

**Ilona Kurnatowska**

Zakład Farmakologii Klinicznej, I Katedra Chorób Wewnętrznych Uniwersytetu Medycznego w Łodzi, Oddział Nefrologii, Uniwersytecki Szpital Kliniczny nr 1 im. N. Barlickiego w Łodzi

Zakażenia grzybicze u chorych po przeszczepieniu nerki

Fungal infections in patient after kidney transplantation

ABSTRACT

Fungal infections account for about 5% of all infections occurring in patients after kidney transplantation (KTx). Considering the absence of specific symptoms of systemic mycosis and the high mortality associated with its occurrence, as well as diagnostic difficulties, an immediate implementation of empirical, preventive treatment is called for already at the moment of first

suspicion. This article discusses the most common forms of invasive mycosis, relevant diagnostic procedures, and treatment regimes with available pharmacotherapy, with particular emphasis on the interaction of antifungal agents with immunosuppressive drugs.

Forum Nefrol 2017, vol 10, no 2, 114–123**Key words: fungal infections, diagnosis and management of fungal infections, kidney transplantation**

WSTĘP

Zakażenia pozostają jednym z najczęstszych powikłań u chorych po przeszczepieniu narządowym [1]. Do większości zakażeń dochodzi w ciągu pierwszych 4–6 miesięcy po zabiegu, kiedy siła stosowanej immunosupresji jest największa, przy czym w pierwszym miesiącu po przeszczepieniu występują głównie zakażenia bakteryjne związane z zabiegiem operacyjnym i stosowanymi procedurami chirurgicznymi. W tym okresie rzadziej obserwuje się zakażenia grzybicze, a jeśli one występują, najczęściej wiążą się z długotrwałym wcześniejszym leczeniem zakażeń bakteryjnych, stosowaną szerokowidmową antybiotykoterapią lub powikłaniami chirurgicznymi. Ich postać kliniczna jest zróżnicowana: może to być zakażenie powierzchniowe błon śluzowych, samej rany, jak również zakażenie przeszczepionego narządu, zapalenie płuc, zakażenie układu moczowego, zapalenie dróg żółciowych, aż do uogólnionej grzybicy inwazyjnej [1].

Od 2. do 6. miesiąca po przeszczepieniu typowe jest występowanie zakażeń oportuni-

stycznych drobnoustrojami występującymi powszechnie w środowisku, ale chorobotwórczymi tylko dla osób z obniżoną odpornością, lub patogenami, które u osób immunokompetentnych wywołują łagodne infekcje, a u biorców — inwazyjne choroby o ciężkim przebiegu. Rozwój zakażenia zależy od stopnia upośledzenia odpowiedzi immunologicznej. Do tego typu zakażeń zalicza się również zakażenia grzybicze, które stanowią około 5% wszystkich zakażeń stwierdzanych w tej populacji [2]. Wśród nich najczęstszymi patogenami są: *Candida*, *Aspergillus*, *Cryptococcus* i *Pneumocystis jiroveci*. Zaliczają się do nich też rzadko spotykane zakażenia, często endemiczne, związane z miejscem zamieszkania, m.in. histoplazmoza, blastomykoza, kokcidioidomikoza [3].

Po upływie 6 miesięcy od przeszczepienia występują takie zakażenia jak w ogólnej populacji, jednak stosowana immunosupresja pozostaje czynnikiem ryzyka częstszego ich występowania i poważniejszego przebiegu niż w populacji immunokompetentnej [1].

Zakażenia grzybicze mogą mieć postać kliniczną grzybic powierzchniowych skóry oraz

Adres do korespondencji:

dr hab. n. med. Ilona Kurnatowska,
prof. nadzw.
Oddział Nefrologii
Uniwersytecki Szpital Kliniczny nr 1
im. N. Barlickiego
ul. Kopcińskiego 22, 90–153 Łódź
tel.: 42 291 95 50; faks: 42 291 95 51
e-mail: ilona.kurnatowska@umed.lodz.pl

blon śluzowych lub inwazyjnych grzybic układowych (IFI, *invasive fungal infection*), charakteryzujących się inwazją naczyniową i rozstawem krwiopochodnym. Zwiększenie częstości IFI wśród biorców narządowych wiąże się ze stosowaniem silniejszej immunosupresji, szerokowidmowej antybiotykoterapii, terapii wspomagającej przed zabiegami i po nich, np. mechanicznej wentylacji, dializoterapii. Czynnikiem ryzyka jest również żywienie pozajelitowe [3].

Największe ryzyko rozwoju układowej kandydozy występuje w pierwszych 2–3 miesiącach po zabiegu, potem maleje, ale częściej mogą się pojawiać inne zakażenia: *Aspergillus*, *Coccidioidomycosis*, *Histoplasmosis*, *Blastomycosis*, często związane ze środowiskiem, w którym żyje biorca, jego miejscem zamieszkania [4].

Na rozwój wczesnej kandydozy mają wpływ: obecność cewnika w pęcherzu moczowym, cewników centralnych w naczyniach, drenów, trudno gojących się ran pooperacyjnych, stosowanie żywienia pozajelitowego, mechanicznej wentylacji. Retrospektywna analiza grupy pacjentów po przeszczepieniu nerki, u których we wczesnym okresie po przeszczepieniu stwierdzono IFI, wykazała, że czynnikami predysponującymi do wystąpienia IFI były: konieczność stosowania amin katecholowych powyżej 24 godzin po zabiegu, ponowne przyjęcie na oddział intensywnego nadzoru, konieczność stosowania dializoterapii w okresie pooperacyjnym oraz wystąpienie powyżej 1 zakażenia bakteryjnego. Czynnikiem ryzyka rozwoju późnej grzybicy były: wiek biorcy powyżej 50. roku życia, pogorszona czynność przeszczepionego narządu, stosowanie silniejszej immunosupresji oraz rozwój nowotworu. Współistnienie cukrzycy oraz dłuższy czas dializoterapii przed przeszczepieniem również miały wpływ na częstsze występowanie grzybic. Zakażenia grzybicze występują częściej u osób wielokrotnie operowanych. Ryzyko infekcji oportunistycznych zwiększa się u biorców z częstymi epizodami ostrego odrzucania lub odrzucaniem przewlekłym i prawdopodobnie stosowaną z tego powodu silniejszą immunosupresją [5].

Duża śmiertelność, jaką są obciążone grzybice układowe, wynika w dużej mierze z opóźnienia rozpoznania, co jest związane z brakiem specyficznych objawów tych zakażeń, małą czułością metod diagnostycznych, trudnościami w uzyskaniu zajętych procesem chorobowym tkanek do badania hi-

stopatologicznego i mikrobiologicznego, a także brakiem specyficznych dla grzybic odchyień w badaniach laboratoryjnych i obrazowych [2]. Inwazyjne grzybice układowe należy podejrzewać u osób obciążonych ww. czynnikami ryzyka, u których gorączka utrzymuje się dłużej niż 3–6 dni, pomimo stosowania szerokowidmowej antybiotykoterapii, występują nawroty stanów gorączkowych. Chorzy z zajęciem płuc mogą zgłaszać kaszel, gorączkę, może u nich wystąpić krwioplucie, a w badaniach obrazowych obecne są nacieki w płucach. Objawy te jednak nie są specyficzne dla zakażenia grzybiczego.

ZAKAŻENIA *CANDIDA* U CHORYCH PO PRZESZCZEPACH NARZĄDOWYCH

Kandydoza jest najczęstszym zakażeniem grzybiczym występującym u chorych po transplantacjach narządowych, jest też najczęściej stwierdzaną IFI. Rozwija się przede wszystkim w pierwszych 3 miesiącach po przeszczepieniu. Rozwój IFI jest najczęściej poprzedzony kolonizacją błon śluzowych przewodu pokarmowego lub dróg rodnych [5]. W badaniach własnych obejmujących bezobjawowych chorych po przeszczepieniu nerki kolonizację błon śluzowych różnymi szczepami grzybów stwierdzono u 68% (błona śluzowa jamy ustnej — 65%, odbytu — 37,5%, narządu rodowego — 25%). Najczęściej stwierdzano *Candida albicans* (86,4%), sporadycznie *Candida glabrata*, *guilliermondii* i *krusei* [6]. *Candida spp.* powoduje powierzchowne, ograniczone zapalenie skóry i błon śluzowych (najczęściej jama ustno-gardłowa, zapalenie przełyku oraz zapalenie pochwy i sromu) lub dochodzi do inwazji uogólnionej drogą naczyń krwionośnych. Postacie kliniczne zależą od rodzaju przeszczepionego narządu i operowanego miejsca, mogą przybierać postać: posocznicy (często odcewnikowej), ropnia w jamie brzusznej, zakażenia układu moczowego, zapalenia zespolenia tchawiczo-oskrzelowego. Współistnienie zakażeń bakteryjnych lub wirusowych może torować drogę zakażeniom grzybiczym. Uznany czynnikiem ryzyka kandydozy jest stosowanie powyżej 3 antybiotyków [5].

ZAKAŻENIE UKŁADU MOCZOWEGO *CANDIDA*

Nie ma specyficznych objawów zakażenia grzybiczego układu moczowego. Dyskusyjne pozostaje również leczenie bezobjawowych chorych z przypadkowo stwierdzonymi

▶▶Postać kliniczna zakażeń grzybiczych po przeszczepieniu nerki jest zróżnicowana: może to być powierzchowne zakażenie błon śluzowych, samej rany, jak również zakażenie przeszczepionego narządu, zapalenie płuc, zakażenie układu moczowego, zapalenie dróg żółciowych, aż do uogólnionej grzybicy inwazyjnej◀◀

▶▶Największe ryzyko rozwoju układowej kandydozy występuje w pierwszych 2–3 miesiącach po zabiegu, potem maleje, ale częściej mogą pojawiać się inne zakażenia: *Aspergillus*, *Coccidioidomycosis*, *Histoplasmosis*, *Blastomycosis*, często związane ze środowiskiem, w którym żyje biorca, jego miejscem zamieszkania◀◀

▶▶Zakażenie grzybicze u biorców narządowych należy podejrzewać u osób, u których obecne są czynniki ryzyka, szczególnie: stosowanie szerokowidmowej antybiotykoterapii, powikłania chirurgiczne, zastosowanie procedur inwazyjnych oraz silniejszej immunosupresji◀◀

dotatnimi posiewami moczu lub koloniami grzyba widocznymi w rutynowym badaniu ogólnym moczu. Leczenie chorych z kandydurią, bezobjawowych, bez gorączki nie jest rekomendowane [7, 8]. Nie przeprowadzono jednak żadnych badań prospektywnych porównujących grupę leczonych i nieleczonych chorych po przeszczepieniu z kandydurią bezobjawową. Pozostawia się dowolność klinicydom w sposobie postępowania, zalecając jedynie leczenie chorych planowanych do zabiegów urologicznych lub ze współistniejącą neutropenią [9]. Zaleca się przeprowadzenie diagnostyki obrazowej w celu wykluczenia wady układu moczowego lub obecności ropnia. U pacjentów objawowych z podejrzeniem kandydemii leczenie stosuje się jak w kandydemii inwazyjnej (patrz poniżej). Chorym z zapaleniem pęcherza/odmiedniczkowym zapaleniem nerek wywołanym przez *Candida spp.* zaleca się doustnie flukonazol (200–400 mg/d.) przez 2 tygodnie lub — w razie oporności szczepu na flukonazol — lizosomalną postać amfoterycyny lub flucytozynę 25 mg/kg [9]. Płukanie pęcherza roztworem amfoterycyny nie jest zalecane, z wyjątkiem zakażenia szczepami *C. albicans* opornymi na flukonazol; może być również przydatne w zakażeniu *C. glabrata* [10]. Echinokantyny nie są zalecane do stosowania ze względu na ich słabą penetrację do układu moczowego [5].

PIŁCNA KANDYDOZA

Isolacja *Candida spp.* z drzewa oskrzelowego rzadko wskazuje na inwazyjną kandydozę i rutynowo nie jest wskazaniem do włączenia leczenia przeciwgrzybiczego. Wyjątek stanowią chorzy po przeszczepieniu płuc. Stwierdzenie drożdżakowatego zapalenia tchawicy i oskrzeli, ustalone na podstawie obrazu klinicznego i potwierdzone badaniem histopatologicznym (często bezpośrednim), powinno być leczone jak inwazyjna grzybica (patrz poniżej); długość terapii nie jest arbitralnie ustalona, zależy od efektu klinicznego [5].

ASPERGILOZA U CHORYCH PO PRZESZCZEPIENIACH NARZĄDOWYCH

Grzybicę kropidlakową wywołuje najczęściej *Aspergillus fumigatus*, znacznie rzadziej inne gatunki kropidlaka, jak: *A. niger*, *A. flavus*, *A. terreus*, *A. nidulans*, *A. clavatus*. *Aspergillus fumigatus* jest szeroko rozpowszechniony w przyrodzie, rośnie na rozkładających się

produktach pochodzenia roślinnego i obficie zarodkuje. Wrotami zakażenia są przede wszystkim drogi oddechowe, najczęściej zajęтым narządem są płuca; u osób z osłabioną odpornością może się rozwinąć postać inwazyjna [11]. Inwazyjna aspergiloza dotyka około 1–15% biorców przeszczepów narządowych, przy czym u biorców nerek występuje z częstością nieco mniejszą (0,4–4%) [11, 12]. Zakażenie rozwija się raczej we wczesnym okresie po zabiegu (również w późniejszym czasie po przeszczepieniu płuc), towarzyszy mu duża śmiertelność, sięgająca u chorych po przeszczepieniu nerki do 67–75% [12, 13]. Do czynników ryzyka zaliczają się stosowanie przez długi czas dużych dawek steroidów, niewydolność graftu wymagająca dializoterapii oraz stosowanie silniejszej immunosupresji [14]. Typowo do zakażenia dochodzi poprzez inhalację zarodników grzyba, rzadziej rozwija się zakażenie rany pooperacyjnej. *Aspergillus* jest wszechobecny w otoczeniu, w którym żyje człowiek, również w środowisku szpitalnym. Łatwo kolonizuje błony śluzowe górnych dróg oddechowych i zatok. Może się manifestować jako postać ograniczona do płuc, ale stąd może się szerzyć na wszystkie narządy: mózg, serce, osierdzie, wątrobę, nerki, przewód pokarmowy, stawy, kości [14]. Najczęstszymi objawami aspergilozy płucnej są gorączka, kaszel, często ból w klatce piersiowej, a przy dużej rozległości zmian narastająca duszność, czasem zdarzają się krwiopłucia. W niektórych przypadkach obraz kliniczny manifestuje się objawami ostrej zatorowości płucnej z gwałtownym bólem w klatce piersiowej, gorączką, tachykardią, tarcie płucnej i krwiopłuciem. Te objawy są wtórne do zajęcia naczyń przez grzyby z powstaniem krwotocznych zawałów płuc [11]. Obraz radiologiczny aspergilozy płucnej bywa różnorodny. Najczęściej odpowiada odoskrzelowemu zapaleniu płuc, często obserwuje się rozsiew do obu płuc. W naciekach płucnych dość wcześnie widoczny jest rozpad. Na początku choroby mogą występować pojedyncze lub mnogie guzki. Wczesne zmiany pod postacią drobnych guzków u około 10% chorych mogą być niewidoczne w konwencjonalnym badaniu radiologicznym klatki piersiowej, natomiast mogą być zobrażowane w tomografii komputerowej wysokiej rozdzielczości (HRCT, *high resolution computed tomography*). W HRCT wczesne zmiany guzkowe dają charakterystyczny obraz nacieku z obłoczkowatymi zmianami wokół nacieczenia „halo” [15].

▶▶Klinicydom pozostawia się dowolność w zakresie postępowania z chorymi, u których stwierdza się bezobjawową kandydurię. Zaleca się leczenie pacjentów planowanych do zabiegów urologicznych lub ze współistniejącą neutropenią◀◀

KRYPTOKOKOZA U CHORYCH PO PRZESZCZEPIENIACH NARZĄDOWYCH

Kryptokokoza jest trzecim pod względem częstości zakażeniem grzybiczym stwierdzanym u biorców przeszczepów narządowych (stanowi około 0,5–5% IFI) [16, 17]. *Cryptococcus neoformans* wywołuje zakażenie w odległym okresie po przeszczepieniu narządu, zazwyczaj po około 16–21 miesiącach (u biorców wątroby i płuc wcześniej — poniżej 12 miesiąca), ze śmiertelnością sięgającą do 49% u chorych z zajęciem ośrodkowego układu nerwowego (OUN) [18]. Jej wystąpienie najczęściej wiąże się ze stosowaniem silnej immunosupresji. U chorych leczonych inhibitorami kalcyneuryny obserwuje się rzadsze występowanie postaci rozsianej niż postaci ograniczonej do płuc [19]. U biorcy może dojść do reaktywacji zakażenia istniejącego już przed transplantacją, inhalacji grzybni znajdujących się w ptasich odchodach lub w glebie; opisuje się również transmisję zarodników z przeszczepionym narządem [19]. Najczęściej kryptokokoza przebiega jako zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych z obecnością zmian ogniskowych w mózgu, a także jako zapalenie płuc (w około 40% przypadków współistniejące z postacią mózgową) [20]. Zakażenie może dotyczyć również innych narządów: skóry, tkanek miękkich, gruczołu krokowego, wątroby, nerek, kości i stawów. Zakażenie obejmujące układ moczowy, w tym gruczoł krokowy, może się objawiać obecnością grzybni w moczu [21]. Uogólniona postać z ogniskami przerzutowymi w tkankach miękkich i innych narządach występuje jednak rzadko. Skórna postać kryptokokozy przybiera postać grudek, rozsianych zmian guzowatych, wrzodziejących zmian zapalnych tkanki łącznej lub cellulitu. Zmiany dotyczą głównie skóry kończyn dolnych, często współistnieją z zajęciem OUN i świadczą o krwio pochodnym rozsiewie patogenu [22, 23].

INNE, RZADSZE GRZYBICE U CHORYCH PO PRZESZCZEPIENIACH NARZĄDOWYCH

W niniejszym artykule należy wspomnieć o zakażeniach grzybami powszechnie uznanymi za nieszkodliwe, które jednak mogą się okazać problemem u poddawanych immunosupresji biorców narządowych. Do tych grzybic należą m.in.: mukormykozy (dawniej zygomycyzy — wywołane przez grzyby z rodzaju *Mucorales*), zakażenia *Fusarium*,

Scedosporium, mikroorganizmami drożdżakopodobnymi, takimi jak *Trichosporon*, *Malessezia* czy *Rhodotorula* [24]. Zakażenia te występują rzadko, wiążą się z rodzajem przeszczepionego narządu, najczęściej dotyczą biorców wątroby i płuc, ale są również spotykane u biorców nerek. Wrotami inwazji są najczęściej błony śluzowe górnych dróg oddechowych, czasami uszkodzona skóra lub przewód pokarmowy. Patogeny są najczęściej aspirowane z otaczającego środowiska: gleby, roślin, ścieków, wody. Należy pamiętać, że zakażenie może być przeniesione podczas przeszczepienia. Zakażony może być płyn prezerwacyjny, w którym przechowywany jest narząd, lub dawca mógł być nosicielem grzybni (np. w przypadku aspiracji wody u topielców) i wraz z narządem patogen został przeniesiony do organizmu biorcy [24]. U pacjentów po transplantacji do tradycyjnych czynników ryzyka rozwoju tych grzybic, takich jak cukrzyca, neutropenia, kortykosteroidoterapia, dołączają się współistniejąca niewydolność nerek [25] oraz wcześniejsza ekspozycja na leki przeciwgrzybicze (worykonazol/kapsfungina) [26]. Pierwotnie występują objawy ze strony układu oddechowego — płuc, ale i górnych dróg oddechowych, w tym zatok (*Fusarium*, zygomycyzy) — lub objawy skórne, może jednak dojść również do rozsiewu grzybni i zajęcia innych narządów, w tym OUN [24]. Przeniesienie zakażenia *Scedosporium* i *Zygomycetes* z dawcy na biorcę jest związane z dużym ryzykiem utraty graftu i zgonu biorcy. Inwazyjne mukormykozy powodują duże zniszczenia w organizmie biorcy, w 40–50% przypadków prowadzą do zgonu. Są przyczyną martwicy krwotocznej (często zespołu naczyń przemieszczonych narządu), zakrzepicy naczyń i zawałów narządowych [27].

DIAGNOSTYKA ZAKAŻEŃ GRZYBICZYCH

W diagnostyce laboratoryjnej IFI, podobnie jak w przypadku infekcji bakteryjnych, wykorzystuje się badania mikroskopowe, metody hodowlane z identyfikacją i oznaczeniem lekowrażliwości wyizolowanego szczepu, metody serologiczne (wykrywanie zarówno antygenów, jak i przeciwciał) oraz metody molekularne.

Próbki do badań mykologicznych należy pobrać z miejsca toczącego się zakażenia, uwzględniając objawy kliniczne pacjenta. Do badań mykologicznych pobierane są takie

▶▶Aspergiloza może się manifestować jako postać ograniczona do płuc, ale stąd może się szerzyć na wszystkie narządy: mózg, serce, osierdzie, wątrobę, nerki, przewód pokarmowy, stawy, kości. Brak specyficznych objawów zakażenia◀◀

▶▶ Odczyn serologiczne odgrywają tylko pomocniczą rolę w wykrywaniu grzybic, szczególnie u osób, u których stosuje się leczenie immunosupresyjne. Należy podkreślić przydatność oceny bezpośredniej preparatu ◀◀

▶▶ Obecność antygeny mannanowego w surowicy jest charakterystyczna dla zakażenia grzybami z rodzaju *Candida*. Galaktomannany oraz β -(1,3)-D-glukan wskazują na zakażenie grzybami z rodzaju *Aspergillus*, obecność antygeny glukuronoksylomannanu świadczy zaś o zakażeniu *Cryptococcus* ◀◀

materiały, jak: krew, płyny ustrojowe, płwocina, popłuczyny oskrzelowo-pęcherzykowe (BAL, *bronchoalveolar lavage*), aspiraty, płyn mózgowo-rdzeniowy, biopaty, materiały śródoperacyjne, końcówki cewników naczyniowych lub mocz [28]. Należy podkreślić przydatność oceny bezpośredniej preparatu, która często umożliwia *ex tempore* ustalenie rozpoznania bez tracenia czasu na wyniki posiewów i natychmiastowe włączenie leczenia, co często ma decydujące znaczenie dla rokowania, wobec braku specyficznych objawów grzybic i jej potencjalnie śmiertelnego przebiegu. Preparaty bezpośrednie można przygotować z każdego rodzaju materiału klinicznego, z wyjątkiem kału. Preparaty z płynów ustrojowych wykonuje się z osadu uzyskanego po odwirowaniu próbki [28, 29]. Hodowla i identyfikacja szczepu grzyba wyizolowanego z materiału klinicznego nadal stanowi metodę referencyjną w diagnostyce IFI, również u chorych poddawanych transplantacji [30]. Metoda ta pozwala na identyfikację wyhodowanego patogenu i umożliwia określenie jego lekowrażliwości. Trzeba jednak zaznaczyć, że mykologiczne hodowle krwi są dodatnie tylko w 50–70% przypadków (drożdżaki) i taki wynik wskazuje na zakażenie inwazyjne. Fungemia w przebiegu aspergilozy jest rzadko wykrywana [30, 31]. Wadą hodowli mykologicznych jest długi czas potrzebny do uzyskania wzrostu i oceny morfologii kolonii, zwłaszcza w przypadku grzybów pleśniowych [28].

Biorąc pod uwagę diagnostykę zakażeń grzybiczych, u biorców narządowych należy zalecać rutynowo badania mykologiczne płynu prezerwacyjnego, w którym przechowuje się narządy przed przeszczepieniem.

Testy serologiczne służą do wykrywania rozpuszczalnych antygenów grzybiczych i/lub przeciwciał krążących w surowicy albo w płynach ustrojowych [32]. Odczyn serologiczne odgrywają jednak tylko pomocniczą rolę w wykrywaniu grzybic, szczególnie u osób, u których stosuje się leczenie immunosupresyjne. Ponadto, odczyn są często fałszywie dodatnie ze względu na podobieństwo antygenowe między bakteriami a grzybami [28]. U osób z obniżoną odpornością organizm może nie wytworzyć wykrywalnej odpowiedzi immunologicznej, tak więc ujemny wynik odczynu serologicznego nie wyklucza IFI. Z kolei u pacjentów hemodializowanych, u których stosowane są dializatory zbudowane z błon celulozowych, wyniki mogą być fałszywie dodatnie. W celu przybliżenia rozpoznania wy-

korzystuje się jednak testy. I tak, obecność rozpuszczalnego antygeny mannanowego w surowicy jest charakterystyczna dla zakażenia grzybami z rodzaju *Candida*. Galaktomannany oraz β -(1,3)-D-glukan (składnik ściany grzyba — test o dużej czułości) wskazują na zakażenie grzybami z rodzaju *Aspergillus*, obecność antygeny glukuronoksylomannanu świadczy zaś o zakażeniu *Cryptococcus* [28]. Monitorowanie stężenia tych markerów może się przyczynić do potwierdzenia fungemii we wczesnym etapie. Obserwacja dynamiki wzrostu miana przeciwciał antymannanowych nie pozwala jednak na rozróżnienie pomiędzy inwazyjną a powierzchniową postacią kandydozy, a ujemny wynik nie wyklucza kandydozy inwazyjnej [28].

W diagnostyce mykologicznej mogą być stosowane badania molekularne, wykrywające DNA grzyba w surowicy, płynach ustrojowych i/lub tkankach. Metody te są wysoce czułe i swoiste, z możliwością oceny ilościowej, do ich wad należą jednak brak standaryzacji na poziomie izolacji DNA i możliwość kontaminacji próbki. Pojedynczy pozytywny wynik PCR nie świadczy o zakażeniu — konieczne jest powtórzenie badania [33]. W chwili obecnej w nie zaleca się rutynowo wykorzystywania do badań mykologicznych badań molekularnych (można je stosować jako diagnostykę pomocniczą).

W diagnostyce grzybic inwazyjnych niezwykle ważną rolę odgrywają badania radiologiczne; szczególnie przydatna jest tomografia komputerowa. W aspergiliozie płucnej u połowy chorych — mimo prawidłowego obrazu radiologicznego klatki piersiowej — w tomografii komputerowej można uwidocznić zmiany mięszkowe, naciekowe, typowe — choć niespecyficzne — dla zakażeń grzybiczych. W badaniu ultrasonograficznym/tomografii jamy brzusznej można uwidocznić skupiska grzybni, obecność ropni, wodonercze. Zmiany te mogą sugerować zakażenie grzybicze, ale nie są dla niego specyficzne.

LECZENIE

W związku z brakiem objawów specyficznych dla zakażeń grzybiczych oraz dużą śmiertelnością, jaką są obarczone, powszechnie zalecane jest włączenie profilaktyki przeciwgrzybiczej w okresie okołoperacyjnym, a w razie podejrzenia zakażenia natychmiastowe wdrożenie empirycznego, prewencyjnego leczenia. Wybór stosowanego leku

przeciwgrzybiczego zależy od rodzaju przeszczepianego narządu, stanu klinicznego pacjenta, jego stabilności hemodynamicznej, obecności wskaźników septycznych oraz doświadczeń poszczególnych ośrodków — brak w tym względzie uniwersalnych zaleceń. Terapia empiryczna jest definiowana jako włączenie leczenia przeciwgrzybiczego u osób obarczonych dużym ryzykiem IFI, u których stwierdza się objawy zakażenia, ale nie jest ono potwierdzone badaniem mikrobiologicznym. W tym celu stosuje się leki przeciwgrzybicze o szerokim spektrum przez 3 lub więcej dni, aż do czasu gdy zidentyfikuje się patogen, jego źródło i stan pacjenta ulegnie poprawie. Terapia profilaktyczna oznacza włączenie leków przeciwgrzybiczych jako prewencji rozwoju zakażenia inwazyjnego u osoby predysponowanej. Leczenie prewencyjne zaś jest to leczenie włączane na podstawie dodatnich wczesnych testów diagnostycznych [4].

Wczesne wdrożenie leczenia u chorego z podejrzeniem IFI ma kluczowe znaczenie dla zmniejszenia śmiertelności. Niektórzy klinicyści skłaniają się do twierdzenia, że leki te powinno się ordynować, gdy tylko nasunie się podejrzenie wystąpienia u chorego grzybiczy narządowej, ponieważ czas potrzebny do uzyskania potwierdzenia — serologicznego bądź mykologicznego — zakażenia jest długi. W połowie przypadków leczenie przeciwgrzybicze włącza się, kiedy rozpoznanie IFI jest prawdopodobne, a nie potwierdzone. Zawsze należy pamiętać o redukcji immunosupresji. Oprócz włączenia terapii farmakologicznej należy pamiętać o usunięciu cewników centralnych, ponieważ mogą one być wrotami zakażenia, a jednocześnie mogą ulegać kolonizacji i uniemożliwiać skuteczne leczenie. Wykazano, że usunięcie cewnika centralnego wiązało się ze zmniejszeniem do 40% śmiertelności w inwazyjnej grzybicy, w porównaniu z 86,9% wśród chorych, u których taką kaniulę pozostawiono [34]. Dostępne leki przeciwgrzybicze wraz ze wskazaniami oraz dawkowaniem zestawiono w tabeli 1.

Pierwsza linia leczenia kandydemii pozostaje nadal dyskusyjna. Amfoterycyna, flukonazol, echinokantyny czy worykonazol wydają się mieć podobną skuteczność. Jednak u chorych w ciężkim stanie wobec narastania częstości zakażeń szczepami innymi niż *C. albicans* użycie bardziej szerokowidmowych leków przeciwgrzybiczych, takich jak worykonazol, echinokandyny czy amfoterycyna, wydaje się bardziej racjonalne. Worykonazol

pozostaje obecnie lekiem pierwszego rzutu w zakażeniach *Aspergillus*, *Fusarium* i *Scedosporium apiospermum* [35, 36].

Do głównych problemów klinicznych stosowania leków przeciwgrzybiczych zaliczają się ich interakcja z lekami immunosupresyjnymi (inhibitorami kalcyneuryny czy szlaku m-TOR) oraz ich działanie hepato- i nefrotoksyczne.

POLIENY

Amfoterycyna B — od ponad pół wieku główny lek stosowany w leczeniu IFI. Ma ona zdolność do wiązania się z ergosterolem, głównym steroidem ściany komórkowej grzyba, przez co zaburza jej zdolność regulacji osmotycznej, co skutkuje lizą komórki. Głównym efektem ubocznym działania leku jest nefrotoksyczność, wyrażająca się postępującą utratą czynności nerek związaną m.in. z występującą hipokaliemią, kwasicą cewkową oraz hipokalcemią. Nowocześniejsza postać lizosomalna amfoterycyny B wykazuje się nieco mniejszą nefrotoksycznością, nadal jednak zakres jej działań ubocznych jest szeroki. Odpowiednie nawodnienie chorego przy użyciu soli fizjologicznej oraz stosowanie ciągłego wlewu leku zmniejszają częstość objawów ubocznych, takich jak gorączka, dreszcze czy zaczerwienienie skóry. Postępowanie takie może być jednak trudne u pacjenta z utrzymującą się niewydolnością graftu [37]. Amfoterycyna wykazuje dużą skuteczność wobec *C. albicans* mniejszą zaś wobec *C. glabrata*, *C. krusei*, *C. lusitaniae* oraz pleśni.

Nystatyna — polienowy antybiotyk aktywny wobec zakażeń grzybami pleśniowymi i drożdżakami, przede wszystkim wobec *Candida*, stosowany powszechnie jako profilaktyka u osób z obniżoną odpornością. Metaanaliza 12 randomizowanych badań klinicznych, w których porównywano działanie nystatyny do placebo, flukonazolu i amfoterycyny, wykazała, że siła tego leku w zakresie zapobiegania zakażeniu grzybiczenemu jest porównywalna do placebo i dużo mniejsza w porównaniu z flukonazolem. Nystatyna nie powinna więc być zalecana w profilaktyce i leczeniu grzybic inwazyjnych [38], choć często jest stosowana w profilaktyce grzybicy przewodu pokarmowego u chorych po przeszczepieniu nerki. Należy pamiętać, że lek nie wchłania się z przewodu pokarmowego ani dróg rodnymi (jeśli jest stosowany w formie globulek dopochwowych), a więc nie zapobiega kolonizacji innych narządów poza przewodem pokarmowym czy drogami rodnymi.

▶▶W związku z brakiem objawów specyficznych dla zakażeń grzybiczych, dużą śmiertelnością, jaką są obarczone, powszechnie zalecane jest włączenie profilaktyki przeciwgrzybiczej w okresie okołoperacyjnym, a w razie podejrzenia zakażenia natychmiastowe wdrożenie empirycznego, prewencyjnego leczenia◀◀

▶▶Jednym z głównych problemów klinicznych stosowania leków przeciwgrzybiczych jest ich interakcja z lekami immunosupresyjnymi (inhibitorami kalcyneuryny czy szlaku m-TOR) oraz ich działanie hepato- i nefrotoksyczne◀◀

Tabela 1. Leki przeciwgrzybicze, mechanizm działania, główne wskazania, zalecane dawkowanie [4]

Klasa leków	Preparat	Wskazanie	Dawkowanie
Polieny	Polieny wiążą się preferencyjnie z ergosterolami błon komórek gospodarza. Efektem jest zaburzenie integralności błony komórkowej, co skutkuje lizą komórki		
	Amfoterycyna B (AmBisome)	Inwazyjne grzybice: aspergiloza, kryptokokoza (w tym <i>meningitis</i>), blastomykoza, układowa kandydoza, kokcydioidomikoza, histoplazmoza, sporotrichoza, mukormykoza (zygomykoza), zakażenia grzybami z rodzaju <i>Condiobolus</i> , <i>Basidiobolus</i> Terapia empiryczna u gorączkujących chorych z neutropenią	0,3–1,5 mg/kg/d. AmBisome 3–6 mg/kg/d.
Azole	Hamowanie zależnego od cytochromu P450 enzymu 14- α demetylasy, niezbędnego do wytworzenia ergosterolu — składnika błony komórkowej grzyba		
	Flukonazol	Profilaktyka u chorych po przeszczepieniu, leczenie inwazyjnej kandydozy Kandydoza ustno-gardłowa, kandydoza przelyku Kryptokokoza OUN	800 mg/kg <i>i.v.</i> w 1. dobie, potem 400 mg/d. 200 mg/d. <i>i.v.</i> lub <i>p.o.</i> w 1. dobie, potem 100 mg/d. 200–400 mg/d. <i>i.v.</i> lub <i>p.o.</i>
	Itrakonazol	Empirycznie u gorączkujących chorych z neutropenią, blastomykoza, płucna i pozapłucna histoplazmoza	200 mg <i>i.v.</i> 2 \times dz. lub 100–400 mg doustnie
	Worykonazol	Inwazyjna aspergiloza i kandydoza u pacjentów bez neutropenii Kandydoza przelyku	6 mg/kg 2 \times dz. w 1. dobie, następnie 4 mg/kg 2 \times dz. <i>i.v.</i> lub 200 mg doustnie 2 \times dz. podawane 1 godz. przed lub po posiłku
	Posakonazol	Profilaktyka inwazyjnej aspergilozy i kandydozy u chorych immunoniekompetyentnych Kandydoza ustno-gardłowa	200 mg (5 ml) 3 \times dz. podczas posiłku 100 mg (2,5 ml) 2 \times dz. w 1. dobie, potem 100 mg 1 \times dz. podczas posiłku
Echino-kandyny			
	Kaspofungina	Kandydemia, rozsiana kandydoza, empiryczna terapia u gorączkujących chorych z neutropenią, inwazyjna aspergiloza oporna na dotychczasowe leczenie Kandydoza przelyku	70 mg/d. w 1. dobie, potem 50 mg/d. 50 mg/d.
	Anidulafungina	Kandydemia, rozsiana kandydoza Kandydoza przelyku	200 mg/d. w 1. dobie, potem 100 mg/d. 100 mg/d. w 1. dobie, potem 50 mg/d.
	Mykafungina	Kandydemia, rozsiana kandydoza Kandydoza przelyku Profilaktyka kandydozy u chorych po przeszczepieniu szpiku	100 mg/d. 150 mg/d. 50 mg/d.

AZOLE

Leki z tej grupy cechują się mniejszą toksycznością niż polieni i mogą być podawane zarówno parenteralnie, jak i doustnie. Ich mechanizm działania polega na zaburzeniu syntezy ergosterolu — głównego składnika ściany

komórkowej grzyba. Swoje działanie wywierają przede wszystkim poprzez wpływ na cytochrom P450, w związku z czym oddziałują na metabolizm wielu leków, w tym inhibitorów kalcyneuryny (cyklosporyna, takrolimus). Stosowanie preparatów z tej grupy wymaga redukcji dawek leków immunosupresyjnych i częstych

kontroli ich stężenia, aby uniknąć z jednej strony ich toksycznego działania, a z drugiej nieadekwatnej immunosupresji. Częstym efektem ubocznym leczenia jest również bezobjawowe uszkodzenie komórki wątrobowej, objawiające się zwiększeniem stężenia aminotransferaz alaninowej i asparaginianowej, które należy kontrolować co 2–4 tygodnie [4].

Flukonazol — lek przeciwgrzybiczy najczęściej stosowany zarówno w profilaktyce, jak i w leczeniu. Wykazuje się stosunkowo niewielką toksycznością i jest lekiem pierwszego wyboru u chorych z kandydozą/kandydemią. Jest skuteczny w leczeniu zakażeń *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis* (*C. krusi* jest naturalnie oporna na flukonazol, a *C. glabrata* wykazuje mniejszą wrażliwość, zależną od dawki), *Coccidioides immitis*, *Cryptococcus neoformans*, *Histoplasma capsulatum*, *Blastomyces*. Nieaktywny wobec grzybów pleśniowych (np. *Aspergillus*) oraz *Fusarium* [39].

Itrakonazol — azol cechujący się słabszym i bardziej zmiennym wchłanianiem z przewodu pokarmowego w porównaniu z flukonazolem. Cechuje go aktywność wobec gatunków z rodzajów *Candida* (w tym *C. glabrata* i *C. krusei*; słabiej od flukonazolu udokumentowana skuteczność w grzybicach narządowych), wykazuje się aktywnością wobec grzybów z rodzaju *Cryptococcus*, *Histoplasma*, *Blastomyces*, *Sporotrichum* oraz pleśni, m.in. *Aspergillus*. Itrakonazol ma szeroki wachlarz działań niepożądanych, do których zalicza się hipotensję, hipokaliemię, występowanie obrzęków. Wykazuje ujemne działanie inotropowe, nie powinien więc być zalecany chorym z niewydolnością serca. Działa również hepatotoksycznie, a stosowanie łącznie antagonistów receptora H_2 i inhibitorów pompy protonowej zmniejsza jego absorpcję [4].

Worykonazol — kolejny z azoli, dostępny w postaci doustnej i dożylniej. Wchłania się bardzo dobrze z przewodu pokarmowego (podobnie jak flukonazol), nie jest wydalany z moczem (nie stosuje się go w leczeniu grzybic układu moczowego). Lek ten wykazuje się większą aktywnością wobec szczepów *Candida*, również tych, na które nie działa flukonazol. Działa też przeciw szczepom *Aspergillus* i pleśniom. Jest preferowany u niestabilnych hemodynamicznie chorych, szczególnie z zakażeniami szczepami grzybów innymi niż *C. albicans*. Z działań ubocznych, poza tymi, które wykazuje flukonazol, należy zwrócić uwagę na występowanie zaburzeń widzenia (u ok.

45% pacjentów) oraz nadwrażliwość na światło słoneczne. Stosowanie worykonazolu oraz posakonazolu jest przeciwwskazane u chorych, u których składową schematów immunosupresji są leki należące do inhibitorów m-TOR (sirolimus, everolimus) [4].

Flucytozyna — działa głównie na grzyby z rodzaju *Candida* i *Cryptococcus neoformans* poprzez hamowanie syntezy DNA i białek. Pleśnie z rodzaju *Aspergillus* są odporne na flucytozynę. Działa przede wszystkim w skojarzeniu z innymi lekami (amfoterycyna), jest wykorzystywana głównie do leczenia zakażeń kryptokokami. Jednak znaczna toksyczność oraz szybko pojawiająca się oporność na flucytozynę znacząco zmniejszają częstość jej stosowania [4].

ECHINOKANDYNY

Są to lipopeptydy, które hamują syntezę glukanu, jednej z cząsteczek stanowiących składową ścianę komórkowej grzybów, szczególnie z rodzaju *Candida* i *Aspergillus*. Ponadto zwiększają aktywność fagocytarną makrofagów. Opisuje się ich zdolność do hamowania wytwarzania przez grzyby z rodzaju *Candida* specyficznego biofilmu, przez co zapobiegają przyleganiu grzyba do komórek śródbłonna. Leki te nie wymagają zmiany dawkowania u chorych z upośledzoną czynnością nerek, anidulafungina nie wymaga zaś redukcji dawki u chorych z umiarkowaną niewydolnością wątroby (7–9 wg skali Childa-Pugha). Ponieważ nie działają przez cytochrom P450, nie powinny zmieniać stężenia leków immunosupresyjnych z grupy inhibitorów kalcyneuryny, wielu leków hipotensyjnych i przeciwartmicyznych [4], choć kapsofungina redukuje pole powierzchni pod krzywą (AUC, *area under curve*) dla takrolimusu o 20%, podczas gdy cyklosporyna powoduje 35-procentowe zwiększenie AUC dla tego leku. Z kolei mykafungina zwiększa AUC dla sirolimusu o 21% [40]. Interakcje te nie są opisywane dla trzeciego leku z tej grupy — anidulafunginy (nie penetruje do OUN i układu moczowego). Echinokandyny prawdopodobnie wykazują aktywność przeciw *Pneumocystis carinii* [41]. Stosowanie tej grupy leków wymaga monitorowania stężenia enzymów wątrobowych.

PROFILAKTYKA

Jak wykazały dotychczas przeprowadzone metaanalizy wielu badań, stosowanie profilak-

tyki przeciwgrzybiczej nie zmniejszyło śmiertelności wśród chorych po transplantacjach narządowych, chociaż zaobserwowano znaczne zmniejszenie częstości grzybic inwazyjnych u biorców wątroby, u których profilaktycznie stosowano flukonazol [42].

Jeśli chodzi o biorców nerki, nie ma dotąd wystarczających danych, aby wydać jednoznaczny opinię dotyczącą profilaktyki. Ponieważ jednak rozwój zakażenia uogólnionego jest zwykle poprzedzony kolonizacją błon śluzowych przewodu pokarmowego, a *Candida* powoduje powierzchowne, ograniczone zapalenie skóry i błon śluzowych, często w okresie pierwszych 3 miesięcy po przeszczepieniu zaleca się chorym profilaktyczne przyjmowanie nystatyny.

Biorąc jednak pod uwagę dużą śmiertelność, jaka towarzyszy IFI u biorców narządowych, należy zawsze ocenić indywidualne ryzyko zakażenia i jeśli jest ono duże, włączyć empiryczną profilaktykę. Niezwykle ważna jest wczesna ocena ryzyka wystąpienia zakażenia grzybiczego.

PODSUMOWANIE

1. Zakażenia grzybicze, zwłaszcza kandydoza oraz aspergiloza, pozostają poważnym problemem klinicznym u chorych po transplantacjach.
2. Grzybice układowe są rozpoznawane późno, często stanowią przyczynę przedłużających się hospitalizacji oraz zgonów.
3. Mimo szerokiej dostępności badań diagnostycznych rozpoznawalność grzybic inwazyjnych jest późna, a stosowane leczenie nadal mało skuteczne.
4. U chorych po transplantacjach narządowych obarczonych trzema lub więcej czynnikami ryzyka słusznym postępowaniem wydaje się profilaktyczne lub wyprzedzające leczenie.
5. W leczeniu przeciwgrzybiczym u chorych po transplantacji należy zawsze wziąć pod uwagę wpływ stosowanych leków na stężenie leków immunosupresyjnych oraz ich potencjalne działania uboczne, szczególnie nefro- i hepatotoksyczne.

STRESZCZENIE

Zakażenia grzybicze stanowią około 5% wszystkich zakażeń występujących u chorych po przeszczepieniu nerki. Ze względu na brak specyficznych objawów inwazyjnej grzybicy układowej oraz dużą śmiertelność związaną z jej wystąpieniem, a także trudności diagnostyczne już w momencie wysunięcia podejrzenia zakażenia obowiązuje natychmiastowe wdrożenie empirycznego, prewencyjnego

leczenia. W artykule omówiono najczęstsze postaci grzybic inwazyjnych, możliwości ich diagnostyki oraz zasady postępowania, wraz z dostępną farmakoterapią, ze zwróceniem szczególnej uwagi na interakcje leków przeciwgrzybiczych z immunosupresyjnymi.

Forum Nefrol 2017, tom 10, nr 2, 114–123

Słowa kluczowe: zakażenia grzybicze, diagnostyka mykologiczna, leki przeciwgrzybicze, przeszczepienie nerki

Piśmiennictwo

1. Fishman J.A. Infection in solid-organ transplant recipients. *N. Engl. J. Med.* 2007; 357: 2601–2614.
2. Khan A., El-Charabaty E., El-Sayegh S. Fungal infection in renal transplant patients. *J. Clin. Med. Res.* 2015; 7: 371–378.
3. Pappas P.G., Alexander B.D., Andes D.R. i wsp. Invasive fungal infections among organ transplant recipients: results of the Transplant-Associated Infection Surveillance Network (TRANSNET). *Clin. Infect. Dis.* 2010; 50: 1101–1111.
4. Van Thiel D., Geaorge M., Moore M. Fungal infections: their diagnosis and treatment in transplant patients. *Intern. J. Hepat.* 2012; doi: 10.1155/2012/106923.
5. Silveira F.P., Kusne S., and the AST Infectious Disease Community of Practice. *Candida* infections in solid organ transplantation. *Am. J. Transplant.* 2013; 13: 220–227.
6. Kurnatowska I., Chrzanowski W., Kacprzyk F., Zamojska S., Kurnatowska A. Prevalencja wieloogniskowych zakażeń grzybami u chorych z przeszczepami nerek poddawanych

stałej immunosupresji. *Wiadomości Parazytologiczne* 2002; 48: 419–424.

11. Wierzbicka M. Grzybica kropidlakowa płuc (aspergiloza). *Postępy Nauk Medycznych* 2001; 1: 36–41.
12. Gavalda J., Len O., San J.R. i wsp. Risk factors for invasive aspergillosis in solid-organ transplant recipients: a case-control study. *Clin. Infect. Dis.* 2005; 41: 52–59.
13. Paterson D.L., Singh N. Invasive aspergillosis in transplant recipients. *Medicine (Baltimore)* 1999; 78: 123–138.
14. Singh N.M., Husain S., and the AST Infectious Disease Community of Practice. Aspergillosis in solid organ transplantation. *Am. J. Transplant.* 2013; 13: 228–241.
15. Kuhlman J.E., Fishmab E.K., Siegelman S.S. Invasive pulmonary aspergillosis in acute leukemia: characteristic findings on CT, the CT halo sign and the role of CT in early diagnosis. *Radiology* 1986; 157: 611.
16. Kontoyiannis D.P., Marr K.A., Park B.J. i wsp. Prospective surveillance for invasive fungal infections in hematopoietic stem cell transplant recipients, 2001–2006: Overview of the Transplant-Associated Infection Surveillance Network (TRANSNET) Database. *Clin. Infect. Dis.* 2010; 50: 1091–1100.
17. Sun H.Y., Wagener M.M., Singh N. Cryptococcosis in solid organ, hematopoietic stem cell, and tissue transplant recipients: Evidence-based evolving trends. *Clin. Infect. Dis.* 2009; 48: 1566–1576.
18. Husain S., Wagener M.M., Singh N. Cryptococcus neoformans infection in organ transplant recipients: Variables influencing clinical characteristics and outcome. *Emerg. Infect. Dis.* 2001; 7: 375–381.
19. Baddley J.W., Forrest G.N., and the AST Infectious Disease Community of Practice. Cryptococcosis in solid organ transplantation. *Am. J. Transplant.* 2013; 13: 243–249.
20. Singh N., Alexander B.D., Lortholary O. i wsp. Cryptococcus neoformans in organ transplant recipients: Impact of calcineurin-inhibitor agents on mortality. *J. Infect. Dis.* 2007; 195: 756–764.
21. Siddiqui T.J., Zamani T., Parada J.P. Primary cryptococcal prostatitis and correlation with serum prostate specific antigen in a renal transplant recipient. *J. Infect.* 2005; 51: e153–e157.
22. Sun H.Y., Alexander B.D., Lortholary O. i wsp. Cutaneous cryptococcosis in solid organ transplant recipients. *Med. Mycol.* 2010; 48: 785–791.
23. Horrevorts A.M., Huysmans F.T., Koopman R.J., Meis J.F. Cellulitis as first clinical presentation of disseminated cryptococcosis in renal transplant recipients. *Scand. J. Infect. Dis.* 1994; 26: 623–626.
24. Huprikar S., Shoham S., and the AST Infectious Disease Community of Practice. Emerging fungal infections in solid organ transplantation. *Am. J. Transplant.* 2013; 13: 262–271.
25. Fleming R.V., Walsh T.J., Anaissie E.J. Emerging and less common fungal pathogens. *Infect. Dis. Clin. North. Am.* 2002; 16: 915–933.
26. Marty F.M., Cosimi L.A., Baden L.R. Breakthrough zygomycosis after voriconazole treatment in recipients of hematopoietic stem-cell transplants. *N. Engl. J. Med.* 2004; 350: 950–952.
27. Singh N., Aguado J.M., Bonatti H. i wsp. Zygomycosis in solid organ transplant recipients: a prospective, matched case-control study to assess risks for disease and outcome. *J. Infect. Dis.* 2009; 200: 1002–1011.
28. Sulik-Tyszka B., Wróblewska M. Przegląd metod laboratoryjnych stosowanych w diagnostyce inwazyjnych zakażeń grzybiczych. *Diag. Lab.* 2015; 51: 147–152.
29. Oz Y., Kiraz N. Diagnostic methods for fungal infections in pediatric patients: microbiological, serological and molecular methods. *Exp. Rev. Anti. Infect. Ther.* 2011; 9: 289–298.
30. Guarner J., Brandt M.E. Histopathologic diagnosis of fungal infections in the 21st century. *Clin. Microbiol. Rev.* 2011; 24: 247–280.
31. Cuenca-Estrella M., Verweij P.E., Arendrup M.C. i wsp. ESCMID* guideline for the diagnosis and management of Candida diseases 2012: diagnostic procedures. *Clin. Microbiol. Infect.* 2012; 18: 9–18.
32. Malhotra S., Sharma S., Bhatia N.J.K. i wsp. Recent diagnostic techniques in mycology. *J. Med. Microb. Diagn.* 2014; 3: 2–6.
33. Atkins S.D., Clark I.M. Fungal molecular diagnostics: a mini review. *J. Appl. Genet.* 2004; 45: 3–15.
34. Kibbler C.C., Seaton S., Barnes R.A. i wsp. Management and outcome of bloodstream infections due to Candida species in England and Wales. *J. Hosp. Infect.* 2003; 54: 18–24.
35. Solé A., Salavert M. Voriconazole for the therapy of mycoses in recipients of solid organ transplants. *Revista Iberoamericana de Micología* 2007; 24: 217–222.
36. Spellberg B.J., Filler S.G., Edwards J.E. Current treatment strategies for disseminated candidiasis. *Clin. Infect. Dis.* 2006; 42: 244–251.
37. Peleg A.Y., Woods M.L. Continuous and 4 h infusion of amphotericin B: a comparative study involving high-risk haematology patients. *J. Antimicrob. Chemother.* 2004; 54: 803–808.
38. Gotzsche P.C., Johansen H.K. Nystatin prophylaxis and treatment in severely immunodepressed patients. *Cochrane Database Syst. Rev.* 2002; 4: CD002033.
39. Pappas P.G., Rex J.H., Sobel J.D. i wsp. Guidelines for treatment of candidiasis. *Clin. Infect. Dis.* 2004; 38: 161–189.
40. Eschenauer G., DePestel D.D., Carver P.L. Comparison of echinocandin antifungals. *Ther. Clin. Risk Manag.* 2007; 3: 71–97.
41. Powles M.A., Liberator P., Anderson J. i wsp. Efficacy of MK-991 (L-743,872), a semisynthetic pneumocandin, in murine models of *Pneumocystis carinii*. *J. Antimicrob. Chemother.* 1998; 42: 1985–1989.
42. Playford E.G., Webster A.C., Sorell T.C., Craig J.C. Antifungal agents for preventing fungal infections in solid organ transplant recipients. *Cochrane Database Syst. Rev.* 2004; 3: CD004291.