

©Borgis

*Magdalena Sikora¹, Marlena Gołaś^{2,3}, Katarzyna Piskorska^{2,3}, Ewa Swoboda-Kopeć^{2,3}

Ocena pokrewieństwa genetycznego grzybów drożdżopodobnych izolowanych od pacjentów otrzymujących całkowite żywienie pozajelitowe**

Genetic relatedness analysis of yeast like fungal strains isolated from patients with total parenteral nutrition support

¹Zakład Mikrobiologii Stomatologicznej, Warszawski Uniwersytet Medyczny
P.o. Kierownika Zakładu: dr hab. n. med. Marta Wróblewska

²Katedra i Zakład Mikrobiologii Lekarskiej, Warszawski Uniwersytet Medyczny
Kierownik Zakładu: prof. nadzw. dr hab. med. Grażyna Młynarczyk

³Zakład Mikrobiologii, Samodzielny Publiczny Centralny Szpital Kliniczny, Warszawa
Kierownik Zakładu: dr hab. n. med. Ewa Swoboda-Kopeć

Słowa kluczowe

całkowite żywienie pozajelitowe, *Candida* spp., pokrewieństwo genetyczne

Key words

total parenteral nutrition, *Candida* spp., genetic relatedness

Adres/address:

*Magdalena Sikora
Zakład Mikrobiologii Stomatologicznej WUM
ul. Banacha 1a, 02-097 Warszawa
tel./fax +48 (22) 599-17-77
sikorka78@yahoo.com

Streszczenie

Wstęp. Gronkowce, pałeczki Gram-ujemne, jak również grzyby drożdżopodobne są najczęstszymi czynnikami etiologicznymi u chorych otrzymujących całkowite żywienie pozajelitowe (TPN). Wśród grzybów drożdżopodobnych gatunkiem dominującym jest *Candida* spp.

Cel pracy. Celem przedstawionej pracy była analiza pokrewieństwa genetycznego techniką RAPD szczepów dwóch gatunków: *C. albicans* i *C. glabrata*.

Materiał i metody. Analiza pokrewieństwa genetycznego była przeprowadzona na klinicznych szczepach grzybów drożdżopodobnych izolowanych od chorych otrzymujących TPN. Badaniu poddano 31 szczepów *Candida glabrata* oraz 13 *Candida albicans*. Badanie pokrewieństwa zostało przeprowadzone przy użyciu metody RAPD.

Wyniki. Wśród grupy 55 szczepów grzybów drożdżopodobnych izolowanych od 37 pacjentów, najliczniejszą grupę stanowiła *C. glabrata*. Na podstawie analizy wzorów prążkowych pośród wszystkich szczepów *C. glabrata* wyodrębniono 8 typów genetycznych. Drugim najczęściej izolowanym gatunkiem była *C. albicans*. Na podstawie analizy wzorów molekularnych szczepów *Candida albicans* metodą RAPD wyodrębniono 5 typów genetycznych.

Wnioski. 1. Gatunkiem dominującym w materiałach klinicznych od chorych była *Candida glabrata* z dużą różnorodnością profili genetycznych. 2. Na podstawie analizy pokrewieństwa wykazano 5 przypadków klonalnego rozprzestrzenia się w środowisku szpitalnym szczepów *C. glabrata*. 3. Klon trzeciego typu genetycznego *C. glabrata* dwukrotnie spowodował infekcję szpitalną. 4. Wśród szczepów *C. albicans* zaobserwowano dwukrotnie transmisje klonu w środowisku szpitalnym (klon typu 2 i 3).

Summary

Introduction. The most common etiological infection factors, concerning the patients with TPN, are: staphylococci, gram-negative bacilli, as well as yeastlike fungi. In clinical specimens, the predominant genus of yeastlike fungi, as isolated from the patients with TPN, is *Candida* spp.

Aim. The study was to epidemiologically analyse *Candida albicans* and *Candida glabrata* with RAPD.

Material and methods. Epidemiological analysis was conducted on clinical isolates of the yeastlike fungi cultured from patients who received TPN support. In total 31 *C. glabrata* and 13 *C. albicans* were examined. The relatedness analysis was performed with RAPD method (random amplified polymorphic DNA).

**Praca finansowana ze środków Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego (grant nr 1M20/PM12/13, opiekun projektu: dr hab. n. med. E. Swoboda-Kopeć).

Results. Among the 55 strains of the yeastlike fungi isolated from 37 patients receiving TPN the most numerable group constituted *C. glabrata*. On the base of RAPD analysis among all strains from *C. glabrata* species of the study group 8 genetic types were distinguished. The second numerable isolated species *C. albicans*. On the base of RAPD analysis among all strains from *C. albicans* of the study group 5 genetic types were described.

Conclusions. 1. *Candida glabrata* was the dominant species in clinical specimens of patients undergoing parenteral nutrition with high diversity of genetic profiles of isolates. 2. The relationship analysis demonstrated five cases of *C. glabrata* clonal spreading in a hospital environment. 3. The third type of *C. glabrata* genetic clone caused hospital infections twice. 4. Among the strains of *C. albicans* clone transmissions in a hospital environment was observed twice (clone type 2 and 3).

WSTĘP

Chorzy otrzymujący całkowite żywienie parenteralne stanowią jedną z grup ryzyka wystąpienia infekcji grzybiczej, wśród których dominuje rodzaj *Candida*. Wrotami zakażenia w tej grupie chorych są przede wszystkim zanikające kosmki jelita cienkiego, poprzez które dochodzi do translokacji patogenu z jego normalnego miejsca bytowania (infekcja endogenna), co prowadzi do kolonizacji narządów (1). Wśród chorych TPN możliwe jest także zakażenie egzogenne, którego źródłem jest skolonizowany cewnik żyły centralnej. Infekcje odcewnikowe postrzegane są jako jedne z najważniejszych komplikacji związanych z TPN (2, 3). Typowanie genetyczne szczepów drożdżaków z rodzaju *Candida* stanowi obecnie jeden z ważniejszych kierunków badań w przypadku podejrzenia krzyżowego przeniesienia tych drobnoustrojów (4-7). Technika RAPD jest jedną z częściej wykorzystywanych metod molekularnych badania pokrewieństwa szczepów. Umożliwia ona ustalenie genetycznej różnorodności pomiędzy szczepami *Candida* spp. (8-10). Wyniki uzyskiwane przy użyciu techniki RAPD są powtarzalne wyłącznie w obrębie laboratorium. Technika jest prosta w wykonaniu i szybko umożliwia identyfikację wzorów molekularnych izolatów *Candida* (11). Metoda daje możliwość ustalenia podobieństw i różnic genetycznych pomiędzy wieloma izolatami uzyskanymi od jednego chorego, a także pomiędzy szczepami izolowanymi od kilku chorych (5, 6, 8, 10, 12). Przy zastosowaniu metody RAPD możliwe jest różnicowanie następujących gatunków: *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. krusei* i *C. lusitaniae* (7, 9, 12-14). Stwierdzono, że analiza oportunistycznych patogenów z rodzaju *Candida* za pomocą techniki RAPD daje wiarygodne wyniki

identyfikacji potencjalnego źródła zakażenia (5, 11) oraz dróg ich transmisji w środowisku szpitalnym (7). Technika RAPD znalazła zastosowanie do analizy różnorodności genotypowej i badania pokrewieństwa genetycznego szczepów *Candida* pochodzących od chorych z upośledzonym układem odpornościowym, nosiciele wirusa HIV (8) i pacjentów z kandydią (13). Typowanie molekularne metodą RAPD wykorzystano również do analizy szczepów izolowanych od biorców narządów unaczynionych (15) oraz ustalenia potencjalnego źródła zakażenia grzybiczego u chorych otrzymujących całkowite żywienie pozajelitowe (16).

CEL PRACY

Celem przedstawionej pracy była analiza pokrewieństwa genetycznego oparta na technice RAPD szczepów *C. albicans* i *C. glabrata* izolowanych od chorych otrzymujących całkowite żywienie pozajelitowe.

MATERIAŁ I METODY

Analiza pokrewieństwa genetycznego szczepów została przeprowadzona na 55 klinicznych izolatach grzybów drożdżopodobnych wyhodowanych od 37 chorych otrzymujących całkowite żywienie pozajelitowe. Chorzy byli hospitalizowani w Klinice Żywienia i Chirurgii Szpitala Klinicznego im. W. Orłowskiego w Warszawie. Tabela 1 przedstawia rodzaj materiału klinicznego oraz gatunki grzybów drożdżopodobnych wyhodowane z tych materiałów.

Do analizy molekularnej wybrano dwa dominujące gatunki drożdżaków – *Candida albicans* (13 szczepów) oraz *Candida glabrata* (31 szczepów). Pozostałe pojedyncze gatunki drożdżaków (11 szczepów) nie zostały włączone do badania pokrewieństwa genetycznego.

Tabela 1. Gatunki grzybów drożdżopodobnych oraz rodzaj materiału klinicznego.

Gatunek (liczba izolatów)	Krew	Mocz	Stomia	Wymaz z odbytu	Plwocina	Wymaz z jamy ustnej	Wydzielina oskrzelowa	Wymaz z szyjki macicy
<i>Candida glabrata</i> (31)	1	9	6	7	3	2	1	2
<i>Candida albicans</i> (13)	3	1	1	2	3	1	2	–
<i>Candida tropicalis</i> (3)	1	–	2	–	–	–	–	–
<i>Candida parapsilosis</i> (3)	3	–	–	–	–	–	–	–
<i>Candida krusei</i> (2)	–	1	–	–	1	–	–	–
<i>Candida lusitaniae</i> (2)	–	1	1	–	–	–	–	–
<i>Candida inconspicua</i> (1)	–	–	–	–	1	–	–	–
Ogółem (n = 55)	8	12	10	9	8	3	3	2

Posiewy wykonywano z materiałów klinicznych na podłoże Sabourauda z dodatkiem chloramfenikolu i gentamycyny (bioMérieux). Płytki z wykonanym posiewem inkubowano w 30°C przez 24-48 h. Identyfikację uzyskanych szczepów przeprowadzono przy użyciu testów ID 32C (bioMérieux) zgodnie z zaleceniami producenta.

Izolacja DNA genomowego i badanie pokrewieństwa szczepów

Izolację DNA genomowego wykonano zgodnie z protokołem dołączonym do zestawu izolacyjnego firmy EURx (Gdańsk, Polska) z trzydniowej hodowli wyizolowanych szczepów w 1,5 ml płynnego podłoża Sabourauda bez dodatku antybiotyków. Po usunięciu pozostałości pożywki komórki zostały poddane lizie enzymatycznej w buforze reakcyjnym zawierającym proteinazę K oraz rybonukleazę. Uzyskany lizat nanoszony był na kolumny izolacyjne i przemywany dwukrotnie buforem myjącym w celu usunięcia komponentów białkowo-lipidowych. Następnie dokonano elucji DNA związanego ze złożem przy użyciu buforu Tris pH8.0. Otrzymane DNA posłużyło do przeprowadzenia dalszych etapów analiz.

Badanie pokrewieństwa szczepów *Candida* przeprowadzono metodą RAPD (ang. *random amplified polymorphic DNA*). Analiza opiera się na metodzie PCR przeprowadzanej z jednym niespecyficznym genowo starterem przy niskiej temperaturze topnienia. Reakcja prowadzona była w termocyklerze DNA Engine (MJ Research, BioRad, Hercules, USA) w warunkach 95°C-5', 45 cykli 95°C-1', 36°C-1', 72°C-2' w dwóch najliczniejszych grupach izolatów. Produkty reakcji rozdzielano elektroforetycznie w 2% żelu agarozowym z dodatkiem bromku etydyny. Dla gatunku *Candida glabrata* użyto starteru CND1 o sekwencji 5' TGG TCG CGG C 3'. Natomiast dla izolatów *C. albicans* użyto startera OPE-04 5' GTG ACA TGC C 3'. Analizę wyników przeprowadzono przy użyciu programu GeneTools firmy Syngene (Cambridge, Wielka Brytania).

WYNIKI

Wśród szczepów grzybów drożdżopodobnych pochodzących od 37 chorych żywionych pozajelitowo wyizolowano 55 szczepów drożdżaków. Materiały kliniczne oraz wyizolowane z nich gatunki drożdżaków przedstawione zostały w tabeli 1. W badanej grupie 55 izolatów zidentyfikowano następujące gatunki grzybów drożdżopodobnych: *Candida glabrata* – 31 izolatów, *C. albicans* – 13, *C. tropicalis* – 3, *C. parapsilosis* – 3, *C. krusei* – 2, *C. lusitanae* – 2, *C. inconspicua* – 1. Najliczniejszą grupę stanowiły szczepy *Candida glabrata* (31; 56,4%) wyhodowane z: moczu – 9, wymazów z odbytu – 7, stolii – 6, płwociny – 3. Z pozostałych materiałów izolowano pojedyncze szczepy *C. glabrata*. Drugi pod względem liczebności gatunek *Candida albicans* (13; 23,6%) pochodził głównie z krwi – 3 i płwociny – 3. W pozostałych siedmiu próbkach materiałów

klinicznych występowały pojedyncze szczepy *C. albicans*.

Na podstawie analizy wzorów genetycznych szczepów *C. glabrata* wyodrębniono osiem typów genetycznych. Do typu pierwszego zakwalifikowano 6 szczepów izolowanych od listopada do stycznia (4 szczepy) oraz w kwietniu i maju (2 szczepy). Drugi typ genetyczny to 5 szczepów izolowanych w listopadzie i grudniu (2 szczepy) oraz w styczniu i lutym (3 szczepy). Trzeci typ genetyczny składa się z 10 izolatów hodowanych w marcu (5 izolatów) oraz w maju (5 izolatów). Do typów czwartego i siódmego zaliczono po dwa izolaty. Kolejne dwa szczepy o odrębnych wzorach prążkowych to typ szósty, wyhodowany w grudniu, i ósmy wyhodowany w maju. Do typu genetycznego piątego zaliczono 4 izolaty pochodzące z wyhodowań w marcu (2 szczepy) oraz w kwietniu i w maju (2 szczepy). Zestawienie typów genetycznych szczepów *C. glabrata* przedstawiono w tabeli 2.

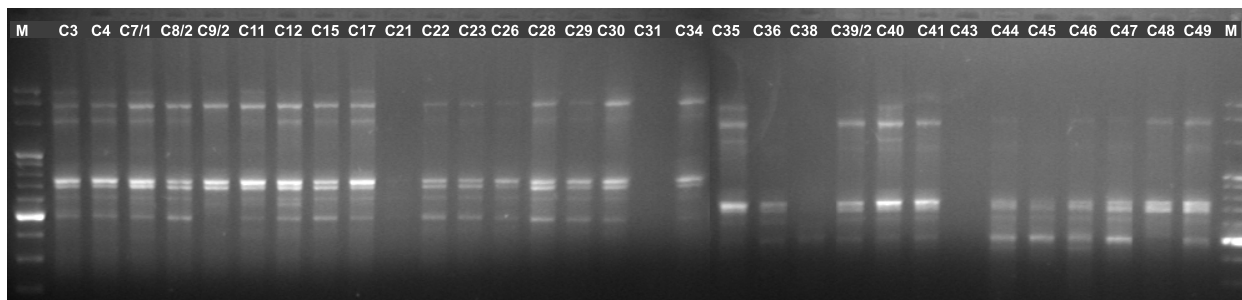
Tabela 2. Typy genetyczne szczepów *Candida glabrata* – starter CND1.

Typ genetyczny	Numer szczepu	Data izolacji	Prawdopodobieństwo transmisji
1	C3	15-11-2007	+
	C7/1	03-12-2007	
	C11	22-12-2007	
	C17	13-01-2008	
	C35	08-04-2008	
	C40	05-05-2008	
2	C4	06-11-2007	+
	C8/2	14-12-2007	
	C15	10-01-2008	
	C28	24-01-2008	
	C30	01-02-2008	
3	C22	14-03-2008	+
	C23	14-03-2008	
	C26	05-03-2008	
	C29	07-03-2008	
	C34	31-03-2008	
	C39/2	05-05-2008	
	C44	18-05-2008	
	C46	19-05-2008	
	C47	20-05-2008	
	C49	21-05-2008	
4	C36	25-04-2008	+
	C45	20-05-2008	
5	C21	14-03-2008	+
	C31	14-03-2008	
	C38	30-04-2008	
	C43	05-05-2008	
6	C12	29-12-2007	-
7	C9/2	18-12-2007	-
	C48	21-05-2008	
8	C41	05-05-2008	-

+ prawdopodobieństwo przeniesienia szczepu
- brak przeniesienia szczepu

Rozdział elektroforetyczny produktów RAPD dla *C. glabrata* pokrewieństwa wykreślono przy użyciu programu GeneTools firmy Syngene (ryc. 1).

Na podstawie analizy wyników RAPD szczepów *Candida albicans* wyodrębniono pięć typów genetycznych. Do typu pierwszego zaklasyfikowano trzy izolaty



Ryc. 1. Rozdział elektroforetyczny produktów reakcji RAPD szczepów *Candida glabrata* (M – wzorec długości DNA, C – oznaczenie izolatu).

wyhodowane w listopadzie, styczniu i marcu. Drugi typ genetyczny składa się z 4 izolatów pochodzących z wyhodowań w grudniu (2 szczepy), styczniu (1 szczep) oraz maju (1 szczep). Typ trzeci to 4 szczepy wyhodowane w listopadzie (1 szczep), grudniu (1 szczep) oraz marcu (2 szczepy). Do typu czwartego oraz piątego zakwalifikowano po jednym izolacie. Zestawienie typów genetycznych szczepów *C. albicans* przedstawiono w tabeli 3.

Tabela 3. Typy genetyczne szczepów *Candida albicans* – starter OPE-04.

Typ genetyczny	Numer szczepu	Data izolacji	Prawdopodobieństwo transmisji
1	C2 C16 C19	24-11-2007 13-01-2008 07-03-2008	-
2	C8/1 C9/1 C14 C42	14-12-2007 18-12-2007 12-01-2008 04-05-2008	+
3	C5 C13 C24/2 C25	19-11-2007 31-12-2007 14-03-2008 15-03-2008	+
4	C20	14-03-2008	-
5	C39/1	05-05-2008	-

+ prawdopodobieństwo przeniesienia szczepu

- brak przenoszenia szczepu

DYSKUSJA

Technika RAPD jest uznana za jedną z ważniejszych metod umożliwiających badanie różnorodności genetycznej klinicznych szczepów *Candida* spp. (7, 17). Marais i wsp. wykorzystali metodę RAPD do badań nad szczepami *C. parapsilosis* wyizolowanymi z wymazów środowiskowych i od chorych otrzymujących całkowite żywienie pozajelitowe. Szczepy analizowano przy użyciu techniki RAPD w celu ustalenia ich pokrewieństwa oraz potencjalnego źródła kontaminacji. Autorzy udowodnili, że testy molekularne służące analizie epidemiologicznej mogą być wykorzystywane do badania produktów medycznych, takich jak mieszaniny do żywienia parenteralnego, w celu poprawienia bezpieczeństwa pacjentów. Z badanych przez Marais i wsp. 20 szczepów grzybów z rodzaju *Candida* 18 izolatów było klonalnie jednorodnych. Zostały one zidentyfikowane jako źródło zakażenia, związane z obecnością klonu *C. albicans* w punkcie produkcji mieszanin do żywienia pozajelitowego (16).

W przedstawionej pracy na podstawie analizy wyników RAPD szczepów *C. albicans* wyodrębniono pięć różnych typów genetycznych. Izolaty pochodziły od 13 chorych. Szczepy zaliczone do pierwszego typu genetycznego zostały wyhodowane od trzech chorych: w listopadzie od jednego z pacjentów, następnie w styczniu od kolejnego i w marcu od trzeciego z chorych. W związku z odległymi w czasie izolacjami szczepów drożdżaków zasugerowano, iż stanowiły one najprawdopodobniej składnik flory własnej chorych. Szczepy zakwalifikowane do drugiego typu genetycznego cechowały się identycznymi wzorami prążkowymi. Trzy szczepy zostały wyhodowane na przestrzeni miesiąca od trzech chorych przebywających jednocześnie na oddziale, co może być związane z obecnością ww. szczepu w środowisku szpitalnym. Szczepy należące do trzeciego typu genetycznego wyizolowano na przełomie listopada i grudnia oraz w marcu, pochodziły one od czterech pacjentów. Pozostałe dwa szczepy *C. albicans* zakwalifikowane jako typ genetyczny czwarty i piąty nie wykazywały podobieństwa z pozostałymi typami genetycznymi, co może świadczyć o kolonizacji i/lub zakażeniach florą endogenną pacjentów. Paluchowska i wsp. oceniali różnorodność genetyczną izolatów *C. albicans* oraz *C. glabrata* wyhodowanych od chorych hospitalizowanych w Oddziale Intensywnej Terapii. Analiza wyników dla 31 szczepów *C. albicans* i 17 *C. glabrata* wykazała wysoki poziom różnorodności genetycznej szczepów. Autorzy stwierdzili brak klonalnego rozprzestrzeniania się szczepów z gatunku *C. albicans*, a wywołane infekcje miały najprawdopodobniej charakter endogenny. W badaniach autorzy zidentyfikowali dwa szczepy *C. glabrata* posiadające identyczne wzory molekularne. Fakt ten może wskazywać na możliwość krzyżowej transmisji patogenów w środowisku szpitalnym (7). W pracy Issa i wsp. przy użyciu techniki RAPD przeprowadzono analizę molekularną 53 szczepów *C. albicans*. Autorzy zidentyfikowali w obrębie tej grupy 29 genotypów. Jeden z typów genetycznych obejmował ponad 20% analizowanych szczepów. Wyniki tych badań wskazują, że większość chorych była skolonizowana przez ten sam szczep *C. albicans* (12). Wyniki pracy zespołu da Costa przedstawiają różnorodność genetyczną szczepów *C. albicans* i *C. tropicalis* wyizolowanych od chorych z wymazów z jamy ustnej. Badane szczepy stanowiły populację heterogenną i posiadały odrębne wzory prążkowe (14).

W pracy Valerio i wsp. opisali wyniki badań pokrewieństwa genetycznego grzybów *Candida* wyhodowanych z ran chirurgicznych, moczu i cewników moczowych pochodzących od chorych z kandydemią. Zidentyfikowane szczepy *C. albicans* nie wykazywały cech polimorficznych. Autorzy wykazali wysokie pokrewieństwo genetyczne badanych szczepów *C. albicans* i sugerują, że izolaty mogą być pochodzenia szpitalnego (13). Natomiast w pracy Boldo i wsp. opisana została różnorodność wzorów genetycznych 47 klinicznych szczepów *C. glabrata*. Autorzy stwierdzili, że badane szczepy cechują się niskim stopniem różnorodności genetycznej, co mogłoby wskazywać na wysokie prawdopodobieństwo klonalnego rozprzestrzeniania się szczepów w środowisku szpitalnym (18).

W przeprowadzonej pracy na podstawie analizy wyników RAPD wśród szczepów z gatunku *C. glabrata* wyodrębniono osiem różnych typów genetycznych. Do pierwszego typu genetycznego zaliczono cztery szczepy izolowane od chorych w ciągu dwóch miesięcy. Istnieje wysokie prawdopodobieństwo, że źródłem transmisji ww. typu genetycznego *C. glabrata* mogły być: środowisko szpitalne, chorzy lub personel medyczny. Do tej grupy zakwalifikowano również dwa szczepy pochodzące od tego samego pacjenta, wyizolowane z krwi i moczu. Do drugiego typu genetycznego zaliczono pięć szczepów izolowanych od pięciu chorych w okresie 3 miesięcy, co również wskazuje na prawdopodobieństwo zakażenia szczepem kolonizującym niszę szpitalną. Trzeci typ genetyczny prezentowało dziesięć szczepów wyizolowanych od ośmiu chorych. Pięć wyizolowano z materiałów klinicznych od czterech pacjentów w marcu; wśród tych szczepów dwa hodowane były z jamy ustnej oraz odbytu od tego samego pacjenta. Kolejne pięć szczepów należących do trzeciego typu genetycznego wyizolowano w maju 2008 r. od czterech innych pacjentów; wśród nich dwa izolaty pochodzące od jednego chorego z wydzieliny oskrzelowej oraz z moczu. Szczepy prezentujące trzeci typ genetyczny izolowano więc dwukrotnie od pacjentów hospitalizowanych na oddziale. Po raz pierwszy szczepy zidentyfikowano u czterech pacjentów w marcu. Kolejne ognisko wystąpiło w maju. Powyższe obserwacje mogą świadczyć o bytowaniu klonu *C. glabrata* szczepu w środowisku szpitalnym.

Do typu genetycznego numer 4 zakwalifikowano dwa izolaty wyhodowane od dwóch pacjentów w miesięcznym odstępie czasu. Prawdopodobna jest zatem

możliwość bytowania klonu typu czwartego w środowisku szpitalnym. Piąty typ genetyczny stanowiły cztery szczepy izolowane od trzech pacjentów. Wśród nich dwa izolaty wyhodowane zostały od jednego chorego z odbytu i z moczu. Szczepy te izolowano od pacjentów hospitalizowanych na oddziale w przedziale trzech miesięcy, co może świadczyć o prawdopodobieństwie bytowania klonu *C. glabrata* typu piątego w środowisku szpitalnym. Do siódmego typu genetycznego zaliczono dwa izolaty hodowane od dwóch pacjentów w grudniu i w maju. Okres pół roku dzielący obie izolacje szczepów siódmego typu genetycznego nie przemawia za zakażeniem szpitalnym.

Bonfim-Mendonça i wsp. opracowali profile genetyczne 39 szpitalnych izolatów *C. albicans*. Analiza RAPD wykazała obecność 10 typów genetycznych w obrębie badanej grupy. W przypadku większości szczepów wykazano wysokie prawdopodobieństwo wspólnego pochodzenia najprawdopodobniej ze środowiska szpitalnego (5). W pracy zespołu de Medeiros porównano pokrewieństwo genetyczne 62 klinicznych szczepów *C. albicans* wyizolowanych od chorych z zakażeniami układu płciowego. Ustalono, że w materiałach klinicznych pobranych od 94% pacjentek przeważał jeden typ genetyczny drożdżaka. Klon ten stanowił najprawdopodobniej rezerwar patogenu dla większości analizowanych przypadków infekcji (10).

Wśród najczęściej izolowanych drożdżaków od pacjentów żywionych pozajelitowo dominują gatunki *C. albicans* i *C. glabrata*. W oparciu o wyniki przedstawione w pracy wykazano przypadki klonalnej transmisji szczepów. Zauważono, że szczepy z gatunku *C. glabrata* częściej ulegały klonalnemu rozprzestrzenianiu w oddziale w analizowanym czasie.

WNIOSKI

1. *Candida glabrata* była gatunkiem dominującym w materiałach klinicznych chorych poddanych żywieniu pozajelitowemu.
2. Na podstawie analizy molekularnej pokrewieństwa wykazano 5 przypadków klonalnego rozprzestrzenienia szczepów *C. glabrata* w środowisku szpitalnym.
3. Klon trzeciego typu genetycznego *C. glabrata* dwukrotnie spowodował infekcję szpitalną.
4. Wśród szczepów *C. albicans* zaobserwowano dwukrotnie transmisję klonu w środowisku szpitalnym (klon typu 2 i 3).

PIŚMIENNICTWO

1. Duran B: The effects of long-term total parenteral nutrition on gut mucosal immunity in children with short bowel syndrome: a systemic review. *BMC Nurs* 2005; 4: 1-22.
2. Dimick JB, Swoboda S, Talamini MA et al.: Risk of Colonization of Central Venous Catheters: Catheters for Total Parenteral Nutrition Vs Other Catheters. *Am J Crit Care* 2003; 12: 328-335.
3. Tsai CC, Lay CJ, Wang CL et al.: Prognostic factors of candidemia among nonneutropenic adults with total parenteral nutrition. *Microbiol Immunol Infect* 2011; 44(6): 461-466.
4. Essendoubi M, Toubas D, Lepouse C, Leon A: Epidemiological investigation and typing of *Candida glabrata* clinical isolates by FTIR spectroscopy. *J Microbiol Methods* 2007; 71: 325-331.
5. Bonfim-Mendonça Pde S, Fiorini A, Shinobu-Mesquita CS et al.: Molecular typing of *Candida albicans* isolates from hospitalized patients. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 2013; 55(6): 385-391.
6. Mnichowska-Polanowska M, Wojciechowska-Koszko I, Klimowicz B et al.: Endogenous or exogenous origin of vaginal candidiasis in Polish women? *Pol J Microbiol* 2013; 2(3): 311-317.

7. Paluchowska P, Tokarczyk M, Bogusz B et al.: Molecular epidemiology of *Candida albicans* and *Candida glabrata* strains isolated from intensive care unit patients in Poland. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2014; 109(4): 436-441.
8. Pinto MP, Resende MA, Koga-Ito C, Tendler M: Genetic Variability Analysis among Clinical *Candida* spp. Isolates using Random Polymorphic DNA. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2004; 2: 147-152.
9. Xavier PC, Chang MR, Paula CR et al.: Molecular characterization of *Candida* spp. isolates from patients with bloodstream infections. *Rev Soc Bras Med Trop* 2013; 46(6): 786-787.
10. Araújo Paulo de Medeiros M, Vieira de Melo AP, Gonçalves SS et al.: Genetic relatedness among vaginal and anal isolates of *Candida albicans* from women with vulvovaginal candidiasis in north-east Brazil. *J Med Microbiol* 2014; 63: 1436-1445.
11. Bautista-Munoz C, Boldo XK, Villa-Tanaca L, Hernandez-Rodriguez C: Identification of *Candida* spp. by Randomly Amplified Polymorphic DNA Analysis and differentiation between *Candida albicans* and *Candida dubliniensis* by direct PCR methods. *J Clin Microb* 2003; 1: 414-420.
12. Issa SY, Badran EF, Aqel KF, Shehabi AA: Epidemiological characteristics of *Candida* species colonizing oral and rectal sites of Jordanian infants. *BMC Pediatr* 2011; 11: 79.
13. Valerio HM, Botelho Weikert-Oliviera R: Differentiation of *Candida* species obtained from nonsocomial candidemia using RAPD- PCR technique. *Rev Soc Bras Med Trop* 2006; 2: 1-9.
14. da Costa KR, Ferreira JC, Lavrador MA et al.: Virulence attributes and genetic variability of oral *Candida albicans* and *Candida tropicalis* isolates. *Mycoses* 2012; 55(3): e97-e105.
15. Golas M, Netsvetyayeva I, Piskorska K et al.: Polymerase chain reaction melting profiles of *Candida glabrata* clinical isolates in solid organ transplant recipients in comparison to the other group of surgical patients. *Transplant Proc* 2014; 46(5): 1366-1370.
16. Marais E, Steward R, Duse AG et al.: *Candida* parapsilosis detected in TPN using the BactT/Alert system and characterized by randomly amplified polymorphic DNA. *J Hosp Infec* 2004; 56: 291-296.
17. Chong PP, Abdul Hadi SR, Lee YL et al.: Genotyping and drug resistance profile of *Candida* spp. in recurrent and one-off vaginitis, and high association of non-albicans species with non-pregnant status. *Infect Genet Evol* 2007; 7: 449-456.
18. Boldo XM, Villa-Tanaca L, Zúñiga G, Hernández-Rodríguez C: Genetic diversity among clinical isolates of *Candida glabrata* analyzed by randomly amplified polymorphic DNA and multilocus enzyme electrophoresis analyses. *J Clin Microbiol* 2003; 41: 4799-4804.

otrzymano/received: 17.02.2015
zaakceptowano/accepted: 11.03.2015