseminirane kandidoze, ki je definirana kot okužba dveh ali večih oddaljenih organov do katere je prišlo po hematogeni poti (Richardson in Warnock, 2003).

C. albicans je glavni povzročitelj teh okužb. Je del normalne flore kože in sluznic prebavil. Klinični potek sistemske kandidoze je odvisen od velikosti inokuluma, virulence mikroorganizma in najpomembnejše od gostiteljevega imunskega odziva. Do vdora kandid v krvni obtok lahko pride pri poškodbi kože ali sluznic, okužbi žilnih katetrov in kirurškem posegu. Kandidemija lahko izzveni spontano ali po odstranitvi okuženega katetra. Pri bolnikih z močno zmanjšano imunsko odpornostjo pa se razvije diseminirana glivična okužba (Matos, 2002). Najpogosteje za njo zbolevalo kritično bolni, z vstavljenimi žilnimi katetri. Ni pa nujno, da so katetri tudi vstopno mesto okužbe. V mnogih primerih povzročitelji v krvni obtok vstopijo preko translokacije črevesne stene. Pomemben dejavnik tveganja za kandidemijo je primarna kolonizacija sluznic s *Candido* spp. V študiji Evropske konfederacije za medicinsko mikologijo (ECMM-*angl.* European Confederation

of Medical Mycology) so dokazali, da je kolonizacija močno povezana z njenim nastankom. Več kot 80% pacientov s kandidemijo, ki je bila povzročena s *C. albicans* in *C. glabrata* ter 68% bolnikov s kandidemijo povzročeno s *C. tropicalis* je imelo predhodno kolonizacijo prebavnega trakta z istim izolatom. Tudi intravaskularni katetri ter parenteralna prehrana sodijo med pomembne dejavnike tveganja. S kandidemijo kateterskega izvora povezujejo zlasti *C. parapsilosis*. Kar 79,6% pacientov s kandidemijo je imelo vstavljene žilne katetre. Od tistih, ki so jih odstranili, jih je bilo kar 65,7% koloniziranih z istim povzročiteljem, kot so ga osamili iz hemokulture (Tortorano in sod., 2006).

Najpomembnejši in pogosto tudi edini klinični znak kandidemije je povišana telesna temperatura, ki vztraja kljub širokospektralnemu antibiotičnemu zdravljenju. Makronodularne kožne lezije se pojavijo le pri desetini nevtropeničnih bolnikov. Endoftalmitis je relativno pogost znak pri bolnikih v intenzivnih enotah (kar do 45%), in redke pri nevtropeničnih bolnikih. Druge manifestacije akutne diseminirane kandidoze so še meningitis, možganski abscesi, endokarditis in drugi znaki, ki kažejo na metastatsko prizadetost notranjih organov. Nekateri bolniki razvijejo septični šok z multiorgansko odpovedjo, prognoza je zelo slaba. Drugi imajo le minimalne simptome okužbe in je osamitev *Candida* spp. iz hemokultur edini znak invazivne kandidoze. To stanje so včasih imenovali „benigna transitorna kandidemija” in je niso zdravili, kar se je izkazalo za zelo tvegano interpretacijo, ki vodi do visoke incidence metastatskih komplikacij (Richardson in Warnock, 2003) (Preglednica 2).

Preglednica 2: Klinične oblike globokih in diseminiranih okužb z glivami rodu *Candida* (Richardson in Warnock, 2003)

Sindromi globokih in diseminiranih okužb z glivami rodu <i>Candida</i>	Glavne značilnosti in najpogostejši klinični znaki
Kandidoza notranjih organov in organskih sistemov	
Kandidoza centralnega živčnega sistema	Večinoma posledica hematogene diseminacije. Se nadaljuje

Sindromi globokih in diseminiranih okužb z glivami rodu <i>Candida</i>	Glavne značilnosti in najpogostejši klinični znaki
Kandidoza dihal	
Kandidoza srca	
Kandidni endokarditis	Dejavniki tveganja: bolezni srčnih zaklopk, srčne operacije, vstavitve umetnih zaklopk, dolgotrajni žilni katetri, prejemniki intravenskih drog, predhodni bakterijski endokarditis, kemoterapija pri bolnikih z rakom.
Kandidoza sečil	Kandidurija je v večini odraz kolonizacije sečil ob vstavljenem stalnem urinskem katetru. Pri septičnem bolniku s persistentno kandidurijo bi bilo potrebno posumiti na diseminirano kandidozo, saj so ledvica pri tej obliki prizadeta kar v 80 %.
Kandidni artritis in osteomielitis	Nenavadne oblike kandidoze. Običajno nastanejo kot pozen zaplet hematogene diseminacije.
Kandidoza peritoneja, jeter in vranice	Kandidoza peritoneja nastane kot komplikacija peritonealne dialize, kirurških operacij ali perforacije prebavil. Hepatosplenična kandidoza je pomemben klinični problem imunsko oslabljenih bolnikov. Hemokulture ostajajo običajno negativne. Mikroskopski pregled bioptičnih vzorcev običajno potrdi diagnozo.
Endoftalmitis in horioiretinitis	Do okužbe oči z glivami rodu <i>Candida</i> lahko pride po hematogeni poti ali ob poškodbi. <i>Candida</i> lahko prizadene praktično vse strukture oči. Če okužba ostane nezdravljena, lahko napreduje v trajno izgubo vida.
	Se nadaljuje

Sindromi globokih in diseminiranih okužb z glivami rodu <i>Candida</i>	Glavne značilnosti in najpogostejši klinični znaki
Akutna diseminirana kandidoza in kandiemijska	Kandidemija pomeni osamitev gliv rodu <i>Candida</i> iz hemokulture in je ključen diagnostični znak akutne diseminirane kandidoze, ki je definirana kot okužba dveh ali večih oddaljenih organov do katere je prišlo po hematogeni poti. Najpomembnejša vstopna mesta okužbe so okuženi žilni katetri in translokacija preko stene prebavil. Klinična slika lahko variira od subklinične slike prehodne kandidemije do septičnega šoka z multiorgansko odpovedjo.

2.3 PATOGENEZA, VIRULENČNI DEJAVNIKI IN DEJAVNIKI TVEGANJA ZA NASTANEK OKUŽB Z GLIVAMI RODU *Candida*

Pri patogenezi nastanka okužb, ki jih povzročajo glive iz rodu *Candida* sodelujejo virulenčni dejavniki povzročiteljev in dejavniki gostitelja. Klinične slike okužb z glivami rodu *Candida* so odvisne od gostiteljeve obrambne sposobnosti, mesta vstopa in virulence povzročitelja. Vstopna mesta, kjer povzročitelj vstopa v gostitelja so koža in sluznice, zato je njihova integriteta pomembna obrambna linija pred nastankom okužbe. Poškodovana je lahko ob opeklinah, iatrogeno povzročena ob vstavitvi žilnih kanalov in drenov, ali ob operativnih posegih. Sluznica je lahko poškodovana zaradi hormonskih sprememb, bolj prepustna zaradi nezrelosti pri nedonošenčkih, ali zaradi poškodb, ki nastanejo pri zdravljenju s kemoterapevtiki in obsevanju ter ob obsežnih operacijah v trebušni votlini. Že pri imunsko zdravih posameznikih, ki imajo na določenih mestih kožo dlje časa vlažno in macerirano lahko pride do prekomerne razmnožitve povzročiteljev, ki se normalno nahajajo na teh mestih, kot del normalne flore. Takrat lahko pride do vnetnega odgovora gostitelja in do nastanka kliničnih slik kožne kandidoze. Od virulenčnih dejavnikov je najbolj proučevana *C. albicans*. Velja za najbolj virulentno vrsto med kandidami. Je dimorfna gliva. Ta lahko raste kot kvasovka ali kot plesen. To je tudi eden pomembnih virulenčnih dejavnikov te glive, kar je povezano z učinkovitejšim prodiranjem v tkiva in

razmnoževanjem v njem. Izloča fosfolipaze, proteinaze in prostaglandine. Fosfolipaze poškodujejo membrane gostiteljskih celic. Le te cepijo estrske vezi glicerofosfolipidov, s čimer olajšajo vstop glive v gostiteljska tkiva. Proteinaze razgrajujejo proteine epitelijskih in sluznih ovir, kot so na primer kolagen, keratin in mucin ter prav tako komplement, protitelesa in citokine. To jim pomaga pri širjenju okužbe, invaziji v tkiva in spodbujanju vnetnega odziva. Vloga prostaglandinov pa naj bi bila povečati produkcijo hif pri *Candida* spp. in ovirati proizvodnjo kemokinov in tumor nekrotizirajočega faktorja alfa s strani sesalčjih celic (Hazen in Howell, 2007). Ena od pomembnih lastnosti, ki sodeluje pri vstopanju v organizem je sposobnost adherence na endotelne in epitelijske celice, prav tako pa tudi na umetne materiale, kot so površina žilnih katetrov in drenov.

K povečanju incidence okužb z glivami rodu *Candida* in drugimi glivami pripomore vedno večje število imunsko oslabljenih bolnikov ter uporaba novih in bolj agresivnih ter invazivnih terapevtskih strategij (Pfaller in Diekema, 2007, Poikonen in sod., 2003). Vedno več je transplantacij, tako čvrstih organov, kot tudi krvotvornih matičnih celic, bolniki so izpostavljeni močnejšim kemoterapevtikom kar privede do hujše in dlje časa trajajoče nevtropenije ter do poškodb sluznic. Imunsko oslabljeni bolniki dobivajo tudi veliko širokospektralnih antibiotikov kar lahko spremeni sestavo črevesne flore katero sestavljajo endogene bakterije in glive. Ob tem lahko pride do prekomerne rasti drugih mikroorganizmov kot je npr. Glive rodu *Candida*. (Hachem in sod., 2008). Zato povečana prevalenca takih bolnikov pripomore k povečanju števila primerov kandidemije opažene v zadnjih desetletjih. Najvišjo stopnjo tveganja za kandidemijo so v številnih študijah imeli tisti pacienti z intravaskularnimi katetri, bolniki po zapletenih operacijah v trebušni votlini, ki so prejeli parenteralno prehrano, in zdravljenje s širokospektralnimi antibiotiki, ki so jih prejeli več kot 14 dni ter tisti pri katerih so predhodno izolirali *Candido* spp. iz vsaj dveh različnih mest (Snydman, 2003). Agvald-Ohman in sod. so dokazali, da je intenzivnost kolonizacije z glivami rodu *Candida* močno povezana s tveganjem za razvoj kandidemije. Zaradi tega dejstva so uvedli kolonizacijski indeks. Kolonizacijski indeks se izračuna kot razmerje med številom pozitivnih mest okuženih z istim sevom in skupnim številom testiranih mest. Pri bolnikih, katerim so izračunali kolonizacijski indeks, so imeli višje tveganje za razvoj kandidemije tisti s kolonizacijskim indeksom $\geq 0,5$ (Agvald-Ohman in sod., 2004). Največji posamezni dejavnik tveganja pa je bil predhodno zdravljenje z antibiotiki (Snydman, 2003).

2.4 EPIDEMIOLOGIJA KANDIDEMIJE

Incidenca glivičnih okužb se je v zadnjih dvajsetih letih močno povečala. Sepsa povzročena z glivami rodu *Candida* je postala pomembna glivična okužba ki jo spremljajo visoka umrljivost in dolgotrajna hospitalizacija (Hachem in sod., 2008). Letno število glivičnih seps povzročenih z glivami rodu *Candida* se je v ZDA povečalo med letoma 1979 in 2000 za kar 207%. Po enih študijah je prišlo tudi do dramatičnega povečanja mortalitete zaradi glivičnih okužb. Le ta se je povečala od 1557 smrti v letu 1980 do 6534 smrti v letu 1997 (Pfaller in sod., 2007). Glive iz rodu *Candida* so četrti najbolj pogost povzročitelj bolnišnično pridobljenih okužb v ZDA (Hajjeh in sod., 2004). Nekatere objave nakazujejo na povečano incidenco kandidemij tudi v Evropi in Avstraliji (Poikonen in sod., 2003).

Večina našega znanja o epidemiologiji kandidemij prihaja iz študij narejenih v ZDA. Do leta 1996 je bila objavljena le ena evropska študija, ki je obsegala več kot eno bolnišnico. Ravno zaradi tega je leta 1997 Evropska konfederacija za medicinsko mikologijo (ECMM) prevzela iniciativo za raziskovanje kandidemije v Evropi. Začela se je študija, ki je trajala od septembra 1997 do decembra 1999. V njej so sodelovali angleška, španska, italijanska, francoska, švedska in nemška mikološka združenja. Države, ki so sodelovale v ECMM študiji, so objavile stopnjo incidence (0,20-0,38 na 1000 sprejemov in od 0,31-0,44 na 10.000 bolnišničnih dni) in je primerljiva z drugimi raziskavami narejenimi na evropskem geografskem področju in nižja od tistih narejenih v ZDA (1,5 na 10.000 bolnišničnih dni). Edina Evropska študija, ki je imela enako visoko stopnjo kandidemije kot v ZDA je bila narejena v bolnišnici v Italiji (1,64 na 10.000 bolnišničnih dni). To pa le zato, ker je ravno v času študije prišlo do izbruha kandidemije. Kot v vseh študijah je tudi pri tisti narejeni v ECMM, kandidemija prevladovala pri moških (60%). 8% od vseh obravnavanih bolnikov je bilo dojenčkov mlajših od 1 leta, 28% pa je bilo starejših od 70 let. 48% bolnikov je imelo operativni poseg, 40% jih je bilo v enoti intenzivne terapije. Bolniki s solidnimi in hematološkimi malignimi obolenji so predstavljali 35% vseh epizod. Pri teh študijah je tudi zelo pomemben podatek o številu smrti v 30 dneh od izbruha kandidemije. Pri tem so ugotovili da je bila smrtnost v 30 dneh najvišja pri onkoloških bolnikih (49% pri tistih s solidnimi tumorji in 45% pri hematoloških obolenjih) in pri bolnikih v enoti intenzivne terapije (42,4%). Smrt je bila direktno povezana s kandidemijo pri 8% bolnikov z rakom in

pri 20%-31% bolnikov v enotah intenzivne terapije (Tortorano in sod., 2006). Najpogostejša in najpomembnejša gliva iz rodu *Candida*, ki povzroča glivično sepsu je *C. albicans*, poleg nje pa iz kliničnih vzorcev pogosteje izoliramo še glive *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. krusei* in *C. parapsilosis*.

V zadnjih letih se je incidenca glivičnih seps v številnih bolnišnicah povečala. V nekaterih so zabeležili tudi spremembo spektra gliv. *C. albicans* zamenjujejo ne-*albicans* vrste, ki so bolj rezistentne na azole (Snydman, 2003). *C. glabrata* je drugi najpogostejši izolat iz krvi v Severni Ameriki in večinoma tudi v Evropi. V Latinski Ameriki in Španiji pa je drugi najpogostejši izolat *C. parapsilosis* (Spellberg in sod., 2006). Nekateri opozarjajo, da je do tega premika v spektru prišlo zaradi povečane uporabe flukonazola, kot preventivno ali kot empirično zdravilo. Nekateri pa te povezanosti niso dokazali (Hachem in sod., 2008).

2.5 DIAGNOSTIKA SISTEMSKE KANDIDOZE

Zlati standard za postavitve diagnoze invazivne glivične bolezni, ki jo povzročajo vrste iz rodu *Candida* je osamitev gliv iz normalno sterilnih mest telesa, kot so kri, peritonealna tekočina, cerebrospinalna tekočina, biopsi tkiva in različni punktati. Za mikrobiološko dokazovanje invazivne kandidoze se največkrat uporabljajo hemokulture, pomemben je tudi histopatološki pregled biopsičnih vzorcev tkiv. Za hitro diagnostiko pa so nam lahko v pomoč tudi serološki testi, med katerimi so najpomembnejši testi za dokazovanje glivičnih antigenov in nove molekularne metode (zlasti verižna reakcija s polimerazo – PCR) (Ellepola in Morrison, 2005).

Pri postavitvi diagnoze invazivne kandidoze so nam v pomoč smernice, ki sta jih leta 2002 prvič oblikovali Skupina za glivične okužbe (IFICG – Invasive Fungal Infection Cooperative Group) pri Evropski organizaciji za raziskave in zdravljenje rakavih obolenj (EORTC – European Organization for Research and Treatment of Cancer) in Skupina za raziskave mikoz (MSG – Mycoses Study Group) Nacionalnega inštituta za alergologijo in infektivne bolezni. V letu 2008 so bile te smernice prvič obnovljene (De Pauw in sod., 2008). Skupina EORTC/MSG je oblikovala kriterije, ki temeljijo na dejavnikih gostitelja, kliničnih znakih in rezultatih mikrobioloških preiskav. Na osnovi teh lahko opišemo invazivno kandidozo kot dokazano, verjetno ali možno invazivno glivično bolezen. Osnova diagnostike je spremljanje kliničnih simptomov bolnikov s povečanim tveganjem za razvoj

glivičnih okužb (Matos, 2003). Klinične slike so pri površinskih okužbah precej značilne, znaki in simptomi sistemske okužbe pa so nespecifični, običajno se kažejo kot povišana telesna temperatura in povišani vnetni parametri.

Mikrobiološki kriteriji za dokazano invazivno kandidozo vključujejo neposredne metode dokazovanja povzročiteljev v humanih vzorcih kot sta mikroskopska analiza vzorcev pridobljenih iz sterilnih mest, ki pokaže prisotnost pseudohif ali pravih hif in osamitev povzročitelja v kulturi. Od posrednih metod je v kriterijih omenjeno le dokazovanje sestavine celične stene gliv - polisaharida (1-3)- β -D-glukana. Molekularne metode dokazovanja gliv v kliničnih vzorcih kljub napredku na tem področju, še niso bile vključene v smernice, saj nobena od molekularnih tehnik še ni bila standardizirana in validirana (De Pauw in sod., 2008).

Pri kandidemiji je zelo pomembna hitra diagnostika, tako da se zdravniki čimprej lahko odločijo za ustrezno zdravljenje. Najpogostejša mikrobiološka preiskava ob sumu na sistemsko kandidozo je hemokultura. Bolniku odvzamejo kri v posebne stekleničke z gojiščem, ki se inkubirajo v termostatu, ki prepozna na različne načine rast mikroorganizmov v njej. Poznamo dva glavna hemokulturna sistema: BACTEC (Becton Dickinson, Sparks, ZDA) in BacT/ALERT (BioMerieux, Lyon, Francija). Oba sistema imata na razpolago anaerobno, aerobno in mikološko gojišče. Kandidemijo lahko dokažemo v aerobnih in anaerobnih stekleničkah, vendar je občutljivost v takih primerih ocenjena na približno 50% (Ellepola in Morrison, 2005; Jones, 1990; Meyer in sod., 2004). Številne raziskave so pokazale, da mikološka gojišča omogočajo občutljivejšo in hitrejšo diagnostiko kandidemije (Chiarini in sod., 2008; Meyer in sod., 2004; Horvath in sod., 2004; Fricker-Hidalgo in sod., 2004). Njihova uporaba se priporoča zlasti pri bolnikih z visokim tveganjem za razvoj invazivne kandidoze in v primerih, ko bi bakterije v krvi lahko zavrle rast gliv.

Meyer in sod. so s pomočjo gojišča Mycosis IC/F (Becton Dickinson, Sparks, ZDA) dokazali prisotnost gliv kvasovk v krvi kar pri 92,5%, medtem ko je aerobno gojišče dokazalo glive kvasovke le pri 75,9% vseh bolnikov vključenih v raziskavo. Gojišče Mycosis IC/F se je zlasti izkazalo za osamitev vrste *C. glabrata*, pri kateri je bilo kar 41,9 % vseh primerov kandidemije dokazanih samo s slednjim gojiščem. Povprečni čas rasti je bil v gojišču za glive bistveno krajši kot v aerobnem gojišču ($28,9 \pm 22,2$ h vs. $36,5 \pm 24,6$

h); razlika je bila zopet najbolj očitna za vrsto *C. glabrata* ($17,8 \pm 9,1$ h vs. $61,5 \pm 31,4$ h) (Meyer in sod., 2004).

V podobni raziskavi so Horvath in sod. (Horvath, 2004) primerjali oba zgoraj omenjena sistema za hemokulture, BacT/ALERT 3D in BACTEC; poleg standardnega aerobnega in anaerobnega gojišča so uporabili tudi ustrezno gojišče, ki podpira rast gliv (Myco/F Lytic za sistem BACTEC in MB za sistem BacT/ALERT). Vsako hemokulturno stekleničko z ustreznim gojiščem so napolnili s krvjo zdravih prostovoljcev in jih nato inokulirali s 1.000 celicami gliv na stekleničko. Oba sistema sta zaznala rast v vseh inokuliranih gojiščih za glive, izkazala pa sta se tudi z aerobnim gojiščem; s sistemom BACTEC so zaznali rast gliv v 90 % aerobnih gojišč in s sistemom BacT/ALERT v 100 % aerobnih gojišč. Pri tem je zelo zanimiv podatek ta, da so od tistih 10% gliv rodu *Candida*, ki jih BACTEC ni odkril, vse bile *ne-albicans* vrste. To sta bili *C. krusei* in *C. glabrata*. Ti rezultati predstavljajo resen problem za veliko ameriških bolnišnic kjer je *C. glabrata* drugi najpomembnejši povzročitelj kandidemije. Le ta povzročča od 24 do 42% vseh epizod kandidemij. Največja razlika med obema sistemoma je bila v anaerobnem gojišču; sistem BACTEC je zaznal rast gliv le v 10 % anaerobnih gojišč, medtem ko sistem BacT/ALERT v 70 %. Čas od inokulacije do detekcije rasti je bil različen za vsako vrsto medija posebej in vrsto *Candida* spp. Povprečen čas detekcije pa je bil pri BacT/ALERT-u hitrejši ($25,62 \pm 8,90$ h) kot pri BACTEC-u ($27,30 \pm 21,18$ h). Pri obeh proizvajalcih stekleničk za hemokulture sta se najbolje odrezali steklenički z mikološkim medijem. Pri BACTEC-u in BacT/ALERT-u je bila v stekleničkah z mikološkim medijem detekcija rasti 100% in v teh medijih so detektirali tudi vseh 50 inokuliranih vrst gliv. Najhitrejša je bilo gojišče Myco/F Lytic sistema BACTEC ($21,12 \pm 3,55$ h). Rast večine gliv rodu *Candida* so zaznali v roku 24 ur, z izjemo vrste *C. glabrata*, katere rast je bila v aerobnih gojiščih za oba sistema bistveno počasnejša kot v ustreznih anaerobnih in glivičnih gojiščih (sistem BACTEC: $106,00 \pm 18,99$ h vs. $34,03 \pm 10,59$ h vs. $21,15 \pm 3,55$ h; sistem BacT/ALERT 3D: $51,82 \pm 9,93$ h vs. $25,73 \pm 3,30$ h vs. $26,78 \pm 2,88$ h) (Horvath in sod., 2004).

Mikrobiološki postopek pri pozitivni hemokulturi se običajno nadaljuje s pripravo direktnega preparata iz hemokulturne stekleničke, kjer se mikroskopsko potrdi, da gre za glive kvasovke. Te se po Gramu barvajo pozitivno, v preparatu opazujemo brsteče blastospore in psevdohife. Hemokultura se nato nacepi na mikološka gojišča. Standardno

mikološko gojišče je gojišče po Sabouradu. Večina gliv rodu *Candida* zraste na tem gojišču v 48-72 h v obliki belih, voščenih kolonij premera 1-2 mm.

Določene vrste iz rodu *Candida* lahko identificiramo direktno na primarnih diferencialnih gojiščih. V ta namen se uporablja kromogeno gojišče, ki je dostopno tudi na tržišču. Najpogosteje se uporablja gojišče CHROMagar Candida (Becton Dickinson, Heidelberg, Nemčija), s katerim lahko na podlagi barve in morfologije kolonij identificiramo vrste *C. albicans*, *C. tropicalis* in *C. krusei*. Kolonije *C. glabrata* so podobne kolonijam številnih drugih vrst iz rodu *Candida*, zato je za identifikacijo potrebno narediti še dodatne biokemične teste.

V številnih laboratorijih za tovrstne nemene pogosto uporabljajo dva takšna testa: API Candida in ID 32C (bio Merieux, Marcy-l'Etoile, Francija). Oba testa sta zanesljiva pri identifikaciji relativno pogosto osamljenih gliv iz kliničnih vzorcev. Delež pravilno identificiranih se giblje od 68 do 98%. (Fricker-Hidalgo in sod., 1996; Ramani in sod., 1998). Ta odstotek je lahko višji, če v identifikacijo vključimo tudi dodatne teste kot je na primer opazovanje morfologije na koruznem agarju. Na koruznem agarju opazujemo prisotnost micelija, pseudomicelija, tvorbo klamidospor in drugih struktur, ki so specifične za posamezno glivično vrsto.

2.6 ZDRAVLJENJE IN PREVENTIVA GLIVIČNIH SEPS POVZROČENIH Z GLIVAMI RODU *Candida*

Glivične okužbe zdravimo z antimikotiki, ki jih je v primerjavi z antibiotiki relativno malo. Poglavitni problem pri tem je ta, da so tako kot človek tudi glive evkarionti. Zaradi tega niso tarča antimikotikov le celice gliv, ampak tudi bolnikove celice. To pa povzroča pogosto neželene stranske učinke.

Zdravljenje bolnikov s sistemskimi glivičnimi okužbami je zahtevno, saj so bolniki pogosto življenjsko ogroženi že zaradi hude osnovne bolezni. Pri izbiri zdravila za zdravljenje tovrstnih glivičnih okužb je potrebno upoštevati klinično sliko bolezni, resnost stanja, osnovne bolezni bolnika, oziroma stopnjo njegove imunske oslabelosti, prejšnje protiglivično zdravljenje, utemeljenost diagnoze glivične okužbe in vrsto glive, ki dokazano ali domnevno povzroča okužbo (Beović in Lejko-Zupanc, 2004) Pomembno je, da natančno določimo povzročitelja mikoze, saj so nekatere glive iz rodu *Candida* že

naravno odporne proti določenim antimikotikom. Takšen primer je *C. krusei*, ki je naravno odporna proti flukonazolu. Podatek o vrsti pomaga zdravniku pri odločanju pravilne izbire zdravljenja. Občutljivost gliv na antimikotike preizkušamo z različnimi metodami. V laboratoriju za diagnostiko glivičnih infekcij uporabljajo metodo difuzijskega gradianta, E-test (ABbiodisk, Solna, Švedska).

Smernice za zdravljenje kandidoze je v letu 2004 prvič objavilo Združenje infektologov ZDA, v letu 2009 pa so bile te smernice prvič obnovljene (Pappas in sod., 2004; Pappas in sod., 2009). V njih so natančna navodila za zdravljenje kandidemije, empirično zdravljenje suma na invazivno kandidozo in drugih oblik kandidoz ter preventivno zdravljenje ogroženih skupin bolnikov. Vrste antimikotikov, vrstni red priporočene uporabe oziroma alternativna zdravila so v smernicah navedena glede na to, ali ima bolnik nevtropenijo, ali ne in glede na to, ali ima že dokazano kandidemijo ali pa je zdravljenje uvedeno empirično.

Kot empirično zdravljenje invazivne kandidoze pri nenevtropeničnih bolnikih priporočajo flukonazol ali ehinokandine. Slednje priporočajo pri tistih, ki imajo težji potek okužbe, pri tistih, ki so že predhodno bili izpostavljeni flukonazolu ali drugim azolom ali imajo večje tveganje za kandidemijo povzročeno s *C. glabrata* ali *C. krusei*. Do empirične terapije so upravičeni tisti kritično bolni, pri katerih povišane telesne temperature ne moremo pojasniti z drugimi vzroki (so na širokospektralni antibiotični terapiji), imajo dejavnike tveganja, pozitivne serološke markerje in imajo iz nesterilnih mest osamljene *Candida* spp. Za empirično zdravljenje invazivne kandidoze pri nevtropeničnih bolnikih so zdravila izbora liposomalni amfotericin B, kaspofungin ali vorikonazol.

Le pri bolnikih z lažjim potekom bolezni in tistih, ki predhodno niso prejeli azolov je flukonazol upravičena alternativa. Vorikonazol se pri teh bolnikih lahko uvede v primerih, če sumijo še na dodatno okužbo s plesnimi. Zdravljenje kandidemije brez metastatskih komplikacij naj bi trajalo še 14 dni po prvem negativnem mikrobiološkem izvidu hemokulture. Poleg ustrezne antimikotične terapije priporočajo tudi odstranitev oziroma zamenjavo centralnega venskega katetra.

Za preprečevanje kandidoz se uporabljajo različni antimikotiki. Najpogostejše profilaktično zdravilo je flukonazol, ki se uporablja pri nevtropeničnih bolnikih z rakom, pri bolnikih po presaditvi krvotvornih matičnih celic in jeter (Matos, 2002). Za razliko od itrakonazola, ima manj stranskih učinkov, a je neučinkovit pri zdravljenju na flukonazol

odpornih vrst kandid in plesni (Bow in sod., 2002). V smernicah Združenje infektologov ZDA so opredelili štiri skupine bolnikov za profilaktično zdravljenje. To so bolniki z nevtropenijo po presaditvi krvotvornih matičnih celic, drugi bolniki z rakavimi boleznimi, ki so nevtropenični zaradi kemoterapije, bolniki po presaditvi jeter, trebušne slinavke in tankega črevesa in bolniki v intenzivnih enotah. Prvo priporočeno zdravilo je flukonazol, sledijo mu posakonazol in antimikotiki iz skupine ehinokandinov za bolnike z nevtropenijo in za transplantirance čvrstih organov liposomalne oblike amfotericina B (Walsh in sod., 2002).

2.7 ANTIMIKOTIKI

Antimikotiki so sredstva s katerimi zdravimo glivične okužbe. Glede na številne antibiotike, ki jih uporabljajo za zdravljenje bakterijskih okužb poznamo relativno malo antimikotikov.

Njihovo uporabo omejujejo neželeni stranski učinki, ki so pogosti in nevarni, nekateri slabo prehajajo v različna tkiva, nekatere vrste gliv so že primarno odporne proti določenim antimikotikom, ali pa hitro razvijejo odpornost nanje. Kot sesalci so tudi glive evkarionti, številni celični in molekularni procesi potekajo podobno. Tako tarča delovanja antimikotikov niso le celice gliv ampak tudi bolnikove celice. Za zdravljenje kandidemije in diseminirane kandidoze se uporabljajo predvsem antimikotiki, ki sodijo v skupino, azolov (flukonazol, vorikonazol), ehinokandinov (kaspofungin, anidulafungin, mikafungin) in polienov (amfotericin B), (Matos, 2002; Onishi in sod., 2000). Povečanje invazivnih glivičnih okužb, z njimi povezana visoka stopnja smrtnosti ter vedno višje število izolatov odpornih na antimikotike je prisilila znanstvenike k odkrivanju novih antimikotičnih zdravil. V zadnjih letih se razvijajo zlasti antimikotiki iz skupine azolov in ehinokandinov. Novejši antimikotiki imajo manj neželenih stranskih učinkov, odlikuje pa jih tudi širok spekter delovanja.

2.7.1 Polieni

Amfotericin B: ta antimikotik spada v skupino polienov. Izdeluje ga gliva *Streptomyces*. Le majhno število gliv izraža odpornost na to učinkovino. Amfotericin B se veže na

ergosterol v celični steni gliv, kar privede do sprememb v njenih strukturnih lastnostih. Pojavijo se pore skozi katere gliva izgublja ione in majhne molekule kar posledično vodi do propada mikroorganizma. Kot vsak antimikotik ima tudi amfotericin B stranske učinke, ki pa so hujši kot pri preostalih antimikotikih. Na tržišču so že dlje časa lipidne oblike amfotericina B, ki so se izkazale za bolj učinkovite in manj toksične (Matos in Beović, 2001).

2.7.2 Azoli

Tarča novejših azolov je encim lanosterol demetilaza, ki je encim v biosintetski poti ergosterola. Membrane gliv vsebujejo sterole, med katerimi je najpomembnejši ergosterol. Ta je odgovoren za fluidnost membrane, njeno asimetrično zgradbo in integriteto celice. Azoli zavirajo lanosterol demetilazo, kar posledično vodi do pomanjkanja ergosterola in kopičenja sterolnih prekurzorjev. Membrana celice zato spremeni zgradbo in funkcijo. Novejši azoli, kot so flukonazol, vorikonazol in itrakonazol, delujejo predvsem na lanosterol demetilazo, medtem ko starejši antimikotiki zavirajo še številne druge, na membrano vezane encime, ter biosintezo membranskih lipidov zaradi česar imajo tudi več stranskih učinkov. Azoli med drugim zavirajo tudi nastajanje holesterola, a je afiniteta teh zdravil za encime v celicah sesalcev približno 250-krat manjša od afinitete za encime v celicah gliv (Sheehan in sod., 1999; Ghannoum in Rice, 1999).

2.7.3 Ehinokandini

So najnovejša skupina antimikotikov. Prvi predstavnik te skupine se imenuje kaspofungin, v uporabi pa sta še anidulafungin in mikafungin. Odlikuje jih širok spekter delovanja, imajo tudi malo neželenih stranskih učinkov delovanja. Žal pa so tudi veliko dražji od ostalih antimikotikov. Inhibirajo $\beta_{1,3}$ -glukan sintazo, ki je ključni encim pri sintezi pomembne sestavine celične stene gliv (Horvath in sod., 2004).

2.8 METODE ZA TESTIRAJE OBČUTLJIVOSTI GLIV ZA ANTIMIKOTIKE

Z naraščajočo incidenco glivičnih okužb se je začel intenzivnejši razvoj novih, manj toksičnih in učinkovitejših protiglivnih zdravil, obenem pa tudi metod za testiranje občutljivosti gliv za antimikotike. Leta 1992 je komisija pri Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) prvič opisala standardizirano referenčno metodo in izdala dokument M27-P za določanje občutljivosti gliv za antimikotike (Pfaller in sod., 1994). V dokumentu sta opisani makrodilucijska in mikrodilucijska metoda. Opredeljeni so velikost inokuluma, čas in trajanje inkubacije, medij za testiranje in merila za odčitavanje rezultatov. V dokumentu so določeni referenčni sevi s katerimi se izvaja kontrola kakovosti postopka in mejne vrednosti minimalnih inhibitornih koncentracij (MIK) za nekatere antimikotike (Preglednica 3). Določena so tudi koncentracijska območja gradienta antimikotikov na Etestu (Preglednica 4). Metoda je standardizirana za testiranje občutljivosti povzročiteljev glivnih okužb iz rodu *Candida* in *Cryptococcus neoformans*. Leta 2003 je komisija izdala in naslednje leto dopolnila dokument M44-A, ki opisuje disk difuzijsko metodo, opredeljene so mejne vrednosti za flukonazol in vorikonazol (Pfaller in sod., 2005).

Preglednica 3: Mejne vrednosti minimalnih inhibitornih koncentracij (MIK) za posamezne antimikotike

	S* (µg/ml)	S-DD** (µg/ml)	R*** (µg/ml)
Flukonazol	≤8	16 – 32	≥64
Amfotericin B	≤0,5	-	≥2
Caspofungin	≤1	-	≥2
Vorikonazol	≤1	1 – 2	≥4

* občutljiv

** občutljiv z višjimi odmerki antimikotika

*** odporen

Preglednica 4: Koncentracijska območja gradienta antimikotikov na Etestu

Antimikotik	Oznaka	MIK ($\mu\text{g/ml}$)
Amfotericin B	AP	0,002 - 32,000
Flukonazol	FL	0,016 - 256,000
Vorikonazol	VO	0,002 - 32,000
Caspofungin	CS	0,002 - 32,000

Referenčna standardizirana metoda zagotavlja ponovljivost in primerljivost rezultatov, kar je pripomoglo k velikemu razmahu raziskav na tem področju. V teku so številne klinične raziskave, ki proučujejo odgovor na antimikotično zdravljenje. V njih skušajo opredeliti še mejne vrednosti za ostale antimikotike, izbiro najustrežnejšega zdravila za posamezno vrsto glive ali skupino bolnikov. Vendar pa raziskovalci poudarjajo, da na izid zdravljenja glivičnih okužb poleg izbire ustreznega antimikotika, vplivajo še številni drugi dejavniki med katerimi sta pomembna obrambni odgovor bolnika in njegova osnovna bolezen.

Zaradi tehnične zapletenosti standardizirane dilucijske metode, ki jo opisujejo dokumenti CLSI so se začele pojavljati alternativne metode določanja občutljivosti gliv na antimikotike, ki bi bile enostavnejše za laboratorijsko delo. Med njimi se je uveljavila metoda difuzije antimikotičnega gradienta, imenovana Etest (AB Biodisk, Solna, Švedska). Proizvajalci so se kar se da najbolj prilagodili standardizirani metodi, glede uporabljenega medija, časa inkubacije in predvsem odčitavanja MIK. Številne raziskave, ki so primerjale rezultate občutljivosti s standardizirano metodo in E-testom so potrdile, da je delež ujemanja rezultatov zelo visok in se zato ta metoda lahko uporablja v vsakdanji laboratorijski praksi namesto tehnično bolj zapleteno standardizirano metodo (Sewell in sod., 1994).

Etest je tanek, inerten, ne-porozen, plastičen ozek trak dimenzij 5×60 mm. Na eni strani traku je umerjena lestvica vrednosti koncentracij antimikotika v $\mu\text{g/ml}$, ter dvo-črkovna kratica antimikotika (Slika 2). Na drugi strani, je koncentracijski gradient posušenega in stabiliziranega antimikotika. Etest ima definiran in zvezni koncentracijski gradient, tako da so lahko MIK vrednosti precej bolj natančne, kot pri običajnih testih, ki temeljijo na nezveznih (dvojnih) serijskih redčitvah. Temelji na kombinaciji dilucijskih in difuzijskih

testov. Tako kot pri dilucijskih testih, z Etest-om opredelimo občutljivost v obliki vrednosti MIK. Pri polaganju testa na nacepljeno trdno gojišče, pride do takojšnjega sproščanja antimikotika iz plastične površine v matriks agarja. Neposredno pod trakom se vzpostavi zvezen in stabilen gradient antimikotične koncentracije. Po inkubaciji, ko je rast gliv že vidna, se vzdolž Etest-a pojavi simetrična inhibicijska elipsa. Na mestu, kjer rob elipse seka Etest, je vrednost MIK. Za azolne antimikotike (flukonazol, vorikonazol, itrakonazol) je MIK opredeljen po CLSI kot koncentracija, kjer je rast glive zavrta 80%, kar velja tudi pri odčitavanju rezultatov Etest-a, medtem, ko mora biti ta pri polienskih antimikotikih (amfotericin B) zavrta 100%.



Slika 2: Etest (UHSM, 2008)

3 MATERIAL IN METODE

3.1 Retrospektivna analiza

Retrospektivno smo analizirali vse epizode kandidemij v obdobju od 1.1.2000 do 31.12.2007 pri bolnikih, ki so se zdravili v Univerzitetnem kliničnem centru ali Onkološkem inštitutu v Ljubljani. Epizodo kandidemije smo definirali kot osamitev vrste *Candida* spp. iz vsaj ene hemokulturne stekleničke. Epizodo kandidemije pri posameznem bolniku smo opredelili kot novo, če je med dvema osamitvama glive rodu *Candida* preteklo več kot 30 dni. Podatke o bolnikih, mestu zdravljenja in občutljivosti izolatov za antimikotike smo zajemali iz računalniškega programa MBL v Laboratoriju za diagnostiko glivičnih infekcij Inštituta za mikrobiologijo in imunologijo Medicinske fakultete Univerze v Ljubljani.

Retrospektivno smo pregledali medicinsko dokumentacijo 147 bolnikov, ki so imeli v obdobju od 1.1. 2000 do 31.3.2008 iz hemokultur osamljeno glivo rodu *Candida*. Iz bolnišnične dokumentacije smo zbrali podatke o osnovnih boleznih, dejavnih tveganja, virih okužbe, zapletih, načinu zdravljenja ter izidu bolezni. Vpogled v medicinsko dokumentacijo je odobrila Komisija Republike Slovenije za medicinsko etiko. Podatke smo vnašali v predhodno sestavljen protokol (Priloga 1).

3.2 Procesiranje hemokultur in identifikacija gliv kvasovk

Kri bolnikov pri katerih je bil postavljen sum na sepsa so odvzeli v ustrezne stekleničke za enega od avtomatiziranih hemokulturnih sistemov (Slika 3), BacT/ALERT 3D (BioMerieux, Lyon, Francija), ki spremlja rast mikroorganizmov kolorimetrično in sistem BACTEC (Becton Dickinson, ZDA), ki spremlja rast fluorescentno. V obeh primerih so bile uporabljene stekleničke za aerobno in anaerobno rast baterij, ter otroške stekleničke v primeru odvzema pri otrokih (Slika 4). Ob pozitivnem javljanju hemokulturnega aparata so iz hemokulture naredili direktni preparat in ga pobarvali po Gramu. V primeru prisotnih blastospor v preparatu so hemokulturo precepili tudi na gojišče po Sabouraudu (SABA) in diferencialno kromogeno gojišče CHROMagar *Candida* (Becton Dickinson, Heidelberg, Nemčija), ki glede na različne barve in relief kolonij ločuje vrste *C. albicans*, *C. tropicalis*

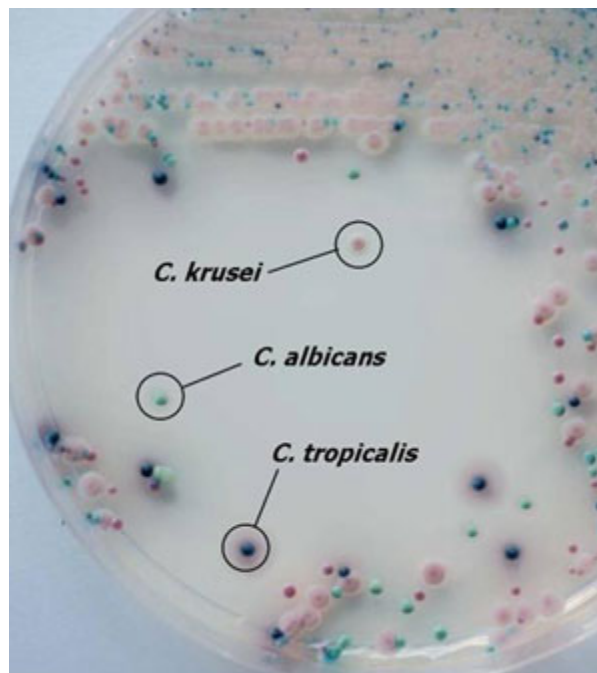
in *C. krusei* (Slika 5). Za ostale vrste so naredili še morfološko identifikacijo na koruznem agarju in biokemične teste, API Candida in ID 32C (BioMerieux, Marcy-l'Etoile, Francija) (Slika 6). Vsi izolati gliv iz hemokultur se hranijo v 10% glicerolu pri -70°C .



Slika 3: Hemokulturni aparat BacT/ALERT 3D (BioMerieux, Lyon, Francija) (Furlan, 2008)



Slika 4: Steklениčke za aerobno in anaerobno rast baterij ter otroška steklenička (Furlan, 2008)



Slika 5: Diferencialno kromogeno gojišče CHROMagar Candida (Frilabo, 2006)



Slika 6: API Candida (Furlan, 2008)

3.3 Testiranje občutljivosti

Testiranje občutljivosti je bilo narejeno z metodo difuzijskega gradienta z Etest-om (AB Biodisk, Solna, Švedska). Etesti so tanke membrane, na katere je nanešen koncentracijski gradient antimikotika, ki po inokulaciji na plošče z ustreznim gojiščem difundira v okolico in zavre rast glive, ki je bila nanešena na gojišče. Po 24 in 48 urni inkubaciji se odčita minimalna inhibitorna koncentracija (MIK) antimikotika. Končni

rezultat občutljivosti testiranega izolata glive, se glede na odčitano MIK, interpretira kot občutljiv (S), občutljiv z višjimi odmerki antimikotika (S-DD) ali odporen (R) proti testiranemu antimikotiku. Pri testiranih izolatih nato izračunamo še MIK50 in MIK90. MIK50 je tista koncentracija pri kateri pride do inhibicije rasti pri polovici vseh testiranih izolatov. MIK90 pa je tista koncentracija pri kateri pride do inhibicije rasti pri 90 odstotkih vseh testiranih izolatov.

3.4 Epidemiološki podatki bolnišnic

Epidemiološke podatke potrebne za izračun incidence smo pridobili iz informacijskih sistemov Univerzitetnega kliničnega centra Ljubljana in Onkološkega inštituta v Ljubljani. Ti podatki so število sprejemov ter število bolnišnično oskrbovanih dni.

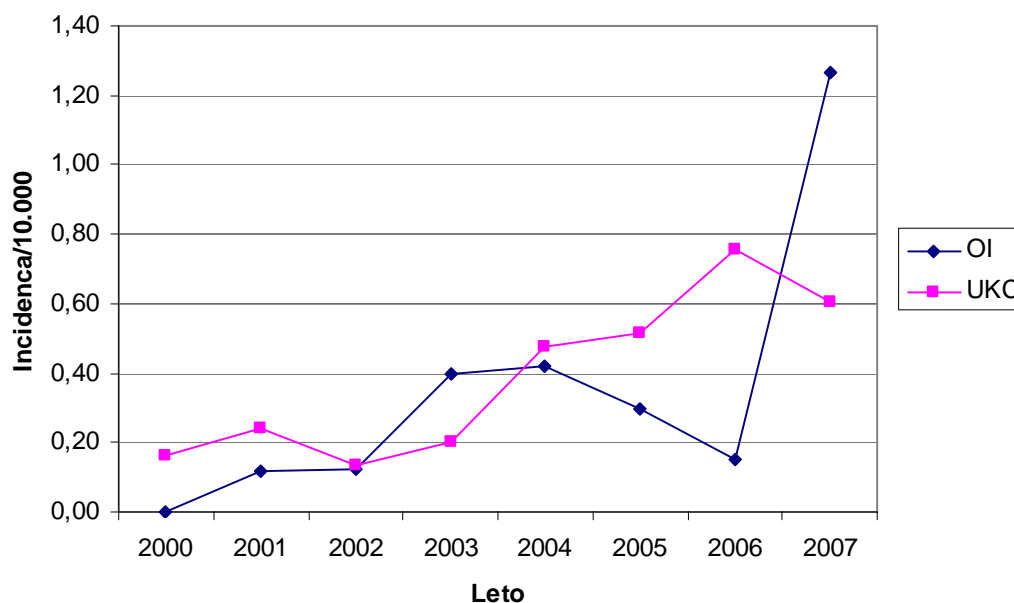
3.5 Statistična analiza

Statistična analiza je bila narejena s programom SPSS.

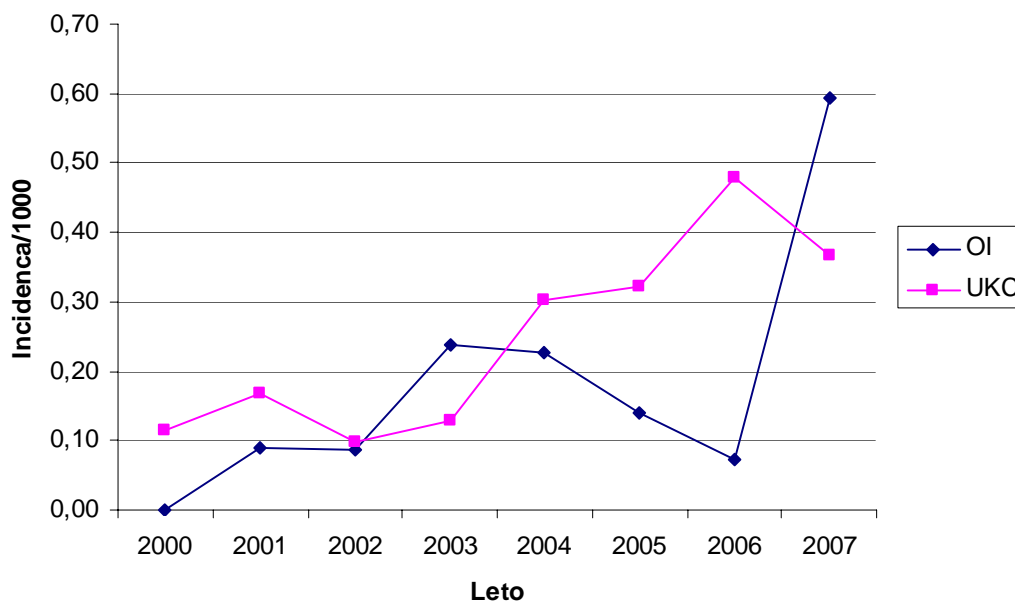
4 REZULTATI

4.1 INCIDENCA KANDIDEMIJ

V obdobju osmih let, od 01.01.2000 do 31.12.2007 so v Laboratoriju za diagnostiko glivičnih infekcij Inštituta za mikrobiologijo in imunologijo v Ljubljani, zabeležili 223 epizod kandidemij pri 206 bolnikih, ki so se zdravili v Univerzitetnem kliničnem centru (UKC) ali Onkološkem inštitutu (OI) v Ljubljani. Podatke smo izbrali do 31.12.2007, ker je bilo pri računanju incidence potrebno upoštevati podatke za polno leto. Do konca leta 2007 so trije bolniki imeli po dve epizodi kandidemij. Od teh sta imela dva bolnika v obeh primerih osamljeno vrsto *C. albicans*. Pri enem je bila v prvi epizodi osamljena *C. glabrata*, v drugi pa *C. parapsilosis*. Incidenca kandidemij kaže naraščajoč trend. Na UKC se giblje od 0,14 do 0,76 epizod na 10.000 bolnišničnih oskrbnih dni oziroma od 0,10 do 0,48 epizod na 1000 sprejemov, na OI od 0,0 do 1,27 epizod na 10.000 bolnišničnih oskrbnih dni oziroma od 0,0 do 0,59 epizod na 1000 sprejemov. Iz Slike 7 in Slike 8 je razvidno, da je incidenca kandidemije začela močneje naraščati v UKC po letu 2004.



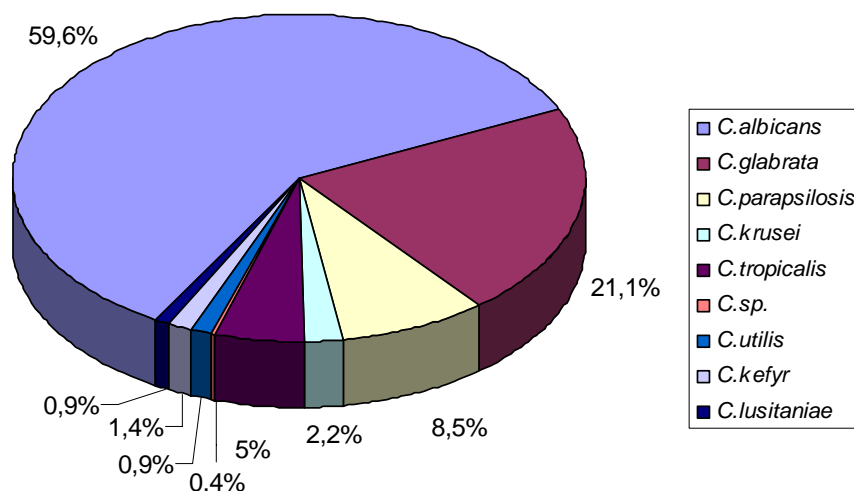
Slika 7: Incidenca kandidemij v obdobju 01.01.2000-31.12.2007 na Univerzitetnem kliničnem centru (UKC) in Onkološkem inštitutu (OI) v Ljubljani /10.000 bolnišničnih oskrbnih dni



Slika 8: Incidenca kandidemij v obdobju 01.01.2000-31.12.2007 na Univerzitetnem kliničnem centru (UKC) in Onkološkem inštitutu (OI) v Ljubljani /1000 sprejemov

4.2 SPEKTER OSAMLJENIH GLIV RODU *Candida* IZ HEMOKULTUR

Celokupen spekter iz zajetega osemletnega obdobja prikazuje Slika 9. Iz nje je razvidno, da je najpogosteje osamljen izolat iz hemokultur vrsta *C. albicans*, ki predstavlja 59,6% delež. Pomemben delež predstavlja tudi *C. glabrata* z 21,1%, na tretjem mestu je *C. parapsilosis* z 8,5% in na četrtem *C. tropicalis* s 5%. Ostale vrste so zastopane z nižjimi deleži.

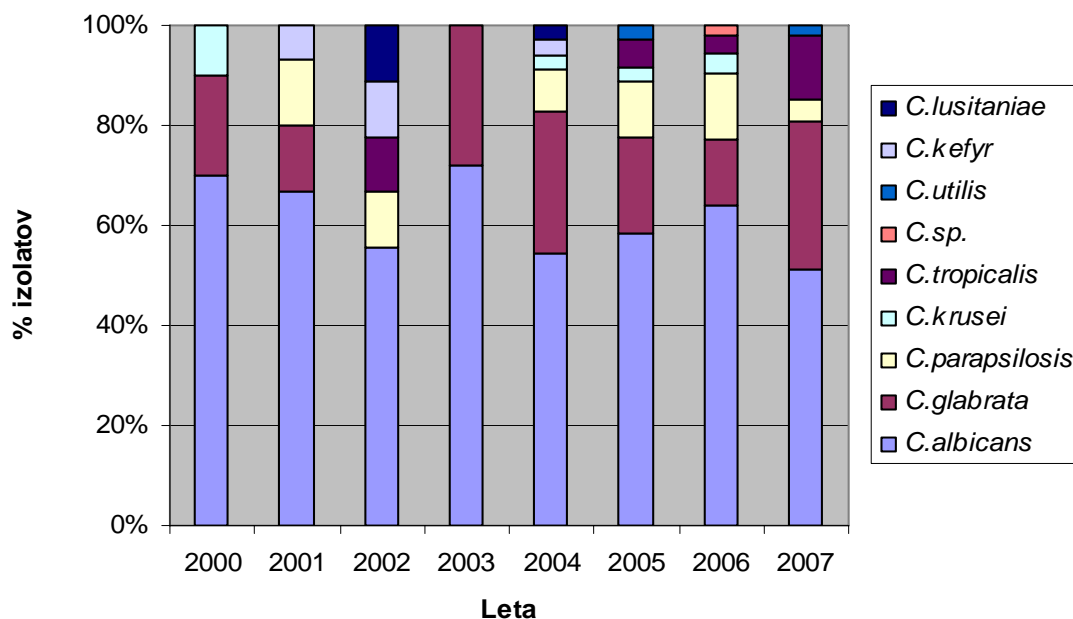


Slika 9: Celokupen spekter osamljenih gliv rodu *Candida* iz hemokultur v obdobju od 01.01.2000 do 31.12.2007

Delež posameznih vrst gliv rodu *Candida* osamljenih iz hemokultur po posameznih letih iz obravnavanega obdobja prikazujeta Preglednica 5 in Slika 10. Največji delež skozi celotno obdobje predstavlja *C. albicans*, giblje se od 51% do 72,2%, sledi ji *C. glabrata*, od 13,2% do 29,8%, v letu 2002 ta vrsta ni bila osamljena. Na tretjem mestu je *C. parapsilosis*, delež izolatov se je gibal od 4,3% do 13,3%, v letih 2000 in 2003 je niso osamili iz hemokultur.

Preglednica 5: Spekter vrst rodu *Candida* iz hemokultur po posameznih letih v obdobju 01.01.2000 do 31.12.2007

IZOLAT (Št.)	Število in delež izolatov iz hemokultur N(%)							
	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007
<i>C. albicans</i> (133)	7 (70)	10 (66,7)	5 (55,6)	13 (72,2)	19 (54,3)	21 (58,3)	34 (64,1)	24 (51)
<i>C. glabrata</i> (47)	2 (20)	2 (13,3)	0	5 (27,8)	10 (28,5)	7 (19,4)	7 (13,2)	14 (29,8)
<i>C. parapsilosis</i> (19)	0	2 (13,3)	1 (11,1)	0	3 (8,5)	4 (11,1)	7 (13,2)	2 (4,3)
<i>C. krusei</i> (5)	1 (10)	0	0	0	1 (2,9)	1 (2,8)	2 (3,8)	0
<i>C. tropicalis</i> (11)	0	0	1 (11,1)	0	0	2 (5,6)	2 (3,8)	6 (12,8)
<i>Candida sp.</i> (1)	0	0	0	0	0	0	1 (1,9)	0
<i>C. utilis</i> (2)	0	0	0	0	0	1 (2,8)	0	1 (2,1)
<i>C. kefyr</i> (3)	0	1 (6,7)	1 (11,1)	0	1 (2,9)	0	0	0
<i>C. lusitaniae</i> (2)	0	0 (0)	1 (11,1)	0	1 (2,9)	0	0	0
SKUPAJ (223)	10 (100)	15 (100)	9 (100)	18 (100)	35 (100)	36 (100)	53 (100)	47 (100)



Slika 10: Vrsteni spekter gliv rodu *Candida* osamljenih iz hemokultur po posameznih letih v obdobju od 01.01.2000 do 31.12.2007

Štirinajst bolnikov (6,8% od vseh bolnikov) je imelo iz hemokultur osamljeno po dve vrsti gliv. V enajstih primerih sta bili osamljeni *C. albicans* in *C. glabrata*. V enem primeru je *C. albicans* spremeljala *C. krusei*, v drugem *C. parapsilosis* in v tretjem sta bili hkrati osamljeni *C. parapsilosis* in *C. glabrata*.

Iz spektra izolatov po starostnih skupinah, je razvidno, da pri otrocih v veliki večini prevladuje *C. albicans*. V osem letnem obdobju so pri otrocih do 18 leta osamili skupaj 15 izolatov *Candida* spp. Deset izolatov je pripadalo vrsti *C. albicans*. Pri odrasli populaciji začne naraščati delež vrst *C. glabrata* in *C. parapsilosis*, za to skupino je značilna tudi večja vrstna raznolikost osamljenih gliv (Preglednica 6). Pri starejši populaciji nad 65 let *C. glabrata* predstavlja večji delež (22,5%) kot pri mlajši populaciji (19,2%). Na tretjem mestu je pri mlajši populaciji *C. parapsilosis* z 11,7% deležem, pri starejših pa *C. tropicalis*, ki predstavlja 6,9% delež.

Preglednica 6: Spekter gliv rodu *Candida* osamljenih iz hemokultur po starostnih skupinah

IZOLAT (Št.)	Starost (Št. (%))				
	<1 leto	1 do 18 let	19 do 49 let	50 do 64 let	≥65 let
<i>C. albicans</i> (133)	5 (71,4)	5 (62,5)	24 (60)	20 (51,2)	79 (61,2)
<i>C. glabrata</i> (47)	0	1 (12,5)	6 (15)	11 (28,2)	29 (22,5)
<i>C. parapsilosis</i> (19)	0	0	8 (20)	3 (7,8)	8 (6,2)
<i>C. kefyr</i> (3)	0	0	0	2 (5,1)	1 (0,8)
<i>C. krusei</i> (5)	0	1 (12,5)	1 (2,5)	2 (5,1)	1 (0,8)
<i>C. tropicalis</i> (11)	0	0	1 (2,5)	1 (2,6)	9 (6,9)
<i>Candida sp.</i> (1)	0	0	0	0	1 (0,8)
<i>C. utilis</i> (2)	2 (28,6)	0	0	0	0
<i>C. lusitaniae</i> (2)	0	1 (12,5)	0	0	1 (0,8)
SKUPNO (223)	7 (100)	8 (100)	40 (100)	39 (100)	129 (100)

Preglednica 7: Spekter gliv rodu *Candida* osamljenih iz hemokultur pri bolnikih nad in pod 65 let

IZOLAT (Št.)	Starost (Št. (%))	
	≥65 let	<65 let
<i>C. albicans</i> (133)	79 (61,2)	54 (57,4)
<i>C. glabrata</i> (47)	29 (22,5)	18 (19,2)
<i>C. parapsilosis</i> (19)	8 (6,2)	11 (11,7)
<i>C. tropicalis</i> (11)	9 (6,9)	2 (2,1)
<i>C. kefyr</i> (3)	1 (0,8)	2 (2,1)
<i>C. krusei</i> (5)	1 (0,8)	4 (4,3)
<i>Candida sp.</i> (1)	1 (0,8)	0
<i>C. utilis</i> (2)	0	2 (2,1)
<i>C. lusitaniae</i> (2)	1 (0,8)	1 (1,1)
SKUPNO (223)	129 (100)	94 (100)

Spekter osamljenih gliv rodu *Candida* glede na spol prikazuje Preglednica 8. Delež osamljenih izolatov je pri moških večji (57%) kot pri ženskah (43%).

Preglednica 8: Spekter gliv rodu *Candida* osamljenih iz hemokultur glede na spol

IZOLAT (Št.)	Spol (Št. (%))	
	moški	ženske
<i>C. albicans</i> (133)	72 (56,7)	61 (63,5)
<i>C. glabrata</i> (47)	26 (20,4)	21 (21,8)
<i>C. parapsilosis</i> (19)	16 (12,6)	3 (3,1)
<i>C. tropicalis</i> (11)	6 (4,7)	5 (5,4)
<i>C. kefyr</i> (3)	2 (1,6)	1 (1)
<i>C. krusei</i> (5)	3 (2,4)	2 (2,1)
<i>Candida sp.</i> (1)	0	1 (1)
<i>C. utilis</i> (2)	0	2 (2,1)
<i>C. lusitaniae</i> (2)	2 (1,6)	0
SKAUPAJ (223)	127 (100)	96 (100)

Spekter osamljenih gliv rodu *Candida* glede uporabljen izolacijski sistem prikazuje Preglednica 9. Iz sistema BACTEC smo osamili 34 izolatov gliv, iz sistema BacT/ALERT pa 189 izolatov gliv. Deleža vrste *C. albicans* sta v obeh sistemih primerljiva, medtem ko je delež osamljene vrste *C. glabrata* v sistemu BACTEC nižji (14,7%) od sistema BacT/ALERT (22,2%).

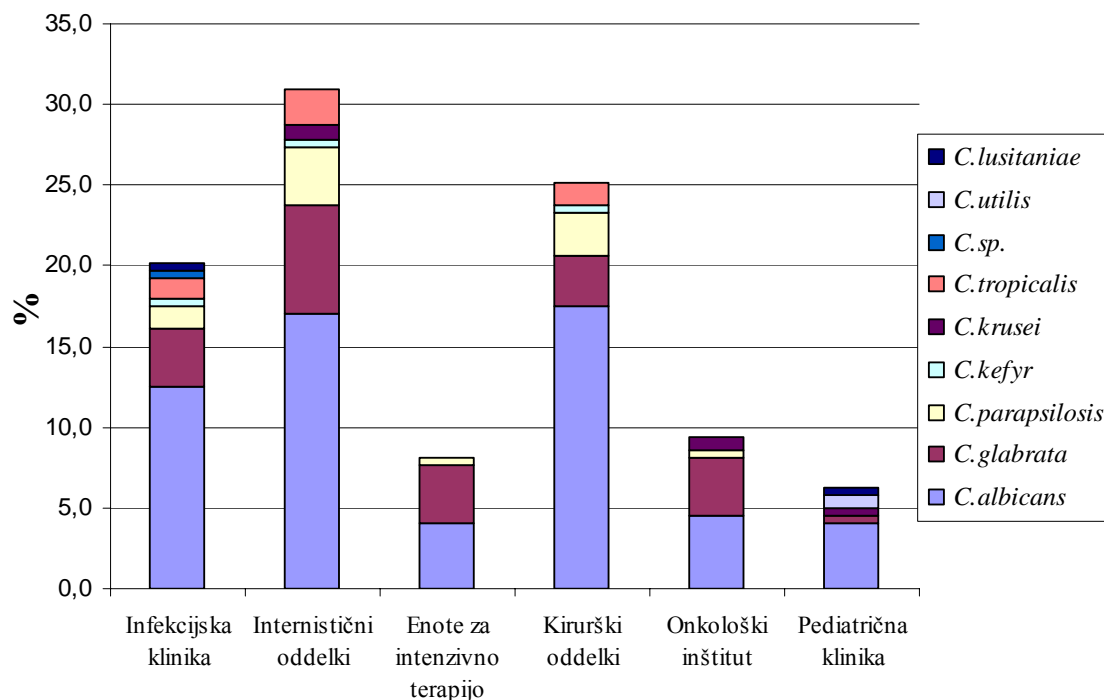
Preglednica 9: Spekter gliv rodu *Candida* osamljenih iz hemokultur glede na uporabljen izolacijski sistem

IZOLAT (Št.)	Hemokulturni sistem Št. (%)	
	BACTEC	BacTAlert
<i>C. albicans</i> (133)	21 (61,7)	112 (59,3)
<i>C. glabrata</i> (47)	5 (14,7)	42 (22,2)
<i>C. parapsilosis</i> (19)	3 (8,8)	16 (8,5)
<i>C. tropicalis</i> (11)	3 (8,8)	8 (4,2)
<i>C. krusei</i> (5)	0	5 (2,6)
<i>Candida sp.</i> (1)	0	1 (0,5)
<i>C. utilis</i> (2)	0	2 (1,1)
<i>C. kefyr</i> (3)	1 (3)	2 (1,1)
<i>C. lusitaniae</i> (2)	1 (3)	1 (0,5)
SKUPAJ (223)	34 (100)	189 (100)

Največ bolnikov z glivično sepsa se je zdravilo na internističnih oddelkih, kjer je delež izoliranih vrst predstavljal 69/223 (30,9%). Iz Onkološkega inštituta je bilo izoliranih 21/223 (9,4%), iz intenzivnih enot pa 18/223 (8,1%) izolatov (Slika 11). Vrstni spekter povzročiteljev kandidemije na Kliniki za infekcijske bolezni in vročinska stanja in internističnih oddelkih je podoben in primerljiv s celokupnim spektrom izolatov. Na kirurških in pediatričnih oddelkih (vključena je Pediatrična klinika in Oddelek za otroško kirurgijo) je delež *C. albicans* višji od povprečnega, hkrati pa je delež izolatov *C. glabrata* relativno nizek in se giblje med 7,1 in 12,5%. Izredno visok delež izolatov *C. glabrata* smo ugotovili na Onkološkem inštitutu in enotah za intenzivno terapijo, gibal se je od 38,1 do 44,4%. Temu primerno se je na teh oddelkih oziroma bolnišnici znižal delež *C. albicans* na približno 50% (Preglednica 10).

Preglednica 10: Vrstni spekter gliv rodu *Candida* osamljenih iz hemokultur po oddelkih

IZOLAT (Št.)	BOLNIŠKI ODDELKI Št. (%)					
	Infekcijska klinika	Internistični oddelki	Enote za intenzivno terapijo	Kirurški oddelki	Onkološki inštitut	Pediatrična klinika
<i>C. albicans</i> (133)	28 (62,2)	38 (55,1)	9 (50,0)	39 (69,6)	10 (47,6)	9 (64,3)
<i>C. glabrata</i> (47)	8 (17,8)	15 (21,7)	8 (44,4)	7 (12,5)	8 (38,1)	1 (7,1)
<i>C. parapsilosis</i> (19)	3 (6,7)	8 (11,6)	1 (5,6)	6 (10,7)	1 (4,8)	0
<i>C. tropicalis</i> (11)	3 (6,7)	5 (7,2)	0	3 (5,4)	0	0
<i>C. kefyr</i> (3)	1 (2,2)	1 (1,4)	0	1 (1,8)	0	0
<i>C. krusei</i> (5)	0	2 (2,9)	0	0	2 (9,5)	1 (7,1)
<i>Candida sp.</i> (1)	1 (2,2)	0	0	0	0	0
<i>C. utilis</i> (2)	0	0	0	0	0	2 (14,3)
<i>C. lusitaniae</i> (2)	1 (2,2)	0	0	0	0	1 (7,1)
SKUPAJ (223)	45 (100)	69 (100)	18 (100)	56 (100)	21 (100)	14 (100)

Slika 11: Vrsteni spekter gliv rodu *Candida* osamljenih iz hemokultur po oddelkih

4.3 OBČUTLJIVOST IZOLATOV RODU *Candida* IZ HEMOKULTUR ZA ANTIMIKOTIKE

Občutljivost osamljenih izolatov iz hemokultur smo testirali za štiri antimikotike; amfotericin B, flukonazol, vorikonazol in kaspofungin. Na amfotericin B je bilo testiranih 210, na flukonazol 209, na vorikonazol 180 in na kaspofungin 155 izolatov. Opredeljene so tudi MIK50 in MIK90 za posamezne vrste izolatov in testirane antimikotike (Preglednica 11, Preglednica 12).

Preglednica 11: Občutljivost izolatov rodu *Candida* iz hemokultur za amfotericin B in flukonazol

Amfotericin B				Flukonazol			
IZOLAT (št. izolatov)	Razpon MIK	MIK50 µg/ml	MIK90 µg/ml	IZOLATI (št. izolatov)	Razpon MIK	MIK50 µg/ml	MIK90 µg/ml
<i>C. albicans</i> (124)	0,016-1,000	0,38	0,5	<i>C. albicans</i> (124)	0,023-64,000	0,25	0,5
<i>C. glabrata</i> (44)	0,125-1,500	1	1,5	<i>C. glabrata</i> (44)	2-256	24	256
<i>C. parapsiiosis</i> (19)	0,250-1,500	0,5	1	<i>C. parapsiiosis</i> (19)	0,125-2,000	0,38	0,75
<i>C. tropicalis</i> (11)	0,500-1,000	0,5	1	<i>C. tropicalis</i> (11)	0,380-6,000	0,5	1
<i>C. krusei</i> (4)	1,500-2,000	2	2	<i>C. krusei</i> (3)	12,000-256,000	12	12
SKUPAJ (210)	0,016-2,0	0,38	1	SKUPAJ (209)	0,023-256	0,38	32

Preglednica 12: Občutljivost izolatov rodu *Candida* iz hemokultur za vorikonazol in kaspofungin

Vorikonazol				Kaspofungin			
IZOLAT (št. izolatov)	Razpon MIK	MIK50 µg/ml	MIK90 µg/ml	IZOLATI (št. izolatov)	Razpon MIK	MIK50 µg/ml	MIK90 µg/ml
<i>C. albicans</i> (105)	0,002-0,500	0,006	0,016	<i>C. albicans</i> (88)	0,012-0,380	0,047	0,19
<i>C. glabrata</i> (40)	0,023-32,000	0,5	4	<i>C. glabrata</i> (35)	0,023-0,250	0,125	0,19
<i>C. parapsiiosis</i> (16)	0,004-0,064	0,012	0,047	<i>C. parapsiiosis</i> (14)	0,380-1,500	0,5	0,75
<i>C. tropicalis</i> (10)	0,012-0,190	0,032	0,047	<i>C. tropicalis</i> (10)	0,047-0,250	0,094	0,25
<i>C. krusei</i> (4)	0,380-0,750	0,38	0,5	<i>C. krusei</i> (3)	0,500-1,000	0,5	0,5
SKUPAJ (180)	0,002-32	0,012	0,75	SKUPAJ (155)	0,012-1,5	0,094	0,38

Občutljivost izolatov na antimikotike in razporeditev glede na mejne vrednosti MIK, opredeljenih po kriterijih CLSI (flukonazol, vorikonazol) in znanih podatkih iz literature

(amfotericin B in kaspofungin). Od vseh 124 testiranih izolatov *C. albicans* je bil le en odporen proti flukonazolu (0,8%). Sicer pa so bili vsi testirani izolati *C. albicans* dobro občutljivi za vse testirane antimikotike. Kar 38,6% izolatov *C. glabrata* je bilo popolnoma odpornih proti flukonazolu in 43,2% izolatov kaže povišane vrednosti MIK in smo jih uvrstili v kategorijo S-DD (*angl.* susceptible dose dependent). Izolati *C. glabrata* so bili odporni tudi proti vorikonazolu, od 40 testiranih izolatov jih je bilo 13 popolnoma odpornih (31,5%) in 2 (5%) sta bila uvrščena v kategorijo S-DD. Vsi testirani izolati pa so bili dobro občutljivi za kaspofungin. Zmanjšana občutljivost za kaspofungin smo ugotovili le pri enem izolatu *C. parapsilosis* in *C. krusei* (Preglednica 13, Preglednica 14).

Preglednica 13: Občutljivost izolatov rodu *Candida* za amfotericin B in flukonazol z interpretacijami.

IZOLAT	Občutljivost							
	število	Amfotericin B			število	Flukonazol		
		S*	SDD**	R***		S*	SDD**	R***
<i>C.albicans</i>	124	124 (100%)	0	0	124	123 (99,2)	0	1 (0,8%)
<i>C.glabrata</i>	44	33 (75%)	11 (25%)	0	44	8 (18,2%)	19 (43,2%)	17 (38,6%)
<i>C.parapsilosis</i>	19	18 (94,7%)	1 (5,3%)	0	19	18 (94,7%)	0	1 (5,3%)
<i>C.tropicalis</i>	11	11 (100%)	0	0	11	11 (100%)	0	0
<i>C.krusei</i>	4	0	1 (25%)	3 (75%)	3	0	2 (66,7%)	1 (33,3%)
<i>Candida sp.</i>	1	1 (100%)	0	0	1	0	1 (100%)	0
<i>C.utilis</i>	2	2 (100%)	0	0	2	2 (100%)	0	0
<i>C.kefyr</i>	3	3 (100%)	0	0	3	3 (100%)	0	0
<i>C.lusitaniae</i>	2	1 (50%)	1 (50%)	0	2	2 (100%)	0	0
SKUPAJ	210	193 (91,9%)	14 (6,7%)	3 (1,4%)	209	167 (79,9%)	22 (10,5%)	20 (9,6%)

* občutljiv

** občutljiv z višjimi odmerki antimikotika

*** odporen

Preglednica 14: Občutljivost izolatov rodu *Candida* za vorikonazol in kaspofungin z interpretacijami.

IZOLAT	Občutljivost							
	število	Vorikonazol			število	Kaspofungin		
		S*	SDD**	R***		S*	SDD**	R***
<i>C.albicans</i>	105	105 (100%)	0	0	88	88 (100%)	0	0
<i>C.glabrata</i>	40	25 (62,5%)	2 (5%)	13 (32,5%)	35	35 (100%)	0	0
<i>C.parapsilosis</i>	16	16 (100%)	0	0	14	13 (92,9%)	1 (7,1%)	0
<i>C.tropicalis</i>	10	10 (100%)	0	0	10	10 (100%)	0	0
<i>C.krusei</i>	4	0	4 (100%)	0	3	2 (66,7)	1 (33,3%)	0
<i>Candida sp.</i>	1	1 (100%)	0	0	1	1 (100%)	0	0
<i>C.utilis</i>	2	2 (100%)	0	0	2	2 (100%)	0	0
<i>C.kefyr</i>	1	1 (100%)	0	0	1	1 (100%)	0	0
<i>C.lusitaniae</i>	1	1 (100%)	0	0	1	1 (100%)	0	0
SKUPAJ	180	161 (89,5)	6 (3,3%)	13 (7,2%)	155	153 (98,7%)	2 (1,3%)	0

* občutljiv

** občutljiv z višjimi odmerki antimikotika

*** odporen

4.4 OSNOVNE BOLEZNI, DEJAVNIKI TVEGANJA, NAČIN ZDRAVLJENJA IN IZID BOLEZNI

V drugem delu diplomske naloge so prikazani podatki, ki smo jih pridobili iz medicinske dokumentacije 147 bolnikov z dokazano kandidemijo, ki so bili v obdobju od 1.1.2000 do 31.3.2008 hospitalizirani na OI in UKC v Ljubljani. 131 bolnikov je bilo hospitaliziranih na UKC, 16 pa na OI. Med temi je bilo 77 moških in 70 žensk, povprečna starost vse zajete skupine je bila 60,3 let. Pri ženskah je bila le ta 64,9 in pri moških pa 56,2 let. Najmlajši bolnik, ki smo ga vključili v študijo, je imel manj kot 1 leto, najstarejši pa 100 let. Pri njih smo opredelili osnovno bolezen in dejavnike tveganja. Iz dokumentacije bolnikov smo skušali opredeliti možen vir okužbe in komplikacije kandidemije, antimikotično zdravljenje in izid bolezni.

Preglednica 15 prikazuje osnovne bolezni in stanje bolnikov ob pojavu kandidemije. Največji delež predstavljajo bolniki, ki so pred tem imeli kirurški poseg (46,3%), od teh je bila slaba polovica bolnikov operirana na področji prebavil (44,1%). Vrsta kirurškega posega je predstavljena v Preglednici 16. Drugo veliko skupino predstavljajo bolniki s

kroničnimi obolenji, kamor smo uvrstili bolnike s kronično obstruktivno pljučno boleznijo (KOPB), etilizmom, jetrno cirozo, revmatološkimi obolenji in sladkorno boleznijo (40,1%). Na tretjem mestu so bolniki z rakavo boleznijo, ki skupaj predstavljajo 35,4% delež (Preglednica 15).

Preglednica 15: Osnovne bolezni 147 bolnikov z dokazano kandidemijo hospitalizirani na OI in UKC od 1.1.2000 do 31.3.2008

OSNOVNE BOLEZNI	Št. (%)
Kronične bolezni (kronična obstruktivna pljučna bolezen, diabetes, jetrna ciroza, etilizem, revmatološka obolenja)	59 (40,1)
kirurški posegi	68 (46,3)
malignomi	52 (35,4)
HIV/AIDS	0
politravma	6 (4,1)
transplantacija	1 (0,7)
nedonošenček	4 (2,7)

Preglednica 16: Vrsta kirurškega posega pri 68 bolnikih z dokazano kandidemijo

KIRURŠKI POSEGI	Št. (%)
V trebušni votlini	30 (44,1)
Nevrološki	7 (10,3)
Ortopedski	10 (14,7)
Kardiovaskularni	15 (22,1)
drugo	6 (8,8)

Velika večina bolnikov je imela ob kandidemiji vstavljene žilne katetre 145/147 (98,6%). Približno tri četrtine bolnikov je prejelo večtirno antibiotično zdravljenje 108/147 (73,5%), kar dve tretjini bolnikov je bilo hospitaliziranih v enoti za intenzivno terapijo 97/147 (66,0%). Med pomembna dejavnika tveganja se je uvrstila tudi parenteralna

prehrana, ki jo je prejemale 65/147 44,2% bolnikov. Klinične znake sepse so v dokumentaciji opisovali pri približno enakem deležu bolnikov 60/147 (40,8%). Približno četrtnina bolnikov je prejemale kortikosteroide 38/147 (25,9%), ali imelo opisano kronično lednično odpoved, zaradi katere so potrebovali, ali ne hemodializo 36/147 (24,5%). Ostali dejavniki tveganja so bili zastopani v nižjem deležu in jih prikazuje Preglednica 17.

Preglednica 17: Dejavniki tveganja pri 147 bolnikih z dokazano kandidemijo

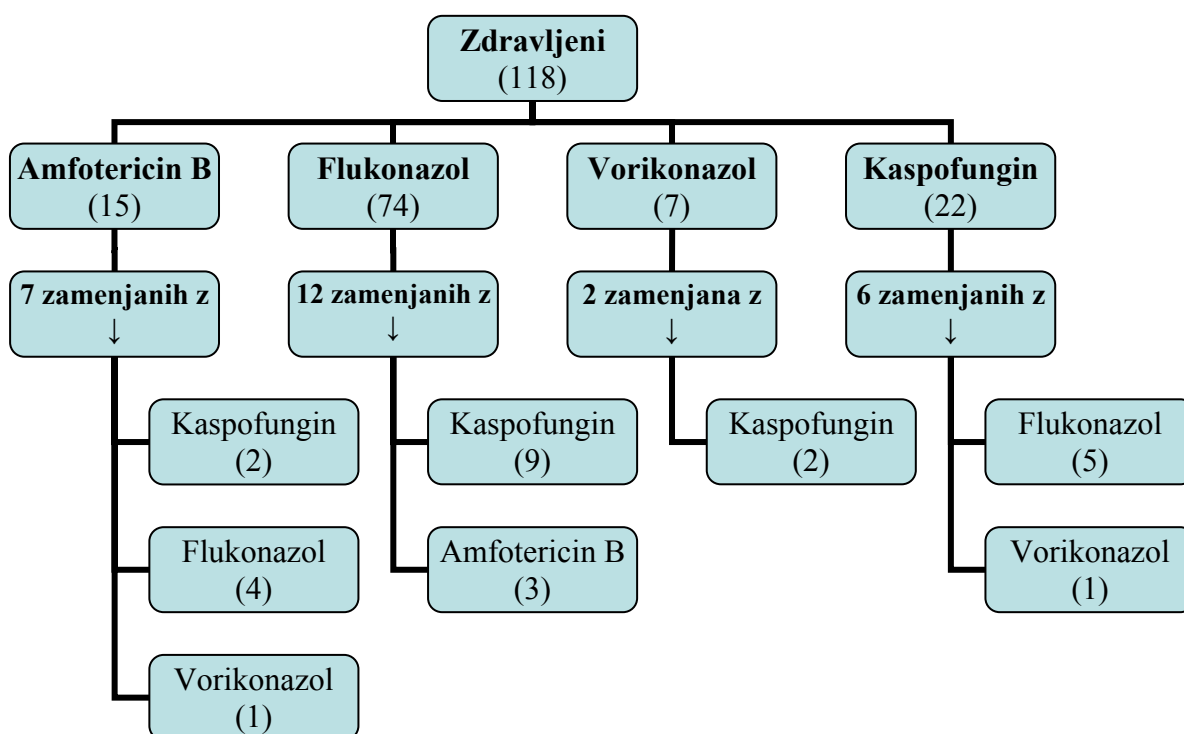
DEJAVNIKI TVEGANJA	Št. (%)
žilni katetri	145 (98,6)
enote intenzivne terapije	97 (66,0)
več antibiotikov več kot 14 dni	108 (73,5)
parenteralna prehrana	65 (44,2)
sepsa	60 (40,8)
kortikosteroidi	38 (25,9)
dializa	36 (24,5)
kemoterapija	18 (12,2)
GVHD - Graft Versus Host Disease	2 (1,4)
nevtropenija	17 (11,6)
intravenozni uživalec drog	2 (1,4)
okužba s citomegalovirusom	3 (2,0)
bolezni prebavil	7 (4,8)

Med laboratorijskimi izvidi, ki smo jih analizirali iz dokumentacije bolnikov sta bila upoštevana C reaktivni protein (CRP) in prokalcitonin (PTC), ki sodita med pomembne pokazatelje vnetja. Večina bolnikov 141/145 (97,2%) je imela povišane vrednosti CRP, pri dveh bolnikih te vrednosti niso bilo opredeljene. Tudi PTC je bil povišan pri večini pregledanih bolnikov 62/71 (87,3%). Pri 76 bolnikih ta dejavnik ni bil opredeljen.

Verjeten vir okužbe smo opredelili le pri manjšini 58/147 (39,5%) pregledanih kartotek. Pri 33/147 (22,4%) so bila najverjetnejši vir okužbe prebavila. V to skupino sodijo bolniki 19/33 (57,6%), ki so imeli pred pojavom kandidemije večji kirurški poseg v trebušni

votlini ali so imeli bolezen prebavil 4/33 (12,1%). Pri ostalih 10/33 (30,3%) so bila prebavila opredeljena kot najverjetnejši vir okužbe na osnovi izvidov mikrobioloških preiskav (kolonizacija prebavil) in hkratnega prejemanja kemoterapije zaradi zdravljenja rakavih bolezni. Drugi pomemben vir okužbe so bili žilni katetri, ki smo jih kot vir opredelili pri 25/147 (17,0%) bolnikih. V to skupino smo uvrstili bolnike s pozitivnim mikrobiološkim izvidom konice žilnih katetrov.

Profilaktično zdravljenje je pred pojavom kandidemije prejelo 14/147 (9,5%) bolnikov. Od teh je 9 bolnikov prejelo flukonazol. Zdravljenje je bilo uvedeno pri 118/147 (80,3%) bolnikih s kandidemijo. Pri večini bolnikov je bil kot osnovno zdravilo uveden flukonazol 74/118 (62,7%), sledil je kaspofungin 22/118 (18,6%), 15/118 (12,7%) je kot primarno zdravljenje prejelo amfotericin B in 7/118 (5,9%) bolnikov vorikonazol. Pri 27 bolnikih je bilo osnovno antimikotično zdravljenje zamenjano. Vzroki menjave so bili različni. Pri 22 bolnikih je bila menjava narejena na osnovi mikrobioloških izvidov (izolat oz. antimikogram), pri 4 bolnikih so se za menjavo odločili zaradi porasta vnetnih parametrov ali poslabšanja kliničnega stanja, pri enem so bili vzrok menjave stranski učinki amfotericina B. Način in število zdravljenih bolnikov prikazuje Slika 12. Menjava centralnega venskega katetra (CVK) je bila ob sumu na kandidemijo oziroma ob znanem mikrobiološke izvidu izvedena pri 51/147 (34,7%) bolnikih. 29 (19,7%) bolnikov ni prejelo antimikotičnega zdravljenja. Od teh je 9 bolnikov umrlo na dan odvzema in še 11 bolnikov v 5 dneh po odvzemu hemokulture v kateri je bila osamljena gliva rodu *Candida*. Trije so preživeli več kot 30 dni.



Slika 12: Načini in število zdravljenih bolnikov s kandidemijo

Komplikacije kandidemij smo iz dokumentacije bolnikov zasledili v šestih primerih. Pri posameznih bolnikih je bil opisan možganski absces, endoftalmitis, absces paravertebralno in absces testisa, pri dveh pa endokarditis.

79/140 (56,4%) bolnikov je umrlo 30 dni po odvzemu prve pozitivne hemokulture. Od teh smo kot vzrok smrti zaradi glivične sepse opredelili pri 39 bolnikih, iz česar sledi, da je specifična umrljivost po 30 dneh 27,8 %. Pri sedmih bolnikih podatka o smrti po 30 dneh ni bilo. Preglednica 18 prikazuje umrljivost po 30 dneh glede na osamljeno vrsto *Candida*.

Preglednica 18: Izid kandidemije po 30. dneh glede na osamljeno vrsto

IZOLAT	Št. epizod	Št. smrti po 30 dneh (%)
<i>C.albicans</i>	85	49 (57,6)
<i>C.glabrata</i>	26	14 (53,8)
<i>C.parapsilosis</i>	10	1 (10,0)
<i>C.tropicalis</i>	8	6 (75,0)
Ostali	18	9 (50,0)
SKUPAJ	147	79/140 (56,4)

5 RAZPRAVA IN SKLEPI

5.1 RAZPRAVA

Od začetka 80-ih let prejšnjega stoletja, postajajo glive vedno pomembnejši povzročitelji invazivne bolezni pri človeku. Okužbe so ponavadi oportunistične in za njimi zbolevalo zlasti imunsko oslabljeni bolniki, težko bolni in hospitalizirani bolniki z resnimi osnovnimi boleznimi. Glavni razlogi za povečanje števila glivičnih okužb so vse večja populacija imunsko oslabljenih bolnikov, povečana uporaba širokospektralnih antibiotikov in citotoksičnih kemoterapij ter vedno večje število bolnikov, ki se zdravijo s presaditvijo krvotvornih matičnih celic in čvrstih organov. Kljub številnim oportunističnim glivam, so vrste iz rodu *Candida* še vedno najpomembnejši povzročitelji oportunističnih glivičnih okužb. V Ameriki so tako četrti najpogostejši povzročitelj glivičnih seps in predstavljajo kar 8 do 10 % vseh okužb krvnega obtoka, pridobljenih v bolnišnici (Edmond in sod., 1999; Hajjeh in sod., 2004). Leta 2006 je Evropska konfederacija za medicinsko mikologijo (ECMM, *angl.* European Confederation of Medical Mycology) objavila rezultate epidemiološke raziskave, v katero je bilo vključenih sedem evropskih držav (Francija, Nemčija, Avstrija, Italija, Španija, Švedska in Velika Britanija). Incidenca kandidemije se je v omenjenih evropskih države gibala v letih od 1991 do 2004 med 0,31 - 0,44 na 10.000 bolnišničnih dni kar je nižje od stopnje kandidemije v ZDA, ki znaša približno 1,5 na 10.000 bolnišničnih dni. V omenjeni raziskavi je incidence kandidemij izstopala v Italiji, ki je znašala kar 1,64 na 10.000 bolnišničnih dni. Razlog temu je bil izbruh kandidemij v eni izmed vključenih bolnišnic. Raziskava v eni izmed terciarnih bolnišnic v Belgiji je prav tako pokazala visoko incidenco kandidemij, ki je primerljiva s tisto v ZDA (Lagrou, 2007). Vzrok za to ni bil popolnoma pojasnjen, znano pa je, da incidenca kandidemij narašča s številom bolnišničnih postelj, kar kaže na večji delež bolnikov, ki se zdravijo na intenzivnih enotah, večji obseg transplantacij in drugih invazivnih postopkov. Marchetti in sodelavci so naredili epidemiološko raziskavo v treh velikih terciarnih bolnišnicah v Švici, v katerih navajajo incidence kandidemij 0,26 - 0,38 na 10.000 bolnišničnih dni (Marchetti in sod., 2004).

Naša raziskava je prva epidemiološka raziskava kandidemij v Sloveniji oziroma natančneje na ljubljanskem področju in je pomembna predvsem zato, ker se s podatki, ki smo jih pridobili z njo lahko primerjamo s podatki iz drugih podobnih raziskav. Podatke smo izbrali do 31.12.2007, ker je bilo pri računanju incidence potrebno upoštevati podatke za polno leto. Zato v prvem delu diplomske naloge nismo upoštevali podatkov od 01.01.2008 do 31.3.2008. V tem časovnem obdobju se je incidenca v UKC gibala med 0,14 - 0,76 na 10.000 bolnišničnih dni, najvišja je bila leta 2006, ko je znašala 0,76 na 10.000 bolnišničnih dni. Incidenca na OI se je v istem časovnem obdobju gibala med 0,00 - 1,27 na 10.000 bolnišničnih dni. Incidenca je začela močneje naraščati po letu 2004 in kaže naraščajoči trend. Iz podatkov je razvidno, da je incidenca primerljiva in v nekaterih primerih celo večja od tistih iz drugih evropskih bolnišnic in centrov. Podobno kot za raziskavo v Belgiji bi tudi za našo lahko sklepali, da lahko kot vzrok večje incidence iščemo v velikosti bolnišnice (Lagrou in sod., 2007; Tortorano in sod., 2006) in predvsem v kirurškem programu, ki se tu izvaja. Število bolnišničnih postelj v UKC se giblje okoli 2300, vanj gravitira večina bolnikov, ki se v Sloveniji zdravijo s presaditvijo krvotvornih matičnih celic in čvrstih organov kar povečuje verjetnost nastanka oportunističnih okužb. Na OI pa je število postelj veliko manjše in se giblje okoli 320 postelj.

C. albicans je bila dolgo časa glavni povzročitelj bolnišničnih okužb krvnega obtoka, vendar je njena pogostnost v 90-ih letih prejšnjega stoletja začela upadati. V nekaterih centrih poročajo celo o tem, da je delež *C. albicans* nižji od 50% (Sofair Andre in sod., 2006). V istem obdobju lahko opazimo porast vrste *C. glabrata* in drugih vrst iz rodu *Candida* spp. (Snydman, 2003). V Evropi je tako *C. albicans* prisotna v skoraj 60% primerov okužb krvnega obtoka, medtem ko je delež vrste *C. glabrata* približno 15 %. Relativno pogosto se kot povzročitelji invazivnih okužb pojavljajo tudi druge vrste *Candida* spp, kot sta na primer *C. parapsilosis* in *C. tropicalis* (Tortorano in sod, 2006). V Severni Ameriki je delež *C. glabrata* nekoliko večji in se giblje med 20 in 25%. Zanimivo je, da je spekter povzročiteljev kandidemij v Latinski Ameriki in Aziji nekoliko drugačen. Tudi na teh geografskih področjih je na prvem mestu *C. albicans*, ki predstavlja več kot polovico vseh primerov, na drugem mestu je *C. tropicalis*, sledi ji *C. parapsilosis*. *C. glabrata* pa predstavlja manj kot 5% delež in je po pogostosti na četrtem mestu (Spellberg in sod., 2006). Iz naših podatkov je razvidno, da se v proučevanih letih spekter ni bistveno spreminjal. Iz celokupnih podatkov smo ugotovili, da predstavlja *C. albicans* približno

60% delež, sledi ji *C. glabrata*, ki predstavlja nekoliko večji delež, kot je povprečje v evropskih državah. Giblje se okoli 20%. V začetku 90. let so nekateri poročali o znatnem premiku spektra k bolj odpornim vrstam, predvsem na račun vrste *C. glabrata*. Nekateri so ta premik skušali razložiti z povečano porabo antimikotikov, predvsem flukonazola, vendar so spet drugi to hipotezo ovrgli (White in sod., 1997; Voss in sod., 1996; Garbino in sod., 2002). Podobno kot drugje v severni polobli je tudi pri nas na tretjem mestu *C. parapsilosis*, ki predstavlja približno 8,5% delež, sledi ji *C. tropicalis* s 5%, ostale vrste so zastopane v nižjem deležu. Osamitev in identifikacija do vrste sta zato postali pomembni iz več razlogov. Različne vrste *Candida* spp. se močno razlikujejo v občutljivosti za antimikotična zdravila. Vrsta *C. krusei* je naravno odporna proti flukonazolu, medtem ko *C. glabrata* lahko pridobi odpornost *in vitro* in *in vivo* proti spektru antimikotikov in ima običajno višje vrednosti MIK za azole. Izolati *C. dubliniensis* lahko hitro pridobijo odpornost proti flukonazolu, *C. lusitaniae* je lahko odporna proti amfotericinu B, vrsti *C. parapsilosis* in *C. guilliermondii* pa imata običajno višje vrednosti MIK za ehinokandine. Identifikacija do vrstnega nivoja je pomembna tudi za epidemiološke raziskave; pojavljanje določene vrste *Candida* spp. v bolnici, zlasti če se le ta pojavlja pogosteje kot ponavadi, lahko nakazuje na specifičen vir okužbe (Ellepola in sod., 2005). Podobno kot v drugih raziskavah smo tudi mi ugotovili, da pri mlajših starostnih skupinah prevladuje *C. albicans*, s starostjo pa začne naraščati delež vrste *C. glabrata* (Lagrou, 2007). V našem primeru je dosegel 22,5% delež pri bolnikih nad 65 let in 19,1% pri mlajših od 65 let. Obratno velja za vrsto *C. parapsilosis*, ki je značilnejša za mlajše starostno obdobje. Pri nas je bil delež te vrste pri mlajših od 65 let 11,7% in 6,2% za starejše od 65 let. Za odločitev v zvezi z uvedbo empiričnega zdravljenja je za zdravnike pomemben podatek, da je delež *C. glabrata* izredno visok pri bolnikih v enotah za intenzivno terapijo (44,4%) in pri bolnikih na OI (38,1%).

Pri skoraj 7% bolnikov sta bili iz hemokultur osamljeni dve vrsti *Candida* spp., kar podpira uporabo kromogenega gojišča za primarno osamitev gliv kvasovk ob pozitivnem direktnem mikroskopskem izvidu hemokulture. Glede na pomembnost izbire pravilnega antimikotika pa bi bila zelo zaželjena tudi hitrejša identifikacija do vrste, bodisi z *in situ* hibridizacijsko metodo - PNA-FISH, (angl. peptide nucleic acid fluorescent *in situ* hybridization) ali z molekularnimi metodami (Shepard in sod., 2008).

V naši raziskavi smo potrdili visoko občutljivost izolatov *C. albicans* za vse testirane antimikotike. Občutljivost za flukonazol, ki je eno od izbirnih zdravil za empirično zdravljenje je praktično 100%, saj smo v teh letih le pri enem samem izolatu ugotovili odpornost proti omenjenemu antimikotiku. Osamili smo ga pri onkološki bolnici, ki je bila pred tem na večmesečnem preventivnem zdravljenju s flukonazolom, kar je najverjetneje privedlo do nastanka odpornosti. Delež *C. krusei*, ki je naravno odporna na flukonazol ostaja nizek. Občutljivost teh izolatov je dobra za kaspofungin in vorikonazol. Tudi občutljivost ostalih izolatov z izjemo *C. glabrata* ostaja stabilna in zelo visoka. *C. glabrata*, ki je na drugem mestu po pogostosti osamitve iz hemokultur pa predstavlja velik problem. Iz naših podatkov smo ugotovili, da je le 18,2% izolatov občutljivih na flukonazol. Pri tej vrsti, podobno kot drugi avtorji ugotavljamo navzkrižno odpornost proti drugim azolom, v našem primeru proti vorikonazolu. Občutljivost *C. glabrata* za kaspofungin, ki je zdravilo izbora za tovrstne okužbe pa ostaja visoka.

V drugem delu naše naloge smo zajeli podatke do 31.3.2008. Pri tem smo ugotovili, da je bila kandidemija pogosto povezana s kirurškimi posegi (46,3%), kroničnimi boleznimi (40,1%) in malignimi obolenji (35,4%). Dejavniki tveganja za nastanek kandidemije so bili proučevani v številnih raziskavah (Diekema in Pfaller, 2004; Morell in sod., 2005; Ostrosky-Zeichner, 2004). Podobno kot v teh smo tudi mi ugotovili, da med najpomembnejše sodijo zdravljenije v enotah za intenzivno terapijo, prejemanje večtirne antibiotične terapije, žilni katetri, parenteralna prehrana, sepsa, prejemanje kortikosteroidov in kronična ledvična odpoved povezana z dializo ali brez nje.

Med najpomembnejše vire za nastanek kandidemije sodijo prebavila in koža, kjer so povzročitelji lahko že normalno prisotni kot kolonizatorji teh površin. Ob intenzivnem zdravljenju z antibiotiki pride do porušanja ravnotežja normalne mikrobne flore ob katerem kvasovke zasedejo prostor, ki so ga pred tem naseljevale komenzalne bakterije. Dodaten dejavnik pa je seveda tudi poškodba pregrade, ki nastane bodisi zaradi kirurškega posega, uvedenega žilnega katetra ali drugih materialov, poškodbe sluznice zaradi obsevanja ali kemoterapije in drugih dejavnikov. V naši raziskavi smo kot vir okužbe lahko opredelili le pri približno 40% bolnikov. Med temi so bila pri več kot polovici opredeljena prebavila (22,4%). Med kirurškimi posegi so prevladovala operacije v področju trebušne votline (44,1%). Natančnejši pregled medicinske dokumentacije teh

bolnikov je pokazal, da je bil kot vir okužbe pri teh napogosteje povezan bodisi s posegom, ali z boleznijo prebavil, ki je vodila do posega v trebušni votlini. Ostali, pri katerih smo kot vir opredelili prebavila so bili kolonizirani, prejeli kemoterapijo in hkrati drugih vzrokov nismo mogli opredeliti. Med najpogostejše povzročitelje katetersko povzročene kandidemije sodi vrsta *C. parapsilosis*, ki normalno kolonizira kožo na zgornji tretjini prsnega koša (Branchini in sod., 1994; Clark in sod., 2004). Kot vir okužbe je bila koža in kolonizacija žilnih katetrov v študiji Bassetti opredeljena v četrtini primerov (Bassetti in sod., 2007). V naši raziskavi smo katetersko povzročeno kandidemijo opredelili pri 17,0%. Specifično antimikotično zdravljenje je v naši raziskavi prejelo približno 80% bolnikov. Večina bolnikov je bila zdravljenih s flukonazolom. Priporočila Ameriškega zdravniškega društva kot terapijo izbora navajajo flukonazol oziroma enega od ehinokandinov. Pri izbiri empiričnega zdravila se zdravniki odločajo glede na številne dejavnike. Za ehinokandine se pogosteje odločijo, če sumijo, da bi bil lahko povzročitelj vrsta *C. glabrata* ali *C. krusei*. Pri tem je pomembna starost bolnika, osnovna bolezen (rakava bolezen), predhodno profilaktično zdravljenje s flukonazolom, nameščenost v enoti za intenzivno terapijo. Glede na naše podatke imajo namreč te skupine bolnikov veliko večje tveganje za nastanek kandidemije z vrsto *C. glabrata*.

V smernicah Ameriškega zdravniškega društva kot pomemben ukrep ob sumu na kandidemijo navajajo tudi zamenjavo oziroma odstranitev žilnega katetra (Pappas in sod., 2009). V naši raziskavi smo ugotovili, da je bil le ta zamenjan le pri dobri tretjini bolnikov. Zaradi pomanjkljivih podatkov pa ne moremo opredeliti kolikšen delež teh je bil v resnici pozitiven.

Celokupna umrljivost po 30 dneh je za našo skupino bolnikov 56,4%, kar je primerljivo z ostalimi študijami narejenimi na področju Evrope, kjer se umrljivost giblje med 52 in 72% (Bassetti in sod., 2007; Tortorano in sod., 2006). Umrljivost bolnikov, ki so imeli kandidemijo povzročeno s *C. glabrata* je v naši študiji primerljiva s študijo narejeno na področju Španije (53% vs. 50%) (Tortorano in sod., 2006). Največjo umrljivost smo ugotovili pri kandidemiji povzročeni s *C. tropicalis* (75%). Število bolnikov povzročeno s to vrsto je pri nas zelo nizko, vendar je zanimivo, da so tudi v omenjeni raziskavi najvišji delež umrljivosti dobili pri omenjeni vrsti (59%) (Tortorano in sod., 2006).

5.2 SKLEPI

- Incidenca kandidemij v UKC in OI je od leta 2004 dalje povprečno 0,6/10.000BOD in kaže počasen naraščajoč trend. Vrednosti so primerljive z drugimi centri v evropskih državah.
- Najpogostejši povzročitelj glivične sepse je *C. albicans* (60%), sledi ji *C. glabrata* (20%).
- Občutljivost *C. albicans* za amfotericin B, kaspofungin in vorikonazol je 100%, za flukonazol pa tudi presega 99%
- Občutljivost vrst *C. parapsilosis*, *C. lusitaniae*, *C. kefyr*, *C. tropicalis*, *C. krusei* ostaja stabilna.
- Občutljivost sevov *C. glabrata* za flukonazol je nizka (18,2%), ugotovili smo pogosto navzkrižno odpornost proti vorikonazolu (62,5%).
- Občutljivost vrste *C. glabrata* za ehinokandine (CS) je 100%.
- Kandidemija je bila pogosto povezana s kirurškimi posegi (46,3%), kroničnimi boleznimi (40,1%) in malignimi obolenji (35,4%).
- Med najpomembnejše dejavnike tveganja sodijo zdravljenje v enotah za intenzivno terapijo, prejemanje večtirne antibiotične terapije, žilni katetri, parenteralna prehrana, sepsa, prejemanje kortikosteroidov in kronična ledvična odpoved.
- Vir okužbe smo opredelili pri približno 40% bolnikov. Med temi so bila na prvem mestu kot vir opredeljena prebavila (22,4%) in na drugem žilni katetri (17,0%).
- Celokupna umrljivost bolnikov s kandidemijo po 30 dneh je 56,4%.

6 POVZETEK

V zadnjih desetletjih, postajajo glive vedno pomembnejši povzročitelji invazivne bolezni pri človeku. Okužbe so ponavadi oportunistične in za njimi zbolevalo zlasti imunsko oslabljeni bolniki, težko bolni in hospitalizirani bolniki z resnimi osnovnimi boleznimi. Glavni razlogi za povečanje števila glivičnih okužb so vse večja populacija bolnikov z večjim tveganjem za nastanek teh okužb. Glede na velike razlike v epidemioloških podatkih med posameznimi bolnišnicami in centri je pomembno, da zdravniki dobro poznajo svojo lokalno epidemiološko situacijo, saj so ti podatki ključni za najbolj učinkovito in smotrno načrtovanje zdravljenja.

Naša raziskava je prva epidemiološka raziskava kandidemij na slovenskem oziroma natančneje na ljubljanskem področju in je pomembna predvsem zato, ker se s podatki, ki smo jih pridobili z njo lahko primerjamo s podatki iz drugih podobnih raziskav. V časovnem obdobju, ki ga je zajemala naša raziskava, to je od leta 2000 do 2007 se je incidenca v UKC gibala med 0,14 - 0,76 na 10.000 bolnišničnih dni. Incidenca na OI se je v istem časovnem obdobju gibala med 0,00 - 1,27 na 10.000 bolnišničnih dni. Incidenca je začela močnejše naraščati po letu 2004 in kaže naraščajoči trend. Iz podatkov je razvidno, da je incidenca primerljiva in v nekaterih primerih celo večja od s tistih iz drugih evropskih bolnišnic in centrov.

Kljub številnim oportunističnim glivam, so vrste iz rodu *Candida* še vedno najpomembnejši povzročitelji oportunističnih glivičnih okužb. Iz naših podatkov je razvidno, da se v proučevanih letih spekter ni bistveno spreminjal. Iz celokupnih podatkov smo ugotovili, da predstavlja *C. albicans* približno 60% delež, sledi ji *C. glabrata*, ki predstavlja nekoliko večji delež, kot je povprečje v evropskih državah. Giblje se okoli 20%. Na tretjem mestu je *C. parapsilosis*, ki predstavlja približno 8,5% delež, sledi ji *C. tropicalis* s 5%, ostale vrste so zastopane v nižjem deležu. Podobno kot v drugih raziskavah smo tudi mi ugotovili, da pri mlajših starostnih skupinah prevladuje *C. albicans*, s starostjo pa začne naraščati delež vrste *C. glabrata*. V našem primeru je dosegel 22,5% delež pri bolnikih nad 65 let in 19,1% pri mlajših od 65 let. Obratno velja za vrsto *C. parapsilosis*, ki je značilnejša za mlajše starostno obdobje. Pri nas je bil delež te vrste pri mlajših od 65 let 11,7% in 6,2% za starejše od 65 let. Za odločitev v zvezi z uvedbo

empiričnega zdravljenja je za zdravnike pomemben podatek, da je delež *C. glabrata* izredno visok pri bolnikih v enotah za intenzivno terapijo (44,4%) in pri bolnikih na OI (38,1%).

V naši raziskavi smo potrdili visoko občutljivost izolatov *C. albicans* za vse testirane antimikotike. Občutljivost za flukonazol, ki je eno od izbirnih zdravil za empirično zdravljenje je praktično 100%. Delež *C. krusei*, ki je naravno odporna na flukonazol ostaja nizek. Občutljivost teh izolatov je dobra za kaspofungin in vorikonazol. Tudi občutljivost ostalih izolatov z izjemo *C. glabrata* ostaja stabilna in zelo visoka. Iz naših podatkov smo ugotovili, da je le 18,2% izolatov občutljivih na flukonazol. Pri tej vrsti, podobno kot drugi avtorji ugotavljamo navzkrižno odpornost proti drugim azolom, v našem primeru proti vorikonazolu. Občutljivost *C. glabrata* za kaspofungin, ki je zdravilo izbora za tovrstne okužbe pa ostaja visoka.

Kandidemija je bila pogosto povezana s kirurškimi posegi (46,3%), kroničnimi boleznimi (40,1%) in malignimi obolenji (35,4%). Med najpomembnejše dejavnike tveganja smo opredelili bivanje v enotah za intenzivno terapijo, prejemanje večtirne antibiotične terapije, žilni katetri, parenteralna prehrana, sepsa, prejemanje kortikosteroidov in kronična ledvična odpoved. Najpogostejši vir okužbe so prebavila, na drugem mestu pa žilni katetri. Celokupna umrljivost po 30 dneh je za našo skupino bolnikov 56,4%, kar je primerljivo z ostalimi študijami narejenimi na področju Evrope.

7 VIRI

- Agvald-Ohman C., Klingspor L., Hjelmqvist H., Edlund C. 2008. Invasive candidiasis in long-term patients at a multidisciplinary intensive care unit: *Candida* colonization index, risk factors, treatment and outcome. *Scandinavian Journal of Infectious Diseases*, 40, 2: 145-153
- Banerjee S.N., Emori T.G., Culver D.H., Gaynes R.P., Jarvis W.R., Horan T. 1991. Secular trends in nosocomial primary bloodstream infections in the United States. *American Journal of Medicine*, 91, Suppl 3B: S86-S89
- Bassetti M., Trecarichi E.M., Righi E., Sanguinetti M., Bisio F., Posteraro B., Soro O., Cauda R., Viscoli C., Tumbarello M. 2007. Incidence, risk factors, and predictors of outcome of candidemia. Survey in 2 Italian university hospitals. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 58, 3: 325-331
- Beck-Sague C.M., Jarvis T.R. 1993. Secular trends in the epidemiology of nosocomial fungal infections in the United States. *Journal of Infectious Diseases*, 167, 5: 1247-1251
- Beović B., Lejko-Zupanc T. 2004. Novosti v zdravljenju glivičnih okužb. *Medicinski razgledi*, 43, 2: 83-96
- Blaschke-Hellmessen R. 1998. Vertical transmission of *Candida* and its consequences. *Mycoses*, 41, Suppl 2: S31-S36
- Bow E.J., Laverdiere M., Lussier N., Rotstein C., Cheang M.S., Ioannou S. 2002. Antifungal prophylaxis for severely neutropenic chemotherapy recipients: a meta analysis of randomized-controlled clinical trials. *Cancer*, 94, 12: 3230-3246
- Branchini M.L., Pfaller M.A., Rhine-Chalberg J., Frempong T., Isenberg H.D. 1994. Genotypic variation and slime production among blood and catheter isolates of *Candida parapsilosis*. *Journal of Clinical Microbiology*, 32, 2: 452-456

Chavez M., Bernal S., Valverde A., Gutierrez M.J., Quindos G., Mazuelos E.M. 1999. *In-vitro* activity of voriconazole (UK-109,496), LY303366 and other antifungal agents against oral *Candida* spp. isolates from HIV-infected patients. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 44, 5: 697-700

Chiarini A., Palmeri A., Amato T., Immordino R., Distefano S., Giammanco A. 2008. Detection of bacteria and yeast species by the BACTEC 9120 automated system with the routine use of aerobic, anaerobic, and fungal media. *Journal of Clinical Microbiology*, 46, 12: 4029-4033

Christina's home remedies yeast infection. 2007. Montreal, Christinas-Home-remedies.com, Tucows inc.

<http://www.christinas-home-remedies.com/image-files/candida-albicans-picture1.jpg>

(maj 2009): 1-1

Clark T.A., Slavinski S.A., Morgan J., Lott T., Arthington-Skaggs B.A., Brandt M.E., Webb R.M., Currier M., Flowers R.H., Fridkin S.K., Hajjeh R.A. 2004. Epidemiologic and molecular characterization of an outbreak of *Candida parapsilosis* bloodstream infections in a community hospital. *Journal of Clinical Microbiology*, 42, 10: 4468-4472

De Pauw B., Walsh T.J., Donnelly J.P., Stevens D.A., Edwards J.E., Calandra T., Pappas P.G., Maertens J., Lortholary O., Kauffman C.A., Denning D.W., Patterson T.F., Maschmeyer G., Bille J., Dismukes W.E., Herbrecht R., Hope W.W., Kibbler C.C., Kullberg B.J., Marr K.A., Muñoz P., Odds F.C., Perfect J.R., Restrepo A., Ruhnke M., Segal B.H., Sobel J.D., Sorrell T.C., Viscoli C., Wingard J.R., Zaoutis T., Bennett J.E., European Organization for Research and Treatment of Cancer/Invasive Fungal Infections Cooperative Group, National Institute of Allergy and Infectious Diseases Mycoses Study Group (EORTC/MSG) Consensus Group. 2008. Revised definitions of invasive fungal disease from the European organization for research and treatment of cancer/Invasive Fungal infections cooperative group and the National Institute of allergy and infectious diseases Mycoses study group (EORTC/MSG) consensus group. *Clinical Infectious Diseases*, 46, 12: 1813-1821

- Diekema D.J., Pfaller M.A.. 2004. Nosocomial candidemia: an ounce of prevention is better than a pound of cure. *Infection Control and Hospital Epidemiology*, 25, 8: 624-626
- Edmond M.B., Wallace S.E., McClish D.K., Pfaller M.A., Jones R.N., Wenzel R.P. 1999. Nosocomial bloodstream infections in United States hospitals: a three-year analysis. *Clinical Infectious Diseases*, 29, 2: 239-244
- Ellepola A.N., Morrison C.J. 2005. Laboratory diagnosis of invasive candidiasis. *Journal of Microbiology*, 43: 65-84
- Edwards J.E. 2005. *Candida* species. V: Mandell, Douglas, and Bennett's principles and practice of infectious diseases. 6th ed. Mandell G.C., Bennet J.E., Dolin R., Douglas R.G. (eds.). New York, Elsevier/Churchill Livingstone: 2938-2957
- Fidel P.L., Vazquez J.A., Sobel J.D. 1999. *Candida glabrata*: Review of epidemiology, pathogenesis, and clinical disease with comparison to *C.albicans*. *Clinical Microbiology Reviews*, 12, 1: 80-96
- Fowler S.L., Rhoton B., Springer S.C., Messer S.A., Hollis R.J., Pfaller M.A. 1998. Evidence for person-to-person transmission of *Candida lusitanae* in a neonatal intensive-care unit. *Infection Control and Hospital Epidemiology*, 19, 5: 343-345
- Fricker-Hidalgo H., Lebeau B., Pelloux H., Grillot R. 2004. Use of the BACTEC 9240 system with Mycosis-IC/F blood culture bottles for detection of fungemia. *Journal of Clinical Microbiology*, 42, 4: 1855-1856
- Fricker-Hidalgo H., Vandapel O., Duchesne M.A., Mazoyer M.A., Monget D., Lardy B., Lebeau B., Freney J., Ambroise-Thomas P., Grillot R. 1996. Comparison of the new API Candida system to the ID 32C system for identification of clinically important yeast species. *Journal of Clinical Microbiology*, 34, 7: 1846-1848

Frilabo. 2006. CHROMagar™ Candida. Porto, Frilabo.

<http://www.frilabo.pt/fcms/images/stories/Candida.jpg> (maj 2009): 1-1

Ghannoum M.A., Rice L.B. 1999. Antifungal agents: mode of action, mechanisms of resistance, and correlation of these mechanisms with bacterial resistance. *Clinical Microbiology Reviews*, 12, 4: 501-517

Garbino J., Kolarova L., Rohner P., Lew D., Pichna P., Pittet D. 2002. Secular trends of candidemia over 12 years in adult patients at a tertiary care hospital. *Medicine*, 81, 6: 425-433

Hachem R., Hanna H., Kontoyiannis D., Jiang Y., Raad I. 2008. The changing epidemiology of invasive candidiasis: *Candida glabrata* and *Candida krusei* as the leading causes of candidemia in hematologic malignancy. *Cancer*, 112, 11: 2493-2499

Hajjeh R.A., Sofair A.N., Harrison L.H., Marshal Lyon G., Arthington-Skaggs B.A., Mirza S.A., Phelan M., Morgan J., Lee-Yang W., Ciblak M.A., Benjamin L.E., Thomson Sanza L., Huie S., Fah Yeo H., Brandt M.E., Warnock D.W. 2004. Incidence of bloodstream infections due to *Candida* species and in vitro susceptibilities of isolates collected from 1998 to 2000 in a population-based active surveillance program. *Journal of Clinical Microbiology*, 42, 4: 1519-1527

Hazen K.C., Howell S.A. 2007. *Candida*, *Cryptococcus* and other yeasts of medical importance. V: Manual of clinical microbiology. 9th ed. Murray P.R. (ed.). Washington, D.C., ASM Press: 1762-1787

Horvath L.L., George B.J., Murray C.K., Harrison L.S., Hospenthal D.R. 2004. Direct comparison of the BACTEC 9240 and BacT/ALERT 3D automated blood culture systems for *Candida* growth detection. *Journal of Clinical Microbiology*, 42, 1: 115-118

Jones J.M. 1990. Laboratory diagnosis of invasive candidiasis. *Clinical Microbiology Reviews*, 3, 1: 32-45

- Lagrou K., Verhaegen J., Peetermans W.E., De Rijdt T., Maertens J., Van Wijngaerden E. 2007. Fungemia at a tertiary care hospital: incidence, therapy, and distribution and antifungal susceptibility of causative species. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 26, 8: 541-547
- Marchetti O., Bille J., Fluckiger U., Eggimann P., Ruef C., Garbino J., Calandra T., Glauser M.P., Täuber M.G., Pittet D. 2004. Epidemiology of candidemia in Swiss tertiary care hospitals: secular trends, 1991-2000. *Clinical Infectious Diseases*, 38, 3: 311-320
- Matos T. 2002. Oportunistične glive. V: *Medicinska bakteriologija z imunologijo in mikologijo*. Gubina M., Ihan A. (ur.). Ljubljana, Medicinski razgledi: 481-499
- Matos T., Beović B. 2001. Odpornost na protiglivična zdravila. *Medicinski razgledi*, 40, 2: 65-72
- Matos T. 2003. Glivična sepsa - nove diagnostične metode V: *Bedjaničev simpozij z mednarodno udeležbo o temi Sepsa in septični šok*. Maribor, 30. in 31. maja 2003. Reberšek Gorišek J., Baklan Z., Kotnik-Kevorkian B. (ur.). Maribor, Splošna bolnišnica: 195-205
- Mayser P. 1999. Mycotic infections of the penis. *Andrologia*, 31, Suppl 1: S13-S16
- Meyer M.H., Letscher-Bru V., Jaulhac B., Waller J., Candolfi E. 2004. Comparison of Mycosis IC/F and Plus Aerobic/F media for diagnosis of fungemia by the BACTEC 9240 system. *Journal of Clinical Microbiology*, 42, 2: 773-777
- Morrell M., Fraser V.J., Kollef M.H. 2005. Delaying the empiric treatment of *Candida* bloodstream infection until positive blood culture results are obtained: a potential risk factor for hospital mortality. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 49, 9: 3640-3645

Onishi J., Meinz M., Thompson J., Curotto J., Dreikorn S., Rosenbach M., Douglas C., Abruzzo G., Flattery A., Kong L., Cabello A., Vicente F., Pelaez F., Diez M.T., Martin I., Bills G., Giacobbe R., Dombrowski A., Schwartz R., Morris S., Harris G., Tsipouras A., Wilson K., Kurtz M.B. 2000. Discovery of novel antifungal (1,3)-beta-D-glucan synthase inhibitors. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 44, 2: 368-377

Ostrosky-Zeichner L. 2004. Prophylaxis or preemptive therapy of invasive candidiasis in the intensive care unit? *Critical Care Medicine*, 32, 12: 2552-2553

Pappas P.G., Kauffman C.A., Andes D., Benjamin D.K., Calandra T.F., Edwards J.E., Filler S.G., Fisher J.F., Kullberg B.J., Ostrosky-Zeichner L., Reboli A.C., Rex J.H., Walsh T.J., Sobel J.D. 2009. Clinical practice guidelines for the management of candidiasis: 2009 update by the Infectious Diseases Society of America. *Clinical Infectious Diseases*, 48, 5: 503-535

Pappas P.G., Rex J.H., Sobel J.D., Filler S.G., Dismukes W.E., Walsh T.J., Edwards J.E. 2004. Guidelines for treatment of candidiasis. *Clinical Infectious Diseases*, 38, 2: 161-189

Pfaller M.A. 1996. Nosocomial candidiasis: Emerging species, reservoirs, and modes of transmission. *Clinical Infectious Diseases*, 22, Suppl 2: S89-S94

Pfaller M.A., Bale M., Buschelman B., Lancaster M., Espinel-Ingroff A., Rex J.H., Rinaldi M.G. 1994. Selection of candidate quality control isolates and tentative quality control ranges for in vitro susceptibility testing of yeast isolates by National Committee for Clinical Laboratory Standards proposed standards methods. *Journal of Clinical Microbiology*, 32, 7: 1650-1653

Pfaller M.A., Diekema D.J. 2007. Epidemiology of invasive candidiasis: a persistent public health problem. *Clinical Microbiology Reviews*, 20, 1: 133-163

Pfaller M.A., Diekema D.J., Rinaldi M.G., Barnes R., Hu B., Veselov A.V., Tiraboschi N., Nagy E., Gibbs D.L. 2005. Results from the ARTEMIS DISK Global Antifungal Surveillance Study: a 6.5-year analysis of susceptibilities of *Candida* and other yeast species to fluconazole and voriconazole by standardized disk diffusion testing. *Journal of Clinical Microbiology*, 43, 12: 5848-5859

Poikonen E., Lyytikäinen O., Anttila V.J., Ruutu P. 2003. Candidemia in Finland, 1995-1999. *Emerging Infectious Diseases*, 9, 8: 985-990

Ramani R., Gromadzki S., Pincus D.H., Salkin I.F., Chaturvedi V. 1998. Efficacy of API 20C and ID 32C systems for identification of common and rare clinical yeast isolates. *Journal of Clinical Microbiology*, 36, 11: 3396-3398

Richardson M.D., Warnock D.W. 2003. *Fungal infection: diagnosis and management*. 3rd ed. Oxford, Blackwell Publishing: 366 str.

Sewell D.L., Pfaller M.A., Barry A.L. 1994. Comparison of broth macrodilution, broth microdilution, and E test antifungal susceptibility tests for fluconazole. *Journal of Clinical Microbiology*, 32, 9: 2099-2102

Sheehan D.J., Hitchcock C.A., Sibley C.M. 1999. Current and emerging azole antifungal agents. *Clinical Microbiology Reviews*, 12, 1: 40-79

Shepard J.R., Addison R.M., Alexander B.D., Della-Latta P., Gherna M., Haase G., Hall G., Johnson J.K., Merz W.G., Peltroche-Llacsahuanga H., Stender H., Venezia R.A., Wilson D., Procop G.W., Wu F., Fiandaca M.J. 2008. Multicenter evaluation of the *Candida albicans/Candida glabrata* peptide nucleic acid fluorescent in situ hybridization method for simultaneous dual-color identification of *C. albicans* and *C. glabrata* directly from blood culture bottles. *Journal of Clinical Microbiology*, 46, 1: 50-55

Sinnott J.T., Cullison J.P., Sweeney M.P. 1987. *Candida (Torulopsis) glabrata*. Infection Control and Hospital Epidemiology, 8, 8: 334-336

Snydman D.R. 2003. Shifting patterns in the epidemiology of nosocomial candida infections. Chest, 123, Suppl 5: S500-S503

Sofair A.N., Lyon G.M., Huie-White S., Reiss E., Harrison L.H., Sanza L.T., Arthington-Skaggs B.A., Fridkin S.K. 2006. Epidemiology of community-onset candidemia in Connecticut and Maryland. Clinical Infectious Diseases, 43, 1: 32-39

Spellberg B.J., Filler S.G., Edwards J.E. 2006. Current treatment strategies for disseminated candidiasis. Clinical Infectious Diseases, 42, 2: 244-251

Tortorano A.M., Kibbler C., Peman J., Bernhardt H., Klingspor L., Grillot R. 2006. Candidaemia in Europe: epidemiology and resistance. International Journal of Antimicrobial Agents, 27, 5: 359-366

UHSM. 2008. Etest. Manchester, UHSM-University Hospital of South Manchester.

<http://www.smtr.nhs.uk/services/F/FungalDiseases/AspergillosisCentre/PublishingImages/vorisensitiveEtest.jpg> (maj 2009): 1-1

Voss A., Kluytmans J.A., Koeleman J.G., Spanjaard L., Vandenbroucke-Grauls C.M., Verbrugh H.A., Vos M.C., Weersink A.Y., Hoogkamp-Korstanje J.A., Meis J.F. 1996. Occurrence of yeast bloodstream infections between 1987 and 1995 in five Dutch university hospitals. European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, 15, 12: 909-912

Walsh T.J., Pappas P., Winston D.J., Lazarus H.M., Petersen F., Raffalli J., Yanovich S., Stiff P., Greenberg R., Donowitz G., Schuster M., Reboli A., Wingard J., Arndt C., Reinhardt J., Hadley S., Finberg R., Laverdiere M., Perfect J., Garber G., Fioritoni G., Anaissie E., Lee J. 2002. Voriconazole compared with liposomal amphotericin B for

empirical antifungal therapy in patients with neutropenia and persistent fever. *New England Journal of Medicine*, 346, 4: 225-234

White M.H. 1997. The contribution of fluconazole to the changing epidemiology of invasive candidal infections. *Clinical Infectious Diseases*, 24, 6: 1129-1130

ZAHVALA

Iskreno se zahvaljujem mentorici prof. Katji Seme za sprejeto mentorstvo in potrpežljivost pri izdelavi diplomske naloge.

Posebej se zahvaljujem somentorici asist. Dr. Tadeji Matos za nesebično in dosledno pomoč, ter svetovanju pri izdelavi diplomske naloge.

Zahvaljujem se tudi prof. Alojz Ihanu za recenzijo diplomske naloge.

Zahvala gre tudi vsem zaposlenim v Laboratoriju za diagnostiko glivičnih okužb, za strokovno pomoč pri praktičnem laboratorijskem delu.

Zahvaljujem se tudi svojima staršema in prijateljem za vso podporo.

PRILOGE

Priloga A: Protokol bolnikov s pozitivnimi hemokulturami

1) OSNOVNI PODATKI:

BOLNIK	VZOREC
Ime in Priimek:	Protokolna številka:
Rojstni podatki:	Bactec/BactAlert
	Število odvzetih stekl.
	Bolnišnica/OI:
Datum sprejema v bolnišnico:	Datum sprejema vzorca:

2) STANJE BOLNIKA:

Diagnoze:

- | | |
|-------------------------------------|---------------------------------------|
| a) kronične bolezni pljuč (KOPB,CF) | h) transplantacija: hematološki _____ |
| b) diabetes | i) HIV/AIDS |
| c) jetrna ciroza | j) neonatus/prematurus |
| d) malignomi: solidni _____ | k) etilizem |
| e) malignomi: hematološki _____ | l) politravma |
| f) revmatološka obolenja | m) drugo: _____ |
| g) transplantacija: solidni _____ | |

3) DEJAVNIKI TVEGANJA ZA INVAZIVNE GLIVIČNE OKUŽBE:

- | | |
|----------------------------------------------|-----------------------------------|
| a) prisotnost IV linij (centralne/periferne) | j) predhodni kirurški posegi: |
| b) sprejem EIT | kdaj _____; kaj _____ |
| c) parenteralna prehrana | k) KLO; dializa |
| d) zdravljenje z več antibiotiki >14d | l) IVDU |
| e) zdravljenje s kortikosteroidi | m) sepsa |
| f) kemoterapija za rakava obolenja: | n) virusna okužba CMV |
| g) imunosupresija ob tx (organ: _____) | o) opekline |
| h) GVHD | p) bolezni GIT |
| i) nevtropenija | q) predhodna kolonizacija sluznic |

4) LABORATORIJSKI IZVIDI:

- | | |
|----------------------------------------|---------------|
| a) bela krvna slika/nevtrofilci: _____ | c) CRP: _____ |
| b) antigeni test candida AG | d) PTC: _____ |

5) ANTIMIKOTIKI:

- a) protiglivična profilaksa (trajanje in vrsta): _____
 b) predhodno zdravljenje (trajanje in vrsta): _____

6) IZOLAT:

- a) HK druga mesta (iv katetri, port, ipd)
 b) sečila
 c) blato
 d) drugo

7) PREDHODNI IZOLATI GLIV (& protokolne številke):

- a) mesta:
 b) izolat:
 c) predhodna izolacija sluznic (opisno):

8) VERJETEN VIR OKUŽBE:

- a) IV kateter
 b) sečila
 c) GIT
 d) dihala
 e) drugo: _____

9) ZDRAVLJENJE IN UKREPI:

- a) uvedena terapija: _____; dan uvedbe th (po +HK): _____
 b) menjava terapije: _____; vzrok menjave: _____
 c) trajanje terapije: _____
 d) menjava katetrov: DA NE NP

10) ZAPLETI GLIVIČNE OKUŽBE:

- a) endokarditis
 b) endoftalmitis
 c) možganski abscesi
 d) drugo: _____

11) IZID:

- a) preživetje po 30 dneh: DA NE NP
 b) smrt: DA NE NP (vzrok smrti: glivična okužba/ osnovna bolezen/ drugo)