

Kryptokokoza u psów – objawy kliniczne, diagnostyka i leczenie

Sebastian Gnat, Dominik Łagowski

z Zakładu Mikrobiologii Instytutu Przedklinicznych Nauk Weterynaryjnych Wydziału Medycyny Weterynaryjnej w Lublinie

Cryptococcosis in dogs – clinical signs, diagnosis, and treatment

Gnat S., Łagowski D., Sub-Department of Microbiology, Institute of Preclinical Veterinary Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, University of Life Sciences in Lublin

Cryptococcosis is a systemic mycotic disease of animals and people worldwide, caused by an encapsulated yeast species of the genus *Cryptococcus*, which have a predilection for the nervous and respiratory systems. The majority of infections in dogs, are caused by *Cryptococcus neoformans* and *Cryptococcus gattii*. In contrast to cats, which frequently develop localized nasal or cutaneous disease, dogs more commonly experience systemic dissemination of the infection, resulting in a life-threatening illness. Hence, these dogs are frequently presented to emergency and critical care veterinarians. The aim of this article is to update veterinarians, that evaluate critically ill dogs, on recent research in the epidemiology, pathogenesis, clinical presentations, diagnosis, treatment, and public health considerations of cryptococcosis. The majority of dogs with cryptococcosis are purebred dogs, aged less than 6 years, but the disease can occur at any age. There is no sex predisposition. Clinical signs depend on the sites of infection, but frequent involvement of critical organs such as the CNS, eyes, gastrointestinal tract, myocardium, adrenal glands, and pancreas, is reported. The most commonly used antifungal drugs are azoles. Treatment must be continued for at least 6 months and often for over a year after diagnosis. The prognosis for canine cryptococcosis is variable and depends upon disease severity, the cryptococcal strain, host immunity, and also on the financial capabilities of the owner.

Keywords: *Cryptococcus*, dogs, epidemiology, diagnosis, treatment.

Kryptokokoza (zwana również torulozą) to potencjalnie śmiertelna choroba grzybicza zwierząt i ludzi występująca na całym świecie, wywoływana przez drożdże z rodzaju *Cryptococcus* (1). Grzyby te mają szczególne powinowactwo do układu nerwowego i oddechowego (1, 2). Czynnikiem etiologicznym większości zakażeń u psów są gatunki *Cryptococcus neoformans* i *Cryptococcus gattii* (3). W przeciwieństwie do kotów, u których rozwijają się kryptokokozy miejscowe ograniczone do okolic nosa lub zakażeń skóry, u psów częściej notowane są zakażenia ogólnoustrojowe o przebiegu zagrażającym życiu.

Niniejszy przegląd literatury ma na celu scharakteryzowanie objawów klinicznych, metod diagnostyki i terapii zakażeń powodowanych przez *Cryptococcus* spp. u psów. W artykule przedstawione są wyniki najnowszych badań dotyczących epidemiologii, patogenez, objawów klinicznych, metod diagnostycznych oraz skutecznych antymykotyków w kontekście kryptokokozy u psów.

Ekologia i epidemiologia

Anamorficzny rodzaj grzybów *Cryptococcus* obejmuje drożdże podstawkowe, z których większość to saprofity środowiskowe niepowodujące zakażeń u ludzi ani zwierząt. Dotychczas opisano 37 gatunków grzybów z tego rodzaju, spośród których dwa, tj. *C. neoformans* i *C. gattii* powodują zdecydowaną większość zakażeń u psów. Choroby wywoływane przez inne gatunki *Cryptococcus*, takie jak *C. laurentii*, *C. albidus*, *C. curvatus*, *C. uniguttulatus* oraz *C. adeliensis*, opisywano sporadycznie, przeważnie u gospodarzy z obniżoną odpornością (1, 4). *C. neoformans* jest dalej klasyfikowany w dwóch odmianach: *C. neoformans* var. *grubii*, występujący na całym świecie i *C. neoformans* var. *neoformans*, który występuje głównie w Ameryce Południowej i Europie (5).

Cryptococcus neoformans i *C. gattii* różnią się zasadniczo pod względem ekologicznym; pierwszy wymieniony gatunek jest izolowany głównie z odchodów ptaków, które zawierają substancje bogate w azot, podczas gdy *C. gattii* jest związany z drzewami eukaliptusowymi oraz bytowaniem koali żerujących na tych drzewach (1). Grzyby z tego rodzaju mogą przetrwać w środowisku naturalnym latami, m.in. w gołębnikach, gdzie niesprzątane odchody są chronione przed światłem słonecznym i wysychaniem. Inne ptaki, zwłaszcza ary, papugi i łabędzie, również mogą być nosicielami *C. neoformans* (6, 7). Ponadto gatunek ten został znaleziony w dziuplach drzew z rozkładającą się materią roślinną (8). Doniesienia naukowe wskazują natomiast, że *C. gattii* może występować w powietrzu, wodzie słodkiej i morskiej oraz w korze drzew różnych gatunków, zwłaszcza daglezi zielonej (*Pseudotsuga menziesii*; 9, 10). Ponadto udowodniono, że mechaniczne transmisje *C. gattii* możliwe są również poprzez buty i opony samochodowe (11). Przed 1999 r. zakażenia *C. gattii* występowały najczęściej w klimacie tropikalnym i subtropikalnym. Od tego czasu zasięg geograficzny *C. gattii* rozszerzył się na regiony północno-zachodniego Pacyfiku (12). Rosnące rozpowszechnienie tego gatunku może być związane z postępującymi zmianami klimatu, zmienionym użytkowaniem gruntów i zwiększoną podatnością żywicieli. Co więcej, znaczące różnice stwierdzono także w chorobotwórczości, podczas gdy *C. neoformans* infekuje głównie pacjentów z obniżoną odpornością, *C. gattii* może być czynnikiem etiologicznym zakażeń u osobników immunokompetentnych (1, 13). Warto zauważyć, że drożdże z rodzaju *Cryptococcus* zostały wyizolowane od zdrowych gryzoni, co może wskazywać na potencjalny, słabo przebadany rezerwuar tych patogenów (14).

Objawy kliniczne u psów

Większość psów z kryptokokozą to psy rasowe, młodsze niż 6-letnie (11, 15). Nie jest to jednak regułą, choroba może wystąpić w każdym wieku. Nie ma również predyspozycji dotyczących płci (16). W literaturze naukowej występują doniesienia dotyczące predyspozycji rasowych, podawane jest, że cocker spaniele z kryptokokożą stanowią aż 29% wszystkich przypadków opisywanych u psów, a prawdopodobieństwo zachorowania dla psów tej rasy jest 16 razy wyższe w porównaniu z innymi rasami (16). Inne rasy o wysokiej prewalencji kryptokokozy to doberman i owczarki niemieckie (17, 18). Molekularne mechanizmy wyjaśniające predyspozycje rasowe do kryptokokozy nie zostały jeszcze wyjaśnione. Prawdopodobnie związane są z nierozpoznanymi chorobami immunosupresyjnymi (16).

Objawy kliniczne kryptokokozy zależą od pierwotnego miejsca zakażenia, stosunkowo częste jest zajęcie narządów wewnętrznych, takich jak ośrodkowy układ nerwowy (OUN), oczy, przewód pokarmowy, mięsień sercowy, nadnercza i trzustka (3). U ponad 80% psów notowane jest zajęcie OUN (19). Psy rasy cocker spaniel są szczególnie podatne na rozległe zajęcie przez *Cryptococcus* spp. wielu narządów wewnętrznych (16). Nieswoiste objawy kliniczne, takie jak apatia, utrata masy ciała i brak apetytu są częste u psów z rozsianą kryptokokożą (16). Natomiast objawy neurologiczne wynikają z zapalenia opon mózgowo-rdzeniowych i mogą być miejscowe lub wielogniskowe. Obejmują zmianę behawioru zwierzęcia, oczopląs, przechylenie głowy, krążenie wokół własnej osi, niedowłady, paraplegię, tetraplegię, ataksję, drgawki i przeczulice (2, 19). Grzyby uzyskują dostęp do OUN przez blaszkę sitową we wcięciu kości czołowej poprzez opuszkę węchową i/lub drogą krwionośną (2). Uważa się, że infiltracja kosmków pajęczynówki przez drożdże prowadzi do upośledzenia przepływu płynu mózgowo-rdzeniowego i wzrostu ciśnienia wewnątrzczaszkowego, co skutkuje zmianą poziomu świadomości i może wyjaśniać nagłe pojawienie się objawów neurologicznych (3). Objawy te są pierwszym obserwowalnym klinicznie stadium choroby u 57% psów z kryptokokożą OUN. U pozostałych 43% psów objawy nieneurologiczne, takie jak brak apetytu, wymioty, utrata masy ciała i objawy ze strony górnych dróg oddechowych, poprzedzały rozwój objawów neurologicznych aż do czterech miesięcy (2). Zajęcie oczu, które obejmuje zapalenie nerwu wzrokowego lub ropniakowate zapalenie błony naczyniowej i siatkówki, często towarzyszy neurologicznej postaci kryptokokozy u psów. Zajęcie oczu występuje u 42% psów z kryptokokożą oraz 32% z jednoczesnym zajęciem OUN (16). Opisane są również uogólnione lub ogniskowe zmiany w obrębie siatkówki, zapalenie błony naczyniowej oka, obrzęk rogowki, krwotok do komory przedniej oka lub zmiany pozagałkowe (19).

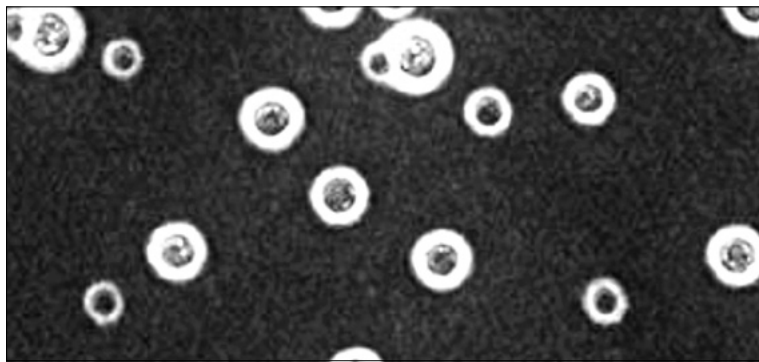
Wymioty w przebiegu kryptokokozy opisano u 16% psów i są one wynikiem zajęcia takich narządów jak trzustka i wątroba. Wyniki USG jamy brzusznej wskazują wówczas na powiększenie węzłów chłonnych, powiększenie nerek lub trzustki, wielogniskowe

zgrubienia przewodu pokarmowego i wodobrzusze (16). Zajęcie klatki piersiowej jest mniej powszechne u psów z kryptokokożą. Przyspieszony oddech odnotowano tylko u 3% psów. Zmiany w obrazie radiograficznym klatki piersiowej obejmują wielogniskowe nacieki śródmiąższowe, poszerzenie śródpiersia z powodu powiększenia węzłów chłonnych, wysięk w opłucnej, guzy i wielogniskowe nacieki pęcherzykowe (16). Rzadko dochodzi do zmian w kościach długich, stawach lub mięśniach (19).

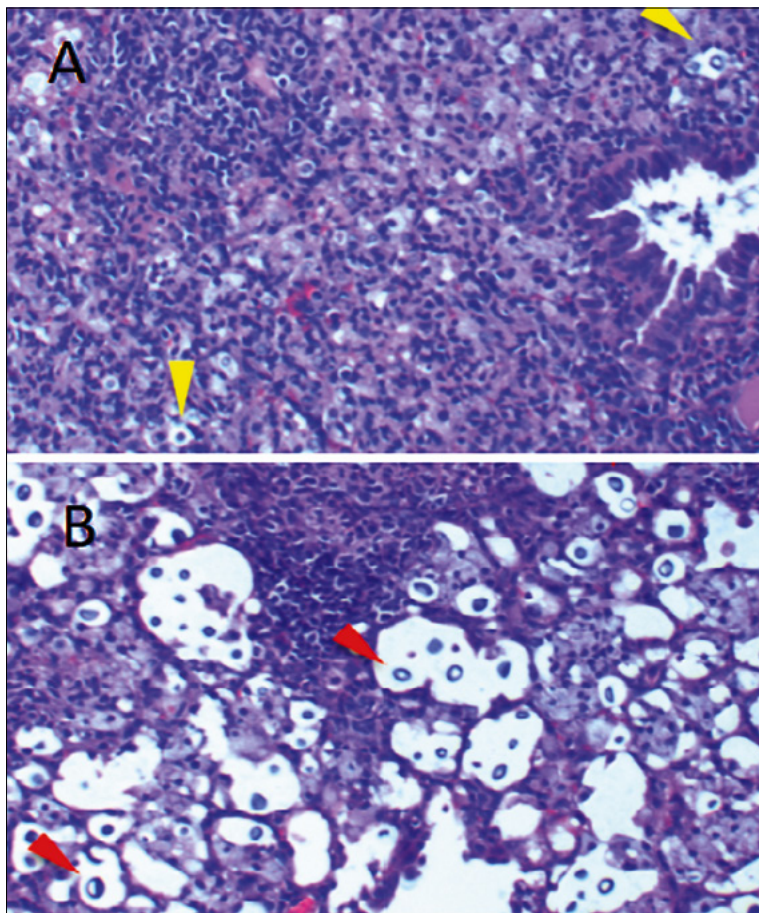
W niektórych przypadkach duże nagromadzenie komórek drożdży z rodzaju *Cryptococcus* może prowadzić do powstawania u psów zmian ogniskowych, błędnie diagnozowanych jako nowotwory. U psów zmiany te występują w jamie nosowej, zwykle w części nosowo-gardłowej i mogą wiązać się z brakiem objawów klinicznych bądź łagodnymi objawami w postaci wydzieliny z nosa, kichania lub oddychania z otwartą jamą ustną (20). Ogniska drożdży *Cryptococcus* w obrębie jamy nosowej mogą prowadzić do zniszczenia kości czaszki, co widoczne jest w tomografii komputerowej (21). Psy immunokompetentne zakażone *C. gattii* mają zwykle zmiany ziarniniakowe w płucach, w przeciwieństwie do psów z immunosupresją zakażonych *C. neoformans*, u których występuje choroba rozsiana bez tworzenia się zmian płucnych (22). Zatem możliwe jest, że objawy choroby u psów różnią się w zależności zarówno od stanu immunologicznego gospodarza, jak również gatunku *Cryptococcus*, będącego czynnikiem etiologicznym zakażenia.

Diagnostyka zakażenia

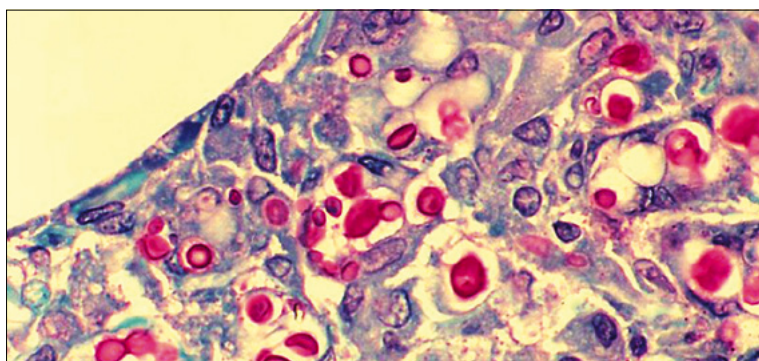
Lekarze weterynarii najczęściej prowadzą diagnostykę kryptokokozy u psów, u których występuje nagłe zaostrzenie nierozpoznanego dotąd zakażenia. U tych psów w badaniu klinicznym można stwierdzić objawy nieswoiste żołądkowo-jelitowe lub neurologiczne. Ostateczną diagnozę można postawić na podstawie wykazania obecności drożdży *Cryptococcus* w badaniu cytologicznym i/lub histopatologicznym albo uzyskując kulturę grzyba (3). Możliwe jest również wykrycie antygenów grzybiczych w płynach ustrojowych. Ze względu na ogólnoustrojowy charakter zakażenia u psów analiza krwi i moczu, radiografia klatki piersiowej i USG jamy brzusznej pomagają zlokalizować ziarniniaki, które można pobrać do badania cytologicznego lub histopatologicznego (16). Najczęstszymi nieprawidłowościami hematologicznymi, jeśli występują, są niedokrwistość nieregeneratywna, monocytopenia i limfopenia (11). U psów może również wystąpić obwodowa eozynofilia. Ocena osadu moczu może ujawnić obecność drożdżaków, jeśli infekcja rozprzestrzeniła się w drogach moczowych (23). Rezonans magnetyczny (MRI) i analiza płynu mózgowo-rdzeniowego są wskazane dla psów z objawami neurologicznymi (3). W płynie mózgowo-rdzeniowym stwierdzane jest podwyższone stężenie białka o średnio 4,94 g/l (w zakresie 0,11–37,0 g/l) oraz pleocytoza mieszana lub ziarniniakowa. U niektórych psów może występować eozynofilia w płynie mózgowo-rdzeniowym (11). Zastosowanie MRI u psów z kryptokokożą OUN jest bardziej czułe w wykrywaniu



Ryc. 1. Barwienie negatywne płynu mózgowo-rdzeniowego tuszem indyjskim w podejrzeniu kryptokokozy



Ryc. 2. Tkanka płucna pobrana od psa z kryptokokozą po wybarwieniu hematoksyliną Mayera; A: w powiększeniu 200×; B: w powiększeniu 400×; fragmenty świadczące o zakażeniu zaznaczono strzałkami

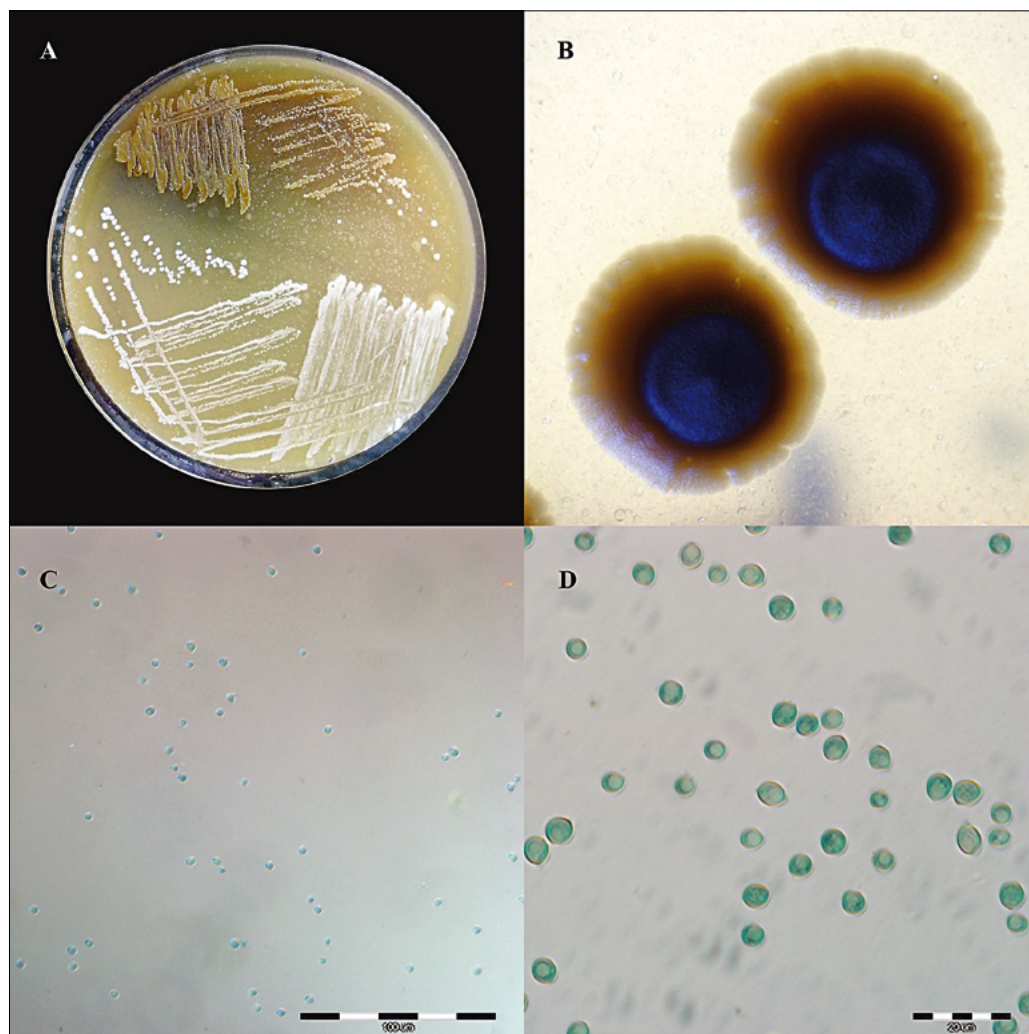


Ryc. 3. Barwienie mucykarminem tkanki płucnej uwidaczniające komórki zapalne i liczne drożdżaki *Cryptococcus* spp.

zmian mięszkowych w porównaniu z tomografią komputerową (24). Wyniki MRI obejmują wieloogniskowe zmiany mięszkowe lub obrzęk opon mózgowych najczęściej w obrębie mózdzku i szyjnym odcinku rdzenia kręgowego. Zmiany zwykle różnią się intensywnością, na obrazach T1W są równomiernie lub niejednorodnie wzmacniające kontrast i dodatkowo są hiperintensywne na obrazach T2W (2).

W badaniu serologicznym wykonuje się test aglutynacji CALAS (cryptococcal antigen latex agglutination system), który może być przeprowadzony z użyciem surowicy lub płynów ustrojowych. Test ten wykrywa antygen otoczkowy wszystkich opisanych serotypów grzybów *Cryptococcus* (19). Czulość testu CALAS wynosi 90–100%, a swoistość 97–100% (25). Uzyskiwane miana CALAS w surowicy u psów są generalnie niższe niż u kotów, a fałszywie ujemne wyniki mogą być częstsze (16). Fałszywie dodatnie wyniki są zwykle związane z mianami <1:8 i u psów są rzadkie. Miana CALAS w surowicy $\geq 1:2$ są uważane za pozytywne, chociaż często uzyskiwane miana są bardzo wysokie, osiągające wartość $>1:60\,000$ u zwierząt z chorobą rozsianą (16). Test CALAS można wykorzystać również do śledzenia odpowiedzi na terapię medyczną. Odnotowano, że malejące miano koreluje z korzystnym wynikiem leczenia. Miano antygeny należy monitorować co 2–3 miesiące w trakcie leczenia przeciwgrzybiczego i przez co najmniej rok po zaprzestaniu leczenia. Poprawa kliniczna jest zwykle widoczna przed spadkiem miana (19).

W badanie cytologicznym aspiratów oskrzelowych, rozmazów wyciskowych lub płynów ustrojowych, przede wszystkim płynu mózgowo-rdzeniowego lub popłuczyn z dróg oddechowych można z łatwością uwidocznnić komórki drożdży (16). Stosowane metody barwienia w takich przypadkach obejmują barwienie metodą Grama, barwienie Romanowskiego lub barwienie błękitem metylenowym. Standardowo procedura zakłada podział próbki na dwie części, z których jedna przeznaczona jest do badania cytologicznego, a z drugiej wykonuje się badanie hodowlane. Barwienie Romanowskiego jest preferowane w przypadku próbek płynu mózgowo-rdzeniowego odwirowanych cytowirówką, ze względu na słabe zabarwienie tła preparatu, co odsłania przezroczyste otoczki tworzone *in vivo* przez grzyby z rodzaju *Cryptococcus* (11). Barwienie negatywne atramentem indyjskim może być również stosowane do identyfikacji tych drożdży w płynie mózgowo-rdzeniowym (3; ryc. 1). Nadmienić należy, że rutynowe pobieranie płynu mózgowo-rdzeniowego od psów z objawami neurologicznymi, co do których podejrzewa się kryptokokozę, nie jest zalecane, zwłaszcza jeśli rozpoznanie można postawić z użyciem metody mniej inwazyjnej, np. za pomocą testów CALAS (3). Wyjaśnienie tego zalecenia jest związane z dekompensacją, która występuje w sposób nieprzewidywalny po pobraniu płynu mózgowo-rdzeniowego u psów i kotów z kryptokokożą w wyniku przepukliny mózdzku (2). Natomiast w przypadku materiału biopsyjnego wykonuje się badanie histopatologiczne po wybarwieniu hematoksyliną Mayera (3; ryc. 2). Barwienie mucykarminem jest również użyteczne w diagnostyce kryptokokozy ze względu na



Ryc. 4. Charakterystyka hodowlana *Cryptococcus* spp.
 A: makromorfologia na podłożu Staib w odniesieniu do *Candida albicans* (dół zdjęcia, białe kolonie)
 B: wygląd kolonii *Cryptococcus neoformans* na podłożu Staib w powiększeniu 20×
 C: mikromorfologia po wybarwieniu chlorazolem czarnym w powiększeniu 400×
 D: w powiększeniu 1000×

silne właściwości różnicujące w stosunku do drożdży *Cryptococcus* (ryc. 3). W metodzie tej bardzo słabo barwią się grzyby *Blastomyces* spp., a w ogóle nie barwią się inne drożdżaki z rodzaju *Candida*, *Histoplasma* lub *Coccidioides* (3). Próbkę do badań diagnostycznych należy pobierać przed rozpoczęciem terapii, szczególnie przed podaniem antymykotyków i kortykosteroidów, które mogą zaburzyć uzyskanie prawidłowych wyników.

Grzyby z rodzaju *Cryptococcus* można w łatwy sposób wyhodować z tkanek zmienionych chorobowo, płynu mózgowo-rdzeniowego lub płynów ustrojowych (ryc. 4). Hodowla tych drożdży nie niesie żadnego ryzyka dla personelu laboratoryjnego. Zarówno *C. neoformans*, jak i *C. gattii* rosną w postaci drożdżowej na agarze Sabourauda z dekstrozą w temperaturze 35–37°C w ciągu od 2 do 10 dni (1). Innym podłożem dobrym do identyfikacji różnicowej pomiędzy *C. neoformans* i *C. gattii* jest podłoże mykologiczne zawierające L-kanawaninę, glicynę i błękit bromotymolowy (26).

Leczenie

Kryptokokoza u psów jest chorobą postępującą. W literaturze nie odnotowano żadnego przypadku ustępującego spontanicznie bez leczenia. Najczęściej stosowanymi antymykotykami są leki azolowe oraz polienowe (2). Azole przeciwgrzybicze stosowane

w terapii kryptokokozy obejmują ketokonazol, flukonazol, itrakonazol, worykonazol i posakonazol. Ponieważ azole mogą potencjalnie powodować hepatotoksyczność, należy monitorować aktywność enzymów wątrobowych przed rozpoczęciem leczenia, a następnie co miesiąc. Należy pamiętać, że przy stosowaniu u psów i kotów itrakonazol jest bardziej hepatotoksyczny niż flukonazol (27). Leczenie flukonazolem może być stosowane z wyboru ze względu na jego niski koszt, dobrą penetrację do ośrodkowego układu nerwowego, oczu i dróg moczowych oraz minimalne skutki uboczne (28, 29). Ponieważ flukonazol jest wydalany z moczem w około 70% w postaci niezmienionej, uzasadnione jest zmniejszenie dawki u zwierząt z zaburzeniami czynności nerek (30). Zalecana dawka to 5 mg/kg masy ciała co 12 godz. Flukonazol można podawać dożylnie psom, które nie tolerują leków doustnych. Alternatywnie flukonazol pozostaje stabilny po zmiażdżeniu i podaniu przez zgłębnik (zgłębnik nosowo-żołądkowy, przełykowy lub przezskórny; 31). Przegląd literatury wskazuje jednak na pojawiającą się oporność *in vitro* izolatów *C. neoformans* i *C. gattii* na flukonazol (2, 32). Nabyta oporność na flukonazol została również udokumentowana podczas leczenia w mysich modelach kryptokokozy (33).

Chociaż itrakonazol nie przenika do OUN tak samo jak flukonazol, jest z powodzeniem stosowany w leczeniu kryptokokowego zapalenia opon

mózgowo-rdzeniowych i zapalenia naczyń i siatkówki, prawdopodobnie dlatego, że powoduje osłabienie bariery krew – mózg lub krew – oko. Itrakonazol jest najlepiej wchłaniany w postaci kapsułek podawanych z pożywieniem (19). Zalecana dawka to 5 mg/kg masy ciała co 12 do 24 godz. Choć dostępne są generyczne preparaty itrakonazolu, badania przeprowadzone na ludziach wykazały, że u wielu z nich stwierdzono subterapeutyczne stężenia w osoczu, które były związane z nawrotem zakażenia (34). Itrakonazol jest mało stabilny w złożonych preparatach, a badania naukowe wykazały stężenia w surowicy poniżej terapeutycznego u niektórych zwierząt leczonych złożonym itrakonazolem. Roztwór itrakonazolu można podawać przez zgłębnik na godzinę przed lub dwie godziny po karmieniu, niezależnie od leków zobojętniających, szczególnie u zwierząt w stanie krytycznym. Kapsułki nie są zalecane do podawania sondami wraz z pożywieniem ze względu na zmniejszoną biodostępność (35). Preparat dożylny itrakonazolu jest skuteczny, ale może być zbyt kosztowny. Na podstawie badań przeprowadzonych na ludziach wiemy, że minimalne stężenie terapeutyczne itrakonazolu w surowicy powinno wynosić co najmniej 0,5–1,0 µg/ml (36). Stan wysycenia lekiem osiągnięty jest po dwóch tygodniach leczenia (37). Większość izolatów klinicznych drożdży *Cryptococcus* spp., które obecnie zakażają psy, wydaje się być wrażliwa *in vitro* na itrakonazol.

Chociaż ketokonazol został w dużej mierze zastąpiony innymi azolowymi lekami przeciwgrzybiczymi w medycynie ludzkiej ze względu na jego profil działań niepożądanych, jest on niedrogi i wiele izolatów *Cryptococcus* spp. wywołujących zakażenia u psów i kotów pozostaje bardzo wrażliwych na ten lek. Dlatego stosowanie ketokonazolu jest uzasadnione, gdy fundusze na leczenie są ograniczone, ale nie jest zalecane w leczeniu rozsianych infekcji kryptokokowych, takich jak te z zajęciem OUN. Ketokonazol jest silnym inhibitorem enzymów cytochromu P450, dlatego należy zachować ostrożność, aby uniknąć interakcji lekowych (3). Pochodna flukonazolu, worykonazol i pozakonazol nie były szeroko stosowane w leczeniu kryptokokozy psów, głównie ze względu na ich koszt. Potrzebne są dalsze badania, aby określić ich aktywność i profile działań niepożądanych u psów z kryptokokozą. Podobnie jak flukonazol, worykonazol doskonale przenika do OUN. Sugerowana dawka dla psów to 4–5 mg/kg masy ciała co 12 godz. Doniesienia naukowe wskazują na sporadycznie obserwowane zmniejszenie apetytu i objawy neurologiczne u psów leczonych worykonazolem. Po wlewie dożylnym u niektórych psów zaobserwowano przyspieszenie oddechu i wyraźną gorączkę. U kotów jako działanie niepożądane mogą występować ciężkie objawy neurologiczne (38). Natomiast pozakonazol jest dostępny w postaci zawiesiny doustnej, a podawanie z posiłkiem poprawia jego biodostępność. Badania wskazują, że przenika do kości, ośrodkowego układu nerwowego i oka (39). Sugerowana dawka dla psów to 5–10 mg/kg masy ciała co 12–24 godz. wraz z karmą. Wchłanianie jest lepsze u ludzi, gdy całkowitą dawkę dobową podzielono na

2–4 mniejsze dawki. Zaleca się monitorowanie stężenia terapeutycznego przy zalecanych stężeniach maksymalnych 1,48 mg/l (40).

Praktycznie wszystkie izolaty kliniczne *Cryptococcus* spp. są bardzo wrażliwe na amfoterycynę B. Stosowanie amfoterycyny B jest na ogół zarezerwowane dla ciężkich, zagrażających życiu zakażeń psów z zajęciem OUN lub psów z chorobą, która nie reaguje na leczenie lekami azolowymi (41). Głównym, ograniczającym stosowanie amfoterycyny B działaniem niepożądanym jest kumulatywna nefrotoksyczność (42). Inne działania niepożądane opisywane u ludzi obejmują nefrogenną moczołkę prostą, kwasicę kanalikową nerkową, hipokaliemię i hipomagnezemię (43). Dlatego pacjentów należy nawodnić przed podaniem amfoterycyny B. W przypadku podawania przez cewnik dożylny zalecana jest dawka 0,5 mg/kg masy ciała rozcieńczona w 300 ml do 1000 ml 5% dekstrozy podawana przez 2–6 godz., chociaż stosowanie dawek tak niskich jak 0,25 mg/kg masy ciała i tak wysokich jak 1 mg/kg masy ciała, z różnymi czasami infuzji, również zostało opublikowane. Leczenie kontynuuje się co drugi dzień, aż do osiągnięcia łącznej dawki 8–12 mg/kg masy ciała. Protokoły dawkowania różnią się w przypadku kotów, które są bardziej podatne na nefrotoksyczność i przewodnienie (44). Amfoterycynę B stosowane jest również podskórnie u psów 2–3 razy w tygodniu w dawce 0,5–0,8 mg/kg masy ciała rozcieńczonej w 500 ml 0,45% roztworu soli i 2,5% dekstrozy (masa ciała <20 kg) oraz 1000 ml (>20 kg). Stężenie leku w płynie nie powinno przekraczać 20 mg/l (25). U niektórych psów protokół ten może spowodować powstanie jałowego ropnia w miejscu podania leku. Czynność nerek należy ocenić przed każdym leczeniem amfoterycyną B w celu monitorowania nefrotoksyczności. Jeśli azotemia jest obecna, leczenie należy przerwać do czasu ustąpienia azotemii. Badania nefrotoksyczności wywołanej amfoterycyną B u szczurów i psów wykazały, że wyższy poziom sodu wiąże się z mniejszą nefrotoksycznością (45). Dlatego wstępne traktowanie krystaloidami zawierającymi sól pomaga zapobiegać nefrotoksyczności. Nowsze preparaty amfoterycyny B w postaci kompleksów lipidowych mają większą hydrofobowość, co zwiększa dostarczenie do miejsca zakażenia przy zmniejszonej nefrotoksyczności i pozwala na podanie wyższej dawki skumulowanej. Lipidowe formy amfoterycyny B są z powodzeniem stosowane w leczeniu kryptokokozy u ludzi (46). Preparaty lipidowe skuteczniej przenikają do płynu mózgowo-rdzeniowego, cieczy wodnistej oka, opłucnej i otrzewnej, podczas gdy preparaty w postaci dezoksychoalanów słabo przenikają do płynu mózgowo-rdzeniowego (41).

Inne leki przeciwgrzybicze działające przeciwko *Cryptococcus* spp. to 5-fluocytozyna i terbinafina. 5-fluocytozyna jest stosowana w połączeniu z amfoterycyną B w leczeniu kryptokokozy OUN u ludzi, ponieważ leki te działają synergistycznie na organizm, a 5-fluocytozyna przenika do OUN (47). Niestety po leczeniu tym lekiem u psów często pojawiają się ciężkie skórne skutki uboczne, więc nie stanowi on realnej opcji leczenia dla psów z kryptokokozą (25). Terbinafina jest stosowana głównie w leczeniu grzybic skórnych, ale

działa przeciwko wielu patogenom grzybiczym i jest dobrze tolerowana przez psy (48). Niedawne studium przypadku wykazało, że terbinafina w leczeniu psa z kryptokokozą jelit była skuteczna po niepowodzeniu pierwotnej terapii amfoterycyną B i flukonazolem (49). Dodatkowe badania są wymagane w celu udokumentowania skuteczności tego leku w leczeniu kryptokokozy w monoterapii lub w połączeniu z innymi lekami przeciwgrzybiczymi.

Ponieważ psy mają tendencję do rozsianej kryptokokozy, często wymagane jest leczenie wspomagające w przypadku objawów, takich jak silne wymioty, biegunka, anoreksja lub drgawki. W przypadku psów z objawami neurologicznymi stosowanie kortykosteroidów jest kontrowersyjne, ponieważ związana z tym immunosupresja może wspierać dalszą proliferację drożdży w tkankach. Jednak w przypadku rozsądnego i krótkotrwałego stosowania, np. deksametazonu wraz z lekami przeciwgrzybiczymi w leczeniu psów z zajęciem ośrodkowego układu nerwowego, reakcja zapalna może zostać znacząco wyciszona. Choć stosowanie glikokortykosteroidów w ostrych objawach neurologicznych nie miało wpływu na długoterminowe wyniki leczenia, wskaźniki przeżycia krótkoterminowego (pierwszych 10 dni) ulegały poprawie, jeśli kortykosteroidy były stosowane w początkowej fazie leczenia (2). Zalecane jest również chirurgiczne usuwanie ziarniniaków utworzonych przez grzyby (≥ 3 cm) u ludzi, chociaż potrzebne są dalsze badania na psach, aby z pewnością stwierdzić, czy istnieje jakakolwiek korzyść zabiegu. Badania naukowe wskazują, że nawet duże ziarniniaki mogą ustąpić przy odpowiednim leczeniu lekami przeciwgrzybiczymi (50). Doświadczenie kliniczne z wielu źródeł sugeruje jednak rolę chirurgii w leczeniu agresywnej, zlokalizowanej choroby (22).

Rokowanie

Leczenie kryptokokozy u psów należy kontynuować przez co najmniej przez sześć miesięcy, a często przez ponad rok od postawienia diagnozy lub do czasu ustąpienia objawów klinicznych i niewykrywalności miana antygenów (22, 28). Niektóre zwierzęta wymagają jednak leczenia przez całe życie. Rokowanie w przypadku kryptokokozy psów jest zróżnicowane i zależy od ciężkości choroby, izolatu klinicznego powodującego zakażenie, stanu odporności żywiciela i możliwości finansowych właściciela

przeznaczonych na leczenie. U psów z zajęciem OUN średni czas przeżycia od rozpoznania, niezależnie od sposobu leczenia, wynosił 7 dni, a dla psów, które otrzymały leczenie przeciwgrzybicze – 12 dni (2). Mediana czasu przeżycia tych zwierząt wzrastała do 190 dni w przypadku psów, które przeżyły co najmniej 4 dni od diagnozy. Wysokie miana antygeny w surowicy nie wpływały na rokowanie. Natomiast wystąpienie u psów objawów neurologicznych zmieniających mentalność wiązało się z gorszymi rokowaniami (2). Psy z kryptokokożą, u których wystąpiło zajęcie ośrodkowego układu nerwowego, miały ponad 4-krotnie większą śmiertelność niż psy z chorobą rozsianą poza OUN. Niepowodzenie terapii może być spowodowane niewystarczającą penetracją leku do ziarniniaków, osłabieniem odporności gospodarza, opornością *in vitro* izolatów klinicznych na leki przeciwgrzybicze, upośledzonym wchłanianiem leków, np. w trakcie jednoczesnej terapii blokerami H₂, chorobami współistniejącymi, takimi jak cukrzyca, zastoinowa niewydolność serca czy nowotwory lub zakażeniem wielonarządowym obejmującym narządy krytyczne, m.in. OUN, mięsień sercowy, trzustkę i przewód pokarmowy (3).

Podsumowanie

Kryptokokoza to choroba zakaźna wywołwana przez grzyby z rodzaju *Cryptococcus*, atakujące przede wszystkim ośrodkowy układ nerwowy, a także płuca, skórę i inne narządy wewnętrzne. Zakażenie najczęściej pochodzi z gleby i/lub odchodów gołębi, a wrotami infekcji są drogi oddechowe lub przewód pokarmowy. Diagnostyka choroby obejmuje szeroki zakres metod serologicznych, cytologicznych, histopatologicznych, a także stosunkowo łatwą izolację grzybów z płynów ustrojowych lub zaatakowanych tkanek. W większości przypadków prawidłowo zdiagnozowanych drożdże są wrażliwe na antymykotyki azolowe i polienowe. Czynnikiem krytycznym w terapii jest stan odporności zwierzęcia i stopień zaawansowania choroby w momencie rozpoczęcia leczenia. Rokowanie w przypadku kryptokokozy psów jest zróżnicowane, a u zwierząt z zajęciem OUN złe.

Piśmiennictwo

1. Gnat S., Łagowski D., Nowakiewicz A., Dyląg M.: A global view on fungal infections in humans and animals: opportunistic infections and microsporidiosis. *J. Appl. Microbiol.* 2021, n/a, jam.15032.

ANTYBIOTYKI W MEDYCYNIE WETERYNARYJNEJ

Zmiany, nowe wymagania i ich realizacja przez lekarzy weterynarii w praktyce



Konferencja odbędzie się w dniach:
19–21 listopada br.



Centrum konferencyjne
Argentia w Dzierżoniowie
(woj. dolnośląskie).



Więcej informacji na stronie:
www.vetos-farma.com.pl/konferencja

oraz pod adresem:
konferencja@vetos-farma.com.pl

2. Sykes J.E., Sturges B.K., Cannon M.S., Gericota B., Higgins R.J., Trivedi S.R., Dickinson P.J., Vernau K.M., Meyer W., Wisner E.R.: Clinical Signs, Imaging Features, Neuropathology, and Outcome in Cats and Dogs with Central Nervous System Cryptococcosis from California. *J. Vet. Intern. Med.* 2010, **24**, 1427–1438.
3. Vorathavorn V.I., Sykes J.E., Feldman D.G.: Cryptococcosis as an emerging systemic mycosis in dogs. *J. Vet. Emerg. Crit. Care.* 2013, **23**, 489–497.
4. Labrecque O., Sylvestre D., Messier S.: Systemic *Cryptococcus albidus* infection in a Doberman Pinscher. *J. Vet. Diagnostic Investig.* 2005, **17**, 598–600.
5. Ngamskulrunroj P., Gilgado F., Faganello J., Litvintseva A.P., Leal A.L., Tsui K.M., Mitchell T.G., Vainstein M.H., Meyer W.: Genetic diversity of the *Cryptococcus* species complex suggests that *Cryptococcus gattii* deserves to have varieties. *PLoS One.* 2009, **4**, e5862.
6. Kielstein P., Hotzel H., Schmalreck A., Khaschabi D., Glawischnig W.: Occurrence of *Cryptococcus* spp. in excreta of pigeons and pet birds. *Mycoses.* 2000, **43**, 7–15.
7. Springer D.J., Chaturvedi V.: Projecting global occurrence of *Cryptococcus gattii*. *Emerg. Infect. Dis.* 2010, **16**, 14–20.
8. Lazéra M.S., Pires F.D.A., Camillo–Coura L., Nishikawa M.M., Bezerra C.C.F., Trilles L., Wanke B.: Natural habitat of *Cryptococcus neoformans* var. *neoformans* in decaying wood forming hollows in living trees. *Med. Mycol.* 1996, **34**, 127–131.
9. Dixit A., Carroll S.F., Qureshi S.T.: *Cryptococcus gattii*: An Emerging Cause of Fungal Disease in North America. *Interdiscip. Infect. Dis.* 2009, **2009**, 840452.
10. Datta K., Bartlett K.H., Marr K.A.: *Cryptococcus gattii*: Emergence in Western North America: Exploitation of a Novel Ecological Niche. *Interdiscip. Infect. Dis.* 2009, **2009**, 1–8.
11. Lester S.J., Malik R., Bartlett K.H., Duncan C.G.: Cryptococcosis: Update and emergence of *Cryptococcus gattii*. *Vet. Clin. Pathol.* 2011, **40**, 4–17.
12. Uejio C.K., Mak S., Manangan A., Luber G., Bartlett K.H.: Climatic influences on *cryptococcus gattii* populations, Vancouver Island, Canada, 2002–2004. *Emerg. Infect. Dis.* 2015, **21**, 1989–1996.
13. de Abreu D.P.B., Machado C.H., Makita M.T., Botelho C.F.M., Oliveira F.G., da Veiga C.C.P., Martins M. dos A., Baroni F. de A.: Intestinal Lesion in a Dog Due to *Cryptococcus gattii* Type VGII and Review of Published Cases of Canine Gastrointestinal Cryptococcosis. *Mycopathologia.* 2017, **182**, 597–602.
14. Singh K., Rani J., Neelabh., Rai G.K., Singh M.: The Southeastern Asian house mouse (*Mus musculus castaneus* Linn.) as a new passenger host for *Cryptococcus neoformans* var. *grubii* molecular type VNI. *Med. Mycol.* 2017, **55**, 820–827.
15. Newman S.J., Langston C.E., Scase T.J.: Cryptococcal pyelonephritis in a dog. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 2003, **222**, 180–183+174.
16. Trivedi S.R., Sykes J.E., Cannon M.S., Wisner E.R., Meyer W., Sturges B.K., Dickinson P.J., Johnson L.R.: Clinical features and epidemiology of cryptococcosis in cats and dogs in California: 93 cases (1988–2010). *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 2011, **239**, 357–369.
17. O'Brien C.R., Krockenberger M.B., Wigney D.I., Martin P., Malik R.: Retrospective study of feline and canine cryptococcosis in Australia from 1981 to 2001: 195 cases. *Med. Mycol.* 2004, **42**, 449–460.
18. Malik R., Dill–Mackey E., Martin P., Wigney D.I., Muir D.B., Love D.N.: Cryptococcosis in dogs: A retrospective study of 20 consecutive cases. *Med. Mycol.* 1995, **33**, 291–297.
19. Berthelin C.F., Bailey C.S., Kass P.H., Legendre A.M., Wolf A.M.: Cryptococcosis of the nervous system in dogs, part 2: diagnosis, treatment, monitoring, and prognosis. In: *Progress in Veterinary Neurology*. Vol 5; 1994:136–146.
20. Malik R., Martin P., Wigney D.I., Church D.B., Bradley W., Bellenger C.R., Lamb W.A., Barrs V.R., Foster S., Hemsley S., Canfield P.J., Love D.N.: Nasopharyngeal cryptococcosis. *Aust. Vet. J.* 1997, **75**, 483–488.
21. Lefebvre J., Kuehn N.F., Wortinger A.: Computed tomography as an aid in the diagnosis of chronic nasal disease in dogs. *J. Small Anim. Pract.* 2005, **46**, 280–285.
22. Bartlett K.H., Cheng P.Y., Duncan C., Galanis E., Hoang L., Kidd S., Lee M.K., Lester S., MacDougall L., Mak S., Morshed M., Taylor M., Kronstad J.: A Decade of Experience: *Cryptococcus gattii* in British Columbia. *Mycopathologia.* 2012, **173**, 311–319.
23. Jin Y., Lin D.: Fungal urinary tract infections in the dog and cat: A retrospective study (2001–2004). *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.* 2005, **41**, 373–381.
24. Tien R.D., Chu P.K., Hesselink J.R., Duberg A., Wiley C.: Intracranial cryptococcosis in immunocompromised patients: CT and MR findings in 29 cases. *Am. J. Neuroradiol.* 1991, **12**, 283–289. <http://www.ajnr.org/content/12/2/283.abstract>
25. Malik R., McPetrie R., Wigney D.I., Craig A.J., Love D.N.: A latex cryptococcal antigen agglutination test for diagnosis and monitoring of therapy for cryptococcosis. *Aust. Vet. J.* 1996, **74**, 358–364.
26. Klein K.R., Hall L., Deml S.M., Rysavy J.M., Wohlfiel S.L., Wengenack N.L.: Identification of *Cryptococcus gattii* by use of L–canavanine glycine bromothymol blue medium and DNA sequencing. *J. Clin. Microbiol.* 2009, **47**, 3669–3672.
27. Somchit N., Norshahida A.R., Hasiah A.H., Zuraini A., Sulaiman M.R., Noordin M.M.: Hepatotoxicity induced by antifungal drugs itraconazole and fluconazole in rats: A comparative in vivo study. *Hum. Exp. Toxicol.* 2004, **23**, 519–525.
28. O'Brien C.R., Krockenberger M.B., Martin P., Wigney D.I., Malik R.: Long–term outcome of therapy for 59 cats and 11 dogs with cryptococcosis. *Aust. Vet. J.* 2006, **84**, 384–392.
29. O'Toole T.E., Sato A.F., Rozanski E.A.: Cryptococcosis of the central nervous system in a dog. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 2003, **222**, 1722–1725+1706.
30. Humphrey M.J., Jevons S., Tarbit M.H.: Pharmacokinetic evaluation of UK–49, 858, a metabolically stable triazole antifungal drug, in animals and humans. *Antimicrob. Agents Chemother.* 1985, **28**, 648–653.
31. Nicolau D.P., Crowe H., Nightingale C.H., Qunatiliari R.: Bioavailability of fluconazole administered via a feeding tube in intensive care unit patients. *J. Antimicrob. Chemother.* 1995, **36**, 395–401.
32. Varma A., Kwon–Chung K.J.: Heteroresistance of *Cryptococcus gattii* to fluconazole. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2010, **54**, 2303–2311.
33. Mendes F.E.S., Oliveira L.V.N., Faria E.S., Alvarenga D.G., Pinto M.R., Taborda C.P., Soares B.M., Cisalpino P.S., Santos D.A.: Correlation of the in vitro antifungal drug susceptibility with the in vivo activity of fluconazole in a murine model of cerebral infection caused by *Cryptococcus gattii*. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 2010, **29**, 1525–1532.
34. Pasqualotto A.C., Denning D.W.: Generic substitution of itraconazole resulting in sub–therapeutic levels and resistance. *Int. J. Antimicrob. Agents.* 2007, **30**, 93–94.
35. Puttick M.P.E., Phillips P.: Itraconazole: Precautions regarding drug interactions and bioavailability. *Can. J. Infect. Dis.* 1994, **5**, 179–183.
36. Glasmacher A., Hahn C., Leutner C., Molitor E., Wardelmann E., Lohsem C., Sauerbruch T., Marklein G., Schmidt–Wolf I.G.H.: Breakthrough invasive fungal infections in neutropenic patients after prophylaxis with itraconazole. *Mycoses.* 1999, **42**, 443–451.
37. Legendre A.M., Rohrbach B.W., Toal R.L., Rinaldi M.G., Grace L.L., Jones J.B.: Treatment of blastomycosis with itraconazole in 112 dogs. *J. Vet. Intern. Med.* 1996, **10**, 365–371.
38. Quimby J.M., Hoffman S.B., Duke J., Lappin M.R.: Adverse neurologic events associated with voriconazole use in 3 cats. *J. Vet. Intern. Med.* 2010, **24**, 647–649.
39. Schiller D.S., Fung H.B.: Posaconazole: An extended–spectrum triazole antifungal agent. *Clin. Ther.* 2007, **29**, 1862–1886.
40. Hope W.W., Billaud E.M., Lestner J., Denning D.W.: Therapeutic drug monitoring for triazoles. *Curr. Opin. Infect. Dis.* 2008, **21**, 580–586.
41. Foy D.S., Trepanier L.A.: Antifungal Treatment of Small Animal Veterinary Patients. *Vet. Clin. North Am. – Small Anim. Pract.* 2010, **40**, 1171–1188.
42. Costa S., Nucci M.: Can we decrease amphotericin nephrotoxicity? *Curr. Opin. Crit. Care.* 2001, **7**, 379–383.
43. Deray G.: Amphotericin B nephrotoxicity. *J. Antimicrob. Chemother.* 2002, **49** Suppl 1, 37–41.
44. Trivedi S.R., Malik R., Meyer W., Sykes J.E.: Feline cryptococcosis: impact of current research on clinical management. *J. Feline Med. Surg.* 2011, **13**, 163–172.
45. Ohnishi A., Ohnishi T., Stevenhead W., Robinson R.D., Glick A., O'Day D.M., Sabra R., Jackson E.K., Branch R.A.: Sodium status influences chronic amphotericin B nephrotoxicity in rats. *Antimicrob. Agents Chemother.* 1989, **33**, 1222–1227.
46. Baddour L.M., Perfect J.R., Ostrosky–Zeichner L.: Successful use of amphotericin B lipid complex in the treatment of cryptococcosis. *Clin. Infect. Dis. An Off Publ. Infect. Dis. Soc. Am.* 2005, **40** Suppl 6, S409–13.
47. Yuanjie Z., Jianghan C., Nan X., Xiaojun W., Hai W., Wanqing L., Julin G.: Cryptococcal meningitis in immunocompetent children. *Mycoses.* 2012, **55**, 168–171.
48. Łagowski D., Gnat S.: Terbinafine – a drug effective for treatment of dermatophytosis in dogs and cats. *Życie Weter.* 2020, **95**, 646–651.
49. Olsen G.L., Deitz K.L., Flaherty H.A., Lockhart S.R., Hurst S.F., Haynes J.S.: Use of Terbinafine in the Treatment Protocol of Intestinal *Cryptococcus neoformans* in a Dog. *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.* 2012, **48**, 216–220.
50. Perfect J.R., Dismukes W.E., Dromer F., Goldman D.L., Graybill J.R., Hamill R.J., Harrison T.S., Larsen R.A., Lortholary O., Nguyen M.H., Pappas P.G., Powderly W.G., Singh N., Sobel J.D., Sorrell T.C.: Clinical practice guidelines for the management of cryptococcal disease: 2010 update by the infectious diseases society of America. *Clin. Infect. Dis.* 2010, **50**, 291–322.

Dr hab. Sebastian Gnat prof. uczelni,
e-mail: sebastian.gnat@up.lublin.pl