

Kandidové biofilmy – súčasný problém klinickej praxe

BOROŠ E.¹, JENČA A.²

¹Oddelenie chirurgie, ŽNšP, Košice, Slovenská republika

Primár: MUDr. Erich Boroš

²Klinika stomatológie a maxilofaciálnej chirurgie, LF UPJŠ, Košice, Slovenská republika

Prednosta: prof. MUDr. Andrej Jenča, CSc.

SÚHRN

Patogénne druhy rodu *Candida* sú etiologickými agensami povrchových a systémových ochorení, vrátane nozokomiálnych nákaz. Mnohé kandidové infekcie sú asociované s tvorbou biofilmov na povrchoch medicínskych implantátov. Biofilm je spoločenstvo mikroorganizmov ireverzibilne fixovaných k povrchu, vytvárajúcich trojrozmernú štruktúru, obsahujúci extracelulárnu polymérovú matrix a mikrobiálne bunky, ktoré vykazujú rozdielne fenotypové vlastnosti. Kandidové bunky biofilmov sú rezistentné k širokému spektru antifungálnych látok bežne používaných v klinickej praxi. V liečbe sa používajú novšie antifungálne látky s antibiofilmovým pôsobením, napr. lipozomálny amfotericín B a echinokandíny (kaspofungín a mikafungín).
Kľúčové slová: *Candida*, biofilm, rezistencia, antimykotiká.

SUMMARY

Boroš E., Jenča A.: *Candida* biofilms – a current problem of clinical practice

Pathogenic species of the genus *Candida* are etiological agents of superficial and systemic diseases including nosocomial infections. Many *Candida* infections are associated with the production of biofilms on surfaces of medicinal implants. The biofilm is a microbially derived sessile community characterized by cells that are irreversibly attached to a substratum or interface or to each other, are embedded in a matrix of extracellular polymeric substances that they have produced, and exhibit an altered phenotype with respect to growth rate and gene transcription. *Candida* cells of the biofilms are resistant to a broad spectrum of antifungal substances commonly used in clinical practice. The current treatment is based on novel antifungal preparations with anti-biofilm action, for example lipid formulations of amphotericin B and echinocandins (caspofungin and micafungin).

Key words: *Candida*, biofilm, resistance.

Prakt. Lék. 2008, 88, No. 12, pp. 695–698

Úvod

Rod *Candida* je heterogénnou skupinou viac ako 150 asporogénnych kvasinkových druhov. Patogénne druhy tohto rodu, môžu zapríčiniť buď pomerne benigne povrchové, ale aj vážne, život ohrozujúce systémové ochorenia (11).

Na základe novších údajov z USA tieto mikroorganizmy boli stanovené za štvrtých najčastejšie sa vyskytujúcich pôvodcov infekcií krvného riečiska po koaguláza negatívnych stafylokokoch, *Staphylococcus aureus* a enterokokoch (1, 9, 10).

Candida spp. sú často identifikované ako pôvodcovia nozokomiálnych infekcií centrálného nervového systému, infekcií močového a respiračného traktu s vysokou mortalitou, obzvlášť pacientov imunodeficientných, hospitalizovaných na jednotkách intenzívnej starostlivosti (6, 7, 8).

C. albicans je najčastejším komenzálom ľudí a zvierat, ale aj hlavným oportúnnym patogénom. Ďalšie druhy, ako napr. *C. glabrata*, *C. krusei*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, aj novoobjavená *C. dubliniensis*, sú etiologickými agensami mnohých infekcií.

C. parapsilosis je agensom fungémie v 3–27 % prípadov asociovaných s používaním katétrov, kanýl, umelých srdcových chlopní a iných implantátov z umelohmotných materiálov (4, 25, 26).

C. tropicalis a *C. krusei* sú často izolované zo vzoriek biologického materiálu pochádzajúcich od onkologických pacientov, sú detekované pri očných infekciách a pri gynekologických ochoreniach, ako aj ďalšia patogénna kvasinka *C. glabrata* (5).

C. dubliniensis bola izolovaná z ústnej dutiny pacientov infikovaných HIV (24).

Väčšina manifestácií kandidových infekcií sú zapríčinené biofilmami, vytvá-

ranými na povrchoch implantovaných medicínskych pomôcok. Každoročne v USA sa použije viac ako 45 miliónov implantátov. Infekcie asociované s implantátmi sa vyskytnú u 1–60 % pacientov, pričom *Candida* spp. sú zistené až v 20 % (22).

Tento prehľadný článok sa zaoberá tvorbou a štruktúrou kandidových biofilmov, rezistenciou buniek biofilmov k antimikrobiálnym látkam a ich mechanizmami rezistencie, a zavedením vhodných terapeutických postupov pri chorobných stavoch vyvolaných biofilmami.

Definícia biofilmu

Existuje množstvo definícií biofilmov, najčastejšie prezentovaná je definícia navrhnutá Donlanom a Costertonom (2002):

„Zrelý biofilm je spoločenstvo (alebo zhluk) mikroorganizmov ireverzibilne fixovaných k povrchu, vytvárajúcich trojrozmernú štruktúru, obsahujúci extracelulárnu polymérovú matrix a mikrobiálne bunky, ktoré vykazujú rozdielne fenotypové vlastnosti“ (2).

Zhľuky mikrobiálnych buniek na povrchoch biomateriálov majú charakteristickú štruktúru a fenotypové vlastnosti, ktorými sa odlišujú od buniek rastúcich v tekutom prostredí. Najvýznamnejším fenotypovým znakom buniek biofilmu je redukovaná vnímavosť k obranným mechanizmom imunitného systému hostiteľa a ku konvenčnej antifungálnej terapii. Odstránenie implantátu je takmer vždy nutné k eliminácii infekcie (22).

Tvorba biofilmu a štruktúra

Tvorba biofilmu prebieha v troch fázach:

1. včasná (0–11 hod.),
2. intermediálna (12–30 hod.), a
3. neskorá (38–72 hod.) (16).

Podmienkou k vytvoreniu biofilmu je schopnosť kolonizovať povrch biomateriálu. V prvej fáze, bunky v typickej kvasinkovej forme adherujú k povrchu. Primárne prichytenie kandidových buniek k biomateriálom je sprostredkované nešpecifickými faktormi (bunková povrchová hydrofóbnosť a elektrostatické sily) a špecifickými adhezínmi na hubovom povrchu. Adhezíny napomáhajú k väzbe so sérovými proteínmi (fibrinogén, fibronectín) a slinnými faktormi (mucin), ktorými sú povlečené povrchy biomateriálov (23). Za 3–6 hod. kvasinkové bunky-blastospory sa menia na germ tube (9).

Po primárnom prichytení nastáva proliferácia buniek a tvorba mikrokolónií. Mikrokolónie sú oddelené vodnými kanálmi, ktoré poskytujú mechanizmus pre cirkuláciu živín v biofilme (10).

Po 24–48 hod. úplně zrelé biofilmy obsahovali hustou síť kvasiniek, hýf a pseudohýf, a na povrchoch týchto morfológických foriem bol viditeľný extracelulárny polymérový materiál. Použitie elektrónovej mikroskopie a konfokálneho laserového mikroskopu odhalilo trojrozmernú štruktúru zreých biofilmov, výraznú priestorovú heterogenitu a štruktúru mikrokolónií s vetvenými vodnými kanálmi. Hrúbka biofilmu bola v rozpätí 25–450 m (23).

Extracelulárna matrix biofilmu obsahuje až 97 % vody. Zvyšok tvoria sacharidy (41 %), proteíny (5 %), fosfor, hexozamín a ďalšie neidentifikované zložky. Podiel glukózy (16 %) bol vyšší ako manózy, a tiež obsahovala galaktózu (9, 10). Matrix biofilmov vytváraných *in vivo* obsahovala ešte bunky hostiteľa, napr. erytrocyty, trombocyty, makrofágy a neutrofilny (22).

Faktory ovplyvňujúce tvorbu biofilmu

Jedným z faktorov pôsobiacich na tvorbu biofilmu je prítomnosť mikrobiálneho druhu. U rôznych druhov rodu *Candida* bola experimentálne testovaná ich schopnosť vytvárať biofilm na povrchoch biomedicínskych materiálov. Všetky testované druhy kvasiniek *C. parapsilosis*, *C. pseudotropicalis* a *C. glabrata* vykazovali signifikantne menší rast biofilmu, v porovnaní s najviac patogénnou *C. albicans*. Kmene *C. albicans* produkovali viac biofilmu *in vitro*, ako non-*albicans* *Candida* spp. Na druhej strane, non-*albicans* *Candida* spp., hlavne *C. tropicalis* a *C. parapsilosis*, ľahko vytvárali biofilmy, keď rástli v médiu obsahujúcom 8% glukózu. Zvýšená tvorba biofilmov s následnou kandidémiou sa pozorovala u pacientov s celkovou parenterálnou výživou, ktorým sa podávali infúzne roztoky s vysokou koncentráciou glukózy (9).

Schopnosť tvorby biofilmu súvisí s morfogenezou, alebo s dimorfizmom, tj. premena z kvasinkovej formy na hýfovú formu. Dimorfizmom sa vyznačujú len *C. albicans* a *C. dubliniensis*. Avšak, dimorfizmus nie je absolútnou požiadavkou pre tvorbu biofilmu, ale je vhodný pre vývoj priestorovo organizovanej štruktúry (10).

C. parapsilosis nevytvára pravé hýfy a biofilmy sú často zložené zo zhlukov blastospór. Biofilmy vytvárané *C. parapsilosis* nie sú až tak veľké ako vytvárané *C. albicans*. Tvorba biofilmu vyžaduje aktiváciu filamentárnej cesty. Delícia *efg1* a *cph1*, regulátorov filamentácie, inhibuje, alebo výrazne redukuje tvorbu biofilmu (20). Mutantné kmene neboli schopné filamentácie a vytvárali skôr defektné biofilmy bez trojrozmernej štruktúry a zložené hlavne z riedkych monolayerov predĺžených buniek (23).

Mutant neschopný tvoriť hýfy, vytváral hustý biofilm zložený z kvasinkových buniek, kým mutant, ktorý produkoval len vláknité bunky vytváral hýfový biofilm. Obe morfológické formy (kvasinkové bunky a hýfové bunky) sú schopné vytvárať biofilm a žiaden morfológický bunkový typ nie je absolútno podstatný pre tvorbu biofilmu (13, 18).

Druh používaného materiálu pôsobil na tvorbu biofilmu. Tvorba biofilmu bola mierne zvýšená na latexe alebo silikónovom elastoméri, v porovnaní s PVC, ale výrazne znížená na polyuretáne, alebo 100% silikóne. Pravdepodobne hlavne dva faktory ovplyvnili tvorbu biofilmov na týchto materiáloch: mikrotopografia (hladkosť) a hydrofóbnosť materiálu. Preinkubácia PVC *in vitro* s fibrinogénom alebo kolagénom zvýšila tvorbu biofilmov *C. albicans*. Podobne, preinkubácia akrylátovej živice so sérom a slinami podporila tvorbu biofilmu na povrchu zubnej protézy (10, 22).

Je dobre známe, že niektoré slinné proteíny, napr. fibronektín a proteíny bohaté na prolín, môžu pôsobiť ako receptory pre *C. albicans*. Tieto proteíny, keď sú imobilizované na povrchu pôsobia ako receptory pre voľné kvasinky, tak môžu podporovať kandidovú adhéziu a následne tvorbu biofilmu na substráte (13).

Množstvo kandidovej matrix tiež závisí na inkubačných podmienkach počas tvorby biofilmu. Podstatne zvýšené množstvo matrix sú vytvárané počas inkubácie s miernym pretrepávaním, namiesto statickej inkubácie (10). S podmienkami rýchleho prúdenia sa stretávame v cirkulačnom systéme obklopujúcom venózne katétre a srdcové chlopne. Avšak, prúdenie nie je nutné pre masívnu tvorbu biofilmu vo všetkých miestach infekcie: pomalý, alebo intermitentný prúd možno očakávať v mieste zubných protéz, močových katérov a kľbových protéz, ako je známe všetky sú asociované s tvorbou biofilmu (22).

Biofilmy sú väčšinou polymikrobiálnej povahy, okrem kvasiniek sú často detekované stafylokoky (*S. epidermidis*). Elektrónovou mikroskopiou sa odhalili rozsiahle fyzikálne medzidruhové interakcie medzi stafylokokmi, kvasinkami a hýfami, ktoré stimulujú adhérenciu. Podobné pozorovania boli vykonané s biofilmami obsahujúcimi *C. albicans* a orálne streptokoky (*Str. gordonii* a *Str. salivarius*) na zubnej živici (9) a *Streptococcus thermophilus* na hlasovej protéze. Opačný, antagonistický vzťah sa zistil medzi *Pseudomonas aeruginosa* a *C. albicans*. Bunky *P. aeruginosa* vytvárali biofilm na hýfách *C. albicans*, ktoré usmrcovali. Tento smrtiaci mechanizmus umožnil patogénnej baktérii *P. aeruginosa* antagonizovať hubový rast a stimulovať svoj vlastný rast (18).

Pri tvorbe biofilmov sa uplatňuje aj mechanizmus autoregulácie. V supernatantoch zo zreých biofilmov sa zistila látka s autoregulačnými účinkami, farnazol, ktorý inhibuje filamentáciu *C. albicans* a vo vysokých koncentráciách úplne inhibuje tvorbu biofilmu. Farnazol znižuje expresiu génov, napr. TUP1 (kontroluje tvorbu vláknien) a CSH1 (kóduje proteín asociovaný s bunkovou povrchovou hydrofóbnosťou).

Ďalšou autoregulačnou látkou s úlohou pri raste a morfogéne *C. albicans* je tyrozol, ktorý je zistený v médiu z vysokou hustotou kultúr. Tyrozol stimuluje rast a filamentáciu, ale jeho úloha v biofilmoch nebola zistená (23).

Výskyt biofilmu

Biofilmy sa zisťujú na povrchoch intravenózných a močových katérov, srdcových chlopni, pacemakerov, umelých cievnych bypasov, centrálnych nervových shuntov, kľbových náhrad (najčastejšie bedrový a kolenný kľb), dialyzačných zariadení, zubných protéz, endotracheálnych kanýl, intrauterinných teliesok, silikónových implantátov, hlasových protéz, očných kontaktných šošoviek, stentov, a i.

Prvým príkladom detekovaného biofilmu bol zubný plak na povrchu zubov. Biofilm môže byť zistený aj na patologicky zmenených tkanivách počas chronických stavov, napr. pri cystickej fibróze, endokarditide, recidivujúcej vulvovaginitide, apod. (9, 10, 14, 15, 18, 19, 22, 23).

Intravenózný katéter

Najčastejšie infikované, chirurgicky implantované zariadenie je centrálny venózný katéter, ktorý je používaný k podávaniu tekutín a živín, ako aj cytotoxických látok. Infekcia môže vzniknúť kedykoľvek počas používania katétra a katétre sú častokrát dlhodobo zavedené. Buď infúzna tekutina, alebo vnútorná plocha katétra sú kontaminované, ale častejšie sú mikroorganizmy prenesené z pacientovej kože alebo z rúk ošetrojúceho personálu. Distálny koniec katétra môže byť kontaminovaný v čase inzercie, alebo mikroorganizmus môže migrovať z miesta rany spôsobenou katétrom. U onkologických pacientov s chemoterapiou dochádza k poškodeniu intestinálnej sliznice.

Candida spp., ktoré ako komenzály kolonizujú gastrointestinálny trakt, sú schopné prestupovať intestinálnou sliznicou, invadovať krvné riečiško a následne tak môžu aj endogénne kolonizovať koniec katétra (9, 10).

C. albicans je najčastejšie izolovanou kvasinkou (70–80 %) z povrchov intravenózných katérov (27). Spomedzi ďalších druhov rodu *Candida*, pomerne často boli detekované *C. parapsilosis* (57 %), *C. tro-*

picalis (21 %), a zriedkavejšie aj *C. krusei*, *C. mesenterica*, *C. kefyr* (7 %) a iné (4).

Ortopedické náhrady

Implantované ortopedické kĺbové protézy, hlavne bedrové a kolenné kĺby, sú bežne infikované. Mikroorganizmy kontaminujú protézy počas chirurgického zákroku, ale môžu byť aj hematogénne diseminované z iného ohniska infekcie v organizme. Dĺžka trvania operácie je predisponujúcim faktorom vzniku kandidovej infekcie. Komplikácie po implantovaní môžu byť včasné alebo neskoré. Včasné infekcie sú tie, ktoré sa vyskytnú za tri alebo menej mesiacov po chirurgickom výkone. Symptómy sú bolesť, edém, oneskorené hojenie rany, erytém a horúčka. Neskoré manifestácie sú pretrvávajúca bolesť, skorá strata protézy s/alebo bez pyrexie (14).

Močové katetre

Močové katetre sú duté, latexové alebo silikónové implantáty, ktoré prechádzajú uretrou do močového mechúra. Katérové systémy môžu byť otvorené alebo uzavreté. Pacienti s uzavretými systémami sú omnoho vnímavejší k vzniku infekcií močového traktu. Väčšina infekcií močového traktu súvisia so zavedeným katétrom (14). Spomedzi kvasinkových organizmov *C. albicans* je izolovaná vo viac ako 50 %.

Torulopsis glabrata (predtým *C. glabrata*) je druhým najčastejším izolátom z moču a je zodpovedná za 25–33 % kultivačne pozitívnych močových vzoriek. Ďalšie non-*albicans Candida* spp., ako *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. lusitanae*, *C. krusei*, *C. guilliermondii* a i., sa zistili v moči vo 8–22 % prípadov.

Candida spp. sú etiologickými agensami kandidovej cystitídy, uretritídy, alebo asymptomatickej kandidúrie, ale aj vážneho stavu renálnej kandidózy (7).

Dialyzačné zariadenia

Biofilmy sa vytvárajú na dialyzačných zariadeniach, potrebných pre pacientov s ochoreniami obličiek. Predispozičné faktory vzniku infekcie sú metabolická acidóza, základné ochorenie, vysoká koncentrácia glukózy a nízke pH. Deficientný imunitný systém nedokáže eliminovať mikroorganizmy u týchto kompromitovaných pacientov (17).

Intrauterinné telieska

Používanie intrauterinných teliesok je asociované so zápalovými ochoreniami v oblasti panvy. Odstránené teliesko je často kontaminované *Candida* spp. Opuzdrený koniec telieska môže byť zdrojom kontaminácie, pôsobí ako tampón umožňujúci kvasinkám šíriť sa kapilármi a vstúpiť do endometriálnej dutiny (14).

Implantáty centrálného nervového systému

Najčastejšie používané implantáty CNS sú ventrikuloperitoneálne shunt, ktoré sú vyrobené zo silikónových polymérov. Obštrukcia prietoku a infekcie sú najčastejšími komplikáciami. Predispozičné faktory vzniku kandidovej infekcie asociovanej s používaním shuntov sú aplikácia antibiotík pred, alebo paralelne pri bakteriálnej meningitíde, únik cerebrospinálnej tekutiny, perforácia čreva a/alebo operácia brucha, používanie steroidov a implantované katetre (21).

Klinická prezentácia kandidových infekcií asociovaných so shuntami sa líši hlavne v súvislosti s lokalizáciou infekcie. Ak infekcia je na distálnom konci (cievne miesto alebo peritoneum) môže byť horúčka a nepokoj. Ak infekcia je na proximálnom konci sú dokázané symptómy ako bolesť hlavy, nauzea, vomitus (14).

Zubné protézy

Povrchové kandidové infekcie asociované s implantovanými zariadeniami sú síce omnoho menej závažnejšie, ale na druhej strane sú často dlhodobo zneprijemňujúce zdravotný stav, kvôli prolongovanej a problematickej terapii. Veľmi často v literatúre je zaznamenaná protetická stomatitída (syn. chronická atrofická stomatitída, protézová stomatitída), čo je kandidová infekcia ústnej sliznice, stimulovaná tesne nasadajúcou hornou protézou. Biofilm je vytváraný na povrchu zubnej živice a obsahuje obrovské množstvo baktérií, hlavne streptokokov, okrem iného aj kvasinky (9, 10). Protézy pôsobia ako rezervoáre kvasinkových organizmov, pravidelne infikujúcich sliznice napriek imunitnej bariére a slinným antimikrobiálnym faktorom. Povrchy protéz obyčajne vykazujú mikrotrhliny a mikroporozity osidlenné mikroorganizmami, ktoré prakticky nie je možné odstrániť mechanickým alebo chemickým čistením (3).

Hlasové protézy

Silikónové hlasové protézy, ktoré sú aplikované pacientom po laryngektómii, môžu byť kontaminované polymikrobiálnymi biofilmami obsahujúcimi *Candida* spp. Tieto zariadenia často zlyhajú za niekoľko mesiacov po implantovaní, pretože biofilm zapríčini malfunkciu chlopnového mechanizmu (28).

Rezistencia biofilmov

Najvýznamnejším fenotypovým znakom buniek mikrobiálnych biofilmov je ich rezistencia k rôznym antimikrobiálnym látkam, vrátane antibiotík, antiseptík a komerčne dostupným biocídnym prípravkom. Rezistencia kandidových biofil-

mov k antifungálnym látkam bola prvýkrát opísaná Hawserom a Douglasom v r. 1995 (12). Mikroorganizmy biofilmu sú 10–1000 krát rezistentnejšie k antimikrobiálnym látkam ako bunky z bujónovej kultúry.

Mechanizmy rezistencie biofilmov k antibakteriálnym látkam nie sú úplne objasnené. Možné mechanizmy sú:

1. restriktčná penetrácia látok cez matrix biofilmu – matrix extracelulárneho polymérového materiálu môže vylúčiť alebo obmedziť prístup látok k organizmom hlboko uloženým v biofilme,
2. fenotypové zmeny vyplývajúce zo zníženého stupňa rastu alebo nutričného obmedzenia – bunky biofilmu rastú pomaly kvôli obmedzenej dostupnosti živín, hlavne pri báze biofilmu; nízky stupeň rastu je často sprevádzaný zmenami v zložení bunkového povrchu, čo môže zmeniť pôsobenie citlivosti mikroorganizmov k antimikrobiálnym látkam,
3. expresia génov rezistencie kódujúcich efluxové pumpy – zvýšená regulácia génov kódujúcich efluxové pumpy môže vyvolať multirezistentný fenotyp, ktoré sú kódované CDR a MDR génmi; gény kódujúce oba typy efluxových pump sú zvýšene regulované počas tvorby alebo vývoja biofilmu (9,10,23). Rezistencia biofilmu je komplexný multifaktoriálny fenomén, ktorý treba ešte úplne vysvetliť.

Modifikácia biomateriálov/Prevencia

Biokompatibilita medicínskeho implantátu sa môže zvýšiť ošetrovaním povrchu. Toto vedie k modifikácii vlastností povrchu a tak sa zníži vnímavosť k mikrobiálnej adherencii. Tieto vlastnosti implantátu sú hydrofilnosť a neprítomnosť povrchovej energie.

Medicínske zariadenia môžu byť vyrobené z plastov a kovov a sú hydrofóbne s vysokým koeficientom trenia, ktorý zosilňuje mieru infekcie. Zvýšením hydrofilnosti dôjde k redukcii bakteriálnej adhézie. Toto vyžaduje použitie hydrogélovej technológie, čo je proces, ktorým sa aplikujú biokompatibilné vodné absorbátové polymérové hydrogély na povrchy medicínskych zariadení. Väčšina mikroorganizmov ťažko adhezuje na povrch povlečený hydrogélom.

Príklady hydrogélových polymérov sú polyvinyl pyrrolidon a polyetylén glykol. Močové katetre s hydrogélovým povlakom sú vhodnejšie ako silikónové.

Inkorporácia netoxických, antiinfekčných látok na povrch implantátu poskytuje alternatívnu metódu k zabezpečeniu

povrchu bez mikroorganizmov. Výhody sú, že väčšina vlastností implantátu zostávajú nezmenené, zvyšujú biokompatibilitu, odolávajú mikrobiálnej adhézii na medicínskych implantátoch, majú antiinfekčné vlastnosti, čím poskytujú chemickú bariéru proti mikroorganizmom. Napr. striebro bolo použité na ortopedických protézach. Sulfadiazín strieborná soľ a chlórhexidín aplikované na polyuretánové centrálné venózne katétre redukovali frekvenciu mikrobiálnej kolonizácie (14).

Terapia

Klinicky významné a bežne používané antifungálne látky – amfotericín B, flukonazol, flucytozín, itrakonazol a ketokonazol boli omnoho menej účinné proti kandidovým bunkám v biofilmoch, ako proti bunkám v bujónovej kultúre.

Novšie antifungálne látky sú účinné proti kandidovým biofilmom. Opísalo sa antibiofilmové pôsobenie lipozomálneho amfotericínu B a dvoch echinokandínov (kaspofungín a mikafungín) (15, 16).

Mechanizmus echinokandínov proti bunkám biofilmov nie je jasný. Echinokandíny pravdepodobne primárne nevytvárajú svoje antibiofilmové účinky na bunkovú stenu kvasiniek, pretože boli pozorované len minimálne zmeny na kandidových bunkách biofilmov. Jedným z možných vysvetlení je ich potenciálny účinok na kinetiku extracelulárnej matrix, kde inhibícia produkcie polysacharidov echinokandínmi môže viesť k lúze a rozpadu extracelulárnej matrix (16).

Kaspofungín bol prvým povoleným antifungálnym preparátom tejto skupiny, ktorý inhibuje syntézu 1,3-glukánu, najväčšej štruktúrálnej zložky bunkovej steny kandid, pričom aj matrix biofilmu obsahuje tento polysacharid (10).

Vynikajúca účinnosť lipozomálneho amfotericínu B a echinokandínov proti rezistentným kandidovým biofilmom predstavuje významný krok pri liečbe invazívnych systémových kandidových infekcií. Použitie týchto látok môže viesť k zlepšeniu liečby hubových infekcií spôsobených implantátmi, umožní predĺženú retenciu intravaskulárnych zariadení v organizme pacientov a eliminuje

nevyhnutnosť vykonania chirurgického zákroku na chlopni pri kandidovej endokarditíde (15, 16).

Záver

Schopnosť vytvárať biofilmy je úzko asociovaná so vznikom infekcie, čo sa môže považovať za významný faktor virulencie počas kandidovej infekcie. Ďalšie štúdie by sa mali zamerať na *in vivo* biofilmy, používanie nových materiálov a ďalších preventívnych opatrení, ktoré možno využiť k inhibícii tvorby biofilmu. Infekcie asociované s biomateriálmi sú zvýšene alarmujúcim problémom v klinickej praxi kvôli ich rezistencii k štandardnej terapii. Dokázaná významná účinnosť nových tried antifungálnych látok proti kandidovým biofilmom predstavuje významný krok v liečbe invazívnych a s biofilmom asociovaných hubových infekcií.

Literatúra

1. Calderone, R.A. Introduction and historical perspectives. In: Calderone, R. A. (Ed.), *Candida and Candidiasis*, Washington, DC, ASM Press, 2002, p. 3-13.
2. Donlan, R.M., Costerton, J.W. Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. *Clin. Microbiol. Rev.*, 2002, 15, 2, p. 167-193.
3. Dorko, E., Jenča, A., Pilipčinec, et al. Candida-associated denture stomatitis. *Folia Microbiol.*, 2001, 46, 5, p. 443-446.
4. Dorko, E., Kmeťová, M., Marossy, A. et al. Non-albicans *Candida* species isolated from plastic devices. *Mycopathologia* 1999, 148, 3, p. 117-122.
5. Dorko, E., Kmeťová, M., Pilipčinec, E. et al. Rare non-albicans *Candida* species detected in different clinical diagnoses. *Folia Microbiol.* 2000, 45, 4, p. 364-368.
6. Dorko, E., Pilipčinec, E., Tkáčiková, L. *Candida* species isolated from cerebrospinal fluid. *Folia Microbiol.* 2002a, 47, 2, p. 179-181.
7. Dorko, E., Pilipčinec, E., Tkáčiková, L. Candidal urinary tract infections caused by non-albicans *Candida* species. *Folia Microbiol.* 2002b, 47, 2, p. 182-184.
8. Dorko, E., Pilipčinec, E., Tkáčiková, L. Fungal diseases of the respiratory tract. *Folia Microbiol.* 2002c, 47, 3, p. 302-304.
9. Douglas, L.J. Medical importance of biofilms in *Candida* infections. *Rev. Iberoam. Micol.* 2002, 19, 3, p. 139-143.
10. Douglas, L.J. *Candida* biofilms and their role in infection. *Trends Microbiol.* 2003, 11, 1, p. 30-36.
11. Ghannoum, M.A., Abu Elteen, K.H. Pathogenicity determinants of *Candida*. *Mycoses* 1990, 33, 6, p. 265-282.
12. Hawser, S.P., Douglas, L.J. Resistance of *Candida albicans* biofilms to antifungal agents in vitro. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 1995, 39, 9, p. 2128-2131.
13. Henriques, M., Azeredo, J., Oliveira, R. *Candida albicans* and *Candida dubliniensis*: comparison of biofilm formation in terms of biomass and activity. *Br. J. Biomed. Sci.* 2006, 63, 1, p. 5-11.
14. Inaba, H.I. The significance of *Candida* infections of medical implants. *Sci. Res. Essays* 2006, 1, 1, p. 8-10.
15. Jabra-Rizk, M.A. Fungal infections and drug resistance. *Emerg. Med. Crit. Care Rev.* 2006, p. 1-7.
16. Jabra-Rizk, M.A., Falkler, W.A., Meiller, T.F. Fungal biofilms and drug resistance. *Emerg. Infect. Dis.* 2004, 10, 1, p. 14-19.
17. Kojic, E.M., Darouiche, R.O. *Candida* infections of medical devices. *Clin. Microbiol. Rev.* 2004, 17, 2, p. 255-267.
18. Kumamoto, C.A. *Candida* biofilms. *Curr. Opin. Microbiol.*, 2002, 5, 6, p. 608-611.
19. Kumamoto, C.A., Vines, M.D. Alternative *Candida albicans* lifestyles: growth on surfaces. *Annu. Rev. Microbiol.* 2005, 59, p. 113-133.
20. Laffey, S.F., Butler, G. Phenotype switching affects biofilm formation by *Candida parapsilosis*. *Microbiology*, 2005, 151, 4, p. 1073-1081.
21. Montero, A., Romero, J.A., Vargas, C.A. et al. *Candida* infection of cerebrospinal fluid shunt devices: Report of two cases and review of the literature. *Acta Neurochir.* 2000, 142, 1, p. 67-74.
22. Nett, J., Andes, D. *Candida albicans* biofilm development, modeling a host-pathogen interaction. *Curr. Opin. Microbiol.* 2006, 9, 4, p. 1-6.
23. Ramage, G., Saville, S.P., Thomas, D.P., López-Ribot, J.L. *Candida* biofilms: an update. *Eukaryot. Cell* 2005, 4, 4, p. 633-638.
24. Sullivan, D.J., Coleman, D.C. *Candida dubliniensis*: characteristics and identification. *J. Clin. Microbiol.* 1998, 36, 2, p. 329-334.
25. Tomšíková, A. Growing importance of non-*Candida* species as opportunistic pathogens. *Folia Microbiol.* 1997, 42, 6, p. 654.
26. Tomšíková, A. New yeast pathogens – agents of nosocomial mycoses. *Folia Microbiol.* 1999, 44, 1, p. 118.
27. Tronchin, G., Bouchara, J.P., Robert, R., Senet, J.M. Adherence of *Candida albicans* germ tube to plastic: ultrastructural and molecular studies of fibrillar adhesins. *Infect. Immun.* 1988, 56, 8, p. 1987-1993.
28. Van der Mei, H.C., Free, R.H., Elving, G.J. Effect of probiotic bacteria on prevalence of yeasts in oropharyngeal biofilms on silicon rubber voice prosthesis in vitro. *J. Med. Microbiol.* 2000, 49, 8, p. 713-718.

MUDr. Erich Boroš
 Oddelenie chirurgie
 Železničná nemocnica s poliklinikou
 Masarykova 9
 040 01 Košice
 Slovenská republika
 E-mail: boros@zcke.sk