Mikrobiološke značajke uzročnika kandidemija u KBC-u Split u razdoblju od 2011. - 2015. godine

Šustić, Ivan

Master's thesis / Diplomski rad

2016

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Split, School of Medicine / Sveučilište u Splitu, Medicinski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:171:758149

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-29**

SVEUČILIŠTE U SPLITU
MEDICINSKI FAKULTET
UNIVERSITAS STUDIORUM SPALATENSIS
FACULTAS MEDICA

Repository / Repozitorij:

MEFST Repository

zir.nsk.hr

UNIVERSITY OF SPLIT

dabar
DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

SVEUČILIŠTE U SPLITU

MEDICINSKI FAKULTET

Ivan Šustić

MIKROBIOLOŠKE ZNAČAJKE UZROČNIKA KANDIDEMIJA U KBC-u SPLIT U RAZDOBLJU OD 2011. - 2015. GODINE

Diplomski rad

Akademska godina: 2015./2016.

Mentor:

Izv. prof.dr.sc. Marija Tonkić, dr.med.

U Splitu, srpanj 2016.

SADRŽAJ

1. UVOD……..……..……...1

1.1.Definicija kandidemije…….……...….……2

1.2.Značajke roda *Candida*…….……...…….…...2

1.3.Značajke pojedinih vrsta kandida i čimbenici virulencije…….....……...……3

1.4.Terapija kandidemije……...…….……5

1.5.Mikrobiološka dijagnostika kandidemije.....7

1.6. Epidemiologija kandidemija i rezistencija kandida na antifungike.....8

2. CILJ ISTRAŽIVANJA.....9

3. MATERIJAL I METODE.....11

4. REZULTATI.....13

5. RASPRAVA.....23

6. ZAKLJUČCI.....27

7. LITERATURA.....29

8. SAŽETAK.....35

9. SUMMARY.....37

10. ŽIVOTOPIS.....39

Zahvaljujem od srca svojoj mentorici prof. dr. sc. Mariji Tonkić na dragocjenim savjetima i uputama pri pisanju diplomskog rada te na uloženom trudu i vremenu tijekom korigiranja dijelova ovog rada.

1. UVOD

1.1. Definicija kandidemije

Kandidemija je po život opasna invazija gljiva iz roda *Candida* u krvotok. Karakterizira je klinička slika sepse koja je slična bakterijskoj sepsi. Između te dvije vrste sepse postoje manje razlike pa je, primjerice u bakterijskoj sepsi veća razina laktata, dok se u kandidemiji nešto češće javlja bubrežno i jetreno zatajenje (1).

Kandidemija se obično javlja u teško bolesnih osoba nakon operacije, dugo hospitaliziranih bolesnika sa intravenskim kateterima, imunosuprimiranih bolesnika s malignim bolestima ili nakon transplantacije organa te bolesnika na antibiotskoj terapiji (1,2).

1.2. Značajke roda *Candida*

Pripadnici roda *Candida* su kvasci koji spadaju u koljeno *Ascomycota*. Naziv koljena potječe od takozvanog askusa što u prijevodu znači „vrećica“. *Ascomycota* se spolnim putem razmnožava kariogamijom i mejozom, čime nastaju askospore, dok nespolnim putem pupanjem nastaju konidije (3). Najznačajniji predstavnici roda *Candida* koji uzrokuju više od 90% invazivnih infekcija su *Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Candida parapsilosis*, *Candida tropicalis* i *Candida krusei* (4). Kvasci roda *Candida* dio su normalne flore sluznica, probavnog sustava i kože. Kolonizacija kandidama nastupa ubrzo nakon poroda tako da je većina ljudi izložena riziku nastajanja nekog oblika kandidoze. Naročito su osjetljivi prematurusi, bolesnici u Jedinici intenzivnog liječenja (JIL), osobito nakon složenog kirurškog zahvata te bolesnici koji su neutropenični zbog maligne bolesti (5). Kandide u kulturi i u tkivima rastu kao ovalne blastokonidije s pupovima, veličine 3-6 µm. Stvaraju i pseudohife u kojima pupovi rastu, ali se ne odvajaju jedan od drugoga. Glavni sterol membrane je ergosterol, a polisaharidi beta glukan i manan (6).

1.3. Značajke pojedinih vrsta kandida i čimbenici virulencije

Candida albicans se razlikuje od ostalih kandida po tome što je dimorfna, tj. uz blastokonidije i pseudohife, stvara i prave hife. Na krutim hranjivim podlogama, nakon inkubacije od 24 sata, kandide porastu i stvaraju kolonije krem boje, mirisa na kvasac. *Candida albicans* se od ostalih kandida (tzv. non-*albicans* kandide) može razlikovati testom pupanja ili germinacije. U tom testu nakon inkubacije od 90 minuta u serumu, pri temperaturi od 37 °C *Candida albicans* stvara prave hife za razliku od ostalih non-*albicans* kandida (7).

C. glabrata na Sabouraud dekstroznom agaru stvara sjajne, glatke kolonije, bijele do „krem" boje. Veličina blastokonidija je 1-4 µm i nešto su manje od blastokonidija *C. albicans* (4-6 µm) te asimilira samo glukozu i trehalozu za razliku od *C. albicans* koja asimilira više šećera izuzev saharoze (8). Nadalje, *C. glabrata* je specifična jer među non-albicans kandidama jedina ne stvara pseudohife, već samo blastokonidije (8). *C. parapsilosis* formira slične kolonije kao *C. glabrata,* osim što su malo naborane, a od šećera ne asimilira maltozu (8). *C. tropicalis* ima slične kolonije kao prethodne dvije, jedino što su rubovi razgranatiji (8) te asimilira saharozu i maltozu.

C. albicans je, unatoč globalnoj sve većoj učestalosti non-*albicans* kandida (9,10), i dalje najučestaliji uzročnik kandidemije te zbog toga postoji najviše radova o čimbenicima virulencije *C. albicans* (11).

Kako je već prethodno navedeno, *C. albicans* se razlikuje od ostalih kandida po tome što *in vivo*, odnosno u povoljnim uvjetima, stvara prave hife. Upotrebom adsorbiranih antiseruma utvrđena su dva serotipa *C. albicans*, tip A i B (7). Važniji čimbenici virulencije *C. albicans* su dimorfizam, adhezini i invazini, sposobnost stvaranja biofilma, kontaktna osjetljivost i thigmotropizam, sposobnost stvaranja kiselih hidrolaza, metabolička i pH prilagodba, odgovor na stres, stvaranje *heat shock* proteina te akvizicija metala.

Dimorfizam, tj. sposobnost *C. albicans* da se mijenja iz kvasnice u oblik plijesni, omogućuje da *C. albicans* u povoljnim uvjetima stvara prave hife što joj povećava invazivnost, dok u obliku kvasnice ima mogućnost veće diseminacije.

Adhezini i invazini omogućuju *C. albicans* lakši prodor u tkivo. Adhezini su glikoproteini nalik aglutininu koji omogućuju prianjanje *C. albicans* na epitelne i endotelne stanice (12,13). Invazini su specijalizirani proteini kojima *C. albicans* potiče stanice domaćina na induciranu endocitozu vezujući se na stanične ligande domaćina. Ciljni ligandi su N-kadherin na endotelnim stanicama te E-kadherin na epitelnim stanicama (12).

Stvaranje biofilma na živim i neživim podlogama je također važan čimbenik virulencije *C. albicans*. Nakon adherencije *C. albicans* na određeni supstrat slijedi proliferacija, formiranje hifa u gornjem segmentu biofilma te stvaranje ekstracelularnog matriksa kako biofilm dozrijeva. Biofilm omogućuje daljni rasap *C. albicans*, ali također pojačava otpornost na lijekove i djelovanje stanica imunološkog sustava (12,14).

Kontaktna osjetljivost omogućuje da *C. albicans* pri dodiru površine počne stvarati hife koje prodiru ispod površine i otvaraju put rasapu *C. albicans*. Taj se proces odvija putem mehano-senzitivnih ionskih kanala (15). Thigmotropizam je usmjereni rast hifa *C. albicans*, što omogućavaju visoko afinitetni (engl. *high-affinity calcium-uptake sytems,* HACPS) i nisko afinitetni (engl. *low-affinity calcium-uptake systems*, LACPS) kalcijski kanali (16). Hife *C. albicans* nakon prianjanja luče kisele hidrolaze koje im omogućuju prodor u tkivo. Značajne kisele hidrolaze su lipaze, fosfolipaze i proteaze (12,17).

Veliki značaj u održavanju *C. albicans* u organizmu ima metabolička i pH prilagodba. Raspon pH varira, od 1-2 u želudcu, 8 u crijevima te oko 4 u vagini (12). *C. albicans* se ekspresijom gena PHR1 prilagođava okolišu u kojem je pH viši od 5,5. U kiselom okruženju taj gen je suprimiran, a dolazi do ekspresije gena PHR2 kako bi *C. albicans* mogla opstati u kiselom okruženju (18). Nadalje, uz pH važna je i metabolička prilagodba *C. albicans* pošto supstrat varira ovisno o okolini. Krv je medij bogat glukozom koja je povoljan izvor energije za *C. albicans*, no tijekom diseminacije *C. albicans* može završiti u jetri koja obiluje glikogenom ili mozgu koji sadrži glukozu i vitamine. Adekvatna prilagodba na glikolizu u jetri, glukoneogenezu u ostalim dijelovima tijela koji ne obiluju pohranjenim ugljikohidratima, doprinosi preživljavanju *C. albicans* (12).

Osim glukoze *C. albicans* za opstanak treba osigurati dobavljanje elemenata u tragovima kao što su željezo, bakar, cink, mangan. Pristup tim metalima, naročito željezu, osigurava adhezinskim i invazinskim mehanizmom, pomoću kojih iskorištava željezo iz feritina i transferina, a naziva se reduktivni mehanizam (19). Hemsko željezo *C.*

albicans pribavlja posebnim proteinima kodiranima genima hem-receptorske obitelji RBT5, RBT51, CSA1, CSA2 i PGA7, a sposobna je koristiti i željezo putem sustava siderofora (20).

Uz iskorištavanje nutrijenata, važan čimbenik virulencije *C. albicans* je podnošenje stresa. *C. albicans* ima više mehanizama obrane od stresa, ovisno o vrsti stresa. Primjerice, kod oksidativnog stresa koristi enzime superoksid dizmutazu i katalazu (21,22). Osmotskom stresu se odupire putem sinteze glicerola. Mkc1 tj. MAP kinazni put *C.albicans* odgovoran je za održavanje integriteta membrane (23). Flavohemoglobinu sličan protein Yhb1 detoksificira *C. albicans* od reaktivnih dušičnih radikala (24). Cek1 (engl. *Candida ERK-like kinase*) kontrolira filamentaciju i diobu, a vjerojatno i prilagodbu na toplinski stres (23). Posebno mjesto u reakciji na stres ima obitelj proteina toplinskog šoka. Proteini toplinskog šoka koji kod *C. albicans* sprječavaju razmotavanje proteinske strukture pri povišenoj temperaturi i stresu su: Hsp104, Hsp90, Hsp78, dva Hsp70 (Ssa1, Ssa2) i Hsp60 (12,25). Važni su za održavanje biofilma jer se vežu na ciljne proteine i učvršćuju njihovu strukturu u stresnim uvjetima (26).

1.4. Terapija kandidemije

U terapiji kandidemije danas su, prema smjernicama, u uporabi: ehinokandini (od kojih su najznačajniji kaspofungin, mikafungin i anidulafungin), azoli flukonazol i vorikonazol, amfotericin B te flucitozin (27). Flukonazol se često upotrebljava kao profilaktičko sredstvo u visokorizičnih bolesnika.

Kad postoji sumnja na kandidemiju u bolesnika koji nisu neutropenični, empirijska terapija je flukonazol 800 mg/dan, odnosno 12 mg/kg inicijalna doza, a potom doza održavanja 400 mg, odnosno 6 mg/kg dnevno (27). Umjesto flukonazola u obzir dolaze ehinokandini, pogotovo ako je bolesnik bio izložen terapiji azolima ili je posrijedi vrlo teški oblik infekcije. Nadalje, ehinokandine treba koristiti ukoliko se radi o infekciji kvascima *C. glabrata* i *C. krusei,* koje pokazuju visok stupanj rezistencije na flukonazol (28). Vorikonazol u inicijalnoj dozi prvog dana 400 mg/dan, odnosno 6 mg/kg, potom 200 mg/dan tj. 3 mg/kg, ima vrlo malo prednosti pred flukonazolom, nešto je učinkovitiji prema određenim izolatima *C. krusei* i *C. glabrata* pa se može koristiti kao tzv. „step-down“ terapija sa ehinokandina za osjetljive izolate (27). Amfotericin B se zbog svoje toksičnosti danas manje koristi, ali zbog širokog spektra djelovanja može se uvesti u dozi 3-5 mg/kg u obliku lipidne formulacije ili 0,5-1 mg/kg amfotericin deoksikolata (27). Flukonazolom se liječe bolesnici inficirani *C. albicans* te također oni koji su inicijalno liječeni ehinokandinima, a mikrobiološkom analizom je utvrđeno da se radi o infekciji *C. albicans* (27,29). Flukonazol odlično prolazi krvno

moždanu barijeru pa se upotrebljava kod infekcija središnjeg živčanog sustava da se izbjegne intratekalna primjena amfotericina B (30). Flucitozin je kemijski sličan 5 fluorouracilu, a gljive ga unose putem citozin permeaze koja nije prisutna u čovjeka. Jednom kad uđe u stanicu flucitozin se konvertira u 5 fluorouracil te inhibira sintezu DNA. Dugotrajna monoterapija flucitozinom dovodi do razvoja rezistencije, dok u *in vitro* uvjetima pokazuje sinergistički učinak s azolima. Tipične nuspojave odgovaraju onima u 5 fluorouracila: mijelosupresija, anemija, trombocitopenija te rijetko, povišeni jetreni enzimi. Pretpostavlja se da do njih dolazi bakterijskom konverzijom flucitozina u 5 fluorouracil u crijevima (31). Kod svih bolesnika se preporučuje uklanjanje katetera te, ukoliko nema metastatskih komplikacija kandidemije, dvotjedna terapija (31).

Smjernice za neutropenične bolesnike su slične, jedina razlika je što se kod težih neutropenija odmah daju ehinokandini (27).

1.5. Mikrobiološka dijagnostika kandidemije

Kandidemija se može dijagnosticirati na više načina - mikroskopskim pregledom uzorka, kultivacijom uzorka, serološkim metodama, pomoću lančane reakcije polimeraze (PCR) te novijom metodom - hibridizacijom peptidne nukleinske kiseline (eng. *Peptide nucleic acid fluorescent in situhybridization*, PNA FISH).

Najjednostavniji i najbrži je mikroskopski pregled u kojem se uzorci boje po Gramu (32). Glavni problem u primjeni ove metode je samo uzorkovanje i činjenica da je u uzorku (npr. krvi) ponekad prisutan premali broj kvasnica (1). Uzorak se može kultivirati na mikološkim ili bakteriološkim podlogama, pri sobnoj temperaturi ili pri 37 °C. Porasle kolonije se potom identificiraju na temelju morfoloških i biokemijskih karakteristika pojedine vrste, opisanih prethodno. Kultura se i danas smatra zlatnim standardom u dijagnostici zbog nižih troškova (33), no njen nedostatak je osjetljivost od oko 50% (varira između 20% i 70%) (34).

Nadalje, u dijagnostici se mogu koristiti serološke metode. Lateks aglutinacijom ili enzimskim imunotestom se detektiraju protutijela na manane i beta glukane u serumu bolesnika (1,35).

PCR služi za otkrivanje DNA pojedinih vrsta kandida, ta je metoda osjetljivija (95 %) i specifičnija (92 %) od prethodnih metoda (36), no kultura je i dalje zlatni standard zbog niske cijene. Kod vrlo teških bolesnika, te kod sumnje na non-albicans kandidemiju je opravdana uporaba PCR-a jer korist od te brze metode, u odnosu na kulturu, za koju treba čekati tri dana, nadmašuje cjenovnu razliku.

PNA FISH je novija metoda identifikacije koja detektira ribosomsku RNA (eng. *ribosomal* RNA; rRNA) odnosno peptidnu nukleinsku kiselinu (37). Sinteza proteina se odvija na ribosomima pa je ova metoda dobila ime „peptidna“ upravo po tome što detektira ribosomsku RNA pomoću koje se odvija sinteza proteina na ribosomima. PNA FISH metoda se pokazala kao bolja u hibridizaciji u odnosu na DNA metode koje su dosadašnji standard i pri nazivu FISH se i danas podrazumijeva da je to DNA FISH. Hibridizacija se odvija brže, intenzivnije je boje i uniformnija kod PNA FISH metode u odnosu na standardni FISH (38).

1.5. Epidemiologija kandidemija i rezistencija kandida na antifungike

Učestalost kandidemija je zadnjih godina u porastu diljem svijeta (39) te je kandidemija po učestalosti četvrta nozokomijalna infekcija u SAD-u i sedma u Europi (40). Sveukupnim napretkom medicine, naročito intenzivne, kirurške i onkološke, kao uzročnici kandidemija javljaju se sve češće non-*albicans* kandide (4,39,41). Prema brojnim studijama, *C. albicans* je i dalje najučestalija vrsta kandide, pogotovo u Sjevernoj Americi, sjevernoj Europi i dijelovima središnje Europe (42), ali se bilježi porast učestalosti non-*albicans* vrsta (9,10,41,43).

Učestalost pojedinih non-*albicans* vrsta kandida varira ovisno o regiji. Primjerice, u Južnoj Americi i Aziji je česta *C. tropicalis* dok je ta vrsta kandide rijetka u Sjevernoj Americi i Europi (42). Nadalje, *C. glabrata* se uglavnom javlja u Europi, naročito u Irskoj (42), dok je *C. parapsilosis* nešto češća u Portugalu, Španjolskoj te Saudijskoj Arabiji (42). Zbog gotovo trostruko veće smrtnosti u odnosu na bakterijemiju kod pogrešne empirijske terapije, ovakav pomak prema non-*albicans* kandidama predstavlja problem, pogotovo u jedinicama intenzivnog liječenja (44). U tim jedinicama se profilaktički koriste antibiotici, a od antifungika najčešće flukonazol, na kojeg je *C. albicans* dobro osjetljiva. Flukonazol se upotrebljava profilaktički u bolesnika koji imaju rizik za nastanak kandidemije (45,46).

Takvi postupci dovode do toga da su bakterije i *C. albicans* suprimirane te non-*albicans* kandide mogu lakše uzrokovati infekciju budući da nema kompeticije sa invazivnijim vrstama. Primjerice, *C. glabrata* je intrizično otporna na flukonazol pa se infekcija tom kandidom često javlja kod bolesnika na profilaksi koji dugo borave u bolnici (41,46).

Radi ovakvih globalnih trendova u učestalosti *C. albicans* u odnosu na non-*albicans* kandide, u ovom radu će se ustanoviti učestalost i mikrobiološke značajke uzročnika kandidemija u Kliničkom bolničkom centru Split.

2. CILJEVI ISTRAŽIVANJA

Ciljevi istraživanja su da se utvrdi koji su najčešći uzročnici kandidemije u KBC-u Split u petogodišnjem periodu, od 2011. - 2015. godine te postoji li trend povećanja broja izolata non-*albicans* vrsta u odnosu na broj izolata *C. albicans*. Također će se ispitati osjetljivost pojedinih vrsta kandida koje uzrokuju kandidemiju na najčešće korištene antifungike.

Hipoteza istraživanja je da je u KBC-u Split u razdoblju od 2011. do 2015. godine porastao broj uzročnika kandidemija koji spadaju u non-*albicans* kandide te da su non-*albicans* vrste kandida rezistentnije na antifungike od *C. albicans*.

3. MATERIJALI I METODE

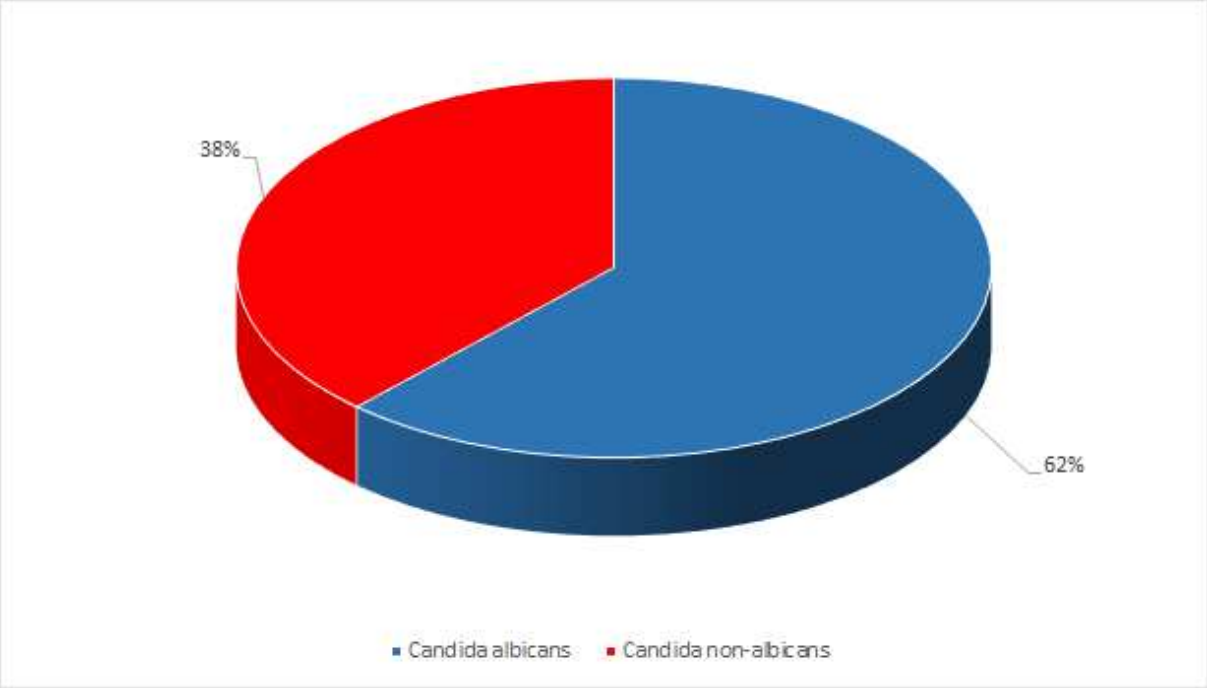
U ovom retrospektivnom istraživanju korišteni su podatci o uzastopnim izolatima vrsta roda *Candida* koji su izolirani iz različitih kliničkih uzoraka i iz hemokultura arhiva Kliničkog zavoda za mikrobiologiju i parazitologiju KBC-a Split u razdoblju od 2011. do 2015. godine. Podaci o tzv. *kopijama* sojeva nisu korišteni. Sojevi su izolirani iz uzoraka bolesnika liječenih u KBC-u Split i to u: Jedinici intenzivnog liječenja, Kardiokirurgiji, Klinici za unutarnje bolesti, Neurokirurgiji, Klinici za kirurgiju, Klinici za neurologiju, Klinici za plućne bolesti te Jedinici za intenzivno liječenje djece.

Uz podatke o vrstama izoliranih kandida, analizirani su i podaci dobiveni iz arhive Zavoda o osjetljivosti kandida izoliranih iz hemokultura i ostalih primarno sterilnih uzoraka na testirane antifungike.

Pri obradi podataka korištena je metoda analize rasta ili pada trenda. U testiranju razlike u proporcijama korišten je jednosmjerni Z test. Za testiranje reprezentativnosti korištena je ANOVA metoda. Sve razlike za koje je vjerojatnost nulte hipoteze bila < 0.05, smatrane su statistički značajnim. Analiza je napravljena pomoću statističkog programa STATISTICA 12.

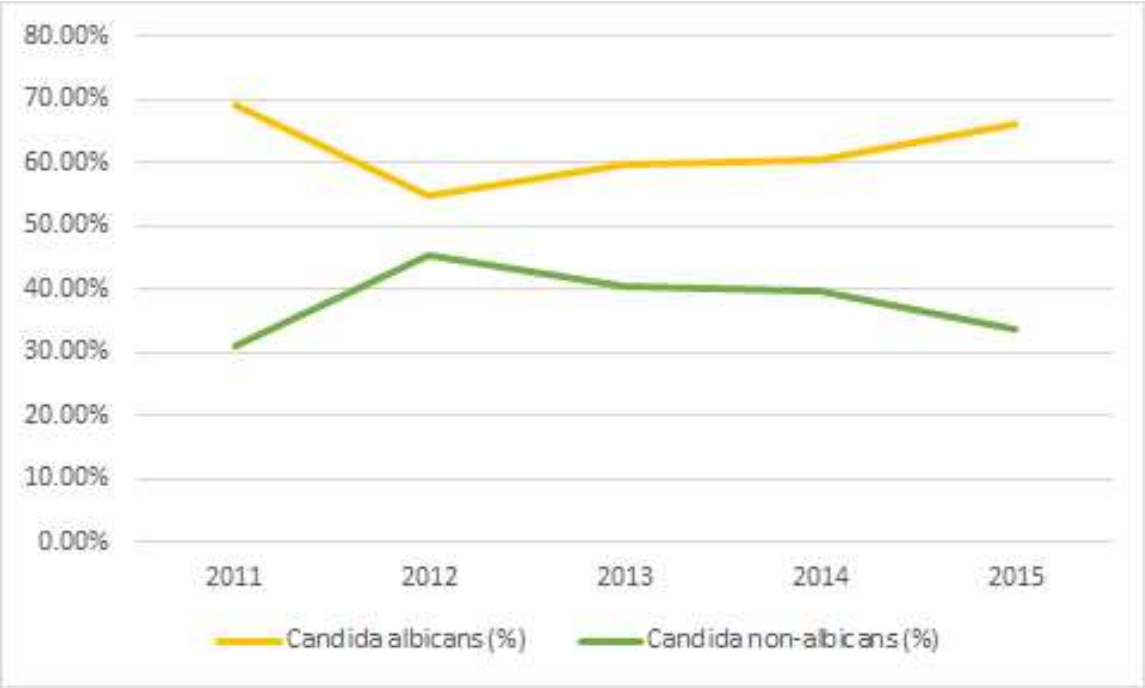
4. REZULTATI

U KBC-u Split je u razdoblju od 2011. do 2015. godine izolirano ukupno iz svih vrsta uzoraka (primarno sterilnih i primarno nesterilnih), 4763 soja kandida. Od toga je bilo 2948 izolata *C. albicans* (62%), a sojeva non-*albicans* vrsta je bilo 1815 (38%) (Slika1.)



Slika 1. Raspodjela *C. albicans* i *C.* non-*albicans* u ukupnom broju izolata kandida (n=4763).

Analizom ukupnog broja izolata *C. albicans* u odnosu na non-*albicans* vrste u pojedinim godinama studijskog razdoblja uočava se da je *C. albicans* tijekom cijelog razdoblja najčešće izolirana vrsta kandide (Slika 2.). Najmanje izolata non-*albicans* vrsta je izolirano u 2011. godini te je njihov udio u ukupnom broju izolata tada bio 31%, dok je najveći udio non-*albicans* vrsta zabilježen 2012. godine (45,2%). Potom taj udio blago pada, te je u 2013. godini iznosio 40,4%, 2014. godine je bio 39,5%, a u 2015. godini 33,8% (Slika 2.).

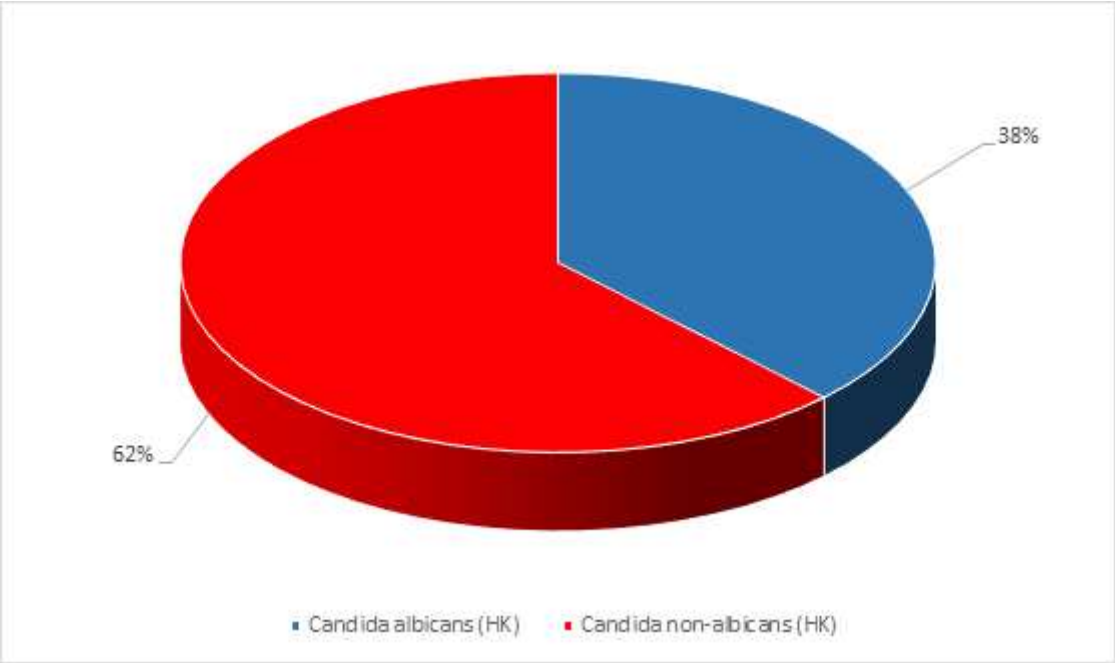


Slika 2. Kretanje trenda udjela sojeva *C. albicans* i *C.* non-*albicans* izoliranih iz svih analiziranih uzoraka u KBC-u Split od 2011. do 2015. godine (n=4763).

Statističkom analizom je dokazano da promatrano na ukupan broj izolata kandida iz svih analiziranih uzoraka u periodu istraživanja, postoji trend rasta broja izolata *C. albicans* ($p<0.05$).

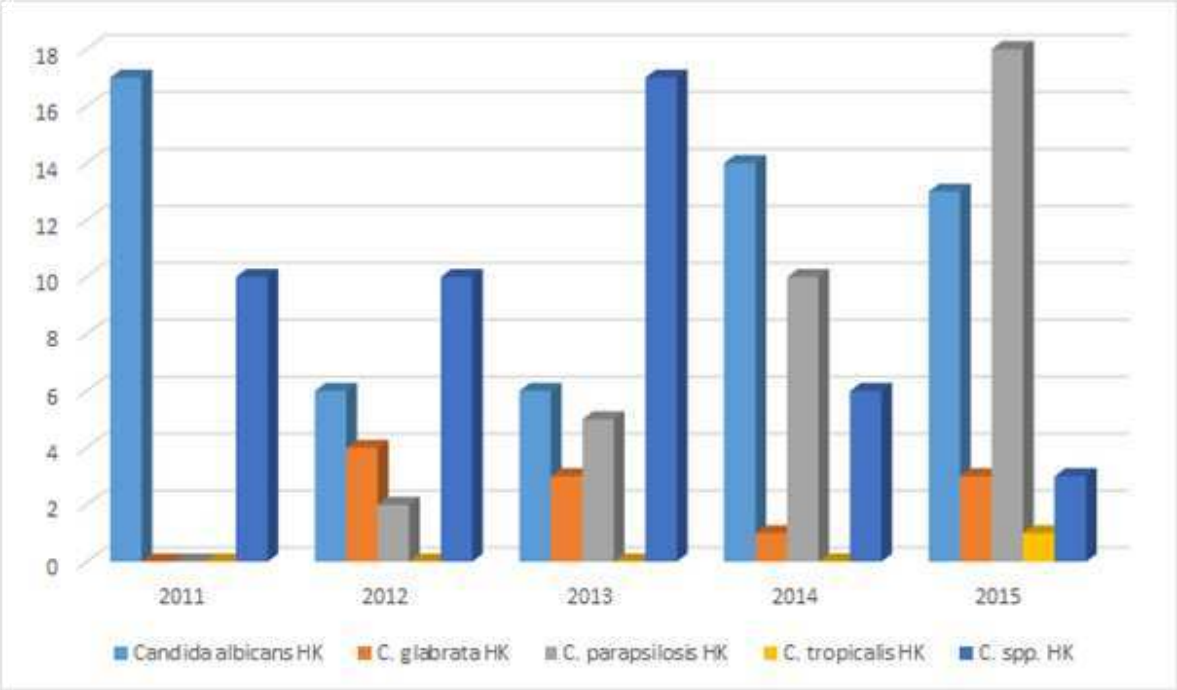
U razdoblju od 2011. do 2015. godine iz uzoraka hemokultura izolirano je 149 sojeva kandida. Od toga je bilo 56 (38%) sojeva *C. albicans* i 93 (62%) soja non-*albicans* kandida (Slika 3.). U promatranom razdoblju sojevi non-*albicans* kandida su za 1,5 puta češće bili izolirani iz hemokultura u odnosu na sojeve *C. albicans*.

Najvećim dijelom su izolati iz hemokultura dobiveni iz uzoraka bolesnika liječenih u JIL-u, potom na Kardiokirurgiji, Klinici za unutarnje bolesti, Neurokirurgiji, Klinici za kirurgiju, Klinici za neurologiju, Klinici za plućne bolesti te u Jedinici za intenzivno liječenje djece.



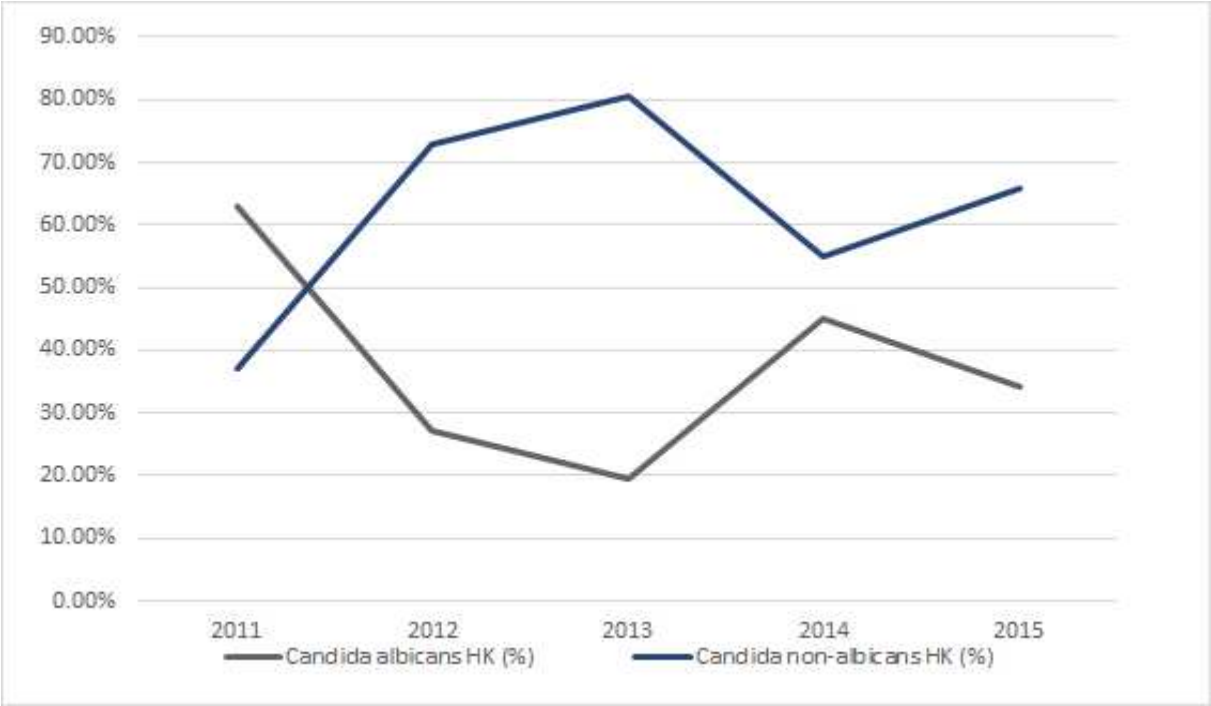
Slika 3. Raspodjela sojeva *C. albicans* i C. non-*albicans* izoliranih iz hemokultura (n=149).

Na Slici 4. prikazan je broj izolata pojedinih vrsta kandida izoliranih tijekom studijskog perioda iz hemokultura. Može se uočiti da je 2011. godine od ukupno 27 sojeva izoliranih iz hemokultura, 10 sojeva bilo non-*albicans*. Označeni su kao *C.* spp. jer identifikacija nije napravljena do razine vrste. Tijekom 2012. godine taj udio se povećao i iznosio je 10 od 22 soja. Tada se kao uzročnik kandidemije pojavljuju po prvi put izolati *C. glabrata* te *C. parapsilosis*. U 2013. godini udio non-*albicans* vrsta je bio 25 od ukupno 31 soja izoliranog iz hemokultura, sa evidentnim porastom udjela izolata *C. parapsilosis*. Tijekom 2014. godine udio non-*albicans* vrsta je bio 17 od 31, te je u 2015. god. iznosio 25 od 38 sojeva, sa kontinuiranim porastom broja izolata *C. parapsilosis* (Slika 4.).



Slika 4. Vrste uzročnika kandidemija u KBC-u Split od 2011. do 2015. godine (n=149)

Na Slici 5. koja prikazuje kretanje trenda uzročnika kandidemija u ispitivanom razdoblju može se uočiti da se, počevši od 2012. godine, iz uzoraka hemokultura bilježi veći udio izolata non-*albicans* vrsta u odnosu na broj izolata *C. albicans*, tj. od 2012. godine non-*albicans* vrste su dominantni uzročnici kandidemija u KBC-u Split (Slika 5.)



Slika 5. Kretanje trenda udjela vrsta *C. albicans* i C. non-*albicans* izoliranih iz hemokultura u KBC-u Split od 2011. do 2015. godine (n=149).

U 2011. godini je udio non-*albicans* vrsta među uzročnicima kandidemija bio 37%. U 2012. godini se taj udio povećao na 72,7% a tijekom 2013. godine iznosi 80,6% i to je najviši zabilježeni udio u ispitivanom razdoblju. U 2014. godini udio non *albicans* vrsta je bio 54,8% te u 2015. godini 65,8% (Slika 5.).

U ishodišnoj, 2011. godini, očekivan udio non-*albicans* izolata među uzročnicima kandidemija je 55,43%. Prema procijenjenom trend modelu, u svakom narednom razdoblju očekuje se rast udjela non-*albicans* izolata u prosjeku za 5,78%. Analizom trenda udjela uzročnika kandidemija u KBC Split dokazano je statistički značajno povećanje udjela non-*albicans* vrsta izoliranih iz hemokultura u promatranom razdoblju ($p=0.001766$).

Na temelju provedene statističke analize i dobivene vrijednosti $p<0.05$, može se zaključiti da se u ispitivanom razdoblju od 2011. do 2015. godine u ukupnom broju kandida izoliranih iz hemokultura povećao broj non-*albicans* vrsta te tako opravdati postavljena hipoteza rada.

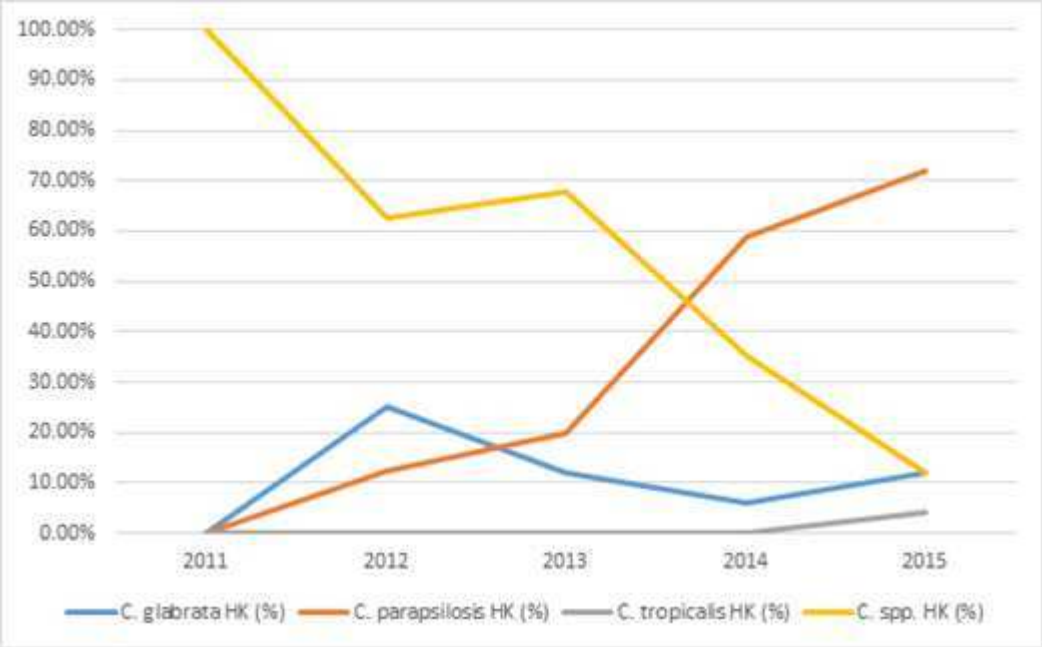
Analizom izolata vrste *C. albicans* iz hemokultura, ustanovljeno je da je u ishodišnoj 2011. godini udio *C. albicans* izolata bio 48,5%. Prema procijenjenom trend modelu u svakom narednom razdoblju očekuje se pad udjela *C. albicans* izolata u prosjeku za 12,78%. Time je dokazano statistički značajno smanjenje udjela vrste *C. albicans* kao uzročnika kandidemija u razdoblju od 2011. do 2015. godine ($p<0.05$).

Tablica 1. prikazuje zastupljenost pojedinih vrsta non-*albicans* kandida u ukupnom broju tih kandida izoliranih iz hemokultura. Uočava se da je u ishodišnoj godini bilo najviše sojeva *C*.spp. (100%). *C.* spp. označava vrste koje nisu *C. albicans,* ali nije utvrđeno o kojem se non-*albicans* izolatu radi. Nadalje, u cijelom promatranom razdoblju bilježi se kontinuiran pad udjela *C*. spp. tj. neidentificiranih non-*albicans* vrsta tako da ih je 2015. godini bilo svega 12%. S druge strane, zabilježen je značajan rast broja izolata *C. parapsilosis* u cijelom promatranom razdoblju tako da 2011. godine nije bio izoliran iz hemokultura niti jedan soj *C. parapsilosis*, a u 2015. godini iz hemokultura je izolirano 18 takvih sojeva (od ukupno 38 non-*albicans*) što znači da na *C. parapsilosis* otpada 72% svih non-*albicans* vrsta kandida izoliranih iz hemokultura (Tablica1; Slika 3.).

Godina	*C. glabrata* (%)	*C. parapsilosis* (%)	*C. tropicalis* (%)	*C.* spp. (%)
2011.	0.00%	0.00%	0.00%	100.00%
2012.	25.00%	12.50%	0.00%	62.50%
2013.	12.00%	20.00%	0.00%	68.00%
2014.	5.88%	58.82%	0.00%	35.29%
2015.	12.00%	72.00%	4.00%	12.00%

Tablica 1. Udio pojedinih non-*albicans* vrsta izoliranih iz hemokultura u razdoblju od 2011. do 2015. godine.

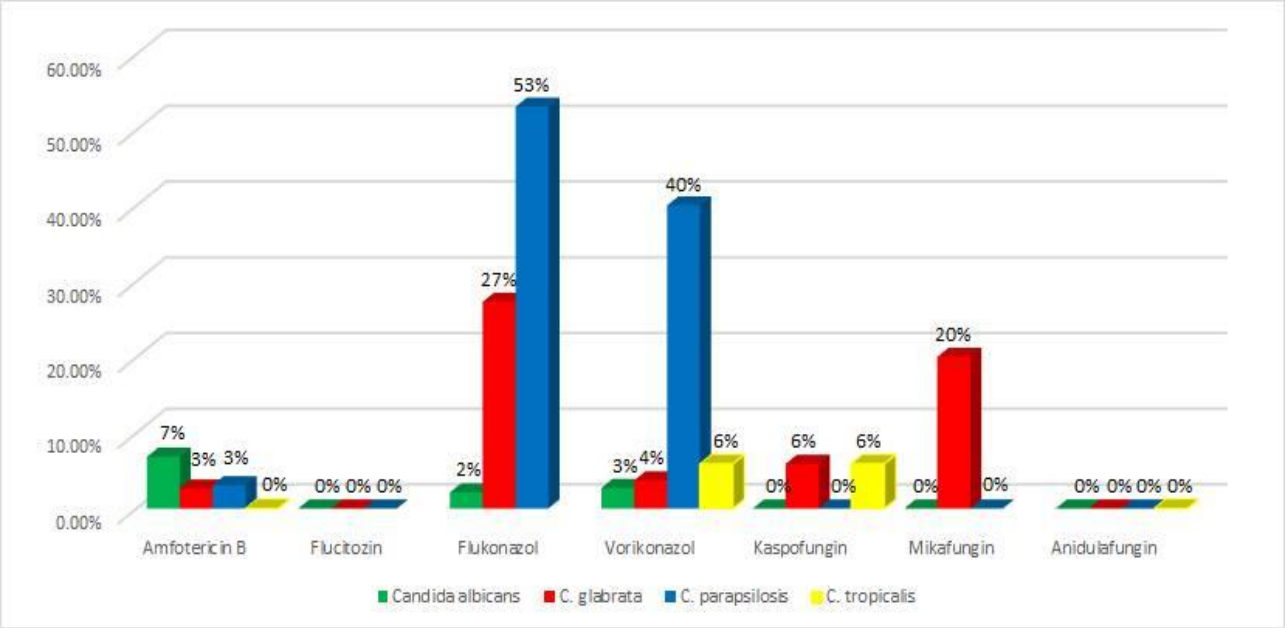
Dok je 2011. godine. *C. albicans* bila najčešći izolat iz hemokultura, a u toj godini iz hemokultura nije bio izoliran niti jedan soj *C. parapsilosis* (Slika 5.), 2015. godine je situacija posve obrnuta jer je *C. parapsilosis* najčešća vrsta kandide izolirana iz hemokultura (Slika 6.).



Slika 6. Raspodjela pojedinih vrsta kandida u skupini non-*albicans* izolata iz hemokultura kroz promatrano razdoblje od 2011. do 2015. godine (%).

Za sojeve *C. albicans* i non-*albicans* izolirane iz uzoraka hemokultura i drugih primarno sterilnih uzoraka određivana je osjetljivost na antifungike amfotericin B, flukonazol, flucitozin, vorikonazol, mikafungin, kaspofungin i anidulafungin. Postotak rezistencije pojedinih vrsta kandida na antifungike prikazan je na Slici 7. Na amfotericin B je bilo rezistentno 7% sojeva *C. albicans* te po 3% sojeva *C. glabrata* i *C. parapsilosis.* Na flucitozin nije zabilježena rezistencija. Na flukonazol je bilo rezistentno 53% sojeva *C. parapsilosis* te 27% sojeva *C. glabrata*. Za *C. parapsilosis* je utvrđena rezistencija na vorikonazol od 40% dok na ehinokandine nije zabilježena rezistencija ove vrste kandide. Na slici 7. je također vidljivo da je ustanovljena rezistencija sojeva *C. glabrata* i *C. tropicalis* na ehinokandine ali taj podatak treba uzeti s rezervom jer je broj testiranih sojeva malen. Primjerice, rezistencija *C. glabrate* na mikafungin je 20% no taj podatak je dobiven na temelju testiranja samo 10 sojeva od kojih su 2 bila rezistentna na mikafungin tako da taj uzorak nije reprezentativan.

Statističkom analizom je ustanovljeno da su non-*albicans* vrste, među kojima je najučestalija C. parapsilosis, statistički značajno rezistentnije na flukonazol u usporedbi sa *C.albicans* ($p<0.05$).



Slika 7. Rezistencija na antifungike pojedinih vrsta roda *Candida* u promatranom uzorku (%).

5. RASPRAVA

Zadnjih dvadesetak godina povećala se učestalost gljivičnih infekcija diljem svijeta, a isto tako i učestalost invazivnih infekcija - kandidemija. Iako je vodeći uzrok kandidemija u raznim regijama *C. albicans,* sve češće se iz hemokultura izoliraju pripadnici tzv. non-*albicans* vrsta (39,48). Kvasci iz roda *Candida* sve češće su povezani sa porastom morbiditeta i mortaliteta, posebno u imunokompromitiranih pacijenata (48). Smatra se da je toj pojavi doprinijela upotreba flukonazola te sve veća upotreba intravenskih katetera (49). Pet najčešćih vrsta kandida koje uzrokuju čak 92% kandidemija su *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis* i *C. krusei* (47,48).

U ovom retrospektivnom istraživanju prikazana je učestalost i podaci o rezistenciji na antifungike uzročnika kandidemija u KBC-u Split kroz razdoblje od pet godina, od 2011. do 2015. godine. U tom periodu ukupno je izolirano 4 763 soja kandida od kojih je 149 izolirano iz ǂ hemokultura. Analizom svih uzoraka iz kojih su izolirane kandide utvrđeno je da je *C. albicans* i dalje najčešći izolat jer je 62% svih izolata kandida identificirano kao *C. albicans* dok su non-*albicans* vrste zastupljene sa 38%. Kada se analiziraju izolati iz svih uzoraka, primarno sterilnih i primarno nesterilnih, ovi podaci ne odudaraju od podataka iz literature. Primjerice, rezultati tzv. ARTEMIS DISK Global Antifungal Surveillance studije koja je od 1997-2000. godine provedena u 41 zemlji i obuhvatila 198 000 sojeva kandida ukazuju da je 29% non-*albicans* kandida izolirano iz ukupnih uzoraka. Vremenom se trend postupno mijenjao u korist sve većeg udjela non-*albicans* kandida pa je najveći udio non-*albicans* sojeva zabilježen u periodu 2001.-2004. godine (37,01%) da bi, zaključno sa 2007. godinom, postotak non-*albicans* kandida iznosio 34,7% (47,48).

U ovom istraživanju je, među kandidama izoliranim samo iz hemokultura, postotak *C. albicans* 38%, a non-*albicans* 62%. Rezultati ovog istraživanja pokazuju statistički značajan trend smanjenja udjela sojeva *C. albicans* te povećanje udjela non-*albicans* vrsta u uzorcima hemokultura u KBC-u Split.

Vezano za sojeve izolirane iz hemokultura, u nama susjednoj Italiji, te geografski i klimatski sličnoj Španjolskoj, u razdoblju od 2008. do 2010. godine zabilježen je udio od 41,6% non-*albicans* kandida kao uzročnika kandidemije (49). U usporedbi s tim podatcima, u KBC-u Split je udio non-*albicans* kandida izoliranih iz hemokultura značajno veći (62%). Naši rezultati su usporedivi npr. s rezultatima iz Šangaja u razdoblju 2008.-2009. godine gdje su non-*albicans* vrste imale udio od 62,8% (10).

Pojedinačno najučestalija non-*albicans* vrsta kandide u vremenu od 2011. do 2015. godine u KBC-u Split je bila *C. parapsilosis.* Od ukupno 149 izolata kandida iz hemokultura, 23,48% otpada na *C. parapsilosis* dok je među non-*albicans* vrstama prednjačila sa učestalošću od 37,68%. Svakako treba istaknuti da je *C. parapsilosis* 2015. godine bila najčešće izolirana kandida iz hemokultura. Slično stanje je opisano u talijanskim bolnicama ili u području Južne Amerike. Sve veći broj izolata *C. parapsilosis* iz hemokultura može se objasniti čimbenicima vezanim upravo za bolničku sredinu, sposobnošću ove kandide da kolonizira gastrointestinalni sustav te činjenicom da se uglavnom radi o bolesnicima iz JIL-a koji imaju katetere i druga strana tijela te bolesnicima na parenteralnoj prehrani (49). Iako *C. parapsilosis* nije posebno virulentna, poznata je činjenica da ova kandida uspješno kolonizira ruke bolničkog osoblja te, u uvjetima slabije kontrole bolničkih infekcija može uzrokovati i epidemije. Također pokazuje sposobnost stvaranja biofilma što je značajno i za uspješnost antifungalne terapije. Ovaj porast broja izolata *C. parapsilosis* tijekom razdoblja praćenja je veoma značajan zbog terapijsko prognostičkih smjernica jer ova vrsta kandide pokazuje visoku rezistenciju na neke antifungike, prvenstveno flukonazol koji se dugo koristio kao profilaktički antifungik. Izolati *C. parapsilosis* u KBC-u Split su u zabrinjavajuće visokom postotku rezistentni na flukonazol (53%). Prema rezultatima SENTRY studije (program praćenja mikrobioloških uzročnika iz bolničkih centara u različitim regijama svijeta) koja je pratila svjetska kretanja rezistencije pojedinih kvasaca od siječnja 2008. do prosinca 2009. godine, 6,8% sojeva *C. parapsilosis* je bilo rezistentno na flukonazol (50).

Nadalje, rezistencija *C. parapsilosis* na vorikonazol u KBC-u Split iznosila je 40%, dok je u SENTRY studiji nije bila zabilježena (50). Što se tiče ehinokandina, u ovom istraživanju ustanovili smo da nije bilo rezistencije *C. parapsilosis* na tu skupinu antifungika, što je istovjetno rezultatima SENTRY studije (50). Međutim, valja napomenuti da je kod nas zastupljena veća stopa intermedijarne osjetljivosti na ehinokandine. Primjerice, na mikafungin je bilo intermedijarno osjetljivo 58,3% izolata *C. parapsilosis*, na anidulafungin 47,4% te kaspofungin 31,7%.**r**Flucitozin se i za naše izolate pokazao kao vrlo učinkovit antifungik, jer na taj antifungik nije bio rezistentan nijedan soj, što ne odstupa od rezultata u svijetu (10).

Uz flucitozin, i amfotericin B se pokazao učinkovitim prema *C. parapsilosis.* Rezistencija na amfotericin B je kod nas 3% što ne odstupa od svjetskih podataka u kojima je rezistencija na amfotericin B bila od 0 do 5% (9,10).

Sljedeća po učestalosti kao uzročnik kandidemije među non-*albicans* kandidama je *C. glabrata* (11 izolata, 7,38%). Što se osjetljivosti na antifungike tiče, *C. glabrata* kod nas ima stopu rezistencije na flukonazol od 27,27%. Ovaj stupanj rezistencije je viši nego onaj zabilježen u SENTRY studiji (do 6,3%) (50) te sličan kao u u Indiji, gdje je rezistencija *C. glabrata* na flukonazol iznosila 40,8% (9). Rezistencija ove kandide na vorikonazol u KBC-u Split je niska (1%), a također i na ehinokandine. Na kaspofungin je rezistentno 6,25% dok je u SENTRY studiji rezistencija *C. glabrata* na kaspofungin bila do 3,4% (50).

Među sojevima *C. tropicalis* nije bilo rezistentnih na amfotericin B, dok je na flukonazol bilo rezistentno 10,5%, a na vorikonazol 5,8% sojeva.

Iz svega navedenog može se zaključiti da je *C. albicans* najčešće izolirana vrsta kandide u KBC-u Split u ispitivanom periodu kada se analiziraju sve vrste uzoraka. Što se tiče izolata iz hemokultura, od 2012. godine među tim izolatima kandida prevladavaju non-*albicans* vrste a među njima je trenutno najčešća *C. parapsilosis*. Dok su sojevi *C. albicans* dobro osjetljivi na testirane antifungike, sojevi *C. parapsilosis* pokazuju visoku stopu rezistencije na flukonazol i vorikonazol. Kako su sojevi *C. parapsilosis* mahom izolirani u odraslih bolesnika iz JIL-a, važno je preporučiti da se u slučaju hemokulture pozitivne na prisustvo kvasaca u ovih bolesnika kao terapija izbora koriste ehinokandini te nakon završene identifikacije soja, eventualno promijeni prema mikrobiološkom nalazu.

Svakako je važno i daljnje praćenje lokalne epidemiološke situacije što se tiče uzročnika kandidemija te praćenje osjetljivosti pojedinih vrsta kandida na antifungike.

6. ZAKLJUČCI

1. U razdoblju od 2011. do 2015. godine u Kliničkom zavodu za mikrobiologiju i parazitologiju KBC-a Split izolirano je ukupno 4763 sojeva kandida.
2. *C. albicans* je bila najčešći izolat u ukupnom broju izolata (62%).
3. Od ukupnog broja izolata, 149 je izolirano iz hemokultura. Od toga je 56 (38%) identificirano kao *C. albicans,* a 93 (62%) kao non-*albicans* vrste.
4. U ispitivanom razdoblju, među uzročnicima kandidemije postoji statistički značajan trend pomaka prema non-*albicans* vrstama.
5. Najčešća non-*albicans* vrsta izolirana iz hemokultura u KBC Split je *C. parapsilosis*
6. Dokazana je statistički značajno veća rezistencija non-*albicans* vrsta na flukonazol u odnosu na *C. albicans*.
7. Zbog navedene učestalosti te naročito visoke rezistencije *C. parapsilosis* trebalo bi kod sumnje na non-*albicans* kandidemiju empirijski započeti terapiju ehinokandinima. Ako se naknadno utvrdi da je uzročnik *C. albicans* može se prijeći sa skupih ehinokandina na flukonazol („step down“ terapija).
8. Potrebno je daljnje praćenje trenda uzročnika kandidemija te osjetljivosti na antifungike kako bi se dobili dugoročniji podaci.

7. LITERATURA

1. Delaloye J, Calandra T. Invasive candidiasis as a cause of sepsis in the critically ill patient. Virulence. 2014 Jan 1;5(1):161-9.
2. Glockner A, Cornely AO. Practical cosiderations on current guidelines for the managment of non-neutropenic adult patients with candidaemia. Mycoses. 2013 Jan;56(1):11-20.
3. Mitchell TG. Mikologija. U: Brooks GF, Carroll KC, Butel JS, Morse SA. Jawetz, Melnick, Adelberg Medicinska mikrobiologija. 26 izd. New York: McGraw-Hill Medical; 2012. Tonkić M, Dobec M, Abram M, prevoditelji. 1. hrv. izd. Placebo: Split 2015. str. 676.
4. Sardi JC, Scorzoni L, Bernardi T, Fusco-Almeida AM, Mendes Giannini MJS. *Candida* species: current epidemiology, pathogenicity, biofilm formation, natural antifungal products and new therapeutic options. J Med Microbiol. 2013 Jan;62(Pt 1):10-24.
5. Sardi JC, Pitangui NS, Gullo FP, Mendes Giannini MJS. A Mini Review of *Candida* Species in Hospital Infection: Epidemiology,Virulence Factor and Drugs Resistance and Prophylaxis. Trop Med Surg. 2013 Sep;1:141.
6. Mitchell TG. Mikologija.U: Brooks GF, Carroll KC, Butel JS, Morse SA. Jawetz, Melnick, Adelberg Medicinska mikrobiologija. 26 izd.New York: McGraw-Hill Medical; 2012.Tonkić M, Dobec M, Abram M, prevoditelji. 1. hrv. izd. Placebo: Split 2015. str 674.
7. Mitchell TG. Mikologija. U: Brooks GF, Carroll KC, Butel JS, Morse SA. Jawetz, Melnick, Adelberg Medicinska mikrobiologija. 26 izd. New York: McGraw-Hill Medical; 2012. Tonkić M, Dobec M, Abram M, prevoditelji. 1. hrv. izd. Placebo: Split 2015. str. 694.
8. Silva S, Negri M, Henriques M, Oliveira R, Williams DW, Azeredo J. *Candida glabrata, Candida parapsilosis*and *Candida tropicalis*: biology, epidemiology, pathogenicity and antifungal resistance. FEMS Microbiol Rev. 2012 Mar;36(2):288-305.
9. Deorukhkar SC, Saini S, Mathew S. Non-albicans *Candida* Infection: An Emerging Threat. Interdiscip Perspect Infect Dis. 2014;2014:615958.
10. Yang ZT, Wu L, Liu XY,Zhou M, Li J,Wu JY i sur. Epidemiology, species distribution and outcome of nosocomial *Candida* spp. bloodstream infection in Shanghai. BMC Infect Dis. 2014 May 6;14:241.

11. Kabir MA, Hussain MA, Ahmad Z. Candida albicans: A Model Organism for Studying Fungal Pathogens. ISRN Microbiol. 2012 Sep 29;2012:538694.
12. Mayer FL,Wilson D,Hube B. *Candida albicans* pathogenicity mechanisms. Virulence. 2013 Feb 15;4(2):119-28.
13. Mitchell TG. Mikologija. U: Brooks GF, Carroll KC, Butel JS, Morse SA. Jawetz, Melnick, Adelberg Medicinska mikrobiologija. 26 izd. New York: McGraw-Hill Medical; 2012. Tonkić M, Dobec M, Abram M, prevoditelji. 1. hrv. izd. Placebo: Split 2015. str. 695.
14. Xie Z, Thompson A, Sobue T, Kashleva H, Xu H, Vasilakos J i sur. *Candida albicans* Biofilms Do Not Trigger Reactive Oxygen Species and Evade Neutrophil Killing. J Infect Dis. 2012 Dec 15;206(12):1936-45.
15. Kumamoto CA. Molecular mechanisms of mechanosensing and their roles in fungal contact sensing. Nat Rev Microbiol. 2008 Sep;6(9):667-73.
16. Naglik JR, Challacombe SJ, Hube B. *Candida albicans* Secreted Aspartyl Proteinases in Virulence and Pathogenesis. Microbiol Mol Biol Rev. 2003 Sep;67(3):400-28.
17. Wächtler B, Citiulo F, Jablonowski N, Forster S, Dalle F, Schaller M i sur. *Candida albicans*-Epithelial Interactions: Dissecting the Roles of Active Penetration, Induced Endocytosis and Host Factors on the Infection Process. PLoS One. 2012;7(5):e36952.
18. De Bernardis F, Mühlschlegel FA, Cassone A, Fonzi WA. The pH of the Host Niche Controls Gene Expression in and Virulence of *Candida albicans*.Infect Immun. 1998 Jul;66(7):3317-25.
19. Almeida RS, Brunke S, Albrecht A, Thewes S, Laue M, Edwards JE i sur. The Hyphal-Associated Adhesin and Invasin Als3 of *Candida albicans* Mediates Iron Acquisition from Host Ferritin. PLoS Pathog. 2008 Nov;4(11):e1000217.
20. Almeida RS, Wilson D, Hube B. *Candida albicans* iron acquisition within the host. FEMS Yeast Res. 2009 Oct;9(7):1000-12.
21. Martchenko M, Alarco AM, Harcus D, Whiteway M. Superoxide Dismutases in *Candida albicans*: Transcriptional Regulation and Functional Characterization of the Hyphal-induced SOD5 Gene. Mol Biol Cell. 2004 Feb;15(2):456-67.
22. Wysong DR, Christin L, Sugar AM, Robbins PW, Diamond RD. Cloning and Sequencing of a *Candida albicans* Catalase Gene and Effects of Disruption of This Gene. Infect Immun. 1998 May;66(5):1953-61.

23. Monge RA, Román E, Nombela C, Pla J. The MAP kinase signal transduction network in *Candida albicans*. Microbiology. 2006 Apr;152(Pt 4):905-12.
24. Hromatka BS, Noble SM, Johnson AD. Transcriptional response of *Candida albicans* to nitric oxide and the role of the YHB1 gene in nitrosative stress and virulence. Mol Biol Cell. 2005 Oct;16(10):4814-26.
25. Cowen LE, Singh SD, Köhler JR, Collins C, Zaas AK, Schell WA i sur. Harnessing Hsp90 function as a powerful, broadly effective therapeutic strategy for fungal infectious disease. Proc Natl Acad Sci USA. 2009 Feb 24;106(8):2818-23.
26. Fiori A, Kucharíková S, Govaert G, Cammue BP, Thevissen K, Van Dijck P. The heat-induced molecular disaggregase Hsp104 of *Candida albicans* plays a role in biofilm formation and pathogenicity in a worm infection model. Eukaryot Cell. 2012 Aug;11(8):1012-20.
27. Pappas PG, Kauffman CA, Andes D, Benjamin DK Jr, Calandra TF, Edwards JE Jr i sur. Clinical practice guidelines for the management of candidiasis: 2009 update by the Infectious Diseases Society of America. Clin Infect Dis. 2009 Mar 1;48(5):503-35.
28. Maiolo EM, Furustrand Tafin U, Borens O, Trampuz A. Activities of Fluconazole, Caspofungin, Anidulafungin, and Amphotericin B on Planktonic and Biofilm *Candida* Species Determined by Microcalorimetry. Antimicrobial Agents and Chemotherapy. Antimicrob Agents Chemother. 2014 May;58(5):2709-17.
29. Vazquez J, Reboli AC, Pappas PG, Patterson TF, Reinhardt J, Chin-Hong P i sur. Evaluation of an early step-down strategy from intravenous anidulafungin to oral azole therapy for the treatment of candidemia and other forms of invasive candidiasis: results from an open-label trial. BMC Infect Dis. 2014 Feb 21;14:97.
30. Shepard D, Lampiris HW. Antifungal agents. U: Katzung BG, Masters SB, Trevor AJ. Basic and clinical pharmacology. 12. izd. New York: McGraw-Hill Medical; 2012. 849-53 str.
31. Shepard D, Lampiris HW. Antifungal agents. U: Katzung BG, Masters SB, Trevor AJ. Basic and clinical pharmacology. 12. izd. New York: McGraw-Hill Medical; 2012.852-3 str.
32. Mitchell TG. Mikologija. U: Brooks GF, Carroll KC, Butel JS, Morse SA. Jawetz, Melnick, Adelberg Medicinska mikrobiologija. 26 izd. New York: McGraw-Hill

Medical; 2012. Tonkić M, Dobec M, Abram M, prevoditelji. 1. hrv. izd. Placebo: Split 2015. str. 696.

33. Abdelhamed AM, Zhang SX, Watkins T, Morgan MA, Wu F, Buckner RJ i sur. Multicenter Evaluation of *Candida* QuickFISH BC for Identification of *Candida* Species Directly from Blood Culture Bottles. J Clin Microbiol. 2015 May;53(5):1672-6.
34. Clancy CJ, Nguyen MH. Finding the "missing 50%" of invasive candidiasis: how nonculture diagnostics will improve understanding of disease spectrum and transform patient care. Clin Infect Dis. 2013 May;56(9):1284-92.
35. Mitchell TG. Mikologija. U: Brooks GF, Carroll KC, Butel JS, Morse SA. Jawetz, Melnick, Adelberg Medicinska mikrobiologija. 26 izd. New York: McGraw-Hill Medical; 2012. Tonkić M, Dobec M, Abram M, prevoditelji. 1. hrv. izd. Placebo: Split 2015. str. 697.
36. Avni T, Leibovici L, Paul M. PCR Diagnosis of Invasive Candidiasis: Systematic Review and Meta-Analysis. J Clin Microbiol. 2011 Feb;49(2):665-70.
37. Stender H, Fiandaca M, Hyldig-Nielsen JJ, Coull J. PNA for rapid microbiology. J Microbiol Methods. 2002 Jan;48(1):1-17.
38. Kim HJ, Brehm-Stecher BF. Design and Evaluation of Peptide Nucleic Acid Probes for Specific Identification of *Candida albicans*. J Clin Microbiol. 2015 Feb;53(2):511-21.
39. Fortún J, Martín-Dávila P, Gómez-García de la Pedrosa E, Pintado V, Cobo J, Fresco G i sur. Emerging trends in candidemia: a higher incidence but a similar outcome. J Infect. 2012 Jul;65(1):64-70.
40. Wang H, Liu N, Yin M, Han H, Yue J, Zhang F, i sur. The epidemiology, antifungal use and risk factors of death in elderly patients with candidemia: a multicentre retrospective study. BMC Infect Dis. 2014 Nov 25;14:609.
41. Ng KP, Kuan CS, Kaur H, Na SL, Atiya N, Velayuthan RD. *Candida* species epidemiology 2000-2013: a laboratory-based report. Trop Med Int Health. 2015 Nov;20(11):1447-1453.
42. Falagas ME, Roussos N, Vardakas KZ. Relative frequency of albicans and the various non-albicans *Candida* spp. among candidemia isolates from inpatients in various parts of the world: a systematic review. Int J Infect Dis. 2010 Nov;14(11):e954-66.

43. Barchiesi F, Orsetti E, Gesuita R, Skrami E, Manso E. Epidemiology, clinical characteristics, and outcome of candidemia in a tertiary referral center in Italy from 2010 to 2014. Infection. 2016 Apr;44(2):205-13.
44. Savage RD, Fowler RA, Rishu AH, Bagshaw SM, Cook D, Dodek P i sur. The Effect of Inadequate Initial Empiric Antimicrobial Treatment on Mortality in Critically Il Patients with Bloodstream Infections: A Multi-Centre Retrospective Cohort Study. PLoS One. 2016 May 6;11(5):e0154944.
45. Ericson JE, Benjamin DK. Fluconazole prophylaxis for prevention of invasive candidiasis in infants. Curr Opin Pediatr. 2014 Apr;26(2):151-6.
46. Zilberberg M, Yu HT, Chaudhari P, Emons MF, Khandelwal N, Shorr AF. Relationship of fluconazole prophylaxis with fungal microbiology in hospitalized intra-abdominal surgery patients: a descriptive cohort study. Crit Care. 2014 Oct 29;18(5):590.
47. Pfaller MA, Diekema DJ, Gibbs DL,Newell VA, Ellis D, Tullio V i sur. Results from the ARTEMIS DISK Global Antifungal Surveillance Study, 1997 to 2007: a 10.5-Year Analysis of Susceptibilities of *Candida* Species to Fluconazole and Voriconazole as Determined by CLSI Standardized Disk Diffusion. J Clin Microbiol. 2010 Apr; 48(4): 1366–1377.
48. Guinea J. Global trends in the distribution of *Candida* species causing candidemia.Clin Microbiol Infect. 2014 Jun;20 Suppl 6:5-10.
49. Bassetti M, Merelli M, Righi E, Diaz-Martin A, Rosello EM, Luzzati R i sur. Epidemiology, Species Distribution, Antifungal Susceptibility, and Outcome of Candidemia across Five Sites in Italy and Spain. J Clin Microbiol. 2013 Dec; 51(12): 4167–4172.
50. Pfaller MA, Messer SA, Moet GJ, Jones RN, Castanheira M.Candida bloodstream infections: comparison of species distribution and resistance to echinocandin and azole antifungal agents in Intensive Care Unit (ICU) and non-ICU settings in the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (2008-2009).Int J Antimicrob Agents. 2011 Jul;38(1):65-9.

8. SAŽETAK

CILJ ISTRAŽIVANJA: Cilj ovog istraživanja je utvrditi koji su najčešći uzročnici kandidemije u KBC-u Split u periodu od 5 godina (2011. - 2015. godine), postoji li trend povećanja broja izolata non-*albicans* vrsta u odnosu na broj izolata *C. albicans* te kakva je osjetljivost pojedinih vrsta kandida koje uzrokuju kandidemiju na najčešće korištene antifungike.

MATERIJALI I METODE: U ovom retrospektivnom istraživanju korišteni su podatci iz arhiva Kliničkog zavoda za mikrobiologiju i parazitologiju KBC-a Split za razdoblje od 2011. do 2015. godine o izolatima kandida i njihovoj osjetljivosti na antifungike. Analizirana su 4763 izolata kandida, od kojih je 149 izolirano iz hemokultura. Pri obradi podataka korištena je metoda analize rasta ili pada trenda (eksponencijalni trend). U testiranju razlike u proporcijama korišten je jednosmjerni Z test. Za testiranje reprezentativnosti uzoraka korištena je ANOVA metoda. Za analizu je korišten statistički program STATISTICA 12.

REZULTATI: U ispitivanom razdoblju, među ukupnim izolatima kandida, *C. albicans* je bila najčešći izolat (62%). Među sojevima kandida izoliranim iz hemokultura ustanovljen je trend smanjenja udjela *C. albicans* (38%) i značajno povećanje udjela non-*albicans* vrsta na 62% (p=0.001766). Od non-*albicans* vrsta najčešće je bila izolirana *C. parapsilosis* (24%). *C. albicans* je pokazala dobru osjetljivost na testirane antifungike. Izolati *C. parapsilosis* su bili najrezistentniji na flukonazol (53%), dok je rezistencija na vorikonazol bila 40%. Rezistencija *C. glabrata* na flukonazol iznosi 27%.

ZAKLJUČAK: Analizom svih izolata u ispitivanom razdoblju ustanovljeno je da je *C. albicans* i dalje najčešći izolat u KBC Split. Također je ustanovljen trend povećanja non-*albicans* vrsta kandida kao uzročnika kandidemije među kojima trenutno prevladava *C. parapsilosis*. Non-*albicans* vrste, posebno *C. parapsilosis*, su otpornije od *C.albicans* na antifungike, prvenstveno na flukonazol, stoga se preporučuje da se, pri sumnji na non-*albicans* kandidemiju, u terapiji koriste ehinokandini. Ukoliko se naknadno utvrdi da se radi o *C. albicans* trebalo bi ehinokandine zamijeniti azolima. Važno je daljnje praćenje lokalne epidemiološke situacije uzročnika kandidemija te posebno praćenje osjetljivosti pojedinih vrsta kandida na antifungike.

9. SUMMARY

AIM OF THE STUDY: Aim of this study is to determine the frequency of *Candida* spp. causing the candidemia in University Hospital Centre Split during the period of 2011. - 2015. and also to determine if there is a trend of an increase of the non-*albicans* isolates, and antifungal sensitivity of a species causing the candidemia.

PATIENTS AND METHODS: In this retrospective study data has been used from the archive of Department for Microbiology and Parasitology, University Hospital Centre Split, about *Candida* isolates and their antifungal resistance pattern during the period 2011.-2015. Overall, 4763 isolates were analyzed of which 149 isolates were from the hemoculture. For data analysis a method of an increase and a decrease in a trend (the exponential trend method) was used. Difference in a proportion has been tested with the one way Z test. Representativeness of a method was tested with the ANOVA method. Statistical analysis has been performed with the STATISTICA 12.

RESULTS: In the studied period *C. albicans* is still the main cause of a candidemia (62%). When considering the hemoculture, we found that there is a decrease of *C. albicans* (38%) and an increase in the non-*albicans* (62%) species (p=0.001766). The most frequently isolated non-*albicans* species was *C. parapsilosis* (24%). *C. albicans* showed good sensitivity to the antifungal agents tested. *C. parapsilosis* isolates showed highest resistance to fluconazole (53%). Furthermore, *C. parapsilosis* isolates showed 40% resistance rate to voriconazole and *C. glabrata* strains showed 27% resistance rate to fluconazole.

CONCLUSION: When the overall *Candida* isolates are analyzed it is established that *C. albicans* is still the most frequent isolate in University Hospital Centre Split. When considering the isolates from the hemocultures it is established that there is a trend of an increase in the non-*albicans* species from which the most frequent is *C. parapsilosis*. Non-*albicans* species, especially *C. parapsilosis* showed higher resistance to the antifungal agents, primarily fluconazole, so we recomend usage of the echinocandins when the non-*albicans* candidemia is suspected. If a cause of the candidemia is identified as *C. albicans*, echinocandins should be replaced with the azoles. Local epidemiological surveillance of a causative agents of a candidemia is important and also a surveillance of a sensitivity of the *Candida* spp. to the antifungal agents.

10. ŽIVOTOPIS

OSOBNI PODATCI

Ime i prezime: Ivan Šustić

Datum i mjesto rođenja: 16.05.1991. godine, Split

Državljanstvo: hrvatsko

Adresa stanovanja: Šustići 123, 21227 Primorski Dolac

Mobitel: 092/298-9817

E-adresa: ivan.sustic2@gmail.com

OBRAZOVANJE

2010. - 2016. Sveučilište u Splitu, Medicinski fakultet

2006. - 2010. V.gimnazija „Vladimir Nazor“, Split

1998. - 2006. Osnovna škola „Primorski Dolac“, Primorski Dolac

Ostalo

Engleski jezik: aktivno

Njemački jezik: pasivno