

KATARZYNA OLSZEWSKA^{A-D}, MARIA MIELNIK-BŁASZCZAK^{A-F}

Liczebność drożdży z rodzaju *Candida* w ślinie u dzieci w okresie neutropenii wywołanej leczeniem przeciwnowotworowym

The Number of *Candida* spp. in Saliva in Children with Chemotherapy-Induced Neutropenia

Katedra i Zakład Stomatologii Wieku Rozwojowego, Uniwersytet Medyczny w Lublinie, Lublin, Polska

A – koncepcja i projekt badania; B – gromadzenie i/lub zestawianie danych; C – analiza i interpretacja danych; D – napisanie artykułu; E – krytyczne zrecenzowanie artykułu; F – zatwierdzenie ostatecznej wersji artykułu

Streszczenie

Wprowadzenie. Jednym z najczęstszych objawów niepożądanych leczenia cytostaticznego jest neutropenia – główny czynnik sprzyjający zakażeniom wywołanym m.in. przez *Candida* spp. i inne grzyby chorobotwórcze.

Cel pracy. Ocena liczebności kolonii drożdży z rodzaju *Candida* w ślinie u dzieci w okresie neutropenii wywołanej leczeniem przeciwnowotworowym oraz ocena zależności między dynamiką granulocytów obojętnochłonnych we krwi a liczebnością *Candida* spp. w ślinie.

Materiał i metody. Do grupy badanej zakwalifikowano 52 dzieci w wieku 3–17,5 lat z rozpoznaną chorobą nowotworową, będących w czasie leczenia przeciwnowotworowego. Grupą kontrolną było 52 dzieci w wieku 3–18 lat ogólnie zdrowych, dobranych metodą analogową pod względem wieku i płci. W obu badanych grupach wykonano badanie kliniczne jamy ustnej oraz badanie mikrobiologiczne śliny. Do oceny liczebności kolonii *Candida* spp. w ślinie użyto testów Dentocult®.

Wyniki. Badania wykazały istotnie większe miana drożdży *Candida* spp. w ślinie u dzieci z grupy badanej w porównaniu z grupą kontrolną. Największe miana drożdży obserwowano 7–21 dni od rozpoczęcia cyklu chemioterapii, kiedy stwierdzano również największe zmniejszenie liczby neutrofilów we krwi. Stwierdzono istotną zależność między liczebnością kolonii *Candida* spp. w ślinie a występowaniem zmian typu *mucositis* w jamie ustnej, stanem dziąseł i higieny jamy ustnej oraz liczbą granulocytów obojętnochłonnych we krwi u dzieci w czasie leczenia przeciwnowotworowego.

Wnioski. Wysokie miana drożdży z rodzaju *Candida* w ślinie w okresach głębokiej neutropenii przy zmianach typu *mucositis* obecnych w jamie ustnej stwarzają duże ryzyko rozwoju zagrażającej życiu kandydemii. Ze względu na częste powikłania terapii przeciwnowotworowej występujące w jamie ustnej dzieci chorych na nowotwory powinny być objęte specjalistyczną opieką stomatologiczną przez cały okres leczenia przeciwnowotworowego przy ścisłej współpracy lekarzy stomatologów z zespołem onkologów i hematologów dziecięcych (**Dent. Med. Probl.** 2014, 51, 2, 178–186).

Słowa kluczowe: chemioterapia, neutropenia, ślina, *Candida* spp.

Abstract

Background. One of the most common side-effects of cytostatic treatment is neutropenia, which is the most important factor predisposing to the infections caused by inter alia *Candida* spp. and other pathogenic fungi.

Objectives. The aim of the study was to assess the number of *Candida* spp. in saliva in children with chemotherapy-induced neutropenia and to determine the correlation between dynamics of blood neutrophils and number of *Candida* spp. in saliva.

Material and Methods. The study group comprised 52 children aged 3–17.5 with the diagnosis of cancer undergoing antineoplastic therapy. The control group included 52 children at the age of 3–18 generally health, chosen by the analog method with regard to the sex and age of patients. In both groups clinical examination of the oral cavity

and microbiological examination of the saliva were performed. The assessment of the number of *Candida* spp. in saliva was performed with the use of Dentocult®.

Results. The study revealed significantly higher numbers of *Candida* spp. in saliva in children with cancer in comparison to the control group. The highest numbers of fungi in saliva were observed between 7th and 21st day of chemotherapy, which coincided with the episodes of the most severe neutropenia. Statistical analysis points to the significant correlation between the number of *Candida* spp. in saliva and the incidence of oral mucositis, gingival status, oral hygiene status as well as blood neutrophils count in children with chemotherapy-induced neutropenia.

Conclusions. High numbers of *Candida* spp. in saliva coexisting with the episodes of severe neutropenia and oral mucositis lesions are a significant risk factor of developing of life-threatening candidemia. Due to the common side-effects of anticancer therapy, children with cancer should be provided with specialistic dental care during anticancer treatment (*Dent. Med. Probl.* 2014, 51, 2, 178–186).

Key words: chemotherapy, neutropenia, saliva, *Candida* spp.

Wśród dzieci powyżej pierwszego roku życia nowotwory są drugą (po zatruciach, urazach i wypadkach) przyczyną zgonów [1]. W większości krajów na świecie stwierdza się 70–160 nowych zachorowań rocznie na 1 milion dzieci do 15. r.ż. W Polsce w populacji dzieci do 17. roku życia co roku notuje się ok. 1100–1200 zachorowań na nowotwory [2–5]. Podstawowym celem leczenia przeciwnowotworowego u dziecka jest uzyskanie trwałej remisji i wyleczenia.

W przypadkach niemal wszystkich nowotworów dziecięcych wyleczenie, czyli całkowite, trwałe usunięcie wszystkich komórek nowotworowych z organizmu, stało się możliwe dopiero po wprowadzeniu chemioterapii. Ze względu na antyproliferacyjny mechanizm działania leków cytostatycznych najbardziej narażone na toksyczność chemioterapii są tkanki i narządy, w których dochodzi do największej liczby podziałów komórek (szpik kostny, błony śluzowe dróg oddechowych i przewodu pokarmowego, skóra i włosy oraz gonady). Sprawia to, że jednym z najczęstszych objawów niepożądanych leczenia cytostatycznego jest neutropenia, którą definiuje się jako zmniejszenie liczby granulocytów obojętnochłonnych we krwi obwodowej $< 1500/\mu\text{l}$.

Maksymalne zmniejszenie liczby granulocytów we krwi obwodowej (*nadir*) obserwuje się zwykle między 7. a 14. dniem od podania leków, przy czym okres ten różni się dość istotnie w zależności od typu stosowanej chemioterapii [6, 7]. Neutropenia poniżej $0,5 \times 10^3/\mu\text{l}$, a zwłaszcza krańcowa neutropenia poniżej $0,1 \times 10^3/\mu\text{l}$ sprzyja zakażeniom, przede wszystkim wywołanym przez pałeczki Gram-ujemne, ziarenkowce Gram-dodatnie, *Candida* spp. i inne grzyby chorobotwórcze [6–9].

Czynnikami ryzyka wystąpienia zakażeń grzybiczych są: neutropenia $< 500/\text{mm}^3$, gorączka oporna na leczenie antybiotykami o szerokim spektrum, która trwa ponad 96 godz., leczenie kortykosteroidami ponad 3 tygodnie w ciągu ostatnich 60 dni, choroba przeszczep przeciwko gospodarzowi. Ryzyko wystąpienia zakażenia

grzybiczego jest związane z czasem trwania i głębokością neutropenii.

Grzybnice rzadko przebiegają z wyraźnymi objawami klinicznymi. Często jedynym objawem klinicznym jest gorączka. Czynnikiem etiologicznym są najczęściej grzyby z rodzaju *Candida* spp. i *Aspergillus* spp., rzadziej *Fusarium*. *Candida* spp. jest saprofitem kolonizującym błony śluzowe i skórę człowieka. W jamie ustnej występuje u 30–50% zdrowych ludzi. Drożdże z rodzaju *Candida* nie wywołują choroby u zdrowych ludzi. Zaliczane są do grzybów oportunistycznych. U chorych w immunosupresji mogą wywołać zakażenia objawiające się klinicznie jako grzybnice powierzchowne umiejscowione na błonach śluzowych i skórze, grzybnice głębokie (narządowe) lub uogólnione (posocznica).

Obecnie zwiększa się liczba zakażeń wywołanych przez szczepy *Candida non-albicans* oraz *Candida glabrata* i *Candida krusei* odporne na flukonazol. Zakażenia inwazyjne wywołane przez *Candida* spp. są głównie pochodzenia endogenne i szerzą się ze skolonizowanej błony śluzowej przewodu pokarmowego. Przebiegają jako ostra hematogenna kandydoza (o.h.k.) bądź przewlekła rozsiana kandydoza narządowa (p.r.k.), często opisywana jako zespół wątrobowo-śledzionowy. Najczęściej rozwijają się we wczesnej fazie neutropenii w czasie intensywnej chemioterapii z powodu ostrych białaczek lub po kondycjonowaniu do auto-/allo-HSCT, najczęściej w chwili, gdy są obecne zmiany śluzówkowe. Stosowanie antybiotyków o szerokim spektrum powoduje dysbakteriozę i nasila kolonizację śluzówek przewodu pokarmowego przez szczepy *Candida* spp., a przez to staje się dodatkowym czynnikiem ryzyka inwazyjnego zakażenia grzybiczego (i.z.g.). Kandydemia u pacjenta z neutropenią musi być traktowana jako zakażenie zagrażające życiu, mogące przebiegać klinicznie jako ciężka sepsa z niewydolnością wielonarządową. Najczęstszym umiejscowieniem rozpoznanej postaci kandydozy jest jama ustna i gardło oraz przełyk [10–14].

Celem pracy była ocena liczebności kolonii drożdży z rodzaju *Candida* w ślinie u dzieci w okresie neutropenii wywołanej leczeniem przeciwnowotworowym oraz ocena zależności między dynamiką granulocytów obojętnochłonnych we krwi i liczebnością *Candida* spp. w ślinie.

Material i metody

Badaniem objęto 52 dzieci w wieku 3–17,5 lat z rozpoznaną chorobą nowotworową, będących w czasie leczenia przeciwnowotworowego w Klinice Hematologii, Onkologii i Transplantologii Dziecięcej Uniwersytetu Medycznego w Lublinie. Badana grupa liczyła 22 dziewczęta i 30 chłopców. Średni wiek badanych wynosił: $7,83 \pm 3,86$. Do badań zakwalifikowano 37 pacjentów chorych na nowotwory układu krwiotwórczego oraz 15 pacjentów z guzami litymi. Pacjenci byli leczeni zgodnie z zaleceniami Polskiej Grupy Pediatrycznej ds. Leczenia Białaczek i Chłoniaków oraz Polskiej Grupy Pediatrycznej ds. Leczenia Guzów Litych. Grupą kontrolną było 52 dzieci ogólnie zdrowych, dobranych metodą analogową pod względem wieku i płci, zgłaszających się do leczenia w Zakładzie Stomatologii Wiekowej Uniwersytetu Medycznego w Lublinie. Grupa kontrolna liczyła 22 dziewczęta i 30 chłopców. Wiek badanych wynosił od 3–18 lat, a średni wiek badanych dzieci: $8,19 \pm 4,04$.

Dzieci w czasie leczenia przeciwnowotworowego były badane trzykrotnie w czasie pobytu w szpitalu. Pierwsze badanie przeprowadzono w okresie pierwszych 7 dni od rozpoczęcia cyklu chemioterapii (T1), drugie badanie – 7–21 dni od rozpoczęcia leczenia (T2), trzecie badanie w okresie 21–30 dni od rozpoczęcia cyklu chemioterapii (T3). Dzieci z grupy kontrolnej były badane jednokrotnie.

Informacje dotyczące rozpoznania, czasu trwania i przebiegu choroby nowotworowej, chorób współistniejących, zastosowanego protokołu leczenia, przyjmowanych leków i wyników badań laboratoryjnych krwi pochodziły z dokumentacji lekarskiej. Podczas leczenia przeciwnowotworowego u pacjentów z grupy badanej obserwowano morfologię krwi. Aktualne wyniki dotyczące liczby granulocytów obojętnochłonnych we krwi (NEU) są materiałem niniejszej pracy.

Neutropenię stwierdzano przy liczbie granulocytów obojętnochłonnych $< 1500/\mu\text{l}$ i klasyfikowano jako: łagodną (liczba granulocytów $1-1,5 \times 10^3/\mu\text{l}$), umiarkowaną (liczba granulocytów $0,5-1 \times 10^3/\mu\text{l}$), ciężką (liczba granulocytów $< 0,5 \times 10^3/\mu\text{l}$), zagrażającą życiu (liczba granulocytów $< 0,1 \times 10^3/\mu\text{l}$).

W obu badanych grupach wykonano badanie kliniczne jamy ustnej oraz badanie mikrobiolo-

giczne śliny. Badanie kliniczne jamy ustnej przeprowadzono w sztucznym oświetleniu z użyciem lusterka stomatologicznego i zgłębnika. Badanie jamy ustnej obejmowało ocenę uzębienia, higieny jamy ustnej, stanu dziąseł i błony śluzowej.

Oceny stanu uzębienia dokonano za pomocą liczb PUWz i puwz oraz ich składowych. Oceny stanu higieny jamy ustnej dokonano z użyciem wskaźnika OHI-S (*Oral Hygiene Index Simplified*) wg Greene'a i Vermillona. Do oceny stanu dziąseł użyto wskaźnika dziąsłowego GI (*Gingival Index*) wg Loe i Silness.

W badaniu klinicznym oceniano stan błony śluzowej jamy ustnej pod kątem występowania zmian typu *mucositis*. Do klinicznej charakterystyki zmian o charakterze *mucositis* użyto pięciostopniowej skali zaproponowanej przez WHO: 0 – brak jakichkolwiek zmian patologicznych na błonie śluzowej jamy ustnej; 1 – zaczerwienienie, zmiany rumieniowe oraz towarzyszące im uczucie bólu; 2 – zmiany rumieniowe, nadżerki, ból, możliwe przyjmowanie stałych pokarmów; 3 – rozległy rumień, owrzodzenia, silny ból, wymagana dieta płynna, pacjent nie może przyjmować pokarmów o stałej konsystencji; 4 – objawy ciężkiego zapalenia, pacjent nie może być żywiony doustnie, żywienie pozajelitowe.

W obu badanych grupach wykonano badanie śliny na obecność drożdży z rodzaju *Candida*. Ślinę pobierano w godzinach rannych, stymulowano ją żuciem kostki parafiny. W większości przypadków pacjenci byli na czczo, nie szczotkowali zębów i nie płukali jamy ustnej płynami o działaniu antybakteryjnym przez 1–3 godz. przed badaniem. Ślinę nanoszono na podłoże agarowe testów diagnostycznych. Do oceny liczebności kolonii drożdży z rodzaju *Candida* użyto testów Dentocult[®] CA firmy Orion Diagnostica. Testy inkubowano w temperaturze 37°C przez 48 godz. Po określonym czasie odczytywano wynik badania mikrobiologicznego zgodnie ze wzorem dodanym do zestawu diagnostycznego.

Wyniki poddano analizie statystycznej za pomocą programu Statistica 10.0 (StatSoft, Polska). Z uwagi na charakter zmiennych zastosowano następujące statystyki: statystyki opisowe, tj. liczebność (N), procent (%) oraz testy statystyczne, tj. test χ^2 – test istotności dla danych jakościowych, współczynnik korelacji tau Kendalla – został wykorzystany do pomiaru związku między dwiema zmiennymi mierzonymi co najmniej na skali porządkowej; test ANOVA Friedmana (test Friedmana) – służy do pomiaru wyników w więcej niż dwóch grupach zależnych, został wykorzystany do porównania wyników w trzech pomiarach czasowych (T1, T2, T3) [15]. W pracy przyjęto 5% ryzyko błędu, zatem w przypadku wystąpienia pozio-

mu istotności $p < 0,05$ różnice uznano za istotne statystycznie.

Badanie przeprowadzono zgodnie z Deklaracją Helsińską z 1973 r., zaktualizowaną w 2002 r. Rodzice lub opiekunowie dzieci wyrazili pisemną zgodę na przeprowadzenie badań. Badania uzyskały pozytywną opinię Komisji Bioetycznej przy Uniwersytecie Medycznym w Lublinie.

Wyniki

U dzieci w czasie leczenia przeciwnowotworowego obserwowano liczbę granulocytów obojętnochłonnych we krwi.

W pierwszym badaniu, tj. w okresie 7 dni od rozpoczęcia chemioterapii przeciwnowotworowej, najczęściej nie stwierdzano neutropenii wśród pacjentów (50%). Neutropenię łagodną i umiarkowaną rozpoznano u takiego samego odsetka pacjentów, tj. 21,15%. Neutropenię ciężką stwierdzono u 7,69% pacjentów. Nie zaobserwowano neutropenii zagrażającej życiu u żadnego z badanych pacjentów.

W drugim badaniu, tj. w okresie 7–21 dni od rozpoczęcia leczenia przeciwnowotworowe-

go, u wszystkich badanych pacjentów stwierdzono neutropenię. Najczęściej rozpoznawano neutropenię ciężką (34,61%), następnie neutropenię łagodną (32,69%) i neutropenię umiarkowaną (25%). Neutropenię zagrażającą życiu zaobserwowano u 7,69% badanych.

W trzecim badaniu, tj. w okresie 21–30 dni od rozpoczęcia chemioterapii, u pacjentów najczęściej rozpoznawano neutropenię łagodną (40,38%) i neutropenię umiarkowaną (30,77%). Neutropenia ciężka występowała u 5,77% pacjentów. Nie stwierdzono neutropenii zagrażającej życiu u żadnego z badanych pacjentów. U 23,08% badanych nie rozpoznano neutropenii. Analiza statystyczna wykazała istotne statystycznie różnice w częstości występowania neutropenii w badaniach 1, 2 i 3 (ANOVA = 21,9467; $df = 2$; $p = 0,0001$) (tab. 1).

Liczebność drożdży z rodzaju *Candida* w ślinie u dzieci z grupy badanej w trzech pomiarach czasowych oraz u dzieci z grupy kontrolnej przedstawia tabela 2. Analiza statystyczna z wykorzystaniem testu χ^2 Pearsona wykazała istotnie większą liczebność drożdży *Candida* spp. w ślinie u dzieci z grupy badanej w pierwszym i drugim badaniu w porównaniu z grupą kontrolną ($p < 0,05$).

Tabela 1. Charakterystyka badanej grupy ze względu na stopień neutropenii w badaniu 1 (T1), 2 (T2) i 3 (T3)

Table 1. The incidence of neutropenia in the study group in test 1 (T1), test 2 (T2) and test 3 (T3)

Badanie	Neutropenia									
	brak		łagodna		umiarkowana		ciężka		zagrażająca życiu	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
T1	26	50	11	21,15	11	21,15	4	7,69	0	0
T2	0	0	17	32,69	13	25	18	34,61	4	7,69
T3	12	23,08	21	40,38	16	30,77	3	5,77	0	0

Test Friedmana (Friedman's test): χ^2 ANOVA = 21,9467; $df = 2$; $p = 0,0001^*$.

Tabela 2. Liczebność kolonii drożdży *Candida* spp. w ślinie w grupie badanej i w grupie kontrolnej

Table 2. The number of *Candida* spp. in saliva in the study group and the control group

Grupa	Badanie	Liczba kolonii <i>Candida</i> spp.										Test χ^2 Pearsona	
		brak wzrostu		10 ³ CFU/ml		10 ⁴ CFU/ml		10 ⁵ CFU/ml		10 ⁶ CFU/ml			
		n	%	n	%	n	%	n	%	n	%		
Grupa badana	T1	40	76,9	8	15,4	2	3,8	2	3,8	0	0	$\chi^2 = 21,2696$; $p = 0,0001^*$	
	T2	9	17,3	15	28,8	11	21,2	13	25,0	4	7,7		$\chi^2 = 19,0175$; $p = 0,0001^*$
	T3	19	36,5	22	42,3	9	17,3	2	3,8	0	0		
Grupa kontrolna		18	34,6	23	44,2	10	19,2	1	1,9	0	0		

* istotność statystyczna.

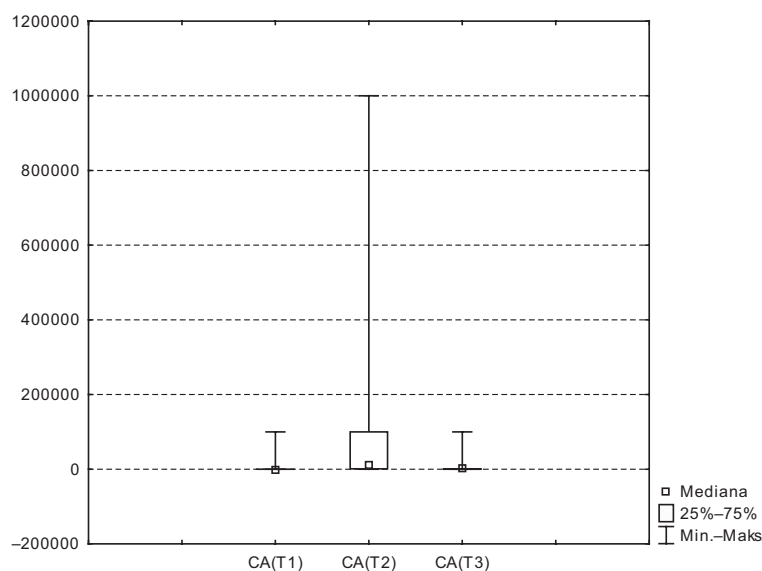
Tabela 3. Zależność między liczbą neutrofilów (NEU) a liczebnością drożdży *Candida* spp. (CA) w ślinie u dzieci z badanej grupy w badaniu 1 (T1), 2 (T2), 3 (T3)

Table 3. Correlation between blood neutrophils count (NEU) and the number of *Candida* spp. (CA) in saliva in children from the study group in test 1 (T1), 2 (T2) and 3 (T3)

Para zmiennych	Korelacja tau Kendalla			
	N	tau Kendalla	Z	p
NEU 10 ³ /μL (T1) & CA (CFU/ml) (T1)	52	-0,3862	-4,0414	0,0001*
NEU 10 ³ /μL (T2) & CA (CFU/ml) (T2)	52	-0,7079	-7,4079	0,0001*
NEU 10 ³ /μL (T3) & CA (CFU/ml) (T3)	52	-0,5026	-5,2591	0,0001*

NEU – liczba granulocytów obojętnochłonnych we krwi (blood neutrophils count), CA – kolonie drożdży *Candida* spp. (*Candida* spp. colonies), N – liczba badanych (number of examined individuals), Z – wartość funkcji testowej (value of test function), p – poziom istotności (level of significance), T1 – badanie 1 (test 1), T2 – badanie 2 (test 2), T3 – badanie 3 (test 3).

* istotność statystyczna.



Ryc. 1. Porównanie liczebności *Candida* spp. (CA) w ślinie w badanej grupie w trzech pomiarach (T1, T2, T3).

Fig. 1. The comparison of the number of *Candida* spp. in the saliva in the study group in three tests (T1, T2, T3)

Analiza statystyczna wykazała istotne różnice w liczebności *Candida* spp. w ślinie u dzieci z grupy badanej w trzech pomiarach (T1, T2 i T3) (ANOVA Friedmana = 57,3557; $p = 0,0001$). Najwyższe miana drożdży w ślinie notowano w badaniu 2, tj. w okresie 7–21 dni od rozpoczęcia cyklu chemioterapii (ryc. 1).

Analiza statystyczna wykazała istotną statystycznie korelację między liczbą granulocytów obojętnochłonnych (NEU) we krwi obwodowej

a liczebnością drożdży z rodzaju *Candida* w ślinie u dzieci z badanej grupy w trzech pomiarach, tj. w pierwszym badaniu ($p < 0,05$), w drugim badaniu ($p < 0,05$) oraz w trzecim badaniu ($p < 0,05$). U dzieci w okresie neutropenii wraz ze zmniejszeniem liczby granulocytów obojętnochłonnych we krwi obserwowano zwiększenie liczby kolonii drożdży *Candida* spp. w ślinie (tab. 3, ryc. 2–4).

Na podstawie przeprowadzonej analizy statystycznej z wykorzystaniem testu korelacji tau Ken-

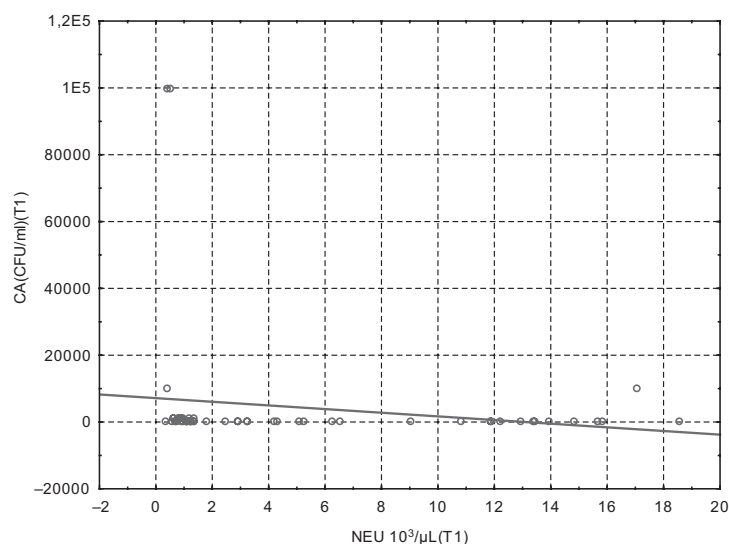
Tabela 4. Wartości współczynnika korelacji tau Kendalla dla wybranych zmiennych w badanej grupie

Table 4. Kendall's tau correlation coefficient for chosen variables in the study group

	<i>Mucositis</i> wg WHO	GI	PUWZ (DMFT)	puwz (dmft)	OHI-S
CA (T1)	0,6623*	0,7051*	0,06	0,0704	0,6621*
CA (T2)	0,7611*	0,7042*	0,0155	0,2458*	0,6933*
CA (T3)	0,5372*	0,6843*	-0,1149	0,1719	0,6597*

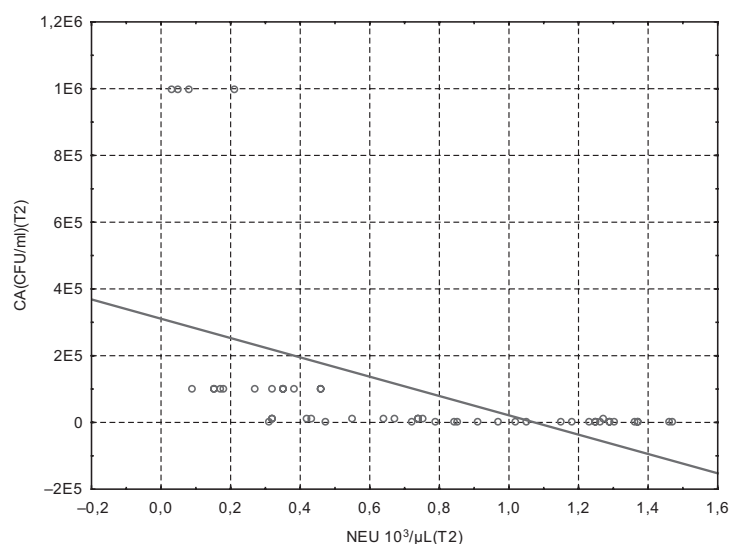
* $p < 0,05$, istotność statystyczna.

CA – kolonie drożdży *Candida* spp. (*Candida* spp. colonies), GI – wskaźnik dziąsłowy (Gingival Index), OHI-S – wskaźnik higieny jamy ustnej (Oral Hygiene Index Simplified), T1 – badanie 1 (test 1), T2 – badanie 2 (test 2), T3 – badanie 3 (test 3).



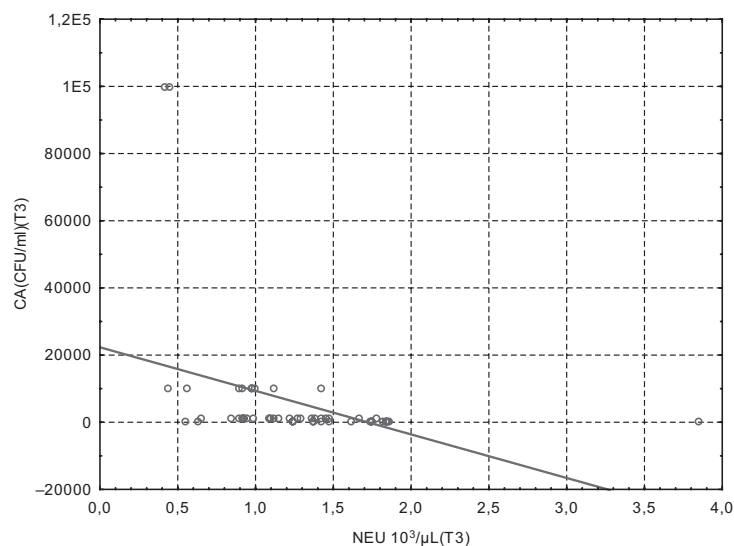
Ryc. 2. Zależność między liczbą neutrofilii (NEU) a liczebnością drożdży *Candida* spp. (CA) w ślinie w badanej grupie w pierwszym badaniu (T1)

Fig. 2. Correlation between blood neutrophils count (NEU) and the number of *Candida* spp. in the saliva in the study group in test 1 (T1)



Ryc. 3. Zależność między liczbą neutrofilii (NEU) a liczebnością drożdży *Candida* spp. (CA) w ślinie w badanej grupie w drugim badaniu (T2).

Fig. 3. Correlation between blood neutrophils count (NEU) and the number of *Candida* spp. in the saliva in the study group in test 2 (T2)



Ryc. 4. Zależność między liczbą neutrofilii (NEU) a liczebnością drożdży *Candida* spp. (CA) w ślinie w badanej grupie w trzecim badaniu (T3).

Fig. 4. Correlation between blood neutrophils count (NEU) and the number of *Candida* spp. in the saliva in the study group in test 3 (T3)

dalla stwierdzono istotną zależność między liczbą kolonii *Candida* spp. w ślinie u dzieci w czasie leczenia przeciwnowotworowego a występowaniem zmian o charakterze *mucositis* w jamie ustnej ($p < 0,05$), stanem dziąseł wyrażonym wskaź-

nikiem GI ($p < 0,05$) oraz higieną jamy ustnej ocenioną wskaźnikiem OHI-S ($p < 0,05$). Zależność między liczbą kolonii *Candida* spp. w ślinie a liczbą puwz zaobserwowano tylko w drugim badaniu (T2) (tab. 4).

Omówienie

W badaniach własnych stwierdzono istotnie większą liczebność kolonii drożdży z rodzaju *Candida* w ślinie u dzieci będących w czasie leczenia przeciwnowotworowego w porównaniu ze zdrowymi dziećmi. Zaobserwowano istotną zależność między liczbą granulocytów obojętnochłonnych we krwi a liczebnością drożdży z rodzaju *Candida* w ślinie u dzieci w czasie leczenia przeciwnowotworowego. Najwyższe miana drożdży z rodzaju *Candida* w ślinie notowano w okresie 7–21 dni od rozpoczęcia cyklu chemioterapii, kiedy u pacjentów dochodziło do największego zmniejszenia liczby granulocytów obojętnochłonnych we krwi. Zaobserwowano istotną zależność między liczbą kolonii *Candida* spp. w ślinie a występowaniem zmian typu *mucositis* w jamie ustnej, stanem dziąseł oraz stanem higieny jamy ustnej.

Inwazyjne zakażenia grzybicze (i.z.g.) należą do najpoważniejszych powikłań infekcyjnych bezpośrednio zagrażających życiu pacjentów chorych na nowotwory. Do patogenów najczęściej rozpoznawanych należą grzyby z rodzaju *Candida* (powyżej 85% zakażeń), rzadziej występują zakażenia wywołane przez *Aspergillus* (10–15%). Wśród czynników ryzyka zakażeń grzybiczych wymienia się: agresywne leczenie chorób nowotworowych, przeszczepy szpiku i innych narządów, stosowanie centralnych cewników żylnych, szerokospektralną antybiotykoterapię i żywienie pozajelitowe.

Do zakażeń grzybiczych dochodzi najczęściej w okresie polekowej neutropenii.

Badania Sobol et al. [16] wykazały, że inwazyjne zakażenia grzybicze są stosunkowo rzadkimi, ale najtrudniejszymi powikłaniami infekcyjnymi u dzieci chorych na nowotwory z uwagi na trudności w rozpoznaniu tych chorób, ich długotrwały przebieg, nierzadko oporność na leczenie i w rezultacie niekorzystny skutek w postaci konieczności zastosowania przerwy w leczeniu przeciwnowotworowym.

Inwazyjne zakażenia grzybicze są przyczyną około 20% zgonów dzieci leczonych z powodu ostrej białaczki limfoblastycznej, spowodowanych powikłaniami infekcyjnymi. U dzieci chorych na białaczkę do ponad połowy śmiertelnych zakażeń przyczyniają się grzyby narządowe wywołane przez kropidlaki z rodzaju *Aspergillus* spp., a do pozostałych grzyby drożdżopodobne, w tym *Candida* spp. Możliwość wystąpienia powikłań grzybiczych dotyczy zarówno dzieci z guzami litymi, jak i chorych na białaczkę, u których przedłużającej się neutropenii towarzyszy gorączka neutropeniczna [16].

Konopka et al. [17] zaobserwowali, że najczęstszym czynnikiem infekcyjnym w jamie ustnej u dzieci leczonych z powodu białaczki były grzy-

by z rodzaju *Candida*. Wykazane istotne zmniejszenie aktywności lizozymu u pacjentów chorych na białaczkę, a co za tym idzie obniżona aktywność przeciwrzybicza śliny może tłumaczyć zwiększone ryzyko zakażeń tymi patogenami.

Według danych z piśmiennictwa kandydoza jamy ustnej jest najczęstszym zakażeniem obserwowanym u pacjentów leczonych HSCT, a głównym czynnikiem etiologicznym jest *Candida albicans*.

W badaniach Epstein et al. [18] u 23 z 25 pacjentów, którzy zmarli w okresie po HSCT rozpoznano zmiany wrzodziejące w jamie ustnej o charakterze *mucositis*. Nie stwierdzono znaczącego wpływu zakażenia *Candida* na zaawansowanie zmian typu *mucositis*. Zgodnie z piśmiennictwem występowanie *mucositis* zwiększa ryzyko rozwoju uogólnionej kandydozy u pacjentów z potwierdzoną kolonizacją szczepami *Candida* spp. śluzówek jamy ustnej lub gardła. W badaniach Epstein et al. [18] przeprowadzonych w grupie 115 dorosłych pacjentów chorych na nowotwory układu krwiotwórczego i poddanych HSCT, u 36 badanych (31%) stwierdzono kolonizację szczepami *Candida*, z czego u 41% potwierdzono kolonizację jamy ustnej. 56% pacjentów z potwierdzoną kolonizacją *Candida* miało kliniczne objawy kandydozy jamy ustnej.

Pajari et al. [19] odnotowali pozytywne wyniki testów dla *Candida* u 38,9% dzieci leczonych z powodu białaczki i guzów litych.

Wahlin et al. [20] u 80% pacjentów chorych na białaczkę zaobserwowali występowanie *Candida* w jamie ustnej, przy czym istotnie większą liczebność drożdży stwierdzili w grupie pacjentów z owrzodzeniami błony śluzowej lub zapaleniem kątów ust.

Alberth et al. [21] badali zależność między nasileniem neutropenii i występowaniem zakażenia w jamie ustnej u dzieci z ALL i guzami litymi. Autorzy nie zaobserwowali zmian patologicznych w jamie ustnej u pacjentów z łagodną neutropenią, a wszystkie patogeny chorobotwórcze odnotowali u pacjentów ze średniociężką postacią neutropenii. Najczęściej izolowali kolonie grzybów. Początkowo izolowali wyłącznie *Candida albicans*, a w stanach ciężkiej neutropenii głównie gatunki non-*Candida albicans*.

Bergman et al. [22] wykazali istotny związek między wysokimi mianami *Candida* spp. w ślinie dorosłych pacjentów mających ostrą postać białaczki szpikowej a rozwojem ostrej kandydozy jamy ustnej.

Hoppe et al. [23] stwierdzili kolonizację jamy ustnej przez grzyby u 54,7% dzieci po przebytej allo- lub autotransplantacji szpiku kostnego, przy czym najczęściej izolowali *Candida albicans*.

Raber-Durlacher et al. [24] objawy kandydozy w jamie ustnej lub gardle zaobserwowali u 51% badanych z guzami litymi po przebytej chemioterapii.

Pajari et al. [19, 25] stwierdzili istotnie większą liczebność kolonii *Candida* spp. u dzieci chorych na nowotwory hematologiczne z aktywną próchnicą w porównaniu z dziećmi wolnymi od próchnicy. Autorzy stwierdzili, że okresy neutropenii i intensywność leczenia przeciwnowotworowego mogą mieć wpływ na liczebność kolonii *Candida* w ślinie, chociaż wysokie miana *Candida* spp. w ślinie autorzy zaobserwowali również u zdrowych dzieci z aktywną próchnicą.

Hsu et al. [26] w badaniach *in vitro* nad koagregacją między gatunkami *Candida* wyizolowanymi od pacjentów po przeszczepie szpiku kostnego i bakteriami jamy ustnej wykazali, że flora bakteryjna jamy ustnej przyczynia się do proliferacji *Candida* spp. w jamie ustnej w grupie pacjentów w immunosupresji.

Badania Petersona et al. [27] przeprowadzone w grupie pacjentów w okresie neutropenii wykazały liczne zależności między rozwojem *Candida* spp. a bakteriami występującymi w naddziąsłowej i poddziąsłowej płytce nazębnej.

Badania własne poparte doniesieniami innych autorów wskazują, że wysokie miana drożdży z rodzaju *Candida* w ślinie w okresach głębokiej neutropenii przy zmianach typu *mucositis* obecnych w jamie ustnej stwarzają duże ryzyko rozwoju zagrażającej życiu kandydemii. Ze względu na częste powikłania terapii przeciwnowotworowej występujące w jamie ustnej dzieci chore na nowotwory powinny być objęte specjalistyczną opieką stomatologiczną przez cały okres leczenia przeciwnowotworowego przy ścisłej współpracy lekarzy stomatologów z zespołem lekarzy hematologów i onkologów dziecięcych.

Piśmiennictwo

- [1] DIDKOWSKA J., WOJCIECHOWSKA U., ZATOŃSKI W.: Nowotwory złośliwe w Polsce w 2009 roku. Centrum Onkologii – Instytut im. M. Skłodowskiej-Curie, Warszawa 2011.
- [2] BALCERSKA A.: Epidemiology of childhood cancer. *Forum Med. Rodz.* 2009, 3, 61–63 [in Polish].
- [3] CHYBICKA A., SAWICZ-BIRKOWSKA K.: Onkologia i hematologia dziecięca. PZWL, Warszawa 2008, 3–7.
- [4] JEMAL A., SIEGEL R., WARD E.: Cancer Statistics 2008. *Cancer J. Clin.* 2008, 58, 71–96.
- [5] KAAATSH P.: Cancer in Childhood. *Epidemiology of childhood cancer. Cancer Treat. Rev.* 2010, 36, 277–285.
- [6] CRAWFORD J., DALE D., LYMAN G.: Chemotherapy-induced neutropenia: risks, consequences and new directions for its management. *Cancer* 2004, 100, 228–237.
- [7] DALE D.C., CRAWFORD J., LYMAN G.: Chemotherapy-induced neutropenia and associated complications in randomized clinical trials: an evidence-based review. *Proc. Am. Soc. Clin. Oncol.* 2001, 20, 410a.
- [8] GIL L., HANSZ J., KOMARNICKI M.: Efficacy of empirical antibiotic therapy in treatment of infection after autologous hematopoietic stem cell transplantation. *Acta Haematol. Pol.* 2006, 37, 567–579 [in Polish].
- [9] GONZALEZ-BARCA E., FERNANDEZ-SEVILLA A., CARRATALA J., GRANENA A., GUDIOL F.: Prospective study of 288 episodes of bakteriemia in neutropenic cancer patients in a single institution. *Eur. J. Clin. Infect. Dis.* 1996, 15, 291–296.
- [10] ALBERTH M., MAJOROS L., KOVALECZ G., NEMES J., MÁTH J., KISS C., MÁRTON I.J.: Significance of Oral *Candida* infections in children with cancer. *Pathol. Oncol. Res.* 2006, 12, 237–241.
- [11] BODEY G.P., MARDANI M., HANNA H.A., BOKTOUR M., ABBAS J., GIRGAWY E., HACHEM R.Y., KONTOYIANNIS D.P., RAAD I.I.: The epidemiology of *Candida glabrata* and *Candida albicans* fungemia in immunocompromised patients with cancer. *Am. J. Med.* 2002, 112, 380–385.
- [12] BOGUSŁAWSKA-JAWORSKA J., GOŁĘBIEWSKI W.: Fungal infections in children with malignancies. *Prz. Pediatr.* 1992, 22, 1, 32–41 [in Polish].
- [13] BOKTOUR M., KONTOYIANNIS D., HANNA H.A., HACHEM R.Y., GIRGAWY E., BODEY G.P., RAAD I.I.: Multiple species candidemia in patients with cancer. *Cancer* 2004, 101, 1860–1865.
- [14] KLINGSPOR L., STINTZING G., TOLLEMAR J.: Deep *Candida* infection in children with leukaemia: clinical presentation, diagnosis and outcome. *Acta Paediatr.* 1997, 86, 30–36.
- [15] Stanisław A.: Przystępny kurs statystyki z zastosowaniem Statistica Pl na przykładach z medycyny. StatSoft Polska, Kraków 2006.
- [16] SOBOL G., MIZIA-MALARZ A., MUSIOŁ K.: Invasive fungal infection in children with neoplasms – single institution experience. *Mikol. Lek.* 2009, 16, 67–71 [in Polish].
- [17] KONOPKA T., MENDRELA E., NOROWSKA M.: Oral lesions in children with leukaemia. *Czas. Stomatol.* 2001, 54, 217–225 [in Polish].
- [18] EPSTEIN J.B., HANCOCK P.J., NANTEL S.: Oral candidiasis in hematopoietic cell transplantation patients: an outcome based analysis. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.* 2003, 96, 154–163.
- [19] PAJARI U., POIKONEN K., LARMAS M., LANNING M.: Salivary immunoglobulines, lysozyme, pH and microbial counts in children receiving anti-neoplastic therapy. *Scand. J. Dent. Res.* 1989, 97, 171–177.
- [20] WAHLIN Y.B., HOLM A.K.: Changes in the oral microflora in patients with acute leukemia and related disorders during the period of induction therapy. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.* 1988, 65, 411–417.
- [21] ALBERTH M., MAJOROS L., KOVALECZ G., NEMES J., MÁTH J., KISS C., MÁRTON I.J.: Significance of Oral *Candida* infections in children with cancer. *Pathol. Oncol. Res.* 2006, 12, 237–241.
- [22] BERGMANN O.J.: Alteration in oral microflora and pathogenesis of acute oral infections during remission-induction therapy in patients with acute myeloid leukemia. *Scand. J. Infect. Dis.* 1991, 23, 355.

- [23] HOPPE J.E., KLAUSNER M., NIETHAMMER D.: Retrospective analysis of yeast colonization and infection in pediatric bone marrow transplant recipients. *Mycoses* 1997, 40, 47–54.
- [24] RABER-DURLACHER J.E., BARASCH A., PETERSON D.E.: Oral complications and management considerations in patients treated with high-dose chemotherapy. *Support Cancer Ther.* 2004, 1, 219–229.
- [25] PAJARI U., YLINIEMI R., MOTTONEM M.: The risk of dental caries in childhood cancer is not high if the teeth are caries-free at diagnosis. *Pediatr. Hematol. Oncol.* 2001, 18, 181–185.
- [26] HSU L.Y., MINAH G.E., PETERSON D.E., WINGARD J.R., MERZ W.G., ALTOMONTE V.: Coaggregation of oral *Candida* isolates with bacteria from bone marrow transplant recipients. *J. Clin. Microbiol.* 1990, 28, 2621–2626.
- [27] PETERSON D.E., MINAH G.E., REYNOLDS M.A., WEIKEL D.S., OVERHOLSER C.D., DEPAOLA L.G., WADE J.C., SUZUKI J.B.: Effect of granulocytopenia on oral microbial relationships in patients with acute leukemia. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.* 1990, 70, 720–723.

Adres do korespondencji:

Katarzyna Olszewska
Katedra i Zakład Stomatologii Wieku Rozwojowego
Uniwersytet Medyczny w Lublinie
ul. Karmelicka 7
20-554 Lublin
Polska
e-mail: catieol@interia.pl

Konflikt interesów: nie występuje

Praca wpłynęła do Redakcji: 2.03.2014 r.

Po recenzji: 11.03.2014 r.

Zaakceptowano do druku: 14.03.2014 r.

Received: 2.03.2014

Revised: 11.03.2014

Accepted: 14.03.2014