

ACTUALITĂȚI ÎN DIAGNOSTICUL INFECȚIILOR FUNGICE INVAZIVE

Olga BURDUNIUC,

Agenția Națională pentru Sănătate Publică,
IP Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie
Nicolae Testemitanu

Rezumat

Actualmente, infecțiile fungice invazive (IFI) sunt întâlnite tot mai frecvent și decurg mult mai dificil, fiind însoțite de un șir de dificultăți de diagnostic și tratament și de o mortalitate înaltă. Constatarea unor deficiențe în diagnosticul IFI și subraportarea lor din biosubstraturi sterile a fost premisa acestui articol de sinteză. Lucrarea prezintă rezultatele analizei celor mai relevante studii din ultimele două decenii, selectate din bazele de date Google, Academic și Pubmed cu referire la infecțiile fungice invazive și oferă date bazate pe dovezi privind tendințele actuale ale epidemiologiei, clinicii și terapiei acestor infecții. Lucrarea sumarizează datele cercetărilor științifice publicate privind IFI și sensibilitatea la antimicotice. Studiul dat confirmă domeniul dinamic al infecțiilor fungice care prezintă permanenta schimbare a speciilor de fungi implicate în dezvoltarea acestora. Totodată, se menționează și îngrijorarea privind spectrul de sensibilitate la antimicotice a acestor specii de fungi, care manifestă rezistență în majoritatea cazurilor. IFI reprezintă o problemă majoră pentru comunitatea medicală prin consecințele clinice, scăderea duratei de supraviețuire a pacienților afectați, precum și prin creșterea costurilor necesare unui diagnostic specific timpuriu și terapiei țintite. Așadar, există o preocupare permanentă a societății științifice pentru elaborarea metodologiilor de diagnostic al infecțiilor fungice invazive.

Cuvinte-cheie: infecții fungice invazive, diagnosticul micorozelor, rezistență la antifungice

Summary

Update on the diagnosis of invasive fungal infection

Invasive fungal infections (IFIs) are currently an increasingly common and challenging problem in intensive care units, and are burdened with a number of difficulties: diagnosis, treatment, and very high mortality. The detection of some deficiencies in the diagnosis of invasive fungal infections as well as them underreport from sterile biological samples was the premise of this review of the literature. The paper presents the results of the analysis of studies of the last two decades on some particularities of invasive fungal infections and provides evidence-based data on current trends in epidemiology, clinics and their diagnostic principles. The paper summarizes the published scientific research data on invasive fungal infections and susceptibility to antimycotics. This study confirms that fungal infections represent a dynamic area with a permanent change in the fungal species involved in their development. Also, worrying is the antimycotic susceptibility spectrum of these fungal species that is resistant in most cases. Therefore, there is a permanent concern of the scientific society regarding the elaboration of diagnostic methodologies for invasive fungal.

Keywords: invasive fungal infections, diagnosis of fungal infections, antifungal resistance

Резюме

Актуальные тенденции в диагностике инвазивных грибковых инфекций

Инвазивные грибковые инфекции в настоящее время становятся все более распространенной и более сложной проблемой в отделениях интенсивной терапии и сопровождаются рядом трудностей диагностики, лечения и очень высокой долей смертности. Обнаружение некоторых недостатков в диагностике инвазивных грибковых инфекций, а также выделение их из стерильных биосубстратов стало предпосылкой написания этой работы. В статье представлены результаты анализа исследований некоторых особенностей инвазивных грибковых инфекций за последние два десятилетия и приведены данные, основанные на фактических знаниях о современных тенденциях в эпидемиологии, клинических и диагностических принципах. В статье обобщены данные опубликованных научных исследований по инвазивным грибковым инфекциям и их восприимчивости к антимикотикам. Это исследование подтверждает, что грибковые инфекции представляют собой динамическую область с постоянной изменчивостью видов грибов, участвующих в их развитии. Также вызывает беспокойство спектр антимикотической чувствительности этих видов грибов, которые в большинстве случаев резистентны. Поэтому научное общество постоянно беспокоится о разработке методологий диагностики инвазивных грибковых инфекций.

Ключевые слова: инвазивные грибковые инфекции, диагностика микозов, резистентность к противогрибковым препаратам

Introducere

Infecțiile fungice invazive (IFI) emergente în ultimele trei decenii reprezintă o problemă actuală în întreaga lume, precum și în Republica Moldova [48]. Acestea constituie un subiect de mare actualitate în lumea științifică din cauza incidenței, consecințelor clinice pe care le pot genera, scăderii duratei de supraviețuire a pacienților afectați, creșterii costurilor destinate diagnosticării și terapiei țintite. Totodată, experții internaționali în domeniu constată subestimarea infecțiilor fungice de către autoritățile de sănătate publică din întreaga lume [5].

La moment în lume se înregistrează în jur de două milioane cazuri de infecții invazive, care adesea sunt dificil de identificat și, implicit, de tratat. În cazul IFI se atestă prezența fungilor în sânge, determinând fungemie cu sau fără localizări în organe-țintă. Dintre

speciile de fungi existente, peste 500 sunt implicate în patogeneză, cel mai frecvent infecțiile fiind cauzate de *Candida* spp., *Aspergillus* spp., *C. neoformans*, *Pneumocystis jirovecii* și altele [37].

Autorii studiilor publicate recent atestă înregistrarea acestor infecții preponderent la persoanele cu imunitatea scăzută, în timp ce numărul pacienților cu disfuncții imune a crescut dramatic în ultimele decenii. Lucrările analizate descriu cinci grupe de risc: pacienții oncologici, cu infecția HIV, pacienții cu transplant (de măduvă hematogenă sau de organe solide), bolnavii critici sau cu intervenții chirurgicale laborioase (pacienți cu arsuri extinse, cateterizați), vârstnicii și nou-născuții din secțiile de terapie intensivă [39].

Utilizarea imprudentă a antimicoticelor în profilaxia micozelor a rezultat cu selectarea crescută a fungilor rezistenți către majoritatea acestor preparate [41]. Apariția rezistenței dobândite la speciile prevalente de fungi patogeni reduce posibilitățile unui tratament eficient și implică sporirea morbidității și a mortalității în rândurile populației, dar și creșterea costurilor de îngrijire și tratament al persoanelor afectate [50].

Lipsa datelor naționale valide, standardizate privind IFI, precum și prezența deficiențelor în stabilirea diagnosticului au fost premisele principale ale realizării acestei cercetări. Acest articol prezintă rezultatele analizei studiilor relevante în acest domeniu complex al fungilor, patologiiile cauzate și tendințele actuale în diagnosticul IFI. În Moldova problema IFI este puțin cercetată din punct de vedere epidemiologic și clinic, sunt abordate insuficient aspectele diagnosticului de laborator.

Materiale și metode

În această lucrare a fost făcută analiza publicațiilor privind diagnosticul infecțiilor fungice, utilizând bazele de date *PubMed*, *Embase*, *Cochrane*, cuvintele-cheie fiind: *infecții fungice invazive*, *diagnosticul micozelor*, *rezistența la antimicotice*. Ulterior, prin aplicarea criteriilor de includere și celor de exclude, studiile au fost sistematizate și pentru analiză au fost selectate cele mai relevante articole publicate în ultimile decenii.

Rezultate și discuții

Considerații generale

Fungii, ca agenți patogeni, sunt implicați tot mai frecvent în patologia infecțioasă umană. Infecția fungică invazivă este o cauză bine cunoscută a morbidității și a mortalității în cazul persoanelor imunocompromise, inclusiv al celor care au suportat transplanturi de organe, boli maligne sau terapie cu corticosteroizi și chimioterapice [18, 28]. Cercetările denotă importanța introducerii unor metode noi,

eficiente de profilaxie, diagnostic și tratament pentru managementul cu succes al acestor complicații infecțioase [6].

Prin prisma datelor din literatura de specialitate, infecția fungică invazivă se definește ca evidențierea fungilor într-un situs steril fiziologic, fie prin examen histocitologic al unui prelevat obținut prin puncție, aspirație sau biopsie, fie prin cultura pozitivă dintr-un prelevat recoltat steril prin puncție, aspirație dintr-un situs steril fiziologic (excepție – urina, sinusurile și mucoasele), în prezența semnelor clinice sau radiologice compatibile cu fungul identificat [39].

Unii autori subliniază semnificația fungilor în calitate de agenți cauzali ai infecțiilor asociate asistenței medicale (IAAM) [46]. Autorii studiilor analizate atribuie un risc crescut de infecție fungică invazivă pacienților care asociază doi factori de risc major cu doi factori de risc minor sau un factor de risc major cu trei factori de risc minor [39].

Autorii studiilor listează ca *factori de risc major*: imunosupresia, neutropenia, transplantul de măduvă hematogenă sau de organe solide, trauma severă recentă, arsurile (>50% din suprafața corporală), chirurgia majoră abdominală, urologică, peritonita fecaloidă, insuficiența renală acută, insuficiența hepatică, scorurile mari de severitate. Aceeași sursă enumeră și *factorii de risc minor* precum: antibioterapie cu spectru larg, nutriție parenterală totală, ventilație mecanică, spitalizare în terapia intensivă >7 zile, cateter venos central, cateter urinar, hemodializă, diaree, neoplazii [7].

Considerații etiologice privind infecțiile fungice invazive

Actualmente, numărul redus de cazuri diagnosticate confirmate și raportate ca infecții fungice invazive, dovedite prin izolarea culturilor din situsuri normal sterile, a determinat mulți cercetători să studieze biosubstraturi (hemoculturi, lichid cefalorahidian) și să identifice speciile izolate cel mai frecvent din acestea [35].

Majoritatea studiilor analizate au stabilit că fungii cu potențial de a cauza IFI sunt levurile (*Candida* spp., *Cryptococcus* spp.) și fungii filamentoși (*Aspergillus* spp., *Fusarium* spp., *Scedosporium prolificans*, *Mucor*, *Rhizopus* și *Rhizomucor*, *Absidia*) [40].

Totodată, aceste infecții pot fi cauzate de *Histoplasma capsulatum*, *Coccidioides immitis*, *Blastomyces dermatitidis*, *Paracoccidioides* spp., *Sporothrix* spp. și *Penicillium marneffe* [45].

Unele studii au înregistrat și implicarea foarte rară în etiologia IFI a *Saccharomyces* spp., *Trichosporon* spp., *Malassezia* spp., *Geotrichum candidum*, *Hansenula anomala*, *Rhodotorula* spp., *Picchia* spp. [45].

Majoritatea studiilor analizate în această lucrare atestă o creștere a frecvenței IFI cauzate de fungi oportuniști. Totodată, se constată și modificarea

spectrului patogenilor implicați în etiologia acestora, cu predominare continuă a speciilor de *Candida* și *Aspergillus*. Aceiași autori menționează creșterea numărului izolatelor de *Candida* rezistente la azoli, a speciilor de *Aspergillus non-fumigatus* și a fungilor micelieni rari [23, 39].

Candida spp. include peste 150 de specii, dintre care șase specii reprezintă comensali ubicuitari (prezente pe obiecte din mediul ambiant, mediul spitalicesc, pe piele, în tractul gastrointestinal, tractul genital feminin, spută), capabili să declanșeze infecții atunci când rezistența locală sau sistemică a organismului este compromisă. Cercetările analizate au determinat candidozele ca cel mai frecvent tip de IFI în întreaga lume, inclusiv la noi în țară, *Candida albicans* fiind cea mai importantă specie izolată din biosubstraturi sterile, cu tendința de implicare din ce în ce mai frecventă a speciilor de *C. tropicalis*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *C. krusei* și *C. lusitaniae* [13, 15, 22, 46].

Emergența speciei de *C. auris* multirezistentă, asociată cu focare de candidemie în multe țări reprezintă o amenințare gravă la adresa sănătății publice la nivel global [31].

Patogenitatea IFI se validează prin factori de gazdă și iatrogeni de rupere a barierelor de apărare ale gazdei (antibiototerapia prelungită ce modifică structura microbiocenozelor), factori de favorizare a pătrunderii în sânge a fungilor, cum sunt consumul intravenos de droguri, cateterele de polietilenă, implanturile protetice cardiace etc. [8, 25, 36].

Analizând majoritatea studiilor publicate, observăm că un risc major de IFI se atribuie pacienților cu transplant medular sau de celule stem. Genul *Aspergillus* include peste 180 de specii, dintre care doar 20 au fost implicate în infecții oportuniste la om. Microorganisme ubicuitare sunt prezente în sol, apă, alimente, aer și, în particular, în materia vegetală în curs de degradare. *Aspergillus fumigatus* este identificat cel mai frecvent în patologie, de la manifestări alergice până la aspergiloza invazivă [11, 25].

Principii de clasificare și manifestări clinice

În ultimul timp, o mare parte din cercetările științifice sunt orientate spre infecțiile fungice invazive. Argumentarea realizării unor astfel de studii este justificată prin frecvența în creștere a acestor infecții, prin dificultățile terapeutice și prin intenția de optimizare a măsurilor de profilaxie la pacienți cu risc crescut [6, 9, 18, 21].

Rezultatele studiilor științifice publicate denotă implicarea fungilor în dezvoltarea a trei tipuri de îmbolnăviri: *alergii la antigene fungice* (de ex., aspergiloza alergică bronhopulmonară); *intoxicații, micotoxicoze* – ingestie de alimente ce conțin toxine (de ex., aflatoxine); *micoze* – invazia țesuturilor de către un fung (superficiale – dermatomicoze, subcutanate, invazive) [27, 32].

Alți autori categorisesc la rândul lor infecțiile fungice precum: *infecții fungice invazive endemice* sau *cu afectare pulmonară* care, spre deosebire de fungii oportuniști, pot apărea și la persoane imunocompetente. Aceste infecții sunt confirmate prin cultură din locul afectat, în contextul unor simptome clinice sugestive; dacă nu se pot obține culturi sau acestea sunt negative, diagnosticul poate fi confirmat serologic și histopatologic; *infecții fungice invazive oportuniste* pot fi numite următoarele infecții: candidoza sistemică, aspergiloza invazivă cu manifestare pulmonară, zigomicozele, criptococoza cu manifestare pulmonară sau meningiană etc. [24, 44].

Epidemiologia și factorii de risc pentru infecțiile fungice invazive

Importanța abodării principiilor epidemiologice ale IFI reiese din indicatorii de frecvență, de gravitate și din evaluarea etiologică dinamică [37]. Date reale despre incidența și mortalitatea atribuibile infecțiilor fungice invazive sunt dificil de obținut din cauza subdiagnosticării, subraportării și a diferențelor în cerințele de confirmare a diagnosticului [19, 20, 39].

Factorii epidemiologici necesari pentru declanșarea infecțiilor fungice invazive sunt reprezentați de *rezervorul și surse de infecție* – mediul înconjurător, foarte rar omul bolnav.

Majoritatea fungilor sunt ubicuitari, astfel există posibilitatea de declanșare a infecției fungice invazive, dar aceasta se întâmplă în condiții de imunosupresie a organismului.

Studiile recente denotă proveniența endogenă (de ex., tractul intestinal) a speciilor de *Candida* spp. În același timp, fungii filamentoși ca *Aspergillus* spp. și *Fusarium* spp. sunt prezenți în aer, suprafețe umede, ape etc. [14].

Căile de transmitere a infecțiilor fungice invazive:

- *aeriană*, inhalarea de aerosoli conținând conidii sau apă contaminată cu *Aspergillus* spp., urmată de apariția unor mici izbucniri epidemice asociate unor riscuri de mediu spitalicesc;
- *digestivă*, prin ingestia unor alimente mucegăite, cu apariția de cazuri sporadice de mucormicoză, descrise uneori chiar la persoane imunocompetente;
- *de contact*, cel mai frecvent asociată cu transmiterea în colectivități a micozelor pielii și a fanerelor, rară, asociată bandajelor în coccidiomicoză;
- *prin instrumentar medical*, cateterizări prelungite și nutriție parenterală totală – *Candida* spp. *Malassezia furfur*, *Trichophyton* spp.

Receptivitatea organismului-gazdă este cel mai important factor implicat în determinarea infecțiilor fungice invazive. Condiția de imunosupresie se regăsește în cele cinci mari grupe de risc enumerate anterior. Afectarea uneia sau a mai multor bariere de apărare

crează condiții de oportunitate pentru IFI [6, 19].

Supravegherea epidemiologică a speciilor de fungi identificate, cu monitorizarea sensibilității la antimicotice într-un anumit teritoriu, spital are importanță primordială pentru identificarea tendințelor de dezvoltare a rezistenței către aceste preparate [2, 37, 39].

Tendențe actuale privind diagnosticul de laborator în infecția fungică invazivă

Un diagnostic de IFI veridic confirmat necesită evidențe histologice și/sau micologice din biopsii de țesut, material de rezecție sau detectarea agentului patogen din specimene în mod normal sterile, inclusiv hemoculturi. În același timp, aceste criterii cel mai des nu pot fi evidențiate în stadiile incipiente ale infecției. Prin urmare, decizia de inițiere a terapiei antifungice la persoanele imunocompromise se bazează preponderent pe criterii clinice, cum ar fi febra persistentă la antibioterapie sau simptomele pulmonare, cu detectarea infiltrațiilor pulmonare prin radiografia toracică și/sau tomografie computerizată [20, 47].

Standardele internaționale recomandă ca algoritmul de diagnostic al IFI evaluarea semnelor și a simptomelor clinice, examinarea micologică prin microscopie și tehnici de cultivare sau altele, ca cercetarea serologică (detectarea antigenelor, anticorpilor), metode moleculare, proceduri imagistice, endoscopice și examinarea citologică și/sau histologică a materialului biopsic [20, 26].

În practica de rutină, medicul curant, la suspjecția unei infecții fungice invazive, se recomandă să utilizeze criterii de diagnostic clinic, de laborator și imagistic, întrucât probele bioptice și microbiologice sunt extrem de dificil de obținut, iar tratamentul antifungic trebuie inițiat fără întârziere. Conform criteriilor Organizației Europene pentru Cercetarea și Tratatamentul Cancerului/Infecțiilor fungice și ale grupului de studiu EORTC/Mycoses (European Organization for Research and Treatment of Cancer), sunt definite trei tipuri de infecție fungică invazivă, în funcție de certitudinea diagnosticului [17]:

- *Infecția fungică confirmată*, ce presupune demonstrarea invaziei fungice tisulare prin biopsie. Speciile de fungi sunt adesea dificil de diferențiat. Mucegaiurile ce prezintă septuri la examinarea anatomică sunt, de regulă, specii de *Aspergillus*.

- *Infecția fungică probabilă*, ce cuprinde infecții fungice invazive care întrunesc prezența a trei condiții: factori de risc înalți pentru apariția infecțiilor fungice legați de gazdă, tablou clinic sugestiv, inclusiv febră sub antibioterapie cu spectru larg și probe micologice indirecte pozitive, dar la care nu se poate demonstra existența leziunilor tisulare imagistic sau biptic.

- *Infecția fungică posibilă* întrunește cazurile în care pacientul se află într-o categorie înaltă de risc pentru apariția infecțiilor fungice invazive, dar nu are fie tablou clinic sugestiv, fie probe micologice indirecte

pozitive. Acesta este considerat cu infecție posibilă și este inițiat tratamentul antifungic empiric.

Majortatea studiilor subliniază importanța managementului eficient al cazului de infecție fungică invazivă, ce presupune prezența datelor bazate pe dovezi privind patogenia, aspectele epidemiologice, clinice și terapeutice ale acestor infecții. Pentru a dispune de aceste date, este esențial examenul micologic cu izolarea, identificarea agentului etiologic și determinarea profilului de sensibilitate la antifungice [13, 15].

Sursele analizate descriu importanța implicării clinicianului în procesul de indicare și recoltare corespunzătoare a biosubstraturilor, în scopul obținerii rezultatelor veridice și în timp rezonabil. Se subliniază comunicarea eficientă dintre clinician și microbiolog, precum și existența și respectarea unor proceduri clare, cunoscute de întreg personalul medical implicat. Este crucial ca clinicianul și asistenta medicală să cunoască aceste proceduri, astfel încât acesta să poată face o solicitare corectă a analizelor, să poată verifica corectitudinea recoltării și să le poată interpreta în contextul clinic al fiecărui pacient [6, 12, 22].

Un șir de autori menționează că nerespectarea standardelor de pregătire a pacienților, de recoltare, de transport sau de depozitare a probelor va duce la posibile erori soldate cu rezultate fals negative sau fals pozitive, după caz. Pentru evitarea acestor erori, sunt imperioase existența și aplicarea unor proceduri clare de recoltare și de management al biosubstraturilor [15, 20].

Autorii menționează că majoritatea pacienților cu IFI sunt în stare gravă, din această cauză obținerea culturilor, mai ales a biopsiilor, care să confirme diagnosticul de infecție fungică invazivă, este extrem de dificil de realizat. Diagnosticul clasic al candidozelor se bazează pe cercetarea hemoculturii la prezența fungilor, care însă se pozitivează în aproximativ 72 de ore și are o rată de fals negativitate de 30-50%, limitându-i utilitatea [35].

După cum a fost menționat anterior, managementul eficient al cazului de IFI presupune:

- *Examenul microscopic direct* al frotiurilor efectuate din biosubstraturi. Această tehnică se recomandă de efectuat sistematic, deoarece ea evidențiază elementele structurale ale celulei fungice, permițând stabilirea rapidă a diagnosticului. Mai informative sunt frotiurile colorate după metodologii specifice. La investigarea histopatologică a fungilor filamentoși pot fi evidențiate celule înmugurite, pseudohife și hife septate [12, 42].

- *Examenul serologic*, descris în majoritatea studiilor drept criteriu important în stabilirea diagnosticului (date bazate pe dovezi micologice indirecte). Autorii listează teste sensibile și specifice pentru diagnosticul de candidoză invazivă, aspergiloză, *Histo-*

plasma capsulatum și *Cryptococcus neoformans*, însă rezultatul acestora frecvent este discutabil din cauza prezenței interferențelor. Testul imunoenzimatic de identificare a unui component al peretelui celular al fungilor, (1,3)-beta-D glucan prezintă o sensibilitate de 95,0% și o specificitate de 85,0%, la fel și rezultatele testului galactomannan. Analizând standardele internaționale, s-a stabilit că cercetarea serologică pentru candidoză presupune testarea compusului manan și manoproteinele din structura peretelui celular (markeri de infecție invazivă). În cazul aspergilozei se determină compusul galactomannan în lichidele seroase, urină, lavajul bronșic. În criptococoză se pot evidenția antigene sau anticorpi în ser, lichidul cefalorahidian, pentru histoplasmoză se determină antigenul polizaharidic de *H. capsulatum* în ser, lavajul bronho-alveolar, urină [1, 10, 13, 15].

• *Cultivarea și izolarea fungilor filamentoși*, în general, sunt mai dificile decât cele ale levurilor. Rezultate relevante se pot obține la investigarea fluidelor sterile (de ex., sânge, exudat pleural, lichid cerebrospinal) și materialului bioptic. Studiile relatează că numai 50,0% (maximum 80,0%) de pacienți cu IFI confirmată histologic pot avea hemocultura pozitivă pentru fungi. În acest context, investigarea succesivă a două hemoculturi perechi este metoda de elecție pentru a detecta fungemia [28, 35]. Studiile analizate recomandă testarea sensibilității antifungice conform standardului european EUCAST (European Committee for Antimicrobial Susceptibility Testing) și celui american CLSI (Clinical Laboratory and Standards Institute) [16, 34].

• *Examenului imagistic* îi revine un rol esențial în stabilirea diagnosticului. Studiile recomandă utilizarea roentgenografiei, ecografiei, tomografiei computerizate (TC) și rezonanței magnetice nucleare (RMN). Examinarea prin TC este standardul de aur, deoarece leziunile precum semnul haloului, nodulii pulmonari, leziunile cavitare și semnul „air-crescent” sau infiltrate nespecifice în infecțiile fungice invazive apar devreme [3, 33, 43].

• *Reacția de polimerizare în lanț (PCR)*. În ultimele decenii s-au dezvoltat numeroase sisteme de testare PCR pentru detectarea *Aspergillus* spp., în special a *A. fumigatus*. Sensibilitatea și specificitatea reacției de polimerizare în lanț sunt mai înalte din lavajul bronho-alveolar decât din sânge. Actualmente sunt disponibile test-sisteme comerciale ce permit detectarea de până la 21 agenți fungici [38, 49].

• *Examenul endoscopic* este util în investigarea infiltratelor pulmonare (bronhoscopia cu recoltarea exudatului bronho-alveolar). Cu toate acestea, studiile descriu sensibilitatea investigării exudatului bronho-alveolar prin metoda de cultivare numai la 50,0%. Autorii recomandă endoscopia nazală la pacienții cu suspexie la sinuzite fungice invazive [26].

• *Biopsia de organe* este indicată în toate cazurile când este posibil din punct de vedere clinic. Ulterior, probele de biopsie sunt destinate examinării micologice, moleculare și necesită transportarea în soluție salină izotonică pentru prevenirea desicării țesutului [20].

Combinarea testelor în diagnosticul infecțiilor fungice. Testarea combinată a (1,3)-β-D-glucan și galactomannanului sunt relevante din punct de vedere clinic și utile în diagnosticul aspergilozei. Evidențe științifice prezintă utilitatea testării combinate a galactomannanului, reacției de polimerizare în lanț și tomografiei computerizate în suspexia la aspergiloză invazivă, comparativ cu folosirea acestor teste aparte. Actualmente sunt înregistrate tot mai multe cercetări privind evaluarea eficienței combinației diferitor biomarkeri și a altor teste de diagnosticare (TC, RMN) în baza celei mai bune valori predictive pozitive (PPV) pentru diagnosticul IFI [1].

Criterii de confirmare a diagnosticului de infecție fungică invazivă [29]:

a) evidențierea la nivel tisular (din prelevate aspirate sau bioptice) prin citohistochimie a prezenței hifelor (expresia fungilor filamentoși) sau a formelor ovalare ori a pseudohifelor (mănușchi de celule înmugurite) produse de majoritatea speciilor de *Candida*, asociate cu leziuni tisulare nete sau culturi pozitive din prelevate obținute steril de la nivelul unui situs obișnuit steril, dar sugestiv clinic sau radiologic pentru prezența infecției;

b) evidențierea fungemiei pentru specii de *Candida* sau a altor fungi la pacienții cu simptomatologie sugestivă pentru un anumit microorganism. Fungemia este o raritate în infecțiile cu *Aspergillus* spp. și *Penicillium* spp., acompaniată de simptomatologie sugestivă pentru microorganismul incriminat.

Screeningul infecțiilor fungice. Scopul acestor investigații este de a localiza orice infecție fungică și a nu permite să se manifeste sistemic. Supravegherea de rutină prin cultivarea biosubstraturilor (spălături orofaringiene, spută, tampoane nazofaringiene, fecale) are o valoare predictivă mai puțin clară pentru diagnosticul infecțiilor fungice invazive și nu este în general recomandată. Screeningul ecografic abdominal, radiografia toracică, PCR în timp real pot fi efectuate dacă sunt indicații clinice. Programe regulate de screening se recomandă numai la pacienții cu risc înalt de infecție fungică invazivă [9, 30].

Principii de tratament al infecțiilor fungice invazive

În ultimii 20 de ani, în terapia infecțiilor fungice invazive se atestă tot mai fecvent provocări și eșecuri terapeutice [2, 13, 16, 50].

Terapia timpurie este recomandată de autorii unor studii ca tratament prezumtiv/timpuriu în in-

fecțiile fungice probabile sau posibile la pacientul cu factori de risc pentru o IFI, la care prezența agentului etiologic este susținută doar de testele serologice. Astfel, terapia poate fi inițiată mult mai rapid, înainte de a obține confirmarea micologică de laborator, folosind aceleași principii ca și în cazul terapiei empirice. Totuși, testele serologice au disponibilitate și specificitate reduse comparativ cu datele micologice și nu sunt standardizate [9, 48].

Terapia țintită este descrisă de aceiași autori, care denotă că ulterior, când deja este disponibilă fungigrama, alegerea tratamentului se va face conform rezultatelor oferite de aceasta și luându-se în considerare datele clinice. În caz că, dintr-un anumit motiv, fungigrama nu este disponibilă, tratamentul va fi ghidat de datele epidemiologice privind sensibilitatea la antifungice [13].

Monitorizarea rezistenței antifungice. Există preocupări în toată lumea legate de evaluarea datelor epidemiologice privind speciile existente în fiecare regiune, țară, zonă, spital și departament și sensibilitatea acestora la antifungice, care pot fi identificate automat sau utilizând metode vizuale. Sistemul automat de identificare a fungilor și a sensibilității la antifungice identifică așa-numitele „breakpoints” echivalente CMI (concentrație minimă inhibitoare), iar sistemul de microdiluții permite analiza unor diluții progresive de antifungic și stabilirea nivelului CMI, analizând viramentul de culoare [2].

Concluzii

1. Infecțiile fungice invazive sunt o cauză tot mai frecventă de morbiditate și mortalitate la persoanele imunocompromise și impun introducerea unor noi metode eficiente de diagnostic, tratament și profilaxie.

2. Creșterea posibilităților de diagnosticare a IFI, cu identificarea categoriei de funghi, poate influența pozitiv managementul acestor infecții.

3. *Candida albicans* este cea mai frecventă specie implicată în etiologia acestor infecții, urmată de tendința de creștere a incidenței IFI cauzate de *Candida non-albicans*, în special *Candida glabrata*.

4. Posibilitățile terapiei antifungice sunt reduse din cauza utilizării incorecte a acesteia, urmată de dezvoltarea rezistenței, ceea ce induce necesitatea testării sensibilității la antifungice și monitorizarea evoluției nivelurilor CMI, cu raportarea lor ulterioară.

5. Monitorizarea la nivel național a datelor epidemiologice privind IFI va fi un reper tehnic pentru elaborarea strategiilor preventive și terapeutice.

6. Prevenirea și diminuarea incidenței acestor infecții la nivel global se pot realiza prin diminuarea afecțiunilor ce necesită transplant, chimioterapie, antibioterapie, terapie hormonală și imunosupresivă.

7. Implementarea examenului micologic al mediului de spital, cu evaluarea nivelurilor de risc, e utilă pentru aplicarea corectă a strategiilor de igienă și supraveghere epidemiologică.

8. Studiile analizate recomandă implementarea tehnicilor rapide de identificare a fungilor în secțiile oncologie, de terapie intensivă, boli infecțioase, chirurgie-transplant, pneumologie la pacienții cu probabilitate crescută de a dezvolta IFI.

Bibliografie

1. Aguado J.M., et al. Serum galactomannan versus a combination of galactomannan and polymerase chain reaction-based aspergillus DNA detection for early therapy of invasive aspergillosis in high-risk hematological patients: A randomized controlled trial. In: *Clinical Infectious Diseases*, 2015, nr. 60, pp. 405–414.
2. Arendrup M.C., Perlin D.S. Echinocandin resistance: an emerging clinical problem? In: *Current Opinion in Infectious Diseases*, 2014; nr. 27, pp. 484–492.
3. Aribandi M., Bazan C. CT and MRI features in Bipolaris fungal sinusitis. In: *Australas Radiol.*, 2007, nr. 51(2), pp. 127–132.
4. Avni T., et al. Diagnostic accuracy of PCR alone compared to galactomannan in bronchoalveolar lavage fluid for diagnosis of invasive pulmonary aspergillosis: a systematic review. In: *Journal of Clinical Microbiology*, 2012, nr. 50(11), pp. 3652–3658.
5. Baddley J.W. et al. Antifungal therapy and length of hospitalization in transplant patients with invasive aspergillosis. In: *Med. Mycol.*, 2013, nr. 51, pp. 128–135.
6. Badiie P., et al. Consideration of Invasive Fungal Infections in Immunocompetent Hosts. In: *Arch. Clin. Infect. Dis.*, 2017, nr. 12(4):e66111.
7. Bassetti M., et al. A multicenter multinational study of abdominal candidiasis: epidemiology, outcomes and predictors of mortality. In: *Intensive Care Med.*, 2015, nr. 41(9), pp. 1601–1610.
8. Brakhage A. Aspergillus fumigatus conidial pigment and cAMP signal transduction, significance for virulence. In: *Med Mycol.*, 2005, nr. 43 (Suppl. 1), pp. 75–82.
9. Capoor M.R. et al. Screening of invasive fungal infections by a real-time panfungal (pan-ACF) polymerase chain reaction assay in patients with haematological malignancy. In: *Indian J. Med. Microbiol.*, 2017, nr. 35(1), pp. 41–47.
10. Ceesay M.M., et al. A comprehensive diagnostic approach using galactomannan, targeted beta-dglucan, baseline computerized tomography & biopsy yields a significant burden of invasive fungal disease in at risk haematology patients. In: *Br. J. Haematol.*, 2015, nr. 168, pp. 219–229.
11. Challa S. Pathogenesis and pathology of invasive aspergillosis. In: *Current Fungal Infection Reports*, 2018, nr. 12, pp. 23–32.
12. Choe P.G., et al. Diagnostic value of direct fluorescence antibody staining for detecting Pneumocystis jirovecii in expectorated sputum from patients with HIV infection. In: *Med. Mycol.*, 2014, nr. 52(3), pp. 326–330.
13. Cornely O.A., et al. ESCMID guideline for the diagnosis and management of Candida diseases 2012: non-neutropenic adult patients. In: *Clinical Microbiology and Infection*, 2012; nr. 18 (Suppl. 7), pp. 19–37.
14. Cottier F., Pavelka N. Complexity and dynamics of host-fungal interactions. In: *Immunol. Res.*, 2012, nr. 53, pp. 127–135.

15. Cuenca-Estrella M., et al. ESCMID guideline for the diagnosis and management of Candida diseases. diagnostic procedures. In: *Clin. Microbiol. Infect.*, 2012, nr. 18, pp. 9–18.
16. Cuenca-Estrella M. Antifungal drug resistance mechanisms in pathogenic fungi: from bench to bedside. In: *Clin. Microbiol. Infect.*, 2014, nr. 20 (Suppl 6), pp. 54–59.
17. De Pauw B., Walsh T.J., Donnelly J.P., et al. European Organization for Research and Treatment of Cancer/Invasive Fungal Infections Cooperative Group; National Institute of Allergy and Infectious Diseases Mycoses Study Group Consensus Group. Revised definitions of invasive fungal disease from the European Organization for Research and Treatment of Cancer/Invasive Fungal Infections Cooperative Group and the National Institute of Allergy And Infectious Diseases Mycoses Study Group (EORTC/MSG) Consensus Group. In: *Clin. Infect. Dis.*, 2008, nr. 46, pp. 1813–1821.
18. Drgona L., et al. Clinical and economic burden of invasive fungal diseases in Europe: focus on pre-emptive and empirical treatment of Aspergillus and Candida species. In: *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, 2014, nr. 33, pp. 7–21.
19. Enoch D., et al. The Changing Epidemiology of Invasive Fungal Infections. In: *Methods Mol. Biol.*, 2017, nr. 1508, pp. 17–65.
20. Falci D.R., et al. A Review of Diagnostic Methods for Invasive Fungal Diseases: Challenges and Perspectives. In: *Infect. Dis. Ther.*, 2017, nr. 6(2), pp. 213–223.
21. Garcia-Vidal C., et al. Pathogenesis of invasive fungal infections. In: *Curr. Opin Infect. Dis.*, 2013, nr. 26(3), pp. 270–276.
22. Gaspar G.G. Evaluation of the predictive indices for candidemia in an adult intensive care unit. In: *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.*, 2015, nr. 48(1), pp. 77–82.
23. Guinea J. Global trends in the distribution of Candida species causing candidemia. In: *Clin. Microbiol. Infect.*, 2014, nr. 20, pp. 5–10.
24. Hagen F., et al. Recognition of seven species in the Cryptococcus gattii/Cryptococcus neoformans species complex. In: *Fungal Genetics and Biology*, 2015, nr. 78, pp. 16–48.
25. Hedayati M.T., et al. Aspergillus flavus: human pathogen, allergen and mycotoxin producer. In: *Microbiology*, 2007, nr. 153, pp. 1677–1692.
26. Hohenadel I.A., et al. Role of bronchoalveolar lavage in immunocompromised patients with pneumonia treated with a broad spectrum antibiotic and antifungal regimen. In: *Thorax*, 2001, nr. 56(2), pp. 115–120.
27. King J., et al. Recognition and Clinical Presentation of Invasive Fungal Disease in Neonates and Children. In: *J. Pediatric Infect. Dis. Soc.*, 2017, nr. 6 (suppl. 1), pp. 12–21.
28. Kontoyannis D.P., et al. Diagnosis and treatment of invasive fungal infections in the cancer patient: Recent progress and ongoing questions. In: *Clin. Infect. Dis.*, 2014, nr. 59 (Suppl. 5), pp. 356–359.
29. Lehrnbecher T., Becker K., Groll A.H. Current algorithms in fungal diagnosis in the immunocompromised host. In: *Human fungal pathogen identification: Methods and protocols*, 2017, pp. 67–84.
30. Lloyd B., et al. Effect of early screening for invasive fungal infections in U.S. service members with explosive blast injuries. In: *Surg. Infect. (Larchmt)*, 2014, nr. 15(5), pp. 619–626.
31. Lockhart S.R., et al. Simultaneous emergence of multidrug-resistant Candida auris on 3 continents confirmed by whole-genome sequencing and epidemiological analyses. In: *Clinical Infectious Diseases*, 2017, nr. 64, pp. 134–140.
32. McCrary K., Craig T., Ledford D.K. Allergic broncho pulmonary aspergillosis. In: *Allergy and Asthma*. 1st ed. Switzerland, Cham: Springer; 2019, pp. 1–10.
33. Mylonakis E., et al. T2 magnetic resonance assay for the rapid diagnosis of candidemia in whole blood: A clinical trial. In: *Clin. Infect. Dis.*, 2015, nr. 60, pp. 892–899.
34. National Committee for Clinical Laboratory Standards. *Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility testing of Yeasts*. Approved Standard M27-A.
35. Nawrot U., et al. Evaluation of blood culture media for the detection of fungi. In: *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, 2015, nr. 34(1), pp. 161–167.
36. Oksuz S., et al. Phospholipase & proteinase activities in different Candida spp. isolated from anatomically distinct sites of healthy adults. In: *Jpn. J. Infect. Dis.*, 2007, nr. 60, pp. 280–283.
37. Park B.J., et al. Epidemiology of systemic fungal diseases: an overview. In: Kauffman C.A. *Essentials of Clinical Mycology*. Vol. 13. New York: Springer, 2011. 553 p.
38. Pini P., et al. Clinical performance of a commercial real-time PCR assay for Aspergillus DNA detection in serum samples from high-risk patients: comparison with a galactomannan enzyme immunoassay. In: *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*
39. Radulescu A., Junie M., Țăulescu D. Noi tendințe în epidemiologia infecțiilor fungice invazive. In: *Scientia Parasitologica*, 2008, nr. 1, pp. 25–35.
40. Ramana K.V., et al. Pulmonary Cryptococcosis Secondary to Bronchial Asthma Presenting as Type I Respiratory Failure - A Case Report with Review of Literature. In: *Viol. Mycol.*, 2012, nr. 1, p. 107.
41. Robbins C., et al. Molecular evolution of antifungal drug resistance. In: *Ann. Rev. Microbiol.*, 2017, nr. 71, pp. 753–775.
42. Sangoi A.R. Challenges and pitfalls of morphologic identification of fungal infections in histologic and cytologic specimens: a tenyear retrospective review at a single institution. In: *Am. J. Clin. Pathol.*, 2009, nr. 131(3), pp. 364–375.
43. Semelka R.C., et al. Detection of acute and treated lesions of hepatosplenic candidiasis: comparison of dynamic contrast-enhanced CT and MR imaging. In: *J. Magn. Reson. Imaging*, 1992, nr. 2(3), pp. 341–345.
44. Sloan D.J., et al. Cryptococcal meningitis: epidemiology and therapeutic options. In: *Clin. Epidemiol.*, 2014, nr. 6, pp. 169–182.
45. Stephenie Y. N. Wong and K. F. Wong. Penicillium marneffeii Infection in AIDS. In: *Pathology Research International*, 2011, Article ID 764293, 10 p.
46. Suleyman G., Alangaden G. Nosocomial Fungal Infections: Epidemiology, Infection Control, and Prevention. In: *Infect. Dis. Clin. North Am.*, 2016, nr. 30(4), pp. 1023–1052.
47. Thomas F., Patterson., Donnelly. New Concepts in Diagnostics for Invasive Mycoses: Non-Culture-Based Methodologies J. Peter. In: *J. Fungi*, 2019, nr. 5, p. 9.
48. Webb B.J. et al. Epidemiology and Clinical Features of Invasive Fungal Infection in a US Health Care Network. In: *Open Forum Infect. Dis.*, 2018, nr. 5(8):ofy187.
49. White P.L., Wingard J.R., Bretagne S., et al. Aspergillus polymerase chain reaction: systematic review of evidence for clinical use in comparison with antigen testing. In: *Clin. Infect. Dis.*, 2015, nr. 61(8), pp. 1293–1303.
50. Wiederhold N.P. Antifungal resistance: current trends and future strategies to combat. In: *Infect. Drug Resist.*, 2017, nr. 10, pp. 249–259.

Olga Burduniuc, șef laborator,
 Agenția Națională pentru Sănătate Publică,
 tel.: 022574703; 068144477,
 e-mail: olgaburduniuc3@gmail.com