

Strokovni prispevek/Professional article

OBČUTLJIVOST GLIV KVASOVK, OSAMLJENIH IZ NADZORNIH KUŽNIN BOLNIKOV S HEMATOLOŠKIMI MALIGNIMI BOLEZNIMI V OBDOBJU 1992–2005

SENSITIVITY OF YEAST ISOLATED FROM SURVEILLANCE SPECIMENS IN PATIENT WITH HAEMATOLOGICAL MALIGNANCIES IN YEAR 1992–2005

Tadeja Matos,¹ Samo Zver,² Katja Seme,¹ Milan Čižman,³ Janez Ravnik⁴

¹ Inštitut za mikrobiologijo in imunologijo, Medicinska fakulteta Ljubljana, Zaloška 4, 1000 Ljubljana

² Klinični oddelek za hematologijo, Univerzitetni klinični center Ljubljana, Zaloška 7, 1525 Ljubljana

³ Infekcijska klinika, Univerzitetni klinični center Ljubljana, Japljeva 2, 1525 Ljubljana

⁴ Klinični oddelek za nevrokirurgijo, Univerzitetni klinični center Ljubljana, Zaloška 7, 1525 Ljubljana

Izvleček

- Izhodišča** *Kvasovke rodu Candida so med najpogostejšimi povzročitelji oportunističnih okužb. V zadnjih desetletjih narašča incidenca glivičnih okužb, z njimi pa tudi poraba protiglivičnih zdravil. V naši raziskavi smo primerjali občutljivosti izolatov kvasovk Candida albicans in Candida glabrata iz obdobj 1992–1996 in 2003–2005. Namen je bil ugotoviti, ali se je občutljivost kvasovk spremenila zaradi povečane uporabe antimikotikov.*
- Metode** *Vsi izolati kvasovk, vključenih v raziskavo, so bili osamljeni iz nadzornih kužnin bolnikov, hospitaliziranih na Kliničnem oddelku za hematologijo Univerzitetnega kliničnega centra v Ljubljani. Pri vseh izolatih kvasovk smo testirali občutljivost za antimikotike z metodo difuzije antimikotičnega gradienta (E-test) in za vsak izolat posebej določili minimalno inhibicijsko koncentracijo (MIK) antimikotika. Testirali smo občutljivost izolatov kvasovk za flukonazol, vorikonazol, itrakonazol in amfotericin B. Za statistično primerjavo MIK iz obeh obdobj smo uporabili Mann-Whitney U-test.*
- Rezultati** *Statistična primerjava MIK je pokazala, da je bila občutljivost kvasovk za antimikotike v splošnem manjša v obdobju 1992–1996 kot v obdobju 2003–2005. Pri C. albicans so bile MIK vseh antimikotikov višje v obdobju 1992–1996. Pri C. glabrati smo ugotovili razlike v MIK itrakonazola in vorikonazola. MIK itrakonazola so bile višje v obdobju 1992–1996, MIK vorikonazola pa so bile višje v obdobju 2003–2005. Statistično pomembnih razlik MIK flukonazola in amfotericina B med obdobjema nismo ugotovili. Ugotavljali smo tudi morebitni vpliv profilaktičnega zdravljenja na MIK antimikotikov. Pri C. albicans smo za flukonazol in amfotericin B ugotovili statistično značilno višje vrednosti MIK. Zaradi majhnega števila izolatov C. glabrata vpliva profilakse na MIK nismo potrdili.*
- Zaključki** *Z rezultati naloge smo ovrgli hipotezo o zmanjšanju občutljivosti kvasovk za antimikotike zaradi povečane uporabe antimikotikov v zadnjih desetletjih. MIK so bile statistično značilno višje v skupini bolnikov, ki so prejeli profilakso, kar kaže na vpliv antimikotičnega profilaktičnega zdravljenja.*
- Ključne besede** *občutljivost gliv za antimikotike; flukonazol; itrakonazol; vorikonazol; amfotericin B*

Avtorica za dopisovanje / Corresponding author:

Asist. dr. Tadeja Matos, dr. med., Inštitut za mikrobiologijo in imunologijo, Medicinska fakulteta Ljubljana, Zaloška 4, 1000 Ljubljana, tel.: 01-543-74-22, e-mail: tadeja.matos@mf.uni-lj.si

Abstract

- Background** *Yeasts of the genus Candida are among the most frequent causative agents of opportunistic infections. In the last decades, the increased incidence of fungal infections led to increased consumption of antifungal agents. Our study compared the sensitivity of Candida albicans and Candida glabrata isolated in two time periods 1992–1996 and 2003–2005. The aim of our study was to determine whether the sensitivity of yeasts changed due to increased consumption of antifungal agents.*
- Methods** *All isolates were isolated from surveillance specimens of patients, hospitalized in the Department of Hematology, University Clinical Center Ljubljana. In all yeast isolates minimal inhibitory concentrations (MIC) of fluconazole, voriconazole, itraconazole and amphotericin B were determined using the E-test. Mann-Whitney's U test was used for statistical analysis.*
- Results** *Statistical comparison generally indicated lower antifungal drug sensitivity of yeasts in years 1992–1996, in comparison to the period 2003–2005. MICs of all tested antifungal agents in C. albicans isolates were higher in years 1992–1996. Differences in MICs of itraconazole and voriconazole were observed in C. glabrata isolates. MICs of itraconazole were higher in years 1992–1996 and MICs of voriconazole were higher in years 2003–2005. However, no statistically significant differences in MICs of fluconazole and amphotericin B were observed. We have also studied the influence of antifungal prophylactic therapy on MICs of antifungal agents. For C. albicans the influence was shown for fluconazole and amphotericin B, while we could not show any influence for C. glabrata, most probably due to low number of isolates.*
- Conclusions** *According to the results of our study, the hypothesis about decreased sensitivity of yeasts due to increased consumption of antifungal agents in the last decades was rejected.*
- Key words** *sensitivity of yeasts; fluconazole; itraconazole; voriconazole; amphotericin B*

Uvod

Bolniki s hematološkimi malignimi boleznimi pogosto zbolevalo za glivičnimi okužbami.¹ Uporaba bolj agresivnih oblik kemoterapije vodi do daljših obdobjev nevtropenije. Spremlja jih poškodba sluznic. Ti bolniki pogosto prejemajo glukokortikoide in širokospektralno antibiotično zdravljenje, kar vse prispeva k večjemu tveganju za nastanek glivičnih okužb in k njihovi večji incidenci.^{2–4} Najpogostejši povzročitelji glivičnih okužb pri teh bolnikih so glive iz rodu *Candida*. Kljub novim učinkovitejšim antimikotikom je smrtnost zaradi teh okužb še vedno visoka.^{5–7}

Profilaksa s flukonazolom zmanjša tveganje za pojavljanje in hkrati zmanjša smrtnost zaradi glivičnih okužb bolnikov, ki se zdravijo s presaditvijo krvotvornih matičnih celic in tistih s prolongirano nevtropenijo.^{8–10} Znano je, da je ob povečani uporabi flukonazola prišlo do sprememb v spektru povzročiteljev v korist vrst ne-*albicans* *Candida*, ki so bodisi naravno odporne ali hitreje razvijejo odpornost na flukonazol in ostale azole.^{11,12}

Na Kliničnem oddelku za hematologijo (KOH) Univerzitetnega kliničnega centra (UKC) v Ljubljani se uporablja protiglivična profilaksa od začetka 90. let, ko je bilo glavno profilaktično zdravilo ketokonazol. Konec leta 1994 ga je začel zamenjevati bolj učinkovit in predvsem manj toksičen flukonazol.

Namen raziskave je bil ugotoviti, ali je v obdobjih 1992–1996 in 2003–2005 ob različnih shemah profilaktičnega zdravljenja prišlo do sprememb v občutljivosti izolatov kvasovk *Candida albicans* in *Candida glabrata* za flukonazol, itraconazol, amfotericin B in vorikonazol. Pričakovali smo, da se je minimalna inhibicijska koncentracija (MIK) testiranih antimikotikov povečala zaradi povečane uporabe antimikotikov.

Materiali in metode

Večino izolatov kvasovk *C. albicans* in *C. glabrata* smo osamili iz nadzornih kužnin bolnikov (bris žrela, blato in bris črevesa), ki so se zdravili zaradi hematoloških malignih bolezni na KOH UKC v Ljubljani. Posamezni izolati so bili osamljeni tudi iz drugih kužnin iste skupine bolnikov. Izolate iz prvega proučevanega obdobja, to je od 1992–1996, smo pridobili iz stalnih gojišč, medtem ko smo za obdobje 2003–2005 v raziskavo deloma vključili podatke o občutljivosti izolatov iz arhiva Laboratorija za diagnostiko glivičnih okužb Inštituta za mikrobiologijo in imunologijo v Ljubljani, deloma pa smo izolate zbirali in testirali prospektivno. Podatke o vrsti profilaktičnega zdravljenja bolnikov smo dobili na KOH. Izpis podatkov je vključeval podatke o vrsti in trajanju profilakse pred odvzemom kužnine, iz katere je bil osamljen izolat kvasovke.

Iz stalnih gojišč, nacepljenih v obdobju 1992–1996, smo poskušali oživiti kvasovki *C. albicans* in *C. glabrata*. S sterilnim brisom smo iz stalnega gojišča prenesli kulturo v tioglikolatni bujon (Scythes in sod., 1996). Nacepljena gojišča smo inkubirali pri 36 °C. Po 72-urni inkubaciji smo kulturo iz gojišča precepili na gojišče po Sabouraudu, gojišča brez rasti pa smo zavrgli. Nacepljene petrijevke s SABA (gojišče po Sabouraudu) smo inkubirali pri 36 °C vsaj 72 ur. Identifikacijo izolatov *C. albicans* in *C. glabrata* smo potrdili z barvo kolonij na kromogenem gojišču (CHROMagar Candida, Becton Dickinson, Heidelberg, Nemčija) in opazovanju mikroskopskih morfoloških struktur na koruznem agarju, pripravljenem na inštitutu. Po potrditvi identifikacije izolatov smo kulturo iz kromogenega gojišča cepili na gojišče po Sabouraudu in jo inkubirali 24 ur pri 36 °C. Testiranje občutljivosti za antimikotike smo izvedli z metodo difuzije antimikotičnega gradienta, E-test (AB Biodisk, Solna, Švedska) po navodilih proizvajalca. Pri interpretaciji vrednosti MIK smo upoštevali mejne vrednosti, ki jih predpisuje ameriški CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute).^{13,14}

Informacijski center Kliničnega centra nam je posredoval porabo v številu škatel ali kosov za protiglivične učinkovine, ki se uporabljajo sistemsko, to je parenteralno ali per os (skupina J02). Za izračun porabe smo uporabljali anatomsko terapevtsko kemično

(angl. Anatomic Therapeutic Chemical – ATC) klasifikacijo in porabo izrazili v definiranih dnevni odmerkih (DDD) na 100 bolnišnično oskrbnih dni. Pri izračunu smo uporabljali zadnjo verzijo priporočil Svetovne zdravstvene organizacije.¹⁵

Za statistično primerjavo občutljivosti obeh skupin smo uporabili Mann-Whitneyev U-test. Za mejo statistične pomembnosti je bila določena p-vrednost 0,05.

Rezultati

Primerjava MIK izolatov *C. albicans* in *C. glabrata*, osamljenih v obdobjih 1992–1996 in 2003–2005

Testirali smo občutljivost izolatov *C. albicans* in *C. glabrata* za štiri antimikotike: flukonazol, vorikonazol, itrakonazol in amfotericin B. Primerjali smo MIK teh antimikotikov za izolate, osamljene v obdobju 1992–1996, z MIK teh antimikotikov za izolate, ki so bili osamljeni v obdobju 2003–2005. Izolati iz obdobja 1992–1996 so bili osamljeni pri 82 bolnikih, iz obdobja 2003–2005 pa pri 134 bolnikih. Vrsto in trajanje profilaktičnega zdravljenja bolnikov prikazuje Razpredelnica 1.

Iz prvega obdobja je bilo testiranih 57 in iz drugega obdobja 89–138 izolatov *C. albicans*. Statistična analiza je pokazala, da se MIK testiranih antimikotikov

Razpr. 1. Vrsta in trajanje profilaktičnega zdravljenja pri bolnikih.

Table 1. Source and duration of the patients' prophylactic therapy.

Antimikotiki	1992–1996		2003–2005	
	% bolnikov	Trajanje profilaktičnega zdravljenja (dnevi)	% bolnikov	Trajanje profilaktičnega zdravljenja (dnevi)
Antifungal agents	% patients	Duration of the prophylactic therapy (in days)	% patients	Duration of the prophylactic therapy (in days)
	(n = 82)		(n = 134)	
Oronazol / Oronazole	56,1	1–95	0,0	/
Flukonazol / Fluconazole	38,1	2–74	39,5	1–70
Itrakonazol / Itraconazole	0,0	0,0	27,6	1–92
Vorikonazol / Voriconazole	0,0	0,0	11,2	1–78
Amfotericin B* / Amphotericin B*	34,1	1–59	17,1	1–26
Brez / Without	17,1	/	41,8	/

* Amfotericin B se je v obeh obdobjih uporabljal za zdravljenje in le izjemoma za profilakso.

* Amphotericin B was used in both periods for treatment and rarely for prophylactic treatment.

Razpr. 2. Primerjava MIK testiranih antimikotikov pri izolatih *C. albicans* iz obdobja 1992 do 1996 in 2003 do 2005.

Table 2. Comparison of MIC tested antifungal agents in *Candida albicans* isolates in periods 1992–1996 and 2003–2005.

<i>C. albicans</i>	Flukonazol Fluconazole	Vorikonazol Voriconazole	Itrakonazol Itraconazole	Amfotericin B Amphotericin B
1992–1996				
Štev. izolatov No. of isolates	57	57	57	57
MIK ₅₀ / MIC ₅₀	0,380	0,008	0,094	0,380
MIK ₉₀ / MIC ₉₀	1,500	0,032	0,250	0,500
Obm. konc. Concentration range	0,125–6,000	0,003–0,190	0,016–0,750	0,094–0,750
2003–2005				
Štev. izolatov No. of isolates	138	89	97	137
MIK ₅₀ / MIC ₅₀	0,190	0,006	0,023	0,250
MIK ₉₀ / MIC ₉₀	1,000	0,023	0,125	0,380
Obm. konc. Concentration range	0,023–64,000	0,002–0,380	0,003–1,000	0,008–0,750
p	0,000	0,005	0,000	0,000

pri izolatih *C. albicans* iz prvega in drugega obdobja značilno razlikujejo ($p < 0,05$). Za vse štiri testirane antimikotike se je izkazalo, da so bili presenetljivo, v obdobju 1992–1996 MIK testiranih antimikotikov višje kot pri izolatih, osamljenih v obdobju 2003–2005 (Razpr. 2).

Iz prvega obdobja je bilo testiranih 46 in iz drugega obdobja 32–51 izolatov *C. glabrata*. MIK flukonazola in amfotericina B se niso statistično pomembno razlikovale med obema obdobjema ($p \geq 0,05$), medtem ko sta bila občutljivostna profila vorikonazola in itraconazola med obdobjema različna. Ugotovili smo, da

Razpr. 3. Primerjava MIK testiranih antimikotikov pri izolatih *C. glabrata* iz obdobj 1992 do 1996 in 2003 do 2005.

Table 3. Comparison of MIC tested antifungal agents in *Candida glabrata* isolates in periods 1992–1996 and 2003–2005.

<i>C. glabrata</i>		Flukonazol Fluconazole	Vorikonazol Voriconazole	Itrakonazol Itraconazole	Amfotericin B Amphotericin B
1992–1996	Štev. izolatov No. of isolates	46	46	46	46
	MIK ₅₀ /MIC ₅₀	32,000	0,500	24,000	0,500
	MIK ₉₀ /MIC ₉₀	128,000	1,500	32,000	1,000
	Obm. konc. Concentration range	0,190–256,000	0,016–32,000	0,008–32,000	0,032–1,500
2003–2005	Štev. izolatov No. of isolates	51	32	37	51
	MIK ₅₀ /MIC ₅₀	32,000	1,000	1,000	0,750
	MIK ₉₀ /MIC ₉₀	256,000	32,000	32,000	1,000
	Obm. konc. Concentration range	1,500–256,000	0,064–32,000	0,250–32,000	0,047–4,000
p		0,464	0,006	0,001	0,162

Razpr. 4. Primerjava MIK testiranih antimikotikov pri izolatih *C. albicans*, osamljenih pri bolnikih s profilaktičnim zdravljenjem in brez njega.

Table 4. Comparison of MIC tested antifungal agents in *Candida albicans* isolated in patients with and without prophylactic therapy.

<i>C. albicans</i>		Flukonazol Fluconazole	Vorikonazol Voriconazole	Itrakonazol Itraconazole	Amfotericin B Amphotericin B
Profilaktično zdravljenje Prophylactic therapy	Štev. izolatov No. of isolates	120	87	100	120
	MIK ₅₀ /MIC ₅₀	0,250	0,008	0,032	0,250
	MIK ₉₀ /MIC ₉₀	1,000	0,047	0,190	0,500
	Obm. konc. Concentration range	0,023–64,000	0,002–0,380	0,003–0,750	0,064–0,750
Brez profilaktičnega zdravljenja Without prophylactic therapy	Štev. izolatov No. of isolates	75	59	54	74
	MIK ₅₀ /MIC ₅₀	0,190	0,008	0,047	0,250
	MIK ₉₀ /MIC ₉₀	1,000	0,032	0,250	0,500
	Obm. konc. Concentration range	0,047–16,000	0,004–0,190	0,006–0,500	0,008–0,750
p		0,036	0,593	0,168	0,027

Razpr. 5. Primerjava MIK testiranih antimikotikov pri izolatih *C. glabrata*, osamljenih pri bolnikih s profilaktičnim zdravljenjem in brez njega.

Table 5. Comparison of MIC tested antifungal agents in *Candida glabrata* isolated in patients with and without prophylactic therapy.

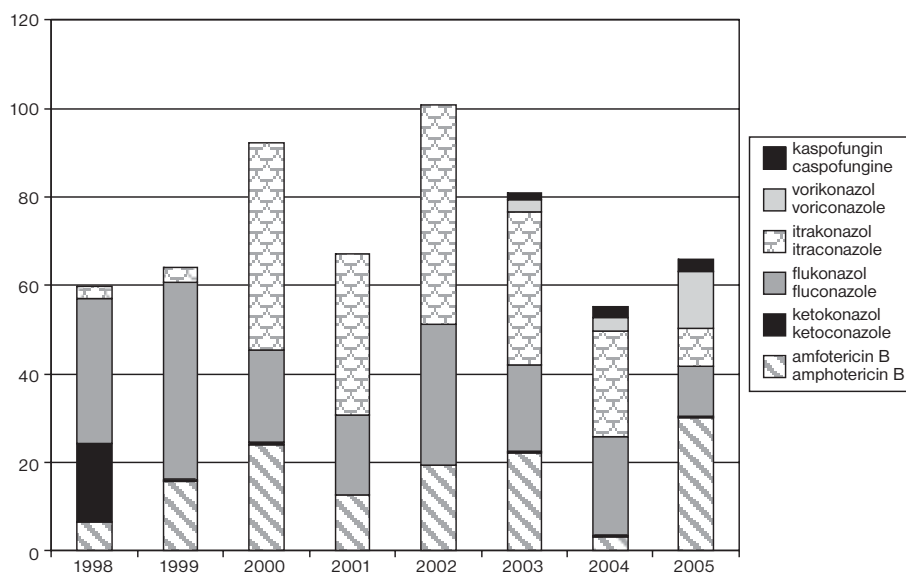
<i>C. glabrata</i>		Flukonazol Fluconazole	Vorikonazol Voriconazole	Itrakonazol Itraconazole	Amfotericin B Amphotericin B
Profilaktično zdravljenje Prophylactic therapy	Štev. izolatov No. of isolates	75	63	67	75
	MIK ₅₀ /MIC ₅₀	24,000	0,500	8,000	0,500
	MIK ₉₀ /MIC ₉₀	128,000	4,000	32,000	1,000
	Obm. konc. Concentration range	0,190–256,000	0,016–32,000	0,008–32,000	0,032–4,000
Brez profilaktičnega zdravljenja Without prophylactic therapy	Štev. izolatov No. of isolates	22	15	16	22
	MIK ₅₀ /MIC ₅₀	32	1	6	0,75
	MIK ₉₀ /MIC ₉₀	256	32	32	1
	Obm. konc. Concentration range	1,500–256,000	0,094–32,000	0,250–32,000	0,250–1,500
p		0,828	0,047	0,382	0,306

Razpr. 6 in Sl. 1. Poraba (DDD/100 bolnišnično oskrbnih dni) protiglivičnih zdravil na Kliničnem oddelku za hematologijo Univerzitetnega kliničnega centra v Ljubljani od 1. 1. 1998 do 31. 12. 2006.

Table 6 and Figure 1. Consumption (defined daily dose/100 patient days) of antifungal agents in Department of Haematology University Clinical Center in Ljubljana from January 1, 1998 to December 31, 2006.

Poraba na leto Consumption per year		AB	KET	FL	IT	VOR	CS
1998	59,77	6,40	17,83	32,75	2,78	0,00	0,00
1999	64,10	15,68	0,44	44,67	3,30	0,00	0,00
2000	91,45	23,96	0,44	21,00	46,94	0,00	0,00
2001	67,10	12,76	0,00	17,97	36,37	0,00	0,00
2002	100,95	19,46	0,00	31,53	49,96	0,00	0,00
2003	80,71	22,24	0,38	19,21	34,71	2,88	1,30
2004	55,37	2,97	0,31	22,51	23,88	3,05	2,65
2005	65,79	30,15	0,28	11,02	8,87	12,60	2,87

AB amfotericin B / amphotericin B, KET ketokonazol / aetokonazole, FL flukonazol / aluconazole, IT itrakonazol / atraconazole, VOR vorikonazol / aoriconazole, POS posakonazol / aosaconazole, CS kaspofungin / caspofungine



je bila *C. glabrata* za vorikonazol bolj občutljiva v obdobju 1992–1996, medtem ko je bila na itrakonazol bolj občutljiva v drugem obdobju (Razpr. 3).

Statistična primerjava MIK z upoštevanjem profilaktičnega zdravljenja

V tem delu raziskave smo kvasovke razdelili v dve skupini in jih primerjali glede na to, ali je bolnik prejel profilakso ali ne. V skupino s profilakso smo uvrstili vse izolate bolnikov, ki so prejeli vsaj en antimikotik, medtem ko smo v skupino brez profilakse uvrstili izolate bolnikov, ki niso prejeli nobenega protiglivičnega zdravljenja.

Za *C. albicans* je analiza pokazala statistično značilno višje MIK flukonazola in amfotericina B pri bolnikih, ki so prejeli profilakso v primerjavi s tistimi, ki profilakse niso prejeli ($p < 0,05$). Pri vorikonazolu in itrakonazolu nismo dokazali statistično pomembne razlike (Razpr. 4).

Statistično pomembno razliko MIK testiranih protiglivičnih zdravil pri izolatih *C. glabrata* smo dokazali le za vorikonazol (Razpr. 5).

Poraba protiglivičnih zdravil za sistemsko zdravljenje okužb prikazuje Razpredelnica 6. Celokupna poraba je bila najvišja v letu 2002, v kasnejšem obdobju pa opazamo trend nižanja porabe. V obdobju 2003–2005 opazamo padanje porabe flukonazola in itrakonazola in večanje porabe novjših protiglivičnih zdravil, vorikonazola in kaspofungina.

Razpravljanje

Primerjava občutljivosti izolatov *C. albicans* in *C. glabrata*, osamljenih v obdobjih 1992–1996 in 2003–2005

V prvem delu naše raziskave smo primerjali občutljivost izolatov *C. albicans* in *C. glabrata*, osamljenih v obdobju 1992–1996, s tistimi, ki so bili osamljeni v obdobju 2003–2005. Ugotovili smo, da so bile MIK vseh štirih testiranih protiglivičnih zdravil pri izolatih *C. albicans*, osamljenih v prvem obdobju, statistično značilno višje v primerjavi z izolati iz kasnejšega obdobja (Razpr. 2). Prav tako so bile MIK itrakonazola pri izolatih *C.*

glabrata, osamljenih v prvem obdobju, statistično značilno višje v primerjavi z izolati iz kasnejšega obdobja (Razpr. 3). Glede na podatke o porabi protiglivičnih zdravil, ki so kvantitativno ovrednoteni šele v zadnjih letih in kažejo le rahla nihanja v porabi protiglivičnih zdravil na KOH, smo bili ob teh rezultatih presenečeni. Iz podatkov je razvidno, da se je poraba nekaterih starejših azolnih pripravkov, zlasti ketokonazola, izredno zmanjšala, hkrati pa se je povečala poraba novjših protiglivičnih zdravil s širšim spektrom delovanja in manj stranskimi učinki (Razpr. 6).

V literaturi smo našli le eno raziskavo, ki je, podobno kot naša, proučevala občutljivost izolatov *Candida* spp. za flukonazol v 10-letnem obdobju. Ugotovili so, da kljub povečani porabi protiglivičnih zdravil v tem obdobju ni prišlo do statistično značilne spremembe v odpornosti na ta protiglivični zdravil. Ob natančnejšem pregledu naših rezultatov smo ugotovili, da je delež bolnikov iz prvega obdobja, ki niso prejeli profilaktičnega zdravljenja, bistveno manjši (17,1 %) od skupine bolnikov iz drugega proučevanega obdobja (41,8 %), kar bi do neke mere lahko razložilo omejene rezultate.

Domnevamo, da je višja odpornost v obdobju 1992–1996 predvsem posledica uporabe ketokonazola in flukonazola. Številne raziskave so potrdile prisotnost navzkrižne odpornosti med azoli, kot so flukonazol, itrakonazol, vorikonazol in ketokonazol. Dokazano je tudi, da lahko kvasovka, izpostavljena starejšim antimikotikom, razvije navzkrižno odpornost na noveše azole, kot je vorikonazol.^{17, 18} Občutljivost glive *C. glabrata* za flukonazol in amfotericin B se med obdobjema ni značilno razlikovala, medtem ko so bili izolati *C. glabrata*, osamljeni v prvem obdobju, značilno bolj občutljivi za vorikonazol kot izolati, osamljeni v drugem obdobju. Vorikonazol se je začel uporabljati šele v drugem proučevanem obdobju, kar bi lahko razložilo porast MIK vorikonazola v primerjavi z izolati iz prvega proučevanega obdobja.

V raziskavo smo vključili vsaj en izolat na bolnika, vendar ostaja izvor izolatov neznan. Prav tako ne vemo, koliko časa so bili testirani izolati pod vplivom antimikotikov. Čeprav so glive kvasovke iz rodu *Candida* pomembni bolnišnični patogeni, je o epidemiologiji le-teh malo znanega. V raziskavah, v katerih so proučevali izvor izolatov, so ugotovili, da lahko ti izvirajo tudi iz bolnišničnega okolja, bodisi da v telo vstopijo preko rok medicinskega osebja ali posredno preko predmetov.^{19–21} V prid temu govori tudi podatek, da smo večkratno odporne seve kvasovk osamili tako pri bolnikih, ki so prejeli profilakso več deset dni, kot tudi pri tistih, ki antimikotičnega zdravljenja sploh niso prejeli. Kot so v raziskavi Blot in sodelavci ugotovili, da povečana uporaba flukonazola ni vplivala na ekologijo *Candida* spp. in na spekter glivičnih povzročiteljev fungemij, tudi pri nas nismo mogli dokazati, da bi spreminjena mikološka flora zaradi uporaba flukonazola vplivala na povečano odpornost osamljenih gliv iz nadzornih kužnin.²² To si razlagamo s sorazmerno kratko ležalno dobo bolnikov na oddelku in sklepamo, da so osamljeni izolati izvirali v večini primerov iz bolnikove endogene flore in ne iz bolnišničnega okolja. Domnevamo, da pride do horizontalnega prenosa gliv kvasovk sorazmerno redkeje kot pri bakterijah, kar bi bilo potrebno potrditi z epidemiološko raziskavo.

Porabo protiglivičnih zdravil spremljamo sistematsko v Kliničnem centru od leta 1998. Ker smo pred tem letom imeli na voljo manj protiglivičnih zdravil za sistemsko zdravljenje in smo zdravili na oddelku manjše število bolnikov z motnjami imunosti, predpostavljamo, da smo imeli v obdobju 1992–1996 nižjo porabo protiglivičnih zdravil. Primerjava porabe protiglivičnih zdravil v letu 2003 s štirimi hematološkimi enotami v Nemčiji, kjer uporabljajo za profilakso flukonazol v dnevni odmerku 200 mg, kaže, da je poraba v UKC izražena v predpisanih dnevni dozi (PDD) višja (36,64 PDD) kot v treh od štirih enotah, kjer je bila poraba med 24 in 50 PDD).²³

Vpliv profilaktičnega zdravljenja na občutljivost gliv kvasovk za antimikotike

V tem delu raziskave smo skušali ugotoviti, kako je profilaksa vplivala na občutljivost kvasovk na antimikotike. Primerjali smo izolate bolnikov, ki so preje-

mali profilakso z antimikotiki, s tistimi, ki profilakse niso prejeli.

Ugotovili smo, da se pri *C. albicans* statistično značilno razlikujejo MIK flukonazola in amfotericina B (Razpr. 4). MIK so bile statistično značilno višje v skupini bolnikov, ki so prejeli profilakso, kar kaže na vpliv antimikotičnega profilaktičnega zdravljenja. Vpliva profilakse na občutljivost za vorikonazol in itrakonazol nismo dokazali ($p > 0,05$). Pri izolatih *C. glabrata*, osamljenih pri bolnikih z profilakso z antimikotiki ali brez, se MIK flukonazola, itrakonazola in amfotericina B niso statistično razlikovale.

Izjema je bil le vorikonazol, pri katerem se je izkazalo, da so njegove MIK statistično značilno višje v skupini bolnikov, ki profilakse niso prejeli (Razpr. 5). Menimo, da je vzrok za ta presenetljiv rezultat predvsem majhno število izolatov (samo 15 izolatov). Tudi za ostale tri antimikotike rezultate težko komentiramo, saj tudi tu število izolatov *C. glabrata* pri bolnikih brez profilakse ni presegalo 22 vzorcev.

Vprašanje, kakšen vpliv ima dolgotrajno shranjevanje kvasovk na njihovo odpornost, ostaja do neke mere odprto. Glede na to, da smo tudi iz obdobja 1992–1996 osamili visoko odporne seve kvasovk, smo mnenja, da shranjevanje bistveno ne vpliva na spremembo občutljivosti kvasovk. Poleg tega izolati od prvotnega shranjevanja do izvedbe naše raziskave niso bili presajani iz starih na nova stalna gojišča, kar bi lahko privedlo do sprememb v odpornosti.

Zaključki

Z našo raziskavo smo dokazali, da globalna poraba antimikotikov ne vpliva neposredno na odpornost izolatov gliv pri posamezniku. Verjetno prihaja do horizontalnega prenosa gliv iz okolja na bolnika sorazmerno redko, kar bi morali potrditi z epidemiološko ekološkimi raziskavami. Na odpornost gliv pa neposredno vpliva prejetje antimikotikov pri vsakem posameznem bolniku, ki s tem izvaja pritisk na seve bolnikove endogene mikrobne flore.

Literatura

1. Bow EJ. Invasive fungal infection in patients receiving intensive cytotoxic therapy for cancer. Br J Haematol 1998; 101 Suppl 1: 1–4.
2. Fisher-Hoch SP, Hutwagner L. Opportunistic candidiasis: an epidemic of the 1980s. Clin Infect Dis 1995; 21: 897–904.
3. Komshian SV, Uwaydah AK, Sobel JD, Crane LR. Fungaemia caused by *Candida* species and *Torulopsis glabrata* in the hospitalized patient: frequency, characteristics, and evaluation of factors influencing outcome. Rev Infect Dis 1989; 11: 379–90.
4. Fraser VJ, Jones M, Dunkel J, Storfer S, Medoff G, Dunagan WC. Candidaemia in a tertiary care hospital: epidemiology and risk factors, and predictors of mortality. Clin Infect Dis 1992; 15: 414–21.
5. Espinel-Ingroff A, Boyle K, Sheehan DJ. In vitro antifungal activities of voriconazole and reference agents as determined by NCCLS methods: review of the literature. Mycopathologia 2001; 150: 101–15.
6. Tortorano AM, Rigoni AL, Biraghi E, Prigntano A, Viviani MA. The European Confederation of Medical Mycology (ECMM) survey of candidaemia in Italy: antifungal susceptibility patterns of 261 non-albicans *Candida* isolates from blood. J Antimicrob Chemother 2003; 52: 679–82.

7. Garbino J, Kolarova L, Rohner P, Jew D, Pichna P, Pittet D. Secular trends of candidaemia over 12 y in adult patients at a tertiary care hospital. *Medicine (Baltimore)* 2002; 81: 425–33.
8. Laverdiere M, Rotstein C, Bow EJ, Roberts RS, Ioannou S, Carr D, et al. Impact of fluconazole prophylaxis on fungal colonization and infection rates in neutropenic patients. The Canadian Fluconazole Study. *Antimicrob Chemother* 2000; 46: 1001–8.
9. Bow EJ, Laverdiere M, Lussier N, Rotstein C, Cheang MS, Ioannou S. Antifungal prophylaxis for severely neutropenic chemotherapy recipients: a meta analysis of randomized-controlled clinical trials. *Cancer* 2002; 94: 3230–46.
10. Kanda Y, Yamamoto R, Chizuka A, Hamaki T, Suguro M, Arai C, et al. Prophylactic action of oral fluconazole against fungal infection in neutropenic patients. A meta-analysis of 16 randomized, controlled trials. *Cancer* 2000; 89: 1611–25.
11. Nguyen MH, Peacock JE Jr, Morris AJ, Tanner DC, Nguyen ML, Snyderman DR, et al. The changing face of candidemia: emergence of non-Candida albicans species and antifungal resistance. *Am J Med* 1996; 100: 617–23.
12. Snyderman DR. Shifting patterns in the epidemiology of nosocomial Candida infection. *Chest* 2003; 123: 500S–3S.
13. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts; Approved Standard – Second Edition M27-A2. Pennsylvania: NCCLS; 2002.
14. Pfaller MA, Diekema DJ, Rex JH, Espinel-Ingroff A, Johnson EM, Andres D, et al. Correlation of MIC with outcome for Candida species tested against voriconazole: analysis and proposal for interpretative breakpoints. *J Clin Microbiol* 2006; 44: 819–26.
15. World Health Organization. Guidelines for ATC classification and DDD assignment. Oslo: WHO Collaborating Centre for Drug Statistics Methodology, Norwegian Institute of Public Health; 2005.
16. Chen YC, Chang SC, Luh KT, Hsieh WC. Stable susceptibility of Candida blood isolates to fluconazole despite increasing use during the past 10 years. *J Antimicrob Chemother* 2003; 52: 71–7.
17. Panackal AA, Gribskov JL, Staab JF, Kirby KA, Rinaldi M, Marr KA. Clinical significance of azole antifungal drug cross-resistance in Candida glabrata. *J Clin Microbiol* 2006; 44: 1740–3.
18. Posteraro B, Sanguinetti M, Fiori B, La Sorda M, Spanu D, Sanglard D, et al. Caspofungin activity against clinical isolates of azole cross-resistant Candida glabrata overexpressing efflux pump genes. *J Antimicrob Chemother* 2006; 58: 458–61.
19. Vazquez JA, Dembry LM, Sanchez V, Vazquez MA, Sobel JD, Dmuchowski C, et al. Nosocomial Candida glabrata colonization: an epidemiologic study. *J Clin Microbiol* 1998; 36: 421–6.
20. Bonassoli LA, Svidzinski TI. Influence of the hospital environment on yeast colonization in nursing students. *Med Mycol* 2002; 40: 311–3.
21. Lupetti A, Tavanti A, Davini P, Ghelardi E, Corsini V, Merusi I, et al. Horizontal transmission of Candida parapsilosis candidemia in a neonatal intensive care unit. *J Clin Microbiol* 2002; 40: 2363–9.
22. Blot S, Janssens R, Claeys G, Hoste E, Buyle F, De Waele JJ, et al. Effect of fluconazole consumption on long-term trends in candidal ecology. *J Antimicrob Chemother* 2006; 58: 474–7.
23. De With K, Steib-Bauert M, Knoth H, Dörje F, Strehl E, Rothe U, et al. Hospital use of systemic antifungal drugs. *BMC Clin Pharmacol* 2005; 5: 1.

Prispelo 2007-09-13, sprejeto 2007-11-26