

Przemysław Biliński¹, Ilona Seferyńska², Krzysztof Warzocha²¹Główna Inspekcja Sanitarna w Warszawie²Klinika Hematologii Instytutu Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie

Diagnostyka i leczenie układowych zakażeń grzybiczych w onkohematologii

Diagnosis and treatment of fungal infections in oncohematology

Adres do korespondencji:

Prof. dr hab. med. Krzysztof Warzocha
Klinika Hematologii, Instytut Hematologii
i Transfuzjologii
ul. Indyry Gandhi 14, 02-776 Warszawa
tel.: (022) 34 96 176, faks: (022) 34 96 178

STRESZCZENIE

Częstość występowania układowych zakażeń grzybiczych w ostatnich latach stale rośnie. Najbardziej zagrożeni rozwojem grzybicy układowej, z najwyższą śmiertelnością w przebiegu zakażenia, są chorzy z zaburzeniami odporności. Czynnikiem etiologicznym są najczęściej grzyby rodzaju *Candida* i *Aspergillus*. Zwiększa się częstość zakażeń wywołanych przez szczepy lekooporne oraz nowe patogeny. Podstawą rozpoznania grzybicy narządowej powinien być obraz kliniczny oraz wynik badań obrazowych i laboratoryjnych. Opcje terapeutyczne stosowane u chorych w stanie immunosupresji obejmują leczenie profilaktyczne, wyprzedzające, empiryczne i leczenie rozpoznanego zakażenia grzybiczego. Wybór właściwej opcji powinien być oparty na wnikliwej ocenie ryzyka wystąpienia zakażenia, wynikach badań diagnostycznych przeprowadzanych w celu wczesnej identyfikacji zakażenia i uwzględnieniu toksyczności leków przeciwgrzybiczych. Metodą referencyjną w leczeniu grzybic o ciężkim przebiegu przez wiele lat była amfoterycyna B. W ostatnich latach pojawiły się leki o porównywalnej, a nawet większej skuteczności i znacznie mniejszej toksyczności. Są to postaci lipidowe amfoterycyny B, nowe pochodne azolowe oraz echinokandyny.

Słowa kluczowe: grzybice, etiologia, patogenez, diagnostyka, leczenie**ABSTRACT**

The incidence of systemic fungal infections has increased during the past years. The risk for fungal infection and mortality rate due to infection is highest among immunocompromised patients. The most common pathogens remain *Candida* and *Aspergillus*. An increase in the incidence of infections due to resistant and new pathogens has been observed. The diagnostic recommendations for invasive mycoses include clinical examination, imaging methods and laboratory tests. Therapeutic options in immunocompromised patients include prophylaxis, pre-emptive and empiric treatment and therapy of established fungal infection. This approach should be based on patient risk-group stratification, diagnostic techniques to identify very early stage of infection and toxicity of antifungal drugs. The "gold standard" in treatment of invasive fungal infections was amphotericin B. New antifungal agents with similar or higher efficacy and lower toxicity have been introduced. These are lipid formulations of amphotericin B, new azoles, and echinocandines.

Key words: fungal infections, ethiology, pathogenesis, diagnosis, treatment

Wstęp

W ciągu ostatnich 20 lat obserwuje się stały wzrost częstości występowania układowych zakażeń grzybiczych. Paradoksalnie jest on spowodowany postępowaniem w medycynie, szczególnie w zakresie transplantacji narządów, leczenia nowotworów, wydłużeniem czasu przeżycia chorych poddanych leczeniu mielo- i immunosupresyjnemu, chorych z upośledzeniem odporności, wprowadzeniem bardziej inwazyjnych metod diagnostycznych i terapeutycznych, antybiotyków o szerokim spektrum działania. W ostatnich latach obserwuje się też częstsze pojawianie się szczepów lekoopornych czy też nowych lub uprzednio rzadko występujących patogenów i zwiększenie śmiertelności z powodu zakażeń grzybiczych. U chorych poddanych intensywnej immunosupresji zwiększa się częstość występowania inwazyjnej aspergilozy, fuzariozy czy zygomikozy, co w dużej części wiąże się też z profilaktycznym i empirycznym stosowaniem leków przeciwrzybiczych o szerokim spektrum działania [1–3].

Spośród poznanych około 250 tysięcy gatunków grzybów żyjących w otaczającym ludzi środowisku powyżej 200 gatunków wywołuje zakażenia u ludzi. Tylko nieliczne rodzaje grzybów są bezwzględnie chorobotwórcze (*Histoplasma*, *Blastomyces*) i wywołują zakażenia także u ludzi z prawidłowym układem immunologicznym. Większość zakażeń rozwija się u osób z upośledzoną odpornością i ma charakter zakażeń oportunistycznych. Najczęstszym czynnikiem etiologicznym są grzyby z rodzaju *Candida* (ok. 60–80% zakażeń) i *Aspergillus*. Zakażenia wywołane przez *Candida* są najczęściej endogenne, rzadziej egzogenne. Zakażenia wywołane przez *Aspergillus* i inne grzyby pleśniowe są egzogenne i najczęściej źródłem drobnoustroju jest wdychane powietrze.

Patogeneza układowych zakażeń grzybiczych

Zakażenia grzybicze dzieli się na powierzchowne (skóra i błony śluzowe) oraz głębokie (narządowe, układowe). Układowe zakażenia grzybicze mogą dotyczyć jednego lub więcej narządów, przybierając postać zakażenia uogólnionego przebiegającego z fungemią (obecność patogenu we krwi).

Do wystąpienia układowych zakażeń grzybiczych predysponują przede wszystkim stany upośledzenia odporności. Najważniejszym czynnikiem sprzyjającym rozwojowi grzybicy jest neutropenia, zwłaszcza głęboka ($< 0,2 \times G/l$) i długotrwała (> 9 dni) oraz limfopenia, w tym głównie dotycząca limfocytów CD4+ [4]. Zaburzenia te mogą być wynikiem samego procesu chorobowego, stosowanej chemioterapii, radioterapii lub immunosu-

presji i predysponują pacjenta do zakażenia drożdżakami oraz grzybami pleśniowymi [3, 5–8]. Ryzyko zakażenia zwiększa również przebyta splenektomia. Ważnym czynnikiem sprzyjającym zakażeniom jest uszkodzenie struktury i funkcji narządów w efekcie procesu zapalnego o innej etiologii, toksycznego działania leków, diagnostycznych zabiegów chirurgicznych, stosowania cewników dożylnych, zabiegów chirurgicznych w zakresie jamy brzusznej czy klatki piersiowej [9, 10]. Zapalenie błony śluzowej przewodu pokarmowego i uszkodzenie skóry stanowią ryzyko zakażenia głównie drożdżakami, przebyte infekcje układu oddechowego zwiększają prawdopodobieństwo inwazyjnej aspergilozy. Do zakażeń grzybiczych usposabia także uszkodzenie i zaburzenia funkcji narządów w następstwie cukrzycy, niewydolności nerek i wątroby, w przewlekłej obturacyjnej chorobie płuc. Istotnym czynnikiem jest długotrwałe leczenie antybiotykami, zwłaszcza o szerokim spektrum, powodujące zniszczenie endogennej flory bakteryjnej i kolonizację tych miejsc przez grzyby [9].

Z wymienionych powodów grupą chorych największego ryzyka rozwoju inwazyjnej grzybicy są pacjenci z nowotworami, poddani intensywnej chemio- i radioterapii, także z innych powodów leczeni przewlekłe glikokortykosteroidami i lekami immunosupresyjnymi [3, 5, 6, 8, 9]. U chorych tych najczęściej współistnieje kilka czynników predysponujących, jak neutropenia, limfopenia, uszkodzenie błon śluzowych po chemioterapii czy długotrwała antybiotykoterapia. Częstość grzybic układowych jest najwyższa u pacjentów poddanych przeszczepieniu narządów, przede wszystkim allogenicznym komórek krwiotwórczych (10–20% chorych) i chorych leczonych z powodu ostrych białaczek (10%) [3, 5, 11–13]. Śmiertelność w układowych zakażeniach grzybiczych sięga 30–70%. W tabeli 1 wyszczególniono grupy chorych największego ryzyka rozwoju grzybic układowych.

Etiologia układowych zakażeń grzybiczych

Układowe zakażenia wywoływane są najczęściej przez grzyby z rodzaju *Candida* i *Aspergillus*. *Candida* jest czynnikiem etiologicznym inwazyjnych zakażeń u osób z upośledzeniem odporności, jak również u chorych bez zaburzeń immunologicznych, na przykład po przebytych operacjach na jamie brzusznej, leczonych długotrwałe na oddziałach intensywnej terapii i otrzymujących żywienie pozajelitowe. Zakażenia wywołane przez *Aspergillus* dotyczą prawie wyłącznie chorych ze znacznym upośledzeniem odporności. W ostatnich latach rośnie częstość zakażeń wywołanych przez inne rodzaje, w tym *Fusarium*, *Trichosporon*, *Scedosporium* [1, 3, 5]. *Candida spp.* należą do grupy grzybów drożdżopodobnych i są czwartym pod względem częstości patogenem

Tabela 1. Chorzy z grupy wysokiego ryzyka wystąpienia inwazyjnego zakażenia grzybiczego [21]**Table 1. High-risk patients for invasive fungal infection [21]**

1. Po allogenicznym przeszczepieniu macierzystych komórek krwiotwórczych od dawcy niespokrewnionego lub nie w pełni zgodnego
2. Choroba przeszczep przeciwko gospodarzowi
3. Po przeszczepieniu macierzystych komórek krwiotwórczych i intensywnym kondycjonowaniu
4. Po allogenicznym przeszczepieniu macierzystych komórek krwiotwórczych i opóźnioną regeneracją hematopojezy
5. Po intensywnym leczeniu z powodu AML, MDS, ALL z neutropenią $< 0,1-0,2 \times G/l$ trwającą > 21 dni
6. Neutropenia $< 0,2 \times G/l$ i leczenie glikokortykosteroidami w dawce > 30 mg/d.,
7. Po leczeniu wysokimi dawkami cytarabiny
8. Przebyte zakażenie grzybami pleśniowymi w poprzednim okresie neutropenii
9. Kolonizacja drożdżakami
10. Po leczeniu lekami uszkadzającym śluzówkę przewodu pokarmowego

AML (*acute myoblastic leukemia*) — ostra białaczka szpikowa; MDS (*myodysplastyczny*) — zespół mielodysplastyczny; ALL (*acute lymphoblastic leukemia*) — ostra białaczka limfoblastyczna

hodowanym z krwi u chorych leczonych w szpitalach w Stanach Zjednoczonych, a ósmym w Europie. Najczęstszym czynnikiem etiologicznym zakażeń jest *Candida albicans*, odpowiedzialna za około 60–80% zakażeń wywołanych przez *Candida spp.*, kolejno *C. tropicalis* i *C. parapsilosis* [1, 9, 14]. Szerokie profilaktyczne i lecznicze stosowanie preparatów z grupy azoli przez ostatnie lata spowodowało spadek częstości zakażeń wywołanych przez *C. albicans* i wzrost częstości zakażeń wywołanych przez odporne szczepy, w tym *C. krusei* i *C. glabrata* [3, 5, 8, 15, 16]. *Candida* wywołują zakażenia o bardzo szerokim spektrum, od niegroźnych powierzchniowych skórno-śluzówkowych do wielonarządowych, stanowiących zagrożenie dla życia chorego. Do układowych postaci zakażenia należy między innymi fungemia, zapalenie płuc, zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych, zapalenie gałki ocznej, wsierdza, wątroby, nerek. Zakażenia te obciążone są wysoką śmiertelnością sięgającą 40–80% [8, 9, 17]. Najczęstszą drogą inwazji *Candida* jest błona śluzowa przewodu pokarmowego i dróg oddechowych. Kolonizację błony śluzowej umożliwiają zdolności adherencyjne komórek grzyba. U zdrowych osób prawidłowy stan błony śluzowej i mechanizmy immunologiczne skutecznie chronią przed kolonizacją grzybami. Uszkodzenie ciągłości i funkcji błon śluzowych, zaburzenia odpowiedzi komórkowej i humoralnej oraz zniszczenie fizjologicznej flory bakteryjnej sprzyjają kolonizacji błon śluzowych przez *Candida*, a następnie szerzeniu się zakażenia do krwi, narządów i tkanek głębiej położonych [9, 16, 17]. Układowe zakażenia mają częściej charakter endogenny. Źródłem zakażenia jest własna flora drożdżakowa. Rzadziej zakażenia mają charakter egzogenny i są przenoszone przez personel medyczny,

materiały opatrunkowe, sprzęt chirurgiczny czy anestezyjologiczny. Do grzybów drożdżopodobnych, które rzadziej wywołują inwazyjne zakażenia grzybicze należą *Cryptococcus*, *Trichosporon*, *Blastoschizomyces*, *Malassezia* [9, 18].

Grzyby z rodzaju *Aspergillus*, należące do grzybów pleśniowych, są drugą pod względem częstości grupą patogenów wywołujących grzybicę narządowe. Zakażenia kropidlakowe wywołuje najczęściej *A. fumigatus* (w 80–90%), kolejno *A. flavus*, *A. niger* i inne [1, 9]. Do zakażenia dochodzi zwykle drogą wziewną wskutek wdychania zarodników z powietrza. Najczęstszą postacią kliniczną zakażenia jest inwazyjna aspergiloza płucna i aspergiloza uogólniona, rzadziej występuje zapalenie zatok, zajęcie mózgu [8, 9]. Jeszcze inną postacią kliniczną jest grzybniak kropidlakowy, zwykle rozwijający się u chorych po przebytej gruźlicy lub pylicy płuc, sarkoidozie lub jako zejście aspergilozy płucnej. Grzybicę układowe wywoływane przez *Aspergillus* rozwijają się niemal zawsze u osób z upośledzoną odpornością. Najważniejszym czynnikiem sprzyjającym zakażeniu jest długotrwała i głęboka neutropenia. Grupą najbardziej podatną na zakażenie są pacjenci po przeszczepieniu szpiku i narządów litych, chorzy leczeni z powodu nowotworów układu krwiotwórczego, zwłaszcza z powodu ostrych białaczek i chorzy z AIDS [4, 12]. Układowe zakażenia kropidlakowe są obciążone bardzo wysoką śmiertelnością (50–80%), będąc jedną z głównych przyczyn zgonu z przyczyn infekcyjnych u chorych po allogenicznym przeszczepieniu szpiku [9, 11].

W ostatnich latach rośnie częstość grzybic wywołanych przez grzyby pleśniowe z rodzaju *Mucor*, *Rhizopus* czy *Absidia* (zygomikozy), które są saprofitami szeroko rozpowszechnionymi w przyrodzie [8, 9, 19]. Do zaka-

żeń układowych dochodzi najczęściej u osób z zaburzeniami odporności, zwykle drogą wziewną. Charakteryzuje je ciężki przebieg kliniczny z zajęciem płuc, zatok obocznych nosa, mózgu i rzadziej skóry.

Postępy w medycynie spowodowały również coraz częstsze występowanie zakażeń wywołanych przez grzyby strzępkowe, uznawane przedtem za mało inwazyjne. Są to między innymi *Fusarium*, *Trichoderma*, *Acremonium*, *Curvularia* czy *Alternaria* [8, 9, 11]. Grzyby te powodują najczęściej powierzchowne zakażenia skórne, ale u osób z defektami układu odpornościowego mogą wywoływać grzybice układowe z fungemią. Zakażenia spowodowane przez *Fusarium* coraz częściej rozpoznaje się u biorców przeszczepów, stanowią one około 15% wszystkich zakażeń grzybiczych. U biorców przeszczepów szpiku śmiertelność spowodowana układowym zakażeniem tym patogenem sięga 70–100% [2, 9].

Diagnostyka inwazyjnych zakażeń grzybiczych

Obraz kliniczny układowych zakażeń grzybiczych jest mało charakterystyczny, podobny do zakażeń o etiologii wirusowej lub bakteryjnej. Dlatego też w każdym przypadku prawdopodobnej infekcji grzybiczej istnieje konieczność przeprowadzenia dodatkowych badań w celu ustalenia czynnika etiologicznego, a następnie lekowrażliwości oraz monitorowania skuteczności leczenia. U chorych w stanie immunosupresji rozpoznanie zakażeń przysparza zwykle dużo trudności. Przebieg kliniczny jest skąpoobjawowy, w fazie początkowej często ograniczony tylko do gorączki, możliwości przeprowadzenia badań diagnostycznych ze względu na ciężki stan kliniczny i hematologiczny są ograniczone, a wyniki testów laboratoryjnych fałszywie ujemne [20–22].

Do najczęstszych objawów klinicznych zakażenia należy gorączka. Utrzymywanie się stanów gorączkowych u chorego z neutropenią, długotrwałe leczonego antybiotykami, powinno nasuwać podejrzenie grzybicy. W około 10% przypadków zakażenia grzybicze przebiegają bez gorączki, a u około 10% chorych rozwija się wstrząs septyczny [23]. Objawy ze strony zajętego narządu nie są specyficzne. W przypadkach aspergilozy płucnej częstym wczesnym objawem jest oprócz gorączki suchy kaszel, bóle opłucnowe, krwioplucie. Przy podejrzeniu zakażenia grzybiczego pomocne są badania obrazowe klatki piersiowej, w tym RTG płuc oraz tomografia komputerowa. Najczulszą metodą wśród badań obrazowych jest tomografia komputerowa o wysokiej rozdzielczości, która wykazuje obecność zmian mięszo-tych typowych dla grzybicy, mimo prawidłowego obrazu radiologicznego u około 50% badanych [8, 24].

W diagnostyce zakażeń grzybiczych stosuje się badania mikroskopowe, metody mikrobiologiczne, serologiczne

(wykrywanie antygenów i przeciwciał) oraz metody genetyczne [8, 10, 21, 23, 25]. Materiał do badań mikologicznych powinno się pobierać w zależności od objawów klinicznych i lokalizacji zakażenia. W większości grzybic inwazyjnych należy pobrać do badania krew, płwocinę, mocz, wymazy z odpowiednich okolic ciała, wycinki tkanek, popłuczyny pęcherzykowo-oskrzelikowe, płyn mózgowo-rdzeniowy lub inny materiał. Próbkę do badań należy pobierać w jałowych warunkach, aby nie dopuścić do przypadkowej kontaminacji materiału [22, 23]. U chorych ze znacznego stopnia małopłytkowością pobranie właściwego materiału do badania często nie jest możliwe.

Z materiału pobranego z chorobowo zmienionego miejsca można wykonać preparaty bezpośrednie lub barwione i ocenić w badaniu mikroskopowym obecność grzybów. Charakterystyczne cechy morfologiczne umożliwiają ocenę gatunkowej przynależności patogenu. Obecność grzyba można również wykazać w badaniu histopatologicznym wycinka tkankowego czy biopsji. Pozytywny wynik badania mikroskopowego jest jedynym pewnym rozpoznaniem grzybicy [23].

Hodowle badanego materiału na obecność grzybów prowadzi się na specjalnych podłożach przez długi czas, do kilku tygodni. Identyfikacji grzybów dokonuje się w preparatach mikroskopowych z hodowli oraz przez ocenę ich właściwości biochemicznych za pomocą specyficznych odczynników. Kolejnym etapem badania jest ocena lekowrażliwości wyhodowanych patogenów przy użyciu komercyjnych testów [12]. Interpretując wyniki badań mikrobiologicznych, należy pamiętać, że wszechobecność grzybów w środowisku i możliwość zanieczyszczenia badanego materiału mogą powodować wyniki fałszywie dodatnie. Jednocześnie mimo istniejącego zakażenia grzybiczego z posiewów często nie udaje się uzyskać hodowli grzybów. Szacuje się, że dodatnie posiewy uzyskuje się tylko u 25–50% chorych z potwierdzoną grzybicą [20, 23].

Uzupełnieniem badań mikrobiologicznych są metody serologiczne, wykrywające w surowicy rozpuszczalne antygeny grzybicze lub skierowane przeciwko nim przeciwciała. Czulość tych metod ocenia się na 30–90%. Największą wartość diagnostyczną ma badanie obecności antygenów, które można wykonać przy użyciu komercyjnie dostępnych testów. Do najczęściej stosowanych należą testy wykrywające antygen galaktomannowy specyficzny dla *Aspergillus* oraz β -D-glukan, wykrywany w zakażeniu drożdżakami i grzybami pleśniowymi. Czulość testów opartych na metodzie immunoenzymatycznej (ELISA, *enzyme linked immunosorbent assay*) ocenia się na 67–100% [22, 23, 25, 26]. W diagnostyce zakażenia *Candida* stosuje się też testy wykrywające inne antygeny w surowicy, w tym mannozę, enolazę i β -glukan oraz oznaczające stężenie w surowicy lub moczu D-arabinitolu, będącego głównym metabolitem grzyba.

W ostatnich latach kwestionuje się wartość badania przeciwciał i ich miana, bowiem u chorych z upośledzeniem odpowiedzi immunologicznej wyniki mogą być fałszywie ujemne [23].

W ciągu ostatnich lat coraz powszechniej w diagnostyce zakażeń grzybiczych stosuje się metody biologii molekularnej oparte na analizie DNA i RNA. Charakteryzuje je wysoka czułość i swoistość, istotną zaletą jest również krótki czas potrzebny do ich przeprowadzenia. Najszersze zastosowanie znalazła reakcja łańcuchowa polimerazy (PCR, *polymerase chain reaction*). Metoda ta polega na powieleniu fragmentu DNA grzyba w badanym materiale przy użyciu enzymu polimerazy DNA. Swoistość badania determinują startery, komplementarne do wybranej sekwencji DNA. Możliwe jest zastosowanie starterów wykrywających fragmenty DNA występujące we wszystkich grzybach. W tych badaniach drugim etapem jest analiza produktu amplifikacji, umożliwiająca określenie rodzaju czy gatunku patogenu [22, 23]. W badaniach metodą PCR można również stosować startery o sekwencji charakterystycznej dla danego gatunku lub szczepu. Ujemną stroną badań z zastosowaniem techniki PCR jest możliwość uzyskania fałszywie dodatniego wyniku. Wynika to z powszechnej obecności grzybów w środowisku oraz możliwości kolonizacji skóry i błon śluzowych. Dlatego też wynik badania molekularnego wykonanego z określonej tkanki należy skorelować z obecnością objawów klinicznych i/lub innych badań dodatkowych.

Leki przeciwgrzybicze

W profilaktyce i leczeniu grzybic układowych stosuje się cztery grupy leków, w tym antybiotyki polienowe, azole, antymetabolity oraz echinokandyny (tab. 2). An-

tybiotyki polienowe, do których należy amfoterycyna B i nystatyna, są najstarszą grupą leków przeciwgrzybiczych. Nystatyna ma szerokie spektrum działania, ale jest lekiem nierozpuszczalnym w wodzie i znalazła zastosowanie w leczeniu miejscowym powierzchniowych grzybic skóry oraz błony śluzowej przewodu pokarmowego. Amfoterycyna B pozostawała do niedawna metodą referencyjną w leczeniu grzybic układowych. Mechanizm jej działania polega na łączeniu się z ergosterolem ściany komórkowej grzyba, co prowadzi do zaburzenia integralności błony, ucieczki składników komórki na zewnątrz i ostatecznie śmierci komórki. Spektrum działania przeciwgrzybiczego amfoterycyny jest szerokie, obejmuje drożdżaki, w tym również *Cryptococcus* oraz grzyby pleśniowe, w tym *Aspergillus*, *Mucor*, *Fusarium*, *Blastomyces* [6, 27–29]. Jest nieskuteczna w trichosporiozie i monosporiozie. Dobowa dawka w leczeniu zakażeń układowych to 0,5–1 mg/kg/d., w ciężkich przypadkach do 1,5 mg/kg/d. Penetracja do płynu mózgowo-rdzeniowego jest bardzo słaba, stąd w grzybicy ośrodkowego układu nerwowego lek powinno się podawać dokanałowo.

W trakcie leczenia amfoterycyną B może wystąpić wiele działań niepożądanych, co między innymi wiąże się z faktem, że lek ten łączy się również ze sterolami innych komórek, a nie tylko należącymi do ściany komórkowej grzyba. Podczas wlewu u niektórych chorych obserwowane są dreszcze, gorączkę, spadek ciśnienia tętniczego, czasem duszność. Najważniejszym działaniem niepożądanym, który występuje u prawie wszystkich chorych po dłuższym okresie leczenia, jest upośledzenie czynności nerek. Do innych należy uszkodzenie czynności wątroby, głęboka hipokaliemia i hipomagnezemia. Toksyczność amfoterycyny B znacząco ogranicza możliwość jej stosowania, zwłaszcza w terapii długotrwałej. Z tego powodu wprowadzono do leczenia preparaty li-

Tabela 2. Leki przeciwgrzybicze

Table 2. Antifungal drugs

Antybiotyki polienowe	Amfoterycyna B Amfoterycyna B liposomalna (AmBisome) Amfoterycyna B siarczan cholesterylu (Amphocil) Amfoterycyna B kompleks lipidowy (Abelcet) Nystatyna
Azole	Imidazole: ketokonazol Triazole: flukonazol, itrakonazol Nowe triazole (II generacja): worikonazol, posokonazol, rawukonazol
Antymetabolity	Flucytozyna
Kandyny	Kaspofungina Mikafungina Anidulafungina

pidowe amfoterycyny B. Ich działanie terapeutyczne jest identyczne jak formy konwencjonalnej, ale działania niepożądane są mniej nasilone, dotyczy to przede wszystkim nefrotoksyczności, co umożliwiła zastosowanie dawek wyższych [6, 27, 29–31]. Do preparatów lipidowych amfoterycyny B należy postać liposomalna (AmBisome), zawiesina koloidalna, czyli kompleks z siarczanem cholesterylu (Amphocil) oraz kompleks lipidowy (Abelcet). Liposomalną amfoterycynę B stosuje się w dawce 3 mg/kg/d., formę koloidalną amfoterycyny B — 3–6 mg/kg/d., a postać lipidową — 5 mg/kg/d. Spośród tych preparatów najmniej działań niepożądanych związanych z infuzją leku i nefrotoksycznością występuje po zastosowaniu postaci liposomalnej [27, 28].

Kolejną grupą leków przeciwgrzybiczych są azole, wprowadzone do terapii w latach 80. Zalicza się do nich ketokonazol, flukonazol oraz nowe pochodne, jak itrakonazol, worikonazol, rawukonazol i posakonazol. Mechanizm ich działania polega na hamowaniu syntezy ergosterolu w błonie komórkowej grzybów, co powoduje gromadzenie w komórce prekursorów ergosterolu i w efekcie uszkodzenie struktury i funkcji błony. Do azoli pierwszej generacji należy flukonazol i itrakonazol. Spektrum przeciwgrzybicze flukonazolu obejmuje drożdżaki z rodzaju *Candida*, w tym *C. albicans*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *C. lusitaniae* i *Cryptococcus*, nie działa natomiast na *C. krusei*, *C. glabrata*, grzyby pleśniowe z rodzaju *Aspergillus*, *Fusarium*, *Zygomycetes* [9, 28]. Flukonazol jest dostępny w formie pozajelitowej oraz doustnej, dobrze penetruje do tkanek, w tym do płynu mózgowo-rdzeniowego. Jest dobrze tolerowany, działania niepożądane występują rzadko, do najczęstszych należą zaburzenia ze strony przewodu pokarmowego i przejściowy wzrost stężenia enzymów wątrobowych. Stosuje się go w leczeniu zakażeń układowych wywołanych przez wrażliwe szczepy *Candida* i kryptokokowym zapaleniu opon mózgowo-rdzeniowych. Flukonazol jest najczęściej stosowanym lekiem w profilaktyce zakażeń grzybiczych u chorych z neutropenią i immunosupresją [3, 28, 31]. W ostatnich latach rośnie częstość zakażeń wywołanych przez odporne na flukonazol szczepy, w tym *C. krusei* i *C. glabrata* [15].

Itrakonazol jest aktywny wobec drożdżaków *Candida*, w tym również szczepów opornych na flukonazol, niektórych szczepów *Cryptococcus* oraz wobec grzybów pleśniowych z rodzaju *Aspergillus* [10, 28]. Podawany w formie tabletek wchłania się nierównomiernie, dlatego najlepszą formą leku jest zawiesina do podawania doustnego i ampułki do podawania dożylnego. Stosuje się go w dawce 200–400 mg/d. Objawy niepożądane leku obejmują nudności, bóle brzucha, biegunkę, przy leczeniu długotrwałym może wystąpić hypokaliemia, nefrotoksyczność, obrzęki, ponadto itrakonazol wchodzi w interakcje z innymi lekami. Stosuje się go w profilaktyce zakażeń inwazyjnych u chorych poddawanych in-

tensywnej terapii immunosupresyjnej, wykazuje on wyższą skuteczność w porównaniu z flukonazolem, w tym w profilaktyce zakażeń grzybami pleśniowymi, jednak toksyczność leczenia itrakonazolem jest również większa. Itrakonazol również stosuje się w leczeniu empirycznym chorych gorączkujących z neutropenią oraz jako kontynuację leczenia w zakażeniach *Aspergillus* [3, 30, 31].

Do grupy triazoli II generacji należy worikonazol, który jest pochodną flukonazolu o większym powinowactwie do enzymów hamujących syntezę ergosterolu w błonie komórkowej grzyba, przez co wykazuje szersze spektrum działania przeciwgrzybiczego, a doniesienia o oporności na lek są ograniczone. Jest aktywny wobec *Candida*, w tym także szczepów opornych na flukonazol, *Cryptococcus*, *Aspergillus*, *Fusarium*, *Scedosporium*, *Penicillium* [32, 33]. Wykazano większą aktywność worikonazolu wobec wielu gatunków grzybów pleśniowych w porównaniu z amfoterycyną B. Lek dobrze penetruje do tkanek, w tym do płynu mózgowo-rdzeniowego. Metabolizowany jest przez izoenzymy wątrobowego cytochromu P450, dlatego wchodzi w interakcje z innymi lekami metabolizowanymi w wątrobie. Ze względu na te interakcje, w tym z lekami immunosupresyjnymi, takimi jak cyklosporyna A, takrolimus, sirolimus, jego stosowanie u chorych po przeszczepieniu szpiku i narządów litych powinno być ograniczone. Do najczęściej występujących działań niepożądanych należą przejściowe zaburzenia widzenia, reakcje skórne i hepatotoksyczność [28, 34]. Zalecana dawka worikonazolu wynosi 400 mg co 12 godz. w pierwszej dobie, następnie 200 mg co 12 godz. Worikonazol jest zarejestrowany w leczeniu inwazyjnej aspergilozy, zakażeń wywołanych przez *Scedosporium spp.* i *Fusarium spp.* oraz w leczeniu opornych na flukonazol inwazyjnych zakażeniach *Candida*. Stosuje się go również w empirycznym leczeniu gorączkujących chorych z neutropenią [28, 32, 35].

Do tej grupy leków należy także posakonazol. Charakteryzuje się szerokim spektrum działania przeciwgrzybiczego, w tym wobec drożdżaków i pleśni opornych na amfoterycynę B czy echinokandyny. Jest dostępny tylko w formie zawiesiny doustnej. Działania niepożądane występują rzadko. Należą do nich nudności, wymioty, bóle głowy, wzrost aktywności enzymów wątrobowych, zmiany skórne. Należy zachować ostrożność przy jednoczesnym jego stosowaniu z lekami metabolizowanymi w wątrobie. W dotychczas przeprowadzonych badaniach wykazano jego skuteczność w profilaktyce grzybic układowych chorych z grupy dużego ryzyka, w leczeniu kandydozy przewodu pokarmowego, odpornej aspergilozy, fuzariozy i zygomikozy [3, 31, 35, 36].

Antymetabolitem o działaniu przeciwgrzybiczym jest flucytozyna (Ancotil), wprowadzona do lecznictwa w latach 70. Działa poprzez hamowanie syntezy DNA i RNA komórek grzybów. Flucytozynę najczęściej stosuje się w połączeniu z amfoterycyną B lub z flukonazo-

lem, z którymi wykazuje synergizm działania przeciwgrzybiczego [29]. Jednymi z ważniejszych działań niepożądanych flucytozyny są mielosupresja i hepatotoksyczność, dlatego zastosowanie jej we wskazaniach hematologicznych wymaga szczególnej ostrożności.

Przedstawicielem nowej grupy leków przeciwgrzybiczych — echinokandyn — jest kaspofungina. Mechanizm jej działania polega na hamowaniu syntezy β -D-glukanu stanowiącego składnik ściany komórkowej grzybów, przez co komórka traci swą integralność i ulega lizie. Spektrum działania obejmuje drożdżaki z rodzaju *Candida*, w tym odporne na azole grzyby pleśniowe z rodzaju *Aspergillus*, *Coccidioides*, niektóre gatunki *Scedosporium* [9, 28]. Kaspofungina nie wchłania się z przewodu pokarmowego i dostępna jest tylko w formie do podawania dożylnego. Źle penetruje do tkanek i płynu mózgowo-rdzeniowego. Działania niepożądane w czasie leczenia występują rzadko, najczęściej jest to gorączka, zapalenie żył, bóle głowy. Dawka kaspofunginy to 70 mg w pierwszej dobie leczenia, następnie podaje się 50 mg/d. Kaspofungina jest zarejestrowana w leczeniu inwazyjnej kandydozy u dorosłych chorych, w leczeniu inwazyjnej aspergilozy u pacjentów, u których występuje oporność lub nietolerujących wcześniejszego leczenia oraz w empirycznym leczeniu gorączkujących chorych z neutropenią. Zwraca uwagę brak interakcji kaspofunginy z lekami metabolizowanymi przez wątrobowy cytochrom P450, dlatego chętnie stosuje się ją u chorych wymagających jednoczesnego podawania leków immunosupresyjnych po przeszczepieniu narządów [28, 30, 37].

Strategie leczenia przeciwgrzybiczego

Wysoka częstość występowania inwazyjnych zakażeń grzybiczych i duża śmiertelność u chorych z immunosupresją spowodowały pojawienie się nowych strategii postępowania w profilaktyce i leczeniu. Opcje terapeutyczne obejmują leczenie profilaktyczne, wyprzedzające, empiryczne i leczenie rozpoznanego zakażenia grzybiczego (tab. 3). Wybór właściwej opcji powinien być

oparty na wnikliwej ocenie ryzyka wystąpienia zakażenia grzybiczego w danym przypadku, wynikach badań diagnostycznych przeprowadzanych w celu wczesnej identyfikacji zakażenia i uwzględnieniu toksyczności leków przeciwgrzybiczych [8, 10, 29].

Profilaktykę przeciwgrzybiczą stosuje się w celu zmniejszenia ryzyka wystąpienia inwazyjnego zakażenia grzybiczego u osób bez objawów zakażenia, poddanych intensywnej chemio- lub immunoterapii [3, 5, 10]. Nie zaleca się rutynowego leczenia profilaktycznego u wszystkich chorych w okresie immunosupresji, lecz powinno się je stosować u pacjentów z grupy wysokiego ryzyka. Szerokie stosowanie profilaktyki stanowi bowiem duże ryzyko rozwoju szczepów opornych. Profilaktyka pierwotna dotyczy osób bez uprzednio stwierdzonego zakażenia i powinna być włączona wraz z leczeniem immunosupresyjnym [5]. Wtórna profilaktyka odnosi się do chorych z rozpoznaniem zakażenia grzybiczym w przeszłości i powinna być rozpoczęta przed leczeniem immunosupresyjnym. Metaanalizy badań dotyczących profilaktycznego podawania leków przeciwgrzybiczych wykazały, że leczenie profilaktyczne zmniejsza częstość występowania zakażeń inwazyjnych, śmiertelność z powodu grzybic oraz śmiertelność całkowitą [3, 31]. Korzystny wpływ leczenia profilaktycznego najbardziej widoczny jest w grupie chorych leczonych za pomocą przeszczepienia allogenicznego komórek macierzystych, także u chorych leczonych chemioterapią z powodu ostrych białaczek. W profilaktyce przeciwgrzybiczej najczęściej stosowano flukonazol, itrakonazol, a w ostatnich latach posakonazol [3, 13, 31, 35]. Obecnie profilaktyczne leczenie przeciwgrzybicze zaleca się u pacjentów poddanych allogenicznemu przeszczepieniu macierzystych komórek krwiotwórczych, u chorych na ostre białaczki w fazie leczenia indukującego remisję i w okresie dużego ryzyka wystąpienia grzybicy układowej. Nie zaleca się leczenia profilaktycznego u chorych poddanych autotransplantacji i leczonych z powodu guzów litych. W profilaktyce przeciwgrzybiczej zaleca się stosowanie flukonazolu, itrakonazolu (zawiesiny doustnej lub dożylnie) i posakonazolu [3, 5, 31, 35, 36]. Przy wyborze leku należy uwzględnić epidemiologię zakażeń w danym

Tabela 3. Strategie leczenia przeciwgrzybiczego

Table 3. Strategies of antifungal treatment

Rodzaj leczenia	Wskazania
Leczenie profilaktyczne	Chorzy bez objawów z grupy wysokiego ryzyka
Leczenie empiryczne	Kliniczne objawy niewykluczające zakażenia grzybiczego
Leczenie wyprzedzające	Kliniczne objawy i/lub wyniki badań dodatkowych sugerujące obecność zakażenia grzybiczego
Leczenie celowane	Potwierdzone badaniami dodatkowymi zakażenie o etiologii grzybiczej

ośrodka, spektrum działania, objawy niepożądane, interakcje z innymi lekami i koszt terapii. Leczenie profilaktyczne powinno być stosowane do czasu ustąpienia czynników ryzyka zakażenia, w tym przede wszystkim do czasu rekonstrukcji hematologicznej [5].

Wysoka częstość i śmiertelność z powodu układowych zakażeń grzybiczych u chorych w stanie immunosupresji spowodowały wprowadzenie przed laty strategii leczenia empirycznego. Jest to włączenie leczenia przeciwgrzybiczego u chorych gorączkujących mimo antybiotykoterapii w stanie immunosupresji, przede wszystkim z neutropenią z innymi objawami zakażenia lub bez nich, bez udowodnionej etiologii grzybiczej [5, 6, 8]. U chorych tych istnieje duże prawdopodobieństwo rozwoju grzybicy narządowej, stanowiącej zagrożenie dla życia. Wczesne włączenie leczenia przeciwgrzybiczego zmniejsza częstość grzybic narządowych i śmiertelność z ich powodu. Zgodnie z zaleceniami Amerykańskiego Towarzystwa Chorób Zakaźnych wskazane jest rozpoczęcie leczenia przeciwgrzybiczego u pacjentów z neutropenią, u których gorączka utrzymuje się 5 dni lub dłużej pomimo szerokowidmowej antybiotykoterapii [38]. W indywidualnych przypadkach uzasadnione jest wcześniejsze lub późniejsze zastosowanie tej grupy leków lub też zaniechanie leczenia przeciwgrzybiczego. W leczeniu empirycznym od wielu lat metodą referencyjną było zastosowanie amfoterycyny B, jednak jej ograniczeniem jest znaczna nefrotoksyczność oraz interakcje z innymi lekami, co w efekcie zwiększa sumaryczne koszty i pogarsza ostateczne wyniki terapii. W ostatnich latach do leczenia empirycznego wprowadzono nowe leki o większej lub porównywalnej skuteczności i zdecydowanie mniejszej toksyczności. Są to lipidowe postaci amfoterycyny B, pochodne azolowe, jak flukonazol, itrakonazol, worikonazol, kaspofungina i posakonazol [6, 8, 27, 31, 35, 39]. Flukonazolu nie powinno się stosować u chorych, u których uprzednio podawano go profilaktycznie, jak też u pacjentów, u których istnieje prawdopodobieństwo zakażenia grzybami pleśniowymi. Itrakonazol i worikonazol wykazały skuteczność porównywalną do amfoterycyny B w leczeniu empirycznym. Ponieważ azole hamują enzymy cytochromu P450, powinno się je ostrożnie stosować u chorych przyjmujących inne leki metabolizowane w wątrobie, w tym leki immunosupresyjne [40].

Strategia empirycznego leczenia przeciwgrzybiczego ma również niekorzystne strony. Nie u wszystkich chorych w okresie neutropenii gorączka spowodowana jest zakażeniem grzybiczym, a pacjenci narażeni zostają na toksyczne, długotrwałe i kosztowne leczenie. Dlatego też w ostatnich latach wprowadzono strategię leczenia wyprzedzającego, która zawęża grupę chorych poddanych terapii przeciwgrzybiczej. Opiera się ona na wynikach badań dodatkowych, bez pełnoobjawowego obrazu klinicznego, w tym tomografii komputerowej wysokiej roz-

dzielczości, obecności antygenów grzybiczych w surowicy (galaktomannanu i/lub glukanu) i/lub obecności grzybów stwierdzanych metodami molekularnymi (PCR). Dodatkowo wyniki powyższych badań u chorych w okresie immunosupresji, zwłaszcza z neutropenią i gorączkujących, stanowią wskazanie do włączenia terapii przeciwgrzybiczej [5, 6, 39]. Leczenie wyprzedzające ogranicza grupę leczonych chorych do przypadków najbardziej uzasadnionych. W leczeniu wyprzedzającym stosuje się takie leki jak w leczeniu empirycznym, wymienione powyżej.

Podstawą wyboru optymalnego leczenia rozpoznanego zakażenia grzybiczego powinien być rodzaj patogenu, stopień zaawansowania zakażenia, stan immunosupresji chorego, współistniejące choroby i dysfunkcje narządowe oraz uwzględniać toksyczność leków przeciwgrzybiczych. Wytyczne leczenia zakażeń wywołanych przez drożdżaki i grzyby pleśniowe przedstawiono w tabelach 4 i 5. W terapii inwazyjnej kandydozy leczeniem pierwszej linii powinna być kaspofungina lub lipidowa postać amfoterycyny B, a w przypadkach mniej nasilonej neutropenii — flukonazol. W leczeniu układowej aspergilozy lekiem z wyboru powinien być worikonazol, a w przypadku przeciwwskazań do jego stosowania, nietolerancji lub nieskuteczności — lipidowa postać amfoterycyny B lub kaspofungina [5, 8, 13, 25, 27, 30, 34, 37, 39]. Leczenie przeciwgrzybicze powinno się kontynuować do czasu ustąpienia objawów zakażenia, uzyskania negatywnych wyników badań w kierunku obecności zakażenia, wzrostu liczby neutrofilów do wartości $> 2 \times G/l$, liczby $CD4^+$ $> 0,4 \times G/l$ lub zakończenia leczenia immunosupresyjnego [30].

Leczenie wspomagające

U chorych z kandydemią wskazane jest usunięcie cewnika założonego do żyły głównej. W przypadku izolowanej, narządowej aspergilozy należy rozważyć chirurgiczne usunięcie zmiany. Wyniki opublikowanych badań nie wykazały istotnego znaczenia stosowania krwiotwórczych czynników wzrostu w leczeniu inwazyjnej aspergilozy u chorych z neutropenią. Wykazano natomiast znamienne korzystny wpływ profilaktycznego stosowania czynników wzrostu, takich jak czynnik stymulujący tworzenie kolonii granulocytów (G-CSF, *granulocyte colony-stimulating factor*) lub czynnik stymulujący tworzenie kolonii granulocytów i makrofagów (GM-CSF, *granulocyte macrophage colony-stimulating factor*) w zapobieganiu rozwojowi zakażeń zarówno bakteryjnych, jak i grzybiczych u chorych z grupy wysokiego ryzyka w okresie neutropenii [21, 25, 30]. Stosowanie przetoczeń koncentratów granulocytarnych u tych pacjentów jest wciąż eksperymentalną metodą postępowania [21, 39].

Tabela 4. Leczenie zakażeń wywołanych przez drożdżaki [4]

Table 4. Therapy of yeast infection [4]

Kandydoza jamy ustnej i gardła	Amfoterycyna B w roztworze Nystatyna w roztworze Przy niepowodzeniu leczenia miejscowego: flukonazol lub itraconazol doustnie Przy braku poprawy: dożylnie worikonazol lub kaspofungina lub amfoterycyna B w dawce 0,3–0,5 mg/kg/d.
Kandydoza przetyku	Flukonazol lub itraconazol doustnie Przy niepowodzeniu: dożylnie worikonazol lub kaspofungina lub amfoterycyna B w dawce 0,5 mg/kg/d.
Kandydemia	Flukonazol w dawce 400–800 mg/d. (u chorych stabilnych, bez uprzedniej profilaktyki flukonazolem, bez wykazanej etiologii <i>C.krusei</i> lub <i>C.glabrata</i>) Kaspofungina lub amfoterycyna B w dawce minimum 0,7 mg/kg/d. lub postać lipidowa amfoterycyny B
Kandydoza wątrobowo-śledzionowa	Flukonazol w dawce 400–800 mg/d. lub kaspofungina lub amfoterycyna B w dawce 0,7–1 mg/kg/d. lub worikonazol lub postać lipidowa amfoterycyny B
Kryptokokoza	Amfoterycyna B w dawce 0,7 mg/kg/d. i 5-flucytozyna w dawce 150 mg/kg/d. lub flukonazol w dawce minimum 800 mg/d.

Tabela 5. Leczenie zakażeń wywołanych przez grzyby pleśniowe [4]

Table 5. Therapy of mould infections [4]

Aspergiloza płucna	Worikonazol dożylnie, następnie doustnie lub amfoterycyna B w dawce 1–1,5 mg/kg/d., kontynuacja leczenia itraconazolem lub lipidowa postać amfoterycyny B w dawce 3–5 mg/kg/d. lub kaspofungina lub itraconazol
Aspergiloza o innej lokalizacji	Leczenie jak wyżej oraz o ile możliwa, interwencja chirurgiczna
Zygomikoza	Amfoterycyna B w dawce 1–1,5 mg/kg/d. lub lipidowe postaci amfoterycyny B w dużych dawkach

Podsumowanie

W ostatnich latach obserwuje się stały wzrost częstości występowania układowych zakażeń grzybiczych. Są to zakażenia oportunistyczne, stąd najbardziej zagrożeni rozwojem grzybicy, z wysoką śmiertelnością w przebiegu zakażenia, są chorzy w stanie immunosupresji. Grupę najwyższego ryzyka stanowią pacjenci z nowotworami układu krwiotwórczego, poddani intensywnej chemo- i radioterapii, a także z innych powodów wymagający przewlekłej immunosupresji. Układowe zakażenia wywołane są najczęściej przez grzyby z rodzaju *Candida* i *Aspergillus*. W ostatnich latach zwiększa się częstość zakażeń wywołanych przez szczepy odporne oraz inne rodzaje grzybów, uznawane uprzednio za mało szkodliwe. W diagnostyce grzybic układowych zakres badań dodatkowych cały czas zwiększa się, jednak w znacznej części przypadków rozpoznanie przysparza wielu trudności i nie jest możliwe jego jednoznaczne ustalenie.

Ze względu na dużą zachorowalność i śmiertelność spowodowane zakażeniami grzybiczymi u chorych z upośledzeniem odporności leczenie przeciwgrzybicze może być stosowane w formie profilaktycznej, empirycznej, wyprzedzającej lub celowanej. Leczenie profilaktyczne powinno się rozpoczynać u pacjentów z grupy najwyższego ryzyka. Leczenie empiryczne jest wskazane u chorych z neutropenią i gorączkujących pomimo podawania antybiotyków o szerokim spektrum działania, nawet bez klinicznych i laboratoryjnych cech grzybicy. Leczenie wyprzedzające jest terapią stosowaną u gorączkujących chorych z neutropenią, u których na podstawie obrazu klinicznego i/lub wyników badań dodatkowych można podejrzewać wczesną fazę zakażenia grzybiczego. Terapię celowaną rozpoczyna się w przypadkach ustalonego za pomocą badań dodatkowych zakażenia grzybiczego. Podstawą wyboru optymalnego leczenia przeciwgrzybiczego powinien być rodzaj patogenu i rozległość zmian zapalnych oraz powinien on uwzględniać toksyczność i interakcje leków przeciwgrzybiczych.

Piśmiennictwo

1. Clark T.A., Hajjeh R.A. Recent trends in the epidemiology of invasive mycoses. *Curr. Opin. Infect. Dis.* 2002; 15: 569–574.
2. Dignani M.C., Anaissie E. Human fusariosis. *Clin. Microbiol. Infect.* 2004; 10 (supl.): 167–175.
3. Maertens J. Evaluating prophylaxis of invasive fungal infections in patients with haematologic malignancies. *E. J. Haematol.* 2007; 78: 275–282.
4. Mühlemann K., Wenger C., Zenhäusern R. i wsp. Risk factors for invasive aspergillosis in neutropenic patients with hematologic malignancies. *Leukemia* 2005; 19: 545–550.
5. Bow B.J. Of Yeasts and Hyphae: A hematologist's approach to antifungal therapy. *ASH Education Program Book Hematology* 2006; 361–367.
6. Martino R, Viscoli C. Empirical antifungal therapy in patients with neutropenia and persistent or recurrent fever of unknown origin. *B. J. Haematol.* 2005; 132: 138–154.
7. Wingard J.R. New approaches to invasive fungal infections in acute leukemia and hematopoietic stem cell transplant patients. *Best Pract. Research Clin. Haematol.* 2007; 20: 99–107.
8. Perfect J.R., Marr K.A., Walsh T.J. i wsp. Voriconazole treatment for less-common, emerging, or refractory fungal infection. *Clin. Infect. Dis.* 2003; 36: 1122–1131.
9. Dzierżanowska D., Dąbkowska M., Garczewska B. Patomechanizm i obraz kliniczny zarażeń grzybiczych. W: *Grzybnice narządowe. Medycyna Praktyczna, Kraków* 2003: 7–12.
10. Mahfouz T.H., Anaissie E.J. Invasive Fungal Infections: New developments in prevention, diagnosis and management. *Hematology (Am. Soc. Hemat. Educ. Program)* 2003: 445–469.
11. Fukuda T., Boeckh M., Carter R.A. i wsp. Risk and outcomes of invasive fungal infections in recipients of allogeneic hematopoietic stem cell transplants after nonmyeloablative conditioning. *Blood* 2003; 102: 827–833.
12. Hong W., Wen H., Liao W. Fungal infection in organ transplant patients. *Chin. Med. J.* 2003; 116:1421–1425.
13. Wingard J.R., Leather H. A new era of antifungal therapy. *Biol. Blood Marrow Transplant.* 2004; 10:73–90.
14. Asmundsdottir L.R., Erlendsdottir H., Gottfredsson M. Increasing incidence of candidemia: Results from a 20-year nationwide study in Iceland. *J. Clin. Microbiol.* 2002; 40: 3489–3492.
15. Pfaller M.A., Jones R.N., Doern G.V. i wsp. International surveillance of bloodstream infections due to *Candida* species: Frequency of occurrence and antifungal susceptibilities of isolates collected in 1997 in the United States, Canada, and South America for the SENTRY program. *J. Clin. Microbiol.* 1998; 36:1886–1889.
16. Safdar A., Chaturvedi V., Cross E.W. i wsp. Prospective study of *Candida* species in patients at a comprehensive cancer center. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2001; 45: 2129–2133.
17. Rex J.H., Walsh T.J., Sobel J.D. i wsp. Practice guidelines for the treatment of candidiasis. *Clin. Infect. Dis.* 2000; 30: 662–678.
18. Erer B., Galimberti M., Lucarelli G. i wsp. *Trichosporon beigelli*: a life-threatening pathogen in immunocompromised hosts. *Bone Marrow Transplant.* 2000; 25: 745–749.
19. Pagano L., Ricci P., Tonso A. i wsp. Mucormycosis in patients with haematological malignancies: a retrospective clinical study of 37 cases. *Br. J. Haematol.* 1997; 99: 331–336.
20. Marr K.A. New approaches to invasive fungal infections. *Curr. Opin. Hematol.* 2003; 10: 445–450.
21. Safdar A. Difficulties with fungal infections in acute myelogenous leukemia patients: immune enhancement strategies. *Oncologist* 2007; 12 (supl. 2): 2–6.
22. Yeo S.F., Wong B. Current status of nonculture methods for diagnosis of invasive fungal infection. *Clin. Microbiol. Rev.* 2002; 15: 465–484.
23. Dzierżanowska D., Dąbkowska M., Garczewska B. Diagnostyka zarażeń grzybiczych. W: *Grzybnice narządowe. Medycyna Praktyczna, Kraków* 2003: 13–20.
24. Pachó R.A., Zdunek P., Michalak M. i wsp. Znaczenie badań obrazowych w rozpoznawaniu zakażeń grzybiczych u chorych z niewydolnym układem odpornościowym. *Zakażenia* 2005; 5: 12–18.
25. Perfect J.R. Use of newer antifungal therapies in clinical practice: what do the data tell us? *Oncology* 2004; 18 (supl.): 15–23.
26. Maertens J., Verhaeghe J., Legrou K. i wsp. Screening for cirulation galactomannan as a noninvasive diagnostic tool for invasive aspergillosis in prolonged neutropenic patients and stem cell transplantation recipients: a prospective study. *Blood* 2001; 97: 1604–1610.
27. Dupont B. Overview of the lipid formulations of amphotericin B. *J. Antimicrob. Chemother.* 2002; 49: 31–36.
28. Dzierżanowska D. Leki przeciwgrzybicze stosowane w leczeniu grzybnicy układu. W: *Zakażenia grzybnicy — wybrane zagadnienia. α-medica Press, Bielsko-Biała* 2006: 92–125.
29. Rizzato G. Zakażenia grzybnicy u pacjentów po przeszczepie: rola liposomalnej postaci Amfoterycyny B w erze nowych leków przeciwgrzybnicych. *Sarcoidosis Vasc. Lung Dis.* 2004; 21 (supl. 1): 3–20.
30. Wingard J.R. New treatments for invasive fungal infections in patients with hematological malignancies. *ASH Education Program Book, Hematology* 2007; 372–379.
31. Walsh T.J., Finberg R.W., Arndt C. i wsp. Liposomal amphotericin B for empirical therapy in patients with persistent fever and neutropenia. *N. Engl. J. Med.* 1999; 340: 764–771.
32. Jau L., Piacenti F.J., Lyakhovetskiy A.G., Fung H.B. Voriconazole. *Clin. Ther.* 2003; 25: 1321–1381.
33. Perfect J.R., Marr K.A., Walsh T.J. i wsp. Voriconazole treatment for less-common, emerging, or refractory fungal infection. *Clin. Infect. Dis.* 2003; 36: 1122–1131.
34. Herbrecht R., Denning D.W., Patterson T.F. i wsp. Voriconazole versus amphotericin B for primary treatment of invasive aspergillosis. *N. Engl. J. Med.* 2002; 347: 408–415.
35. Walsh T.J., Pappas P., Winston D.J. i wsp. Voriconazole compared with liposomal amphotericin B for empirical antifungal therapy in patients with neutropenia and persistent fever. *N. Engl. J. Med.* 2002; 346: 225–234.
36. Keating G.M. Posaconazole. *Drugs* 2005; 11: 1553–1567.
37. Maertens J. Caspofungin: an advanced treatment approach for suspected or confirmed invasive aspergillosis. *Int. J. Antimicrob. Agents* 2006; 27: 457–467.
38. Hughes W.T., Armstrong D., Bodey G.P. i wsp. 2002 Guidelines for the Use of Antimicrobial Agents in Neutropenic Patients with Cancer. *Clin. Infect. Dis.* 2002; 34: 730–751.
39. Böhme A., Ruhnke M., Buchheidt D. i wsp. Treatment of fungal infections in hematology and oncology. *Ann. Hematol.* 2003; 82 (supl. 2): 133–140.
40. Walsh T.J., Teppler H., Donowitz G.R. i wsp. Caspofungin versus liposomal amphotericin B for empirical antifungal therapy in patients with persistent fever and neutropenia. *N. Engl. J. Med.* 2004; 351: 1391–1402.