

Univerzita Karlova v Praze
Farmaceutická fakulta v Hradci Králové
Katedra biologických a lékařských věd



**NÁLEZY KVASINEK V KRVÍ PACIENTŮ HOSPITALIZOVANÝCH
VE FAKULTNÍ NEMOCNICI HRADEC KRÁLOVÉ**

Diplomová práce

Hradec Králové, 2014

Bc. Dagmar Pantůčková

Prohlášení:

„Prohlašuji, že tato práce je mým původním autorským dílem. Veškerá literatura a další zdroje, z nichž jsem při zpracování čerpala, jsou uvedeny v seznamu použité literatury a v práci řádně citovány. Práce nebyla použita k získání jiného nebo stejného titulu.“

V Hradci Králové dne:

.....

Dagmar Pantůčková

Poděkování:

Chtěla bych poděkovat doc. RNDr. Vladimíru Buchtovi, CSc. z Ústavu klinické mikrobiologie Fakultní nemocnice Hradec Králové, za jeho odborné vedení po celou dobu mé diplomové práce, za poskytnutí informací, cenných rad a připomínek. Děkuji za věnovaný čas, ochotu a trpělivost, kterou mi poskytl společně s dalšími pracovníky ÚKM FN Hradec Králové.

ABSTRAKT

Univerzita Karlova v Praze

Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra biologických a lékařských věd

Autor: Bc. Dagmar Pantůčková

Vedoucí práce: doc. RNDr. Vladimír Buchta, CSc.

Název diplomové práce: Nálezy kvasinek v krvi pacientů hospitalizovaných ve Fakultní nemocnici Hradec Králové

Studijní obor: Odborný pracovník v laboratorních metodách

Cíl práce: Cílem práce bylo získat informace o četnosti výskytu kvasinek v krvi pacientů Fakultní nemocnice v Hradci Králové v období 2005 až 2013 s ohledem na druhové spektrum, citlivost k antimykotikům, věk, pohlaví, diagnózu a kliniku, kde byli tito pacienti hospitalizováni.

Metoda: Sběr, zpracování a vyhodnocení mikrobiologických dat ze záznamů laboratorního informačního systému mykologické laboratoře Ústavu klinické mikrobiologie Fakultní nemocnice Hradec Králové v letech 2005 až 2013.

Výsledky: Celkem bylo vyhodnoceno 71 pacientů s 81 izoláty kvasinek z krve. Mezi pacienty bylo zastoupeno 39 mužů (54,9 %) a 32 žen (45,1 %). Nejvíce rizikovou skupinou pacientů byla věková kategorie 60 až 79 let s 32 nálezy (45,1 %). Nejčastějším onemocněním v souvislosti s izolací kvasinky v krvi byly nemoci trávicí soustavy (23,6 %) a malignity (20,8 %). Většina (78,9 %) pacientů byla hospitalizována na jednotce intenzivní péče (JIP). Dominantní postavení mezi izoláty zaujímala *Candida albicans* (50,7 %) následovaná *C. glabrata* (12,7 %) a *C. parapsilosis* (8,5 %). Získané údaje o minimální inhibiční koncentraci těchto 3 druhů svědčí o jejich poměrně dobré citlivosti k flukonazolu. V 8 případech (11,2 %) byli z krve izolováni zástupci rodu *Cryptococcus*, *Geotrichum* a *Trichosporon*.

Závěr: Kandidy byly nejčastěji izolovanými kvasinkami z krve. Většinu postižených tvořili pacienti ve vyšším věku anebo s oslabenou obranyschopností. Jejich léčba by měla vycházet ze stanovení *in vitro* citlivosti k antimykotikům.

Klíčová slova: krev, kvasinky, *Candida*, kandidémie, antimykotika

ABSTRACT

Charles University in Prague

Faculty of Pharmacy in Hradec Králové

Department of Biological and Medical Sciences

Author: Bc. Dagmar Pantůčková

Supervisor: Assoc. Prof. Vladimír Buchta, M.S., Ph.D.

Title of diploma thesis: Yeasts isolated from the blood of patients hospitalized in University Hospital Hradec Králové

Field of study: Specialist in laboratory methods

Background: The aim of the work was to obtain informations about the incidence of yeasts in the blood of patients University Hospital Hradec Králové in period of 2005 to 2013, with regard to species spectrum, susceptibility to antifungals, age, sex, diagnosis and clinic, where these patients were hospitalized.

Method: Collection, processing and evaluation of microbiological data of the records of laboratory information system of mycological laboratory of the Department of Clinical Microbiology University Hospital Hradec Králové from 2005 to 2013.

Results: 71 patients were evaluated with 81 yeast strains isolated from the blood. Of the patients 39 (54.9 %) were males and 32 (45.1 %) females. The subgroup at the highest risk of fungemia was age category 60 to 79 years with 32 (45.1 %) findings. The most common diseases in the context of isolation yeast from the blood were diseases of the digestive system (23.6 %) and malignancies (20.8 %). Majority (78.9 %) of patients were hospitalized in the intensive care unit (ICU). *Candida albicans* (50.7 %) followed by *C. glabrata* (12.7 %) and *C. parapsilosis* (8.5 %) predominated among the blood isolates. The data obtained about the minimal inhibitory concentration by these three species suggested relatively good susceptibility to fluconazole. The representatives of genus *Cryptococcus*, *Geotrichum* and *Trichosporon* were isolated from the blood in 8 cases (11.2%).

Conclusion: *Candida* species were the most frequently isolated yeasts from the blood. The majority of patients with fungemia was in higher age or immunocompromised patients. Their treatment should be based on the assessment of *in vitro* antifungal susceptibility.

Keywords: blood, yeasts, *Candida*, candidemia, antifungal drugs

POUŽITÉ SYMBOLY A ZKRATKY

HIV	virus lidské imunodeficiency
IDSA	Infectious Diseases Society of America
JIP	jednotka intenzivní péče
MIC	minimální inhibiční koncentrace
PCR	polymerázová řetězová reakce
USA	Spojené státy americké

OBSAH

1 ÚVOD	9
2 ZADÁNÍ – CÍL PRÁCE	10
I TEORETICKÁ ČÁST	11
3 HOUBOVÉ INFEKCE	11
3.1 Dělení houbových infekcí.....	12
3.2 Původci houbových infekcí	13
3.2.1 Vláknité houby	13
3.2.2 Kryptokoky	14
3.2.3 Mukormycety	15
3.2.4 Kandidy.....	15
3.2.4.1 Dělení kandidóz	16
4 KANDIDÉMIE	17
4.1 Definice pojmů.....	17
4.2 Vývoj kandidémie	17
4.3 Rizikové faktory kandidémie	18
4.3.1 Dlouhodobá léčba antibiotiky	18
4.3.2 Intravaskulární a centrální žilní katétry	19
4.3.3 Celková parenterální výživa.....	19
4.3.4 Předchozí operace.....	19
4.3.5 Kolonizace	19
4.3.6 Maligní onemocnění	20
4.3.7 Další rizikové faktory.....	20
4.4 Původci kandidémie	20
4.5 Klinický obraz spojený s kandidémií	22
4.6 Laboratorní diagnostika kandidémie.....	22

4.6.1 Hemokultivace	23
4.6.2 Metody identifikace	23
4.6.3 Sérologické metody	24
4.6.4 Molekulárně genetické metody	25
4.7 Léčba kandidémie	27
4.7.1 Nefarmakologická léčba	27
4.7.2 Farmakologická léčba	27
II EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	31
5 METODIKA	31
5.1 Sběr dat	31
5.2 Třídění získaných dat	31
6 VÝSLEDKY	33
7 DISKUZE	39
8 ZÁVĚR	42
SEZNAM TABULEK A GRAFŮ	43
SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	44
PŘÍLOHA	51

1 ÚVOD

V posledních dvou desetiletích došlo k dramatickému nárůstu počtu fungemií, respektive infekcí krevního řečiště způsobených kvasinkami. Tento nárůst je do určité míry přisuzován pokrokům moderní medicíny, které sice prodlužují život těžce nemocným pacientům, ale zároveň se podílejí na růstu populace jedinců náchylných k řadě infekcí, včetně těch vyvolaných kvasinkami (Anunnatsiri et al., 2009). Přestože fungémie samy o sobě označují pouhou přítomnost kvasinek v krvi, ve většině případů bývají spojovány s infekcemi krevního řečiště případně až sepsí. V řadě prací, včetně této, tak bývají kvasinkové fungémie synonymem infekcí krevního řečiště způsobených kvasinkami.

Dominantními původci kvasinkových fungemií jsou zástupci rodu *Candida*, zejména *C. albicans* a některé non-*albicans* druhy jako *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis* a *C. krusei*. Fungémie jimi způsobené se označují jako kandidémie (Giri a Kindo, 2012; Yamamoto et al., 2013). Rozvoj kandidémií bývá spojován s řadou rizikových faktorů zahrnujících užívání širokospektrých antibakteriálních látek, chemoterapeutických a imunosupresivních prostředků, předchozí operace, dlouhodobě zavedené katétry atd. Vzhledem k tomu, že kandidémie bývají spojovány s vysokou morbiditou a mortalitou, je analýza těchto faktorů, spolu s laboratorní diagnostikou základním předpokladem pro včasnou diagnózu a zahájení úspěšné terapie (Giri a Kindo, 2012; Mikulska et al., 2012). Kromě kandid, se jako původci fungemií mohou uplatňovat i některé méně obvyklé druhy hub označované jako tzv. non-*Candida* kvasinky. Mezi tyto non-*Candida* kvasinky řadíme zástupce rodů *Trichosporon*, *Rhodotorula*, *Cryptococcus*, *Geotrichum*, *Malassezia*, *Saccharomyces* a *Hansenula* (Miceli et al., 2011). O jejich epidemiologii a rizikových faktorech spojených s fungemiemi je však známo poměrně málo, proto jim v této práci není věnována pozornost (Yamamoto et al., 2013). Z toho důvodu je práce primárně zaměřena na kandidémie, jejich původce, rizikové faktory, laboratorní diagnostiku a možnosti terapie.

2 ZADÁNÍ – CÍL PRÁCE

Účelem teoretické části práce je seznámit se s problematikou kvasinkových infekcí krevního řečiště, s možnostmi jejich laboratorní diagnostiky a terapie.

V experimentální části je cílem získat informace o četnosti výskytu kvasinek v krvi pacientů Fakultní nemocnice v Hradci Králové v období od 2005 do 2013 s ohledem na druhové spektrum, citlivost k antimykotikům, věk, pohlaví, diagnózu a kliniku, kde byli tito pacienti hospitalizováni.

I TEORETICKÁ ČÁST

3 HOUBOVÉ INFEKCE

Houby patří mezi eukaryota a představují rozsáhlou a různorodou skupinu organismů, které jsou řazeny do samostatné říše Fungi. Tato říše je rozdělena do čtyř kmenů (Ascomycota, Basidiomycota, Zygomycota, Chytridiomycota), z nichž právě Ascomycota zahrnuje většinu patogenních druhů pro člověka, jako jsou: aspergily, dermatofyty, dimorfní houby nebo kandidy (Buchta, 2002).

Chorobné stavy vyvolané houbami, které negativně ovlivňují zdraví člověka, lze rozdělit do tří hlavních skupin: infekce (mykózy), otravy (mykotoxikózy a mycetismy), alergie (mykoalergie).

Nejdůležitější skupinu představují mykózy vzhledem k důsledkům pro lidské zdraví, neustále narůstajícímu počtu těchto infekcí a rozšiřujícímu se spektru jejich původců. To má hned několik příčin. Jednou z nich je především fakt, že se zvyšujícím se počtem případů se zlepšuje jejich diagnostika a lékaři mnohem častěji uvažují nad možností mykotického původu onemocnění. Významnou příčinou je také rostoucí počet těžce nemocných a predisponovaných pacientů zejména vlivem iatrogenních faktorů, jako jsou užívání širokospektrých antibiotik, kortikoidů a cytostatik, imunosuprese po transplantačních zákrocích, katetrizace, hemodialýzy a operace. Další příčinou může být rovněž zavlečení endemických mykóz a dlouhodobé ovlivňování vnějšího prostředí působením člověka (antropogenní vlivy), což má nakonec ve svém důsledku vliv i na lidské zdraví (Bednář et al., 1999).

Podle schopnosti vyvolat u člověka infekci můžeme houby rozdělit do dvou skupin. Jako první jsou to houby primárně patogenní, které jsou schopny infikovat všechny exponované jedince, včetně zdravých osob. Druhou skupinu tvoří oportunní houby podmíněně patogenní (aspergily, kandidy, kryptokoky, mukormycety), které naopak postihují převážně jedince s oslabenou imunitou (Greenwood et al., 1999; Buchta, 2002).

Mezi faktory, které ovlivňují formu a průběh většiny mykóz patří: míra obranyschopnosti jedince, vlastnosti infekčního agens, způsob a brána infekce (Matoušková, 2005).

Tabulka 1 Predispoziční faktory mykotických infekcí (upraveno podle Jedličková, 2006)

Rizikovní pacienti (diagnóza)	hematoonkologická onemocnění, chronická onemocnění, transplantace, věkové extrémy, traumata, popáleniny
Imunodeficity a klinické faktory	HIV/AIDS a další stavy s defekty T-lymfocytů, autoimunitní onemocnění, závažné vrozené nebo získané imunodeficity, neutropenie, dlouhodobé podávání imunosupresiv, kortikoterapie, metabolické choroby (diabetes mellitus), mukozitida, operace, katetrizace
Mikrobiologické faktory	předchozí kolonizace kandidami, kolonizace anebo izolace kandid z více než dvou nesousedících míst, kolonizační index > 0,5 (počet míst s pozitivním kultivačním nálezem k celkovému počtu vyšetřených míst)

3.1 Dělení houbových infekcí

A) Podle zdroje nákazy lze houbové infekce rozdělit na:

- 1) exogenní
- 2) endogenní

Exogenní infekce způsobují houby, jež se vyskytují ve vnějším prostředí. Zdrojem tak mohou být kontaminované předměty a potrava, vzduch, kůže a sliznice nemocných či zdravotnický personál.

Endogenní infekce naopak vyvolávají houby, které jsou součástí přirozené mikroflóry člověka a to v případě, kdy dojde k přemnožení nebo narušení složení této mikroflóry. Zpravidla se to týká některých druhů kvasinek (Greenwood et al., 1999; Jedličková, 2006).

B) Podle místa lokalizace lze houbové infekce rozdělit na:

- 1) povrchové (*superficiální*) mykózy
- 2) podkožní (*subkutánní*) mykózy

3) systémové (*hluboké, orgánové, viscerální*) mykózy

Povrchové mykózy postihují kůži, vlasy, nehty nebo sliznice. Jejich původci jsou dermatofyty nebo kvasinky.

Podkožní mykózy vyvolávají houby žijící v půdě nebo na tlejících rostlinách, které se poraněním dostávají do těla. Nejčastěji se vyskytují v tropech a subtropích. (Greenwood et al., 1999).

Systémové mykózy mohou být způsobeny jak primárně patogenními tak podmíněně patogenními houbami; první skupina zahrnuje především endemické, druhá převážně oportunní mykotické infekce. Endemické mykózy se pravidelně vyskytují i u zdravých jedinců. K manifestaci závažného onemocnění však dochází jen u malého počtu z nich. Do této skupiny řadíme blastomykózu, histoplazmózu, kokcidioidomykózu a další. Oportunní mykózy vyvolávají houby podmíněně patogenní. Zvláštní skupinu oportunních mykóz tvoří mykózy nozokomiální, které negativně ovlivňují morbiditu a mortalitu v nemocničních zařízeních, prodlužují hospitalizaci pacientů a zvyšují náklady na jejich léčbu. Nozokomiální mykózy mohou být jak exogenního tak endogenního původu. Z tohoto důvodu je vždy velmi důležitá snaha lokalizovat a následně eliminovat zdroj takové infekce (Haber et al., 1995; Petřík, 2003).

3.2 Původci houbových infekcí

Mezi původce nejčastěji se vyskytujících houbových infekcí v našich zeměpisných oblastech, kteří napadají především jedince s oslabenou imunitou a mohou jim způsobit závažná až smrtelná onemocnění, patří: kandidy, aspergily, kryptokoky a mukormycety.

3.2.1 Vlákňité houby

Rod *Aspergillus* v současné době zahrnuje přes 600 druhů (Tomšíková, 2006). Zástupci tohoto rodu se běžně nacházejí v půdě, ve vzduchu, ve vodě, v potravinách, v prachu a na rostlinách. Klinicky významné jsou především *A. fumigatus* a *A. flavus*. K infekci obvykle dochází po inhalaci spór, vzácněji však může dojít i k jejich zanesení do ran. Aspergilóza se může projevit jako lokální nebo systémové onemocnění (Cetkovský et al., 2009). Nejčastěji bývají postiženy plíce (invazivní aspergilóza, alergická plicní aspergilóza, aspergilom) vzácněji pak

gastrointestinální trakt, srdce, játra, ledviny a mozek. U pacientů s oslabenou imunitou se nejčastěji projevuje invazivní aspergilóza (Haber et al., 1995). Nejvýznamnějšími rizikovými faktory pro její rozvoj jsou přetrvávající granulocytopenie, chemoterapie, léčba kortikosteroidy a transplantace (Cetkovský et al., 2009).

Nově se objevující skupinou vláknitých hub, která postihuje imunokompromitované jedince, je rod *Fusarium*. Jeho zástupci byli doposud známi jako významní původci rostlinných infekcí. U člověka však mohou tyto houby způsobovat povrchové, lokálně invazivní nebo diseminované infekce. Zvláště pak invazivní a diseminované formy jsou obvykle u jedinců s oslabenou imunitou. Nejčastějšími představiteli jsou *F. solani*, *F. oxysporum*, *F. verticillioides*, a *F. moniliforme*. Zvláštností je, že na rozdíl od diseminované formy aspergilózy, kde bývají hemokultury negativní, se u diseminované formy fusariózy setkáváme s pozitivními hemokulturami (Cetkovský et al., 2009).

3.2.2 Kryptokoky

Nejnámějším zástupcem rodu *Cryptococcus* je *Cryptococcus neoformans* u něhož rozeznáváme čtyři hlavní sérotypy A, B, C, D. Sérotyp A a D se běžně vyskytuje v ptačím trusu. Sérotyp B a C je v současnosti klasifikován jako samostatný druh *Cryptococcus gattii*, který se převážně objevuje v tropických a subtropických oblastech, kde jsou jeho rezervoárem rostliny (Greenwood et al., 1999). Buňky kryptokoků jsou chráněny vůči fagocytóze díky polysacharidovému pouzdru, proto dochází k rozvoji onemocnění hlavně u pacientů s defektem T-lymfocytů. V současné době mezi tyto pacienty řadíme zejména HIV-pozitivní jedince (Jedličková, 2006). Díky zvyšujícímu se počtu HIV-pozitivních osob vzrostl právě také počet kryptokokových infekcí. Kromě toho mohou být některé kryptokokové infekce asociovány s různými základními chorobami např.: sarkoidóza, lymfomy, tuberkulóza, chronické onemocnění ledvin, imunosuprese při transplantacích, kortikoterapie (Tomšíková, 2006).

K infekci dochází inhalací kvasinek anebo spór, zasaženy proto bývají především plíce. Následkem fungémie může však také docházet k rozsevu do dalších orgánů, zvláště do centrálního nervového systému (Haber et al., 1995).

3.2.3 Mukormycety

Mukormycety jsou houby nacházející se v půdě, kontaminovaných potravinách a na tlejících rostlinách. Infekce jimi způsobené se označují jako mukormykózy a dochází k nim následkem inhalace spór. Nejčastější forma infekce je plicní nebo rinocerebrální, vzácněji pak dochází k formám gastrointestinálním, kožním či diseminovaným. Rizikovými faktory pro vznik těchto infekcí jsou především diabetes mellitus s ketoacidózou, podávání imunosupresiv a kortikoidů pacientům po transplantaci, přetrvávající granulocytopenie a popáleniny (Cetkovský et al., 2009; Haber et al., 1995).

Jednou z obávaných vlastností mukormycet je angioinvasivita – schopnost vnikat do stěny i do lumina cév a vytvářet zde tromby složené z jejich vláken a fibrinu (Jedličková, 2006). Následkem trombotizace cév pak dochází k nekrotám (Cetkovský et al., 2009).

3.2.4 Kandidy

Rod *Candida* je nejvýznamnějším a nejčastěji izolovaným rodem kvasinek z klinického materiálu (Votava et al., 2003). Řadíme je mezi polymorfní houby, neboť se mohou nacházet ve formě kvasinkovité, vláknité, pseudovláknité a jako chlamydospóry (Haber et al., 1995).

Kandidy jsou součástí běžné mikroflóry člověka. Osídlují kůži, sliznici gastrointestinálního traktu, horní cesty dýchací a ženský genitál (Beneš et al., 2009). Významně se též uplatňují jako nozokomiální patogeny (Tomšíková, 2003).

Celkově bylo popsáno kolem 150 druhů kandid (Tomšíková, 2006). Nejčastěji izolovaným druhem bývá *Candida albicans*. V poslední době však začínají nabývat na významu také tzv. non-*albicans* druhy. K těmto druhům řadíme: *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. krusei*, *C. glabrata*, *C. lusitaniae*, *C. guilliermondii*, *C. lipolytica*, *C. kefyr* a další. Zřejmě zvýšený výskyt těchto druhů jako lidských patogenů lze připsat zlepšujícím se metodám identifikace (př.: použití chromogenních médií se schopností rozlišovat jednotlivé druhy kandid či zavádění molekulárních technik v diagnostice fungemií). Často také souvisí s mírou onemocnění pacienta, se zákroky, kterým byl vystaven a s užíváním léků (Silva et al., 2012).

Po *C. albicans* se nejčastěji vyskytují *C. glabrata* a *C. tropicalis*. *C. glabrata* byla po dlouhou dobu považována za nepatogenní součást normální flóry zdravých

jedinců. Avšak rozšíření a zvýšené používání imunosupresivní terapie společně se širokospektrou antibiotickou léčbou vedlo k výraznému nárůstu infekcí způsobených touto kvasinkou. Její výskyt je u dospělých vyšší než u dětí (Silva et al., 2012). Napadá jedince se solidními tumory a často se u ní setkáváme se sekundárním rozvojem rezistence k flukonazolu (Beneš et al., 2009; Votava et al., 2003). *C. tropicalis* je obvykle třetí nejčastěji izolovanou kandidou z klinického materiálu. Často se vyskytuje u pacientů hospitalizovaných na jednotkách intenzivní péče, u pacientů s malignitami a neutropenií. *C. parapsilosis*, další významná kandida, patří mezi nejčastěji izolované houby z lidských rukou. Je známa jako původce mykotických endokarditid a infekcí centrálního žilního katétru. Významný problém představuje především u novorozenců, po transplantacích a při podávání parenterální výživy. (Silva et al., 2012). Z dalších druhů stojí za zmínku např.: *C. krusei*, která bývá primárně rezistentní k flukonazolu nebo *C. lusitaniae*, jež může vyvinout rezistenci k amfotericinu B a komplikovat tak léčbu (Kocmanová, 2009; Eggimann et al., 2003).

3.2.4.1 Dělení kandidóz

Kandidózy představují nejčastější a nejvýznamnější oportunní mykotické infekce. Ve většině případů se projevují jako endogenní infekce, jsou však známy také případy exogenních infekcí (Beneš et al., 2009).

Podle klinického projevu je můžeme rozdělit na:

- 1) povrchové kandidózy - postihují kůži, nehty, sliznici dutiny ústní a pochvy
- 2) systémové kandidózy - které dělíme na:
 - a) lokalizované (orgánové) - př.: v močovém ústrojí, v dutině břišní, játrech, ledvinách, na srdečních chlopních, meningách
 - b) diseminované spojené se sepsí (kandidémie) (Greenwood et al., 1999).

4 KANDIDÉMIE

4.1 Definice pojmů

Kandidémie je definovaná jako izolace *Candida* spp. z jedné nebo více krevních kultur (Hacimustafaoglu a Celebi, 2011). Může představovat pouze přechodnou benigní katéetrovou infekci nebo přecházet v závažné sepse až septický šok a vést k multiorgánovému selhání a ke smrti (Glökner a Cornely, 2012). Kandidy nikdy nejsou normální flórou krve (Evans, 2010).

Infekce krevního řečiště je kandidémie spojená se závažnými klinickými projevy, které řadíme mezi invazivní kandidózy (systémové, hematogenně diseminované kandidózy) s postižením hlubokých orgánů včetně např.: endokarditidy a meningitidy (De Rosa et al., 2009; Lim et al., 2012).

Sepse je charakterizována současnou přítomností infekce a systémové zánětlivé reakce. Její včasná diagnostika spolu s identifikací zdroje infekce představují základní předpoklady pro zahájení účinné léčby s cílem zamezení progresu stavu, rozvoje orgánové dysfunkce a smrti (Černý et al., 2006).

V následujícím textu bude kandidémie synonymem infekce krevního řečiště vyvolané kandidami.

4.2 Vývoj kandidémie

Epidemiologie kandidémie se změnila v několika posledních desetiletích, stejně jako u jiných invazivních mykotických infekcí. Jedním z důvodů je inovace v oblasti zdravotní péče a technologie (používání chemoterapeutických a imunosupresivních prostředků, širokospektrých antibakteriálních látek, agresivnějších chirurgických či invazivních postupů) díky čemuž dochází k prodloužení života pacientů se závažnými chorobami (Bouza a Muñoz, 2008).

Frekvence kandidémie se celosvětově zvyšuje (Pfaller et al., 2012). Incidence a epidemiologie se mohou značně lišit a to jak mezi jednotlivými zeměmi, tak i mezi institucemi navzájem (Weinberger et al., 2005). *Tabulka 2* uvádí pro srovnání incidenci mezi několika evropskými zeměmi a USA v posledních desetiletích.

Tabulka 2 Incidence kandidémie v Evropě a USA (Haber et al., 2009)

Země	Incidence/ 100 000 obyvatel	Incidence/ 10 000 paciento-dní	v letech
Španělsko	4,3	0,73	2002-2003
Island	1,4 4,9		1980-1984 1995-1999
Finsko	1,7 2,2		1995 1999
Norsko	3,0	0,29 0,27	2001-2003 1991 1996
Francie		0,35 A 1,16 B 5,20 C	1995
Dánsko	11		2003-2004
USA	6-10		

Pozn.: A – celkem, B – onkologická centra, C – univerzitní nemocnice

4.3 Rizikové faktory kandidémie

Byla identifikována celá řada rizikových faktorů spojených s kandidemií. Jejich analýza je velmi důležitá pro diagnózu a zahájení včasné léčby u rizikových pacientů.

Obecně platí, že pokud se u pacienta vyskytuje několik rizikových faktorů současně, jeho šance na rozvoj kandidémie se exponenciálně zvyšuje (Giri a Kindo, 2012).

4.3.1 Dlouhodobá léčba antibiotiky

Dlouhodobá léčba širokospektrými antibakteriálními látkami je jedním z nezávislých rizikových faktorů kandidémie. Důvodem je, že užíváním těchto látek dochází k vyčerpání normální bakteriální flóry a k následnému houbovému přerůstání, které může být později spojeno s tkáňovou invazí a případnou diseminací. Mezi taková antibiotika řadíme imipenem, metronidazol, klindamycin, vankomycin a β -laktamová antibiotika (Giri a Kindo, 2012; Chang et al., 2008; Hacimustafaoglu a Celebi, 2011).

4.3.2 Intravaskulární a centrální žilní katétry

Dlouhodobě zavedené katétry představují rovněž nezávislý rizikový faktor kandidémie, neboť kandidy mohou snadno adherovat k jejich plastovému či akrylovému povrchu a vytvářet zde vysoce odolný biofilm. Takový biofilm pak představuje zásobník, ze kterého jsou kandidy uvolňovány do krevního oběhu a následně rozšiřovány do celého těla. Kromě toho, biofilmy na základě své struktury přispívají k obtížnosti léčby. Mají vyšší odolnost k antimykotikům i vůči imunitním reakcím hostitele (Lim et al., 2012; De Luca et al., 2012). Infikování těchto zařízení je považováno za nejdůležitější rizikový faktor kandidémie u pacientů bez neutropenie nebo závažných imunodeficitů (Cauda, 2009).

4.3.3 Celková parenterální výživa

Parenterální výživa představuje podávání umělé výživy pomocí infuzí do žíly. Využívá se u chronicky oslabených pacientů, kteří postrádají gastrointestinální absorpci a u pacientů v bezvědomí nebo po břišních operacích. Stejně jako v případě intravaskulárních katétrů, se mohou biofilmy tvořit i v infuzních setech. Zvláště u *Candida parapsilosis* je tvorba biofilmu podporována médií s vysokým obsahem glukózy (Cauda, 2009; Giri a Kindo, 2012).

4.3.4 Předchozí operace

Chirurgické výkony obecně, a zejména pak gastrointestinální operace, jsou spojovány se zvýšeným rizikem kandidémie, neboť při těchto operacích může dojít k narušení sliznice a následnému výsevu kandid kolonizujících střeva do krevního oběhu (Giri a Kindo, 2012). Naopak neurochirurgické operace jsou spojovány s nejnižším rizikem (Chang et al., 2008).

4.3.5 Kolonizace

Kolonizace kandidami je indukována následkem dlouhodobého užívání širokospektrých antibakteriálních látek, což způsobuje houbové přerůstání ve střevech nebo následkem porušení integrity kožních a slizničních bariér (př.: katétry, popáleniny atd.) (Méan et al., 2008). Kolonizace může být tedy endogenního nebo exogenního původu. Ve většině případů bývá kandidémie endogenního původu způsobena kmeny vlastní kolonizující flóry (Hacimustafaoglu

a Celebi, 2011). Za riziková jsou považována více než dvě ložiska kolonizace (Haber et al. 2009).

4.3.6 Maligní onemocnění

Maligní onemocnění sama o sobě nepatří mezi nezávislé rizikové faktory kandidémie, ale pacienti s těmito onemocněními jsou přesto ve zvýšeném riziku vzniku kandidémie a to z důvodu související chemoterapie, delší doby hospitalizace a užívání různých antimikrobiálních látek (Giri a Kindo, 2012).

4.3.7 Další rizikové faktory

K dalším rizikovým faktorům kandidémie se řadí: věk, neutropenie, kandidurie, diabetes mellitus, mechanická ventilace, hemodialýza, renální selhání, pankreatitida, transplantace a dlouhodobý pobyt na jednotce intenzivní péče. (Chang et al., 2008; Mikulska et al., 2012; Serefhanoglu et al., 2012).

S ohledem na věk jsou ve zvláště vysokém riziku děti do 1 roku a jedinci ve věku nad 65 let (Chang et al., 2008). Co se týče kandidémie, byli po dlouhou dobu ve středu pozornosti především pacienti s neutropenií. Kandidémie však může ovlivnit širokou škálu hospitalizovaných osob včetně těch bez neutropenie nebo závažného imunodeficitu (Evans, 2010). U pacientů s diabetem byla prokázána snadnější kolonizace kandidami a tedy potenciálně vyšší riziko pro rozvoj kandidémie (Sobel, 2008). Kandidurie, neboli vylučování kandid močí, bývá společně s dalšími rizikovými faktory (centrální žilní katétry, operace močového ústrojí či močové katétry) rovněž považována za riziko kandidémie (Giri a Kindo, 2012).

Kromě všech výše uvedených faktorů bylo také zjištěno, že výskyt kandidémie je nejméně 4x vyšší u Afroameričanů napříč všemi věkovými skupinami, než ve srovnání s jinými rasami (Pfaller a Diekema, 2007).

4.4 Původci kandidémie

Ve většině případů bývá kandidémie způsobena *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis* a *C. krusei*. Každoročně se však seznam nově izolovaných druhů rozšiřuje. Je to dáno především nově dostupnými metodami identifikace a zvyšujícím se počtem imunokompromitovaných osob (Giri a Kindo, 2012).

Přestože *C. albicans* je považována za nejčastěji izolovaný druh, non-*albicans* kandidy jsou stále běžnější a mohou být zodpovědné za více než 50 % kandidémií (Mikulska et al., 2012). Obecně platí, že *C. albicans* bývá převážně izolovaná v USA, severní a střední Evropě. Naopak non-*albicans* druhy převládají v jižní Evropě, jižní Americe a v Asii. Co se týče Afriky, nejsou k dispozici žádné údaje (Falagas et al., 2010).

Geografickou variabilitu lze pozorovat i mezi jednotlivými non-*albicans* druhy. To může odrážet rozdíly v klinické praxi v různých částech světa. Například *C. glabrata* je nejčastěji izolovanou non-*albicans* kandidou v USA, ale v jiných částech světa tomu tak nemusí být. Jako nejčastější důvod této odlišnosti se udává rozšířené používání flukonazolu pro léčbu a profylaxi v posledních několika letech, zvláště u některých skupin pacientů. Tento fakt by však neměl být považován za jediný důvod, neboť v takovém případě by muselo dojít i k častější izolaci *C. krusei* vzhledem k tomu, že obě tyto kandidy jsou schopny vyvinout rezistenci k flukonazolu. Také to nevysvětluje důvod, proč je *C. glabrata* méně častá v jiných zemích, ve kterých se flukonazol rovněž hojně využívá. Proto by měly být brány v úvahu i další faktory spojené s výskytem *C. glabrata*, jako je věk pacienta, závažnost základního onemocnění nebo vystavení specifickým antibakteriálním látkám (př.: vankomycin a piperacilin-tazobaktam) (Falagas et al., 2010; Pfaller a Diekema, 2007).

V jiných zemích je situace ve srovnání s USA odlišná. Například v Latinské Americe zaujímají přední postavení *C. parapsilosis* a *C. tropicalis* (Pfaller a Diekema, 2007). *C. parapsilosis* je obecně považována za méně virulentní a bývá spojována s nižší mírou úmrtnosti ve srovnání s ostatními druhy kandid. Rovněž je notoricky známa pro svou schopnost tvořit biofilm a napadat mladší jedince (Chang et al., 2008). Spolu s *C. albicans* jsou považovány za nejčastější původce neonatální a dětské kandidémie (Benjamin et al., 2003; Zaoutis, 2010).

Candida tropicalis se stejně jako *C. krusei* vyskytuje u pacientů s hematologickými malignitami a po transplantacích (Chang et al., 2008).

Jiné druhy kandid zaujímají jen asi 4 % ze všech případů kandidémií. *C. norvegensis* a *C. inconspicua* jsou fenotypově podobné s *C. krusei* a rovněž vykazují odolnost k flukonazolu. Tyto dva druhy byly spojeny s kandidémií u pacientů s hematologickými malignitami a HIV (Chang et al., 2008; Giri a Kindo, 2012). *C. guilliermondii* bývá častěji izolována od jedinců s předchozí kardiovaskulární nebo

gastrointestinální operací. *C. rugosa* a *C. lipolytica* ve vzácných případech způsobují s katétry související kandidémie. *C. lusitaniae* bývá pozorována u pacientů po transplantaci kmenových buněk nebo po předchozí expozici amfotericinu B. V několika případech byly jako původci kandidémie hlášeny i *C. dubliniensis* a *C. pelliculosa* (Evans, 2009; Giri a Kindo, 2012; Pfaller a Diekema, 2007).

4.5 Klinický obraz spojený s kandidémií

Klinické projevy kandidémie jsou nespecifické a mohou se lišit od mírné horečky až po těžkou sepsi. Takové projevy jsou k nerozeznání od závažné bakteriální infekce. Ve většině případů se však u pacientů objevuje přetrvávající horečka nereagující na léčbu širokospektrými antibakteriálními látkami. K septickému šoku, který má špatnou prognózu, dochází jen příležitostně (Hacimustafaoglu a Celebi, 2011).

Komplikace spojené s kandidémií vyplývají z hematogenního šíření infekce. Může tak dojít k poškození téměř jakékoliv tkáně či orgánu. Jednou z komplikací je kandidová endoftalmitida. Tato infekce ohrožuje zrak, a proto by všichni pacienti s kandidémií měli podstoupit oftalmologické vyšetření. Je to zvláště důležité z toho důvodu, že ne všechna antimykotika (př.: echinokandiny) jsou schopna dobře pronikat do oka. Nedostatečná léčba by mohla vést k progresi onemocnění (Evans, 2010; Chang et al., 2008; Mikulska et al., 2012).

Endokarditidy, meningitidy a osteomyelitidy jsou dalšími komplikacemi kandidémie. Až dvě třetiny všech houbových endokarditid bývá způsobeno právě kandidami. Nejvíce riziková jsou především pacienti s centrálními žilními katétry a umělými srdečními chlopněmi. Úmrtnost na houbové endokarditidy je vyšší než u endokarditid z jiných příčin. Kandidová osteomyelitida může postihnout každou kost. Nejčastěji dochází k vertebrální osteomyelitidě, která se projevuje progresivní bolestí zad bez přítomnosti horečky. Tyto projevy se mohou objevit až několik týdnů či měsíců po kandidémii a v některých případech se může jednat o první náznak dříve nerozpoznané kandidémie (Evans, 2010; Chang et al., 2008).

4.6 Laboratorní diagnostika kandidémie

Kandidémie bývá spojována s vysokou morbiditou a mortalitou. Mimo to prodlužuje dobu hospitalizace a zvyšuje náklady na zdravotní péči (Tortorano

et al., 2006; Hacimustafaoglu a Celebi, 2011). Proto rychlá diagnostika a druhově specifická identifikace jsou důležité pro včasné zahájení vhodné antimykotické terapie (Ahmad a Khan, 2012).

Jakýkoliv biologický vzorek předložený k mikrobiologickému vyšetření by měl být doprovázen nezbytnými informacemi, které se týkají základního onemocnění, rizikových faktorů a předchozí antimikrobiální léčby (Morace a Borghi, 2010).

4.6.1 Hemokultivace

Hemokultivace je metoda založena na odběru krve pacienta, která je následně inokulována do speciálních mykologických lahvíček s hemokultivačním médiem. Tyto lahvičky jsou vkládány do automatizovaného kultivačního systému, kde probíhá inkubace a monitorování produkce CO₂ rostoucích mikroorganismů (Mallátová a Mencl, 2010). Aby v lahvičkách nedocházelo k nežádoucímu růstu bakterií, přidávají se do médií některá antibiotika př.: penicilin, streptomycin, gentamicin, ciprofloxacin nebo chloramfenikol (Hacimustafaoglu a Celebi, 2011).

V současné době představuje hemokultivační vyšetření zlatý standard pro diagnostiku kandidémií. Nevýhodou této metody je bohužel její relativně nízká citlivost, neboť bývá pozitivní pouze asi v 50 % případů kandidémií. Z toho vyplývá, že negativní výsledek nevylučuje přítomnost kandidémie. Kromě toho, je tato metoda zatížena dlouhou dobou kultivace, která se pohybuje minimálně mezi 24-48 hod. To může vést k prodlení v zahájení vhodné antimykotické léčby, což bývá spojováno s vyšší mírou úmrtnosti (Ahmad a Khan, 2012; Mikulska et al., 2012; Ostrosky-Zeichner et al., 2011).

4.6.2 Metody identifikace

U prokázané kandidémie je velmi důležité identifikovat jejího původce. K odlišení *C. albicans* od non-*albicans* druhů lze využít tzv. germ-tube test. Podstatou tohoto testu je schopnost *C. albicans* vytvářet klíčící hyfy v koňském či bovinním séru při teplotě 37 °C. Germ-tube test lze provést přímo z hemokultivační lahvičky a výsledky lze získat již do 2 hod od nahlášení pozitivní hemokultivace (Mallátová a Mencl, 2010). Tato metoda je časově citlivá, pokud jsou vzorky inkubovány příliš dlouhou dobu, dochází k falešně pozitivním výsledkům. Je známo, že i *C. dubliniensis* může vykazovat pozitivitu u tohoto testu a způsobovat tak falešně pozitivní výsledek (Chang et al., 2008).

Jako další metoda identifikace se využívají chromogenní média (př.: CHROMagarTM Candida), která dokáží odlišit jednotlivé druhy kandid na základě specifické barvy jejich kolonií. Podstatou je, že jednotlivé kandidy jsou schopny produkovat jedinečné enzymy, které interagují s chromogenními substráty uvnitř média. Dochází tak ke snadné a rychlé identifikaci, neboť výsledkem každé enzymatické reakce je jiné zbarvení: *C. albicans* - zelená, *C. glabrata* - růžová, nachová, *C. tropicalis* - kovově modrá, *C. krusei* - sametově růžová (Chang et al., 2008; web interval, a).

Kandidy lze identifikovat také pomocí auxanogramu a zymogramu. Auxanogramy jsou založeny na schopnosti kandid asimilovat různé zdroje uhlíku nebo dusíku. Pro tento účel lze využít tuhé základní půdy v Petriho miskách, na které se po naočkování suspenze vyšetřované kandidy kladou disky s obsahem různých cukrů nebo zdrojů dusíku. Misky s disky se poté nechávají inkubovat. Výsledná asimilační schopnost kandidy se projeví jejím růstem okolo disku s příslušným substrátem. Na základě toho je možné určit, o jakou kandidu se jedná (web interval, b). Zymogramy, na rozdíl od auxanogramů, jsou založeny na fermentaci cukrů a probíhají za nepřístupu kyslíku. Principem testu je vytvoření bubliny CO₂ v plynovce, která se dnem vzhůru vkládá do větší zkumavky obsahující cukerný roztok (Jílek et al., 2002).

4.6.3 Sérologické metody

Jako doplněk v diagnostice kandidémií lze využít také sérologických metod, včetně detekce antigenů. Zejména se jedná o metody detekující 1,3-β-D-glukany, manany a antimanany. Žádná z těchto metod však nemá v diagnostice kandidémií zásadní postavení, a proto je třeba získané výsledky vždy hodnotit v souladu s klinickými a ostatními nálezy (Ahmad a Khan, 2012; Mallátová a Mencl, 2010).

Manan je součástí buněčné stěny kandid a v průběhu infekce bývá uvolňován do krevního oběhu. Jeho exprese na povrchu buněčné stěny se u jednotlivých druhů kandid liší. Senzitivita testu proto bývá ovlivněna v závislosti na druhu kandidy. Vyšší senzitivity je dosaženo při současném průkazu mananu a antimananu. Vzhledem k rychlé eliminaci mananu z krve se doporučuje test provádět 2-3x týdně. Nejčastěji se ke stanovení využívá ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) nebo latexová aglutinace (Ahmad a Khan, 2012; Mallátová a Mencl, 2010).

1,3- β -D-glukan je součástí buněčné stěny většiny hub. Detekovat ho však můžeme jen u některých z nich. V prakticky nedetekovatelném množství se vyskytuje u Mucorales a *Cryptococcus* spp. Ke stanovení 1,3- β -D-glukanu se využívají různé detekční soupravy, jejichž rozdílnost a odlišnost interpretačních kritérií ovlivňují rozdílné výsledky a náhledy na tento test. Hlavním problémem při stanovování 1,3- β -D-glukanu je vysoká míra falešně pozitivních výsledků, které vznikají na základě zkřížené reakce s hemodialyzačními membránami, chirurgickými obvazy, albuminem, imunoglobuliny, β -laktamovými antibiotiky nebo s lipopolysacharidy gramnegativních bakterií (Ahmad a Khan, 2012; Mallátová a Mencl, 2010). Navíc je tento test relativně pracný a nákladný. A vzhledem k tomu, že 1,3- β -D-glukan je součástí nejen kandid ale i dalších hub, je třeba v případě pozitivního výsledku využít dalších doplňujících testů k jejich rozlišení (Ostrosky-Zeichner et al., 2011; Picazo et al., 2008).

4.6.4 Molekulárně genetické metody

Polymerázová řetězová reakce (PCR) a fluorescenční in situ hybridizace (FISH) představují velmi nadějnou cestu ke zlepšení včasné diagnostiky kandidémií. Tyto metody jsou založeny na detekci nukleových kyselin. Jsou vysoce senzitivní a dokáží poměrně rychle detekovat i malé množství buněk ve srovnání s klasickými metodami (Mallátová a Mencl, 2010).

PCR metody jsou založeny na amplifikaci nukleových kyselin. Existují v několika modifikacích a zastávají širokou škálu uplatnění zahrnující přímou detekci nukleových kyselin, druhovou identifikaci, řešení epidemiologických studií, výskyt rezistencí a zkoumání faktorů virulence. Nicméně přes zjevný potenciál těchto metod je jejich použití pro diagnostiku kandidémií omezeno. Důvodem je nedostatek standardizovaných technických postupů a komerčně dostupných systémů. Kromě toho může být výsledek vyšetření ovlivněn řadou faktorů např.: vzdušnou kontaminací nebo přítomností inhibitorů PCR (Ahmad a Khan, 2012; Hacimustafaoglu a Celebi, 2011; Hamal, 2007).

PNA FISH kombinuje jednoduchost tradičního postupu s využitím PNA (peptidová nukleová kyselina) sondy. Přednosti této sondy jsou vynikající biostabilita, vysoká specifita a afinita, rychlá kinetika, lepší schopnost hybridizovat s rRNA a možnost pronikat buněčnou stěnou. Sondy jsou navrhovány tak, aby byly komplementární k druhově specifické rRNA sekvenci. K vyšetření se používají

podložní sklíčka s nátěry krve přímo z hemokultur, na které jsou nanášeny příslušné fluochromem značené sondy. Po inkubaci se nenávané sondy odstraní promytím a výsledná fluorescence se hodnotí pod fluorescenčním mikroskopem (Stender, 2003; Stone et al., 2013; Trtková a Raclavský, 2006). Nevýhodou této metody je především její vysoká cena. Kromě toho bylo v několika málo případech zjištěno, že druhově specifická sonda vykazovala zkříženou pozitivitu u jiného druhu kandidy, než pro kterou byla původně navržena (Lau et al., 2009).

Jako velmi perspektivní se jeví i molekulárně biologická metoda MALDI-TOF MS (Matrix Assisted Laser Desorption Ionization - Time of Flight). Při této metodě jsou pomocí hmotnostního spektrometru analyzovány ribozomální proteiny mikroorganismů. Jedná se v principu o analýzu proteomu, kdy vzorek vyšetřované kultury je po přidání tzv. matrice a vykrystalizování bombardován v hlubokém vakuu laserem v intervalu několika nanosekund. Tím dochází k převedení molekul na ionty, jež jsou po průletu trubicí analyzovány na základě doby dopadu na detektor. Doba letu jednotlivých iontů je úměrná jejich molekulové hmotnosti. Vzniká tak charakteristické hmotnostní spektrum, které je prostřednictvím specifického počítačového programu porovnáváno s databází referenčních spekter. Úspěšnost identifikace však podléhá rozsahu této databáze (Hamal et al., 2010).

Hlavními výhodami MALDI-TOF MS jsou v porovnání s běžnými metodami identifikace rychlost analýzy, jednoduchost interpretace, minimum chybných výsledků, nízké náklady na jedno vyšetření a podstatné rozšíření spektra potenciálně identifikovatelných mikrobů. Kromě toho je tato metoda schopna v některých případech detekovat a identifikovat původce přímo v biologickém materiálu (krev) či vzájemně rozlišit úzce související druhy kandid, což běžnými biochemickými metodami není možné např.: *C. orthopsilosis*, *C. metapsilosis*, *C. parapsilosis*; *C. glabrata*, *C. bracarensis*, *C. nivariensis* nebo *C. albicans* od *C. dubliniensis*. Rovněž jsou vyvíjeny postupy typizace na subdruhové úrovni a detekce rezistence k antibiotikům. Nevýhodou je relativně vysoká pořizovací cena přístroje (Hamal et al., 2010; Bader, 2013).

4.7 Léčba kandidémie

4.7.1 Nefarmakologická léčba

Nefarmakologická léčba kandidémie se týká odstraňování centrálních žilních katétrů. Vzhledem k tomu, že katétrů mohou být zdrojem kandidémie je na základě doporučení IDSA (Infectious Diseases Society of America) indikováno jejich časné odstranění, kdykoli je to možné. Tento postup je spojován s nižší mírou úmrtnosti a kratší dobou trvání kandidémie, pokud je katétr odstraněn do 72 hod od objevení kandidémie. Pacienti však mají katétrů zavedené z určitého důvodu, proto v mnoha situacích dochází spíše k jejich výměně se znovuzavedením na jiném místě, než k úplnému odstranění. V případech, kdy katétr nelze definitivně odstranit, by měli být pacienti léčeni antimykotiky účinnými proti biofilmům tj. echinokandiny (kaspofungin, mikafungin, anidulafungin) nebo lipozomálním amfotericinem B (Glökner a Cornely, 2012; Boroš a Jenča, 2008).

K rozpoznání, zda je zdrojem kandidémie skutečně katétr, se využívá sledování času positivity hemokultur mezi vzorkem krve odebraným z katétru a vzorkem krve získaným z periferní žíly. Vzhledem k masivnějšímu osídlení katétru kandidami je pozitivita vzorku z katétru hlášena nejméně o 2 hod dříve než u vzorku z periferní žíly. Zda je katétr infikován lze definitivně prokázat až po jeho odstranění. K tomu se využívá semikvantitativní metoda podle Makiho, kdy se špička odejmutého katétru poválí po kultivační půdě a následně se zjišťuje výsledný počet narostlých kolonií. Také lze využít metodu, u které pomocí sonifikace dochází k uvolnění adherovaných kandid z povrchu katétru. Získaný sonifikát se poté očkuje na kultivační půdu a po kultivaci se opět zjišťuje počet narostlých kolonií (Haber et al., 2008).

4.7.2 Farmakologická léčba

Léčba kandidémie by měla být zahájena co nejdříve, neboť bylo zjištěno, že každodenní prodleva zvyšuje mortalitu o více než 10 %. U pacientů s nejvyšším rizikem se proto doporučuje zahájit empirickou léčbu již v den odběru hemokultury (Haber et al., 2008). Na úspěšnost léčby má vliv kromě včasné diagnostiky i vhodný výběr antimykotického činidla, přičemž je třeba vzít v úvahu jejich rozdílnou citlivost vůči jednotlivým druhům kandid, odlišné farmakokinetické vlastnosti, lékové interakce a případné nežádoucí účinky (Sedláček, 2008). Rozhodovací proces ovlivňuje také

klinický stav pacienta, předchozí léčba antimykotiky a místní epidemiologická situace (Ha et al., 2011). K léčbě se využívají polyeny, azoly a echinokandiny. *Tabulka 3* uvádí jejich výhody a nevýhody.

Tabulka 3 Možnosti léčby kandidémie (upraveno podle Mikulka et al., 2012)

Třída	Antimykotikum	Výhody	Nevýhody
Polyeny	<i>Konvenční amfotericin B</i>	<ul style="list-style-type: none"> - fungicidní, levný - aktivní proti biofilmu - aktivní proti všem druhům 	<ul style="list-style-type: none"> - nefrotoxicita - akutní reakce spojené s podáváním infuzí
	<i>Lipidové formy amfotericinu B</i>	<ul style="list-style-type: none"> - fungicidní - aktivní proti biofilmu - aktivní proti všem druhům (kromě <i>C. lusitaniae</i>) - lipozomální amfotericin B dobře proniká do mozku 	<ul style="list-style-type: none"> - nefrotoxicita, ale podstatně nižší než v případě konvenčního amfotericinu B - dražší
Azoly	<i>Flukonazol</i>	<ul style="list-style-type: none"> - rozsáhlé zkušenosti s jeho používáním - k dispozici v orální i intravenózní podobě - dobře proniká do očí a do mozku - nízká toxicita - levný 	<ul style="list-style-type: none"> - fungistatický - možný vznik rezistence (vnitřní i získané) - nepůsobí na biofilm
	<i>Vorikonazol</i>	<ul style="list-style-type: none"> - fungicidní proti aspergilům - aktivní proti kmenům s vnitřní rezistencí k flukonazolu - k dispozici v orální i intravenózní podobě - skvěle proniká do očí a do mozku 	<ul style="list-style-type: none"> - fungistatický proti kandidám - lékové interakce - intravenózní - hepatotoxický - poruchy vidění (hlavně u intravenózní formy)

Echinokandiny	<i>Kaspofungin</i>	<ul style="list-style-type: none"> - fungicidní pro kandidy - nízká toxicita - aktivní proti biofilmu 	<ul style="list-style-type: none"> - omezený průnik do očí a do mozku - není k dispozici v orální podobě
	<i>Anidulafungin</i>	<ul style="list-style-type: none"> - fungicidní pro kandidy - nízká toxicita - aktivní proti biofilmu - žádné známé lékové interakce 	<ul style="list-style-type: none"> - omezený průnik do očí a do mozku - není k dispozici v orální podobě
	<i>Mikafungin</i>	<ul style="list-style-type: none"> - fungicidní pro kandidy - nízká toxicita - aktivní proti biofilmu 	<ul style="list-style-type: none"> - omezený průnik do očí a do mozku - není k dispozici v orální podobě

Léčebná doporučení pro léčení kandidémie se u dospělých a dětských pacientů zpravidla neliší, rozdíly jsou většinou pouze v úpravě dávkování některých antimykotik. Na základě doporučení IDSA z roku 2009 by se k počáteční léčbě kandidémie u pacientů bez neutropenie měly používat flukonazol nebo echinokandiny. Formy amfotericinu B se využívají jen jako alternativní terapie. Volba echinokandinů je upřednostňována u kriticky nemocných pacientů nebo v případě předchozí azolové expozice. Naopak flukonazol se volí u méně kriticky nemocných a v případech, kdy k expozici azoly nedošlo. Přejít na léčbu z echinokandinů na flukonazol je možný tehdy, pokud je pacient klinicky stabilní a příslušný druh kandidy je vůči flukonazolu citlivý (př.: *C. albicans*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*). Pokud je kandidémie způsobena *C. parapsilosis*, doporučuje se, aby byl pacient léčen flukonazolem nebo amfotericinem B. Důvodem je, že podle některých studií *C. parapsilosis* vykazuje *in vitro* nižší citlivost k echinokandinům. Pokud však byla před zjištěním tohoto druhu léčba zahájena echinokandiny, je možné v této terapii pokračovat za předpokladu, že nedošlo ke klinickému zhoršení pacienta a následná hemokultivační vyšetření jsou negativní. U pacientů s *C. glabrata* nebo *C. krusei* se doporučuje zahájit léčbu echinokandiny vzhledem k jejich možné rezistenci vůči flukonazolu. Přejít na flukonazol je však v případě citlivosti *C. glabrata* možný, ale výsledek je nejistý (Póvoa a Gonçalves-Pereira, 2011; Zaoutis, 2010; De Rosa et al., 2009). U pacientů s neutropenií doporučuje IDSA léčbu prostřednictvím

echinokandinů nebo lipidových forem amfotericinu B. Jako alternativní léčba však může být u méně kriticky nemocných pacientů bez předchozí expozice azoly využit také flukonazol (Zaoutis, 2010).

Pokud jde o dobu trvání antimykotické léčby, pokyny IDSA uvádějí, že by měla trvat minimálně 2 týdny po vymizení pozitivního kultivačního nálezu a souvisejících příznaků. V případě diseminace a metastatických komplikací se léčba prodlužuje na 4-6 týdnů (Mensa et al., 2008; De Rosa et al., 2009; Zaoutis, 2010). Bohužel, léčba nemusí být za všech okolností zcela úspěšná. Jednou z nejčastějších příčin selhání léčby je odolnost izolátu vůči použitému antimykotiku. Důležitou roli hrají také faktory hostitele (př.: závažnost onemocnění, stupeň a trvání imunosuprese), snížení biologické dostupnosti, farmakokinetické a farmakodynamické vlivy. Při podezření na terapeutické selhání je nutné vhodnost terapie přehodnotit (Giri a Kindo, 2012).

II EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

5 METODIKA

Experimentální část práce je založena na sběru, zpracování a vyhodnocení laboratorních dat za období od 25. 11. 2005 do 12. 8. 2013.

5.1 Sběr dat

Zdrojem dat byly záznamy mykologické laboratoře v laboratorním informačním systému (LIS) Ústavu klinické mikrobiologie Fakultní nemocnice Hradec Králové (ÚKM FN HK). Cílem bylo získat informace o četnosti výskytu kvasinek v krvi pacientů FN HK a to s ohledem na druhové spektrum, citlivost k antimykotikům, věk, pohlaví, diagnózu a kliniku, kde byli tito pacienti hospitalizováni.

Primární data byla nejprve setříděna pomocí tabulky v MS Excel a následně zpracována. Kromě druhového zastoupení, citlivosti k jednotlivým antimykotikům, věku, pohlaví, diagnózy a kliniky, bylo rovněž zaznamenáno datum testování, druh vyšetřovaného materiálu, číslo materiálu, rodné číslo, jméno a příjmení pacienta. Aby nemohlo dojít k nezákonnému nakládání s osobními údaji, byla po dokončení sběru dat veškerá rodná čísla, jména a příjmení pacientů zakódována.

Při sběru dat byli do tabulky zaznamenáváni pouze pacienti s nálezem kvasinek v krvi.

5.2 Třídění získaných dat

U některých hemokultivačně pozitivních pacientů byl následkem opakujících se vyšetření zjištěn větší počet nálezů. Většina těchto nálezů však byla posléze zredukována na jeden jediný, a to podle následujících pravidel:

- v případě, kdy byla u dvou nálezů vyšetřována citlivost stejného počtu antimykotik, byly oba tyto nálezy sloučeny do jednoho
- pokud se citlivost mezi nálezy lišila o jedno až dvě řadění, byly výsledky zprůměrovány
- jestliže interval mezi jednotlivými vyšetřeními byl kratší než 7 dní, byl ke zpracování vybrán první, tedy nejstarší nález.

Výjimku tvořily pouze případy, kdy se výsledky testování citlivosti mezi dvěma nálezy jednoho pacienta lišily o více jak dvě řadění (3 a více). V takovém případě pak byly ke konečnému zhodnocení zařazeny oba tyto nálezy.

6 VÝSLEDKY

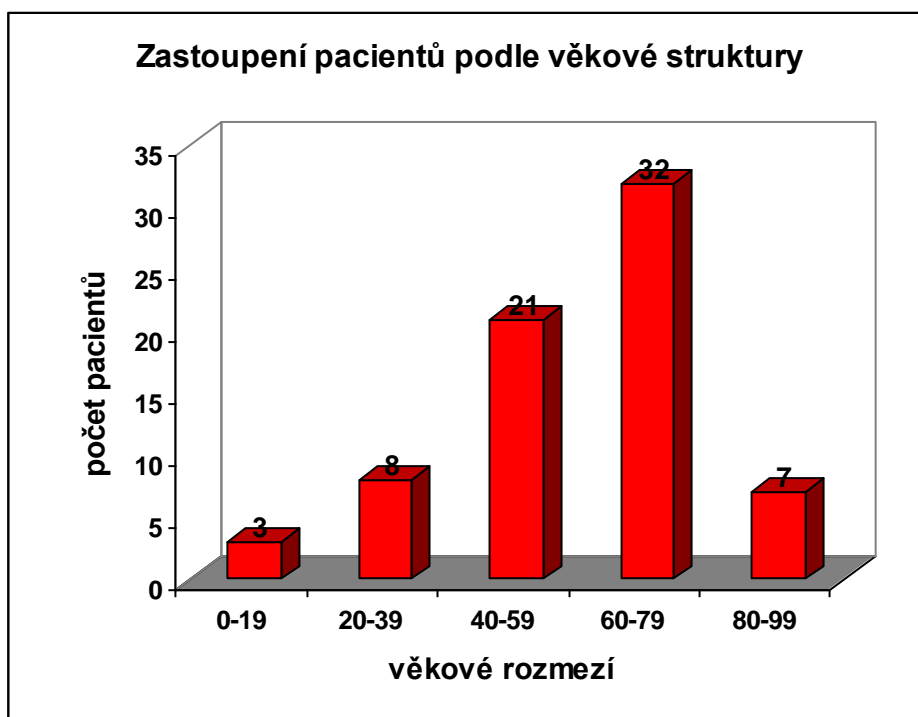
Do konečného hodnocení bylo nakonec zahrnuto celkem 71 pacientů, od kterých bylo dohromady získáno 81 pozitivních hemokultivačních nálezů.

Větší podíl pozitivních hemokultur byl zjištěn u mužů (*Tabulka 4*).

Tabulka 4 Rozložení pacientů/nálezů s ohledem na pohlaví

Počet pacientů			Počet nálezů		
Muži	39	54,9 %	Muži	46	56,8 %
Ženy	32	45,1 %	Ženy	35	43,2 %
Celkem	71		Celkem	81	

Nejvíce pacientů bylo zaznamenáno ve věkové kategorii 60-79 let, do které spadalo celkem 32 jedinců (45,1 %). Druhou početnou kategorií tvořili pacienti ve věku 40-59 let s 21 jedinci (29,6 %). Naopak nejméně početnou byla kategorie 0-19 let, ve které byli pouze 3 pacienti (4,2 %), z nichž dva byli mladší jednoho měsíce. Tyto a další kategorie jsou znázorněny v následujícím grafu (*Graf 1*).



Graf 1 Zastoupení pacientů podle věkové struktury

Nejčastější diagnóza u sledované skupiny pacientů byla akutní myeloidní leukémie (n = 8). Celkově však maligní onemocnění představovaly až druhou nejpočetnější skupinu chorob. Prvenství v tomto směru zaujímaly nemoci trávicí soustavy, které byly diagnostikovány u 17 pacientů (23,6 %). Početněji byly zastoupeny rovněž nemoci oběhové a dýchací soustavy, ostatní byly méně frekventované. *Tabulka 5* uvádí jednotlivé kategorie (skupiny) chorob spolu s diagnózami a počtem pacientů spadajících do příslušné kategorie.

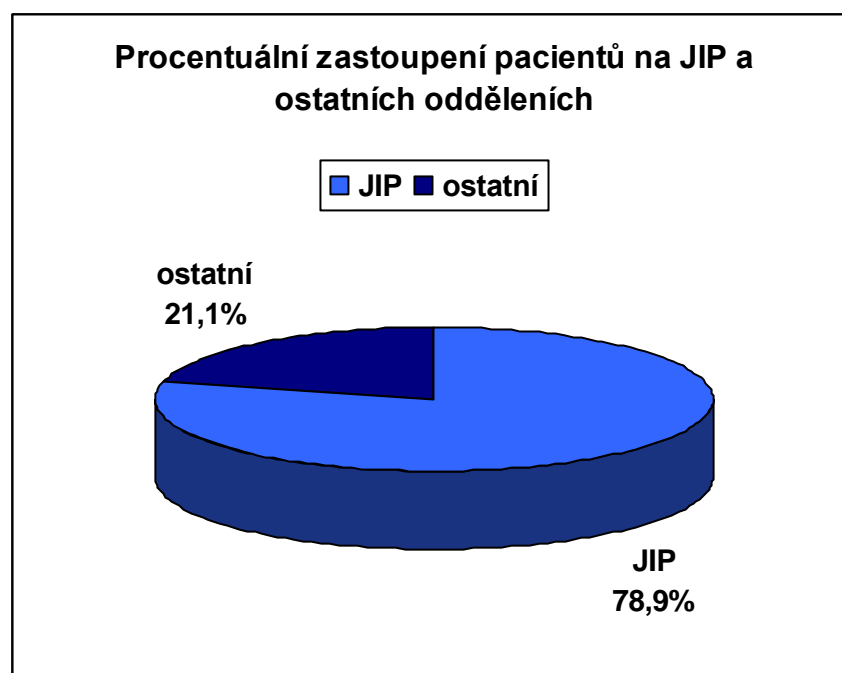
Tabulka 5 Kategorie nemocí a jednotlivé diagnózy u pacientů s pozitivní hemokultivací

Kategorie/skupina nemocí	Hlavní diagnózy v dané kategorii	Počet (%)
Nemoci trávicí soustavy	perforace jícnu; dvanáctníkový vřed bez krvácení nebo perforace; pupeční kýla; Crohnova nemoc; ulcerózní kolitida; střevní adheze s neprůchodností; píštěl střeva; akutní nebo subakutní selhání jater; absces jater; jiné určené nemoci jater; akutní zánět slinivky břišní; biliární akutní pankreatitida; krvácení ze žaludku a střev	17 (23,6)
Maligní onemocnění	B-buněčný lymfom z velkých buněk, difúzní; chronická lymfocytární leukémie; akutní myeloidní leukémie; léze postihující močový měchýř; zhoubný novotvar – esovitý tračník; horní lalok, bronchus nebo plíce; prs; hrdlo děložní	15 (20,8)
Nemoci oběhové soustavy	nemoc trojčipé chlopně; akutní infarkt myokardu; aterosklerotická kardiovaskulární nemoc; jiné formy chronické ischemické nemoci srdeční; akutní a subakutní infekční endokarditis; městnavé srdeční selhání; intracerebrální krvácení do mozečku; subdurální krvácení; flebitis a tromboflebitis jiných lokalizací	11 (15,3)
Nemoci dýchací soustavy	bronchopneumonie; jiná pneumonie; akutní respirační selhání	8 (11,1)

Infekční a parazitární nemoci	sepsa způsobená jinými gramnegativními organismy; jiné určené sepsy; bakteriální infekce; kandidová sepsa	6 (8,3)
Příznaky, znaky, a nálezy nezařazené jinam	hemoptýza; jiná a neurčená břišní bolest	3 (4,2)
Poranění, otravy	poranění tepny podkolenní - popliteální; jiná určená poranění postihující více částí těla	3 (4,2)
Těhotenství, porody, šestinedělí, perinatální	nízká porodní hmotnost	2 (2,8)
Nemoci močové a pohlavní soustavy	akutní selhání ledvin; jiná akutní selhání ledvin	2 (2,8)
Nemoci krve a imunity	agranulocytóza; trombocytopenie	2 (2,8)
Nemoci svalové a kosterní soustavy	systémový lupus erythematosus s postižením orgánů a systémů	1 (1,4)
Nemoci endokrinní a metabolické	porucha metabolismu minerálů	1 (1,4)
Nemoci nervové soustavy	jiné poruchy nervové soustavy	1 (1,4)

Pozn.: U jednoho pacienta byly uvedeny dvě diagnózy (jedna ze skupiny Infekční a parazitární nemoci, druhá ze skupiny Poranění, otravy).

Pacienti byli hospitalizováni na různých klinikách, hlavní rozdělení bylo na ty, kteří byli hospitalizováni na jednotkách intenzivní péče (JIP) a na ty na ostatních standardních odděleních (*Graf 2*). Pod ostatní oddělení byly zařazeny: oddělení intermediární péče, oddělení gastroenterologické poradny, integrované oddělení klinické onkologie, hemodialyzační středisko a nejrůznější lůžková oddělení.



Graf 2 Procentuální zastoupení pacientů na JIP a ostatních odděleních

Z hlediska etiologie byla nejčastějším druhem kvasinky *Candida albicans* a to ve více než 50 % případů. Za ní následovaly *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *C. krusei* a další. Kromě kandid se v souboru hodnocených pacientů vyskytovaly i jiné druhy kvasinek (*Cryptococcus*) a kvasinkovitých hub (*Geotrichum* a *Trichosporon*) (Tabulka 6).

Tabulka 6 Druhové spektrum hub s ohledem na celkový počet pacientů a pohlaví

Druh	n	%	Muži		Ženy	
			n	%	n	%
<i>Candida albicans</i>	36	50,7	19	52,8	17	47,2
<i>Candida glabrata</i>	9	12,7	5	55,6	4	44,4
<i>Candida parapsilosis</i>	6	8,5	4	66,7	2	33,3
<i>Candida tropicalis</i>	4	5,6	2	50	2	50
<i>Candida krusei</i>	3	4,2	3	100	0	0
<i>Candida utilis</i>	1	1,4	1	100	0	0
<i>Candida lipolytica</i>	1	1,4	0	0	1	100
<i>Candida pelliculosa</i>	1	1,4	0	0	1	100
<i>Candida nemodendra</i>	1	1,4	0	0	1	100
<i>Candida pulcherrima</i>	1	1,4	1	100	0	0
<i>Geotrichum sp.</i>	1	1,4	0	0	1	100

<i>Geotrichum clavatum</i>	3	4,2	1	33,3	2	66,7
<i>Saprochaeta capitata</i> *	2	2,8	1	50	1	50
<i>Cryptococcus neoformans</i>	1	1,4	1	100	0	0
<i>Trichosporon asahii</i>	1	1,4	1	100	0	0
Celkem	71		39		32	

* dříve *Geotrichum capitatum*

Citlivost izolátů z krve k antimykotikům byla stanovena pomocí E-testu nebo Sensititre (Trek Diagnostic), které umožňovaly stanovit hodnotu minimální inhibiční koncentrace (MIC). Odečítání hodnoty MIC se provádělo po 24 hod anebo 48 hod v závislosti na houbovém agens. K hodnocení byly využity hodnoty získané při posledním odečtu, převážně tedy po 48 hod. Avšak vzhledem k malému počtu izolátů v rámci jednotlivých druhů a také k tomu, že ne všechny izoláty byly testovány proti všem antimykotikům, se citlivost hodnotila pouze u tří nejčastěji se vyskytujících druhů kvasinek: *C. albicans*, *C. glabrata* a *C. parapsilosis*. Nejvíce testovaným antimykotikem byl u všech tří druhů flukonazol. Z celkového počtu 42 izolátů *C. albicans* testovaných na toto antimykotikum, bylo 92,9 % citlivých (MIC \leq 2 mg/l), dva citlivé v závislosti na dávce a pouze jeden rezistentní (MIC > 4 mg/l). Co se týče *C. glabrata*, není u této kvasinky stanovena interpretační hodnota MIC pro kategorii citlivý. Stanoveny jsou pouze hodnoty, které určují, zda je tato kvasinka k flukonazolu rezistentní (MIC > 32 mg/l) nebo citlivá v závislosti na dávce (MIC \leq 32 mg/l). Na základě těchto kritérií bylo 6 izolátů (85,7 %) citlivých v závislosti na dávce a jeden rezistentní (14,3 %). Pokud jde o *C. parapsilosis*, bylo všech 5 izolátů vyšetřovaných na flukonazol citlivých (MIC \leq 2 mg/l). Jednotlivé hodnoty MIC nejen u flukonazolu, ale i u ostatních antimykotik, jsou uvedeny v tabulkách v příloze (Tabulka 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14). Kromě výše uvedeného bylo také u všech tří nejčastějších druhů kvasinek stanoveno rozmezí, geometrický průměr a MIC₉₀ (Tabulka 7).

Tabulka 7 Antifungální citlivost tří nejčastějších druhů kvasinek

Druh		Flukonazol (mg/l)
<i>Candida albicans</i>	počet	42
	rozmezí	0,09-8
	geometrický průměr	0,66
	MIC ₉₀	2
<i>Candida glabrata</i>	počet	7
	rozmezí	4-96
	geometrický průměr	14,14
	MIC ₉₀	24
<i>Candida parapsilosis</i>	počet	5
	rozmezí	0,19-2
	geometrický průměr	1,08
	MIC ₉₀	1,5

Pozn.: MIC₉₀ hodnota MIC pro 90 % testovaných izolátů

Na rozdíl od ostatních výsledků, byly výsledky citlivosti vztaženy na celkový počet hemokultivačních nálezů (n = 81).

7 DISKUZE

V souboru hodnocených pacientů bylo zjištěno, že na základě pohlaví tvořili muži početnější skupinu než ženy. Toto je do značné míry dáno základním onemocněním a rizikovými faktory a jejich případnou vazbou na pohlaví. Svou roli bude nepochybně sehrávat i relativně malý soubor hodnocených pacientů. Mezi rizikové a predispoziční faktory patří imunosuprese, chemoterapie, katétr, operace, transplantace, užívání širokospektrých antibakteriálních látek, mechanická ventilace, parenterální výživa, hemodialýza, neutropenie, kolonizace kandidami a další, které mohou souviset s věkem, diagnózou či příslušnou klinikou.

Z hlediska kandidémie je za zvlášť rizikový považován věk pod 1 rok a nad 65 let (Chang et al., 2008). U dětí je tato skutečnost dávana do souvislosti především s nízkou porodní hmotností a nezralým imunitním systémem. Naopak u starších jedinců by se dalo předpokládat, že toto riziko vyplývá z řady zdravotních problémů souvisejících s pokročilejším věkem. V našem souboru bylo nejvíce pacientů zaznamenáno ve věku 60-79 let, což v podstatě odpovídá publikovaným údajům. Stejněho výsledku dosáhli také Sandven et al. v rámci celostátní studie kandidémie v Norsku prováděné v letech 1991-2003 a mnoho dalších (Kao et al., 1999; Diekema et al., 2002; Ericsson et al., 2012). Pokud jde o jedince mladší jednoho roku, bylo jejich zastoupení ve všech těchto studiích, podobně jako v naší, výrazně nižší.

S ohledem na spektrum diagnóz bylo nejvíce pozitivních hemokultur zaznamenáno u pacientů s malignitami (20,8 %), nemocemi trávicí (23,6 %), oběhové (15,3 %) a dýchací soustavy (11,1 %). Srovnat tyto výsledky s odbornou literaturou je poměrně obtížné, neboť řada studií většinou nehodnotí zastoupení jednotlivých diagnóz, ale spíše jednotlivých rizikových faktorů. Pokud ale bývá některé onemocnění uváděno jako jedno z nejčastějších, je to rakovina (Bergamasco et al., 2013). To je v celku pochopitelné zejména proto, že pacientů s rakovinou stále přibývá. Důvody, proč jsou právě tyto pacienti ohroženi rozvojem kandidémie (fungémie), vychází z řady rizikových faktorů, jež se uplatňují při jejich léčbě (chemoterapie, imunosuprese, neutropenie, operace atd.).

Prakticky ve všech publikacích týkajících se kandidémie je dlouhodobý pobyt na JIP uváděn jako jeden z významných rizikových faktorů. Důvodem je především vážnost zdravotního stavu pacientů hospitalizovaných na těchto jednotkách, kdy je potenciální vznik kandidémie předurčen řadou faktorů. Bouza a Muñoz (2008) mezi

takové faktory řadí: předchozí gastrointestinální operace, užívání širokospektrých antibakteriálních látek, intravaskulární katétry, parenterální výživu, akutní renální selhání, mechanickou ventilaci a kolonizaci kandidami. Tito autoři také uvádějí, že 33-55 % všech kandidemií se vyskytuje právě na JIP. Co se týče našich 71 pacientů, bylo na JIP hospitalizováno celkem 78,9 %. Některé studie v USA naproti tomu ukazují, že kandidémie nemusí být výhradně spojena s pobytem na JIP, a že mnohem častěji se začíná vyskytovat i mezi ambulantními pacienty. Je zajímavé, že podíl ambulantních pacientů s kandidemií je například ve Španělsku nižší než v USA. Důvodem je pravděpodobně rozdíl v ambulantním používání centrálních žilních katétrů a v rostoucí praxi léčit různá chronická onemocnění spíše doma než v nemocnici. Ačkoliv byl v těchto studiích prokázán pokles kandidemií na JIP, celková incidence se nesnížila a kandidémie tak zůstává stále významným problémem (Pfaller a Diekema, 2007).

Zajímavým zjištěním v této práci bylo, že kromě kandid se v krvi pacientů vyskytovaly i jiné druhy kvasinek a kvasinkovitých hub, a to především zástupci rodu *Cryptococcus* (*Cryptococcus neoformans*), *Geotrichum* (*Geotrichum clavatum*, *Saprochaeta capitata* – dříve *Geotrichum capitatum*) a *Trichosporon* (*Trichosporon asahii*). Ačkoliv tyto houby způsobují fungémie jen velmi zřídka, byl jejich počet mezi pacienty poměrně vysoký (n = 8), což je zvláště závažné zejména s ohledem na malý počet hodnocených pacientů. O epidemiologii a rizikových faktorech spojených s těmito non-*Candida* fungemiemi je známo poměrně málo. Jejich častější záchyt však pravděpodobně souvisí s pokrokem v oblasti zdravotní péče umožňující zvýšenou možnost přežití u pacientů se závažnými chorobami (hematoonkologičtí pacienti), rostoucím počtem imunokompromitovaných osob a s využíváním nově dostupných metod identifikace. Tyto důvody jsou dávány do souvislosti také se zvyšujícím se počtem fungemií způsobených non-*albicans* kandidami v posledních dvou desetiletích (Yamamoto et al., 2013; Chang et al., 2008). Přestože *Candida albicans* je stále považována za nejčastěji izolovanou kvasinku, někteří autoři uvádějí, že více než 50 % kandidemií může být způsobeno právě non-*albicans* druhy (Mikulska et al., 2012). V našem případě *C. albicans* představovala nejčastěji izolovanou kvasinku ze souboru a to v 50,7 %. Tento výsledek je ovšem vztažen na celkový počet izolovaných kvasinek (kandidy + non-*Candida* kvasinky), tudíž pokud bychom počítali pouze s kandidami, bylo by toto číslo vyšší (57,1 %). Podobně jako je tomu v řadě evropských zemí a v USA (Guinea, 2014), byla druhou nejčastěji

izolovanou kandidou *C. glabrata* (12,7 %). Po ní následovaly *C. parapsilosis* (8,5 %), *C. tropicalis* (5,6 %) a *C. krusei* (4,2 %). Kromě těchto pěti druhů, které jsou nejčastěji identifikovány jako původci kandidémie (Guinea, 2014), byly mezi pacienty nalezeny i některé vzácnější druhy kandid: *C. utilis*, *C. lipolytica*, *C. pelliculosa*, *C. nemodendra* a *C. pulcherrima* (všechny se mezi pacienty vyskytovaly pouze jedenkrát).

Je známo, že jisté druhy kvasinek se u některých typů diagnóz a v určitých věkových skupinách vyskytují častěji než u jiných (Mikulska et al., 2012; Miceli et al., 2011). S ohledem však na nízké zastoupení těchto druhů nepovažují za zcela účelné tyto skutečnosti hodnotit.

Citlivost k antimykotikům byla hodnocena pouze u tří nejčastěji se vyskytujících kvasinek: *C. albicans*, *C. glabrata* a *C. parapsilosis*. Nejčastěji testovaným antimykotikem u těchto druhů byl flukonazol. Ostatní antimykotika (anidulafungin, kaspofungin, mikafungin, posakonazol, vorikonazol, amfotericin B) byla testována jen sporadicky. Zjištěné výsledky byly poměrně uspokojivé. Ze všech 42 testovaných izolátů *C. albicans* bylo citlivých 92,9 %, dva citlivé v závislosti na dávce a pouze jeden rezistentní. Tento rezistentní izolát byl však při opakovaném vyšetření určen jako citlivý. Důvodem tohoto protichůdného nálezu je pravděpodobně laboratorní chyba nebo záchyt počínající tvorby rezistentních klonů. U *C. parapsilosis* bylo citlivých všech 5 testovaných kmenů. Pro *C. glabrata* sice není podle současných pravidel stanovena hodnota MIC, při které by byly izoláty považovány za citlivé, potěšující ale je, že ze 7 testovaných izolátů byl k flukonazolu rezistentní pouze jeden. Přes tyto dosažené výsledky však není nikdy jisté, zda bude mít použité antimykotikum u pacienta terapeutický efekt. Navíc výsledný účinek nezávisí pouze na vlastnostech léčiva, ale i na řadě faktorů ze strany pacienta i kvasinky. Při interpretaci laboratorních výsledků je proto vždy nutné brát všechny tyto vlivy v úvahu (Mallátová et al., 2011). Citlivost u ostatních druhů v souboru nebyla hodnocena vzhledem k jejich nízkému počtu. Kromě toho u většiny těchto druhů (mimo *C. tropicalis* a *C. krusei*) nejsou dosud jednoznačně stanovena interpretační kritéria MIC, tzv. break-points. Záleží tak na zkušenosti každé laboratoře, jak u těchto druhů získané výsledky citlivosti interpretuje.

8 ZÁVĚR

V teoretické části práce byla popsána problematika kvasinkových infekcí krevního řečiště se zaměřením především na kandidy jako jejich hlavní původce. Dozvěděli jsme se, že postupem času dochází ke změně a rozšiřování spektra kandid odpovědných za rozvoj kandidémií. Dále již také víme, že kandidémie bývají spojovány s celou řadou rizikových faktorů, které vyplývají zejména ze snahy léčit těžce nemocné pacienty. Kromě toho jsme také zjistili, jaká úskalí přinášejí současné možnosti laboratorní diagnostiky a jak důležité je proto zaměřit se na vývoj nových, rychlejších, citlivějších a specifitějších diagnostických metod. Obdobný přístup by však měl být zacílen i na vývoj nových antimykotických prostředků vzhledem ke stále se zvyšujícímu počtu kmenů vykazujících rezistenci na dosud používaná antimykotika.

Experimentální části práce byla zaměřena na získání informací ohledně četnosti výskytu kvasinek v krvi pacientů FN HK v období od 25. 11. 2005 do 12. 8. 2013. Zjištěný počet nálezů byl posléze hodnocen z hlediska druhového spektra, citlivosti k antimykotikům, věku, pohlaví, diagnózy a kliniky, kde byli pacienti hospitalizováni. Na základě toho jsme se například dozvěděli, že kandidy byly nejčastěji izolovanými kvasinkami a že převážná většina postižených byli pacienti ve vyšším věku a s oslabenou imunitou. Vzhledem k chybějícím klinickým kontextům však není možné s určitostí říci, u kolika pacientů v souboru byla přítomnost kvasinky v krvi spojena se skutečnou infekcí krevního řečiště a u kolika se jednalo o pouhý benigní nález nebo kontaminaci.

SEZNAM TABULEK A GRAFŮ

Seznam tabulek

<i>Tabulka 1</i>	Predispoziční faktory mykotických infekcí	12
<i>Tabulka 2</i>	Incidence kandidémie v Evropě a USA	18
<i>Tabulka 3</i>	Možnosti léčby kandidémie	28
<i>Tabulka 4</i>	Rozložení pacientů/nálezů s ohledem na pohlaví	33
<i>Tabulka 5</i>	Kategorie nemocí a jednotlivé diagnózy u pacientů s pozitivní hemokultivací	34
<i>Tabulka 6</i>	Druhové spektrum hub s ohledem na celkový počet pacientů a pohlaví	36
<i>Tabulka 7</i>	Antifungální citlivost tří nejčastějších druhů kvasinek	38
<i>Tabulka 8</i>	Výsledky MIC u <i>Candida albicans</i> stanovené E-testem	51
<i>Tabulka 9</i>	Výsledky MIC u <i>Candida glabrata</i> stanovené E-testem.....	54
<i>Tabulka 10</i>	Výsledky MIC u <i>Candida parapsilosis</i> stanovené E-testem.....	55
<i>Tabulka 11</i>	Výsledky MIC u <i>Candida tropicalis</i> stanovené E-testem	56
<i>Tabulka 12</i>	Výsledky MIC u <i>Candida krusei</i> stanovené E-testem	56
<i>Tabulka 13</i>	Výsledky MIC u ostatních druhů stanovené E-testem	57
<i>Tabulka 14</i>	Výsledky MIC u izolátů stanovených pomocí Sensititre.....	58

Seznam grafů

<i>Graf 1</i>	Zastoupení pacientů podle věkové struktury	33
<i>Graf 2</i>	Procentuální zastoupení pacientů na JIP a ostatních odděleních	36

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- AHMAD, S. a Z. KHAN. Invasive candidiasis: a review of nonculture-based laboratory diagnostic methods. *Indian Journal of Medical Microbiology*. 2012, roč. 30, č. 3, s. 264-269. ISSN 0255-0857.
- ANUNNATSIRI, S.; CHETCHOTISAKD, P. a P. MOOTSIKAPUN. Fungemia in non-HIV-infected patients: a five-year review. *International Journal of Infectious Diseases*. 2009, roč. 13, č. 1, s. 90-96. ISSN 1201-9712.
- BADER, O. MALDI-TOF-MS-based species identification and typing approaches in medical mycology. *Proteomics*. 2013, roč. 13, č. 5, s. 788-799. ISSN 1615-9853.
- BEDNÁŘ, M.; FRAŇKOVÁ, V.; SCHINDLER, J. et al. *Lékařská mikrobiologie: bakteriologie, virologie, parazitologie*. 1. vyd. Praha: Marvil, 1996. s. 344, 345. ISBN 80-2380-297-6.
- BENEŠ, J.; BARTOŠOVÁ, D.; BERAN, J. et al. *Infekční lékařství*. 1. vyd. Praha: Galén, c2009. s. 312, 316. ISBN 978-80-7262-644-1.
- BENJAMIN, K. D. Jr.; GARGES, H. a W. J. STEINBACH. *Candida* bloodstream infection in neonates. *Seminars in Perinatology*. 2003, roč. 27, č. 5, s. 375-383. ISSN 0146-0005.
- BERGAMASCO, M. D.; GARNICA, M.; COLOMBO, A. L. et al. Epidemiology of candidemia in patients with hematologic malignancies and solid tumours in Brazil. *Mycoses*. 2013, roč. 56, č. 3, s. 256-263. ISSN 0933-7407.
- BOROŠ, E. a A. JENČA. Kandidové biofilmy - současný problém klinické praxe. *Praktický lékař*. 2008, roč. 88, č. 12, s. 695-698. ISSN 0032-6739.
- BOUZA, E. a P. MUÑOZ. Epidemiology of candidemia in intensive care units. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 2008, roč. 32, příloha č. 2, s. 87-91. ISSN 0924-8579.
- BUCHTA, V. *Testování antifungální aktivity in vitro ve farmaceutickém výzkumu a klinické praxi*. Hradec Králové, 2002. Habilitační práce. Univerzita Karlova v Praze, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové. s. 2, 4.
- CAUDA, R. Candidaemia in patients with an inserted medical device. *Drugs*. 2009, roč. 69, příloha č. 1, s. 33-38. ISSN 0012-6667.

- CETKOVSKÝ, P.; KOUBA, M.; BUCHTA, V. et al. *Diferenciální diagnostika plicních infiltrátů a pokroky v léčbě mykotických infekcí u imunokompromitovaných pacientů*. 1. vyd. Praha: Triton, 2009. s. 218, 219, 227, 228, 230, 231, 232. ISBN 978-80-7387-343-1.
- ČERNÝ, V.; KULA, R.; NOVÁK, I. et al. *Sepse v intenzivní péči: vybraná doporučení v diagnostice a terapii*. 2. rozš. vyd. Praha: Maxdorf, c2005. s. 153. ISBN 80-7345-054-2.
- DE LUCA, C.; GUGLIELMINETTI, M.; FERRARIO, A. et al. Candidemia: species involved, virulence factors and antimycotic susceptibility. *The New Microbiologica*. 2012, roč. 35, č. 4, s. 459-468. ISSN 1121-7138.
- DE ROSA, F. G.; GARAZZINO, S.; PASERO, D. et al. Invasive candidiasis and candidemia: new guidelines. *Minerva Anestesiologica*. 2009, roč. 75, č. 7-8, s. 453-458. ISSN 0375-9393.
- DIEKEMA, D. J.; MESSER, S. A.; BRUEGGEMANN, A. B. et al. Epidemiology of candidemia: 3-year results from the emerging infections and the epidemiology of Iowa organisms study. *Journal of Clinical Microbiology*. 2002, roč. 40, č. 4, s. 1298-1302. ISSN 0095-1137.
- EGGIMANN, P.; GARBINO, H. a D. PITTET. Epidemiology of *Candida* species infections in critically ill non-immunosuppressed patients. *The Lancet Infectious Diseases*. 2003, roč. 3, č. 11, s. 685-702. ISSN 1473-3099.
- ERICSSON, J.; CHRYSANTHOU, E.; KLINGSPOR, L. et al. Candidaemia in Sweden: a nationwide prospective observational survey. *Clinical Microbiology and Infection*. 2013, roč. 19, č. 4, s. 218-221. ISSN 1198-743X.
- EVANS, E. S. Coping with *Candida* infections. *Proceedings of the American Thoracic Society*. 2010, roč. 7, č. 3, s. 197-203. ISSN 1546-3222.
- FALAGAS, E. M.; ROUSSOS, N. a K. Z. VARDAKAS. 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. *International Journal of Infectious Diseases*. 2010, roč. 14, č. 11, s. 954-966. ISSN 1201-9712.

- GIRI, S. a AJ. KINDO. A review of *Candida* species causing blood stream infection. *Indian Journal of Medical Microbiology*. 2012, roč. 30, č. 3, s. 270-278. ISSN 0255-0857.
- GLÖCKNER, A. a O. A. CORNELLY. Practical considerations on current guidelines for the management of non-neutropenic adult patients with candidaemia. *Mycoses*. 2013, roč. 56, č. 1, s. 11-20. ISSN 0933-7407.
- GREENWOOD, D.; SLACK, R. C. B.; PEUTHERET, J. F. et al. *Lékařská mikrobiologie: přehled infekčních onemocnění: patogeneze, imunita, laboratorní diagnostika a epidemiologie*. Přeložil: Jiří Schindler. 1. vyd. Praha: Grada, 1999. s. 563, 564, 560, 577, 580. ISBN 80-7169-365-0.
- GUINEA, J. Global trends in the distribution of *Candida* species causing candidemia. *Clinical Microbiology and Infection* [online]. 2014 [cit. 2014-03-27]. Dostupné z: <http://onlinelibrary.wiley.com.ezproxy.is.cuni.cz/doi/10.1111/1469-0691.12539/pdf>
- HA, F. J.; ITALIANO, C. M.; HEATH, CH. H. et al. Candidemia and invasive candidiasis: a review of the literature for the burns surgeon. *Burns*. 2011, roč. 37, č. 2, s. 181-195. ISSN 0305-4179.
- HABER, J.; JESENSKÁ, Z.; KRČMÉRY, V. et al. *Systémové mykózy a jejich léčba*. 1. vyd. Praha: Galén, 1995. s. 17, 19, 38, 39, 55, 56, 62, 67, 69. ISBN 80-85824-16-7.
- HABER, J.; RÁČIL, Z.; MAYER, J. et al. Léčba invazivní kandidózy - doporučení odborné společnosti. *Vnitřní lékařství*. 2008, roč. 54, č. 12, s. 1174-1184. ISSN 0042-773X.
- HABER, J.; MALLÁTOVÁ, N. a Ľ. DRGOŇA. Epidemiologie invazivní kandidózy a kandidémie: vývoj za poslední tři desetiletí. *Onkológia (Bratisl.)*. 2009, roč. 4, č. 2, s. 107-111. ISSN 1336-8176.
- HACIMUSTAFAOGLU, M. a S. CELEBI. *Candida* infections in non-neutropenic children after the neonatal period. *Expert Review of Anti-infective Therapy*. 2011, roč. 9, č. 10, s. 923-940. ISSN 1478-7210.

- HAMAL, P. Molekulárně genetické metody v lékařské mykologii: současný stav a perspektiva. *Klinická mikrobiologie a infekční lékařství*. 2007, roč. 13, č. 4, s. 136-144. ISSN 1211-264X.
- HAMAL, P.; JANDOVÁ, B. a K. MENCL. Identifikace kvasinek z klinického materiálu. Přehled současných možností se zaměřením na fenotypové metody a komerční produkty. *Postgraduální medicína*. 2010, roč. 12, příloha č. 5, s. 64-70. ISSN 1212-4184.
- CHANG, A.; NEOFYTOS, D. a D. HORN. Candidemia in the 21st century. *Future Microbiology*. 2008, roč. 3, č. 4, s. 463-472. ISSN 1746-0913.
- JEDLIČKOVÁ, A. *Systémové mykózy: průvodce ošetřujícího lékaře*. Praha: Maxdorf, c2006. s. 14-17. ISBN 80-7345-000-X.
- JÍLEK, P.; BUCHTA, V.; KUBANOVÁ, P. et al. *Úvod do mikrobiologických vyšetřovacích metod ve zdravotnictví*. 1. vyd. Praha: Karolinum, 2002. s. 102. ISBN 80-246-0459-0.
- KAO, A. S.; BRANDT, M. E.; PRUITT, W. R. et al. The epidemiology of candidemia in two United States cities: results of a population-based active surveillance. *Clinical Infectious Diseases*. 1999, roč. 29, č. 5, s. 1164-1170. ISSN 1058-4838.
- KOČMANOVÁ, I. Mikrobiologická rizika spojená s antimykotickou profylaxí - názor mikrobiologa. *Postgraduální medicína*. 2009, mimořádná příloha roč. 11, č. 9, s. 30-32. ISSN 1212-4184.
- LAU, A.; CHEN, S.; SLEIMAN, S. et al. Current status and future perspectives on molecular and serological methods in diagnostic mycology. *Future Microbiology*. 2009, roč. 4, č. 9, s. 1185-1222. ISSN 1746-0913.
- LIM, C. S.-Y.; ROSLI, R.; SEOW, H. F. et al. *Candida* and invasive candidiasis: back to basics. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*. 2012, roč. 31, č. 1, s. 21-31. ISSN 0934-9723.
- MALLÁTOVÁ, N. a K. MENCL. Laboratorní diagnostika invazivní kandidózy. *Postgraduální medicína*. 2010, roč. 12, příloha č. 5, s. 51-58. ISSN 1212-4184.
- MALLÁTOVÁ, N.; HAMAL, P.; KOČMANOVÁ, I. et al. Testování citlivosti mikromycet k antimykotikům *in vitro* u imunosuprimovaných pacientů – doporučení odborníků

- s podporou CELL a SLM ČLS JEP. *Postgraduální medicína*. 2011, roč. 13, příloha č. 5, s. 51-65. ISSN 1212-4184.
- MATOUŠKOVÁ, M. Mykotické infekce. *Urologické listy*. 2005, roč. 3, č. 2, s. 39-43. ISSN 1214-2085.
- MÉAN, M.; MARCHETTI, O. a T. CALANDRA. Bench-to-bedside review: *Candida* infections in the intensive care unit. *Critical Care* [online]. 2008, roč. 12, č. 1, s. 204-212 [cit. 2014-01-04]. Dostupné z: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov.ezproxy.is.cuni.cz/pmc/articles/PMC2374590/pdf/cc6212.pdf>
- MENSA, J.; PITART, C. a F. MARCO. Treatment of critically ill patients with candidemia. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 2008, roč. 32, příloha č. 2, s. 93-97. ISSN 0924-8579.
- MICELI, M. H.; DÍAZ, J. A.; LEE, S. A. et al. Emerging opportunistic yeast infections. *The Lancet Infectious Diseases*. 2011, roč. 11, č. 2, s. 142-151. ISSN 1473-3099.
- MIKULSKA, M.; DEL BONO, V.; RATTO, S. et al. Occurrence, presentation and treatment of candidemia. *Expert Review of Clinical Immunology*. 2012, roč. 8, č. 8, s. 755-765. ISSN 1744-666X.
- MORACE, G. a E. BORGHI. Fungal infections in ICU patients: epidemiology and the role of diagnostics. *Minerva Anestesiologica*. 2010, roč. 76, č. 11, s. 950-956. ISSN 0375-9393.
- OSTROSKY-ZEICHNER, L.; KULLBERG, B. J.; BOW, E. J. et al. Early treatment of candidemia in adults: a review. *Medical Mycology*. 2011, roč. 49, č. 2, s. 113-120. ISSN 1369-3786.
- PICAZO, J.; GONZÁLEZ-ROMO, F. a F. J. CANDEL. Candidemia in the critically ill patient. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 2008, roč. 32, příloha č. 2, s. 83-85. ISSN 0924-8579.
- PETŘÍK, F. Plicní mykózy. *Postgraduální medicína*. 2003, roč. 5, č. 7, s. 762-764. ISSN 1212-4184.

- PFALLER, M. a D. J. DIEKEMA. Epidemiology of invasive candidiasis: a persistent public health problem. *Clinical Microbiology Reviews*. 2007, roč. 20, č. 1, s. 133-163. ISSN 0893-8512.
- PFALLER, M.; NEOFYTOS, D.; DIEKEMA, D. et al. Epidemiology and outcomes of candidemia in 3648 patients: data from the Prospective Antifungal Therapy (PATH Alliance®) registry, 2004-2008. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*. 2012, roč. 74, č. 4, s. 323-331. ISSN 0732-8893.
- PÓVOA, P. a J. GONÇALVES-PEREIRA. Treatment of candidemia in adult patients without neutropenia - an inconvenient truth. *Critical Care* [online]. 2011, roč. 15, č. 1, s. 114-116 [cit. 2014-01-24]. Dostupné z: <http://ccforum.com/content/pdf/cc9414.pdf>
- SANDVEN, P.; BEVANGER, L.; DIGRANES, A. et al. Candidemia in Norway (1991 to 2003): results from a nationwide study. *Journal of Clinical Microbiology*. 2006, roč. 44, č. 6, s. 1977-1981. ISSN 0095-1137.
- SEDLÁČEK, P. Terapie invazivních mykotických infekcí u imunosuprimovaných pacientů. *Onkologie*. 2008, roč. 2, č. 3, s. 186-190. ISSN 1802-4475.
- SEREFHANOGLU, K.; TIMURKAYNAK, F.; CAN, F. et al. Risk factors for candidemia with non-*albicans* *Candida* spp. in intensive care unit patients with end-stage renal disease on chronic hemodialysis. *Journal of the Formosan Medical Association*. 2012, roč. 111, č. 6, s. 325-332. ISSN 0929-6646.
- SILVA, S.; NEGRI, M.; HENRIQUES, M. et al. *Candida glabrata*, *Candida parapsilosis* and *Candida tropicalis*: biology, epidemiology, pathogenicity and antifungal resistance. *FEMS Microbiology Reviews*. 2012, roč. 36, č. 2, s. 288-305. ISSN 0168-6445.
- SOBEL, J. D. Changing epidemiology of invasive candidiasis in intensive care unite- Much ado about nothing. *Critical Care Medicine*. 2008, roč. 36, č. 7, s. 2188-2189. ISSN 0090-3493.
- STENDER, H. PNA FISH: an intelligent stain for rapid diagnosis of infectious diseases. *Expert Review of Molecular Diagnostic*. 2003, roč. 3, č. 5, s. 649-655. ISSN 1473-7159.

- STONE, N. R. H.; GORTON, R. L.; BARKER, K. et al. Evaluation of PNA-FISH Yeast Traffic Light for Rapid Identification of Yeast directly from Positive Blood Cultures and Assessment of Clinical Impact. *Journal of Clinical Microbiology*. 2013, roč. 51, č. 4, s. 1301-1302. ISSN 0095-1137.
- TRTKOVÁ, J. a V. RACLAVSKÝ. Molecular-genetic approaches to identification and typing of pathogenic *Candida* yeasts. *Biomedical Papers of the Faculty of Medicine of Palacky University, Olomouc Czech Republic*. 2006, roč. 150, č. 1, s. 51–61. ISSN 1213-8118.
- TOMŠÍKOVÁ, A. *Nosokomiální mykózy*. 1. vyd. Praha: Karolinum, 2003. s. 9. ISBN 80-246-0376-4.
- TOMŠÍKOVÁ, A. *Nové poznatky v diagnostice mykóz*. 1. vyd. Praha: Karolinum, 2006. s. 114, 158, 202. ISBN 80-246-1051-5.
- TORTORANO, A. M.; KIBBLER, CH.; PEMAN, J. et al. Candidaemia in Europe: epidemiology and resistance. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 2006, roč. 27, č. 5, s. 359-366. ISSN 0924-8579.
- VOTAVA, M.; ČERNOHORSKÁ, L.; HEROLDOVÁ, M. et al. Lékařská mikrobiologie speciální. Brno: Neptun, 2003. s. 219, 221. ISBN 80-902896-6-5.
- WEB INTERVAL, a. <http://www.trios.cz/userfiles/chromagar-katalog.pdf>
- WEB INTERVAL, b. <http://labmet.zshk.cz/projekt/rejstrik.aspx>
- WEINBERGER, M.; LEIBOVICI, L.; PEREZ, S. et al. Characteristics of candidaemia with *Candida-albicans* compared with non-albicans *Candida* species and predictors of mortality. *Journal of Hospital Infection*. 2005, roč. 61, č. 2, s. 146-154. ISSN 0195-6701.
- YAMAMOTO, M.; TAKAKURA, S.; HOTTA, G. et al. Clinical characteristics and risk factors of non-*Candida* fungaemia. *BMC Infectious Diseases* [online]. 2013, roč. 13, č. 1, s. 247-252 [cit. 2014-03-17]. Dostupné z: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov.ezproxy.is.cuni.cz/pmc/articles/PMC3668224/pdf/1471-2334-13-247.pdf>
- ZAOUTIS, T. Candidemia in children. *Current Medical Research & Opinion*. 2010, roč. 26, č. 7, s. 1761-1768. ISSN 0300-7995.

PŘÍLOHA

Tabulka 8 Výsledky MIC u *Candida albicans* stanovené E-testem

Druh	MIC 24 h						MIC 48 h					
	ANID	MICA	CASP	POS	VOR	FLU	ANID	MICA	CASP	POS	VOR	FLU
<i>C. albicans</i>						-						0,38
<i>C. albicans</i>						0,75						1
<i>C. albicans</i>						0,5						0,5
<i>C. albicans</i>						0,5						0,25
<i>C. albicans</i>						0,5						0,5
<i>C. albicans</i>						0,125						0,125
<i>C. albicans</i>						0,25						0,09
<i>C. albicans</i>				0,032	0,023					0,32	0,32	
<i>C. albicans</i>						0,5						0,5
<i>C. albicans</i>						0,125						0,19
<i>C. albicans</i>						1						1
<i>C. albicans</i>					0,64	2					0,47	0,75
<i>C. albicans</i>		0,032	0,125			0,13		0,047	0,19			0,125
<i>C. albicans</i>						0,5						0,5

Druh	MIC 24 h						MIC 48 h					
	ANID	MICA	CASP	POS	VOR	FLU	ANID	MICA	CASP	POS	VOR	FLU
<i>C. albicans</i>						1,5						1,5
<i>C. albicans</i>						1						1
<i>C. albicans</i>						1,5						1,5
<i>C. albicans</i>						1						1,5
<i>C. albicans</i>						0,38						0,38
<i>C. albicans</i>						0,5						0,5
<i>C. albicans</i>						0,38						0,38
<i>C. albicans</i>						0,125						-
<i>C. albicans</i>						1						1
<i>C. albicans</i>	0,006					1,5	0,008					8
<i>C. albicans</i>	0,008					1	0,008					2
<i>C. albicans</i>						0,38						0,38
<i>C. albicans</i>	0,008					0,5	0,016					0,75
<i>C. albicans</i>						1						1
<i>C. albicans</i>						2						2
<i>C. albicans</i>						0,5						0,75
<i>C. albicans</i>						0,5						0,5

Druh	MIC 24 h						MIC 48 h					
	ANID	MICA	CASP	POS	VOR	FLU	ANID	MICA	CASP	POS	VOR	FLU
<i>C. albicans</i>						0,38						0,75
<i>C. albicans</i>						2						3
<i>C. albicans</i>	0,008					6	0,012					3
<i>C. albicans</i>						1,5						1
<i>C. albicans</i>						1,5						1,5
<i>C. albicans</i>						1						0,75
<i>C. albicans</i>						1,5						1,5
<i>C. albicans</i>						0,25						0,38
<i>C. albicans</i>						0,75						0,38
<i>C. albicans</i>						0,75						0,75
<i>C. albicans</i>						0,75						0,75

ANID – anidulafungin, MICA – mikafungin, CASP – kaspofungin, POS – posakonazol, VOR – vorikonazol, FLU – flukonazol

Tabulka 9 Výsledky MIC u *Candida glabrata* stanovené E-testem

Druh	MIC 24 h							MIC 48 h						
	ANID	MICA	CASP	POS	VOR	FLU	AMF	ANID	MICA	CASP	POS	VOR	FLU	AMF
<i>C. glabrata</i>						4							4	
<i>C. glabrata</i>					1	64						2	96	
<i>C. glabrata</i>						6							16	
<i>C. glabrata</i>						8							4	
<i>C. glabrata</i>		0,012	0,032	1,5		8			0,016	0,047	1,5		12	
<i>C. glabrata</i>						12							24	
<i>C. glabrata</i>	0,012				0,019			0,012				1		
<i>C. glabrata</i>						12							16	
<i>C. glabrata</i>			0,047							-				

ANID – anidulafungin, MICA – mikafungin, CASP – kaspofungin, POS – posakonazol, VOR – vorikonazol, FLU – flukonazol, AMF – amfotericin B

Tabulka 10 Výsledky MIC u *Candida parapsilosis* stanovené E-testem

Druh	MIC 24 h							MIC 48 h						
	ANID	MICA	CASP	POS	VOR	FLU	AMF	ANID	MICA	CASP	POS	VOR	FLU	AMF
<i>C. parapsilosis</i>						0,5							0,75	
<i>C. parapsilosis</i>							0,02							0,09
<i>C. parapsilosis</i>						0,5	0,004						1,5	0,06
<i>C. parapsilosis</i>						0,064							0,19	
<i>C. parapsilosis</i>						1,5							1,5	
<i>C. parapsilosis</i>						2							2	

ANID – anidulafungin, MICA – mikafungin, CASP – kaspofungin, POS – posakonazol, VOR – vorikonazol, FLU – flukonazol, AMF – amfotericin B

Tabulka 11 Výsledky MIC u *Candida tropicalis* stanovené E-testem

Druh	MIC 24 h							MIC 48 h						
	ANID	MICA	CASP	POS	VOR	FLU	AMF	ANID	MICA	CASP	POS	VOR	FLU	AMF
<i>C. tropicalis</i>				0,19							0,19			
<i>C. tropicalis</i>			0,094	0,25						0,094	0,25			
<i>C. tropicalis</i>						1,5							1,5	
<i>C. tropicalis</i>						2							-	

ANID – anidulafungin, MICA – mikafungin, CASP – kaspofungin, POS – posakonazol, VOR – vorikonazol, FLU – flukonazol, AMF – amfotericin B

Tabulka 12 Výsledky MIC u *Candida krusei* stanovené E-testem

Druh	MIC 24 h							MIC 48 h						
	ANID	MICA	CASP	POS	VOR	FLU	AMF	ANID	MICA	CASP	POS	VOR	FLU	AMF
<i>C. krusei</i>					1		0,125					8		2
<i>C. krusei</i>		0,38					0,5		0,38					0,5
<i>C. krusei</i>	0,125	0,125						0,125	0,125					
<i>C. krusei</i>	0,016	0,019	0,125	2				0,016	0,025	0,125	4			

ANID – anidulafungin, MICA – mikafungin, CASP – kaspofungin, POS – posakonazol, VOR – vorikonazol, FLU – flukonazol, AMF – amfotericin B

Tabulka 13 Výsledky MIC u ostatních druhů stanovené E-testem

Druh	MIC 24 h								MIC 48 h							
	ANID	MICA	CASP	POS	VOR	FLU	AMF	5FC	ANID	MICA	CASP	POS	VOR	FLU	AMF	5FC
CU						1,5								1,5		
CLP						8								10		
CPE						0,5								64		
CNE						0,25								0,38		
CPU						0,5								0,5		
GPA		1	32	4						1,5	32	4				
GCL			32	32			0,5				48	48			2	
GCL			48	2	1,5	8	0,75				48	8	3	64	1	
GCL					0,75		0,5						3		0,75	
CRN					0,25	6	0,094	48					0,064	6	0,38	48
CRN					0,19	6	0,094	48					0,064	8	0,38	48
TA						3								3		

ANID – anidulafungin, MICA – mikafungin, CASP – kaspofungin, POS – posakonazol, VOR – vorikonazol, FLU – flukonazol, AMF – amfotericin B, 5FC – 5-fluorcytosin, CU – *Candida utilis*, CLP – *Candida lipolytica*, CPE – *Candida pelliculosa*, CNE – *Candida nemodendra*, CPU – *Candida pulcherrima*, GPA – *Geotrichum capitatum* - *Saprochaeta capitata*, GCL – *Geotrichum clavatum*, CRN – *Cryptococcus neoformans*, TA – *Trichosporon asahii*

Pozn.: citlivost u CRN byla stanovena i po 72h (5FC 48/48; VOR 0,094/0,125; FLU 12/12; AMF 0,38/0,38)

Tabulka 14 Výsledky MIC u izolátů stanovených pomocí Sensititre

Druh	MIC 24 h									MIC 48 h								
	ANID	MICA	CASP	POS	VOR	ITR	FLU	AMF	5FC	ANID	MICA	CASP	POS	VOR	ITR	FLU	AMF	5FC
CA	0,015	0,008	0,06	0,015	0,008	0,015	0,25	0,5	0,12	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Gs	1	2	2	0,5	0,5	0,25	32	1	0,12	2	4	16	1	1	0,5	64	2	0,5
GPA	2	1	8	0,5	0,06	0,12	16	0,5	0,12	8	4	8	1	0,5	0,5	32	1	0,5
GCL	2	2	8	0,5	0,12	0,25	8	0,5	0,12	4	8	8	1	0,5	0,5	32	1	0,12

ANID – anidulafungin, MICA – mikafungin, CASP – kaspofungin, POS – posakonazol, VOR – vorikonazol, ITR – itrakonazol, FLU – flukonazol, AMF – amfotericin B, 5FC – 5-fluorcytosin, CA – *Candida albicans*, Gs – *Geotrichum* sp., GPA – *Geotrichum capitatum* - *Saprochaeta capitata*, GCL – *Geotrichum clavatum*

