



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΔΥΤΙΚΗΣ ΑΤΤΙΚΗΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ ΚΑΙ ΠΡΟΝΟΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΒΙΟΪΑΤΡΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ
ΤΟΜΕΑΣ ΙΑΤΡΙΚΩΝ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΩΝ

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

**ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ ΜΥΚΗΤΑΙΜΙΩΝ ΑΠΟ ΣΠΑΝΙΟΥΣ
ΜΥΚΗΤΕΣ ΣΕ ΕΝΑ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΑΚΟ
ΝΟΣΟΚΟΜΕΙΟ ΤΡΙΤΟΒΑΘΜΙΑΣ ΦΡΟΝΤΙΔΑΣ ΣΤΟ
ΧΡΟΝΙΚΟ ΔΙΑΣΤΗΜΑ 2009-2022**

ΑΛΕΥΡΑ ΑΓΓΕΛΙΚΗ - 19678005
ΜΗΤΣΟΠΟΥΛΟΣ ΔΗΜΗΤΡΙΟΣ - 19678178

ΕΠΙΒΛΕΠΟΥΣΑ ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ
ΣΙΩΠΗ ΜΑΡΙΑ, Ph.D., ΑΚΑΔΗΜΑΪΚΗ ΥΠΟΤΡΟΦΟΣ

ΑΘΗΝΑ 2024



UNIVERSITY OF WEST ATTICA
FACULTY OF HEALTH AND CARE SCIENCES
DEPARTMENT OF BIOMEDICAL SCIENCES
DIVISION MEDICAL LABORATORIES SCIENCE

DISSERTATION

**EPIDEMIOLOGICAL TRENDS OF FUNGEMIA DUE
TO RARE FUNGI IN AN ACAMEDIC TERTIARY CARE
HOSPITAL DURING 2009-2022**

ALEVRA ANGELIKI - 19678005
MITSOPOULOS DIMITRIOS - 19678178

SUPERVISOR
SIOPI MARIA, Ph.D., ACADEMIC SCHOLAR

ATHENS 2024

Μέλη Τριμελούς Εξεταστικής Επιτροπής

Μαρία Σιώπη

Απόστολος Μπελούκας

Χρυσάνθη Βογιατζάκη

Δήλωση συγγραφέων πτυχιακής διπλωματικής εργασίας

Οι κάτωθι υπογεγραμμένοι, Αγγελική Αλευρά του Κωνσταντίνου, με αριθμό μητρώου 19678005, και Δημήτριος Μητσόπουλος του Φωτίου, με αριθμό μητρώου 19678178, φοιτητές του τμήματος Βιοϊατρικών Επιστημών της Σχολής Επιστημών Υγείας και Πρόνοιας του Πανεπιστημίου Δυτικής Αττικής, δηλώνουμε ότι:

«Είμαστε συγγραφείς αυτής της πτυχιακής/διπλωματικής εργασίας και ότι κάθε βοήθεια την οποία είχαμε για την προετοιμασία της είναι πλήρως αναγνωρισμένη και αναφέρεται στην εργασία. Επίσης, οι όποιες πηγές από τις οποίες κάναμε χρήση δεδομένων, ιδεών ή λέξεων, είτε ακριβώς είτε παραφρασμένες, αναφέρονται στο σύνολό τους, με πλήρη αναφορά στους συγγραφείς, τον εκδοτικό οίκο ή το περιοδικό, συμπεριλαμβανομένων και των πηγών που ενδεχομένως χρησιμοποιήθηκαν από το διαδίκτυο. Επίσης, βεβαιώνουμε ότι αυτή η εργασία έχει συγγραφεί από εμάς αποκλειστικά και αποτελεί προϊόν πνευματικής ιδιοκτησίας τόσο δικής μας, όσο και του Ιδρύματος. Παράβαση της ανωτέρω ακαδημαϊκής μας ευθύνης αποτελεί ουσιώδη λόγο για την ανάκληση του πτυχίου μας».

Υπογραφή

Αλευρά Αγγελική



Μητσόπουλος Δημήτριος



Ευχαριστίες

Η παρούσα ερευνητική διπλωματική εργασία εκπονήθηκε στο Εργαστήριο Κλινικής Μικροβιολογίας του Πανεπιστημιακού Γενικού Νοσοκομείου (Π.Γ.Ν.) “Αττικόν”.

Με την ολοκλήρωση της εργασίας μας, επιθυμούμε να ευχαριστήσουμε θερμά τον Καθηγητή Μικροβιολογίας κ. Πουρνάρα Σπύρο (Διευθυντής Εργαστηρίου Κλινικής Μικροβιολογίας, Π.Γ.Ν. “Αττικόν”, Ιατρική Σχολή, Ε.Κ.Π.Α.), τον Αναπληρωτή Καθηγητή Μικροβιολογίας κ. Μελετιάδη Ιωσήφ (συνεπιβλέποντας της εργασίας, Υπεύθυνος Τμήματος Μυκητολογίας, Εργαστήριο Κλινικής Μικροβιολογίας, Π.Γ.Ν. “Αττικόν”, Ιατρική Σχολή, Ε.Κ.Π.Α.) και την κα Βαργιάμη Μαργαρίτα (Εργαστήριο Κλινικής Μικροβιολογίας, Π.Γ.Ν. “Αττικόν”, Ιατρική Σχολή, Ε.Κ.Π.Α.) για το φιλόξενο κλίμα και τη σημαντική αρωγή τους στην προσπάθειά μας.

Ιδιαίτερως, θα θέλαμε να εκφράσουμε τις ευχαριστίες μας στην επιβλέπουσα της πτυχιακής μας εργασίας, τη Δρ. Σιώπη Μαρία, που μας μύησε στον κόσμο της Μυκητολογίας και μας έδωσε την ευκαιρία να ασχοληθούμε με ένα τόσο ενδιαφέρον αντικείμενο. Η συνεργασία μας ήταν εξαιρετική και η καθοδήγησή της καθ’ όλη τη διάρκεια διεξαγωγής της εργασίας μας ήταν πολύτιμη.

Τέλος, οφείλουμε ένα μεγάλο ευχαριστώ στις οικογένειες και τους φίλους μας για την υποστήριξή τους και την πίστη τους σε εμάς.

Περιεχόμενα

Περίληψη.....	VI
Abstract.....	VIII
Συνοτομογραφίες.....	X
Θεωρητικό Μέρος.....	1
1. Μυκηταιμία από σπάνιους μύκητες	1
1.1 Εισαγωγή.....	1
1.2 Επιδημιολογία.....	2
1.2.1 Δυσκολίες στην επιδημιολογική επιτήρηση.....	2
1.2.2 Αιτιολογικοί παράγοντες	3
1.2.2.1 Ζυμομύκητες	3
1.2.2.2 Νηματοειδείς μύκητες	27
1.2.3 Επιπολασμός.....	50
1.3 Προδιαθεσικοί παράγοντες	54
1.4 Συμπτωματολογία	57
1.5 Εργαστηριακή διάγνωση.....	57
1.5.1 Δυσκολίες στην εργαστηριακή τεκμηρίωση της λοίμωξης.....	57
1.5.2 Εξαρτώμενες από την καλλιέργεια διαγνωστικές μέθοδοι.....	60
1.5.3 Μη βασιζόμενες στην καλλιέργεια μέθοδοι	65
1.5.4 Μελλοντικές έρευνες στη διάγνωση	71
Πειραματικό Μέρος.....	73
Σκοπός.....	73
2. Υλικά και μέθοδοι	74
2.1 Ανασκόπηση της βιβλιογραφίας.....	74
2.2 Πληθυσμός της παρούσας μελέτης και ορισμοί	74
2.3 Κλινικά στελέχη	76
2.4 Ταυτοποίηση στελεχών με MALDI-ToF MS και PCR	76
2.5 Έλεγχος της <i>in vitro</i> ευαισθησίας σε αντιμυκητικούς παράγοντες.....	85
2.6 Ανάλυση δεδομένων	95
3. Αποτελέσματα	96
3.1 Επιδημιολογία μυκηταιμίας από σπάνιους μύκητες στην Ελλάδα	96
3.2 Επιδημιολογία μυκηταιμίας από σπάνιους μύκητες στο Π.Γ.Ν. “Αττικόν”	121

4. Συζήτηση-Συμπεράσματα.....	136
Συμμετοχή σε δράσεις διάχυσης της μελέτης	153
Βιβλιογραφία	154
Παραρτήματα	171
Κατάλογος εικόνων	171
Κατάλογος πινάκων.....	176

Περίληψη

Οι μυκηταιμίες με αιτιολογικό παράγοντα κάποιο σπάνιο μύκητα αποτελούν μια αναδυόμενη κατάσταση, η οποία δεν έχει ακόμη διερευνηθεί επαρκώς. Η αντοχή που εμφανίζουν αυτά τα αναδυόμενα παθογόνα σε πολλούς αντιμυκητικούς παράγοντες αποτελούν πρόκληση για την προφυλακτική/εμπειρική αγωγή. Οι διηθητικές λοιμώξεις που προκαλούνται από σπάνιο μύκητα παρουσιάζουν γεωγραφική ποικιλότητα, όσον αφορά την επιδημιολογία και την συχνότητα εμφάνισής τους παγκοσμίως. Τα δεδομένα για το επιδημιολογικό τοπίο στην Ελλάδα είναι προς το παρόν ελάχιστα. Επομένως, πραγματοποιήσαμε ανασκόπηση της βιβλιογραφίας, με σκοπό τον προσδιορισμό των ελλείψεων στα εγχώρια επιδημιολογικά δεδομένα και εκπονήσαμε μια αναδρομική έρευνα 14 ετών, περιγράφοντας την επιδημιολογία των μυκηταιμιών από σπάνιους μύκητες σε ένα ελληνικό Πανεπιστημιακό νοσοκομείο τριτοβάθμιας φροντίδας.

Όλες οι επιβεβαιωμένες περιπτώσεις μυκηταιμιών από σπάνιο μύκητα σε ασθενείς που νοσηλεύονταν στο Πανεπιστημιακό νοσοκομείο «Αττικόν» κατά την διάρκεια 01/04/2009-31/12/2022 καταγράφηκαν. Τα δημογραφικά και κλινικά χαρακτηριστικά των ασθενών αντλήθηκαν από το κλινικό ιστορικό τους (εάν ήταν διαθέσιμο). Το ποσοστό επίπτωσης της λοίμωξης εκφράστηκε ως η αναλογία των επεισοδίων ανά 1.000 εισαγωγές στο νοσοκομείο και ανά 10.000 ημέρες νοσηλείας. Τα απομονωθέντα στελέχη ταυτοποιήθηκαν με το σύστημα MALDI-ToF MS (ζυμομύκητες) ή με αλληλούχιση γονιδίων-στόχων (νηματοειδείς μύκητες) και υποβλήθηκαν σε έλεγχο της *in vitro* αντιμυκητικής ευαισθησίας σύμφωνα με τις κατευθυντήριες οδηγίες EUCAST/CLSI.

Η συνολική (εύρος) συχνότητα εμφάνισης της λοίμωξης από σπάνιο ζυμομύκητα και νηματοειδή μύκητα φτάνει στο 3,8% (0-10,3%) και 1% (0-3,5%) αντίστοιχα. Η συνολική (εύρος) επίπτωσή της υπολογίστηκε στα 0,05 (0-0,10), 0,01 (0-0,04) επεισόδια/1.000 εισαγωγές στο νοσοκομείο και στα 0,11 (0-0,23), 0,03 (0-0,09) επεισόδια/10.000 ημέρες νοσηλείας, αντίστοιχα. Πιο συχνό παθογόνο ήταν ο μύκητας του γένους *Rhodotorula* (12/32, 38%) για τους ζυμομύκητες και *Fusarium* (6/8, 75%) για τους νηματοειδείς μύκητες. Καταγράφηκαν συνολικά 7/22 (32%) εκ διαφυγής λοιμώξεις του αίματος, εκ των οποίων οι 5/19 (26%) είχαν ως αιτιολογικό παράγοντα σπάνιο ζυμομύκητα και 2/3

(66%) σπάνιο νηματοειδή μύκητα. Η αδρή θνητότητα στην διάρκεια νοσηλείας των ασθενών ήταν 59% για τις μυκηταιμίες από σπάνιο ζυμομύκητα και 38% για τις μυκηταιμίες από σπάνιο νηματοειδή μύκητα.

Η γνώση των επιδημιολογικών τάσεων των μυκηταιμιών από σπάνιους μύκητες στον ελληνικό γενικό πληθυσμό είναι ανεπαρκής. Η μυκηταιμία από σπάνιους ζυμομύκητες είναι σπάνια στο νοσοκομείο επιλογής, αλλά σχετίζεται σε σημαντικό βαθμό με την εκδήλωση εκ διαφυγής λοίμωξης και έχει υπολογίσιμο ποσοστό θνητότητας. Αυτά αποτελούν τα πρώτα επιδημιολογικά δεδομένα για μυκηταιμίες από σπάνιους νηματοειδείς μύκητες στην Ελλάδα, που αντικατοπτρίζουν την υπεροχή των *Fusarium* spp. ως αιτιολογικό παράγοντα και το μεγάλο ποσοστό εκ διαφυγής λοιμώξεων. Η επίγνωση από πλευράς των κλινικών και η γνώση της τοπικής επιδημιολογίας μπορεί να βοηθήσουν τους ιατρούς να βελτιώσουν τις διαγνωστικές και θεραπευτικές μεθόδους αυτής της πιθανώς θανατηφόρας λοίμωξης.

Λέξεις κλειδιά: σπάνιοι μύκητες, μυκηταιμία, επιδημιολογία, αντιμυκητική αντοχή, Ελλάδα

Abstract

Fungemia due to rare fungi (RF) is an emerging but less investigated condition. Resistance of these emerging pathogens to various antifungal agents constitutes a challenge in prophylactic/empirical treatment. Invasive infections owing to RF display geographical variety in terms of epidemiology and incidence globally. Data on their epidemiological landscape in Greece are currently scarce. We therefore reviewed the literature in order to identify the local epidemiological data gaps and conducted a retrospective 14-year survey describing the epidemiology of RF fungemia in a Greek tertiary care academic hospital.

All microbiologically confirmed RM fungemia cases in patients hospitalized in “Attikon” university hospital during 01/04/2009-31/12/2022 were recorded. Patients’ demographic and clinical characteristics were obtained from their medical records (where available). The incidence rate of the infection was expressed as the ratio of episodes per 1,000 hospital admissions and per 10,000 hospital bed days. The isolated strains were identified by MALDI-ToF MS (yeasts) or by sequencing informative targets (moulds) and were subjected to *in vitro* antifungal susceptibility testing according to the EUCAST/CLSI guidelines.

The total appearance frequency of infections from a rare yeast and mould fungi reaches 3,8% (0-10,3%) and 1% (0-3,5%) respectively. The total incidence was counted at 0,05 (0-0,10), 0,01 (0-0,04) cases/1.000 admissions in the hospital and at 0,11 (0-0,23), 0,03 (0-0,09) cases/10.000 days of hospitalization, respectively. The most common isolated genus was *Rhodotorula* (12/32, 38%) as for yeasts and *Fusarium* (6/8, 75%) as for moulds. In total 7/22 (32%) were breakthrough infections, 5/19 (26%) due to a rare yeast and 2/3 (66%) due to a rare mould. The crude mortality rates within the hospital stay were 59% for rare yeasts fungemias and 38% for rare moulds fungemias.

Knowledge of epidemiological trends of RF fungemia in Greek general population is insufficient. Rare yeast fungemia is infrequent in our centre, but is significantly associated with the development of breakthrough infections and has a considerable mortality rate. This is the first epidemiological data on rare mould fungemia in Greece, reflecting the predominance of *Fusarium* spp. as causative

agent and the significant proportion of breakthrough infections. Clinical awareness and knowledge of the local epidemiology may help clinicians to refine the difficult diagnostic and treatment process of this potentially lethal infection.

Keywords: rare fungi, fungemia, epidemiology, antifungal resistance, Greece

Συντομογραφίες

Σύντμηση	Αγγλική ορολογία	Ελληνική ορολογία
AFG	anidulafungin	ανιντουλαφουγκίνη
AFST	antifungal susceptibility testing	έλεγχος <i>in vitro</i> ευαισθησίας στα αντιμυκητικά
AI	artificial intelligence	τεχνητή νοημοσύνη
AMB	amphotericin B	αμφοτερικίνη Β
BDG	(1,3)-β-D-glucan	(1,3)-β-D-γλυκάνη
BMD	broth microdilution	μικροαραιώσεις σε ζυμό
CAS	casprofungin	κασποφουγκίνη
CLSI	clinical and laboratory standards institute	ινστιτούτο κλινικών και εργαστηριακών προτύπων
CVC	central venous catheter	κεντρική φλεβική γραμμή
dAMB	deoxycholate amphotericin B	δεοξυχολική αμφοτερικίνη Β
DMSO	dimethyl sulfoxide	διμεθυλοσουλφοξειδίο
ECOFF/ECV	epidemiological cut-off value	επιδημιολογικό όριο
EORTC	european organization for research and treatment of cancer	ευρωπαϊκός οργανισμός για την έρευνα και την θεραπεία του καρκίνου
EUCAST	european committee on antimicrobial susceptibility testing	ευρωπαϊκή επιτροπή για τον έλεγχο αντιμικροβιακής ευαισθησίας
5FC	flucytosine	φλουκυτοσίνη
FLC	fluconazole	φλουκοναζόλη
GC	growth control	μάρτυρας ελέγχου ανάπτυξης
HIV	human immunodeficiency virus	ιός της ανθρώπινης ανοσοανεπάρκειας
ISA	isavuconazole	ισαβουκοναζόλη
ITC	itraconazole	ιτρακοναζόλη
ITS	internal transcribed spacer	εσωτερικά μεταγραφόμενη περιοχή
L-AMB	liposomal amphotericin B	λιποσωμική αμφοτερικίνη Β
MALDI-ToF MS	matrix assisted laser desorption ionization-time of flight mass	φασματοφωτομετρίας μάζας με μηχανισμό ιοντισμού εκρόφησης με

	spectrometry	λείζερ, υποβοηθούμενου από μήτρα, και αναλυτή χρόνου/πτήσης
MFG	micafungin	μικαφουγκίνη
MIC	minimum inhibitory concentration	ελάχιστη ανασταλτική συγκέντρωση
NGS	next generation sequencing	αλληλούχιση επόμενης γενιάς
PCR	polymerase chain reaction	αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης
PDA	potato dextrose agar	άγαρ δεξτρόζης πατάτας
POS	posaconazole	ποσακοναζόλη
SDA	Sabouraud dextrose agar	άγαρ δεξτρόζης Sabouraud
TEF-1a	translation elongation factor 1-α	παράγοντας επιμήκυνσης 1-α
TRB	terbinafine	τερμπιναφίνη
VRC	voriconazole	βορικοναζόλη
ΗΠΑ		Ηνωμένες Πολιτείες Αμερικής
ΚΝΣ		κεντρικό νευρικό σύστημα
ΜΕΘ		μονάδα εντατικής θεραπείας
ΣΔ		σακχαρώδης διαβήτης

Θεωρητικό Μέρος

1. Μυκηταιμία από σπάνιους μύκητες

1.1 Εισαγωγή

Ως μυκηταιμία ορίζεται η παρουσία ζώντων μυκήτων στην κυκλοφορία του αίματος. Σε γενικές γραμμές, πρόκειται για μια εξαιρετικά σοβαρή και δυνητικά θανατηφόρο λοίμωξη, καθώς επιδεινώνει την κατάσταση της υγείας τόσο ανοσοεπαρκών ατόμων ήδη επιβαρυσμένων με υποκείμενα νοσήματα, όσο και ασθενών με μειωμένη ανοσολογική απόκριση (1). Η μυκηταιμία από κάποιο *Candida* spp. (καντινταιμία) κατατάσσεται ως τον πρώτο πιο συχνό αιτιολογικό παράγοντα πρόκλησης μυκηταιμιών και τον τρίτο πιο συχνό όσον αφορά τις νοσοκομειακές λοιμώξεις του αίματος (2), και επομένως έχει μελετηθεί διεξοδικά και συνεχίζει να ερευνάται εκτενώς.

Εντούτοις, τα τελευταία χρόνια η μυκηταιμία από σπάνιους μύκητες, η οποία σχετίζεται με υψηλό ποσοστό θνητότητας (1), έχει αρχίσει να απασχολεί όλο και περισσότερο την επιστημονική κοινότητα (3). Ειδικότερα, ως μυκηταιμία από σπάνιο μύκητα χαρακτηρίζεται αυτή που προκαλείται από κάποιο non-*Candida* spp., αν ο αιτιολογικός παράγοντας είναι ζυμομύκητας (4,5), ή non-*Aspergillus* και non-Mucormycetes, αν το παθογόνο αίτιο είναι νηματοειδής μύκητας (6).

Η επιδημιολογία της λοίμωξης σχετίζεται με διάφορους προδιαθεσικούς παράγοντες, ενώ η γεωγραφική κατανομή της δεν είναι ομοιόμορφη (7,8). Συγχρόνως, η εργαστηριακή της διάγνωση παρουσιάζει πολλαπλές προκλήσεις, όπως την ανάγκη για εξειδικευμένο και έμπειρο προσωπικό, τη μειωμένη ευαισθησία και τον υψηλό χρόνο λήψης των αποτελεσμάτων της αιμοκαλλιέργειας, τη μη διαθεσιμότητα υποκατάστατων διαγνωστικών δεικτών και τη δυσκολία ευρείας εφαρμογής σύγχρονων μοριακών ή πρωτεομικών μεθόδων ταυτοποίησης του αιτιολογικού παράγοντα λόγω περιορισμένων οικονομικών πόρων (9). Επιπλέον, η εγγενής αντοχή ή η μειωμένη ευαισθησία των σπάνιων μυκήτων στις εχινοκανδίνες ή στη φλουконаζόλη (flucanazole, FLC) παραμένει ως πρόκληση στη θεραπευτική αντιμετώπιση της νόσου, με σημαντικό αριθμό εκ διαφυγής

λοιμώξεων να έχει περιγραφεί. Παράλληλα, το αποτέλεσμα του ελέγχου της *in vitro* ευαισθησίας στα αντιμυκητικά (antifungal susceptibility testing, AFST) έναντι αυτών των παθογόνων είναι δύσκολο να ερμηνευθεί εξαιτίας της απουσίας κλινικών ορίων ευαισθησίας (4,6).

Ως εκ τούτου, η επιδημιολογική διερεύνηση της μυκηταιμίας από σπάνιους μύκητες έχει σημαντικές επιδράσεις στην κλινική διαχείριση της νόσου στη σύγχρονη εποχή γενίκευσης των προφυλακτικών ή/και εμπειρικών αντιμυκητικών θεραπειών. Τα μέχρι στιγμής δεδομένα στην παγκόσμια βιβλιογραφία είναι περιορισμένα και αναχρονιστικά, ενώ προέρχονται κυρίως από περιγραφές μεμονωμένων περιστατικών και σε μικρότερο βαθμό από μελέτες ενός κέντρου και αναφορές συρροών κρουσμάτων (4,6). Σε τοπικό επίπεδο, η υφιστάμενη κατάσταση στον Ελλαδικό χώρο παραμένει ασαφής.

1.2 Επιδημιολογία

1.2.1 Δυσκολίες στην επιδημιολογική επιτήρηση

Ο προσδιορισμός της επιδημιολογίας των μυκηταιμιών από σπάνιους μύκητες εμφανίζει αρκετές δυσκολίες. Τα διαθέσιμα δεδομένα είναι περιορισμένα και προέρχονται κυρίως από χώρες της Ευρώπης (10), και σε μικρότερο βαθμό από χώρες της Ασίας (11) και της Λατινικής Αμερικής (7). Ωστόσο, κάποιοι από τους σπάνιους μύκητες εμφανίζουν ενδημικότητα, καθιστώντας μια ήπειρο, χώρα ή περιοχή πιο ευάλωτη από άλλες (7,8).

Επιπροσθέτως, μέρος της υπάρχουσας βιβλιογραφίας, στηρίζεται σε μελέτες των οποίων τα αποτελέσματα δεν μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την εξαγωγή γενικών συμπερασμάτων, εξαιτίας της ανεπαρκούς καταγραφής απαραίτητων κλινικών χαρακτηριστικών (11,12) ή της διενέργειάς τους σε συγκεκριμένες ομάδες ασθενών (13,14). Συγχρόνως, η πλειοψηφία των διαθέσιμων δεδομένων προέρχεται ως επί το πλείστον από περιγραφές μεμονωμένων περιστατικών (4,6), η αξιοποίηση των οποίων είναι επισφαλής για τη διαμόρφωση έγκυρων επιδημιολογικών δεδομένων στο γενικό πληθυσμό.

Τέλος, πρέπει να ληφθεί υπόψη η πιθανότητα μη καταγραφής τους, επομένως και η υποτίμηση της συχνότητας εμφάνισής τους, εξαιτίας της δυσκολίας στην εργαστηριακή τεκμηρίωσή τους, και ως εκ τούτου της απαίτησης για εξειδικευμένο εξοπλισμό και έμπειρο προσωπικό. Ιδίως, κατά τα προηγούμενα έτη που δεν διαθέσιμες οι σύγχρονες διαγνωστικές προσεγγίσεις και η ταυτοποίηση των σπάνιων μυκήτων στηριζόταν αποκλειστικά σε συμβατικές φαινοτυπικές μεθόδους, είναι πιθανό η διάγνωση κάποιων περιστατικών να μην πραγματοποιήθηκε ή να ήταν λανθασμένη (9).

Ωστόσο, όλο και μεγαλύτερη είναι η προσπάθεια που γίνεται από την επιστημονική κοινότητα να διερευνηθεί η επιδημιολογία των διηθητικών λοιμώξεων από σπάνιους μύκητες, με στόχο την καλύτερη διαχείριση και την αποτελεσματικότερη αντιμετώπισή τους. Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί η πρόσφατη συστηματική ανασκόπηση των μέχρι στιγμής διαθέσιμων δεδομένων από επιτροπές ειδικών προερχόμενων από διάφορες χώρες και η θέσπιση κατευθυντήριων οδηγιών που υποβοηθούν τη λήψη διαγνωστικών και θεραπευτικών αποφάσεων (4,6).

1.2.2 Αιτιολογικοί παράγοντες

Προκειμένου να τεθεί το θέμα σε σωστή βάση, πρέπει αρχικά να διευκρινιστεί ποιοι μύκητες θεωρούνται σπάνιοι αιτιολογικοί παράγοντες μυκηταιμίας. Οι μύκητες αυτοί ανήκουν σε πολλά διαφορετικά γένη και αποκαλούνται σπάνιοι καθώς δεν αποτελούν συχνό παθογόνο αίτιο διεισδυτικών λοιμώξεων (15). Ως εκ τούτου, αν και χαρακτηρίζονται από φαινοτυπική ετερογένεια μεταξύ τους, στο σύνολο τους εμφανίζουν σημαντικές διαφορές με τα κοινά μυκητικά παθογόνα, με κυριότερη τη χαμηλή *in vitro* ευαισθησία τους στους διαθέσιμους αντιμυκητικούς παράγοντες (1).

1.2.2.1 Ζυμομύκητες

Πρόκειται κυρίως για μύκητες χαμηλής παθογονικότητας (5,15), με τους περισσότερους να χαρακτηρίζονται ως ευκαιριακά παθογόνοι (5), ενώ κάποιοι στο

παρελθόν θεωρούνταν ακόμη και μη παθογόνοι (16,17). Σύμφωνα με διεθνείς κατευθυντήριες οδηγίες, στους σπάνιους ζυμομύκητες περιλαμβάνονται τα γένη *Cryptococcus*, *Geotrichum*, *Kodamea*, *Malassezia*, *Magnusiomyces*, *Pseudozyma*, *Rhodotorula*, *Saccharomyces*, *Saprochaete*, *Sporobolomyces* και *Trichosporon* (4,5).

- ***Cryptococcus* spp.**

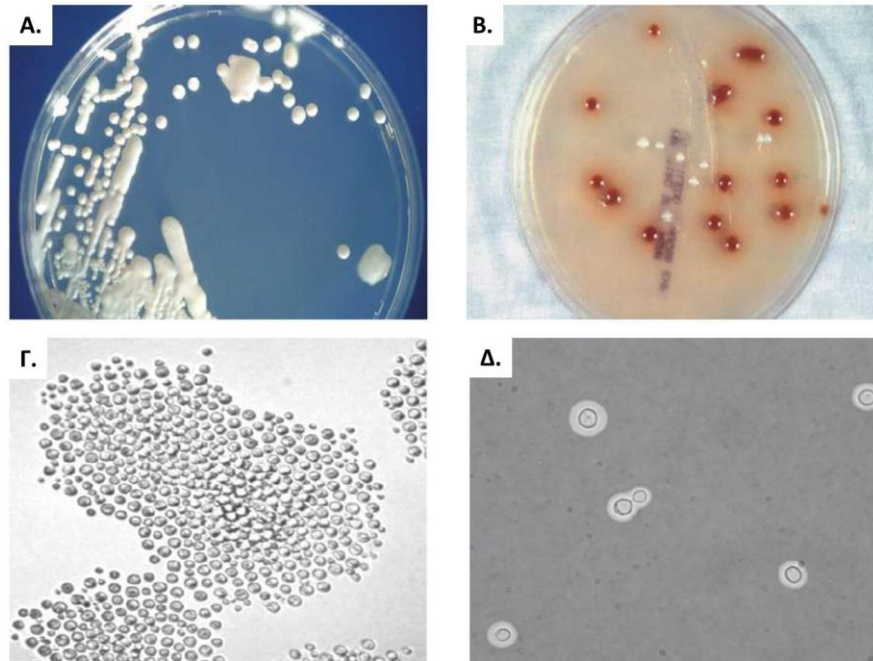
- **Επιδημιολογία και κλινικές εκδηλώσεις:** Το γένος *Cryptococcus* ανήκει στο φύλο των Βασιδιομυκήτων και περιλαμβάνει 70 είδη, εκ των οποίων ο *C. gattii* και ο *C. neoformans* προκαλούν συχνότερα λοιμώξεις στον άνθρωπο (5). Και τα δύο μπορούν να ανευρεθούν σε αποσυντιθέμενη ύλη, με τον *C. neoformans* να είναι παγκοσμίως διανεμημένος, ενώ ο *C. gattii* παρουσιάζει πιο περιορισμένη γεωγραφική κατανομή, η οποία έχει ωστόσο διευρυνθεί τα τελευταία χρόνια (18). Τα περιπτώματα των πτηνών, ειδικά των αδέσποτων περιστεριών, λειτουργούν ως δεξαμενή του *C. neoformans*, ιδίως σε πυκνοκατοικημένες αστικές περιοχές. Επιπλέον, τόσο ο *C. neoformans* όσο και ο *C. gattii* έχουν επιδείξει την ικανότητά τους να ευδοκιμούν εντός ελεύθερων αμοιβάδων και εδαφικών νηματοειδών παρασίτων, κάτι που υποδηλώνει ότι αυτοί οι εναλλακτικοί φορείς μπορούν να διαδραματίζουν ρόλο στη μετάδοση του μύκητα (5,18).

Ωστόσο, διάφορα άλλα *Cryptococcus* spp., όπως οι *C. albidus*, *C. curvatus* και *C. laurentii*, είναι επικρατή παγκοσμίως και έχουν απομονωθεί από ποικίλες περιβαλλοντικές πηγές, συμπεριλαμβανομένων του αέρα, του εδάφους, του νερού, των περιττωμάτων των περιστεριών και κάποιων τροφίμων (19). Τα συγκεκριμένα είδη είναι ικανά να αναπτυχθούν στους 37°C και ενοχοποιούνται για το 80% των διηθητικών λοιμώξεων στον άνθρωπο από non-*neoformans*/non-*gattii* *Cryptococcus* spp. (20). Οι *C. uniguttulatus*, *C. adeliensis* και *C. flavescens* εμπλέκονται σε περιστατικά μηνιγγίτιδας, ωστόσο σε μικρότερη συχνότητα (21–23). Κύριο παράγοντα κινδύνου για non-*neoformans*/non-*gattii* κρυπτοκόκκωση αποτελεί η κατεστραμμένη κυτταρική ανοσία, με το 16% των περιστατικών να αφορά σε ασθενείς που έχουν μολυνθεί από τον ιό της ανθρώπινης ανοσοανεπάρκειας (human immunodeficiency virus, HIV). Επιπλέον, λοιμώξεις από *C. laurentii* έχουν συσχετιστεί με την παρουσία διεισδυτικών συσκευών (20).

Εκτός από σπάνιες περιπτώσεις ιατρογόνου ή ζωνοτικής μετάδοσης, οι περιπτώσεις φυσικής πρόσληψης της κρυπτοκόκκωσης ξεκινούν συνήθως με την εισπνοή μυκητικών κυττάρων από το περιβάλλον. Εντός των πνευμόνων, ο *Cryptococcus* μπορεί να προκαλέσει πνευμονία σε άτομα με ασθενές ανοσοποιητικό σύστημα, όμως σε αυτά με ικανό ανοσολογικό σύστημα, ο μύκητας είτε εξαλείφεται από την ανοσοαπόκριση είτε προκαλεί ασυμπτωματικές λανθάνουσες λοιμώξεις. Εντούτοις, τυχόν επόμενη ανοσοκατάσταση μπορεί να επανενεργοποιήσει αυτή τη λανθάνουσα λοίμωξη, οδηγώντας σε εξάπλωση στον οργανισμό, ειδικά στο κεντρικό νευρικό σύστημα (ΚΝΣ). Μόλις εδραιωθεί εκεί, η κρυπτοκόκκωση δύναται να οδηγήσει σε σοβαρές λοιμώξεις των εγκεφαλικών μεμβρανών και του εγκεφαλικού ιστού, συχνά συνοδευόμενες από αυξημένη εγκράνια πίεση. Αν δεν αντιμετωπιστεί, η λοίμωξη του ΚΝΣ είναι σχεδόν πάντοτε θανατηφόρα. Η κλινική εμφάνιση της κρυπτοκόκκωσης από non-*neoformans*/non-*gattii* *Cryptococcus* spp. περιλαμβάνει λοίμωξη της κυκλοφορίας του αίματος (33-55%), νευρολογική εκδήλωση (20-33%), λοίμωξη των πνευμόνων (5-11%) και σε μικρότερο βαθμό λοιμώξεις του δέρματος, των οφθαλμών, του περιτοναίου και των λεμφαδένων. Λοιμώξεις από *C. laurentii* δε συσχετίζονται με θνητότητα, σε αντίθεση με τις λοιμώξεις από *C. albidus* (~29% θνητότητα) (20).

Αξίζει να αναφερθεί πως, αν και παραδοσιακά ο *Cryptococcus* θεωρείται ότι προσβάλλει κυρίως ανοσοκατασταλμένους ασθενείς, ορισμένα γεγονότα αμφισβητούν αυτή την αντίληψη. Η "έξαρση του Ειρηνικού Βορρά" αποτελεί αξιοσημείωτο συμβάν κρυπτοκόκκωσης κατά το οποίο υγιείς άνδρες και γυναίκες εμφάνισαν τη νόσο (18,24).

➤ **Μακροσκοπική και μικροσκοπική μορφολογία:** Η αποικία είναι βλεννώδης και χρώματος άσπρου, ενώ ενδέχεται να σκουρύνει με την πάροδο του χρόνου. Ωστόσο, όταν ο *C. neoformans* καλλιεργηθεί σε άγαρ bird seed παρατηρούνται καφέ αποικίες, σε αντίθεση με τα υπόλοιπα *Cryptococcus* spp. Μικροσκοπικά, διακρίνονται μεγάλα σφαιρικά έως επιμήκη κύτταρα, με σκούρο τοίχωμα, που αναπαράγονται με εκβλάστηση. Η χρώση σινικής μελάνης (indian ink) επιτρέπει την ανίχνευση του ελύτρου τους. Συνήθως δεν παρατηρούνται ψευδοϋφές (25).



Εικόνα 1. Μακροσκοπική και μικροσκοπική μορφολογία *C. neoformans*. Α) Πρόσθια επιφάνεια της αποικίας (λευκή) σε άγαρ δεξτρόζης Sabouraud (Sabouraud dextrose agar, SDA) 3 ημερών (30°C). Β) Πρόσθια επιφάνεια της αποικίας (καφέ) σε άγαρ bird seed 3 ημερών (θερμοκρασία δωματίου). Γ) Σφαιρικά κύτταρα, με σκούρο τοίχωμα. Δ) Παχιά έλυτρα γύρω από τα κύτταρα όπως διακρίνονται με χρώση σινικής μελάνης (26).

➤ **Προφίλ *in vitro* ευαισθησίας στα αντιμυκητικά και θεραπεία:** Η βέλτιστη θεραπεία για την αντιμετώπιση λοιμώξεων από *Cryptococcus* spp. δεν έχει ακόμη διευκρινιστεί. Το γένος *Cryptococcus* εμφανίζει ενδογενή αντοχή στις εχινοκανδίνες και μειωμένη ευαισθησία στις αζόλες και στη φλουκυτοσίνη (flucytosine, 5FC) (27–29). Επομένως, η αμφοτερικίνη Β (amphotericin B, AMB), τόσο στη δεοξυχολική (deoxycholate amphotericin B, dAMB), όσο και στη λιποσωμική της μορφή (liposomal amphotericin B, L-AMB), έχει χρησιμοποιηθεί σε μεγάλο βαθμό, είτε ως μονοθεραπεία είτε συνδυαστικά με 5FC, για την αντιμετώπιση της κρυπτοκόκκωσης ανεξαρτήτως της τοξικότητας του συγκεκριμένου φαρμάκου (27,28,30).

	Population/ manifestation	Antifungal	Strength of recommendation – quality of evidence	Comments
<i>Cryptococcus</i> other than <i>C. neoformans</i> and <i>C. gattii</i>	CNS and severe inf. Induction	Amphotericin ^a (±flucytosine ^b)	B-III	MICs of 5-FC, fluconazole and other azoles often elevated and particularly so for <i>C. albidus</i> , <i>C. laurentii</i> and <i>C. uniguttulatum</i> [29,30,33,54–59] If <i>in vitro</i> susceptible
	CNS and severe inf. Consolidation	Fluconazole ≥400 mg/day	C-III	
	Non-CNS, not severe inf.	Fluconazole ≥400 mg/day	C-III	MICs of 5-FC, fluconazole and other azoles often elevated and particularly so for <i>C. albidus</i> , <i>C. laurentii</i> and <i>C. uniguttulatum</i> [29,30,33,54–59]
	Non-CNS, not severe inf. Any	Amphotericin ^a Echinocandins	B-III D-II	May be preferable to fluconazole for the less azole-susceptible species Intrinsically resistant

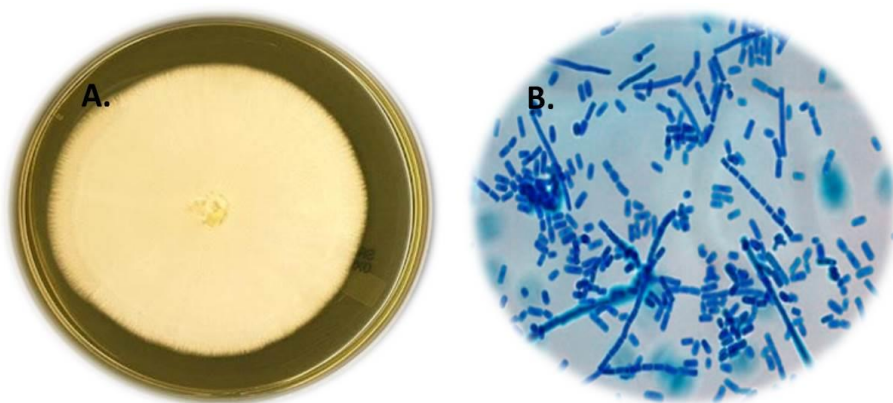
Εικόνα 2. Στοχευμένη αντιμυκητική θεραπεία κρυπτοκόκκωσης από non-*neoformans*/non-*gattii* *Cryptococcus* spp. (5).

• *Geotrichum* spp.

➤ **Επιδημιολογία και κλινικές εκδηλώσεις:** Το γένος *Geotrichum* συγκροτείται από 22 είδη, τα οποία υπάρχουν σε αφθονία στο έδαφος, σε αποσυντιθέμενη οργανική ύλη και σε τρόφιμα. Εξ αυτών, μόλις 3 έχουν αναγνωριστεί ως ανθρώπινα παθογόνα, τα *G. capitatum*, *G. clavatum* και *G. candidum*, με το τελευταίο να είναι το πιο διαδεδομένο. Σημειωτέον, τα *Geotrichum* spp. ομοιάζουν γενετικά με είδη του γένους *Saprochaete* και *Magnusiomyces* (4). Έτσι, το *G. clavatum* ονομάζεται πλέον *S. clavata*, ενώ το *G. capitatum* έχει μετονομαστεί σε *M. capitatus* (31).

Το *G. candidum* αποικίζει το ανθρώπινο δέρμα, την αναπνευστική και τη γαστρεντερική οδό (32). Ο συγκεκριμένος μύκητας αποτελεί τον αιτιολογικό παράγοντα μιας σπάνιας λοίμωξης, της γεωτρίχωσης, η οποία προκαλείται έπειτα από κατάποση ή εισπνοή του μύκητα (33) και μέσω ανοιχτού τραύματος (34). Κύριος παράγοντας κινδύνου για γεωτρίχωση θεωρείται ο βαθμός ανοσοκαταστολής, δηλαδή η ουδετεροπενία, και δευτερευόντως οι αιματολογικές κακοήθειες, η χορήγηση κυτταροτοξικής χημειοθεραπείας (34,35), η λοίμωξη από HIV, η λήψη κορτικοστεροειδών και παρεντερικής διατροφής, ο σακχαρώδης διαβήτης (ΣΔ), η χρήση καθετήρων και η εκτεταμένη αντιβιοτική θεραπεία. Σε ανοσοεπαρκή άτομα προδιαθεσικός παράγοντας για γεωτρίχωση είναι κυρίως κάποιος τραυματισμός, με την εκτεταμένη παραμονή σε μονάδες εντατικής θεραπείας (ΜΕΘ) να αυξάνει τις πιθανότητες για λοίμωξη (34).

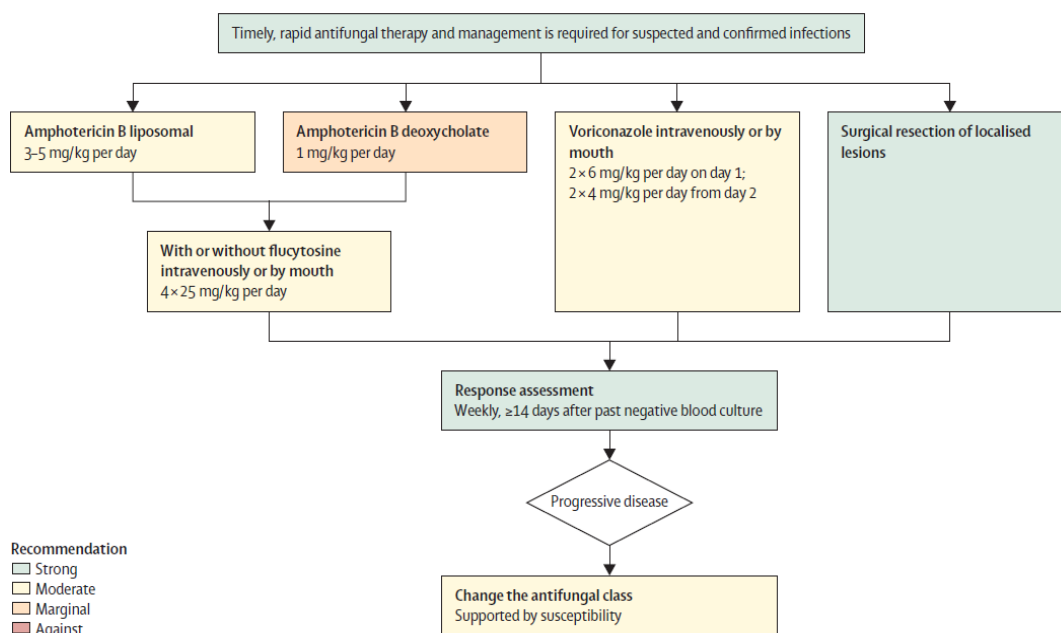
➤ **Μακροσκοπική και μικροσκοπική μορφολογία:** Η αποικία του *G. candidum* είναι επίπεδη, λεία, κονιώδης ή ξηρή και συνήθως φέρει μικρό αερώδες μυκήλιο. Το χρώμα της είναι λευκό ή κρεμ τόσο στην πρόσθια, όσο και στην οπίσθια επιφάνεια. Μικροσκοπικά, διακρίνονται υαλοειδείς αληθείς υφές, μακριές σε μήκος, που εκτεινόμενες διχτομοούνται, ενώ κατακερματίζονται στο κέντρο των διπλών διαφραγμάτων σχηματίζοντας αλυσίδες βαρελοειδών ή κυλινδρικών αρθροκονιδίων με αποστρογγυλεμένα άκρα. Τα *Geotrichum* spp. δεν παράγουν βλαστοκονίδια (25).



Εικόνα 3. Μακροσκοπική και μικροσκοπική μορφολογία *G. candidum*. A) Πρόσθια επιφάνεια της αποικίας σε SDA 5 ημερών (30°C). B) Αληθείς υφές και μονήρη ή σε αλυσίδες αρθροκονίδια (35).

➤ **Προφίλ *in vitro* ευαισθησίας στα αντιμυκητικά και θεραπεία:** Η μικάφουγκίνη (micafungin, MFG), η βορικοναζόλη (voriconazole, VRC) και η ποσακοναζόλη (posaconazole, POS) παρουσιάζουν την υψηλότερη δραστηριότητα *in vitro* έναντι *Geotrichum* spp. Δεδομένου ότι οι ελάχιστες ανασταλτικές συγκεντρώσεις (minimum inhibitory concentrations, MICs) των αντιμυκητικών είναι στελεχο-εξαρτώμενες, συστήνεται ο AFST των κλινικά σημαντικών απομονωθέντων στελεχών. Επί του παρόντος, τα δεδομένα για την επιλογή αντιμυκητικής θεραπείας είναι περιορισμένα και προέρχονται κυρίως από *in vitro* μελέτες, μεμονωμένα περιστατικά και σειρές περιστατικών. Έχουν παρατηρηθεί θετικά θεραπευτικά αποτελέσματα με τη χορήγηση VRC καθώς και AMB (dAMB ή L-AMB), με ή χωρίς τη συγχορήγηση 5FC (4). Η POS (36) και η ισαβουκοναζόλη

(isavuconazole, ISA) (37) είναι φαινομενικά ισάξια αποτελεσματικές. Οι εχινοκανδίνες δε συστήνονται καθώς κρίνονται μη αποτελεσματικές (4).



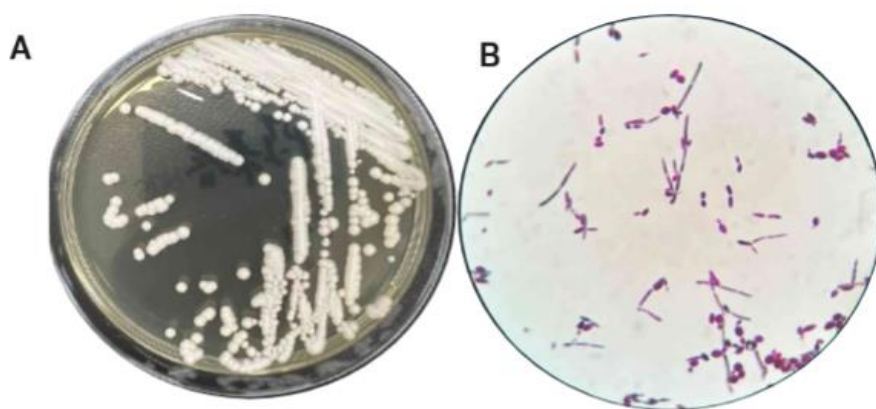
Εικόνα 4. Αντιμυκητική θεραπεία πρώτης γραμμής και διαχείριση ασθενών με διηθητική γεωτρίχωση (4).

• *Kodamea ohmeri*

➤ **Επιδημιολογία και κλινικές εκδηλώσεις:** Ο μύκητας *K. ohmeri* (πρώην *Pichia* ή *Yamadazyma ohmeri*) ανήκει στην οικογένεια των *Saccharomycetes* και συχνά αναγνωρίζεται λανθασμένα ως μύκητας του γένους *Candida* (38). Έχει χαρακτηριστεί ως ένα από τα αναδυόμενα παθογόνα των τελευταίων δεκαετιών, καθώς έχει προκαλέσει ποικίλες λοιμώξεις που χαρακτηρίζονται από υψηλή θνητότητα (39). Απομονώνεται από πολλές περιβαλλοντικές πηγές, όπως η άμμος, οι πισίνες, το θαλασσινό νερό και τα φρούτα (40), και χρησιμοποιείται αρκετά στη βιομηχανία τροφίμων για ζύμωση. Πιστεύεται ότι απομονώθηκε πρώτη φορά από το αίμα ενός ασθενούς το 1998 (41) και από τότε θεωρείται ανθρώπινο παθογόνο, ικανό να προκαλέσει επικίνδυνες για τη ζωή λοιμώξεις, ιδίως σε ανοσοκατασταλμένα άτομα. Σποραδικές περιπτώσεις μόλυνσης από το συγκεκριμένο μύκητα έχουν αναφερθεί παγκοσμίως, μεταξύ των οποίων περιστατικά μυκηταιμίας, ενδοκαρδίτιδας (42), σχετιζόμενης με καθετήρα

μόλυνσης της κυκλοφορίας του αίματος (43) και δερματικής μόλυνσης (44), με τις δεισδυτικές λοιμώξεις να αποτελούν την πλειοψηφία (92%) (39). Επιπλέον, έχουν περιγραφεί συρροές κρουσμάτων σε παιδιατρικές κλινικές εντατικής φροντίδας (45,46). Ανεξάρτητα από την αυξανόμενη εμφάνισή του ως παθογόνος παράγοντας, τα κλινικά και επιδημιολογικά του χαρακτηριστικά δεν είναι πλήρως κατανοητά. Τα περισσότερα περιστατικά αφορούν ανοσοκατασταλμένα άτομα με κακοήθεια, ρευματοειδή πάθηση, ΣΔ, σύνδρομο δυσλειτουργίας οργάνων, χρόνια ιογενή λοίμωξη, ή άλλη σοβαρή μεταδοτική ασθένεια (όπως πνευμονία και βακτηριακή σήψη) (39). Σε ανοσοεπαρκή άτομα, τα περιστατικά λοίμωξης από *K. ohmeri* είναι σπάνια (47).

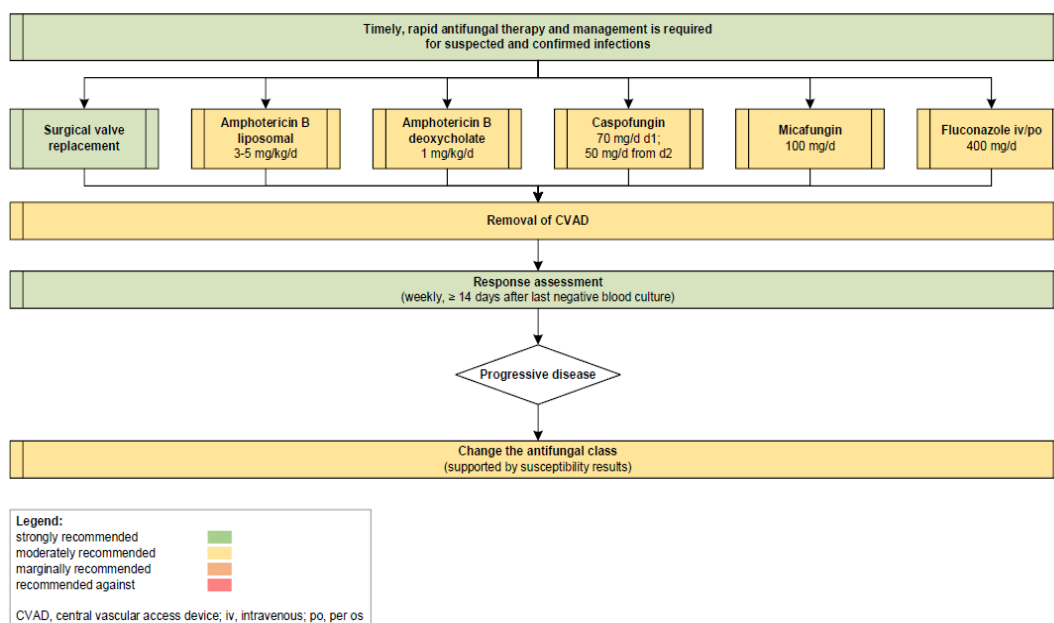
➤ **Μακροσκοπική και μικροσκοπική μορφολογία:** Η αποικία ομοιάζει με αυτές των *Candida* spp., δηλαδή είναι κρεμώδης και έχει λευκό χρώμα. Κατά τη μικροσκοπική εξέταση παρατηρούνται ωοειδή και επιμήκη βλαστοκονίδια, και ψευδοϋφές (25).



Εικόνα 5. A) Καλλιέργεια *K. ohmeri* σε SDA 3 ημερών. B) Μικροσκοπική απεικόνιση μετά από χρώση κατά Gram (48).

➤ **Προφίλ *in vitro* ευαισθησίας στα αντιμυκητικά και θεραπεία:** Μέχρι στιγμής, δεν υπάρχουν επαρκή στοιχεία που να δίνουν μια απόλυτη απάντηση για την επιλογή της βέλτιστης αντιμυκητικής θεραπείας. Η *in vitro* δραστηριότητα της FLC έναντι *K. ohmeri* δεν είναι ξεκάθαρη μιας και έχουν καταγραφεί αντικρουόμενα δεδομένα. Από την άλλη πλευρά, οι AMB MICs είναι συχνά χαμηλές (49), χωρίς ωστόσο το συγκεκριμένο αντιμυκητικό να αποτελεί αδιαμφισβήτητο φάρμακο

αντιμετώπισης, κάτι που επιβεβαιώνουν οι υψηλές τιμές MIC (1 mg/L) στελεχών που απομονώθηκαν από ασθενείς που έλαβαν AMB για μεγάλο χρονικό διάστημα (50). Οι εχνοκανδίνες φαίνεται να είναι αρκετά αποτελεσματικές, χωρίς όμως να υπάρχουν αρκετά δεδομένα για να το επιβεβαιώσουν (46). Τα αποτελέσματα των AFST δεν εγγυώνται αντιστοιχία αποτελεσμάτων σε *in vitro* χορήγηση (51), ωστόσο είναι πάντα απαραίτητο να πραγματοποιείται έλεγχος πριν τη λήψη οποιουδήποτε αντιμυκητικού.



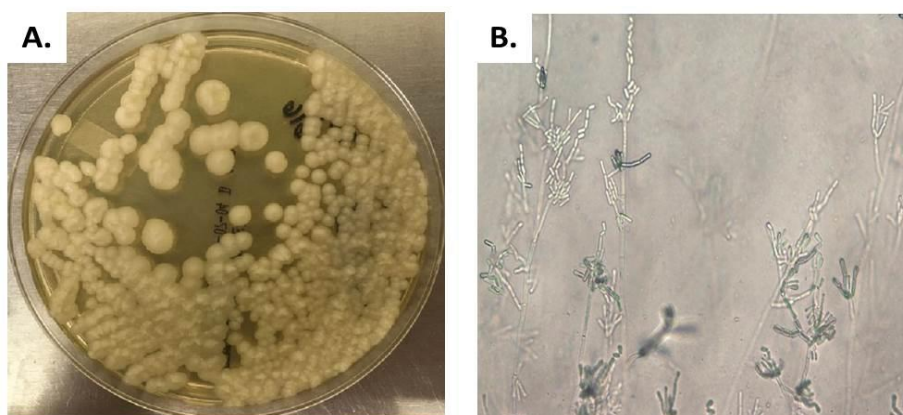
Εικόνα 6. Συνιστώμενη συστηματική αντιμυκητική θεραπεία και διαχείριση ασθενών με λοίμωξη από *K. ohmeri* (4).

- ***Saprochaete/Magnusiomyces spp.***

➤ **Επιδημιολογία και κλινικές εκδηλώσεις:** Τα γένη *Saprochaete* και *Magnusiomyces* ανήκουν στο φύλο των Ασκομυκήτων (52). Οι μύκητες που ανήκουν στα γένη αυτά είναι ευκαιριακά παθογόνοι (53). Μπορούν να ανευρεθούν στο χώμα, σε ξύλα (5,54,55), σε ζώα που πάσχουν από μαστίτιδα, σε περιττώματα πουλερικών (5), σε γαλακτοκομικά προϊόντα (5,55) και σε πλυντήρια πιάτων (5,55), ενώ ορισμένα *Magnusiomyces spp.* αποτελούν μέρος της φυσικής χλωρίδας του δέρματος (5,54), του εντέρου και των πνευμόνων του ανθρώπου (54). Η εισαγωγή τους στον ανθρώπινο οργανισμό, φαίνεται πως γίνεται μέσω του

αναπνευστικού και του γαστρεντερικού συστήματος (5). Τα είδη που έχουν συσχετιστεί κατά κύριο λόγο με απειλητικές για τη ζωή λοιμώξεις και εξάρσεις σε νοσοκομεία είναι το *S. clavata* και το *M. capitatus* (55). Σε ανοσοκατασταλμένους ασθενείς, το αίμα και το αναπνευστικό σύστημα φαίνεται να αποικίζονται πιο συχνά, ενώ το πεπτικό, το ουροποιητικό και το γεννητικό σύστημα αποικίζονται σπανιότερα (53). Ακόμη, μπορούν να προκαλέσουν μηνιγγίτιδα, εγκεφαλικό απόστημα, οστεομυελίτιδα, ενδοκαρδίτιδα, λοιμώξεις στο σπλήνα και στο ήπαρ, πνευμονία και ονυχομυκητίαση (5,55,56). Η διάχυτη νόσος απαντάται κυρίως σε ανοσοκατασταλμένους ασθενείς και το ποσοστό θνητότητας υπολογίζεται στο 60-80% (55).

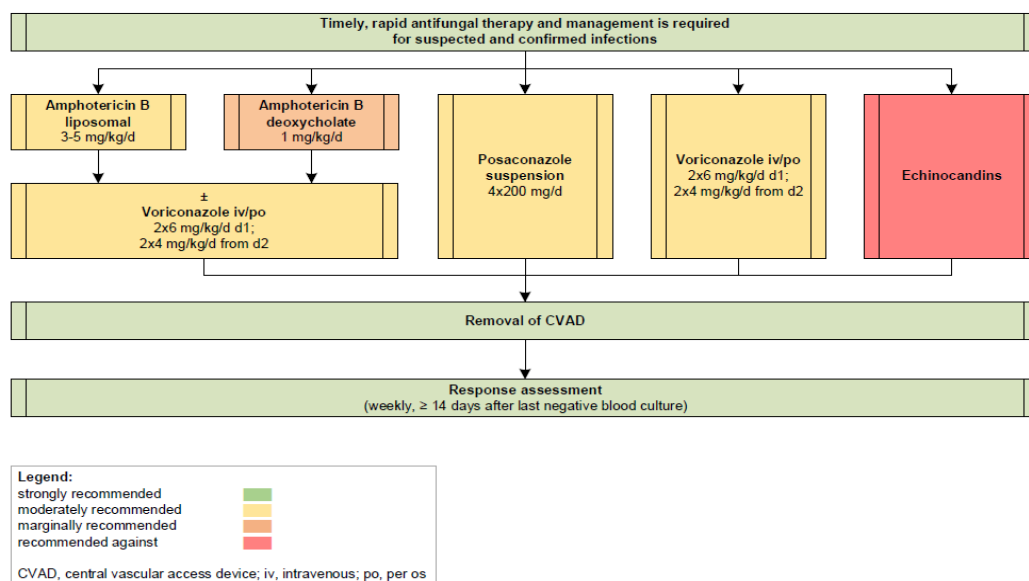
➤ **Μακροσκοπική και μικροσκοπική μορφολογία:** Η αποικία είναι ξηρή, επίπεδη και έχει χρώμα λευκό ή κρεμ. Μικροσκοπικά, διακρίνονται σφαιρικά προς ωοειδή κύτταρα, υφές, ψευδοϋφές, λίγα αρθροκονίδια και πολλά ανελλοκονίδια (25).



Εικόνα 7. Μακροσκοπική και μικροσκοπική μορφολογία *Saprochaete/Magnusiomyces* spp. A) Πρόσθια επιφάνεια της αποικίας *M. capitatus* σε SDA 5 ημερών (57). B) Αρθροκονίδια *S. clavata* μετά από επώαση σε άγαρ αραβοσίτου για 5 ημέρες (35°C) (53).

➤ **Προφίλ *in vitro* ευαισθησίας στα αντιμυκητικά και θεραπεία:** Ο *M. capitatus* έχει χαμηλές 5FC, ιτρακοναζόλης (itraconazole, ITC), POS, VRC και ISA MICs (0,125-0,5 mg/L, 0,03-0,5 mg/L, 0,016-1 mg/L, 0,03-0,5 mg/L και 0,016-0,5 mg/L, αντίστοιχα), ενώ χαρακτηρίζεται από υψηλές FLC MICs (16-32 mg/L), έχει ακόμη και υψηλές τιμές AMB MIC (0,5-2 mg/L) και θεωρείται ότι εμφανίζει

ενδογενή ανοτοχή στις εχινοκανδίνες. Οι τρέχουσες κατευθυντήριες οδηγίες, οι οποίες βασίζονται σε *in vitro* δεδομένα και περιορισμένα κλινικά δεδομένα, συνιστούν τη χορήγηση AMB (dAMB ή L-AMB) με ή χωρίς συγχορήγηση 5FC ή VRC ως αρχική θεραπεία για λοιμώξεις από *M. capitatus*, ενώ δύναται να χρησιμοποιηθεί FLC σε υψηλή δόση αντί VRC ή POS σε περιπτώσεις λοιμώξεων από στελέχη ευαίσθητα στη FLC. Εκ διαφυγής λοιμώξεις έχουν αναφερθεί κυρίως σε ανοσοκατασταλμένους ασθενείς που λάμβαναν προφυλακτικά εχινοκανδίνες, αλλά και σε ασθενείς στους οποίους χορηγούνταν POS, AMB, κασποφουγκίνη (casprofungin, CAS) και FLC. Γενικά, οι εχινοκανδίνες δεν πρέπει να χρησιμοποιούνται ως μονοθεραπεία δεδομένου ότι η χρήση τους έχει συσχετιστεί με αυξημένη θνητότητα (4). Παρόμοια, ως θεραπεία εκλογής για λοιμώξεις από *S. clavata* χορηγείται VRC (53), ενώ εξετάζεται και η χρήση L-AMB, είτε ως μονοθεραπεία είτε συνδυαστικά με 5FC (5,55).



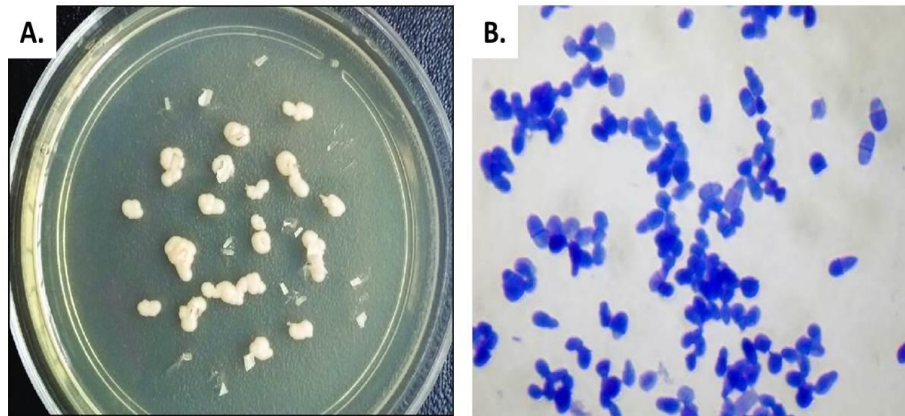
Εικόνα 8. Συνιστώμενη συστηματική αντιμυκητική θεραπεία και διαχείριση ασθενών με συστηματική λοίμωξη από *Saprochaete/Magnusiomyces* spp. (4).

- ***Malassezia* spp.**

➤ **Επιδημιολογία και κλινικές εκδηλώσεις:** Το γένος *Malassezia* ανήκει στο φύλο των Βασιδιομυκήτων (5) και περιλαμβάνει 18 είδη (4). Οι μύκητες του γένους αυτού είναι κυρίως λιπόφιλοι, αποτελούν μέρος του φυσιολογικού μικροβιώματος του δέρματος του ανθρώπου και πολλών θερμόαιμων ζώων (58), και το διάστημα

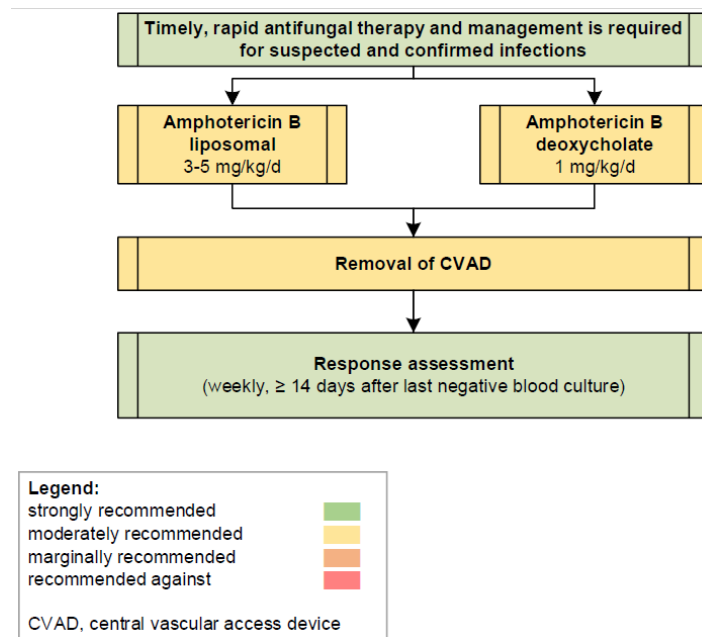
επιβίωσής τους σε επιφάνειες είναι εκτεταμένο (59). Προκαλούν ποικίλες παθήσεις, συμπεριλαμβανομένης της ποικιλόχρους πιτυρίασης, της σεβορροϊκής δερματίτιδας, της πιτυρίδας, του ατοπικού εκζέματος, της φολλικουλίτιδας και λιγότερο συχνά της ονυχομυκητίασης (58). Αυτές οι κλινικές εκδηλώσεις είναι κοινές και συνήθως ελέγχονται και αντιμετωπίζονται από το δερματολόγο (58). Ωστόσο, ακριβώς επειδή η *Malassezia* αποικίζει το δέρμα, η μετάδοσή της είναι εύκολη, ειδικά σε ασθενείς ευάλωτους σε λοιμώξεις. Τόσο η μη λιπόφιλη *M. pachydermatis*, όσο και τα λιπόφιλα *Malassezia* spp., προκαλούν συστηματικές λοιμώξεις, για την πλειοψηφία των οποίων υπεύθυνα παθογόνα είναι οι *M. furfur* and *M. globosa* (60,61). Ενδιαφέρον παρουσιάζει η περίπτωση συρροής κρουσμάτων από *M. pachydermatis* σε νεογνά, η οποία είναι γνωστός αιτιολογικός παράγοντας της εξωτερικής ωτίτιδας στα σκυλιά και απομονώθηκε από τα χέρια ιδιοκτήτων ζώων, συμπεριλαμβανομένων επαγγελματιών υγείας (60,62). Εκτός από την επαφή με πιθανό φορέα, παράγοντα κινδύνου για λοίμωξη από *M. pachydermatis* αποτελεί η βαθμολογία οξείας φυσιολογίας στα νεογνά και η παρατεταμένη χρήση καθετήρων (60). Συστηματικές λοιμώξεις από λιπόφιλα *Malassezia* spp. εμφανίζονται κυρίως σε νεογνά που λαμβάνουν λιπιδική παρεντερική διατροφή και σε παιδιά και ενήλικες με διάφορες μορφές ανοσοκαταστολής και υποκείμενων νοσημάτων (58,63). Παράγοντα κινδύνου για μυκηταιμία σε περίπτωση χορήγησης μη λιπιδικής παρεντερικής διατροφής αποτελεί η νόσηση από αιματολογική ή συμπαγών οργάνων κακοήθεια, η νόσος του Crohn και η χρήση κεντρικού φλεβικού καθετήρα (central venous catheter, CVC) (58,64,65).

➤ **Μακροσκοπική και μικροσκοπική μορφολογία:** Η αποικία είναι λεία, κρεμώδης και χρώματος λευκού, όμως με την πάροδο της επώασης βαθμιαία μεταπίπτει σε ξηρή, συρρικνωμένη, συνήθως με λοβωτή περιφέρεια και το χρώμα της αλλάζει σε σκούρο καστανό. Μικροσκοπικά, διακρίνονται σφαιρικά προς ωοειδή βλαστοκονίδια με μικρού εύρους βάση εκβλάστησης. Συνήθως δεν παρατηρούνται ψευδοϋφές (25).



Εικόνα 9. Μακροσκοπική και μικροσκοπική μορφολογία *Malassezia* spp. A) Πρόσθια επιφάνεια της αποικίας σε SDA (66). B) Βλαστοκόνidia με μικρού εύρους βάση εκβλάστησης (67).

➤ **Προφίλ *in vitro* ευαισθησίας στα αντιμυκητικά και θεραπεία:** Ο AFST έναντι *Malassezia* spp. δεν έχει τυποποιηθεί διότι η ανάπτυξή τους δεν υποστηρίζεται από το θρεπτικό υλικό (RPMI) που χρησιμοποιείται για τη διενέργειά του. Σημαντικές κινήσεις για την αντιμετώπιση της διεισδυτικής λοίμωξης από *Malassezia* είναι η αφαίρεση του CVC, ο τερματισμός της παρεντερικής διατροφής και η χορήγηση συστηματικής αντιμυκητικής θεραπείας (5). Τα πιο κοινώς χρησιμοποιούμενα φάρμακα είναι η FLC και η L-AMB (68,69), ενώ η 5FC και οι εχινοκανδίνες δε συνιστώνται λόγω εμφάνισης υψηλών ποσοστών αντοχής σε αυτές. Σε ένα ευρύ πλαίσιο η VRC φαίνεται να είναι πιο αποτελεσματική από τη FLC (70,71), αλλά εμφανίζει παράλληλα πιο σοβαρές παρενέργειες, περισσότερες αλληλεπιδράσεις με άλλα φάρμακα και η χορήγησή της δεν ενδείκνυται σε νεογνά και παιδιά ηλικίας <2 ετών (5).

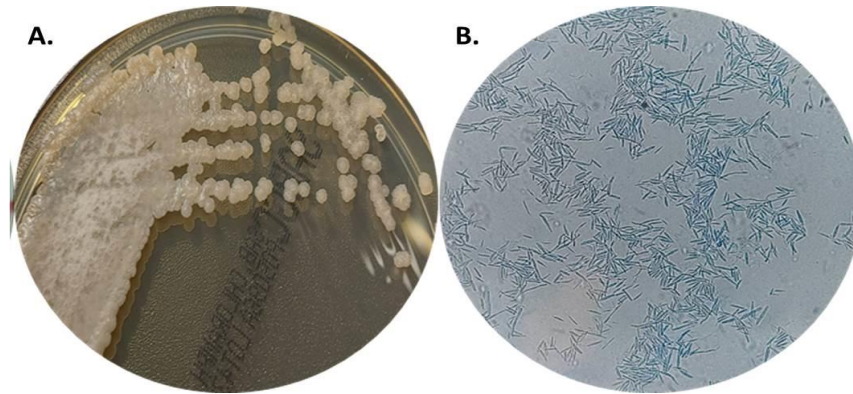


Εικόνα 10. Συνιστώμενη συστηματική αντιμυκητική θεραπεία και διαχείριση ασθενών με λοίμωξη από *Malassezia* spp. (4).

- ***Pseudozyma* spp.**

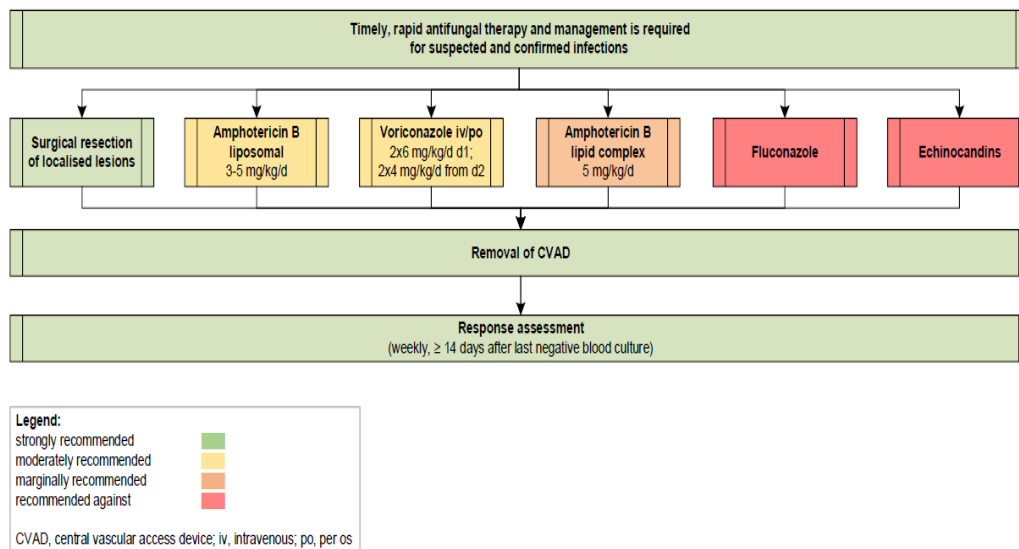
➤ **Επιδημιολογία και κλινικές εκδηλώσεις:** Το γένος *Pseudozyma* ανήκει στο φύλο των Βασιδιομυκήτων, και συγκεκριμένα στην οικογένεια Ustilaginaceae (72). Περιλαμβάνει 20 είδη (5) και οι μύκητες του γένους θεωρούνται περιβαλλοντικοί καθώς συνήθως εντοπίζονται σε φυτά, στο έδαφος και σε λουλούδια (73). Τα τελευταία χρόνια έχουν μελετηθεί κυρίως για βιομηχανικούς σκοπούς εξαιτίας των βιοεπιφανειοδραστικών δυνατοτήτων τους. Η πρώτη απομόνωση *Pseudozyma* spp. από αίμα ασθενούς καταγράφηκε το 2003 (72). Έκτοτε, έχουν περιγραφεί περιστατικά λοιμώξεων σχετιζόμενων με CVC, εγκεφαλικού αποστήματος, διηθητικής πνευμονίας και μυκηταιμίας (74–76). Σε περίπτωση διηθητικών λοιμώξεων από *Pseudozyma* spp. συνήθως εντοπίζεται και μυκηταιμία (5), ενώ οι παράγοντες κινδύνου που συνδέονται με αυτές είναι παρόμοιοι με αυτούς για λοιμώξεις από *Candida* spp. (εκτός της *C. albicans*), δηλαδή αυξημένη ηλικία, κακοήθεια (χημειοθεραπεία), ουδετεροπενία, CVC και σοβαρή θρομβοκυτταροπενία (73,74,77). Σε ευρύτερο πλαίσιο, τα *Pseudozyma* spp. προκαλούν κατά βάση λοιμώξεις σε ανοσοκατασταλμένα άτομα.

➤ **Μακροσκοπική και μικροσκοπική μορφολογία:** Η αποικία είναι υγρή και λεία, όμως με την πάροδο της επώασης μεταπίπτει σε αδρή, και έχει υποκίτρινη απόχρωση. Κατά τη μικροσκοπική εξέταση παρατηρούνται ατρακτοειδή και επιμηκυσμένα βλαστοκονίδια και υαλοειδείς ψευδοϋφές (78).



Εικόνα 11. Μακροσκοπική και μικροσκοπική μορφολογία *Moesziomyces aphidis* (πρώην *Pseudozyma aphidis*). A) Πρόσθια επιφάνεια της αποικίας σε SDA 5 ημερών (30°C). B) Ατρακτοειδή επιμήκη βλαστοκονίδια και ψευδοϋφές (78).

➤ **Προφίλ *in vitro* ευαισθησίας στα αντιμυκητικά και θεραπεία:** Με κριτήριο τα ελλιπή δεδομένα για την αντιμετώπιση λοιμώξεων από *Pseudozyma* spp., πιθανή αποτελεσματική θεραπευτική αγωγή έναντι αυτών αποτελεί η χορήγηση L-AMB (72), VRC, POS και ISA (5). Ωστόσο, χρειάζεται να σημειωθεί πως σε αρκετά είδη του γένους έχουν παρατηρηθεί αυξημένες τιμές VRC MIC. Οι εχινοκανδίνες, η FLC και η 5FC δεν παρουσιάζουν δραστικότητα *in vitro* έναντι των *Pseudozyma* spp., οπότε θα πρέπει να αποφεύγονται (5,72). Αυτή η πληροφορία είναι σημαντικό να τονιστεί καθώς σε ασθενείς με θετικές για ζυμομύκητα αιμοκαλλιέργειες χορηγούνται συνήθως εχινοκανδίνες ή FLC πριν την τελική ταυτοποίηση του αιτιολογικού παράγοντα, οι οποίες αποτελούν θεραπεία πρώτης γραμμής για μυκηταιμία από *Candida* spp. (79,80).



Εικόνα 12. Συνιστώμενη συστηματική αντιμυκητική θεραπεία και διαχείριση ασθενών με λοίμωξη από *Pseudozyma* spp. (4).

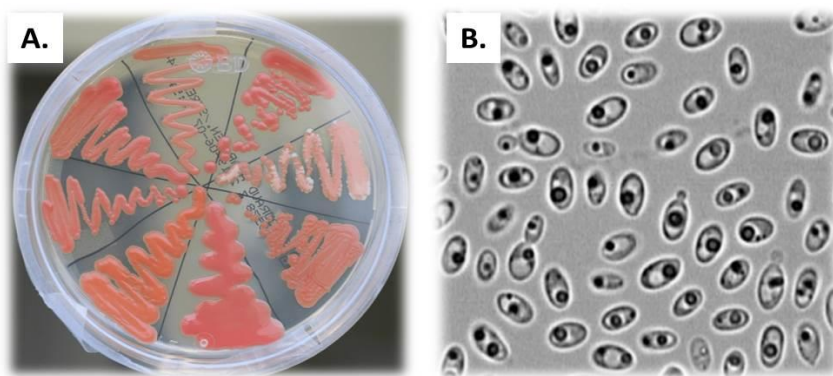
- ***Rhodotorula* spp.**

➤ **Επιδημιολογία και κλινικές εκδηλώσεις:** Το γένος *Rhodotorula* ανήκει στο φύλο των Βασιδιομυκήτων (81). Οι μύκητες του γένους είναι σαπροφυτικοί και βρίσκονται παντού στο φυσικό περιβάλλον. Πιο συγκεκριμένα, συναντώνται στο έδαφος, στο χώμα, στο νερό των ωκεανών και των λιμνών, στον αέρα και σε τρόφιμα, όπως είναι τα γαλακτοκομικά προϊόντα και οι χυμοί φρούτων (16). Επί του παρόντος, είναι καταγεγραμμένα 46 *Rhodotorula* spp. (25), εκ των οποίων τα κυριότερα ιατρικής σημασίας είδη είναι τα *R. minuta*, *R. glutinis* και *R. mucilaginosa*, με το τελευταίο να εμφανίζεται με μεγαλύτερη συχνότητα (16). Στον ανθρώπινο οργανισμό αποικίζουν την περιγεννητική περιοχή, το αναπνευστικό και το γαστρεντερικό σύστημα, ενώ αποτελούν και μέρος της φυσικής χλωρίδας του δέρματος και των νυχιών (82).

Τα *Rhodotorula* spp. χαρακτηρίζονται ως ευκαιριακά παθογόνα γιατί προσβάλλουν κυρίως άτομα με αδύναμο ανοσοποιητικό σύστημα. Στο παρελθόν υπήρχε η αντίληψη ότι δεν προκαλούσαν λοιμώξεις στον άνθρωπο, καθώς θεωρούνταν μη παθογόνα (16). Σε γενικά πλαίσια, είναι μύκητες με χαμηλή λοιμογονικότητα (83). Οι λοιμώξεις από *Rhodotorula* spp. που έχουν καταγραφεί εμφανίζονται με τη μορφή μυκηταιμίας, ενδοφθαλμίτιδας, κερατίτιδας,

ενδοκαρδίτιδας, ονυχομυκητίασης, μηνιγγίτιδας, λοίμωξη σε προσθετικά μέλη και περιτονίτιδας σε ανοσοκατασταλμένους ή ανοσοεπαρκείς ασθενείς. Σε περιπτώσεις λοίμωξης με κλινική εκδήλωση εκτός μυκηταιμίας έχει παρατηρηθεί έντονη συσχέτιση με λοίμωξη από HIV. Η πρώτη μυκηταιμία από *Rhodotorula* spp. καταγράφηκε το 1960 (16). Στους παράγοντες κινδύνου για εκδήλωση μυκηταιμίας από *Rhodotorula* spp. συγκαταλέγονται η νόσηση από αιματολογική (κυρίως) και άλλης μορφής κακοήθεια, η μεταμόσχευση συμπαγών οργάνων, τα αυτοάνοσα νοσήματα, τα βαριά εγκαύματα και η λήψη αντιβιοτικών ευρέως φάσματος, χημειοθεραπειών και ανοσοκατασταλτικών ουσιών (16,84). Η καταγεγραμμένη θνητότητα από μυκηταιμία λόγω *Rhodotorula* spp. είναι χαμηλή, κυμαίνεται κατά μέσο όρο έως 20%, ενώ έχουν καταγραφεί και υψηλότερα ποσοστά της τάξης του 42% (10).

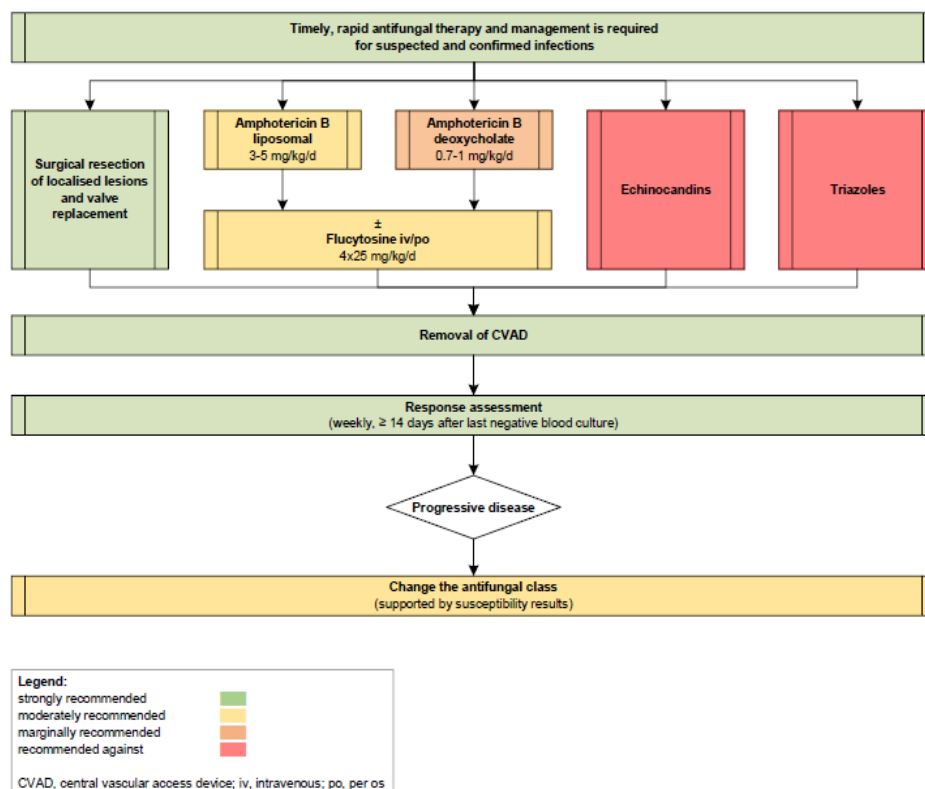
➤ **Μακροσκοπική και μικροσκοπική μορφολογία:** Η αποικία είναι λεία, υγρή και σπιλπνή, με χαρακτηριστικό πορτοκαλί έως κοραλοειδές χρώμα. Μικροσκοπικά, παρατηρούνται ωειδή προς ελλειψοειδή βλαστοκονίδια με εκβλαστώματα, τα οποία βρίσκονται μεμονωμένα, κατά ζεύγη ή σε αλυσίδες. Δεν παράγει ψευδοϋφές (25).



Εικόνα 13. Μακροσκοπική και μικροσκοπική μορφολογία *Rhodotorula* spp. A) Πρόσθια επιφάνεια της αποικίας σε SDA 5 ημερών (30°C) (81). B) Ωειδή βλαστοκονίδια με εκβλαστώματα μετά από επώαση σε άγαρ yeast malt για 3 ημέρες (20°C) (85).

➤ **Προφίλ *in vitro* ευαισθησίας στα αντιμυκητικά και θεραπεία:** Τα *Rhodotorula* spp. φαίνεται να εμφανίζουν ενδογενή αντοχή στις αζόλες και στις εχινοκανδίνες. Χαμηλές MICs έχουν προσδιοριστεί για την 5FC και την AMB, με τη

μονοθεραπεία της δεύτερης (dAMB ή L-AMB) ή το συνδυασμό τους να συστήνονται ως θεραπεία εκλογής (4,16). Η διάρκεια της θεραπείας θα πρέπει να καθοδηγείται από την εστία και την έκταση της λοίμωξης, την ανταπόκριση στη θεραπεία και την ύπαρξη ανοσοκαταστολής. Σε περιπτώσεις μυκητιαμίας, η διάρκεια της θεραπείας είναι εμπειρική, όμως η κατευθυντήριες οδηγίες συστήνουν μια διάρκεια 2-3 εβδομάδων (4).



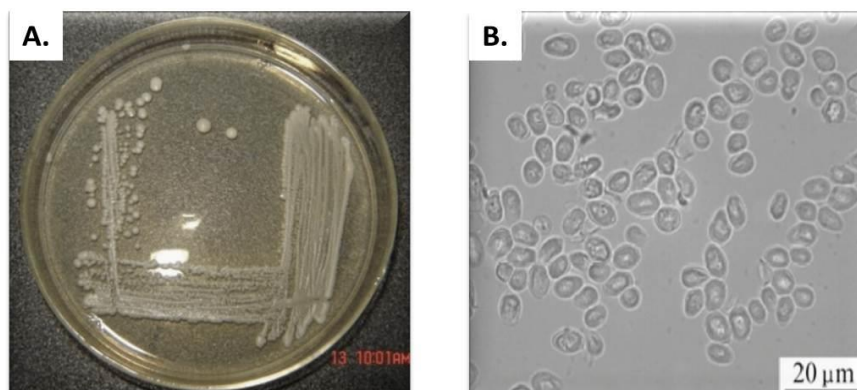
Εικόνα 14. Συνιστώμενη συστηματική αντιμυκητική θεραπεία και διαχείριση ασθενών με λοίμωξη από *Rhodotorula* spp. (4).

- **Saccharomyces spp.**

➤ **Επιδημιολογία και κλινικές εκδηλώσεις:** Το γένος *Saccharomyces* ανήκει στο φύλο των Ασκομυκήτων (86). Μέχρι στιγμής, έχουν καταγραφεί 8 είδη, εκ των οποίων άλλα έχουν θέση στη βιομηχανική παραγωγή και άλλα περιορίζονται στο φυσικό περιβάλλον (87). Το πρώτο στέλεχος *S. cerevisiae* απομονώθηκε το 1923 από τα τροπικά φρούτα λίτσι και манγκοστίν (88). Ο συγκεκριμένος ζυμομύκητας χρησιμοποιείται ευρέως στη ζυθοποιία και στην αρτοποιία, καθώς και για την παραγωγή βιοαιθανόλης (89). Αποτελεί μέρος

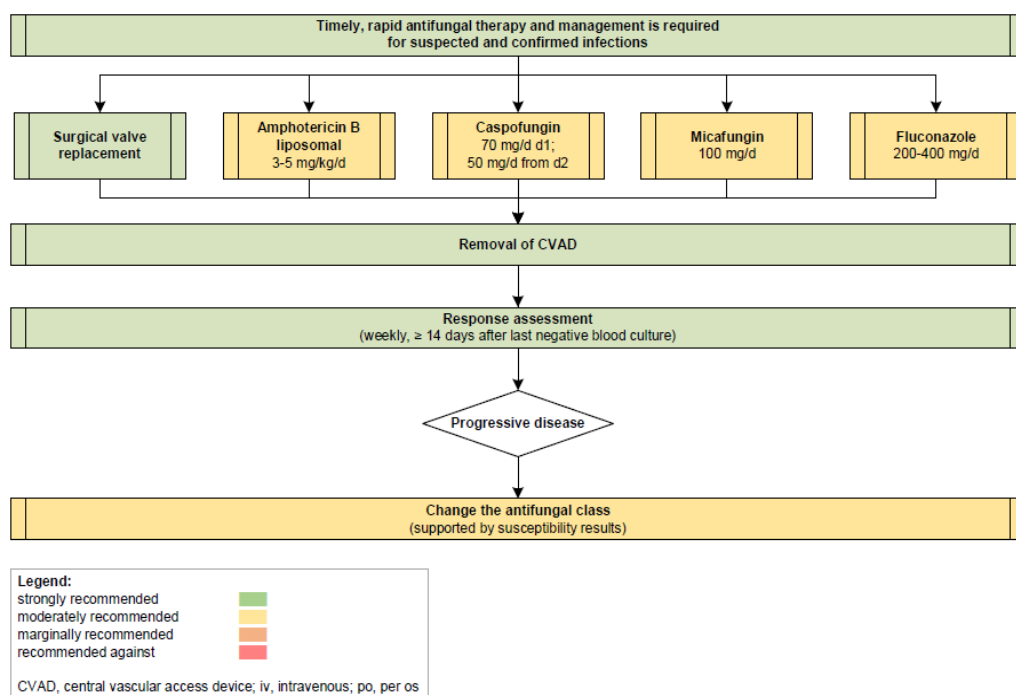
της φυσικής χλωρίδας του ανθρώπινου σώματος (88,90), είναι ευκαιριακά παθογόνος (91,92) και χαρακτηρίζεται από χαμηλή λοιμογονικότητα (93). Λοιμώξεις από *Saccharomyces* spp. έχουν καταγραφεί στο αναπνευστικό, στο γαστρεντερικό, στο καρδιαγγειακό και στο γυναικείο περιγεννητικό σύστημα (94), με τη χρήση καθετήρων και τη λήψη προβιοτικών, ιδιαίτερα αυτών που προέρχονται από το *S. boulardii*, να έχουν περιγραφεί ως οι κύριοι παράγοντες κινδύνου (95). Μάλιστα, το 2017 ο ευρωπαϊκός οργανισμός φαρμάκων επέστησε την προσοχή στους κλινικούς, ώστε να αποφεύγουν τη χορήγηση προβιοτικών σε ανοσοκατασταλαμένους ασθενείς (93). Η εκδήλωση μυκηταιμίας από *Saccharomyces* spp. μπορεί να προέλθει είτε από μετακίνηση του μύκητα από το γαστρεντερικό σωλήνα είτε από επιμόλυνση του καθετήρα από τα χέρια του ιατρονοσηλευτικού προσωπικού μετά το άνοιγμα σκευασμάτων που περιέχουν προβιοτικά, οπότε και συνιστάται ο χειρισμός τους να λαμβάνει χώρα εκτός των θαλάμων των ασθενών και το άνοιγμά τους να γίνεται με γάντια, τα οποία μετά θα απορρίπτονται (95).

➤ **Μακροσκοπική και μικροσκοπική μορφολογία:** Η αποικία είναι λεία, υγρή και έχει χρώμα λευκό ή κρεμ. Μικροσκοπικά, διακρίνονται μεγάλα σφαιρικά προς ελλειψοειδή κύτταρα με εκβλαστώματα, ενώ κάποιες φορές παρατηρείται η ύπαρξη ασκοσπορίων μετά από επώαση σε ειδικά καλλιεργητικά μέσα ή κοντών ψευδοϋφών (25).



Εικόνα 15. Μακροσκοπική και μικροσκοπική μορφολογία *S. cerevisiae*. A) Πρόσθια επιφάνεια της αποικίας σε άγαρ δεξτρόζης πατάτας (potato dextrose agar, PDA) (96). B) Μεγάλα ελλειψοειδή κύτταρα (97).

➤ **Προφίλ *in vitro* ευαισθησίας στα αντιμυκητικά και θεραπεία:** Οι καταγεγραμμένες AMB και 5FC MICs των *Saccharomyces* spp. είναι χαμηλές, ενώ οι αζόλες παρουσιάζουν υψηλές τιμές MIC (5,90). Ιδιαίτερως αποτελεσματικός *in vitro* φαίνεται να είναι ο συνδυασμός AMB με 5FC (5). Η χορήγηση AMB, εχινοκανδινών και FLC για τη θεραπεία μυκηταιμίας και διάχυτης νόσου από *Saccharomyces* spp. είναι συνήθως αποτελεσματική. Επί του παρόντος, η επιλογή της βέλτιστης κατηγορίας αντιμυκητικών ως θεραπεία πρώτης γραμμής εξαρτάται από τις προσδιοριζόμενες MICs του απομονωθέντος στελέχους και την κρίση του θεράποντα ιατρού για μια δεδομένη κλινική κατάσταση (4).



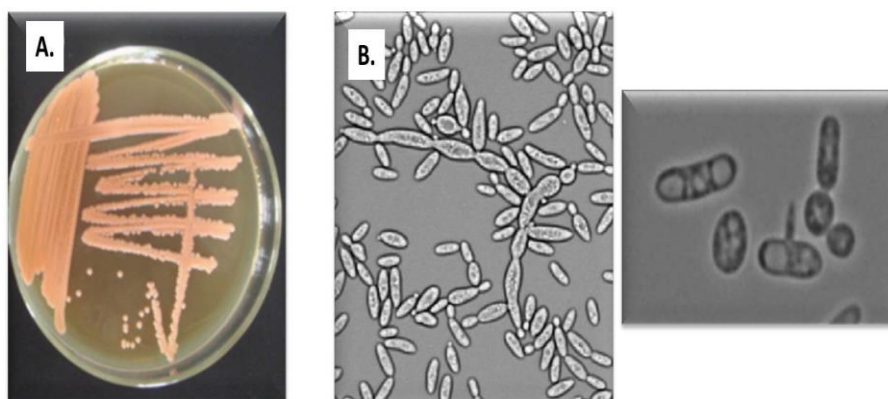
Εικόνα 16. Συνιστώμενη συστηματική αντιμυκητική θεραπεία και διαχείριση ασθενών με λοίμωξη από *Saccharomyces* spp. (4).

• *Sporobolomyces* spp.

➤ **Επιδημιολογία και κλινικές εκδηλώσεις:** Το γένος *Sporobolomyces* ανήκει στο φύλο των Βασιδιομυκήτων. Τα είδη του γένους εμφανίζουν πολλές ομοιότητες φυλογενετικά με τα *Rhodotorula* spp. και συναντώνται ευρέως στη φύση, στην επιφάνεια φύλλων, στο έδαφος, στα φρούτα αλλά και στον αέρα εσωτερικών χώρων κατά τη διάρκεια της καλοκαιρινής περιόδου (98–100). Δεν

υπάρχουν αρκετά διαθέσιμα δεδομένα για λοιμώξεις από *Sporobolomyces* spp., αλλά έχουν καταγραφεί περιστατικά μηνιγγίτιδας, ενδογενούς ενδοφθαλμίτιδας, δερματίτιδας και αλλεργικής αναπνευστικής νόσου, καθώς και διεισδυτικής λοίμωξης, ιδίως σε ασθενείς που νοσούν από HIV (5).

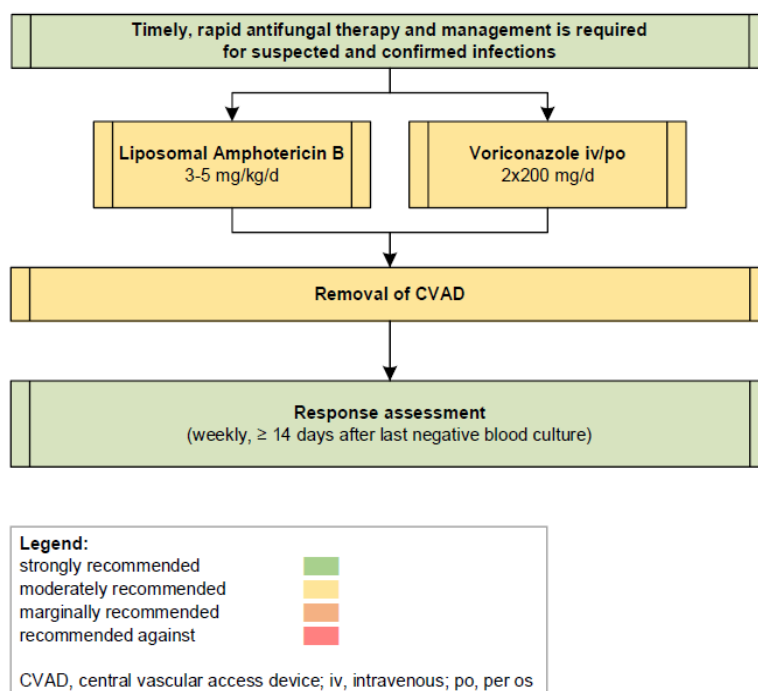
➤ **Μακροσκοπική και μικροσκοπική μορφολογία:** Η αποικία είναι λεία και έχει κατά κύριο λόγο ροζ/κοραλοειδές χρώμα, γεγονός που μπορεί να οδηγήσει σε σύγχυση και λανθασμένη ταυτοποίηση ως *Rhodotorula* spp. Εντούτοις, σημαντικό εύρημα για τη διάκρισή τους μικροσκοπικά αποτελεί η παρουσία βαλλιστοκονιδίων σε σχήμα νεφρού, τα οποία απελευθερώνονται και δύναται να δημιουργήσουν πολλές μικρές δορυφορικές αποικίες (5).



Εικόνα 17. Μακροσκοπική και μικροσκοπική μορφολογία *Sporobolomyces* spp. A) Πρόσθια επιφάνεια της αποικίας σε άγαρ yeast extract peptone dextrose (101). B) Ωοειδή, επιμήκη κύτταρα και ψευδοϋφές μετά από επώαση σε ζυμό yeast malt για 1 ημέρα (28°C) (αριστερά) και βαλλιστοκονίδια μετά από επώαση σε άγαρ αραβοσίτου για 3 ημέρες (17°C) (δεξιά) (102).

➤ **Προφίλ *in vitro* ευαισθησίας στα αντιμυκητικά και θεραπεία:** Η *in vitro* δραστηριότητα αντιμυκητικών παραγόντων έναντι *Sporobolomyces* spp. δεν έχει μελετηθεί εκτενώς. Επί του παρόντος, προτείνεται εμπειρικά η χορήγηση L-AMB ή VRC σαν θεραπεία πρώτης γραμμής, με την τερμπιναφίνη (terbinafine, TRB) και την ITC να αποτελούν επίσης δυνητικά αποτελεσματικά φάρμακα, ενώ πρέπει να αποφεύγονται οι εχινοκανδίνες και η FLC καθώς εμφανίζουν μειωμένη δραστηριότητα *in vitro* έναντι των *Sporobolomyces* spp. (103). Σε κάθε περίπτωση,

κρίνεται αναγκαίο να επιβεβαιωθούν τα προαναφερθέντα με AFST του απομονωθέντος κλινικού στελέχους (5).



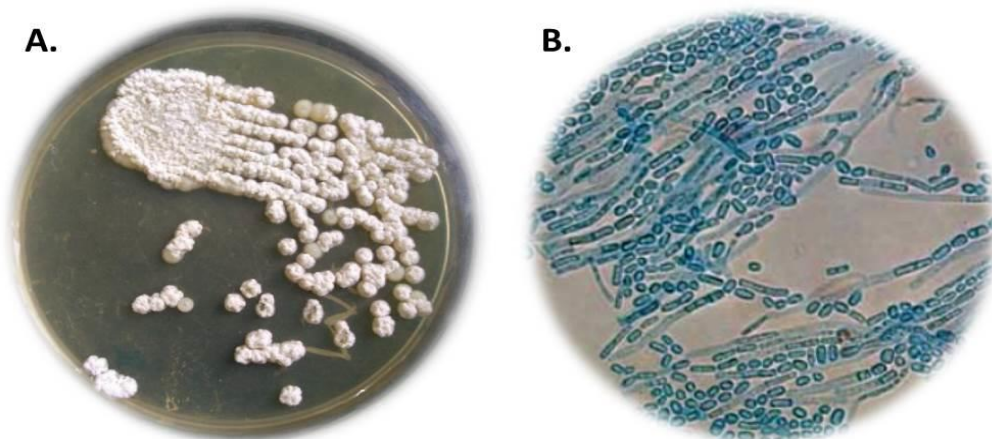
Εικόνα 18. Συνιστώμενη συστηματική αντιμυκητική θεραπεία και διαχείριση ασθενών με λοίμωξη από *Sporobolomyces* spp. (4).

• *Trichosporon* spp.

➤ **Επιδημιολογία και κλινικές εκδηλώσεις:** Το γένος *Trichosporon* ανήκει στο φύλο των Βασιδιομυκήτων (104). Συνολικά, έχουν καταγραφεί 50 *Trichosporon* spp., εκ των οποίων τα 16 συνδέονται με λοιμώξεις στον άνθρωπο, με το *T. asahii* να απομονώνεται πιο συχνά από τα υπόλοιπα ιδίως σε περιστατικά μυκηταιμίας (105–107). Στο φυσικό περιβάλλον συναντώνται στο έδαφος, στο χώμα, στο νερό των ποταμών και των λιμνών, στα ξύλα που αποσυντίθενται και στα περιττώματα πουλιών, ενώ αποτελούν μέρος της φυσικής χλωρίδας της στοματικής κοιλότητας και του γαστρεντερικού σωλήνα του ανθρώπου (106) και αποικίζουν το δέρμα και το αναπνευστικό του σύστημα (106,108). Οι μύκητες του γένους είναι ευκαιριακά παθογόνοι (104) και προσβάλλουν κυρίως ανοσοκατασταλαμένους ανθρώπους και ιδιαίτερως ουδετεροπενικούς ασθενείς. Δε φαίνεται να προσβάλλουν συχνά άτομα μικρής ηλικίας, ωστόσο έχουν καταγραφεί

κάποιες περιπτώσεις, οι οποίες αφορούν κυρίως πρόωρα νεογνά (108,109). Ως επί το πλείστον συνδέονται με επιπολής μυκητιάσεις του δέρματος και του τριχωτού της κεφαλής, με χαρακτηριστική εκδήλωση τη λευκή πιέδρα. Ωστόσο, προκαλούν και διηθητικές λοιμώξεις, είτε διάχυτες, οι οποίες είναι οι πιο κοινές με κύρια μορφή τη μυκηταιμία, είτε εντοπισμένες. Κάποια *Trichosporon* spp. μπορούν επίσης να προκαλέσουν πνευμονίτιδα εξ υπερευαισθησίας ή λοίμωξη σε ανθρώπους με επαρκή ανοσολογική απόκριση, όπως είναι οι εγκαυματίες, οι ασθενείς με πολυκυστική νόσο των νεφρών, οι χρήστες ενδοφλέβιων ναρκωτικών και τα άτομα που κάνουν κατάχρηση αλκοόλ (108). Το ποσοστό θνητότητας από τριχοσπορίωση ανέρχεται στο 53-83% (109).

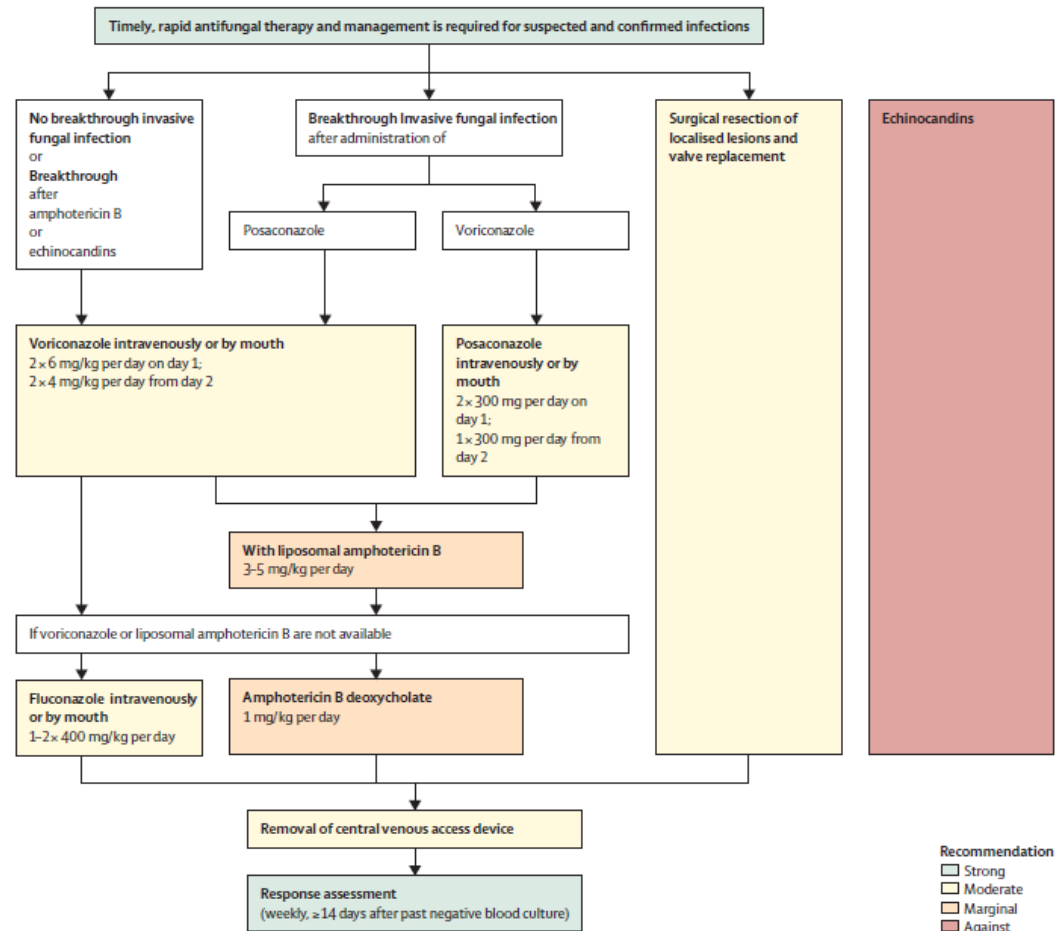
➤ **Μακροσκοπική και μικροσκοπική μορφολογία:** Η αποικία είναι συνήθως κηρώδης, ελαφρώς συρρικνωμένη και χρώματος λευκού ή κρεμ. Κατά την παρατήρησή της στο μικροσκόπιο, διακρίνονται τόσο αληθείς υφές, όσο και ψευδοϋφές. Οι αληθείς υφές κατακερματίζονται σε ωειδή ή/και ορθογώνια αρθροκονίδια, ενώ οι ψευδοϋφές παράγουν βλαστοκονίδια (25).



Εικόνα 19. Μακροσκοπική και μικροσκοπική μορφολογία *T. asahii*. A) Πρόσθια επιφάνεια της αποικίας σε SDA (110). B) Υφές με αρθροκονίδια (127).

➤ **Προφίλ *in vitro* ευαισθησίας στα αντιμυκητικά και θεραπεία:** Η 5FC (105), οι εχινοκανδίνες (ενδογενής αντοχή) και τα πολυένια (107,108) παρουσιάζουν μειωμένη δραστηριότητα *in vitro* έναντι των *Trichosporon* spp. Σημειώτέον, η χορήγηση εχινοκανδινών έχει συνδεθεί με την εκδήλωση εκ διαφυγής (breakthrough) λοιμώξεων (107,108). Αναφορικά με την AMB, η

βιβλιογραφία έχει αναδείξει αναφορές περιστατικών που καταγράφηκε ανοχή (5). Μάλιστα, αν και στο παρελθόν η AMB χορηγούνταν ως αντιμυκητικό επιλογής, με την πάροδο των χρόνων, τη διεξαγωγή ερευνών και την αρνητική έκβαση ορισμένων περιστατικών, προτάθηκε διακοπή της χορήγησής της ως τέτοιο (109). Ωστόσο, εξετάζεται και χρήζει περαιτέρω έρευνας η συνεργική δράση του συνδυασμού αντιμυκητικών παραγόντων, όπως MFG (108) ή VRC (109) με AMB. Σύμφωνα με *in vitro* μελέτες, οι αζόλες, και κατά κύριο λόγο η VRC, φάνηκε να είναι πιο δραστικές από την AMB για την αντιμετώπιση της ίδιας μόλυνσης (104). Η VRC σημειώνει σημαντική δραστικότητα τόσο *in vitro*, όσο και *in vivo*, με επακόλουθο να αποτελεί πλέον το φάρμακο επιλογής για τη στοχευμένη αντιμετώπιση τριχοσπορίωσης, αλλά και για την προφύλαξη από τη συγκεκριμένη λοίμωξη (5). Χαμηλές τιμές MIC έχουν αναφερθεί και για την POS (105). Εντούτοις, αξίζει να αναφερθεί πως υπάρχουν καταγεγραμμένες εκ διαφυγής λοιμώξεις από *Trichosporon* spp. σε ασθενείς που λάμβαναν αζόλες (108). Τέλος, η χορήγηση παράγοντα διέγερσης αποικιών κοκκιοκυττάρων, ο οποίος φαίνεται να διαθέτει μυκητοκτόνο δράση *in vitro* έναντι των *Trichosporon* spp., αναδεικνύεται ως μια υποσχόμενη θεραπευτική προσέγγιση για την τριχοσπορίωση (109).



Εικόνα 20. Αντιμυκητική θεραπεία και διαχείριση ασθενών με συστηματική τριχοσπορίωση (4).

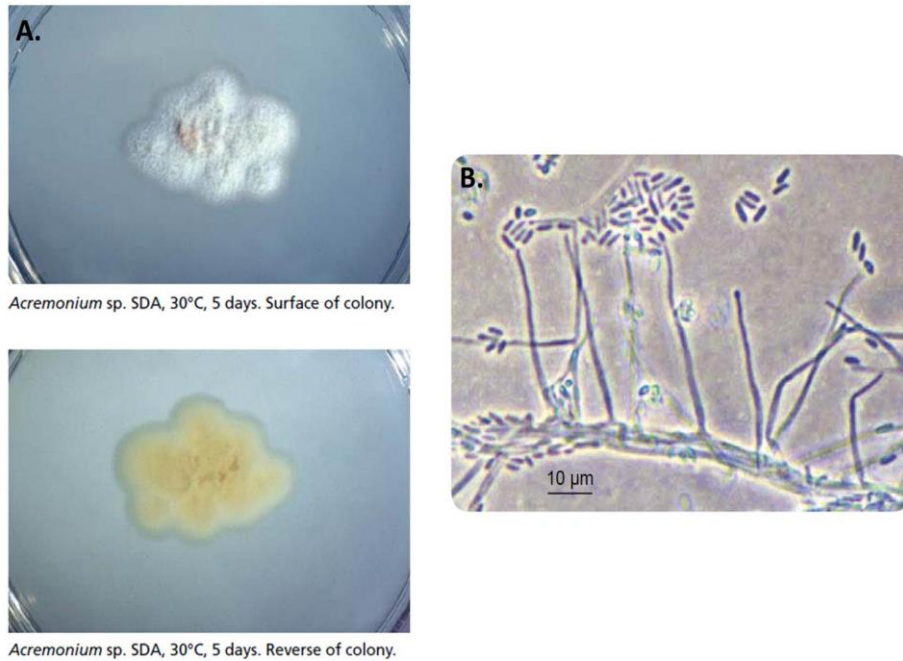
1.2.2.2 Νηματοειδείς μύκητες

Σύμφωνα με διεθνείς κατευθυντήριες οδηγίες, στους σπάνιους υφομύκητες περιλαμβάνονται δερματικοί (dermaticeous) υφομύκητες που προκαλούν φαιοϋφομύκωση, τα γένη *Acremonium*, *Fusarium*, *Lomentospora*, *Scedosporium*, *Paecilomyces*, *Peniicillium*, *Purpureocillium*, *Rasamsonia*, *Scopulariopsis*, *Schizophyllum*, *Talaromyces* (εκτός του είδους *marneffe*) και άλλοι Βασιδιομύκητες (6).

- ***Acremonium* spp.**

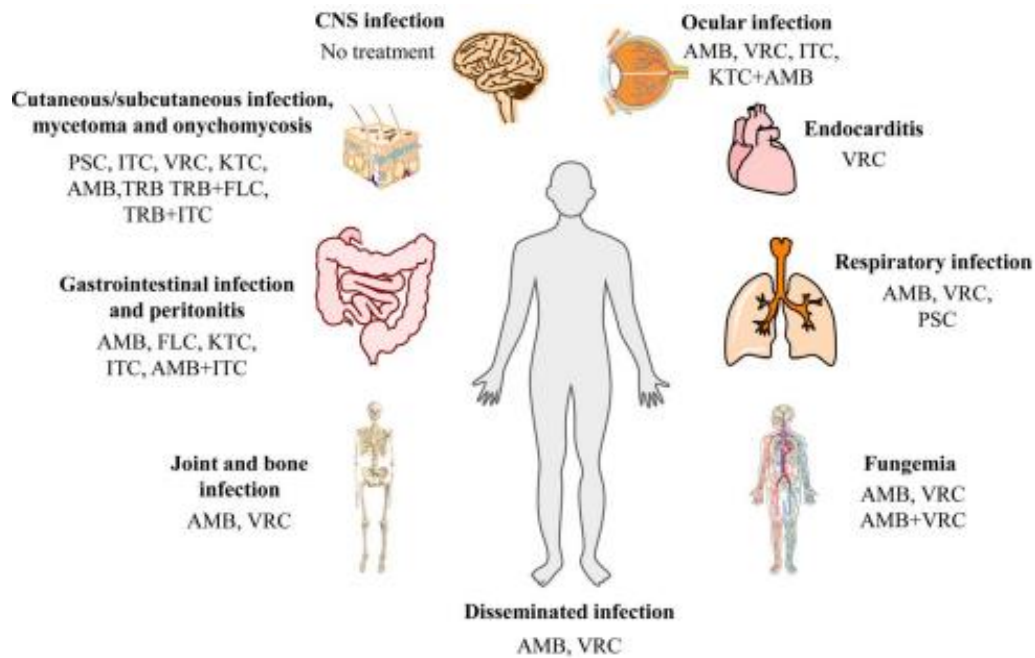
➤ **Επιδημιολογία και κλινικές εκδηλώσεις:** Το γένος *Acremonium* ανήκει στο φύλο των Ασκομυκήτων (111). Οι μύκητες του γένους είναι ευρέως διαδεδομένοι, αποτελούν σαπρόφυτα του εδάφους και εντοπίζονται στο χώμα (112) και σε φυτικά υπολείμματα (113). Στο γένος περιλαμβάνονται ~100 είδη (114), εκ των οποίων ορισμένα, όπως τα *S. kiliense* (πρώην *A. kiliense*) και τα *A. egyptiacum*, είναι δυνητικά παθογόνα (25). Τα *Acremonium* spp. προσβάλλουν κυρίως αυτούς που έχουν μειωμένη ανοσολογική απόκριση, προκαλώντας τους διηθητικές λοιμώξεις. Το φάσμα των λοιμώξεων από *Acremonium* spp. είναι ευρύ και περιλαμβάνει περιστατικά λευκής πιέδρας, ονυχομυκητίασης, οφθαλμικών λοιμώξεων, πνευμονίτιδας εξ υπερευαισθησίας, λοιμώξεων του δέρματος του ιγμορείου, των αρθρώσεων και του ενδοκαρδίου, καθώς και διάχυτης λοίμωξης (112). Συγχρόνως, αποτελούν έναν από τους κύριους αιτιολογικούς παράγοντες μυκητώματος στις Ηνωμένες Πολιτείες της Αμερικής (ΗΠΑ) (115). Η εκδήλωση μυκηταιμίας φαίνεται να παρουσιάζει σημαντική συσχέτιση με τη χρήση καθετήρα, τη χρόνια χορήγηση παρεντερικής διατροφής και τη νόσηση από αιματολογική κακοήθεια. Προσοχή απαιτείται και για τους ασθενείς που λαμβάνουν ινφλιξιμάμπη, καθώς η χορήγησή της έχει συσχετιστεί με μυκηταιμία από *S. kiliense* (113).

➤ **Μακροσκοπική και μικροσκοπική μορφολογία:** Αρχικά, η αποικία είναι επίπεδη, συμπαγής και υγρή, όμως με την πάροδο του χρόνου μεταπίπτει σε βαμβάκοειδή, με πτυχώσεις, ελαφρώς επηρμένη και συνήθως με εναέριο μυκήλιο στο κέντρο. Το χρώμα της μπορεί να είναι λευκό, γκρίζο, ανοιχτό πορτοκαλί ή ροζ, ενώ η οπίσθια επιφάνειά της είναι ανοιχτόχρωμη. Μικροσκοπικά, παρατηρούνται λεπτές, υαλοειδείς υφές με διαφραγμάτια, από τις οποίες εκφύονται κάθετα φιαλίδες με λεπτά τοιχώματα. Ακόμη, διακρίνονται πολυάριθμα φιαλοκονίδια ωοειδούς ή ελλειψοειδούς σχήματος που σχηματίζουν αθροίσματα στο άκρο των φιαλίδων (25).



Εικόνα 21. Μακροσκοπική και μικροσκοπική μορφολογία *Acremonium* spp. A) Πρόσθια/οπίσθια επιφάνεια της αποικίας σε SDA 5 ημερών (30°C) (26). B) Φιαλοκονίδια συσσωρεύονται στο άκρο λεπτής φιαλίδας (25).

➤ **Προφίλ *in vitro* ευαισθησίας στα αντιμυκητικά και θεραπεία:** Σε αρκετές μελέτες, γίνεται λόγος για αντοχή των *Acremonium* spp. στις FLC, POS και ITC, ενώ μειωμένη ευαισθησία τους έχει αναφερθεί και στην κατηγορία των εχινοκανδινών. Αμφιλεγόμενα κρίνονται τα αποτελέσματα για τη VRC και την TRB, με μελέτες να αναφέρουν τόσο μειωμένη όσο και καλή αντιμυκητική τους δράση έναντι των *Acremonium* spp.. Η VRC φαίνεται να είναι το αντιμυκητικό με την αποτελεσματικότερη δραστηριότητα *in vivo* (116). Η AMB και, σε μικρότερο βαθμό, η VRC είναι τα πιο συχνά χρησιμοποιούμενα αντιμυκητικά για τη θεραπεία λοιμώξεων από *Acremonium* (112), αν και παρά τη χορήγησή τους έχει περιγραφεί θεραπευτική αποτυχία, ιδίως σε περιπτώσεις μυκηταιμίας ή διάχυτης λοίμωξης (117,118).



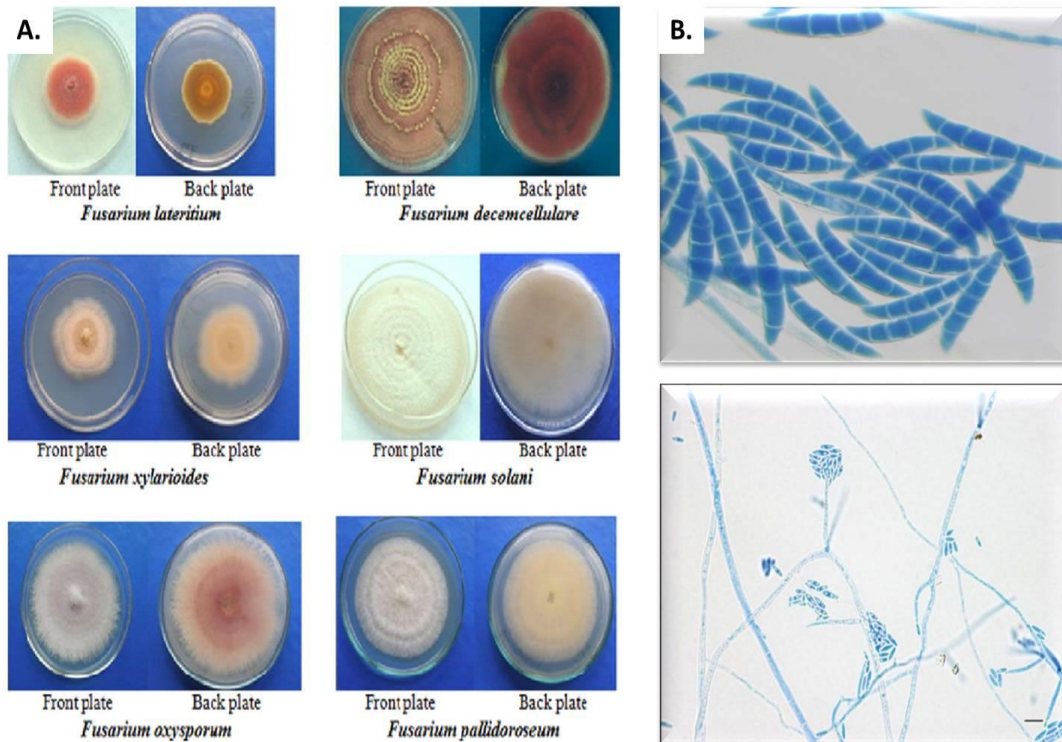
Εικόνα 22. Το φάσμα των λοιμώξεων από *Acremonium* spp. και *Sarcocladium* spp. Κάτω από κάθε κλινική εκδήλωση αναγράφονται τα συνιστώμενα αντιμυκητιακά για την αντιμετώπιση της εκάστοτε λοίμωξης (116).

- ***Fusarium* spp.**

➤ **Επιδημιολογία και κλινικές εκδηλώσεις:** Το *Fusarium* είναι ένα μεγάλο γένος μυκήτων, ευρέως καταμελημένο στο έδαφος, στη θάλασσα, στο γλυκό νερό και στα φυτά. Ανήκει στο φύλο των Ασκομυκήτων και περιλαμβάνει >300 είδη, από τα οποία μόνο τα 70 έχουν μελετηθεί εις βάθος. Παρόλο που τα περισσότερα *Fusarium* spp. είναι σαπροφυτικά, ορισμένα αναγνωρίζονται ως παθογόνα (119). Συγκεκριμένα, πιστεύεται ότι υπάρχουν κατά προσέγγιση 10 συμπλέγματα ειδών που προσβάλλουν τον άνθρωπο, συμπεριλαμβανομένου, του *F. solani* (50% των σοβαρών λοιμώξεων), του *F. oxysporum* (20% των σοβαρών λοιμώξεων), του *F. fujikuroi*, του *F. incarnatum-equiseti* και του *F. dimerum* (6,120,121). Οι μύκητες του γένους είναι οι πιο επικρατείς σπάνιοι νηματοειδείς μύκητες ιατρικής σημασίας. Προκαλούν κυρίως επιπολής μυκητιάσεις και κερατίτιδα σε ανοσοεπαρκείς ξενιστές, και σοβαρές διάχυτες λοιμώξεις σε ανοσοκατασταλμένα άτομα, ιδίως σε ασθενείς με αιματολογικές κακοήθειες, με ουδετεροπενία και σε αυτούς που έχουν υποβληθεί σε μεταμόσχευση συμπαγών οργάνων ή αιμοποιητικών κυττάρων. Η

μόλυνση γίνεται αερογενώς με την εισπνοή μικροκονιδίων ή μέσω κάποιου τραυματισμού, συμπεριλαμβανομένου του εγκαύματος (120,122). Τα *Fusarium* spp. συχνά διασπείρονται στον οργανισμό του ασθενούς, γεγονός που οφείλεται πιθανώς στην ικανότητά τους να σχηματίζουν κονίδια (aleurioconidia) *in vivo*, τα οποία μπορούν να αποκοπούν από τις υφές και να εισέλθουν στην κυκλοφορία του αίματος. Η νεκρωτική ερυθρηματώδης βλατίδωση ή οι κονδυλώδεις δερματικές βλάβες αποτελούν χαρακτηριστικά συμπτώματα της συστηματικής φουζαρίωσης σε ανοσοκατασταλμένα άτομα (123).

➤ **Μακροσκοπική και μικροσκοπική μορφολογία:** Η αποικία είναι ταχέως αναπτυσσόμενη, συχνά χνουώδης, με εναέριο μυκήλιο και με την πάροδο του χρόνου δύναται να μεταπίπτει σε βλεννώδη. Το χρώμα της ποικίλει ανάλογα με το είδος και μπορεί να είναι λευκό, γκρίζο, ροζ, λιλά ή καστανέρυθρο, ενώ η οπίσθια επιφάνειά της είναι ανοιχτόχρωμη ή σπάνια καστανέρυθρη. Κατά τη μικροσκοπική εξέταση, διακρίνονται υαλοειδείς υφές με διαφραγμάτια, κονιδιοφόροι που εκφύονται κάθετα προς αυτές και κυλινδρικές φιαλίδες. Διακριτό γνώρισμα του γένους αποτελεί το δρεπανοειδές σχήμα των μακροκονιδίων, τα οποία έχουν πολλαπλά διαφραγμάτια, φέρουν χαρακτηριστικό ποδοκύτταρο και σχηματίζονται κατά μάζες. Τα μικροκονίδια είναι ποικίλου σχήματος, μονήρη ή αθροίζονται κατά ομάδες και φέρουν 1-2 διαφραγμάτια. Κάποια είδη παράγουν τελικά ή ενδιάμεσα χλαμυδοκονίδια (25).



Εικόνα 23. Μακροσκοπική και μικροσκοπική μορφολογία *Fusarium* spp. Α) Πρόσθια/οπίσθια επιφάνεια της αποικίας σε PDA 10 ημερών (θερμοκρασία δωματίου) (124). Β) Δρεπανοειδή μακροκονίδια, με ποδοκύταρο και οξύαιχο άκρο (πάνω), και μικροκονίδια, που εκφύονται κατά ομάδα στο άκρο φιαλίδας (κάτω) (125).

➤ **Προφίλ *in vitro* ευαισθησίας στα αντιμυκητικά και θεραπεία:** Τα *Fusarium* spp. παρουσιάζουν αντοχή *in vitro* σε πολλούς από τους αντιμυκητικούς παράγοντες που έχουν λάβει έγκριση για τη θεραπεία μυκητικών λοιμώξεων (126). Σύμφωνα με τις πιο πρόσφατες κατευθυντήριες οδηγίες, συστήνεται η χορήγηση VRC ή L-AMB ως αρχική θεραπεία για διηθητική φουζαρίωση, ενώ η χρήση dAMB θα πρέπει να αποφεύγεται εάν υπάρχουν διαθέσιμοι άλλοι δραστικοί αντιμυκητιακοί παράγοντες. Σε περίπτωση διηθητικής λοίμωξης, η θεραπεία θα πρέπει να συνεχίζεται έως την αποκατάσταση της λειτουργίας του ανοσοποιητικού συστήματος του ξενιστή, ενώ στο ενδεχόμενο διάχυτης νόσου συστήνεται ελάχιστη διάρκεια θεραπείας 2 μηνών (6).

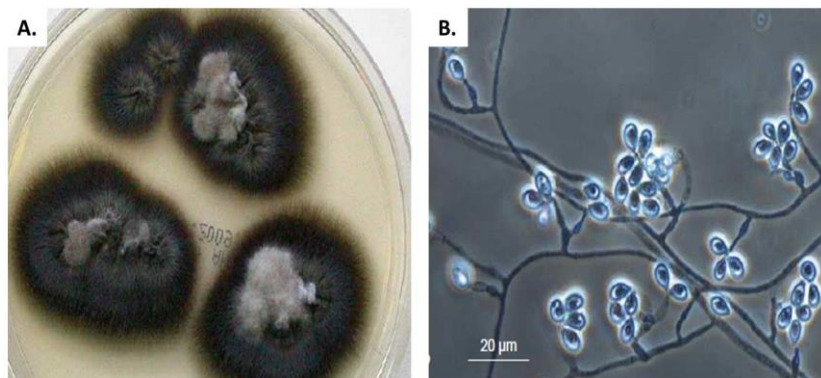
	First-line	First-line alternative	Second-line	Treatments to avoid	Salvage treatments
Fusariosis	Voriconazole, or voriconazole plus L-AmB, or voriconazole plus ABLC	L-AmB, or ABLC	Isavuconazole, or posaconazole	D-AmB	Posaconazole

Εικόνα 24. Συνιστώμενη συστηματική αντιμυκητική θεραπεία σε ενήλικες ασθενείς με φουζαρίωση (6).

- ***Lomentospora prolificans* (πρώην *Scedosporium prolificans*)**

➤ **Επιδημιολογία και κλινικές εκδηλώσεις:** Λαμβάνοντας υπόψη το φυλογενετικό του προφίλ, η *L. prolificans* διακρίνεται πλέον από τα *Scedosporium* spp.. Στο φυσικό περιβάλλον εντοπίζεται στο έδαφος, σε εδάφη εμπροτισμένα με πετρέλαιο, σε λύματα και κοπριές ζώων, σε φυτά και σε μολυσμένα ύδατα, ενώ ανευρίσκεται πρωτίστως σε περιοχές με ξηρό κλίμα, με τα περιστατικά που έχουν καταγραφεί να προέρχονται κυρίως από την Αυστραλία, τις νοτιοδυτικές πολιτείες των ΗΠΑ και την Ισπανία. Η επιδημιολογία της λομεντοσπορίωσης δεν έχει ακόμη καθοριστεί πλήρως. Η είσοδος του μύκητα στον ανθρώπινο οργανισμό γίνεται μέσω τραύματος ή εισπνοής των κονιδίων που παράγει (127). Περιστατικά λοίμωξης έχουν καταγραφεί ύστερα από τροχαία ή ιατρικά ατυχήματα, καθώς και σε άτομα που ασχολούνται με την κτηνοτροφία, τη γεωργία ή την κηπουρική (128). Οι ανοσοκατασταλμένοι ασθενείς που λαμβάνουν θεραπεία για αιματολογική κακοήθεια και όσοι έχουν υποβληθεί σε μεταμόσχευση αιμοποιητικών κυττάρων και συμπαγών οργάνων διατρέχουν τον υψηλότερο κίνδυνο για λομεντοσπορίωση (127), με κυριότερες μορφές της την εγκεφαλική και την πνευμονική (128). Συγκεκριμένα, η *L. prolificans* προκαλεί λοιμώξεις του δέρματος, των ούχων, των βλεννογόνων της μύτης, των μαλακών ιστών, των μυών, των οστών (και των αρθρώσεων), των οφθαλμών, του ΚΝΣ και του ενδοκαρδίου (127). Τα ποσοστά θνητότητας που έχουν καταγραφεί είναι εξαιρετικά υψηλά (87,5% και 90% σε περίπτωση ύπαρξης υποκείμενου νοσήματος (127) και μυκηταιμίας (129), αντίστοιχα), γεγονός που αποδίδεται στην αντοχή του παθογόνου στα περισσότερα διαθέσιμα αντιμυκητικά φάρμακα.

➤ **Μακροσκοπική και μικροσκοπική μορφολογία:** Η αποικία είναι επίπεδη, βαμβακοειδής ή υγρή, χρώματος ανοιχτού γκριζου προς μαύρου, η οποία με την πάροδο του χρόνου δύναται να μεταπίπτει σε σκούρο γκρι προς μαύρο χρώμα και να αναπτύσσει λευκό εναέριο μυκήλιο. Η οπίσθια επιφάνειά της είναι γκρι προς μαύρο. Μικροσκοπικά, παρατηρούνται κονιδιοφόροι σε σχήμα φιάλης, με ευδιάκριτα διογκωμένες βάσεις, που εκφύονται μεμονωμένοι ή σε ομάδες κατά μήκος των υφών. Τα κονίδια εκφύονται σε συστάδες, είναι μονοκύτταρα, ωειδή και έχουν λεία, παχιά τοιχώματα (25).



Εικόνα 25. Μακροσκοπική και μικροσκοπική μορφολογία *L. prolificans*. Α) Πρόσθια επιφάνεια της αποικίας. Β) Κονιδιοφόροι σε σχήμα φιάλης, με διογκωμένες βάσεις, από τις οποίες εκφύονται ωειδή κονίδια σε συστάδες (26).

➤ **Προφίλ *in vitro* ευαισθησίας στα αντιμυκητικά και θεραπεία:** Η θεραπευτική αντιμετώπιση της λομεντοσπορίωσης δεν είναι εύκολη υπόθεση, καθώς η *L. prolificans* εμφανίζει ενδογενή αντοχή στους περισσότερους διαθέσιμους αντιμυκητικούς παράγοντες. Μάλιστα, γίνονται αναφορές σε αυτήν με το χαρακτηρισμό παν-ανθεκτική, αν και περιστασιακά παρατηρούνται *in vitro* χαμηλότερες VRC και POS MICs (127,130,131). Σε ανοσοεπαρκείς ασθενείς με εντοπισμένη λοίμωξη, ως θεραπεία πρώτης γραμμής χορηγείται VRC. Σε κάθε περίπτωση, δε συστήνεται η μονοθεραπεία L-AMB, ενώ ιδιαίτερη μνεία γίνεται στη συνδυαστική θεραπεία αντιμυκητικών με βάση τη VRC, και ιδιαίτερος στο συνδυασμό της με TRB (6). Αναφορικά με τα θεραπευτικά σχήματα, άξια περαιτέρω έρευνας είναι η συμπληρωματική θεραπεία με υπερβαρικό οξυγόνο, ενώ αρκετά υποσχόμενη είναι η θεραπεία με ιντερφερόνη-γ και με παράγοντα διέγερσης αποικιών κοκκιοκυττάρων-μακροφάγων (132). Τέλος, η παρατεταμένη

διάρκεια συνδυαστικής αντιμυκητικής θεραπείας, τουλάχιστον 4 έως 6 μήνες, έχει συσχετιστεί με βελτιωμένο κλινικό αποτέλεσμα και επιβίωση, αν και γενικά δεν υπάρχουν δεδομένα που να υποστηρίζουν μια προκαθορισμένη διάρκεια θεραπείας (6).

	First-line	First-line alternative	Second-line	Treatments to avoid	Salvage treatments
Lomentosporosis	Voriconazole plus terbinafine	Voriconazole	Isavuconazole, or posaconazole	L-AmB	Voriconazole

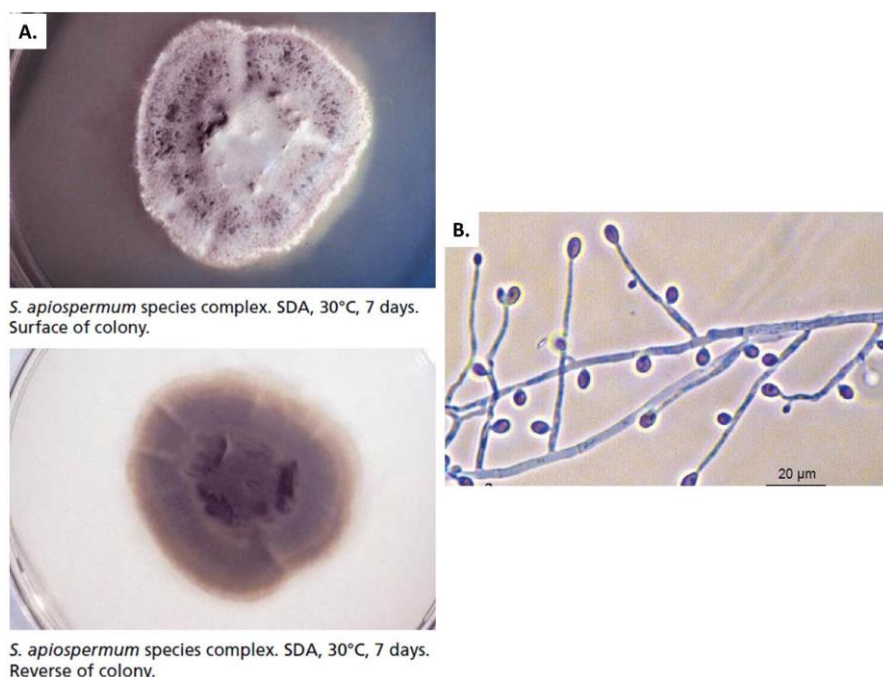
Εικόνα 26. Συνιστώμενη συστηματική αντιμυκητική θεραπεία σε ενήλικες ασθενείς με λομεντοσπορίωση (6).

- ***Scedosporium spp.***

➤ **Επιδημιολογία και κλινικές εκδηλώσεις:** Οι μύκητες του γένους *Scedosporium* είναι σαπροφυτικοί και απαντώνται κυρίως σε χώρες με εύκρατο κλίμα (6). Μετά από την εισαγωγή της έννοιας «One Fungus-One Name (1F1N)», το γένος περιλαμβάνει 10 διακριτά είδη (127), με τα *S. boydii* και *S. apiospermum* να αποτελούν τους κύριους αιτιολογικούς παράγοντες λοιμώξεων από *Scedosporium*, το *S. aurantiacum* να απομονώνεται σε μικρότερο βαθμό, κυρίως σε χώρες της Ευρώπης και στην Αυστραλία, και το *S. dehoogii* να έχει ταυτοποιηθεί ως παθογόνο σε περιορισμένες περιπτώσεις (6). Οι κλινικές εκδηλώσεις της λοίμωξης από *Scedosporium spp.* είναι το μυκήτωμα, το οποίο συνήθως εντοπίζεται σε ανοσοεπαρκή άτομα, και η σκεδοσπορίωση, που αφορά κυρίως ασθενείς που πάσχουν από κάποια αιματολογική νόσο και λήπτες συμπαγών οργάνων. Τα *Scedosporium spp.* μπορούν να προκαλέσουν λοιμώξεις του αναπνευστικού συστήματος, του δέρματος και του εγκεφάλου, ενώ παράλληλα είναι υπεύθυνοι για δευτερογενείς λοιμώξεις του ΚΝΣ. Ακόμη, προσβάλλουν τα οστά, τους παραρρινίους κόλπους και τους οφθαλμούς, με τα περισσότερα καταγεγραμμένα περιστατικά να αφορούν κερατίτιδες και ενδοφθαλμίτιδες μετά από τραυματισμό (6,133). Οι λοιμώξεις του αίματος δεν εκλείπουν, με επεισόδια μυκηταιμιών από διάφορα *Scedosporium spp.* να σημειώνονται (134,135). Η κύρια πύλη εισόδου τους στον οργανισμό ανοσοεπαρκών ασθενών είναι ο τραυματισμός

ή η αναρρόφηση μολυσμένου νερού. Τα μη τραυματικά θύματα σε μαζικές καταστροφές (πνιγμός, τσουνάμι και σεισμός) αντιπροσωπεύουν μια ομάδα υψηλού κινδύνου για την εμφάνιση σκεδοσπορίωσης (6), ενώ υπάρχουν αναφορές για πιθανότητα σύνδεσης της προσβολή ασθενών από *Scedosporium* με κατασκευαστικές επισκευές σε χώρους υγειονομικής περίθαλψης (131).

➤ **Μακροσκοπική και μικροσκοπική μορφολογία:** Η αποικία είναι επίπεδη και χνοώδης. Το χρώμα της είναι γκριζο-λευκό, ενώ η οπίσθια επιφάνειά της είναι γκριζο-μαύρη. Μικροσκοπικά, διακρίνονται υφές με διαφραγμάτια, από τις οποίες εκφύονται επιμήκεις κονιδιοφόροι. Τα κονίδια που εκφύονται, μεμονωμένα ή σε μικρές ομάδες, είναι μονοκύτταρα, ωοειδή ή ροπαλοειδή, με στρογγυλεμένο το πάνω μέρος τους και κολοβωμένες βάσεις (25).



Εικόνα 27. Μακροσκοπική και μικροσκοπική μορφολογία συμπλέγματος ειδών *S. apiospermum*. A) Πρόσθια/οπίσθια επιφάνεια της αποικίας σε SDA 7 ημερών (30°C) (26). B) Ροπαλοειδή κονίδια, με στρογγυλεμένο το πάνω μέρος τους και κολοβωμένες βάσεις, που εκφύονται από κονιδιοφόρους (25).

➤ **Προφίλ *in vitro* ευαισθησίας στα αντιμυκητικά και θεραπεία:** Τα *Scedosporium* spp. παρουσιάζουν υψηλές τιμές FLC, ITC, ISA και AMB MIC, ενώ χαμηλότερες MICs έχουν καταγραφεί για τις εχινοκανδίνες, τη VRC και τη POS, με

το σύνολο των διαθέσιμων μελετών να διαπιστώνει ότι η VRC υποδεικνύει την υψηλότερη δραστικότητα *in vitro*. Η χορήγηση VRC συνιστάται σαν θεραπεία πρώτης γραμμής ανεξαρτήτως της εστίας της λοίμωξης, ενώ η χρήση AMB αποθαρρύνεται όποτε η VRC είναι διαθέσιμη. Γενικά, αποτυχία της θεραπείας εντοπίζεται σε περίπτωση εμμένουσας σκεδοσπορίωσης ή τοξικότητας/δυσανεξίας στην προτεινόμενη αρχική θεραπεία. Δεδομένου ότι, όπως προαναφέρθηκε, μόνο δύο κατηγορίες αντιμυκητικών παρουσιάζουν αποδεκτή κλινική αποτελεσματικότητα, ως θεραπεία διάσωσης ορίζεται κυρίως η μετάβαση στην άλλη κατηγορία. Η διάρκεια της θεραπείας που απαιτείται για την αντιμετώπιση της σκεδοσπορίωσης παραμένει άγνωστη, με τη χορήγησή της συνήθως να διαρκεί από εβδομάδες έως μήνες, ενώ όταν η υποκείμενη ανοσοανεπάρκεια υποχωρήσει, η θεραπεία μπορεί να συνεχιστεί μέχρι να επέλθει υποχώρηση των συμπτωμάτων (6).

	First-line	First-line alternative	Second-line	Treatments to avoid	Salvage treatments
Scedosporiosis	Voriconazole	Voriconazole in combination with L-AmB, ABLC, echinocandins, or terbinafine	Isavuconazole, or posaconazole, or itraconazole	L-AmB	Voriconazole, echinocandins, or posaconazole

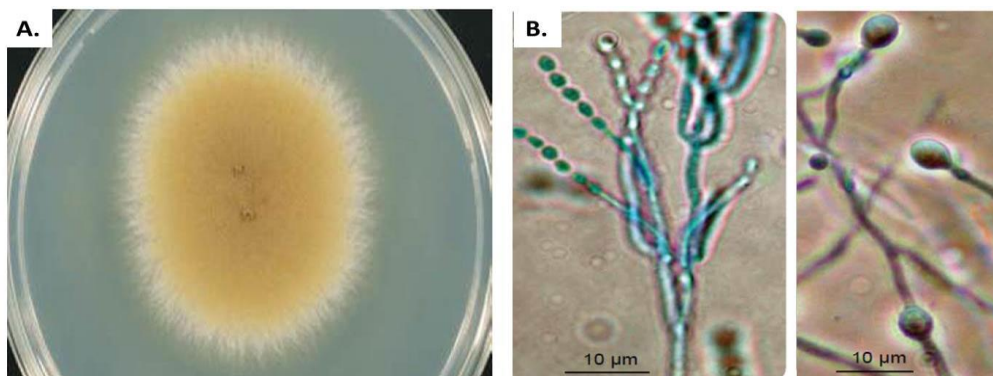
Εικόνα 28. Συνιστώμενη συστηματική αντιμυκητική θεραπεία σε ενήλικες ασθενείς με σκεδοσπορίωση (6).

- ***Paecilomyces* spp.**

➤ **Επιδημιολογία και κλινικές εκδηλώσεις:** Το γένος *Paecilomyces* ανήκει στο φύλο των Ασκομυκήτων και αποτελείται από σαπροφυτικούς και θερμοανθεκτικούς μύκητες, οι οποίοι εντοπίζονται σε αφθονία στο έδαφος, στα τρόφιμα, σε αποσυντιθέμενη οργανική ύλη και στη σκόνη των σπιτιών. Στο παρελθόν, τα *Paecilomyces* spp. θεωρούνταν συχνά επιμολυντικοί παράγοντες των καλλιεργειών, αλλά τα τελευταία χρόνια αναγνωρίζονται παγκοσμίως ως σημαντικά παθογόνα που προκαλούν λοιμώξεις σε ανοσοκατασταλμένους ασθενείς ή σε ασθενείς με παρατεταμένη χρήση καθετήρα. Όμως, περιστατικά έχουν αναφερθεί και σε ανοσοεπαρκή άτομα, κυρίως μετά από τραυματισμό. Κύριος αιτιολογικός παράγοντας θεωρείται το σύμπλεγμα ειδών *P. variotii* (*P.*

variotii sensu stricto, *P. formosus*, *P. divaricatus*, *P. brunneolus* και *P. dactylethromorphus*), τα οποία μπορούν να προκαλέσουν λοιμώξεις του δέρματος, των μαλακών ιστών, των πνευμόνων, των οστών (και των αρθρώσεων), των οφθαλμών και του αίματος, ιδιαίτερα σε ασθενείς με αδύναμο ανοσοποιητικό σύστημα (6).

➤ **Μακροσκοπική και μικροσκοπική μορφολογία:** Η ταυτοποίηση των *Paecilomyces* spp. εμφανίζει δυσκολία, λόγω των μορφολογικών τους ομοιοτήτων με μύκητες του γένους *Rasamsonia* και *Hamigera* (6). Η αποικία είναι επίπεδη, χνουδής ή κονιώδης. Το χρώμα της είναι αρχικά λευκό, όμως με την πάροδο της επώασης μεταπίπτει σε χρυσοκαστανό. Μικροσκοπικά, οι κονιδιοφόροι εκφύονται κάθετα των υφών και σχηματίζουν κλάδους, στο άκρο των οποίων φέρονται φιαλίδες. Οι φιαλίδες είναι κυλινδρικές ή ελλειψοειδείς, διογκωμένες στη βάση τους και έχουν οξύαιχμο άκρο από το οποίο ξεκινούν μακρές αποκλίνουσες αλυσίδες φιαλοκονιδίων. Τα φιαλοκονίδια είναι ωοειδή ή ελλειψοειδή, υαλοειδούς έως κίτρινου χρώματος, με λείο ή τραχύ τοίχωμα. Ακόμη, συνήθως εντοπίζονται χλαμυδοκονίδια (25).



Εικόνα 29. Μακροσκοπική και μικροσκοπική μορφολογία *P. variotii*. A) Πρόσθια επιφάνεια της αποικίας σε SDA 4 ημερών (30°C) (26). B) Φιαλίδες με οξύαιχμο άκρο από το οποίο ξεκινούν αλυσίδες φιαλοκονιδίων (αριστερά) και τελικά χλαμυδοκονίδια (δεξιά) (25).

➤ **Προφίλ *in vitro* ευαισθησίας στα αντιμυκητικά και θεραπεία:** Η AMB, η TRB και οι εχινοκανδίνες έχουν υποδείξει δραστικότητα *in vitro* έναντι κλινικών στελεχών *P. variotii*. Μεταξύ των αζολών, η POS βρέθηκε να είναι η πιο δραστική

in vitro, ακολουθούμενη από την ITC και τη VRC. Για την αντιμετώπιση λοίμωξης από *Paecilomyces* spp. συστήνεται η χρήση L-AMB ως θεραπεία πρώτης γραμμής. Η χορήγηση συνδυαστική αντιμυκητική θεραπεία (L-AmB και ITC ή AMB και ανιντουλαφουγκίνη [anidulafungin, AFG]) έχει περιγραφεί μόνο σε μεμονωμένα περιστατικά και έχει συσχετιστεί με ευνοϊκό αποτέλεσμα. Από την άλλη πλευρά, η από του στόματος χορήγηση POS ή ITC συνιστάται ως θεραπεία διάσωσης. Η διάρκεια της θεραπείας καθορίζεται από την κλινική εικόνα του ασθενούς, αν και γενικά απαιτούνται 4 έως 12 εβδομάδες θεραπείας (6).

	First-line	First-line alternative	Second-line	Treatments to avoid	Salvage treatments
<i>Paecilomyces</i> spp	L-AmB	Itraconazole, or posaconazole

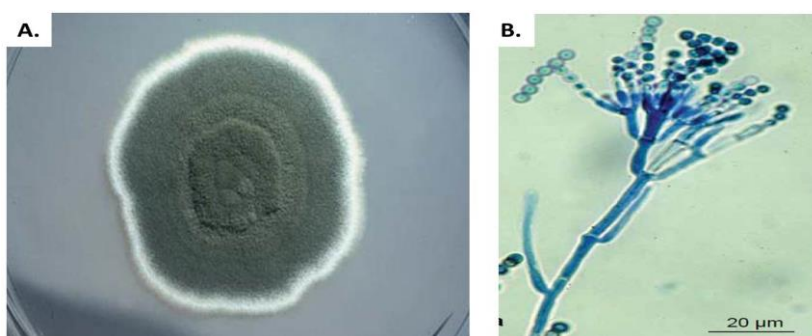
Εικόνα 30. Συνιστώμενη συστηματική αντιμυκητική θεραπεία σε ενήλικες ασθενείς με λοίμωξη από *Paecilomyces* spp. (6).

- ***Penicillium* spp.**

➤ **Επιδημιολογία και κλινικές εκδηλώσεις:** Το γένος *Penicillium* ανήκει στο φύλο των Ασκομυκήτων και περιλαμβάνει 354 είδη (25). Τα *Penicillium* spp. είναι ευρέως διαδεδομένα στο φυσικό περιβάλλον και ειδικότερα στο έδαφος, στα φυτά, στον αέρα, σε εσωτερικά περιβάλλοντα, αλλά μπορούν να απομονωθούν και από κάποια προϊόντα διατροφής. Στο φυσικό περιβάλλον, ο κύριος ρόλος τους είναι αποσύνθεση των οργανικών υλικών. Ειδικότερα, μπορούν να προκαλέσουν σήψη σε καλλιέργειες, καθώς έχουν την ικανότητα να παράγουν ένα ευρύ φάσμα μυκοτοξινών. Σημαντική είναι η συμβολή τους στη βιομηχανία τροφίμων, με ορισμένα είδη να χρησιμοποιούνται στην παραγωγή κάποιων ειδών τυριών, όπως το Καμαμπέρ και το Ροκφόρ, αλλά και στην αλλαντοποίηση (136). Επιπλέον, ιδιαίτερη μνεία αξίζει να γίνει στην ικανότητά τους να παράγουν πενικιλίνη (136), μια από τις πιο συχνά χρησιμοποιούμενες αντιβιοτικές ουσίες παγκοσμίως για τη θεραπευτική αντιμετώπιση ενός ευρέως φάσματος λοιμώξεων (137). Προσβάλλουν σπανίως τον ανθρώπινο οργανισμό, ωστόσο υπάρχουν αναφορές για περιστατικά λοιμώξεων του κερατοειδούς χιτώνα, των ώτων και του

ενδοκαρδίου (25). Αναφορικά με τη μυκηταιμία από *Penicillium* spp., στη βιβλιογραφία γίνεται αναφορά για περιστατικά από *P. marneffe* (138–140), το οποίο όμως λόγω ανακατατάξεων στην ταξινόμηση έχει μεταφερθεί στο γένος *Talaromyces* (25) και δε συγκαταλέγεται στην κατηγορία των σπάνιων νηματοειδών μυκήτων (6).

➤ **Μακροσκοπική και μικροσκοπική μορφολογία:** Η αποικία είναι επίπεδη, αρχικά βελούδινη και χρώματος λευκού, όμως με την πάροδο του χρόνου μεταπίπτει σε κονιώδη ή βαμβακοειδή, με πτυχώσεις και λευκή περιφέρεια, και το χρώμα της μετατρέπεται σε κυανοπράσινο ή γκρι. Μικροσκοπικά, διακρίνονται κονιδιακές κεφαλές που μοιάζουν με θύσανο. Οι φιαλίδες είναι ωσειδείς και λεπτές στο άκρο τους, βρίσκονται παράλληλα διατεταγμένες και εκφύονται από το άκρο μικρών ενδιάμεσων κλάδων (*metulae*) μεμονωμένα, σε ομάδες ή σε διακλαδώσεις. Τα φιαλοκονίδια εκφύονται από το άκρο των φιαλίδων σε μακρές αλυσίδες, έχουν σχήμα σφαιρικό, ελλειψοειδές, κυλινδρικό ή ατρακτοειδές, υάλινα ή πράσινου χρώματος, με λείο ή τραχύ τοίχωμα (25). Κάποια *Penicillium* spp. σχηματίζουν σκληρώτια (25), που αποτελούν σκληρυμένες μάζες υφών που χρησιμεύουν ως δομές επιβίωσης των Ασκομυκήτων και Βασιδιομυκήτων (141).



Εικόνα 31. Μακροσκοπική και μικροσκοπική μορφολογία *Penicillium* spp. A) Πρόσθια επιφάνεια της αποικίας σε SDA 4 ημερών (30°C) (26). B) Κονιδιακή κεφαλή που ομοιάζει με θύσανο και φιαλίδες, από το άκρο των οποίων εκφύονται φιαλοκονίδια σε αλυσίδες (25).

➤ **Προφίλ *in vitro* ευαισθησίας στα αντιμυκητικά και θεραπεία:** Ο AFST κλινικών στελεχών *Penicillium* spp. έχει υποδείξει ποικίλα και ειδο-εξαρτώμενα

αποτελέσματα. Γενικά, έχουν καταγραφεί χαμηλές TRB MICs καθώς και εχινοκανδινών (142). Η AMB φαίνεται να παρουσιάζει ενδιάμεση δραστικότητα *in vitro* έναντι των *Penicillium* spp., ενώ οι τιμές MIC των αζολών διαφέρουν μεταξύ των ειδών, με υψηλότερες να έχουν αναφερθεί για τα *P. rubens*, *P. oxalicum* και *P. citrinum*. Τα δεδομένα για τη θεραπευτική αντιμετώπιση λοιμώξεων από *Penicillium* spp. είναι περιορισμένα και προέρχονται κυρίως από μεμονωμένα περιστατικά. Ως αμφίροπη κρίνεται η επιλογή της L-AMB ως θεραπεία πρώτης γραμμής, καθώς έχουν σημειωθεί περιστατικά και με θετική έκβαση, αλλά και με αρνητική. Επί του παρόντος, ωστόσο, συστήνεται η χορήγηση L-AMB είτε ως μονοθεραπεία είτε σε συνδυασμό με άλλα αντιμυκητικά σε ασθενείς με διάχυτη λοίμωξη, ενώ σε περίπτωση πνευμονικής λοίμωξης συνιστάται η χρήση POS. Σε κάθε περίπτωση, ως θεραπεία διάσωσης συστήνεται η χορήγηση VRC (6).

	First-line	First-line alternative	Second-line	Treatments to avoid	Salvage treatments
<i>Penicillium</i> spp: disseminated infection	L-AmB with or without other antifungals	Voriconazole
<i>Penicillium</i> spp: lung infection	Posaconazole	Voriconazole

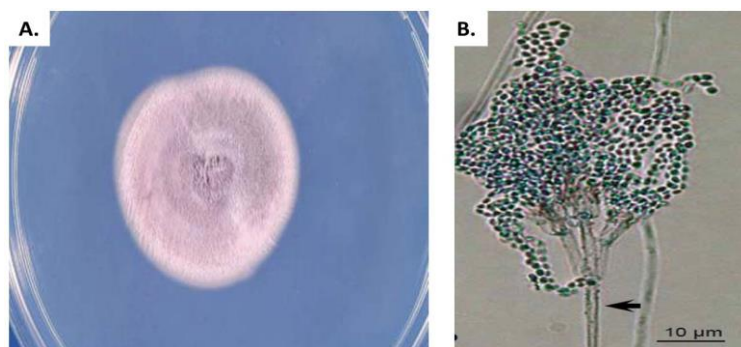
Εικόνα 32. Συνιστώμενη συστηματική αντιμυκητική θεραπεία σε ενήλικες ασθενείς με λοίμωξη από *Penicillium* spp. (6).

- ***Purpureocillium* spp.**

➤ **Επιδημιολογία και κλινικές εκδηλώσεις:** Το γένος *Purpureocillium* ανήκει στο φύλο των Ασκομυκήτων, και συγκεκριμένα στην οικογένεια Ophiocordycipitaceae (143). Περιλαμβάνει 6 είδη, τα *P. lilacinum*, *P. atypicolum*, *P. takamizusanense* (143), *P. lavendulum* (144), *P. sodanum* (145) και *P. roseum* (146), εκ των οποίων το πρώτο είναι το κυριότερο ιατρικής σημασίας είδος (147). Το *P. lilacinum* (πρώην *Paecilomyces lilacinus*) είναι σαπροφυτικός μύκητας, ο οποίος απαντάται συνήθως στο έδαφος σε βλάστηση σε αποσύνθεση, σε έντομα και ως εργαστηριακός ρύπος (6,25). Επιπλέον, έχει απομονωθεί από ύδατα στη Μέση Ανατολή, καθώς λόγω του νηματοφάγου δυναμικού του χρησιμοποιείται ευρέως στη γεωργία ως παράγοντας βιοελέγχου (6,148). Προκαλεί κυρίως

κερατίτιδα και ενδοφθαλμίτιδα (6,26), με τις δερματικές και υποδόριες λοιμώξεις να έπονται σε συχνότητα (6). Οι λοιμώξεις των οφθαλμών έχουν συσχετιστεί με την εμφύτευση ενδοφθαλμίου φακού, τραύμα και τη χρήση φακών επαφής. Οι δερματικές και οι υποδόριες λοιμώξεις έχουν περιγραφεί κυρίως σε ασθενείς που είχαν υποβληθεί σε μεταμόσχευση ή σε ασθενείς με αδύναμο ανοσοποιητικό σύστημα, ιδίως άτομα που έπασχαν από κάποια κακοήθεια (148). Υπάρχουν αναφορές και για άλλες κλινικές εκδηλώσεις, αλλά είναι σπάνιες (6).

➤ **Μακροσκοπική και μικροσκοπική παρατήρηση:** Η αποικία του *P. lilacinum* είναι βελούδινη ή κονιώδης, χρώματος ροζ, μοβ ή βιολετί, φέρει συχνά λευκή περιφέρεια και δεν αναπτύσσεται συνήθως σε θερμοκρασία >37°C. Μικροσκοπικά, διακρίνεται μακροί (400- 600 μm), με τραχύ τοίχωμα κονιδιοφόροι που σχηματίζουν κλάδους και στο άκρο τους φέρονται φιαλίδες. Οι φιαλίδες έχουν οβάλ σχήμα στη βάση τους και καταλήγουν σε οξύαιχμο άκρο, από το οποίο εκφύονται ωοειδή ή ατρακτοειδή φιαλοκονιδία σε αλυσίδες που αποκλίνουν (25).



Εικόνα 33. Μακροσκοπική και μικροσκοπική μορφολογία αποικίας *P. lilacinum*. A) Πρόσθια επιφάνεια της αποικίας σε PDA 4 ημερών (30°C) (26). B) Κονιδιοφόροι με τραχύ τοίχωμα και ατρακτοειδή φιαλοκονιδία σε αλυσίδες που αποκλίνουν (25).

➤ **Προφίλ *in vitro* ευαισθησίας στα αντιμυκητικά και θεραπεία:** Ο AFST έναντι στελεχών *Purpureocillium* spp. έχει υποδείξει υψηλές AMB, CAS, MFG, POS και ITC MICs, ενώ η VRC φάνηκε να έχει σχετικά χαμηλότερες τιμές MIC. Σύμφωνα με τις πιο πρόσφατες κατευθυντήριες οδηγίες, ως θεραπεία πρώτης γραμμής συστήνεται η μονοθεραπεία VRC ή ο συνδυασμός της με TRB μόνο σε περιστατικά δερματικών ή υποδόριων λοιμώξεων, ενώ σε κάθε περίπτωση η

χορήγηση ITC, POS ή L-AMB συνιστάται εναλλακτικά, αλλά και ως θεραπεία διάσωσης. Η θεραπεία οφθαλμικών και δερματικών ή υποδόριων λοιμώξεων πρέπει να διαρκεί τουλάχιστον 3 μήνες (6).

	First-line	First-line alternative	Second-line	Treatments to avoid	Salvage treatments
<i>Purpureocillium</i> spp	Voriconazole	--	Itraconazole or L-AmB or posaconazole	--	Itraconazole, or L-AmB, or posaconazole
<i>Purpureocillium</i> spp: cutaneous or subcutaneous infection	Voriconazole plus terbinafine	--	Itraconazole or L-AmB or posaconazole	--	Itraconazole, or L-AmB, or posaconazole

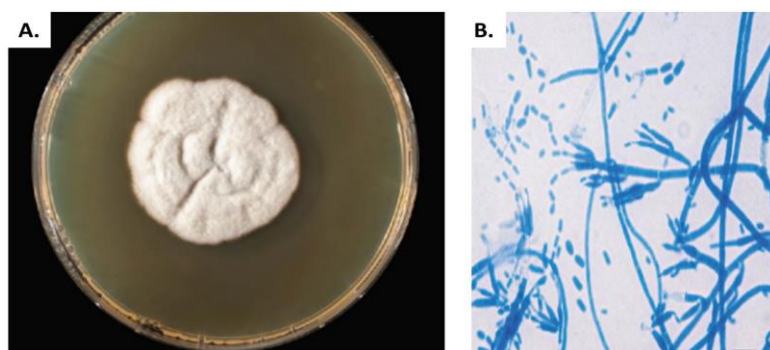
Εικόνα 34. Συνιστώμενη συστηματική αντιμυκητική θεραπεία σε ενήλικες ασθενείς με λοίμωξη *Purpureocillium* spp. (6).

- ***Rasamsonia* spp.**

➤ **Επιδημιολογία και κλινικές εκδηλώσεις:** Το γένος *Rasamsonia* πρωτοπεριγράφηκε το 2011 και συντελείται από 11 θερμοανθεκτικά είδη που προηγουμένως ταξινομούσαν στα γένη *Geosmithia*, *Penicillium* ή *Talaromyces*. Τα *Rasamsonia* spp. σπάνια έχουν αναφερθεί ως αιτιολογικά παθογόνα μυκητικής λοίμωξης στον άνθρωπο, με πιο συχνά απαντώμενο το σύμπλεγμα ειδών *R. argillacea* (*R. argillacea* sensu stricto, *R. aegroticola*, *R. Eburnean* και *R. piperina*). Δύνανται να αποικίσουν την αναπνευστική οδό ασθενών με κυστική ίνωση, με μεταβαλλόμενη κλινική επίπτωση. Τα *Rasamsonia* spp. προκαλούν κυρίως διηθητικές λοιμώξεις στους πνεύμονες, με το ενδεχόμενο της εξάπλωσής τους στα γύρω όργανα ή στο ΚΝΣ. Λοιμώξεις από *R. argillacea*, *R. piperina* και *R. aegroticola* έχουν αναφερθεί κυρίως σε ασθενείς υψηλού κινδύνου, όπως αυτούς με χρόνια κοκκιωματώδη νόσο ή υποκείμενη κακοήθεια και σε αυτούς που έχουν υποβληθεί σε μεταμόσχευση αιμοποιητικών κυττάρων και μεταμόσχευση πνεύμονα (6).

➤ **Μακροσκοπική και μικροσκοπική μορφολογία:** Η ταυτοποίηση της *R. argillacea* παρουσιάζει δυσκολία, λόγω των μορφολογικών της ομοιοτήτων με μύκητες του γένους *Penicillium* και *Paecilomyces* (6). Η αποικία της είναι επίπεδη και χνοώδης, χρώματος κρεμ έως ανοικτό καφέ. Μικροσκοπικά, διακρίνονται συχνά διακλαδισμένοι, με τραχύ τοίχωμα κονιδιοφόροι. Οι φιαλίδες έχουν και αυτές τραχύ

τοίχωμα και από το άκρο τους εκφύονται λεία και κυλινδρικά (σε σχήμα καροτσιού) φιαλοκονιδία σε αλυσίδες (26).



Εικόνα 35. Μακροσκοπική και μικροσκοπική μορφολογία *R. argillacea*. Α) Πρόσθια επιφάνεια της αποικίας σε άγαρ yeast extract peptone dextrose 7 ημερών. Β) Κονιδιοφόροι με τραχύ τοίχωμα και κυλινδρικά φιαλοκονιδία σε αλυσίδες (149).

➤ **Προφίλ *in vitro* ευαισθησίας στα αντιμυκητικά και θεραπεία:** Οι καταγεγραμμένες MICs των τριαζολών έναντι *Rasamsonia* spp. είναι υψηλές, ενώ οι εχινοκανδίνες έχουν υποδείξει καλύτερη δραστηριότητα *in vitro*. Τα διαθέσιμα στοιχεία αναφορικά με τη θεραπεία λοιμώξεων από *Rasamsonia* spp. προέρχονται από μόλις 23 περιστατικά που έχουν περιγραφεί στη διεθνή βιβλιογραφία, τα οποία σχετίζονται με θνητότητα έως 40%, υποδηλώνοντας πως η έναρξη της θεραπείας δεν πρέπει να καθυστερεί. Επί του παρόντος, ως θεραπεία πρώτης γραμμής συστήνεται η χορήγηση εχινοκανδίνης, είτε ως μονοθεραπεία είτε συνδυαστικά με L-AMB ή POS, ενώ συνιστάται αυστηρά η αποφυγή χορήγησης μονοθεραπείας αζόλης. Η θεραπεία μπορεί να διαρκέσει έως και αρκετούς μήνες, αναλόγως με την εστία της λοίμωξης, την κλινική ανταπόκριση και την υποκείμενη νόσο (6).

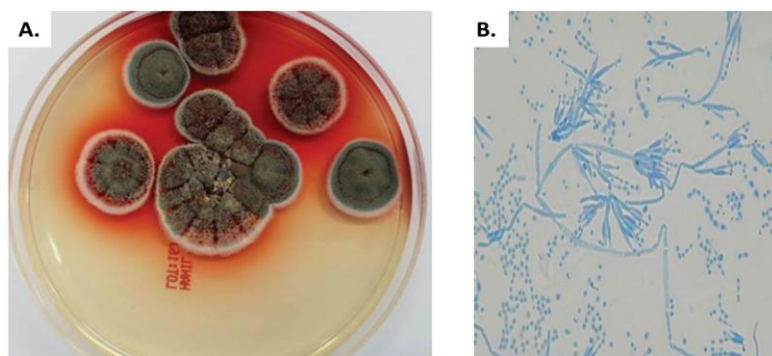
	First-line	First-line alternative	Second-line	Treatments to avoid	Salvage treatments
<i>Rasamsonia</i> spp	Caspofungin, or micafungin	Caspofungin plus L-AmB or posaconazole, or micafungin plus L-AmB or posaconazole	..	Azole monotherapy	..

Εικόνα 36. Συνιστώμενη συστηματική αντιμυκητική θεραπεία σε ενήλικες ασθενείς με διηθητική λοίμωξη από *Rasamsonia* spp. (6).

- ***Talaromyces non-marneffe* spp.**

➤ **Επιδημιολογία και κλινικές εκδηλώσεις:** Συνεχώς αυξανόμενος είναι ο αριθμός των ειδών που εντάσσονται στο γένος *Talaromyces*. Οι μύκητες του γένους εντοπίζονται στον αέρα, αποικίζουν το έδαφος και τα εσωτερικά περιβάλλοντα (6), ενώ απομονώνονται συχνά από φρούτα, ξηρούς καρπούς και δημητριακά και συντελούν στην αλλοίωση προϊόντων που έχουν ως βάση τα φρούτα (150). Οι λοιμώξεις που σχετίζονται με αυτούς αφορούν κυρίως το είδος *T. marneffe* (150), ωστόσο το συγκεκριμένο είναι το μόνο είδος του γένους που δε συγκαταλέγεται στην κατηγορία των σπάνιων νηματοειδών μυκήτων (6). Λιγότερο συχνές είναι οι λοιμώξεις από τα non-*marneffe* *Talaromyces* spp., τα οποία έχουν αναφερθεί σε μη ενδημικές περιοχές, όπως είναι η Ευρώπη και η Αμερική (6). Τα είδη αυτά έχουν συσχετιστεί με επιφανειακές ή διάχυτες λοιμώξεις, που έχουν οδηγήσει στο θάνατο, ενώ συνεχίζονται να γίνονται μελέτες ώστε να οριστεί η κατανομή και η σχέση τους με ζωνοσώους και ανθρωποσώους (150). Ειδικότερα, οι λοιμώξεις προκαλούνται από *T. purpureogenus*, *T. albobiverticillius*, *T. stollii*, *T. piceae* και *T. amestolkiae*, μολύνουν κυρίως τους πνεύμονες και σπάνια τα άλλα όργανα (6). Συγχρόνως, πολλά εξ αυτών αποτελούν σημαντικούς παραγωγούς μυκοτοξινών, με το *T. islandicus* να παράγει μοναδικές μυκοτοξίνες με καρκινογόνο δράση κατά του ήπατος και των νεφρών (150).

➤ **Μακροσκοπική και μικροσκοπική μορφολογία:** Η διάκριση μεταξύ του *T. marneffe* και των non-*marneffe* *Talaromyces* spp. που έχουν συσχετιστεί με λοιμώξεις στον άνθρωπο αποκλειστικά με μακροσκοπική και μικροσκοπική εξέταση της αποικίας είναι δύσκολη, καθώς πολλά, όπως το *T. purpureogenus* και το *T. albobiverticillius*, παράγουν και αυτά χαρακτηριστική κόκκινη χρωστική, ενώ μικροσκοπικά ομοιάζουν και αυτά με τα *Penicillium* spp (151). Προκειμένου να διαφοροποιηθούν τα non-*marneffe* *Talaromyces* spp. από το *T. marneffe*, θα πρέπει το κλινικό δείγμα να επωαστεί στους 25-30°C και στους 35-37°C, αφού το *T. marneffe* είναι ο μόνος δίμορφος μύκητας του γένους (25).



Εικόνα 37. Μακροσκοπική και μικροσκοπική μορφολογία *T. albobiverticillius*. Α) Πρόσθια επιφάνεια της αποικίας σε SDA agar (25-30°C). Β) Κονιδιακή κεφαλή που ομοιάζει με θύσανο και φιαλίδες, από το άκρο των οποίων εκφύονται φιαλοκονίδια σε αλυσίδες (152).

➤ **Προφίλ *in vitro* ευαισθησίας στα αντιμυκητικά και θεραπεία:** Οι διαθέσιμες κατανομές MIC για non-*marneffei* *Talaromyces* spp. είναι περιορισμένες. Σύμφωνα με αυτές, η TRB, οι εχινοκανδίνες, η AMB και η 5FC υπέδειξαν καλή δραστηριότητα *in vitro*, σε αντίθεση με τις αζόλες (POS, VRC και ITC) όπου η επικρατούσα τιμή MIC βρέθηκε >16 mg/L (153). Τα δεδομένα που υπάρχουν για την αντιμετώπιση των λοιμώξεων από non-*marneffei* *Talaromyces* spp. είναι ελάχιστα και προέρχονται από μεμονωμένα περιστατικά. Σύμφωνα με τις πιο πρόσφατες κατευθυντήριες οδηγίες, ως θεραπεία πρώτης γραμμής συστήνεται η χορήγηση L-AMB, ενώ ως θεραπεία διάσωσης συνιστάται η χορήγηση VRC ή συνδυασμού εχινοκανδίνης και TRB (6).

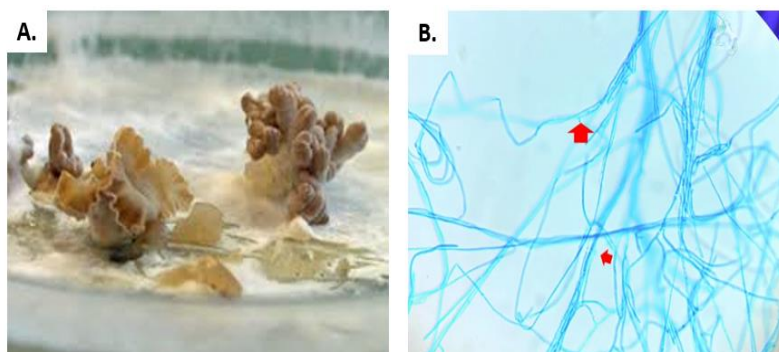
	First-line	First-line alternative	Second-line	Treatments to avoid	Salvage treatments
Non- <i>marneffei</i> <i>Talaromyces</i> spp	L-AmB	Voriconazole, or echinacandine plus terbinafine

Εικόνα 38: Συνιστώμενη συστηματική αντιμυκητική θεραπεία σε ενήλικες ασθενείς με non-*marneffei* ταλαρομύκωση (6).

- ***Schizophyllum* spp.**

➤ **Επιδημιολογία και κλινικές εκδηλώσεις:** Το γένος *Schizophyllum* ανήκει στο φύλο των Βασιδιομυκήτων και συναντάται συχνά σε αποσυντιθέμενη ύλη. Παρά την παγκόσμια κατανομή τους, τα *Schizophyllum* spp. σπάνια προκαλούν διεισδυτικές λοιμώξεις στον άνθρωπο. Κύριο παθογόνο αίτιο θεωρείται το *S. commune*, το οποίο προκαλεί πρωτίστως πνευμονία ή ιγμορίτιδα. Υπάρχουν ελάχιστες αναφορές για τη μόλυνση άλλων οργάνων (οφθαλμοί, δέρμα, καρδιά και εγκέφαλος), με τη μυκηταιμία να θεωρείται ασυνήθης, ενώ συνήθως παρατηρείται συνλοίμωξη με άλλους νηματοειδείς μύκητες, πιθανότατα λόγω της επιβαρυσμένης κατάστασης της υγείας των ασθενών και της ισχυρής ανοσοκαταστολής. Ωστόσο, ο πραγματικός επιπολασμός αυτών των λοιμώξεων πιθανώς να υποτιμάται, καθώς η ταυτοποίηση του είδους με τις τρέχουσες μικροβιολογικές μεθόδους έχει φανεί αναποτελεσματική (6).

➤ **Μακροσκοπική και μικροσκοπική μορφολογία:** Η αποικία του *S. commune* εμφανίζει πυκνό εναέριο μυκήλιο, χρώματος λευκού έως ανοικτού καφέ. Τα δικαρυωτικά στελέχη όταν αναπτύσσονται σε συγκεκριμένα θρεπτικά υλικά, όπως PDA, στους 25°C μπορούν να παράγουν χαρακτηριστικά βασιοδιοσπόρια σε σχήμα σωλήνα ή βεντάλιας, για το σχηματισμό των οποίων μπορεί να χρειαστούν έως και 12 εβδομάδες και συχνά απαιτούνται εναλλασσόμενες συνθήκες φωτός και σκότους. Χαρακτηριστική είναι και η παραγωγή έντονης, δυσάρεστης οσμής. Μικροσκοπικά παρατηρούνται υαλοειδείς υφές με διαφραγμάτια που έχουν ποικίλα πλάτη (1.5–5 μm), ενώ δεν παρατηρούνται κονίδια. Οι υφές των δικαρυωτικών στελεχών φέρουν συνδέσεις σφιγκτήρα (25).



Εικόνα 39. Μακροσκοπική και μικροσκοπική εικόνα *S. commune*. A) Βασιοδιοσπόρια σε άγαρ εκχυλίσματος βύνης (25). B) Υαλοειδείς υφές με συνδέσεις σφιγκτήρα (154).

➤ **Προφίλ *in vitro* ευαισθησίας στα αντιμυκητικά και θεραπεία:** Το προφίλ της *in vitro* ευαισθησίας στα αντιμυκητικά του *S. commune* δεν είναι καλά μελετημένο. Τα περιορισμένα σε αριθμό δεδομένα υποδεικνύουν πως η ISA παρουσιάζει την υψηλότερη δραστηριότητα *in vitro*, ακολουθούμενη από την ITC, τη VRC και την AMB, ενώ οι προσδιοριζόμενες FLC και 5FC MICs είναι κατά πολύ υψηλότερες (155). Για την αντιμετώπιση λοιμώξεων από *S. commune*, εντοπίζονται δεδομένα κυρίως από μεμονωμένα περιστατικά και μικρές σειρές περιστατικών. Σύμφωνα με τις πιο πρόσφατες κατευθυντήριες οδηγίες, ως θεραπεία πρώτης γραμμής συστήνεται η χορήγηση L-AMB με την επιλογή της μετάβασης (step down) σε POS, ενώ η VRC μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε ασθενείς με ανοχή στη L-AMB (6).

	First-line	First-line alternative	Second-line	Treatments to avoid	Salvage treatments
<i>Schizophyllum commune</i>	L-AmB; stepdown to posaconazole	..	Voriconazole

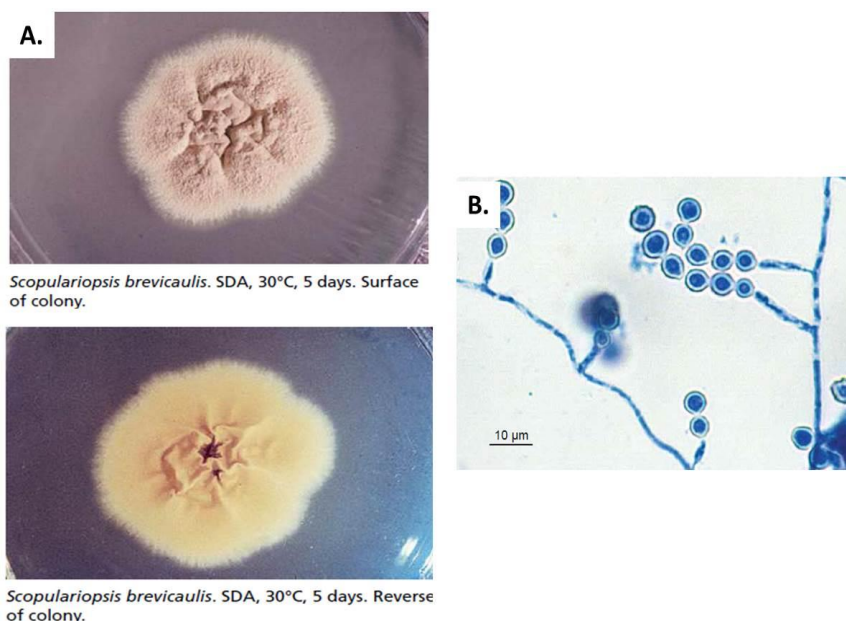
Εικόνα 40. Συνιστώμενη συστηματική αντιμυκητική θεραπεία σε ενήλικες ασθενείς με λοίμωξη από *S. commune* (6).

- ***Scopulariopsis* spp.**

➤ **Επιδημιολογία και κλινικές εκδηλώσεις:** Οι μύκητες του γένους *Scopulariopsis* εμφανίζουν παγκόσμια κατανομή και ανευρίσκονται στο έδαφος και σε φυτικά υλικά (156). Το *S. brevicaulis* είναι το συχνότερα παθογόνο για τον άνθρωπο είδος (157), ενώ μεμονωμένα περιστατικά λοιμώξεων από *S. acremonium*, *S. brumptii* και *S. candida* έχουν αναφερθεί κυρίως στη δυτική Ευρώπη και τη βόρεια Αμερική (6). Τα *Scopulariopsis* spp. συσχετίζονται συνήθως με ονυχομυκητίαση ή άλλες επιφανειακές λοιμώξεις (158,159). Σοβαρές συστηματικές λοιμώξεις έχουν περιγραφεί κυρίως σε ανοσοκατασταλμένους ασθενείς με υποκείμενη κακοήθεια ή μετά από μεταμόσχευση αιμοποιητικών κυττάρων ή συμπαγών οργάνων, επηρεάζοντας τους πνεύμονες και τους μαλακούς ιστούς, ενώ διασπορά στο ΚΝΣ ή σε άλλα όργανα και μυκηταιμία έχει αναφερθεί σπάνια. Τα περιστατικά λοιμώξεων σε ανοσοεπαρκή άτομα είναι

περιορισμένα και αφορούν μόλυνση στους οφθαλμούς μετά από τραυματισμό ή σε βαθύ μαλακό ιστό (6).

➤ **Μακροσκοπική και μικροσκοπική μορφολογία:** Η αποικία του *S. brevicaulis* είναι αρχικά συρρικνωμένη, με πτυχώσεις, χρώματος υπόλευκου έως γκρίζου, ωστόσο με την πάροδο της επώασης μεταπίπτει σε κονιώδη και έχει καστανόχρυση ή κανελλί απόχρωση. Κατά τη μικροσκοπική παρατήρησή της διακρίνονται βραχείς κονιδιοφόροι που καταλήγουν σε αννελλίδια κυλινδρικού σχήματος, από τα άκρα των οποίων παράγονται αννελλοκονίδια με τη μορφή αλυσίδων. Τα αννελλοκονίδια είναι μεγάλα (4-9 μm), ωοειδή ή απιοειδή, με παχύ και αδρό ή ακανθώδες τοίχωμα (25).



Εικόνα 41. Μακροσκοπική και μικροσκοπική μορφολογία *S. brevicaulis*. A) Πρόσθια/οπίσθια επιφάνεια της αποικίας σε SDA 5 ημερών (30°C) (26). B) Αννελλίδια, στα άκρα των οποίων σηματοδοτούνται αλυσίδες ωοειδών κονιδίων με παχύ τοίχωμα (25).

➤ **Προφίλ *in vitro* ευαισθησίας στα αντιμυκητικά και θεραπεία:** Τα *Scopulariopsis* spp. συνήθως εμφανίζουν υψηλές τιμές MIC σε πολλά αντιμυκητικά, μεταξύ των οποίων στην AMB, στη 5FC, στη FLC και στην ITC, και ως εκ τούτου συνιστάται ο AFST του απομονωθέντος κλινικού στελέχους. Θα πρέπει, ωστόσο, να σημειωθεί πως μέχρι στιγμής δεν υπάρχουν αρκετά δεδομένα

που να τεκμηριώνουν τη συσχέτιση μεταξύ των MICs και της κλινικής έκβασης. Για την αντιμετώπιση λοιμώξεων από *Scopulariopsis* spp. ως θεραπεία πρώτης γραμμής προτείνεται η χορήγηση μονοθεραπείας VRC, μονοθεραπείας ISA ή L-AMB, είτε ως μονοθεραπεία είτε σε συνδυασμό με VRC ή άλλο αντιμυκητικό. Ως θεραπεία διάσωσης συνιστάται η χορήγηση δισκίων POS παρατεταμένης αποδέσμευσης είτε μόνα τους είτε συνδυαστικά με TRB ή MFG. Η διάρκεια της θεραπείας θα πρέπει να εξατομικεύεται και να στηρίζεται στην εστία και την έκταση της λοίμωξης, καθώς και στην ανοσολογική κατάσταση του ασθενούς (6).

	First-line	First-line alternative	Second-line	Treatments to avoid	Salvage treatments
<i>Scopulariopsis</i> spp	Isavuconazole, or voriconazole	L-AmB with or without voriconazole	Posaconazole with or without micafungin with or without terbinafine

Εικόνα 42. Συνιστώμενη συστηματική αντιμυκητική θεραπεία σε ενήλικες ασθενείς με λοίμωξη από *Scopulariopsis* spp. (6).

1.2.3 Επιπολασμός

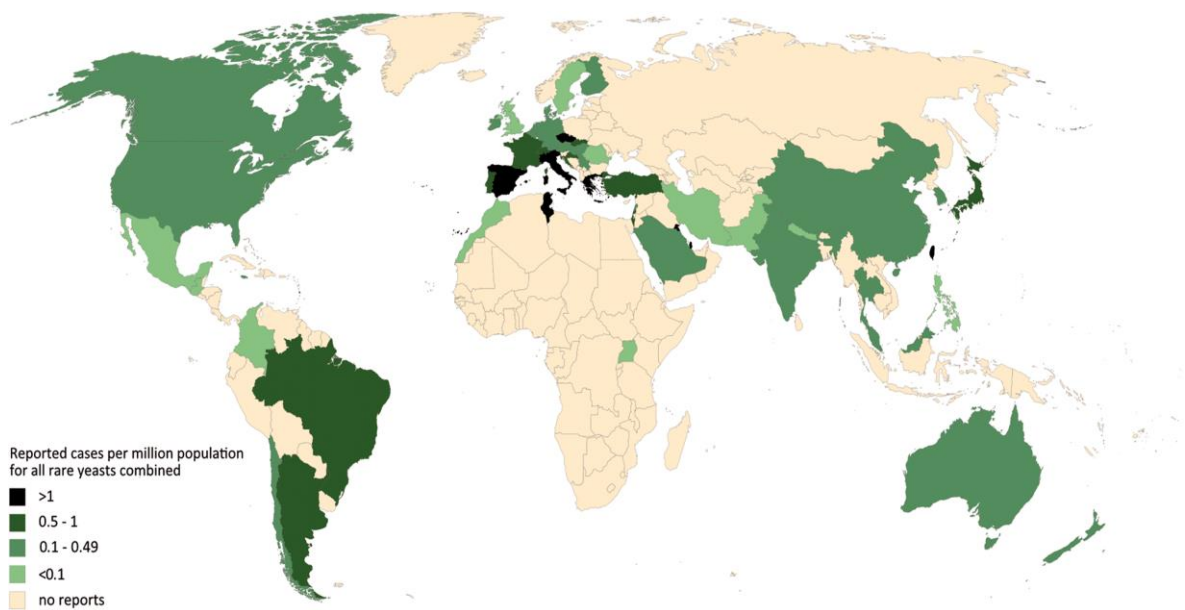
Τα τελευταία χρόνια οι σπάνιοι μύκητες έχουν αναδειχθεί ως σημαντικοί αιτιολογικοί παράγοντες απειλητικών για τη ζωή λοιμώξεων. Όπως προαναφέρθηκε, οι μύκητες αυτοί απαντώνται στο φυσικό περιβάλλον και συχνά αποικίζουν το ανθρώπινο σώμα, οπότε και θεωρούνται ευκαιριακά παθογόνα. Ωστόσο διάφοροι παράγοντες, συμπεριλαμβανομένων της πλήθυνσης του αριθμού των ανοσοκατασταλμένων ασθενών και της παρατεταμένης έκθεσης σε αντιμυκητικούς παράγοντες, συνέβαλλαν στην αλλαγή του επιδημιολογικού τοπίου των διηθητικών λοιμώξεων που προκαλούν παγκοσμίως. Δυστυχώς, η επιδημιολογία των σπάνιων αυτών λοιμώξεων δεν έχει μέχρι στιγμής μελετηθεί εκτενώς, με τις περισσότερες χώρες να μη διεξάγουν την πρόπαισα επιδημιολογική επιτήρηση, ενώ η πλειονότητα των διαθέσιμων δεδομένων είναι αναχρονιστικά και προέρχονται από τις περιγραφές μεμονωμένων περιστατικών (4,6).

Πίνακας 1. Παράγοντες διαμόρφωσης των επιδημιολογικών τάσεων των ευκαιριακών μυκητικών λοιμώξεων (3).

Αύξηση αριθμού ασθενών υψηλού κινδύνου
Διαφορές στην επιλογή της ομάδας ασθενών μεταξύ των νοσοκομείων
Καλύτερες διαγνωστικές μέθοδοι
Χρήση νέων μεθόδων στο πλαίσιο της μεταμόσχευσης αιμοποιητικών κυττάρων
Εξέλιξη στη χειρουργική των μεταμοσχεύσεων συμπαγών οργάνων
Χρήση κορτικοστεροειδών
Χρήση ανοσοκατασταλτικών φαρμάκων
Αντιμικροβιακή προφυλακτική πρακτική
Έκθεση σε αντιμυκητικά από την κατηγορία των αζολών
Καλύτερος έλεγχος των υποκείμενων νοσημάτων

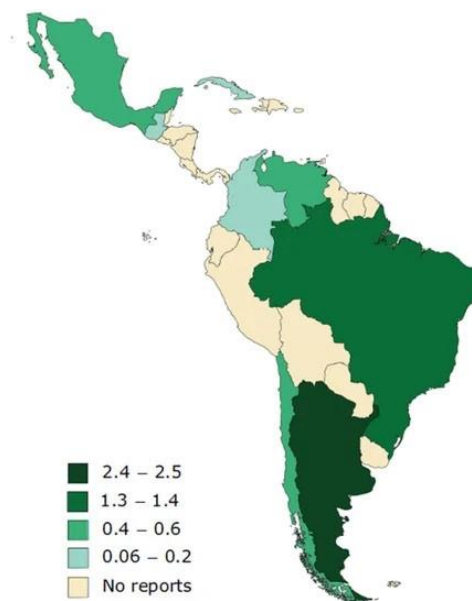
- **Ζυμομύκητες**

Η παγκόσμια κατανομή και η επίπτωση της μυκηταιμίας από σπάνιους ζυμομύκητες παραμένουν ασαφείς. Συγκεκριμένα, μολονότι η συχνότητα εμφάνισης της νόσου υπολογίζεται σε <2% παγκοσμίως (7), το ποσοστό αυτό παρουσιάζει έντονες διακυμάνσεις (1-34%) μεταξύ διαφόρων επιδημιολογικών μελετών (11).



Εικόνα 43. Παγκόσμιος επιπολασμός (περιστατικά/1.000.000 κατοίκους) των καταγεγραμμένων λοιμώξεων από σπάνιους ζυμομύκητες (9).

Μια πρόσφατη ανασκόπηση της βιβλιογραφίας αναφορικά με τις καταγεγραμμένες λοιμώξεις από σπάνιους ζυμομύκητες σε χώρες της Λατινικής Αμερικής στο διάστημα 1997-2022 υπέδειξε 495 περιστατικά, εκ των οποίων 288 (58%) είχαν περιγραφεί στη Βραζιλία, 110 (22%) στην Αργεντινή, 63 (13%) στο Μεξικό, 12 (2%) στη Βενεζουέλα, 11 (2%) στη Χιλή, 8 (2%) στην Κολομβία, 2 (0,5%) στη Κούβα και 1 (0,5%) στη Γουατεμάλα. Συγκεκριμένα, πρόκειται για λοιμώξεις του αίματος, του ουροποιητικού συστήματος και άλλες διηθητικές λοιμώξεις. Λαμβάνοντας υπόψη τα διαθέσιμα δημογραφικά και κλινικά χαρακτηριστικά, συγκεντρωτικά η πλειοψηφία τους εκδηλώθηκε σε άνδρες (58%), ενώ το 70% των ασθενών είχε μόνο μία υποκείμενη νόσο ή παράγοντα κινδύνου, με συχνότερα τη λευχαιμία, τη χρήση CVC, την κακοήθεια συμπαγών οργάνων, το πρόσφατο χειρουργείο και τη λήψη αντιβιοτικών. Ειδικότερα, τα περιστατικά μυκηταιμίας ανέρχονταν στα 249 (50%), χωρίς ωστόσο να έχει πραγματοποιηθεί επί μέρους ανάλυση για αυτά (7).



Εικόνα 44: Επιπολασμός των λοιμώξεων από σπάνιους ζυμονύκητες στις χώρες της Λατινικής Αμερικής κατά την 25ετία 1997 με 2022 (7).

Τα αποτελέσματα μιας πολυκεντρικής μελέτης, η οποία πραγματοποιήθηκε σε 25 νοσηλευτικά ιδρύματα 6 μεγάλων χωρών της Ασίας (Κίνα, Ταϊβάν, Ινδία, Ταϊλάνδη, Σιγκαπούρη και Χονγκ Κονγκ) τη χρονική περίοδο 01/07/2010-

30/06/2011, αντικατοπτρίζουν την επιδημιολογική εικόνα των non-*Candida* μυκηταιμιών στην ασιατική ήπειρο. Αξίζει να σημειωθεί πως αν και προέρχονται από την καταγραφή περιορισμένων δεδομένων ενός έτους και αφορούν στην προηγούμενη δεκαετία, είναι συγχρόνως τα πλέον πρόσφατα διαθέσιμα στοιχεία. Συνολικά, 175/2.155 (8%) περιστατικά οφείλονταν σε σπάνιους ζυμομύκητες. Η πλειονότητα των απομονωθέντων στελεχών ανήκαν στο γένος *Cryptococcus* (62%), ακολουθούμενα από *Trichosporon* spp. (13%), *Rhodotorula* spp. (6%), *Malassezia* spp. (2%) και διάφορα άλλα (17%). Στην πλειοψηφία τους ήταν ανθεκτικά στις εχινοκανδίνες (83%) και είναι αξιοσημείωτο πως το ποσοστό απομόνωσής τους διέφερε σημαντικά μεταξύ τροπικών και μη τροπικών χωρών ($p=0,038$) (11). Τέλος, σημαντική διακύμανση έχει καταγραφεί στον επιπολασμό της νόσου, όπως παρουσιάζεται σε μελέτες ενός κέντρου από την Τουρκία (160), την Κίνα (8%) (161) και την Ινδία (21%) (162), τονίζοντας τις σημαντικές διαφορές στην συχνότητα εμφάνισης μεταξύ των γεωγραφικών περιοχών.

Παρόμοια εικόνα προκύπτει και από τα αποτελέσματα περιορισμένων αριθμητικά μελετών που έχουν διεξαχθεί σε χώρες της Ευρώπης στο χρονικό διάστημα μεταξύ 2004 και 2012, και ως εκ τούτου πιθανώς να μην αντικατοπτρίζουν τη σύγχρονη επιδημιολογία της νόσου. Συγκεκριμένα, πολυκεντρικές μελέτες από την Ισπανία (163–165), τη Σουηδία (166), και τη Δανία (167) υπέδειξαν χαμηλότερη συχνότητα εμφάνισης της μυκηταιμίας από σπάνιους ζυμομύκητες συγκριτικά με αντίστοιχες μελέτες από το Βέλγιο (168), την Πορτογαλία (169) και τη Γαλλία (5) (1-2% έναντι 4-8%, αντίστοιχα). Διαφορές, όμως, παρατηρήθηκαν και στην κατανομή των αιτιολογικών παραγόντων τόσο μεταξύ των χωρών, με το *S. cerevisiae* να αποτελεί το κύριο αίτιο σε Βέλγιο (168) και Δανία (167), ενώ *Cryptococcus* spp. απομονώθηκαν συχνότερα σε Ισπανία (163–165) και Πορτογαλία (169).

Σε εθνικό επίπεδο, τα διαθέσιμα δεδομένα αναφορικά με τη μυκηταιμία από σπάνιους ζυμομύκητες στην Ελλάδα είναι εξίσου περιορισμένα. Επιγραμματικά, οι δημοσιευμένες μελέτες αφορούν κυρίως στην περιγραφή μεμονωμένων περιστατικών (78,84,170–181), ενώ μόλις τρεις μελέτες ενός κέντρου περιγράφουν την επιδημιολογία της λοίμωξης, μια αποκλειστικά σε παιδιατρικούς ασθενείς (182) και δύο στο γενικό πληθυσμό (12,183). Έτσι, η συχνότητα εμφάνισης της λοίμωξης στη χώρα μας ανεξαρτήτως πληθυσμιακής ομάδας φαίνεται να κυμαίνεται μεταξύ

4-6%, όμως τα ποσοστά απομόνωσης των υπεύθυνων παθογόνων παρουσιάζουν γεωγραφική μεταβλητότητα (12,183).

- **Νηματοειδείς μύκητες**

Τα επιδημιολογικά δεδομένα σχετικά με τη μυκηταιμία από σπάνιους νηματοειδείς μύκητες εκλείπουν ακόμη περισσότερο δυσχεραίνοντας την εξαγωγή ασφαλών συμπερασμάτων. Ενδεικτικά, τα αποτελέσματα της επιδημιολογικής επιτήρησης των μυκηταιμιών στη Δανία στη διάρκεια της δετίας 2004-2009 υπέδειξαν ότι η συχνότητα εμφάνισης της νόσου ήταν 0,4% (11/2.820 περιστατικά), με μοναδικό αιτιολογικό παράγοντα διάφορα *Fusarium* spp. (167). Από την άλλη πλευρά, μια αναδρομική μελέτη ενός κέντρου στις ΗΠΑ, η οποία διεξήχθη στη διάρκεια της 7ετίας 1996-2002 και αφορά αποκλειστικά ασθενείς με κακοήθεια (62% αιματολογική) και μυκηταιμία από σπάνιο νηματοειδή μύκητα εκτός *Fusarium* spp., έδειξε υψηλότερο ποσοστό εμφάνισης της λοίμωξης (1%), με κύριο παθογόνο αίτιο διάφορα *Scedosporium* spp. (184).

Αναφορικά με την επιδημιολογική εικόνα της νόσου στη χώρα μας, τα διαθέσιμα δεδομένα είναι ελάχιστα και προέρχονται είτε από την περιγραφή μεμονωμένων περιστατικών σε ασθενείς με κακοήθεια (κυρίως αιματολογική) (171,185) είτε από μελέτες συρροής κρουσμάτων (186,187). Μόλις μια μελέτη ενός κέντρου αναφέρει τη συχνότητα εμφάνισης της μυκηταιμίας από σπάνιους νηματοειδείς μύκητες στο γενικό πληθυσμό (1,1%), με τα *Fusarium* spp. να κυριαρχούν ως αιτιολογικοί της παράγοντες (12).

1.3 Προδιαθεσικοί παράγοντες

Η δυνατότητα ανοσολογικής απόκρισης του ξενιστή είναι καθοριστικής σημασίας για την εξέλιξη και την έκβαση τόσο μιας μυκητικής λοίμωξης γενικότερα (188), όσο και μιας μυκηταιμίας από σπάνιο μύκητα ειδικότερα (165,189). Όπως προαναφέρθηκε, οι σπάνιοι μύκητες είναι ως επί το πλείστον χαμηλής λοιμογονικότητας (5,15), με τους περισσότερους να χαρακτηρίζονται ως ευκαιριακά παθογόνοι (5). Καθώς η παρουσία της πλειοψηφίας τους εντοπίζεται

παντού στο φυσικό περιβάλλον (5,6), ενώ κάποιοι από αυτούς αποτελούν και μέρος της φυσικής χλωρίδας του ανθρώπινου σώματος ή το αποικίζουν (1), η μόλυνση από έναν τέτοιο μύκητα σε περίοδο ανοσοκαταστολής είναι εφικτή. Έτσι, εκμεταλλευόμενοι την αδυναμία του ανοσοποιητικού συστήματος, διεισδύουν στην κυκλοφορία του αίματος και οδηγούν στην εκδήλωση μυκηταιμίας, η οποία σχετίζεται με υψηλή θνητότητα (189). Αυτός είναι και ο βασικός λόγος που προσβάλλουν πρωτίστως ανοσοκατασταλμένα άτομα και σε μικρότερο βαθμό άτομα με ανοσοεπάρκεια (1). Αξίζει να αναφερθεί πως έχουν περιγραφεί περιστατικά ασθενών με μυκηταιμία από σπάνιο μύκητα, στους οποίους χορηγήθηκαν αντιμυκητικά με μειωμένη *in vitro* δραστικότητα έναντι του απομονωθέντος παθογόνου (84,130) ή δεν έλαβαν αντιμυκητική θεραπεία (172), και αυτοί τελικά επιβίωσαν, υποδεικνύοντας τη σημασία της δυνατότητας ανοσολογικής απόκρισης του ξενιστή στην έκβαση της λοίμωξης.

Υποκείμενα νοσήματα που σχετίζονται κυρίως με το βαθμό ανοσοεπάρκειας του ασθενούς και άλλοι παράγοντες κινδύνου αυξάνουν τον κίνδυνο εκδήλωσης μυκηταιμίας από σπάνιους μύκητες. Μάλιστα, ορισμένοι προδιαθεσικοί παράγοντες είναι κοινί για όλα τα εν δυνάμει παθογόνα, ενώ κάποιοι σχετίζονται σε μεγαλύτερο βαθμό ή αποκλειστικά με συγκεκριμένους αιτιολογικούς παράγοντες (1,4,5,15) .

Οι αιματολογικές παθήσεις και κακοήθειες είναι από τους συχνότερα καταγεγραμμένους (1,4,6,15). Μάλιστα, λόγω της υψηλής κρισιμότητας της υγείας της συγκεκριμένης ομάδας ασθενών, εκδίδονται ειδικές κατευθυντήριες οδηγίες για την αντιμετώπιση των διηθητικών μυκητικών λοιμώξεων, συμπεριλαμβανομένων αυτών που προκαλούνται από σπάνιους μύκητες, οι οποίες απεύθυνονται αποκλειστικά σε αυτήν (190,191). Επιπλέον, πολλά περιστατικά έχουν περιγραφεί σε ασθενείς με κακοήθεια συμπαγούς οργάνου (165) και σε άτομα που είχαν υποβληθεί σε μεταμόσχευση (15). Αρκετές είναι και οι αναφορές σε ανθρώπους με HIV λοίμωξη, ιδίως όμως όσον αφορά τη μυκηταιμία από σπάνιο ζυμομύκητα (5,15). Περιστατικά έχουν, επίσης, καταγραφεί σε άτομα με χρόνια νεφρική ανεπάρκεια (192), ρευματικό νόσημα και ΣΔ, ενώ δεν εκλείπουν ασθένειες του καρδιολογικού συστήματος και χρόνιες πνευμονοπάθειες (160).

Ένας από τους σημαντικότερους παράγοντες κινδύνου είναι η χρήση οποιουδήποτε είδους καθετήρα, κυρίως CVC (1,14,15), καθώς οι πλαστικές επιφάνειες τους, εάν δεν είναι καταλλήλως αποστειρωμένες ή έχουν επιμολυνθεί από τα χέρια του ιατρονοσηλευτικού προσωπικού συνιστούν στην ανάπτυξη μικροοργανισμών (16,95). Επιπλέον, η λευκοπενία, και ιδίως η ουδετεροπενία, συνδέονται στενά με περιστατικά μυκηταιμίας από σπάνιους μύκητες (14,15) αφού τα πρώτα κύτταρα που θα αντιμετωπίσουν έναν παθογόνο μικροοργανισμό και θεωρούνται ως η πρώτη γραμμή κυτταρικής άμυνας είναι τα ουδετερόφιλα (189,193). Ακόμη, παράγοντας κινδύνου θεωρείται μια πρόσφατη χειρουργική επέμβαση (160) ή η μετάγγιση αίματος (14). Οι χειρουργικές λοιμώξεις οφείλονται συνήθως σε περισσότερα του ενός μικρόβια, ταχέως αναπτυσσόμενα και ορισμένες φορές πολυανθεκτικά, τα οποία έχουν την ικανότητα να διασπείρονται σε ιστούς γειτονικούς της φλεγμονής ή να περνούν στην κυκλοφορία του αίματος και να προκαλούν σηψαιμία. Επίσης, η λήψη αντιβιοτικών ευρέως φάσματος (160) ή φαρμάκων που προκαλούν ανοσοκαταστολή, όπως τα κορτικοστεροειδή και τα κυτταροτοξικά (1,14,165), συσχετίζονται με την εμφάνιση της νόσου. Τέλος, η χορήγηση παρεντερικής διατροφής και η παρατεταμένη νοσηλεία σε ΜΕΘ είναι παράγοντες που θεωρούνται πως αυξάνουν τον κίνδυνο εμφάνισης της λοίμωξης (160).

Ιδιαίτερη μνεία αξίζει να γίνει στην προηγηθείσα λήψη αντιμυκητικών φαρμάκων στο πλαίσιο προφυλακτικής ή/και εμπειρικής αγωγής. Σε περίπτωση ισχυρής υποψίας μυκηταιμίας, και συγκεκριμένα καντιναιμίας δεδομένου ότι αποτελεί τη πιο συχνή μορφή της, ενώ τα αποτελέσματα της καλλιέργειας αίματος εκκρεμούν, οι θεράποντες ιατροί καλούνται να αποφασίσουν για την έναρξη εμπειρικής αντιμυκητικής θεραπείας με σκοπό την πρόληψη θανατηφόρων εκβάσεων. Οι διεθνείς κατευθυντήριες οδηγίες συστήνουν τη χρήση εχινοκανδινών σε βαρέως πάσχοντες ασθενείς που δεν έχουν προηγουμένως εκτεθεί σε αζόλες ή εναλλακτικά τη χορήγηση FLC σε επιλεγμένους ασθενείς, συμπεριλαμβανομένων εκείνων που δε βρίσκονται σε κρίσιμη κατάσταση (79,80). Αντίστοιχα, η χρήση FLC ενδείκνυται για την πρόληψη της διεισδυτικής καντινίωσης και χορηγείται ως προφύλαξη σε ομάδες ασθενών υψηλού κινδύνου, όπως οι λήπτες αιμοποιητικών κυττάρων (194) και τα εξαιρετικά πρόωρα νεογνά (195). Σημειωτέον, πολλά καταγεγραμμένα περιστατικά μυκηταιμίας από σπάνιους μύκητες αποτελούν εκ

διαφυγής λοιμώξεις, γεγονός που έχει αποδοθεί στην εγγενή αντοχή ή στη μειωμένη ευαισθησία αυτών των παθογόνων στις εχινοκανδίνες ή τη FLC (4–6).

Ειδικότερα, η εμφάνιση μυκηταιμίας από *S. cerevisiae* έχει συσχετιστεί με τη λήψη προβιοτικών *S. boulardii*, η οποία αποσκοπεί στην αντιμετώπιση διαρροϊκών επεισοδίων (95). Επιπλέον, η ακραία προωρότητα (εξαιρετικά χαμηλό βάρος γέννησης) φαίνεται να συνδέεται με αυξημένο κίνδυνο εκδήλωσης μυκηταιμίας από σπάνιο μύκητα σε νεογνά και βρέφη (78,182).

1.4 Συμπτωματολογία

Τα συμπτώματα που εκδηλώνει ο ασθενής λόγω της προσβολής του αίματος από κάποιο σπάνιο μύκητα δεν είναι παθογνωμονικά, ιδίως στα αρχικά στάδια της νόσησης (1,196), γεγονός που καθιστά τη διάγνωση της λοίμωξης ακόμη δυσκολότερη. Ένα από τα κυριότερα συνοδά συμπτώματα, που ανακλά την πιθανότητα εμφάνισης μυκηταιμίας, είναι ο πυρετός που δεν υποχωρεί με τη λήψη αντιβιοτικών ευρέως φάσματος ή η εκδήλωση επαναλαμβανόμενων εμπύρετων επεισοδίων (196). Συχνά στους ασθενείς παρατηρείται και ουδετεροπενία (185), συνήθως σε συνδυασμό με πυρετό (197). Κάποια άλλα από τα συμπτώματα που έχουν καταγραφεί σε περιστατικά μυκηταιμίας από σπάνιους μύκητες είναι η αναιμία (198), η αδυναμία, η αδιαθεσία, η δυσφορία, ο έμετος (172), η διάρροια (172,199), ο πόνος στο θώρακα (199) και η έλλειψη επιθυμίας για κατανάλωση φαγητού (185). Τέλος, στη βιβλιογραφία γίνεται αναφορά και για αυξημένες τιμές της συγκέντρωσης της C-αντιδρώσας πρωτεΐνης (197).

1.5 Εργαστηριακή διάγνωση

1.5.1 Δυσκολίες στην εργαστηριακή τεκμηρίωση της λοίμωξης

Η ταχεία, έγκαιρη και ορθή διάγνωση της μυκηταιμίας αποτελεί μια μεγάλη πρόκληση στην καθ' ημέρα εργαστηριακή πράξη, καθώς είναι καίριας σημασίας για την επιλογή της ενδεδειγμένης θεραπείας και την επίτευξη του βέλτιστου θεραπευτικού αποτελέσματος (196,200,201). Οι διαδικασίες διάγνωσης της νόσου

πρέπει να ξεκινήσουν με την εκδήλωση των πρώτων συμπτωμάτων. Εντούτοις, όπως προαναφέρθηκε, τα συμπτώματα που εμφανίζει ο ασθενής δεν είναι ειδικά της λοίμωξης, προπαντός στα πρώτα στάδια της νόσησης. Επιπλέον, το επιδημιολογικό τοπίο της μυκηταιμίας από σπάνιους μύκητες παρουσιάζει μεγάλη μεταβλητότητα εξαιτίας των στρατηγικών που ακολουθούνται στην προφυλακτική και εμπειρική αντιμυκητική θεραπεία (160,202). Συγχρόνως, μία ακόμη δυσκολία αποτελεί η επιρροή της κατανομής των παθογόνων αιτιών της από γεωγραφικούς παράγοντες (8), με κάποια από αυτά να χαρακτηρίζονται ως ενδημικά (7,8). Ως εκ τούτου, απαιτείται εγρήγορση (203), αλλά και καχυποψία (7), από πλευράς των θεραπόντων ιατρών, ώστε να διαγνωστεί η νόσος σε όσο γίνεται πιο αρχικό στάδιο, καθώς οποιαδήποτε καθυστέρηση συνδέεται με κακή πρόγνωση (1). Η έλλειψη εξοικείωσης των κλινικών ιατρών πιθανώς να αποτελέσει τροχοπέδη για την έγκαιρη και έγκυρη εργαστηριακή διάγνωση (204).

Εξίσου σημαντική παράμετρος θεωρείται η καλή συνεργασία των κλινικών ιατρών με το εργαστηριακό προσωπικό, καθώς και η άμεση ενημέρωσή του για υποψία διηθητικής λοίμωξης από σπάνιο μύκητα προκειμένου να χρησιμοποιηθούν τα κατάλληλα διαγνωστικά μέσα (196). Ωστόσο, δεν υπάρχει πάντα διαθέσιμος ο απαιτούμενος εργαστηριακός εξοπλισμός, αλλά και εξειδικευμένο προσωπικό, γεγονός που συχνά δυσχεραίνει την ταχεία ή ακόμη και την αξιόπιστη διάγνωση (9). Σημειωτέον, η ορθή εργαστηριακή διάγνωση αποτελεί σημείο αναφοράς για το θεράποντα ιατρό, ο οποίος τροποποιεί το σχήμα της αντιμυκητικής θεραπείας σύμφωνα με τα αποτελέσματα της ταυτοποίησης και του AFST του παθογόνου, και επομένως πρέπει να είναι γνωστές σε αυτόν οι ενδείξεις και οι περιορισμοί των μεθόδων που εφαρμόστηκαν για τη διεξαγωγή τους (205).

Αν και η διενέργεια αιμοκαλλιέργειας αποτελεί τον ακρογωνιαίο λίθο για την οριστική διάγνωση της μυκηταιμίας, χαρακτηρίζεται από χαμηλή ευαισθησία (50-95% και 1-5% για τους ζυμομύκητες και τους νηματοειδείς μύκητες, αντίστοιχα) (206). Εξίσου σημαντικό είναι και το πρόβλημα των ψευδώς αρνητικών αποτελεσμάτων της εξαιτίας της μη επαρκούς ποσότητας αίματος που ενδεχομένως να ενοφθαλμίζεται στη φιάλη και της χορήγησης προφυλακτικής ή εμπειρικής αντιμυκητιακής αγωγής πριν τη δειγματοληψία (207). Επιπλέον, σε ~20% των περιστατικών μυκηταιμίας συνυπάρχει βακτηριαιμία, περιπλέκοντας την ανίχνευση των μυκήτων ακόμη περισσότερο (208). Συγχρόνως, το μεγάλο χρονικό

διάστημα που απαιτείται για την ολοκλήρωση της αιμοκαλλιέργειας, δηλαδή για τη θετικοποίησή της, αλλά και την ταυτοποίηση και τον AFST του παθογόνου, μπορεί να καταστεί απειλητικό για τη ζωή του ασθενούς (206).

Παράλληλα, η μικροσκοπική εξέταση χρωσμένου με χρώση Gram επιχρίσματος αίματος από φιάλη θετικής αιμοκαλλιέργειας παρέχει ένα γρήγορο αποτέλεσμα που καταδεικνύει την παρουσία ή μη μυκητικών στοιχείων στο δείγμα, χωρίς ωστόσο να επιτρέπει τον προσδιορισμό του γένους ή του είδους του παθογόνου, και κατ' επέκταση την άμεση έναρξη ενδεδειγμένης θεραπείας, ιδίως σε περιστατικά μυκηταιμίας από σπάνιους μύκητες. Από την άλλη πλευρά, η χρήση ειδικών χρώσεων που μπορεί να συμβάλλει στην ανίχνευση συγκεκριμένων μυκήτων, όπως της σινικής μελάνης για τον *Cryptococcus*, δεν αποτελεί συνήθη πρακτική και πραγματοποιείται μόνο όταν υπάρχει ενημέρωση από το θεράποντα ιατρό για υποψία τέτοιας λοίμωξης. Επίσης, η ταυτοποίηση των ζυμομυκήτων δεν είναι εφικτή με μικροσκόπηση και συνήθως λαμβάνει χώρα με τη διενέργεια δοκιμασιών ζύμωσης/αφομοίωσης σακχάρων. Εντούτοις, η ορθή αναγνώριση σπάνιων ζυμομυκήτων απαιτεί εμπειρία, αφού εντοπίζεται δυσκολία στην καλλιέργειά τους, καθώς και στην ταυτοποίησή τους με συμβατικές φαινοτυπικές μεθόδους (9). Από την άλλη πλευρά, η ταυτοποίηση των νηματοειδών μυκήτων στηρίζεται κυρίως στη λεπτομερή παρατήρηση της μικροσκοπικής μορφολογίας της ώριμης αποικίας τους, διαδικασία που χρήζει μακροχρόνιας εκπαίδευσης και εξειδίκευσης (209), κάτι που φθίνει στην εποχή του εργαστηριακού αυτοματισμού. Σημειωτέον, κάποιοι νηματοειδείς μύκητες απαιτούν πολλές μέρες (έως και 4 εβδομάδες) για την ανάπτυξη τους *in vitro* (201), ενώ υπάρχουν καταγεγραμμένα περιστατικά στα οποία η ταυτοποίησή τους ολοκληρώθηκε όταν ο ασθενής είχε ήδη αποβιώσει (127).

Τέλος, το περιορισμένο διαθέσιμο οπλοστάσιο αντιμυκητικών παραγόντων, σε συνδυασμό με την εγγενή ή επίκτητη αντοχή που εμφανίζουν κάποια είδη μυκήτων σε αυτούς (210), άλλα και την τοξικότητα που παρουσιάζουν ορισμένοι από αυτούς (211), κάνουν ευκόλως αντιληπτό ότι η αντιμετώπιση μιας μυκητικής λοίμωξης δεν είναι εύκολη υπόθεση και αναδεικνύει το σημαίνοντα ρόλο της διενέργειας AFST στο πλαίσιο του εργαστηριακού διαγνωστικού αλγορίθμου της (212). Πρότυπη μέθοδος θεωρείται αυτή των μικροαραιώσεων σε ζωμό (broth microdilution, BMD), η οποία έχει βελτιστοποιηθεί από δύο διεθνώς

αναγνωρισμένους οργανισμούς: το ινστιτούτο κλινικών και εργαστηριακών προτύπων (clinical and laboratory standards institute, CLSI) και την ευρωπαϊκή επιτροπή για τον έλεγχο ευαισθησίας στα αντιμικροβιακά (european committee of antimicrobial susceptibility testing, EUCAST). Εντούτοις, η συγκεκριμένη μεθοδολογία απαιτεί την επίπονη in house παρασκευή πλακών μικροαραιώσεων, οι οποίες τείνουν να έχουν σύντομη διάρκεια ζωής και απαιτούν εκτεταμένο ποιοτικό έλεγχο (213–216), καθιστώντας απρόσιτη την εφαρμογή της για τα περισσότερα εργαστήρια ρουτίνας. Από την άλλη πλευρά, οι εμπορικά διαθέσιμες δοκιμασίες για τον AFST ζυμομυκήτων, όπως το Sensititre YeastOne, οι ταινίες διαβαθμισμένης συγκέντρωσης αντιμυκητικού και το σύστημα VITEK 2, δεν έχουν βελτιστοποιηθεί για τον έλεγχο σπάνιων ειδών, ενώ μέχρι στιγμής δεν υπάρχουν εγκεκριμένες εμπορικά διαθέσιμες δοκιμασίες για τον AFST νηματοειδών μυκήτων (217).

Σκοπός της διεξαγωγής του AFST είναι ο προσδιορισμός της MIC, δηλαδή της χαμηλότερης συγκέντρωσης ενός αντιμυκητικού που αναστέλλει την ανάπτυξη του υπό εξέταση στελέχους *in vitro* σε καθορισμένο βαθμό, ενώ η ερμηνεία των τιμών MIC στηρίζεται σε δύο κατηγορίες ορίων εκτίμησης της ευαισθησίας: τα κλινικά όρια και τα επιδημιολογικά όρια (epidemiological cut-off values, ECVs ή ECOFFs για CLSI και EUCAST, αντίστοιχα). Ωστόσο, για τους μύκητες χωρίς καθιερωμένα ερμηνευτικά κριτήρια, όπως είναι συνήθως οι σπάνιοι (4,6), η MIC μπορεί να προσδιοριστεί, αλλά χωρίς να αποδίδει καθαρή κλινική ερμηνεία. Για την οριοθέτηση τέτοιων κριτηρίων απαιτούνται πολυάριθμα δεδομένα ποικίλης γεωγραφικής κατανομής, η συλλογή των οποίων, όπως προαναφέρθηκε, είναι εξαιρετικά δύσκολη στην περίπτωση των σπάνιων μυκήτων (217).

1.5.2 Εξαρτώμενες από την καλλιέργεια διαγνωστικές μέθοδοι

• Βιοχημικές δοκιμασίες

Η κατάταξη των ζυμομυκήτων σε συγκεκριμένο γένος και είδος πραγματοποιείται μέσω της βιοχημικής ταυτοποίησής τους, δηλαδή σύμφωνα με τις μεταβολικές τους ιδιότητες, όπως τη διάσπαση διαφόρων υποστρωμάτων, ιδίως σακχάρων και οργανικών οξέων, και την παραγωγή ενζύμων. Το σκεπτικό

πίσω από τη διαδικασία είναι ο συνδυασμός όλων των διαθέσιμων χαρακτηριστικών ενός μικροοργανισμού και τελικά η επίτευξη της ταυτοποίησής του μέσω αλγορίθμου (218). Αποτελεί την κατ' εξοχήν μέθοδο ταυτοποίησης στην καθ' ημέρα εργαστηριακή πράξη, χρησιμοποιώντας είτε συμβατικά/χειροκίνητα (API 20C, Microscan, Auxacolor) είτε αυτοματοποιημένα (BD Phoenix, VITEK 2) συστήματα, τα οποία περιλαμβάνουν στο πάνελ τους κυρίως κοινούς ζυμομύκητες, αλλά και κάποιους σπάνιους. Αν και εύκολα στη χρήση, χαρακτηρίζονται από υψηλό χρόνο λήψης των αποτελεσμάτων (24-48 ώρες) και όχι ιδιαίτερα καλά ποσοστά ακρίβειας, ιδίως σε ότι αφορά στα σπάνια είδη, και ως εκ τούτου η αξιολόγηση των αποτελεσμάτων απαιτεί εμπειρία από το χειριστή. (219).

• MALDI-ToF MS

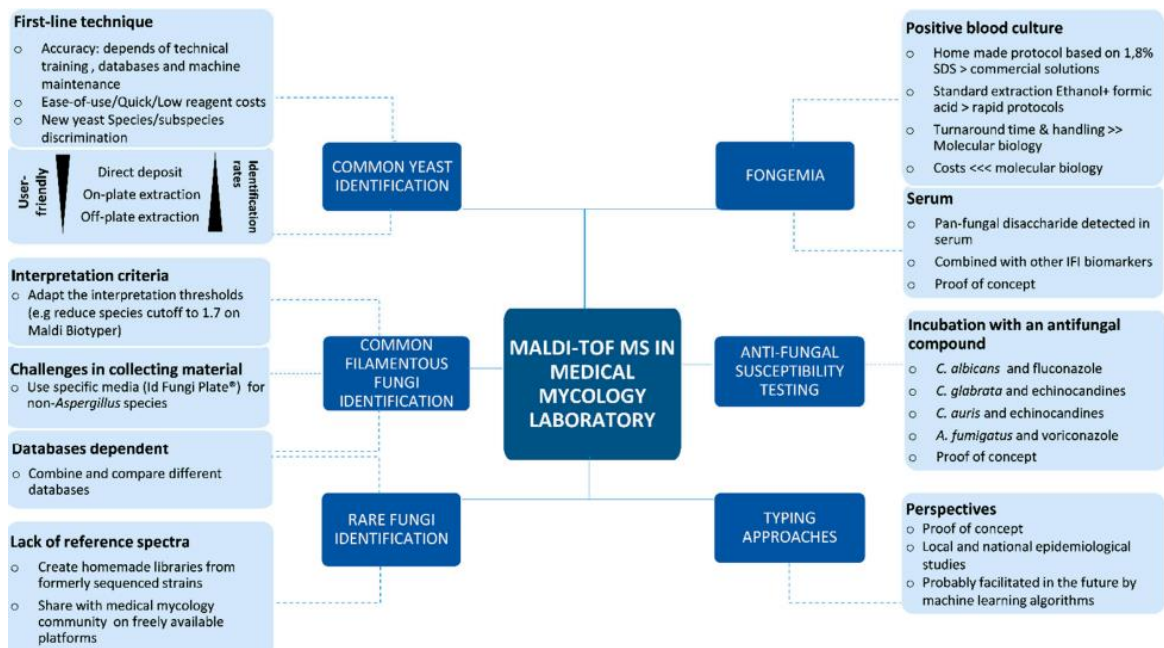
Τα τελευταία χρόνια, η ενσωμάτωση της φασματοφωτομετρίας μάζας με μηχανισμό ιοντισμού εκρόφησης με λέιζερ, υποβοηθούμενου από μήτρα, και αναλυτή χρόνου/πτήσης (matrix assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry, MALDI-ToF MS) στη ροή εργασιών για την ταυτοποίηση βακτηρίων και μυκήτων στο εργαστήριο Κλινικής Μικροβιολογίας εμφανίζει έντονη δυναμική. Η μέθοδος χαρακτηρίζεται από υψηλή αξιοπιστία, ακρίβεια, ευκολία στο χειρισμό, αλλά και ταχύτητα τόσο κατά το χειρισμό αλλά και κατά την ανάλυση των δειγμάτων και το χρόνο λήψης των αποτελεσμάτων, μειώνοντας τον κατά 24 ώρες συγκριτικά με τα συμβατικά αυτοματοποιημένα συστήματα ταυτοποίησης που στηρίζονται στη βιοχημική ανάλυση των υπό εξέταση στελεχών. Η λειτουργία της βασίζεται στον ιονισμό των πρωτεϊνών του δείγματος, με τα ιόντα που παράγονται να επιταχύνονται προς τον ανιχνευτή υπό κενό, να προκύπτουν ακολούθως φάσματα μάζας σύμφωνα με την αναλογία μάζας προς φορτίο που είναι μοναδικά για κάθε μικροοργανισμό και η τελική ταυτοποίηση να λαμβάνει χώρα σε ~1 min/δείγμα με σύγκρισή τους με πρότυπα φάσματα μαζών που είναι καταχωρημένα σε βιβλιοθήκες αναφοράς στο λογισμικό του αναλυτή (220).

Η απόδοση της MALDI-ToF MS για την ταυτοποίηση ζυμομυκήτων, συμπεριλαμβανομένων και σπάνιων αιτιολογικών παραγόντων μυκηταιμίας, είναι υψηλή (221). Ωστόσο, η αξιολόγησή της για την ταυτοποίηση νηματοειδών

μυκήτων, ακόμη και των κοινών ειδών, δεν είναι τόσο εκτεταμένη. Αυτό οφείλεται κυρίως στο γεγονός ότι οι νηματοειδείς μύκητες είναι μορφολογικά πολύπλοκοι μικροοργανισμοί και κατά την καλλιέργεια τους παράγουν διαφορετικές δομές, όπως μυκήλιο (μάζα υφών) και κονίδια, των οποίων η πρωτεϊνική σύνθεση είναι δύσκολο να διαφοροποιηθεί, καθιστώντας δύσκολη την απόκτηση διακριτών φασμάτων τους (220). Η αναβάθμιση και ο εμπλουτισμός των βάσεων δεδομένων με φάσματα αναφοράς φαίνεται είναι το κλειδί, καθώς η ακρίβεια της ταυτοποίησης των νηματοειδών μυκήτων, και ιδίως των σπάνιων ειδών, εξαρτάται από το πλήθος των προτύπων που περιέχονται σε αυτές, αλλά και από το πόσο επικαιροποιημένες είναι (222) .

Παράλληλα, η MALDI-ToF MS έχει εφαρμοστεί επιτυχώς για την ανίχνευση δεικτών μικροβιακής αντοχής σε βακτήρια, χρησιμοποιώντας ακόμη και το ίδιο φάσμα που έχει ήδη αποκτηθεί για την ταυτοποίηση του μικροοργανισμού. Εντούτοις, η δυνατότητα πρόβλεψης του προφίλ της *in vitro* ευαισθησίας στα αντιμυκητικά δεν έχει διερευνηθεί εκτενώς. Κάποιες πιλοτικές μελέτες για την ανίχνευση αντοχής στη FLC και στις εχινοκανδίνες σε *Candida spp.* έχουν υποδείξει πολλά υποσχόμενα αποτελέσματα, ενώ σε άλλες αναφέρθηκε μεγάλη διακύμανση. Από την άλλη πλευρά, δε θεωρείται πολύ πιθανό η μέθοδος να αποτελέσει μια ευνοϊκή εναλλακτική λύση της πρότυπης BMD μεθοδολογίας ή της αλληλούχισης γονιδίων-στόχων για τον AFST των νηματοειδών μυκήτων (223).

Σε κάθε περίπτωση, απαιτείται κατάλληλη εκπαίδευση του εργαστηριακού προσωπικού, τόσο όσον αφορά το χειρισμό των δειγμάτων, όσο και για τη συντήρηση και τη βαθμονόμηση του συστήματος, ώστε να εξασφαλίζεται η εύρυθμη λειτουργία του. Επιπλέον, το κόστος της συσκευής εξακολουθεί να είναι υψηλό, περιορίζοντας μέχρι στιγμής την ευρεία υιοθέτηση της MALDI-ToF MS στην καθ' ημέρα εργαστηριακή πράξη (224).



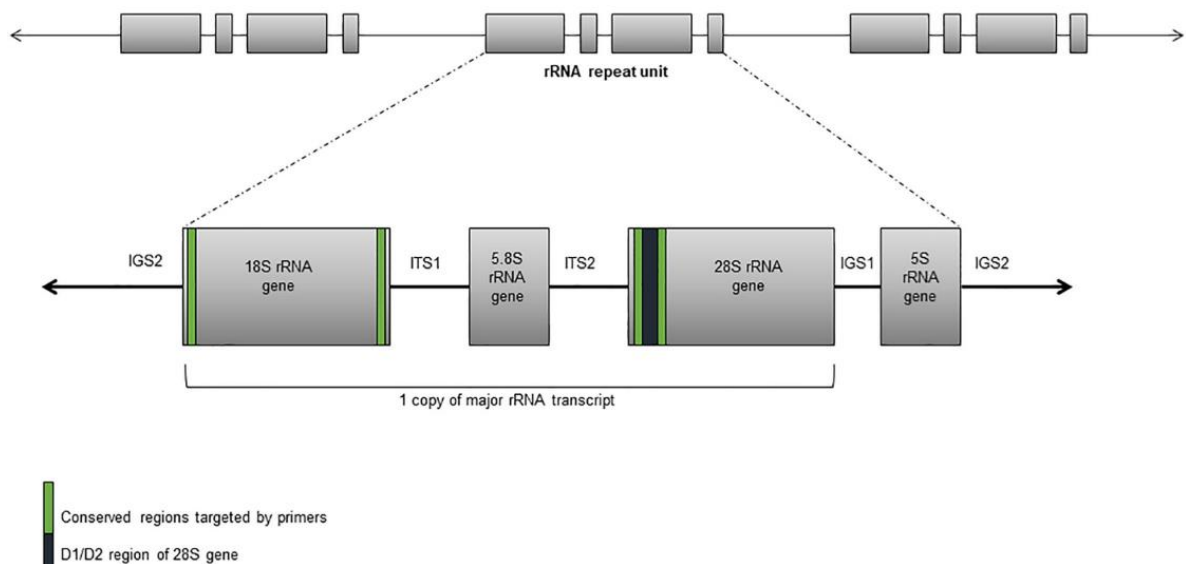
Εικόνα 45. Διαγραμματική απεικόνιση των δυνατοτήτων του συστήματος MALDI-ToF MS στον κλάδο της Κλινικής Μυκητολογίας (224).

• Μοριακές μέθοδοι

Οι μοριακές μεθοδολογίες συμβάλλουν στον προσδιορισμό της γενετικής ταυτότητας κάθε μικροοργανισμού και χαρακτηρίζονται από υψηλή ευαισθησία και ειδικότητα, επαναληψιμότητα και ευκολία στη χρήση. Ωστόσο, για τη διεξαγωγή τους απαιτείται κατάλληλος εργαστηριακός εξοπλισμός, εξειδικευμένο προσωπικό και ξεχωριστές εγκαταστάσεις, δυσχεραίνοντας την ευρεία εφαρμογή τους στη ρουτίνα του εργαστηρίου Κλινικής Μικροβιολογίας.

Αναφορικά με τις μυκητικές λοιμώξεις, η αλυσιδωτή αντίδραση της πολυμεράσης (polymerase chain reaction, PCR) είναι η κυριότερη μοριακή τεχνική που χρησιμοποιείται για την αξιόπιστη ταυτοποίηση του απομονωθέντος από την καλλιέργεια στελέχους, ιδίως στην περίπτωση νηματοειδών και σπάνιων μυκήτων. Μάλιστα η αλληλούχιση του rDNA θεωρείται μέθοδος αναφοράς για την ταυτοποίηση των μυκήτων. Ειδικότερα, εφαρμόζεται μια ενιαίου μεγέθους προσέγγιση, αυτή της πανμυκητικής PCR χρησιμοποιώντας εκκινητές που στοχεύουν τις εσωτερικά μεταγραφόμενες περιοχές (internal transcribed spacers, ITS) των ριβοσωμικών γονιδίων. Αυτές εδράζονται μεταξύ των υψηλά συντηρημένων περιοχών του rDNA που κωδικοποιούν τα 28S, 5.8S και 18S rRNA

και έχουν υποστεί μεταλλάξεις που πιθανώς καθίστανται μοναδικές για κάθε είδος, επομένως χρησιμεύουν ως ο κύριος γραμμωτός κώδικας των μυκήτων (225). Σε κάποιες περιπτώσεις ενδεχομένως να χρειαστεί να χρησιμοποιηθούν και άλλοι γενετικοί δείκτες, όπως ο παράγοντας επιμήκυνσης 1-α (translation elongation factor 1-α, TEF-1α), η περιοχή D1/D2 και το διαγονιδιακό διάστημα (226). Ιδιαίτερη προσοχή και συνεκτίμηση με την κλινική εικόνα του ασθενούς απαιτούνται κατά την αξιολόγηση αποτελεσμάτων που συνηγορούν σε ταυτοποίηση σπάνιου μύκητα, δεδομένου του κινδύνου επιμόλυνσης κατά τη δειγματοληψία ή την επεξεργασία του δείγματος, καθώς πολλοί από αυτούς είναι αποικιστές του ανθρώπινου σώματος (227).



Εικόνα 46. Διάταξη της συστοιχίας του rDNA (201).

Συγχρόνως, η PCR αποτελεί χρήσιμη μέθοδο για την ανίχνευση μηχανισμών αντοχής στα αντιμυκητικά, συνήθως σημειακών μεταλλάξεων σε συγκεκριμένα γονίδια. Εντούτοις, το αποτέλεσμα της δεν μπορεί να συσχετιστεί άμεσα με τη συγκέντρωση του φαρμάκου στον ανθρώπινο οργανισμό, όπως στην περίπτωση του AFST. Επιπλέον, η δεδομένη εφαρμογή της σε σπάνιους μύκητες είναι περιορισμένη, καθώς για μεγάλο αριθμό αυτών δεν έχει ακόμη εντοπιστεί το κατάλληλο μέρος του γονιδιώματός τους που θα επιτρέψει την εξαγωγή χρήσιμων συμπερασμάτων (228).

Συνολικά, η επιλογή της PCR ακολουθούμενη από αλληλούχιση ως το κύριο εργαλείο για τη διάγνωση μυκητικών λοιμώξεων στην καθ' ημέρα εργαστηριακή πράξη θεωρείται μέχρι στιγμής μη βιώσιμη εξαιτίας σημαντικών περιορισμών, όπως το κόστος, ο χρόνος διεκπεραίωσης και η απαιτούμενη τεχνογνωσία.

1.5.3 Μη βασιζόμενες στην καλλιέργεια μέθοδοι

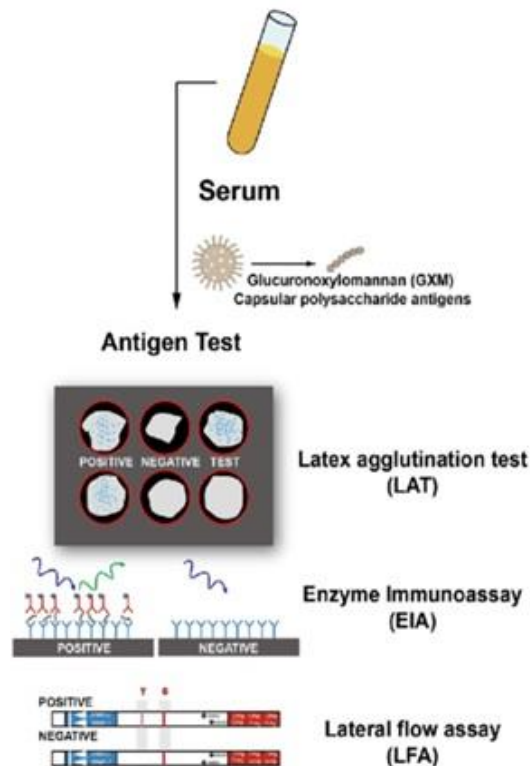
Οι συμβατικές διαγνωστικές προσεγγίσεις απαιτούν σημαντική εξειδίκευση και τεχνογνωσία. Ο περιορισμός αυτός δεν είναι πρακτικά εύκολο να ξεπεραστεί σε κάθε εργαστηριακό περιβάλλον, υπογραμμίζοντας την αναγκαιότητα ενσωμάτωσης μη εξαρτώμενων από την καλλιέργεια μεθόδων στον εργαστηριακό διαγνωστικό αλγόριθμο της μυκηταιμίας (206).

- **Ορολογικές δοκιμασίες**

Τα τελευταία χρόνια, η έρευνα γύρω από την ανάπτυξη ορολογικών μεθόδων για τη διάγνωση της μυκηταιμίας από σπάνιους μύκητες χαίρει ολοένα και μεγαλύτερης αναγνώρισης. Βασική αρχή τους αποτελεί η ανίχνευση κυκλοφορούντων αντιγόνων ή μορίων (γλυκάνες) του παθογόνου στον ορό του ασθενούς (196). Ωστόσο, επειδή πρόκειται για συστατικά διαφορετικών μυκήτων, τα αποτελέσματά τους δεν πρέπει να κρίνονται μεμονωμένα. Ειδικά, όσον αφορά την ταυτοποίηση του αιτιολογικού παράγοντα της λοίμωξης, είναι επιτακτική ανάγκη η διερεύνησή της να γίνεται συνδυαστικά και με άλλες δοκιμασίες (229). Επί του παρόντος, δεν υπάρχουν ειδικοί δείκτες για τον εντοπισμό λοίμωξης από σπάνιους μύκητες (196), πέραν από αυτούς του γένους *Cryptococcus* (230).

➤ **Ανίχνευση αντιγόνου *Cryptococcus*:** Πραγματοποιείται αναζήτηση του πολυσακχαριδικού αντιγόνου της κάψας γλουκουρονοξυλομαννάνη, η οποία ανευρίσκεται σε όλα τα *Cryptococcus* spp. και έχει 4 βασικούς ορότυπους/σεροτύπους και έναν υβριδικό AD (230). Ευρέως χρησιμοποιούμενες στην καθ' ημέρα εργαστηριακή πράξη, είναι δύο εγκεκριμένες από τον οργανισμό τροφίμων και φαρμάκων των ΗΠΑ δοκιμασίες, η συγκόλληση σε λατέξ και η ανασοενζυμική (230). Ωστόσο, απαιτείται προσοχή στην ερμηνεία του αποτελέσματος, καθώς

ψευδώς θετικά αποτελέσματα έχουν παρατηρηθεί όταν ο ρευματοειδής παράγοντας είναι θετικός (231), ενώ ο σχηματισμός του φαινομένου της προζώνης και η διενέργεια της εξέτασης στα πολύ αρχικά στάδια της νόσησης έχουν συσχετιστεί με ψευδώς αρνητικά αποτελέσματα (196).



Εικόνα 47. Δοκιμασίες ανίχνευσης αντιγόνου *Cryptococcus* σε ορό (232).

➤ **Ανίχνευση (1-3)-β-D-γλυκάνης ((1-3)-β-D-glucan, BDG):** Η BDG θεωρείται πανμυκητικός δείκτης, καθώς πρόκειται για ένα πολυσακχαριδικό συστατικό του κυτταρικού τοιχώματος πολλών διαφορετικών μυκήτων, με ορισμένες διακριτές εξαιρέσεις, όπως την απουσία της στα *Mucorales* spp. και τα χαμηλά επίπεδά της στα *Cryptococcus* spp. (196,227). Συνεπώς, μπορεί η ανίχνευσή της να μην παρέχει πληροφορίες αναφορικά με την ταυτότητα του παθογόνου, ωστόσο μειώνει την υποψία για διηθητική μυκητική λοίμωξη (υψηλή αρνητική προγνωστική αξία). Συγχρόνως, ερευνάται η χρησιμότητά της ως δείκτης για την παρακολούθηση της ανταπόκρισης στη χορηγηθείσα θεραπεία (233). Συγκεκριμένα, ο προσδιορισμός της συγκέντρωσης της BDG στηρίζεται στην ικανότητά της να ενεργοποιεί τον παράγοντα G, ένα ζυμογόνο σερινοπρωτεάσης,

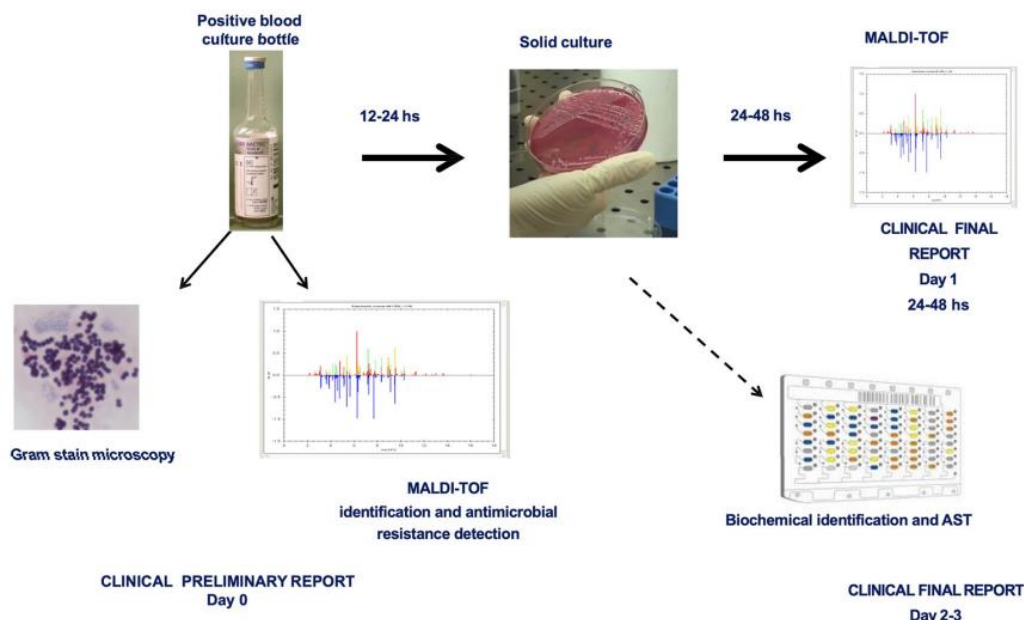
ο οποίος ακολούθως μετατρέπει το αδρανές προπηκτικό ένζυμο στο ενεργό πηκτικό ένζυμο, και αυτό με τη σειρά του διασπά ένα τεχνητό υπόστρωμα που χρησιμοποιείται για χρωματομετρική ή θολερομετρική ανίχνευση (234).

Ωστόσο, η εργαστηριακή διερεύνηση της BDG διέπεται από κάποιους περιορισμούς. Αρχικά, υπάρχει αυξημένος κίνδυνος επιμόλυνσης, καθώς η γλυκάνη ανευρίσκεται παντού (235). Επιπλέον, σε περίπτωση βακτηριαιμίας ελλοχεύει ο κίνδυνος για ψευδώς θετικές αντιδράσεις δεδομένου ότι η BDG είναι συστατικό του κυτταρικού τοιχώματος κάποιων βακτηρίων (196), αν και η πιθανότητα αυτή φαίνεται να μειώνεται σε περιστατικά πρόσφατης βακτηριαιμίας ή συνλοίμωξης του αίματος από μύκητα και βακτήριο (236). Τέλος, μείωση της συγκέντρωσής της έχει καταγραφεί σε αιματολογικούς ασθενείς που λάμβαναν VRC ως προφύλαξη (233), ενώ φαίνεται πως διαφορετική κατηγορία αντιμυκητικού μπορεί να επιδράσει με διαφορετικό τρόπο στα επίπεδα της BDG στη συγκεκριμένη πληθυσμιακή ομάδα (236).

• MALDI-ToF MS

Μία από τις πλέον υποσχόμενες εφαρμογές της MALDI-ToF MS είναι η αξιοποίησή της για την ταχεία ανίχνευση του παθογόνου απευθείας από τη φιάλη θετικής αιμοκαλλιέργειας, συμβάλλοντας στην πρώιμη χορήγηση ή/και αποκλιμάκωση της ενδεδειγμένης αντιμικροβιακής θεραπείας, στη βελτίωση της έκβασης του ασθενούς και στην ορθολογική χρήση των αντιμικροβιακών φαρμάκων. Επί του παρόντος, έχουν αναπτυχθεί διάφορα προαναλυτικά πρωτόκολλα καθαρισμού στοχεύοντας στη λύση των κυττάρων του αίματος. Η μόνη μέχρι στιγμής εμπορικά διαθέσιμη δοκιμασία για την ταυτοποίηση βακτηρίων και μυκήτων από φιάλη θετικής αιμοκαλλιέργειας με σήμανση IVD είναι η Sepsityper (Bruker Daltonics, Βρέμη, Γερμανία), η οποία λαμβάνει χώρα εντός 30 λεπτών, εξοικονομώντας τουλάχιστον 24-48 ώρες συγκριτικά με το χρόνο που απαιτεί η ταυτοποίηση με εξαρτώμενες από την καλλιέργεια μεθόδους. Εντούτοις, παρά τα ελκυστικά δεδομένα αναφορικά με την πιθανή δυνατότητα της μεθόδου να εντοπίζει πολυμικροβιακούς πληθυσμούς (διαφορετικών ειδών βακτηρίων ή βακτηρίων και μυκήτων) αυτό δεν έχει ακόμη επαληθευτεί για την εφαρμογή των εμπορικά διαθέσιμων δοκιμασιών απευθείας σε βιολογικά δείγματα (220).

Επιπλέον, θα πρέπει πάντα να λαμβάνονται υπόψη όσα προαναφέρθηκαν αναφορικά με τη δυνατότητα της MALDI-ToF MS να ταυτοποιεί σπάνιους μύκητες με αξιοπιστία.



Εικόνα 48. Σχηματική αναπαράσταση της βελτιωμένης ροής εργασίας για τη διάγνωση μυκηταιμίας απευθείας από τη φιάλη θετικής αιμοκαλλιέργειας με MALDI-ToF MS (220).

Επιπλέον, η MALDI-ToF MS φάνηκε ότι μπορεί να χρησιμοποιηθεί και για την ανίχνευση διαγνωστικών βιοδεικτών σε ορό ασθενών με διηθητική λοίμωξη από *Candida* spp., *Aspergillus* spp. και Mucorales (237). Ωστόσο, το εύρημα αυτό δεν έχει ακόμη επικυρωθεί ελέγχοντας μεγάλο αριθμό ασθενών, ενώ η συγκεκριμένη δυνατότητα της μεθόδου δεν έχει αξιολογηθεί για λοιμώξεις από σπάνιους μύκητες. Τέλος, προκαταρκτικές μελέτες ανέφεραν πως η μέθοδος υπέδειξε υψηλή διαγνωστική ακρίβεια για την ταχεία ανίχνευση ανθεκτικών στην AFG στελεχών *C. glabrata* απευθείας από θετικές αιμοκαλλιέργειες (238), όμως εμπορικά διαθέσιμες δοκιμασίες διατίθενται μέχρι στιγμής μόνο για την ανίχνευση δεικτών μικροβιακής αντοχής σε βακτήρια (239).

- **Μοριακές μέθοδοι**

➤ **PCR:** Η εφαρμογή της PCR προσφέρει τη δυνατότητα ανίχνευσης ακόμη και εξαιρετικά μικρής ποσότητας μυκητικού φορτίου στο αίμα. Σημειωτέον, η διενέργειά της δεν έχει ακόμη ενταχθεί ως ανεξάρτητο διαγνωστικό κριτήριο της μυκηταιμίας, και συγκεκριμένα της καντιναιμίας που είναι η πλέον συχνή μορφή της, λόγω προβλημάτων προτυποποίησης της μεθόδου (240). Ωστόσο, η διεξαγωγή της δύναται να συμβάλλει στη διάγνωση περιστατικών με αρνητική αιμοκαλλιέργεια (241), ενώ σε περιβάλλοντα με χαμηλό επιπολασμό της λοίμωξης (2-10%) μπορεί να αποκλείσει τη νόσο με υψηλό βαθμό βεβαιότητας (242). Πρακτικά, οι ίδιες τεχνικές που αναφέρθηκαν προηγουμένως, μπορούν να εφαρμοστούν και απευθείας στο κλινικό δείγμα, αναλόγως με το αν υπάρχει υποψία για συγκεκριμένο αιτιολογικό παράγοντα της λοίμωξης (στοχευμένη PCR) ή όχι (πανμυκητική PCR).

Τα τελευταία χρόνια υπήρξε ραγδαία εξέλιξη στην ανάπτυξη εμπορικά διαθέσιμων δοκιμασιών για την ανίχνευση ποικίλων παθογόνων απευθείας από το κλινικό δείγμα, οι οποίες βασίζονται στη μέθοδο της πολυπλεκτικής PCR πραγματικού χρόνου. Μολονότι αυτές έχουν τύχει ευρείας αποδοχής για την εργαστηριακή διαγνωστική προσέγγιση βακτηριακών και ιικών λοιμώξεων, σε ότι αφορά στη μυκηταιμία περιορίζονται στην ανίχνευση κοινών *Candida* spp., *Aspergillus* spp. και Mucorales, ενώ σχετικά με τους σπάνιους μύκητες υπάρχουν διαθέσιμες μόνο για την ανίχνευση *C. neoformans* σε εγκεφαλονωτιαίο υγρό και BAL (206). Πρόσφατα κυκλοφόρησε μια τέτοια δοκιμασία (Fungal ID, AusDiagnostics, Αυστραλία), στο πάνελ της οποίας περιλαμβάνονται διάφοροι σπάνιοι μύκητες (*Fusarium* spp., *L. prolificans*, *C. neoformans*, *C. gattii* και *S. cerevisiae*), ωστόσο δεν έχει λάβει ακόμη σήμανση IVD (243).

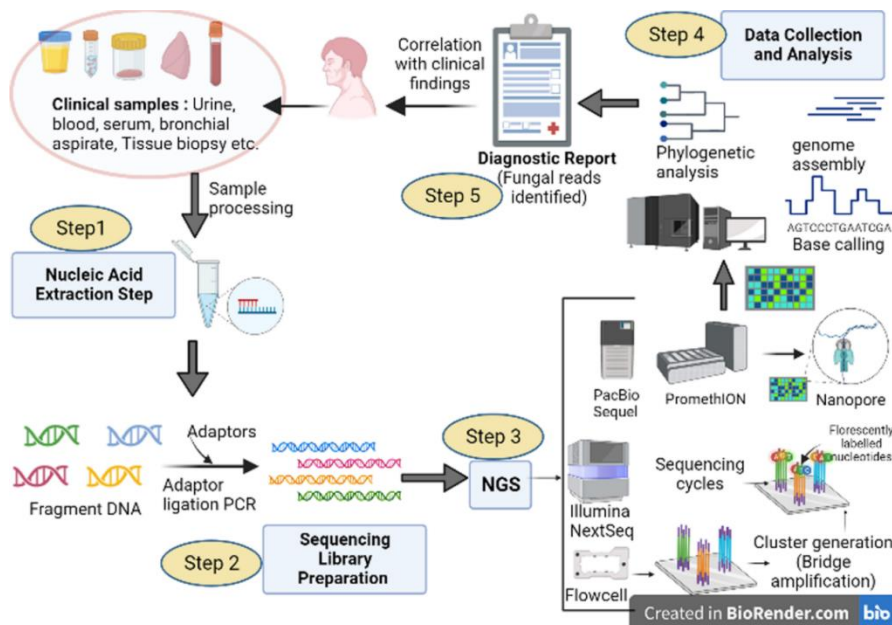
Επιπροσθέτως, η PCR έχει συνδυαστεί με τεχνικές που επιτυγχάνουν υψηλή ακρίβεια και αξιοπιστία. Μια άξια αναφοράς προσέγγιση αποτελεί το πλήρως αυτοματοποιημένο σύστημα ePlex για την ανάλυση θετικών αιμοκαλλιιεργειών, το οποίο αποτελεί συνδυασμό της μικρορευστομηχανικής, της PCR και της ηλεκτροχημικής ανίχνευσης. Η συγκεκριμένη πλατφόρμα μπορεί να ανιχνεύσει μεταξύ άλλων *C. neoformans*, *C. gattii*, *Fusarium* spp. και *Rhodotorula* spp., ενώ

χαρακτηρίζεται από άριστη διαγνωστική ακρίβεια σε ότι αφορά τα μυκητικά παθογόνα (206).

Συγχρόνως, η ευρεία αναγνώριση της οποίας χαίρει η PCR έχει οδηγήσει την επιστημονική κοινότητα στην προσπάθεια αξιοποίησής της για τον AFST απευθείας σε κλινικά δείγματα στοχεύοντας στον προσδιορισμό της γενετικής βάσης της εν δυνάμει αντοχής στα αντιμυκητικά. Εντούτοις, πρόκειται για μια μέθοδο που βρίσκεται ακόμη στα σπάργανα, ιδίως σε ότι αφορά στους σπάνιους μύκητες, καθώς ο μοριακός μηχανισμός αντοχής είναι μέχρι στιγμής γνωστός μόνο για λίγα είδη μυκήτων (κυρίως κάποια *Candida* spp. και τον *A. fumigatus*), ενώ δεν υπάρχουν καθιερωμένα πρότυπα (201).

➤ **Αλληλούχιση επόμενης γενιάς (next generation sequencing, NGS):** Η έλευση των τεχνολογιών NGS έχει φέρει επανάσταση στον τομέα της Μικροβιολογίας παρέχοντας τη δυνατότητα του πλήρους χαρακτηρισμού των παθογόνων σύμφωνα με το γονιδίωμά τους. Αυτή η γονιδιωματική ταυτότητα συμβάλλει στον προσδιορισμό της *in vitro* ευαισθησίας στα αντιμικροβιακά και στον εντοπισμό εστιών λοιμώξεων. Η ενσωμάτωση τεχνικών NGS στην καθ' ημέρα εργαστηριακή πράξη επιτρέπει την ταυτόχρονη αλληλούχιση μικτών μικροβιακών πληθυσμών απευθείας από μια ποικιλία κλινικών δειγμάτων, όπως είναι το αίμα. Δυνητικά, όλες οι μυκητικές λοιμώξεις θα μπορούσαν να ανιχνευθούν με τη χρήση τους (206).

Ωστόσο, η εφαρμογή των τεχνολογιών NGS υπόκειται σε κάποιους περιορισμούς. Το κυριότερο ίσως πρόβλημα αναφορικά με την αξιοποίησή τους στην εργαστηριακή διερεύνηση των διηθητικών μυκητικών λοιμώξεων είναι η έλλειψη προτύπων σε ελεύθερα προσβάσιμες βάσεις δεδομένων, αν και σημαντική προσπάθεια προς αυτή την κατεύθυνση έχει γίνει τα τελευταία χρόνια (244,245). Στο πλαίσιο επίλυσης αυτού του προβλήματος απαιτούνται συστήματα υπολογιστών μεγαλύτερης μνήμης και καθημερινές NGS αναλύσεις από τα εργαστήρια. Επιπλέον, οι τεχνικές NGS χαρακτηρίζονται από υψηλό κόστος, δυσχεραίνοντας την ευρεία εφαρμογή τους σε επίπεδο ρουτίνας (206).



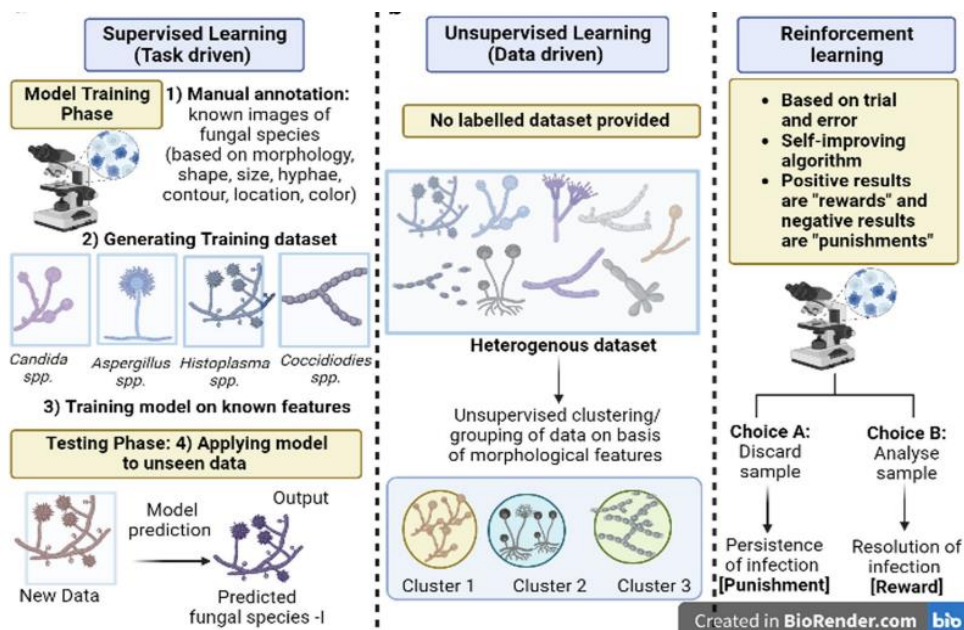
Εικόνα 49. Σχηματική αναπαράσταση της ροής εργασίας για τη διάγνωση μιας μυκητικής λοίμωξης απευθείας από το κλινικό δείγμα με τεχνολογίες NGS (206).

1.5.4 Μελλοντικές έρευνες στη διάγνωση

Στα σπάργανα βρίσκεται μία ρηξικέλευθη διαγνωστική προσέγγιση των μυκητικών λοιμώξεων, η οποία αξιοποιεί τις δυνατότητες ενός εκ των κλάδων της τεχνητής νοημοσύνης (artificial intelligence, AI), αυτόν της μηχανικής μάθησης. Ειδικότερα, μέσω της χρήσης εξειδικευμένων μηχανών και υπολογιστικών συστημάτων, γίνεται αναδρομή του ιστορικού των καταχωρήσεων και επεξεργασία τους με ειδικούς αλγορίθμους, οι οποίοι μπορούν να προβλέπουν το αποτέλεσμα ταχύτερα, πιο αποδοτικά και με μεγαλύτερη ακρίβεια από ότι η ανθρώπινη ικανότητα (206).

Όπως προαναφέρθηκε, η διάγνωση των μυκητιάσεων εξακολουθεί να στηρίζεται σε μεγάλο βαθμό στη μικροσκοπική εξέταση. Εντούτοις, η απόδοσή της εξαρτάται κατά κύριο λόγο από την εμπειρία του μικροσκοπιστή. Συγχρόνως, δεν είναι λίγες οι περιπτώσεις όπου η διαφοροποίηση κάποιων ειδών δεν είναι εφικτή λόγω μορφολογικών ομοιοτήτων, οπότε και απαιτείται η διενέργεια περαιτέρω βιοχημικών ή μοριακών δοκιμασιών, επιβαρύνοντας το συνολικό κόστος και παρατείνοντας το χρόνο για τη λήψη του αποτελέσματος.

Πρόσφατα, οι Zelinski et al. ανέπτυξαν μια καινοτόμο τεχνική, αυτή της χρήσης βαθιών νευρωνικών δικτύων για την ταξινόμηση της μικροσκοπικής απεικόνισης διαφόρων μυκήτων. Μέσω αυτής της προσέγγισης, κατάφεραν να ταυτοποιήσουν με ακρίβεια μορφολογικά παρόμοιους μύκητες, και συγκεκριμένα να διακρίνουν κάποια *Candida* spp. από άλλα σπάνια *Cryptococcus* spp. και *Saccharomyces* spp. (246). Σε αντίστοιχη τροχιά, οι Koo et al. ανέπτυξαν ένα μοντέλο βαθιάς μάθησης για την αυτόματη ανίχνευση μυκητικών υφών κατά τη μικροσκόπηση νωπών παρασκευασμάτων, το οποίο υπέδειξε υψηλή διαγνωστική ακρίβεια (ευαισθησία 93% και ειδικότητα 89%) (247). Η εφαρμογή της AI στο στάδιο της μικροσκόπησης θα συμβάλλει στην ελάττωση του χρόνου που απαιτείται για την ανίχνευση και την ταυτοποίηση του παθογόνου, επιταχύνοντας την πορεία δράσης του θεράποντος ιατρού προς τη χορήγηση της ενδεδειγμένης θεραπείας (206).



Εικόνα 50. Σχηματική αναπαράσταση των κύριων αρχών μηχανικής μάθησης, εποπτευόμενης (αριστερά), χωρίς επίβλεψη (στη μέση) και ενίσχυσης (δεξιά), για την ταυτοποίηση μυκήτων σύμφωνα με τη μικροσκοπική τους απεικόνιση (206).

Πειραματικό Μέρος

Σκοπός

Τα τελευταία χρόνια, η αυξανόμενη συχνότητα εμφάνισης περιστατικών μυκηταιμίας από σπάνιους μύκητες, κυρίως σε ανοσοκατασταλμένους ασθενείς, χαρακτηριζόμενων από υψηλά ποσοστά θνητότητας, εγείρει ανησυχία. Η εγγενής αντοχή ή η μειωμένη ευαισθησία αυτών των παθογόνων στις εχινοκανδίνες ή τη FLC παραμένει ως πρόκληση στη θεραπευτική τους αντιμετώπιση, με σημαντικό αριθμό εκ διαφυγής λοιμώξεων να έχει περιγραφεί. Ως εκ τούτου, η κατανόηση των επιδημιολογικών τάσεων της μυκηταιμίας από σπάνιους μύκητες έχει σημαντικές επιπτώσεις στην κλινική διαχείριση της νόσου στην παρούσα εποχή γενίκευσης των προφυλακτικών ή/και εμπειρικών αντιμυκητικών θεραπειών. Σκοπό, λοιπόν, της παρούσας μελέτης αποτέλεσε η διαφώτιση σημαντικών πτυχών που σχετίζονται με τη λοίμωξη, υπό το πρίσμα της έλλειψης επιδημιολογικών δεδομένων, ειδικά όσον αφορά την ελληνική πραγματικότητα. Η άντληση στοιχείων, τα οποία αφορούσαν σε μια εκτεταμένη χρονική περίοδο (2009-2022), πραγματοποιήθηκε σε ένα από τα μεγαλύτερα νοσηλευτικά ιδρύματα της χώρας μας προκειμένου να εξαχθούν ασφαλή και αντιπροσωπευτικά συμπεράσματα. Τα αποτελέσματα αναμένεται να συνεισφέρουν στην αποτύπωση της σύγχρονης επιδημιολογικής εικόνας της εν λόγω νόσου στην Ελλάδα, στην εκτίμηση παραγόντων κινδύνου και στην καλύτερη θεραπευτική προσέγγιση των ασθενών.

2. Υλικά και μέθοδοι

2.1 Ανασκόπηση της βιβλιογραφίας

Πραγματοποιήθηκε ανασκόπηση της διεθνούς βιβλιογραφίας αναφορικά με την επιδημιολογία της μυκηταιμίας από σπάνιους μύκητες στην Ελλάδα. Ειδικότερα, αναζητήθηκαν πληροφορίες στην ελεύθερη ψηφιακή βάση βιοϊατρικών δεδομένων PubMed, χρησιμοποιώντας τις λέξεις-κλειδιά: “fungemia”, “rare yeast” και “rare mould” σε συγκερασμό με “Greece” και/ή “Greek”. Επιπροσθέτως, εξετάστηκαν και άρθρα από τις βιβλιογραφικές αναφορές των μελετών που ανακτήθηκαν. Για την άντληση των δεδομένων επιλέχθηκαν μόνο άρθρα γραμμένα στην αγγλική γλώσσα, χωρίς περιορισμό ως προς το έτος δημοσίευσής τους. Συγκεκριμένα, εξήχθησαν τα διαθέσιμα δεδομένα αναφορικά με: 1) τον τόπο και το χρόνο διεξαγωγής της μελέτης, 2) τα δημογραφικά στοιχεία (φύλο και ηλικία) και το κλινικό ιστορικό (υποκείμενα νοσήματα και παράγοντες κινδύνου) του ασθενούς, 3) τη συχνότητα εμφάνισης της λοίμωξης, 4) τον αιτιολογικό παράγοντα της νόσου και το προφίλ της *in vitro* ευαισθησίας του στα αντιμυκητικά, 5) την αντιμυκητική αγωγή που χορηγήθηκε και 6) την έκβαση του ασθενούς.

2.2 Πληθυσμός της παρούσας μελέτης και ορισμοί

Στο πλαίσιο της παρούσας μελέτης, πραγματοποιήθηκε καταγραφή των μικροβιολογικά τεκμηριωμένων περιστατικών μυκηταιμίας από σπάνιους μύκητες σε ασθενείς που νοσηλεύτηκαν στο Πανεπιστημιακό νοσοκομείο “Αττικόν” (Αθήνα) στη διάρκεια της 14ετίας 2009-2022. Σημειωτέον, το “Αττικόν” μπορεί να θεωρηθεί ένα από τα καταλληλότερα ιδρύματα τριτοβάθμιας φροντίδας προκειμένου να πραγματοποιηθεί μια αντικατοπτριστική επιδημιολογική αποτίμηση της ελληνικής πραγματικότητας διότι:

✓ Διαθέτει ~750 κλίνες για τη νοσηλεία ασθενών, γεγονός που το καθιστά ένα από τα μεγαλύτερα δημόσια νοσοκομεία του νομού Αττικής και το μεγαλύτερο της Δυτικής Αττικής. Σύμφωνα με την απογραφή πληθυσμού που πραγματοποιήθηκε από την ελληνική στατιστική αρχή το 2021, στην περιφέρεια Αττικής κατοικούν

περίπου 3,8 εκατομμύρια άνθρωποι, αριθμός που αντιστοιχεί στο ~36% του συνολικού πληθυσμού της Ελλάδας (248).

✓ Διαθέτει εξειδικευμένες μονάδες νοσηλείας, όπως ΜΕΘ ενηλίκων και νεογνών, μονάδα αυξημένης φροντίδας παιδών, αιματολογική μονάδα και μονάδα μεταμόσχευσης αιμοποιητικών κυττάρων, ογκολογική μονάδα, μονάδα HIV και ειδική μονάδα φροντίδας εγκαυμάτων. Επιπλέον, αποτελεί κέντρο αναφοράς της 2^{ης} υγειονομικής περιφέρειας για τη διάγνωση και τη νοσηλεία ασθενών που νοσούν από COVID-19 από την έναρξη της πανδημίας στη χώρα μας. Ως εκ τούτου, υποδέχεται και περιθάλλει μεγάλο αριθμό ασθενών από όλη την Ελλάδα, οι οποίοι θεωρούνται υψηλού κινδύνου για ανάπτυξη διηθητικών μυκητικών λοιμώξεων.

✓ Διαθέτει σύγχρονο τεχνολογικά εξοπλισμό που εξασφαλίζει γρήγορα και αξιόπιστα αποτελέσματα, ελαχιστοποίηση των σφαλμάτων και ανίχνευση δύσκολων στη διάγνωση παθογόνων παραγόντων, ενώ είναι επανδρωμένο με εξειδικευμένο, πλήρως καταρτισμένο και έμπειρο επιστημονικό προσωπικό. Αξιοσημείωτη είναι η λειτουργία τμήματος διαγνωστικής Μυκητολογίας, το οποίο λειτουργεί ως αυτοτελές τμήμα του εργαστηρίου Κλινικής Μικροβιολογίας.

Η άντληση των δεδομένων της μελέτης πραγματοποιήθηκε από την ηλεκτρονική βάση δεδομένων του εργαστηρίου Κλινικής Μικροβιολογίας και από το ιατρικό αρχείο των ασθενών αναζητώντας το περιεχόμενο χειρόγραφων ιατρικών φακέλων (όπου αυτό ήταν εφικτό). Ειδικότερα, οι πληροφορίες που καταγράφηκαν αφορούσαν: 1) τα δημογραφικά (φύλο και ηλικία) και τα κλινικά (υποκείμενα νοσήματα και παράγοντες κινδύνου) χαρακτηριστικά των ασθενών, 2) τη μονάδα νοσηλείας τους όταν έγινε η διάγνωση, 3) τον αιτιολογικό παράγοντα της λοίμωξης, 4) την αντιμυκητική θεραπεία που χορηγήθηκε (προφυλακτική, εμπειρική ή στοχευμένη) και 5) την έκβαση των ασθενών.

Η μελέτη διεξήχθη με βάση τους κανόνες ηθικής και δεοντολογίας στην επιστημονική έρευνα και έλαβε έγκριση από το επιστημονικό συμβούλιο και την επιτροπή βιοηθικής δεοντολογίας του νοσοκομείου “Αττικών” (αριθμός έγκρισης 5/10-05-2023/Γ5). Η γραπτή συγκατάθεση των ασθενών δεν απαιτήθηκε λόγω της παρατηρητικής φύσης της μελέτης.

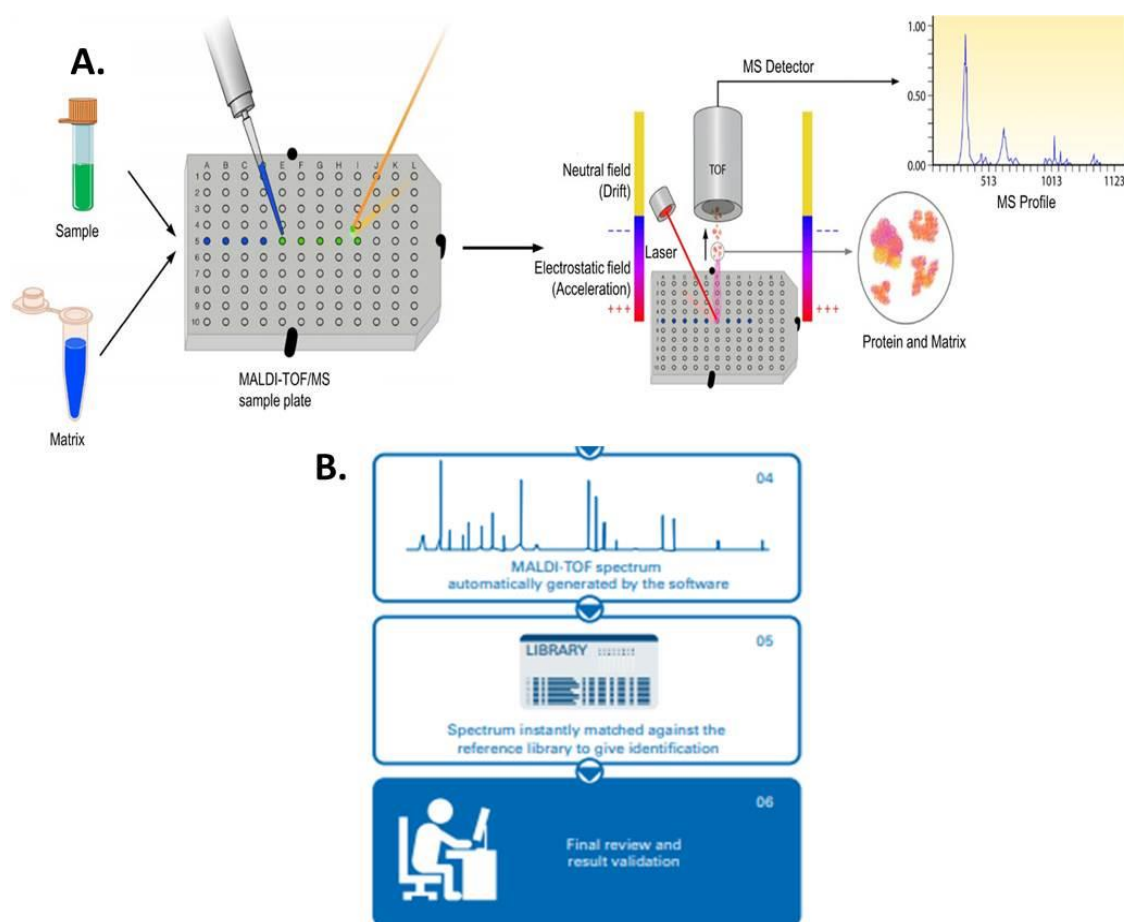
2.3 Κλινικά στελέχη

Τα απομονωθέντα από αιμοκαλλιέργειες στελέχη σπάνιων μυκήτων είχαν αποθηκευτεί στους -70°C σε στείρο διάλυμα 10% γλυκερόλης (AppliChem, Ντάρμστατ, Γερμανία). Η ταυτοποίηση των ζυμομυκήτων είχε πραγματοποιηθεί με τον αυτοματοποιημένο αναλυτή Vitek 2 (YST card, bioMérieux, Marcy l'Etoile, Γαλλία). Οι νηματοειδείς μύκητες είχαν ταυτοποιηθεί με συμβατικές φαινοτυπικές μεθόδους σύμφωνα με τα μακροσκοπικά και τα μικροσκοπικά χαρακτηριστικά των αποικιών τους (249). Πριν τον εκάστοτε έλεγχο, τα στελέχη ανακαλλιεργήθηκαν σε SDA εμπλουτισμένο με χλωραμφενικόλη και γενταμυκίνη (Oxoid, Αθήνα, Ελλάδα) στους 30°C για 1-3 ή 5-7 ημέρες στην περίπτωση ζυμομυκήτων και νηματοειδών μυκήτων, αντίστοιχα.

2.4 Ταυτοποίηση στελεχών με MALDI-ToF MS και PCR

• Ταυτοποίηση ζυμομυκήτων

Οι συμβατικές, χειροκίνητες ή αυτοματοποιημένες δοκιμασίες ζύμωσης/αφομοίωσης σακχάρων που χρησιμοποιούνται ευρέως στην εργαστηριακή πράξη για την ταυτοποίηση ζυμομυκήτων είναι επιρρεπείς σε σφάλματα, ιδιαίτερα στην περίπτωση σπάνιων μυκήτων (250). Ως εκ τούτου, τα απομονωθέντα στελέχη ζυμομυκήτων ταυτοποιήθηκαν εκ νέου με τη μέθοδο MALDI-ToF MS χρησιμοποιώντας το σύστημα MALDI Biotyper[®] (Bruker Daltonics, Βρέμη, Γερμανία). Η αρχή λειτουργίας του στηρίζεται στην ανάλυση των πρωτεϊνών του εξεταζόμενου δείγματος, με το αποτέλεσμα να δίνεται με τη μορφή φάσματος μάζας. Το πρωτεϊνικό μοτίβο του προς εξέταση μικροοργανισμού είναι μοναδικό και θα μπορούσε να χαρακτηριστεί ως το δακτυλικό του αποτύπωμα. Το φάσμα που παράγεται στη συνέχεια συγκρίνεται με πρότυπα φάσματα, τα οποία είναι αποθηκευμένα στη βιβλιοθήκη αναφοράς που διαθέτει το λογισμικό του συστήματος, και έτσι προκύπτει η ταυτοποίηση του μικροοργανισμού (220).



Εικόνα 51. Σχηματική αναπαράσταση Α) της ροής εργασίας σε έναν αναλυτή MALDI-ToF MS (251) και Β) των τελικών σταδίων που ακολουθούνται για την ταυτοποίηση μικροοργανισμών με τη χρήση του συστήματος MALDI Biotyper® (252).

➤ Επεξεργασία και ανάλυση δείγματος

1. Σε 2 θέσεις της ειδικής για τον αναλυτή ανοξειδωτής πλάκας 96-θέσεων, προστέθηκε 1 μL πρότυπου πρωτεϊνικού εκχυλίσματος βακτηρίου (Bruker bacterial test standard, Bruker Daltonics, Βρέμη, Γερμανία), το οποίο λειτουργεί ως μάρτυρας και η χρήση του διασφαλίζει την αξιοπιστία και την ακρίβεια των εξαγόμενων αποτελεσμάτων.

2. Ακολούθησε η απευθείας προσθήκη μιας μικρής ποσότητας από τις αποικίες του εκάστοτε προς έλεγχο ζυμομύκητα στις ελεύθερες θέσεις της πλάκας, προστέθηκε σε αυτές 1 μL διαλύματος 70% φορμικού οξέος (Sigma-Aldrich, Αθήνα, Ελλάδα) και η πλάκα αφήθηκε να στεγνώσει σε θερμοκρασία περιβάλλοντος.

3. Αυστηρά πριν την πάροδο 30 λεπτών, όλες οι χρησιμοποιούμενες θέσεις υπερκαλύφθηκαν με 1 μL διαλύματος α -κυανο-4-υδροξυ-κινναμωμικού οξέος (HAAC matrix, Bruker Daltonics, Βρέμη, Γερμανία) και η πλάκα αφήθηκε να στεγνώσει σε θερμοκρασία περιβάλλοντος.

4. Τέλος, η πλάκα εισήχθη στο φασματογράφο μάζας για τη διεξαγωγή της ανάλυσης.



Εικόνα 52. Αναλυτής MALDI Biotyper[®] (αριστερά) (253) και ανοξειδωτή πλάκα 96-θέσεων για τη φόρτωση των δειγμάτων (δεξιά) (254).

➤ Ερμηνεία του αποτελέσματος

Κατόπιν της παραγωγής των πρωτογενών φασμάτων, τα δεδομένα αναλύθηκαν αυτομάτως με τη βοήθεια λογισμικού του αναλυτή σε ότι αφορά τη συχνότητα των κορυφών, τη θέση και την έντασή τους. Ακολούθησε η σύγκρισή τους με μία βιβλιοθήκη φασμάτων αναφοράς, τα οποία έχουν προκύψει αποσκοπώντας στη δημιουργία ενός αντιπροσωπευτικού φάσματος του εκάστοτε μικροοργανισμού. Τέλος, τα αποτελέσματα της ανάλυσης αξιολογήθηκαν σύμφωνα με τη βαθμολογία ταυτοποίησης (score value) που μπορεί να κυμαίνεται από 1 έως 3. Ειδικότερα, τιμή $\geq 2,0$ υποδεικνύει αποτέλεσμα υψηλής εμπιστοσύνης (ασφαλής ταυτοποίηση ως προς το γένος και εξαιρετικά πιθανή ή

πιθανή ταυτοποίηση ως προς το είδος για τιμές $\geq 2,3$ και $< 2,3$, αντίστοιχα), τιμή $\geq 1,7$ και $< 2,0$ φανερώνει αποτέλεσμα χαμηλής εμπιστοσύνης (πιθανή ταυτοποίηση ως προς το γένος) και για τιμές $< 1,7$ η ταυτοποίηση δεν είναι αξιόπιστη.

- **Ταυτοποίηση νηματοειδών μυκήτων**

- **Απομόνωση γενετικού υλικού**

Η εξαγωγή του DNA αποτελεί το πρώτο και πιο κρίσιμο στάδιο της διαδικασίας που ακολουθείται για τη μοριακή ταυτοποίηση μυκήτων. Η απομόνωση γονιδιωματικού DNA πραγματοποιήθηκε με τη μέθοδο στηλών διαχωρισμού ακολουθώντας τις οδηγίες του κατασκευαστή (QIAamp® DNA Mini Kit; Qiagen, Αθήνα, Ελλάδα) (255) με κάποιες τροποποιήσεις. Συγκεκριμένα, η δοκιμασία συμπεριλάμβανε τόσο την ενζυμική, όσο και τη μηχανική επεξεργασία του εκάστοτε δείγματος. Ειδικότερα, έλαβαν χώρα τα παρακάτω βήματα:

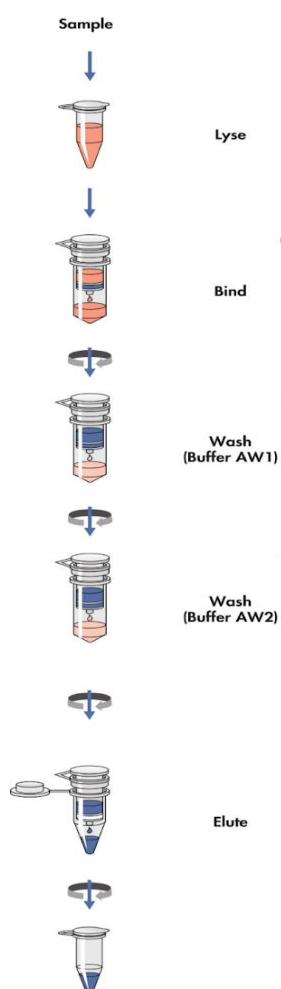
1. 200 μL πυκνού υδατικού εναιωρήματος κονιδίων του υπό έλεγχο στελέχους μεταφέρθηκαν σε σωληνάριο που περιείχε γυάλινα σφαιρίδια. Στη συνέχεια, προστέθηκαν 20 μL πρωτεϊνάσης K και 200 μL ρυθμιστικού διαλύματος λύσης (ATL). Ακολούθησε παλμική ανάδευση σε αναδευτήρα τύπου vortex για 15 sec και επώαση στους 56°C για 10 min (ενζυμική λύση). Κατόπιν, πραγματοποιήθηκε παλμική ανάδευση σε αναδευτήρα τύπου vortex για 10 min (μηχανική λύση), μετά το πέρας της οποίας προστέθηκαν 200 μL καθαρής αιθανόλης.

2. Έπειτα από παλμική ανάδευση σε αναδευτήρα τύπου vortex για 15 sec, μεταφέρθηκαν 620 μL του κυτταρολύματος σε στήλη διαχωρισμού QIAamp Mini, η οποία είχε προσαρμοστεί σε σωληνάριο συλλογής, αποφεύγοντας την επαφή της μεμβράνης της με το ρύγχος της πιπέτας. Ακολούθησε φυγοκέντρηση στα $6.000 \times g$ για 1 min.

3. Η στήλη τοποθετήθηκε σε νέο σωληνάριο συλλογής, ανοίχτηκε και προστεθήκαν 500 μL ρυθμιστικού διαλύματος πλύσης 1 (AW1) αποφεύγοντας την επαφή της μεμβράνης της με το ρύγχος της πιπέτας. Ακολούθησε φυγοκέντρηση στα $6.000 \times g$ για 1 min.

4. Η στήλη τοποθετήθηκε σε νέο σωληνάριο συλλογής, ανοίχτηκε και προστεθήκαν 500 μL ρυθμιστικού διαλύματος πλύσης 2 (AW2) αποφεύγοντας την επαφή της μεμβράνης της με το ρύγχος της πιπέτας. Ακολούθησε φυγοκέντρηση στη μέγιστη ταχύτητα ($\sim 20.000 \times g$) για 3 min, η οποία πραγματοποιήθηκε δύο φορές ώστε η μεμβράνη της στήλης να στεγνώσει τελείως.

5. Η στήλη τοποθετήθηκε σε νέο σωληνάριο συλλογής, ανοίχτηκε και προστεθήκαν 200 μL ρυθμιστικού διαλύματος έκλουσης (AE) στο κέντρο της μεμβράνης της προκειμένου να διασφαλιστεί η βέλτιστη ανάκτηση του γενετικού υλικού. Ακολούθησε επώαση σε θερμοκρασία δωματίου για 1 min και στη συνέχεια πραγματοποιήθηκε φυγοκέντρηση στα $6.000 \times g$ για 1 min. Στο σημείο αυτό το σωληνάριο συλλογής πλέον περιέχει το απομονωμένο DNA, το οποίο αποθηκεύεται στους 4°C για άμεση χρήση ή στους -20°C για μελλοντική.



Εικόνα 53. Σχηματική αναπαράσταση της ροής εργασίας για την απομόνωση γονιδιωματικού DNA νηματοειδών μυκήτων με στήλες διαχωρισμού QIAamp Mini (255).

➤ Πολλαπλασιασμός γενετικού υλικού με συμβατική PCR

Κατά την εκτέλεση μιας αντίδρασης PCR, περιοχή του γονιδιώματος με γνωστή αλληλουχία βάσεων πολλαπλασιάζεται μέχρι και δισεκατομμύρια φορές, με τη χρήση θερμικών κυκλοποιητών. Ένας πλήρης κύκλος της περιλαμβάνει κατά σειρά τα στάδια της αποδιάταξης του DNA, της προσαρμογής των εκκινητών στο μονόκλωνο πλέον DNA και της επιμήκυνσης των εκκινητών, τα οποία επαναλαμβάνονται διαδοχικά.

Στο πλαίσιο της παρούσας μελέτης πραγματοποιήθηκε ενίσχυση των πλέον πληροφοριακών για την ταυτοποίηση μυκήτων στόχων. Συγκεκριμένα, ενισχύθηκε η εσωτερική μεταγραφόμενη περιοχή ITS1-5.8S-ITS2 του πυρηνικού rDNA (ζεύγος εκκινητών ITS1/ITS4) όλων των στελεχών. Για τα στελέχη *Scedosporium* spp. και *Fusarium* spp., επιπλέον ενισχύθηκε τμήμα του γονιδίου της β-τουμπουλίνης (ζεύγος εκκινητών TUB-F/TUB-R) και η περιοχή του γονιδίου που κωδικοποιεί τον TEF-1α (ζεύγος εκκινητών EF-1/EF-2), αντίστοιχα. Η κάθε αντίδραση PCR πραγματοποιήθηκε σε τελικό όγκο 50 μL (256).

Πίνακας 2. Συστατικά της αντίδρασης PCR και απαιτούμενοι όγκοι τους για την ενίσχυση της περιοχής ITS1-5.8S-ITS2, τμήματος του γονιδίου της β-τουμπουλίνης και της περιοχής του γονιδίου που κωδικοποιεί τον TEF-1α (256).

Συστατικό	Ποσότητα (μL)
Ρυθμιστικό διάλυμα 10x που περιέχει 15 mM MgCl ₂	5
Εκκινητής 1 10 μM*	2,5
Εκκινητής 2 10 μM*	2,5
DNA πολυμεράση 5 U/μL	0,5
Μείγμα dNTPs 1,25 mM	8
Νερό	26,5
DNA-μήτρα	5

*ITS-1 (5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3')

ITS-4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3')

TUB-F (5'-CTGTCCAACCCCTCTTACGGCGACCTGAAC-3')

TUB-R (5'-ACCCTCACCAGTATACCAATGCAAGAAAGC-3')

EF-1 (5'-ATGGGTAAGGARGACAAGAC-3')

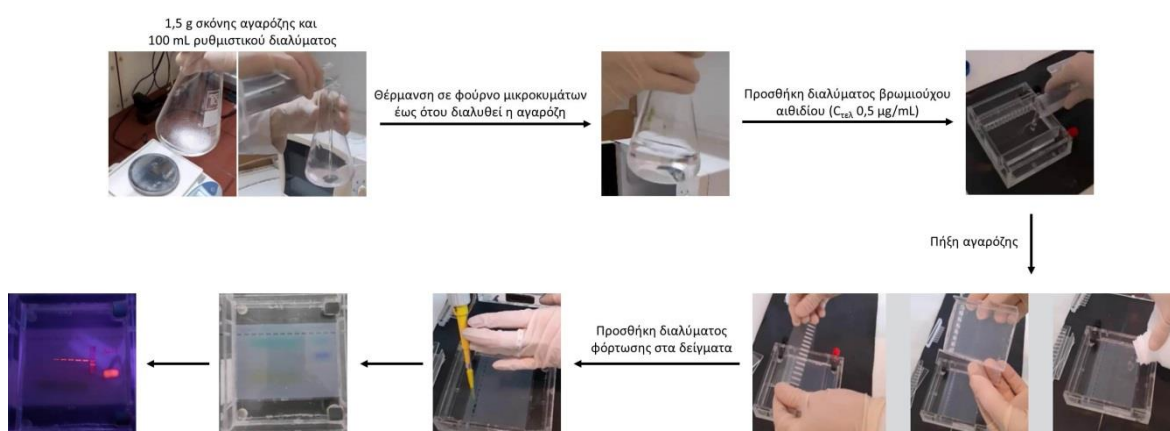
EF-2 (5'-GGARGTACCAGTSATCATGTT-3')

Πίνακας 3. Πρόγραμμα της αντίδρασης PCR για την ενίσχυση της περιοχής ITS1-5.8S-ITS2, τμήματος του γονιδίου της β-τουμπουλίνης και της περιοχής του γονιδίου που κωδικοποιεί τον TEF-1α (256).

Πρόγραμμα ενίσχυσης
Αρχική αποδιάταξη: 94°C για 5 min
35 κύκλοι ενίσχυσης: 94°C για 30 sec, x°C* για 45 sec, 72°C για 2 min
Φάση επιπλέον επιμήκυνσης: 72°C για 5 min
*56°C (ITS1-5.8S-ITS2), 55°C (β-τουμπουλίνη) και 47°C (TEF-1α)

➤ Ηλεκτροφόρηση των PCR προϊόντων

Η ηλεκτροφόρηση στηρίζεται στην κίνηση φορτισμένων σωματιδίων μέσα σε υγρό μέσο κάτω από την επίδραση ηλεκτρικού πεδίου. Για την ποιοτική (έλεγχος καθαρότητας) και ποσοτική (προσδιορισμός μοριακού βάρους) εκτίμηση των προϊόντων της εκάστοτε αντίδρασης PCR χρησιμοποιήθηκε η ηλεκτροφόρησή τους σε πηκτή αгарόζης (Nirron, Αθήνα, Ελλάδα) 1,5% w/v, η οποία περιείχε βρωμιούχο αιθίδιο (Invitrogen, Αθήνα, Ελλάδα) σε τελική συγκέντρωση 0,5 µg/mL, παράλληλα με ένα μείγμα γραμμικών μορίων DNA γνωστού μοριακού βάρους (100 bp DNA Ladder, Invitrogen). Ως ηλεκτροφορητικό διάλυμα χρησιμοποιήθηκε διάλυμα Tris-φωσφορικό οξύ-EDTA (Invitrogen, Αθήνα, Ελλάδα) και η οπτικοποίηση των PCR προϊόντων επετεύχθη με έκθεση της πηκτής σε υπεριώδη ακτινοβολία.



Εικόνα 54. Σχηματική αναπαράσταση της ροής εργασίας για την ηλεκτροφόρηση των PCR προϊόντων σε πηκτή αгарόζης 1,5%.

➤ Καθαρισμός των προϊόντων της PCR






Για την αλληλούχιση του γονιδιώματος-στόχου κρίνεται αναγκαίος ο καθαρισμός των PCR προϊόντων από υποπροϊόντα και κατάλοιπα της αντίδρασης, έτσι ώστε να αποφευχθεί η παρεμβολή τους. Ο καθαρισμός των PCR προϊόντων πραγματοποιήθηκε με εμπορικά διαθέσιμη δοκιμασία σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή (NucleoSpin® Gel and PCR Clean-up; MACHEREY-NAGEL, Αθήνα, Ελλάδα) (257). Συγκεκριμένα, έλαβαν χώρα τα παρακάτω βήματα:

1. 40 μ L προϊόντος PCR αναμείχτηκαν με 80 μ L ρυθμιστικού διαλύματος δέσμησης (NTI) και η συνολική ποσότητα μεταφέρθηκε σε στήλη NucleoSpin® Gel and PCR Clean-up, η οποία είχε προσαρμοστεί σε σωληνάριο συλλογής, αποφεύγοντας την επαφή της μεμβράνης της με το ρύγχος της πιπέτας. Ακολούθησε φυγοκέντρηση στα 11.000 x g για 30 sec.

2. Η στήλη τοποθετήθηκε σε νέο σωληνάριο συλλογής, ανοίχτηκε και προστεθήκαν 700 μ L ρυθμιστικού διαλύματος πλύσης 1 (NT3) αποφεύγοντας την επαφή της μεμβράνης της με το ρύγχος της πιπέτας. Ακολούθησε φυγοκέντρηση στα 11.000 x g για 30 sec. Το στάδιο αυτό πραγματοποιήθηκε δύο φορές.

3. Ακολούθησε φυγοκέντρηση στα 11.000 x g για 1 min ώστε η μεμβράνη της στήλης να στεγνώσει τελείως.

4. Η στήλη τοποθετήθηκε σε νέο σωληνάριο συλλογής, ανοίχτηκε και προστεθήκαν 30 μ L ρυθμιστικού διαλύματος έκλουσης (AE) στο κέντρο της μεμβράνης της προκειμένου να διασφαλιστεί η βέλτιστη ανάκτηση του γενετικού υλικού. Ακολούθησε επώαση σε θερμοκρασία δωματίου για 1 min και στη συνέχεια πραγματοποιήθηκε φυγοκέντρηση στα 11.000 x g για 1 min.

PCR clean-up		
1 PCR clean-up, DNA clean-up, or single stranded DNA clean-up: Adjust binding condition		2x μL NT1/ x μL PCR
2 Bind DNA		11,000 x g 30 s
3 Wash silica membrane		700 μL NT3 11,000 x g 30 s Recommended: 2 nd wash 700 μL NT3 11,000 x g 30 s
4 Dry silica membrane		11,000 x g 1 min
5 Elute DNA		15–30 μL NE RT 1 min 11,000 x g 1 min

Εικόνα 55. Σχηματική αναπαράσταση της ροής εργασίας για τον καθαρισμό PCR προϊόντων με την δοκιμασία NucleoSpin® Gel and PCR Clean-up (257).

➤ Αλληλούχιση

Τα καθαρισμένα PCR προϊόντα εστάλησαν σε εξωτερικό εργαστήριο για αλληλούχιση (CeMIA SA, Λάρισα, Ελλάδα). Κατόπιν της επιστροφής των αποτελεσμάτων, πραγματοποιήθηκε επεξεργασία των DNA αλληλουχιών με το πακέτο λογισμικού Lasergene (DNASTAR, Ουισκόνσιν, ΗΠΑ). Ακολούθως, οι αλληλουχίες συγκρίθηκαν με αλληλουχίες αναφοράς από τη βάση δεδομένων GenBank εφαρμόζοντας ανάλυση με αλγόριθμο BLAST (258), οπότε και έλαβε χώρα η ταυτοποίηση των υπό εξέταση νηματοειδών μυκήτων λαμβάνοντας υπόψη τα αποτελέσματα που προέκυψαν με φθίνουσα σειρά ομοιότητας.

2.5 Έλεγχος της *in vitro* ευαισθησίας σε αντιμυκητικούς παράγοντες

Ο AFST έναντι των υπό έλεγχο στελεχών πραγματοποιήθηκε με την πρότυπη μέθοδο BMD σύμφωνα με τις κατευθυντήριες οδηγίες αφενός της EUCAST και αφετέρου του CLSI. Συγκεκριμένα, τα πρότυπα που εφαρμόστηκαν είναι τα EUCAST Definitive Document E.Def 7.3.2 (213) και CLSI M27-A4 (215) για τους ζυμομύκητες, και EUCAST Definitive Document E.Def 9.4 (214) και CLSI M38-Ed3 (216) για τους νηματοειδείς μύκητες.

Παρά την εναρμόνιση των EUCAST και CLSI μεθοδολογιών, διακρίνονται κάποιες βασικές τεχνικές διαφορές μεταξύ τους. Ειδικότερα, αυτές αφορούν στο σχήμα του πυθμένα των βοθρίων της πλάκας μικροαραιώσεων, στην περιεκτικότητα του θρεπτικού υλικού σε γλυκόζη και των διαλυμάτων των αντιμυκητικών παραγόντων σε διαλύτη, στη συγκέντρωση του μυκητικού εναιώρηματος, στη μέθοδο προσδιορισμού των MICs, στο χρόνο επώασης της πλάκας μικροαραιώσεων, καθώς και στον ορισμό του τελικού σημείου (% αναστολή της ανάπτυξης) για την AMB. Ωστόσο, διαφορές εντοπίζονται και μεταξύ των πρωτοκόλλων για τον έλεγχο ζυμομυκήτων και νηματοειδών μυκήτων εντός της ίδιας μεθοδολογίας. Συγκεκριμένα, αυτές αφορούν στη σύσταση και στη συγκέντρωση του μυκητικού εναιώρηματος, στη μέθοδο προσδιορισμού των MICs και στο χρόνο επώασης της πλάκας μικροαραιώσεων (213–216).

Πίνακας 4. Τεχνικές διαφορές μεταξύ των CLSI και EUCAST μεθοδολογιών BMD για τον AFST έναντι non-*Candida* ζυμομυκήτων και non-*Aspergillus*/non-Mucorales νηματοειδών μυκήτων (213–216).

Χαρακτηριστικά	EUCAST E.Def 7.4 EUCAST E.Def 9.4	CLSI M27-A4 CLSI M38-Ed3
Πυθμένας βοθρίου της πλάκας μικροαραιώσεων	Επίπεδος	Κοίλος
Τελική περιεκτικότητα θρεπτικού υλικού σε γλυκόζη	2%	0,2%
Τελική περιεκτικότητα διαλυμάτων αντιμυκητικών παραγόντων σε διμεθυλοσουλφοξείδιο (dimethyl sulfoxide, DMSO)	0,5%	1%
Σύσταση και τελική συγκέντρωση μυκητικού εναιωρήματος (CFU/mL)	Ζυμομύκητες 0,5-2,5 x 10 ⁵ Νηματοειδείς μύκητες 1-2,5 x 10 ⁵ (+ Tween 20)	Ζυμομύκητες 0,5-2,5 x 10 ³ Νηματοειδείς μύκητες 0,2-2,5 x 10 ⁴ (+ Tween 20)
Μέθοδος προσδιορισμού των MICs	Ζυμομύκητες Φωτομέτρηση Νηματοειδείς μύκητες Οπτική παρατήρηση	Ζυμομύκητες Οπτική παρατήρηση Νηματοειδείς μύκητες Οπτική παρατήρηση
Χρόνος επώασης της πλάκας μικροαραιώσεων	Ζυμομύκητες 24 ώρες, επανεπώαση για επιπλέον 12-24 ώρες σε περίπτωση τιμής απορρόφησης ≤0,2 του θετικού μάρτυρα ελέγχου της ανάπτυξης (growth control, GC) Νηματοειδείς μύκητες - 48 ώρες, επανεπώαση για επιπλέον 24 ώρες σε περίπτωση ανεπαρκούς ανάπτυξης του GC - Δε συνιστάται επώαση για > 72 ώρες	Ζυμομύκητες - Non- <i>Cryptococcus</i> : 24 ώρες - <i>Cryptococcus</i> : 72 ώρες Νηματοειδείς μύκητες - Non- <i>L. prolificans</i> : 46-50 ώρες - <i>L. prolificans</i> : 70-74 ώρες
Τελικό σημείο (% αναστολή της ανάπτυξης) για την AMB	Ζυμομύκητες ≥90% Νηματοειδείς μύκητες Μη ορατή ανάπτυξη με “γυμνό” μάτι (100%)	Ζυμομύκητες Μη ορατή ανάπτυξη με “γυμνό” μάτι (100%) Νηματοειδείς μύκητες Μη ορατή ανάπτυξη με “γυμνό” μάτι (100%)

- **Θρεπτικό υλικό**

Το θρεπτικό υλικό που χρησιμοποιήθηκε περιείχε RPMI 1640 με L-γλουταμίνη και κόκκινο της φαινόλης ως δείκτη pH, χωρίς διπτανθρακικό νάτριο (Sigma-Aldrich, Αθήνα, Ελλάδα). Το pH του ήταν ρυθμισμένο στο 7,0 με 3-(N-μορφολινο)προπανοσουλφονικό οξύ (MOPS) (PanReac Applichem, Αθήνα, Ελλάδα) σε τελική συγκέντρωση 0,165 M. Η περιεκτικότητά του σε γλυκόζη ήταν 0,2% και 2% για τη διεξαγωγή του AFST κατά EUCAST και κατά CLSI, αντίστοιχα. Αρχικά, η παρασκευή του οφείλει να γίνει σε διπλάσια ισχύ (2x), καθώς πρόκειται να αραιωθεί σε αναλογία 1:1 με το εναιώρημα του μύκητα που προστίθεται στο τελικό στάδιο της δοκιμασίας (213–216).

Πίνακας 5. Συστατικά και τρόπος παρασκευής 1 L θρεπτικού υλικού RPMI 1640 (2x) για τον AFST με τη μεθοδολογία CLSI/EUCAST BMD (213–216).

Συστατικό*	Ποσότητες	
	CLSI	EUCAST
Αποσταγμένο νερό	900 mL	900 mL
RPMI 1640	20,8 g	20,8 g
MOPS	69,06 g	69,06 g
Γλυκόζη	-	36 g

*Διαλύστε τα στερεά υλικά σε 900 mL αποσταγμένο νερό. Όταν το διάλυμα διαυγάσει και ενώ βρίσκεται υπό ανάδευση, χωρίς θέρμανση, ρυθμίστε το pH στο 7,0 με τη χρήση πεχαμέτρου προσθέτοντας στάγδην 1 M NaOH. Προσθέστε επιπλέον νερό σε τελικό όγκο 1 L. Αποστειρώστε με φιλτράρισμα (αποστειρωμένο φίλτρο μιας χρήσης με μέγεθος πόρων 0,22 μm) και αποθηκεύστε στους 4°C για έως και 6 μήνες. Για λόγους ποιοτικού ελέγχου, χρησιμοποιήστε μία ποσότητα του υλικού για έλεγχο στειρότητας, για επανέλεγχο του pH (αποδεκτό εύρος 6,9-7,1) και για έλεγχο ανάπτυξης ενός πρότυπου στελέχους. Κατόπιν της παρασκευής του μπορεί να αποθηκευτεί σε συνθήκες ψύξης ($\leq 4^{\circ}\text{C}$) για έως και 6 μήνες.

- **Αντιμυκητικά φάρμακα**

Χρησιμοποιήθηκαν καθαρές ουσίες AMB (Sigma-Aldrich, Αθήνα, Ελλάδα), AFG (Pfizer, Αθήνα, Ελλάδα), CAS (Merck & Co., Inc., Whitehouse, Νιου Τζέρσεϊ, ΗΠΑ), MFG (Astellas Pharma, Inc., Τόκιο, Ιαπωνία), VRC (Pfizer Ltd, Κεντ,

Ηνωμένο Βασίλειο), ITC (Sigma-Aldrich, Αθήνα, Ελλάδα), ISA (Basilea Pharmaceutica, Αθήνα, Ελλάδα), POS (Sigma-Aldrich, Αθήνα, Ελλάδα) και FLC (Sigma-Aldrich, Αθήνα, Ελλάδα). Συγκεκριμένα για τον AFST των ζυμομυκήτων χρησιμοποιήθηκαν όλες, ενώ για τον AFST των νηματοειδών μυκήτων χρησιμοποιήθηκαν μόνο η AMB και οι αζόλες.

- **Μητρικά (stock) διαλύματα αντιμυκητικών φαρμάκων**

Οι απαιτούμενες ποσότητες καθαρής ουσίας και διαλύτη για την παρασκευή πυκνών αρχικών διαλυμάτων γνωστής συγκέντρωσης φαρμάκου υπολογίστηκαν σύμφωνα με τις εξισώσεις:

$$\text{Βάρος (g)} = \frac{\text{Όγκος (L)} * \text{Συγκέντρωση } \left(\frac{\text{mg}}{\text{L}}\right)}{\text{Καθαρότητα } \left(\frac{\text{mg}}{\text{L}}\right)}$$
$$\text{Όγκος (L)} = \frac{\text{Βάρος (g)} * \text{Καθαρότητα } \left(\frac{\text{mg}}{\text{g}}\right)}{\text{Συγκέντρωση } \left(\frac{\text{mg}}{\text{L}}\right)}$$

Οι κατευθυντήριες οδηγίες της EUCAST και του CLSI αναφέρουν ότι το stock διάλυμα θα πρέπει να έχει συγκέντρωση 100 και τουλάχιστον 200 φορές υψηλότερη, αντίστοιχα, από τη μέγιστη τελική συγκέντρωση του φαρμάκου που θα ελεγχθεί στην πλάκα μικροαραιώσεων. Έτσι, ποσότητα του εκάστοτε υπό μελέτη αντιμυκητικού ζυγίστηκε σε βαθμονομημένο αναλυτικό ζυγό και ακολούθως διαλύθηκε στον ενδεδειγμένο διαλύτη, συγκεκριμένα σε στείρο DMSO (Chem-Lab, Αθήνα, Ελλάδα), με εξαίρεση τη 5FC που διαλύθηκε σε αποσταγμένο νερό. Σημειωτέον, στο στάδιο αυτό απαιτείται ιδιαίτερη προσοχή, διότι η ημιτελής διάλυση δύναται να οδηγήσει σε ψευδώς αυξημένες τιμές MIC (213–216).

Πίνακας 6. Διαλύτης που χρησιμοποιήθηκε για την παρασκευή των μητρικών διαλυμάτων φαρμάκου, συγκέντρωση του εκάστοτε stock διαλύματος και εύρος των τελικών συγκεντρώσεων αντιμυκητικών παραγόντων που εξετάστηκαν με τη μεθοδολογία BMD στο πλαίσιο της παρούσας μελέτης.

Αντιμυκητικός παράγοντας	Διαλύτης	Συγκέντρωση stock διαλύματος (mg/mL)	Εύρος εξεταζόμενων συγκεντρώσεων (mg/L)
AMB	DMSO	3,2	0,016-16
AFG	DMSO	0,8	0,004-4
MFG	DMSO	0,8	0,004-4
CAS	DMSO	0,8	0,004-4
FLC	DMSO	25,6	0,125-128
ISA	DMSO	1,6	0,008-8
ITC	DMSO	3,2	0,016-16
POS	DMSO	1,6	0,008-8
VRC	DMSO	1,6	0,008-8

Κατόπιν της παρασκευής τους, τα stock διαλύματα των φαρμάκων αποθηκεύονται σε μικρές ποσότητες (aliquots) στους -70°C για τουλάχιστον 6 μήνες. Εάν ξεπαγώσουν, πρέπει να χρησιμοποιηθούν την ίδια μέρα, ειδάλλως απορρίπτονται (213–216).

- **Διαλύματα εργασίας αντιμυκητικών φαρμάκων**

Τα διαλύματα εργασίας παρασκευάστηκαν σύμφωνα με το πρότυπο ISO. Συγκεκριμένα, έλαβαν χώρα τα παρακάτω βήματα:

1. Διανεμήθηκαν κατάλληλοι όγκοι διαλύτη σε σωληνάρια και προστέθηκε η κατάλληλη ποσότητα διαλύματος αντιμυκητικού, προκειμένου να δημιουργηθεί μια σειρά αραιώσεων 100 (AFST κατά CLSI) ή 200 (AFST κατά EUCAST) φορές υψηλότερων από την τελική συγκέντρωση.

2. Πραγματοποιήθηκε 1:50 (AFST κατά CLSI) και 1:100 (AFST κατά EUCAST) αραιώση των διαλυμάτων εργασίας σε θρεπτικό υλικό. Επομένως, στο στάδιο αυτό η συγκέντρωση των φαρμάκων ήταν 2 φορές υψηλότερη της τελικά εξεταζόμενης συγκέντρωσης, ενώ σε περίπτωση χρήσης οργανικού διαλύτη, η

συγκέντρωσή του ήταν 1% και 2% για AFST κατά EUCAST και κατά CLSI, αντίστοιχα (213–216).

Step	Concentration (mg/L)	Source	Volume of antifungal (μL)	Volume of solvent ^b (μL)	Intermediate concentration (mg/L)	Concentration (mg/L) after 1:100 dilution with double strength RPMI 2%G ^c	Concentration after addition of the inoculum
1	800 ^c	Stock	200	0	800	8	4
2	800	Stock	100	100	400	4	2
3	800	Stock	50	150	200	2	1
4	800	Stock	50	350	100	1	0.5
5	100	Step 4	100	100	50	0.5	0.25
6	100	Step 4	50	150	25	0.25	0.125
7	100	Step 4	50	350	12.5	0.125	0.06
8	12.5	Step 7	100	100	6	0.06	0.03
9	12.5	Step 7	50	150	3	0.03	0.016
10	12.5	Step 7	25	175	1.5	0.016	0.008
11	12.5	Step 7	12.5	187.5	0.8	0.008	0.004

Εικόνα 56. Κατά ISO αραιώσεις για την παρασκευή διαλυμάτων εργασίας αντιμυκητικού, με επιθυμητό εύρος τελικών εξεταζόμενων συγκεντρώσεων 0,004-4 mg/L, η δραστηριότητα του οποίου θα ελεγχθεί σύμφωνα με την EUCAST BMD (213–216).

Step	Concentration, μg/mL	Source	Volume, mL	Solvent, mL (eg, DMSO)	Intermediate Concentration, μg/mL	Final Concentration at 1:50, μg/mL*
1	6400	Stock	–	–	6400	128
2	6400	Stock	0.5	0.5	3200	64
3	6400	Stock	0.5	1.5	1600	32
4	6400	Stock	0.5	3.5	800	16
5	800	Step 4	0.5	0.5	400	8
6	800	Step 4	0.5	1.5	200	4
7	800	Step 4	0.5	3.5	100	2
8	100	Step 7	0.5	0.5	50	1
9	100	Step 7	0.5	1.5	25	0.5
10	100	Step 7	0.5	3.5	12.5	0.25
11	12.5	Step 10	0.5	0.5	6.25	0.125

Εικόνα 57. Κατά ISO αραιώσεις για την παρασκευή διαλυμάτων εργασίας αντιμυκητικού, με επιθυμητό εύρος τελικών εξεταζόμενων συγκεντρώσεων 0,06-64 mg/L, η δραστηριότητα του οποίου θα ελεγχθεί σύμφωνα με τη CLSI BMD (213–216).

- **Προετοιμασία των πλακών μικροαραιώσεων**

Χρησιμοποιήθηκαν αποστειρωμένες πλάκες μικροπιλοδότησης 96-βοθρίων, με επίπεδο ή κοίλο πυθμένα για την EUCAST και τη CLSI, αντίστοιχα, ειδικά επεξεργασμένες για κυτταροκαλλιέργεια (tissue-culture treated) και ονομαστικής χωρητικότητας βοθρίου ~300 μL (Thermo Scientific™, Αθήνα, Ελλάδα). Οι πλάκες έφεραν σε οριζόντια διάταξη τις διαδοχικές υποδιπλάσιες αραιώσεις του εκάστοτε αντιμυκητικού, ξεκινώντας από την υψηλότερη συγκέντρωση στη στήλη 1 και φτάνοντας στη χαμηλότερη στη στήλη 11. Τα βοθρία της στήλης 12 χρησιμοποιήθηκαν ως GC. Για την πλήρωση των πλακών χρησιμοποιήθηκαν πολυκάναλες πιπέτες ακριβείας, με τις οποίες διανεμήθηκαν 100 μL από την εκάστοτε συγκέντρωση διαλύματος εργασίας (στήλες 1-11) ή θρεπτικού υλικού (στήλη 12) (213–216).

Κατόπιν της παρασκευής τους, οι πλάκες μικροαραιώσεων σφραγίζονται σε πλαστικές σακούλες ή αλουμινόχαρτο και φυλάσσονται στους $\leq -70^\circ\text{C}$ για διάστημα έως και 6 μήνες, ή στους -20°C για όχι περισσότερο από 1 μήνα. Μετά την απόψυξή τους, δεν πρέπει να επανακαταψύχονται, ενώ ο ενοφθαλμισμός τους θα πρέπει να πραγματοποιείται άμεσα, καθώς η παρατεταμένη παραμονή τους σε θερμοκρασία δωματίου δύναται να οδηγήσει σε ψευδώς αυξημένες τιμές MIC (213–216).

- **Προετοιμασία του εναιωρήματος**

- **Ζυμομύκητες**

Για την παρασκευή του εναιωρήματος, ενοφθαλμίστηκαν διακριτές αποικίες του υπό μελέτη στελέχους σε στείρο αποσταγμένο νερό. Κατόπιν ομογενοποίησης με παλμική ανάδευση σε αναδευτήρα τύπου vortex για 15 δευτερόλεπτα, προσαρμόστηκε η πυκνότητά του ώστε να αντιστοιχεί στην πυκνότητα ενός πρότυπου διαλύματος 0,5 McFarland ($1-5 \times 10^6$ CFU/mL) με τη βοήθεια θολωσίμετρου. Τέλος, πραγματοποιήθηκε μία αραιώσή του 1:10 για τον AFST κατά EUCAST ή διαδοχικές αραιώσεις του 1:100 και 1:20 για τον AFST κατά CLSI σε στείρο αποσταγμένο νερό (213,215).

➤ **Νηματοειδείς μύκητες**

Αρχικά παρασκευάστηκε πυκνό εναιώρημα του υπό εξέταση στελέχους σε στείρο αποσταγμένο νερό (AFST κατά EUCAST) ή διάλυμα 0,85% φυσιολογικού ορού (AFST κατά CLSI) με 0,1% Tween 20 (AppliChem, Αθήνα, Ελλάδα). Ακολούθησε ομογενοποίηση με παλμική ανάδευση σε αναδευτήρα τύπου vortex για 15 δευτερόλεπτα και η πυκνότητα του εναιωρήματος προσαρμόστηκε στα $2-5 \times 10^6$ CFU/mL για τον AFST κατά EUCAST ή $0,2-2,5 \times 10^6$ CFU/mL για τον AFST κατά CLSI με τη χρήση αιμοκυτταρόμετρου. Τέλος, πραγματοποιήθηκε αραιώσή του 1:10 για τον AFST κατά EUCAST ή 1:50 για τον AFST κατά CLSI σε στείρο αποσταγμένο νερό ή διάλυμα 0,85% φυσιολογικού ορού, αντίστοιχα (214,216).

• **Ενοφθαλμισμός των πλακών μικροαραιώσεων**

Κατόπιν επαρκούς ανάδευσης του εναιωρήματος, ενοφθαλμίστηκαν 100 μ L του ανά βοθρίο της πλάκας μικροαραιώσεων με τη βοήθεια πολυκάναλης πιπέτας ακριβείας. Το εναιώρημα θα πρέπει να ενοφθαλμίζεται εντός 30 λεπτών από την προετοιμασία του, προκειμένου να παραμείνει σταθερή η βιωσιμότητα των κυττάρων του μύκητα σε αυτό. Έτσι, στο στάδιο αυτό η συγκέντρωση του αντιμυκητικού ήταν η τελικά εξεταζόμενη, ενώ οι συγκεντρώσεις του οργανικού διαλύτη και του εναιωρήματος ήταν οι απαιτούμενες (0,5% DMSO και $0,5-2,5 \times 10^5$ (ζυμομύκητες) ή $1-2,5 \times 10^5$ (νηματοειδείς μύκητες) CFU/mL για τον AFST κατά EUCAST, και 1% DMSO, $0,5-2,5 \times 10^3$ (ζυμομύκητες) ή $0,2-2,5 \times 10^4$ (νηματοειδείς μύκητες) CFU/mL για τον AFST κατά CLSI, **Πίνακας 4**). Οι πλάκες μικροαραιώσεων επωάστηκαν, χωρίς ανάδευση, στους $35 \pm 2^\circ\text{C}$ στον ατμοσφαιρικό αέρα για τους απαιτούμενους για κάθε υπό έλεγχο μύκητα χρόνους (**Πίνακας 4**) (213–216).

• **Προσδιορισμός των τιμών MIC**

➤ **Ζυμομύκητες**

Οι MICs των εξεταζόμενων αντιμυκητικών έναντι του εκάστοτε υπό έλεγχο non-*Candida* ζυμομύκητα προσδιορίστηκαν με οπτική παρατήρηση (CLSI) ή φωτομέτρηση (EUCAST) των πλακών μικροαραιώσεων.

Για τον AFST κατά CLSI, αξιολογήθηκε η ανάπτυξη στα βοθρία που περιείχαν φάρμακο συγκριτικά με την ανάπτυξη του GC, παρατηρώντας τον πυθμένα τους με τη βοήθεια ανάστροφου καθρέπτη. Για την καταγραφή χρησιμοποιήθηκε η εξής αριθμητική κλίμακα: 0 (οπτικά καθαρό βοθρίο), 1 (ελαφρώς θολό βοθρίο), 2 (εμφανής μείωση [~50%] της θολερότητας του βοθρίου), 3 (ελαφρά μείωση της θολερότητας του βοθρίου) ή 4 (καμία μείωση της θολερότητας του βοθρίου). Σύμφωνα με τις κατευθυντήριες οδηγίες, ως AMB MIC ορίστηκε η χαμηλότερη συγκέντρωση φαρμάκου στην οποία παρατηρήθηκε 100% αναστολή της ανάπτυξης (σκορ 0), ενώ για τα υπόλοιπα αντιμυκητικά η MIC ορίστηκε ως η χαμηλότερη συγκέντρωση φαρμάκου που επέφερε ~50% αναστολή της ανάπτυξης (σκορ 2) συγκριτικά με την ανάπτυξη του GC (215).

Για τον AFST κατά EUCAST, οι MICs προσδιορίστηκαν φωτομετρικά (540 nm) με τη χρήση της συσκευής Infinite® M200 (Tecan, Αθήνα, Ελλάδα). Ακολουθώντας τις κατευθυντήριες οδηγίες, ως AMB MIC ορίστηκε η χαμηλότερη συγκέντρωση φαρμάκου στην οποία παρατηρήθηκε $\geq 90\%$ αναστολή της ανάπτυξης, ενώ για τα υπόλοιπα αντιμυκητικά η MIC ορίστηκε ως η χαμηλότερη συγκέντρωση φαρμάκου που επέφερε $\geq 50\%$ αναστολή της ανάπτυξης συγκριτικά με την ανάπτυξη του GC. Το ποσοστό της μυκητικής ανάπτυξης στο κάθε βοθρίο που περιείχε αντιμυκητικό υπολογίστηκε σύμφωνα με την εξίσωση:

$$\% \text{ Ανάπτυξη} = \frac{A_{\text{βοθρίου}} - A_{\text{υποβάθρου}}}{A_{\text{βοθρίου χωρίς φάρμακο}} - A_{\text{υποβάθρου}}} * 100$$

όπου A: απορρόφηση και υπόβαθρο: βοθρίο που περιέχει το τυφλό δείγμα (100 μL αποσταγμένου νερού αντί 100 μL μυκητικού εναιωρήματος) (213).

➤ **Νηματοειδείς μύκητες**

Οι MICs των εξεταζόμενων αντιμυκητικών έναντι του εκάστοτε υπό έλεγχο non-*Aspergillus*/non-Mucorales νηματοειδή μύκητα προσδιορίστηκαν με οπτική παρατήρηση των πλακών μικροαραιώσεων. Συγκεκριμένα, ακολουθήθηκαν όσα περιγράφηκαν παραπάνω για τον προσδιορισμό των CLSI MICs (214,216).

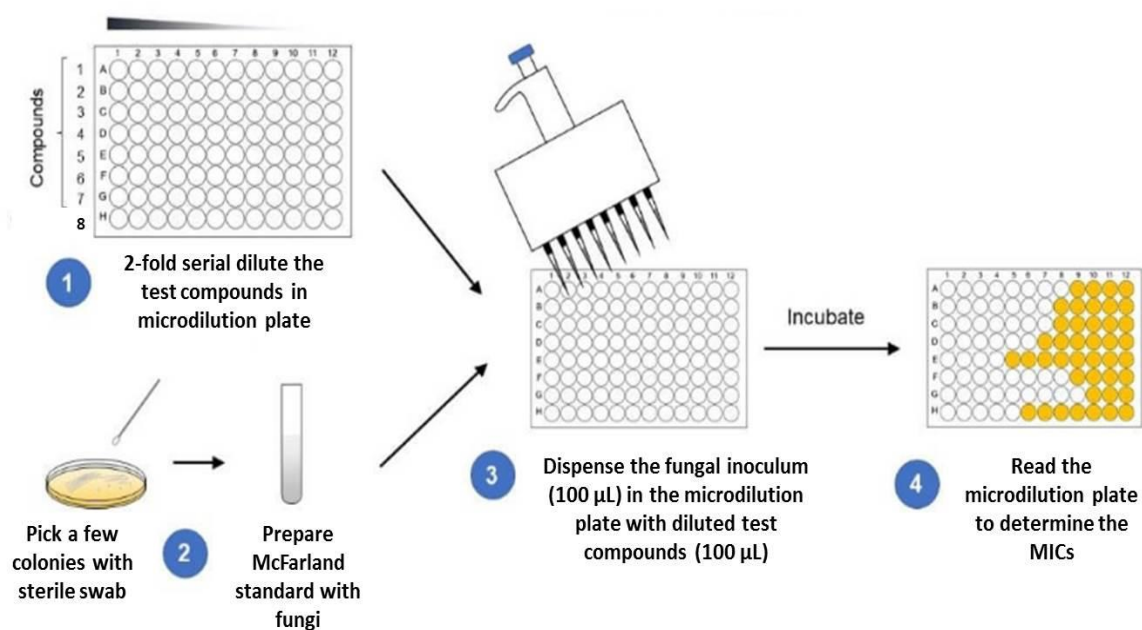
Στο πλαίσιο της παρούσας μελέτης, ο μακροσκοπικός προσδιορισμός των τιμών MIC (ζυμομύκητες κατά CLSI και νηματοειδείς μύκητες) πραγματοποιήθηκε

από δύο ανεξάρτητους παρατηρητές και ενδεχόμενες μεταξύ τους ασυμφωνίες αξιολογήθηκαν από τρίτο παρατηρητή.

- **Ποιοτικός έλεγχος των πλακών μικροαραιώσεων**

Προκειμένου τα αποτελέσματα του AFST να είναι αξιόπιστα, συστήνεται ο έλεγχος των πλακών μικροαραιώσεων με πρότυπα στελέχη, καθώς τα συγκεκριμένα είναι καλά χαρακτηρισμένα, φέρουν σταθερά φαινοτυπικά χαρακτηριστικά και έχουν καθορισμένο προφίλ ευαισθησίας στα αντιμυκητικά. Συγκεκριμένα, συνιστάται η χρήση τουλάχιστον ενός ανά δοκιμασία, με τη MIC του εκάστοτε αντιμυκητικού να πρέπει να βρίσκεται εντός του εύρους συγκεντρώσεων που ορίζεται από την EUCAST και το CLSI. Μάλιστα, αν η MIC είναι εκτός εύρους για $> 1/20$ δοκιμασίες, απαιτείται διερεύνηση της πηγής λάθους. Τέλος, κάθε νέα παρτίδα θρεπτικού υλικού και πλακών μικροαραιώσεων, πρέπει να ελέγχεται με τουλάχιστον δύο πρότυπα στελέχη (213–216).

Στο πλαίσιο της παρούσας μελέτης, χρησιμοποιήθηκαν τα πρότυπα στελέχη *C. krusei* ATCC 6258 και *C. parapsilosis* ATCC 22019, τα οποία προτείνονται τόσο από την EUCAST και το CLSI (259–261).



Εικόνα 58. Σχηματική απεικόνιση της ροής εργασίας του AFST με την πρότυπη μέθοδο BMD (262).

2.6 Ανάλυση δεδομένων

Η συχνότητα εμφάνισης της μυκηταιμίας από σπάνιους μύκητες εκφράστηκε ως η αναλογία των αντίστοιχων περιστατικών ως προς το συνολικό αριθμό μυκηταιμιών που καταγράφηκαν στη διάρκεια της μελέτης. Το ποσοστό επίπτωσης της λοίμωξης εκφράστηκε ως ο λόγος των επεισοδίων ανά 1.000 εισαγωγές και ανά 10.000 ημέρες νοσηλείας στο νοσοκομείο. Ακόμη, για τα στελέχη που ήταν διαθέσιμα για ανακαλλιέργεια, υπολογίστηκαν το εύρος τιμών των MICs και η μέση τιμή τους. Η ερμηνεία των αποτελεσμάτων του AFST πραγματοποιήθηκε σύμφωνα με τα EUCAST/CLSI ECOFFs/ECVs για όσους συνδυασμούς παθογόνου-αντιμυκητικού παράγοντα υπάρχουν διαθέσιμα, δεδομένου ότι δεν έχουν μέχρι στιγμής προσδιοριστεί κλινικά όρια ευαισθησίας για σπάνιους μύκητες (263–265).

Πίνακας 7. EUCAST/CLSI ECOFFs/ECVs για όσους από τους συνδυασμούς σπάνιου μύκητα- αντιμυκητικού είναι διαθέσιμα (263–265).

Είδος	Αντιμυκητικός παράγοντας	EUCAST ECOFF (mg/L)	CLSI ECV (mg/L)
<i>C. neoformans</i>	AMB	1	0,5
	VRC	0,5	0,25
	POS	0,5	0,25
	ITC	MΔ	0,25
	FLC	MΔ	8
	AFG	MΔ	MΔ
	CAS	MΔ	MΔ
	MFG	MΔ	MΔ
<i>S. cerevisiae</i>	AMB	0,5	2
	VRC	MΔ	0,5
	POS	MΔ	2
	ITC	2	2
	FLC	MΔ	32
	AFG	MΔ	1
	CAS	MΔ	2
	MFG	MΔ	0,5
<i>F. fujikuroi</i> SC	AMB	8	MΔ
<i>F. solani</i> SC	AMB	8	MΔ

MΔ: μη διαθέσιμο, SC (species complex): σύμπλεγμα ειδών

3. Αποτελέσματα

3.1 Επιδημιολογία μυκηταιμίας από σπάνιους μύκητες στην Ελλάδα

Η βιβλιογραφική ανασκόπηση με στόχο την αποτύπωση της επιδημιολογικής εικόνας της μυκηταιμίας από σπάνιους μύκητες στη χώρα μας οδήγησε στην ανάκτηση 20 δημοσιεύσεων (12,78,84,170–183,185–187), στις οποίες περιγράφονται συνολικά 95 περιστατικά.

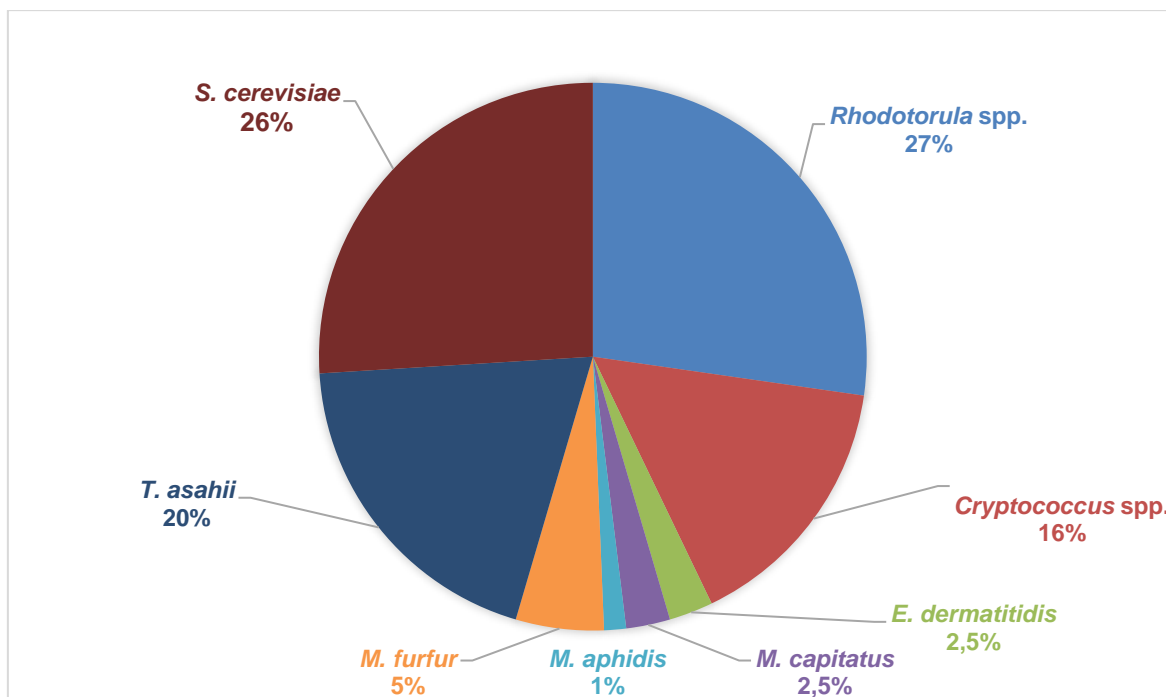
- **Ζυμομύκητες**

Η συντριπτική πλειοψηφία των περιστατικών αφορούν σε λοίμωξη από ζυμομύκητα (77/95, 81%), τα οποία καταγράφηκαν στη διάρκεια της 21ετίας 1999-2020 (52/77, 68% μέχρι το 2018). Τα δεδομένα προέρχονται από 15 μελέτες ενός κέντρου (14 δημόσια τριτοβάθμια νοσοκομεία, 1 ιδιωτική κλινική) (12,78,84,170,172–177,179–183). Συγκεκριμένα, 1/15 αφορούν στην επιδημιολογική επιτήρηση των μυκηταιμιών στο γενικό πληθυσμό (Αθήνα, 2009-2018) (12), 3/15 στην καταγραφή σειράς περιστατικών σε νεογνά, βρέφη και παιδιατρικούς ασθενείς (Αθήνα, 2008-2020) (182), στο γενικό πληθυσμό (Πάτρα 2018-2021) (183) και σε COVID-19 ασθενείς της ΜΕΘ (Πτολεμαΐδα, 2020) (179), και 11/15 στην περιγραφή μεμονωμένων περιστατικών σε νοσοκομεία της περιοχής της Αττικής (6/11) (78,170,173,174,176,177), της Κρήτης (3/11) (172,175,181), της Πάτρας (1/11) (84) και της Θεσσαλονίκης (1/11) (178). Ως εκ τούτου, στοιχεία αναφορικά με τη συχνότητα εμφάνισης της λοίμωξης στην Ελλάδα μπορούν να αντληθούν από μόλις 2/16 μελέτες, σύμφωνα με τις οποίες κυμαίνεται μεταξύ 4-6% (12,183).

Στοιχεία σχετικά με τα δημογραφικά και κλινικά χαρακτηριστικά των ασθενών είναι διαθέσιμα σε 14/15 μελέτες (49/77 περιστατικά). Σύμφωνα με αυτά, 33/49 (67%) ήταν άντρες και η μέση (εύρος) ηλικία τους ήταν τα 33 έτη (0,02-78) έτη. Το ήμισυ των ασθενών έπασχαν από κακοήθεια, αιματολογική (15/49, 31%) ή συμπαγούς οργάνου (9/49, 18%). Επίγνωση για τους προδιαθεσικούς παράγοντες, πέρα των υποκείμενων νοσημάτων, υπάρχει για 32/49 ασθενείς,

μεταξύ των οποίων πρώτοι σε συχνότητα ήταν η χρήση καθετήρα (22/32, 69%), η λήψη αντιβιοτικών (15/32, 47%), εκ των οποίων 7/32 έπασχαν συγχρόνως από βακτηριαιμία), η πρόσφατη χειρουργική επέμβαση (12/32, 38%) και η χορήγηση παρεντερικής διατροφής (7/32, 22%). Σημειωτέον, η πλειοψηφία των ασθενών ήταν μη ουδετεροπενικοί (27/32, 84%). Τέλος, 9/32 (28%) περιστατικά ήταν εκ διαφυγής λοιμώξεις καθώς οι συγκεκριμένοι ασθενείς ήταν υπό αντιμυκητική αγωγή κατά την εμφάνιση της μυκηταιμίας (4 υπό FLC για [όπου ήταν διαθέσιμο] 5-43 ημέρες, 4 υπό POS για άγνωστο χρονικό διάστημα και 1 υπό AFG για 17 ημέρες).

Οι αιτιολογικοί παράγοντες της μυκηταιμίας ανήκαν στα γένη *Rhodotorula* (21/77 [27%], εκ των οποίων 19 *R. mucilaginosa* και 2 *R. glutinis*), *Saccharomyces* (20/77 [26%], εκ των οποίων όλα *S. cerevisiae*), *Trichosporon* (15/77 [20%], εκ των οποίων όλα *T. asahii*), *Cryptococcus* (12/77 [16%], εκ των οποίων 6 *C. neoformans*, 2 *C. albidus*, 2 *C. uniguttulatus*, 1 *C. gatti* και 1 *C. terreus*), *Malassezia* (4/77 [5%], εκ των οποίων όλα *M. furfur*), *Magnusiomyces* (2/77 [2,5%], εκ των οποίων όλα *M. capitatus*), *Exophiala* (2/77 [2,5%], εκ των οποίων όλα *E. dermatitidis*) και *Moesziomyces* (*M. aphidis*, 1/77 [1%]). Σημειωτέον, η πλειονότητα των ασθενών με αιματολογική κακοήθεια εμφάνισαν λοίμωξη από *Rhodotorula* spp. (5/15, 33%) ή *T. asahii* (5/15, 33%), ενώ όλοι οι ασθενείς που λάμβαναν προβιοτικά εμφάνισαν μυκηταιμία μόνο από *S. cerevisiae*. Η ταυτοποίηση των απομονωθέντων στελεχών για τα οποία υπάρχουν δεδομένα (49/77) έλαβε χώρα με βιοχημικές δοκιμασίες (9/49, 19%), μοριακές μεθόδους (αλληλούχιση ITS1-5.8S-ITS2, 4/49 [8%]) και MALDI-ToF MS, αποκλειστικά (31/49, 63%) ή σε συνδυασμό με μοριακές μεθοδολογίες (5/49, 10%).



Εικόνα 59. Διαγραμματική απεικόνιση της κατανομής των αιτιολογικών παραγόντων της μυκηταιμίας από σπάνιους ζυμομύκητες στην Ελλάδα.

Στοιχεία αναφορικά με το προφίλ της *in vitro* ευαισθησίας στα αντιμυκητικά υπάρχουν διαθέσιμα για 48/77 (62%) στελέχη. Ο AFST πραγματοποιήθηκε με τη μέθοδο BMD, είτε κατά CLSI/EUCAST (7/48, 15%) είτε με εμπορικά διαθέσιμες δοκιμασίες (14/48, 29%), και με ταινίες διαβαθμισμένης συγκέντρωσης αντιμυκητικού (27/48, 56%). Συνολικά, η AMB υπέδειξε δραστικότητα *in vitro* έναντι όλων των εξεταζόμενων ειδών, πλην κάποιων στελεχών *T. asahii* (1/11 με MIC 6 mg/L και 1/11 MIC 8 mg/L). Από την άλλη πλευρά, οι εχινοκανδίνες ήταν δραστικές *in vitro* μόνο έναντι του *S. cerevisiae*, ενώ η δραστικότητα των αζολών ήταν ειδο-εξαρτώμενη. Ειδικότερα, υψηλότερες τιμές FLC MIC καταγράφηκαν για στελέχη *R. mucilaginosa* (128->256 mg/L), *C. albidus* (256 mg/L) και *C. uniguttulatus* (256 mg/L), ενώ η VRC παρουσίασε υψηλότερη δραστικότητα *in vitro* έναντι του *C. neoformans* (MIC 0,016-0,03 mg/L), της *M. aphidis* (MIC 0,03 mg/L) και του *T. asahii* (MIC 0,016-0,06 mg/L, με εξαίρεση 1/11 στελέχη με MIC 0,25 mg/L). Τέλος, υψηλές 5FC MIC (≥ 32 mg/L) προσδιορίστηκαν για στελέχη *C. albidus*, *C. uniguttulatus*, *E. dermatitidis*, *M. furfur* και *R. glutinis*.

Πληροφορίες σχετικά με την αντιμυκητική θεραπεία που χορηγήθηκε υπάρχουν για 27/77 περιστατικά. Ειδικότερα, μονοθεραπεία dAMB χορηγήθηκε σε 1 ασθενή (*R. mucilaginosa* για άγνωστο χρονικό διάστημα) και απεβίωσε, ενώ 4/4 ασθενείς που έλαβαν L-AMB (1 *M. aphidis* για 21 ημέρες, 2 *R. mucilaginosa* για άγνωστο χρονικό διάστημα και 1 *S. cerevisiae* για άγνωστο χρονικό διάστημα) επιβίωσαν. Μονοθεραπεία FLC για 30-32 ημέρες έλαβαν 2 ασθενείς με μυκηταιμία από *R. glutinis* και επιβίωσαν, ενώ 1 ασθενής με λοίμωξη από *R. mucilaginosa* πρόλαβε και έλαβε μόλις μια δόση φαρμάκου και απεβίωσε. 6 ασθενείς με μυκηταιμία από *T. asahii* έλαβαν μονοθεραπεία VRC για άγνωστο χρονικό διάστημα και όλοι επέζησαν. Παρόμοια, σε 1 ασθενή με λοίμωξη από *S. cerevisiae* χορηγήθηκε μονοθεραπεία MFG για 14 ημέρες και επέζησε. Συνδυαστική θεραπεία L-AMB και VRC έλαβαν 4 ασθενείς, εκ των οποίων 1 για 8 ημέρες και απεβίωσε (*E. dermatitidis*), 1 για άγνωστο χρονικό διάστημα και απεβίωσε (*T. asahii*), και 2 για άγνωστο χρονικό διάστημα και επιβίωσαν (*C. neoformans*). Επίσης, σε αρκετούς ασθενείς κρίθηκε σκόπιμη η αλλαγή φαρμάκου στη διάρκεια της θεραπείας. Ειδικότερα, 1 έλαβε L-AMB για 5 ημέρες, ακολουθούμενη από συνδυασμό L-AMB+VRC για άγνωστο χρονικό διάστημα, και απεβίωσε (*T. asahii*), όπως και 1 που έλαβε FLC για 2 ημέρες, ακολουθούμενη από L-AMB για 3 ημέρες (*M. capitatus*). Από την άλλη πλευρά, σε 2 ασθενείς χορηγήθηκε AFG για 7-10 ημέρες, ακολουθούμενη από FLC για 14 ημέρες, και επιβίωσαν (*S. cerevisiae*), ενώ ίδια έκβαση είχε και 1 ασθενής με λοίμωξη από *C. gattii* που έλαβε συνδυασμό L-AMB+5FC, ακολουθούμενο από συνδυασμό L-AMB+FLC, συνδυασμό L-AMB+VRC και μονοθεραπεία VRC (άγνωστη διάρκεια θεραπείας για όλα τα σχήματα). Τέλος, 3 ασθενείς δεν έλαβαν θεραπεία, εκ των οποίων 2 (*C. neoformans* και *S. cerevisiae*) απεβίωσαν και 1 επιβίωσε (*R. mucilaginosa*).

Η έκβαση της νοσηλείας είναι γνωστή για 30 ασθενείς. Συνολικά, η καταγεγραμμένη αδρή θνητότητα σε ασθενείς με μυκηταιμία από σπάνιο ζυμομύκητα ήταν 30%.

Πίνακας 8. Συγκεντρωτικός πίνακας των δημογραφικών και κλινικών χαρακτηριστικών των ασθενών με μυκηταιμία από σπάνιο ζυμομύκητα στην Ελλάδα, όπως περιγράφονται σε διάφορες μελέτες.

Αιτιολογικός παράγοντας/ Αναφορά	Φύλο/ Ηλικία (έτη)	Περιοχή/ Χρονολογία (έτος)	Υποκείμενο νόσημα/ Παράγοντες κινδύνου	Εκ διαφυγής μυκηταιμία (αντιμυκητικό, ημέρες χορήγησης)	Αντιμυκητική θεραπεία (ημέρες χορήγησης)	Έκβαση
<i>C. albidus</i> (182)	A/5	Αθήνα/ 2016	ΟΛΛ, ΜΔ παράγοντες κινδύνου	ΜΔ	ΜΔ	ΜΔ
<i>C. albidus</i> (182)	A/2	Αθήνα/ 2018	ΟΛΛ, ΜΔ παράγοντες κινδύνου	ΜΔ	ΜΔ	ΜΔ
<i>C. gattii</i> (183)	Θ/32	Πάτρα/ 2018-2021	Κρυπτοκοκκική μηνιγγίτιδα, πνευμονική κρυπτοκόκκωση, ΜΔ παράγοντες κινδύνου	Όχι	L-AMB+5FC (ΜΔ)→ L-AMB+FLC (ΜΔ)→ L-AMB+VRC (ΜΔ)→ VRC (ΜΔ)	Βελτίωση
<i>C. neoformans</i> (12)	ΜΔ	Αθήνα/ 2009-2018	ΜΔ	ΜΔ	ΜΔ	ΜΔ
<i>C. neoformans</i> (12)	ΜΔ	Αθήνα/ 2009-2018	ΜΔ	ΜΔ	ΜΔ	ΜΔ
<i>C. neoformans</i> (12)	ΜΔ	Αθήνα/ 2009-2018	ΜΔ	ΜΔ	ΜΔ	ΜΔ
<i>C. neoformans</i> var. <i>grubii</i> (183)	A/75	Πάτρα/ 2018-2021	Κρυπτοκοκκική μηνιγγίτιδα, ΣΔ, ΜΔ παράγοντες κινδύνου	Όχι	L-AMB+FLC (ΜΔ)	Βελτίωση
<i>C. neoformans</i> var. <i>grubii</i> (183)	Θ/75	Πάτρα/ 2018-2021	Ρευματοειδής αρθρίτιδα, ΛΚ, ΛΑΚ	Όχι	Δεν έλαβε	Θάνατος

<i>C. neoformans</i> var. <i>neoformans</i> (183)	Θ/78	Πάτρα/ 2018-2021	ΣΔ, ΜΔ παράγοντες κινδύνου	Όχι	L-AMB+FLC (ΜΔ)	Βελτίωση
<i>C. terreus</i> (182)	A/0,02	Αθήνα/ 2009	Νεκρωτική εντεροκολίτιδα, ΠΧ	ΜΔ	ΜΔ	ΜΔ
<i>C. uniguttulatus</i> (182)	A/13	Αθήνα/ 2016	ΟΛΛ, ΜΔ παράγοντες κινδύνου	ΜΔ	ΜΔ	ΜΔ
<i>C. uniguttulatus</i> (182)	A/15	Αθήνα/ 2016	Οστεοσάρκωμα, ΠΧ	ΜΔ	ΜΔ	ΜΔ
<i>E. dermatitidis</i> (174)	A/0,5	Αθήνα/ 2021	Βακτηριαμία από <i>A. junni</i> και <i>K. pneumoniae</i> , ακραία προωρότητα (ΕΧΒΓ), ΠΧ, ΠΔ, ΧΚ, ΛΑ	Ναι (FLC, 43)	L-AMB+FLC (8)	Θάνατος
<i>E. dermatitidis</i> (175)	A/4,5	Κρήτη/ 2022	Σάρκωμα Ewing, ΧΘ, ΧΚ, ΛΑ	Όχι	CAS (ΜΔ)→ VRC (ΜΔ)	Βελτίωση
<i>M. capitatus</i> (176)	A/69	Αθήνα/ 2003	ΟΜΛ, ουδετεροπενία, ΧΘ, ΧΚ, ΛΑ	Ναι (FLC, 5)	FLC (2)→L-AMB (3)	Θάνατος
<i>M. capitatus</i> (177)	A/63	Αθήνα/ 2016	Αμυοτροφική πλευρική σκλήρυνση, βακτηριαμία από <i>S. matophila</i> , ΠΔ, ΧΚ, ΛΑ	ΜΔ	ΜΔ	Θάνατος
<i>M. furfur</i> (182)	A/0,3	Αθήνα/ 2008-2020	Προωρότητα (ΕΧΒΓ), νόσος Hirschsprung, κολοστομία	ΜΔ	ΜΔ	ΜΔ
<i>M. furfur</i> (182)	A/13	Αθήνα/ 2012	ΟΜΛ, ΠΔ	ΜΔ	ΜΔ	ΜΔ
<i>M. furfur</i> (182)	Θ/0,03	Αθήνα/ 2013	Νεκρωτική εντεροκολίτιδα, ΠΧ, ΠΔ	ΜΔ	ΜΔ	ΜΔ
<i>M. furfur</i> (182)	A/0,3	Αθήνα/ 2016	Συγγενής καρδιοπάθεια, δωδεκαδακτυλική ατρησία, ΜΔ παράγοντες κινδύνου	ΜΔ	ΜΔ	ΜΔ

<i>M. aphidis</i> (78)	Θ/0,6	Αθήνα/ 2021	Βακτηριαμία από <i>E. faecalis</i> , προωρότητα (ΕΧΒΓ), ΧΚ, ΛΑ	Όχι	L-AMB (21)	Βελτίωση
<i>R. glutinis</i> (181)	A/64	Κρήτη/ 2007	Βακτηριαμία από <i>S. aureus</i> και <i>A. baumannii</i> , ΧΚ, ΛΑ	Όχι	FLC (32)	Βελτίωση
<i>R. glutinis</i> (181)	A/65	Κρήτη/ 2007	ΧΚ, ΛΑ	Όχι	FLC (30)	Βελτίωση
<i>R. mucilaginosa</i> (170)	A/57	Αθήνα/ 1999	Κακοήθεια εντέρου, ουδετεροπενία, ΠΧ, ΠΔ, ΧΚ, ΛΑ	Όχι	Δεοξυχολική AMB (ΜΔ)	Θάνατος
<i>R. mucilaginosa</i> (173)	Θ/21	Αθήνα/ 2001	Λέμφωμα non-Hodgkin, ουδετεροπενία, ΜΑΚ, ΠΔ, ΧΚ, ΛΑ	Ναι (FLC, ΜΔ)	FLC (7)→L-AMB (7)	Βελτίωση
<i>R. mucilaginosa</i> (172)	A/76	Κρήτη/ 2001	Κακοήθεια παχέος εντέρου,ουδετεροπενία, ΧΘ, ΧΚ, ΛΑ	Όχι	Δεν έλαβε	Βελτίωση
<i>R. mucilaginosa</i> (12)	ΜΔ	Αθήνα/ 2009-2018	ΜΔ	ΜΔ	ΜΔ	ΜΔ
<i>R. mucilaginosa</i> (12)	ΜΔ	Αθήνα/ 2009-2018	ΜΔ	ΜΔ	ΜΔ	ΜΔ
<i>R. mucilaginosa</i> (12)	ΜΔ	Αθήνα/ 2009-2018	ΜΔ	ΜΔ	ΜΔ	ΜΔ
<i>R. mucilaginosa</i> (12)	ΜΔ	Αθήνα/ 2009-2018	ΜΔ	ΜΔ	ΜΔ	ΜΔ
<i>R. mucilaginosa</i> (12)	ΜΔ	Αθήνα/ 2009-2018	ΜΔ	ΜΔ	ΜΔ	ΜΔ
<i>R. mucilaginosa</i> (12)	ΜΔ	Αθήνα/ 2009-2018	ΜΔ	ΜΔ	ΜΔ	ΜΔ

<i>R. mucilaginosa</i> (12)	ΜΔ	Αθήνα/ 2009-2018	ΜΔ	ΜΔ	ΜΔ	ΜΔ
<i>R. mucilaginosa</i> (12)	ΜΔ	Αθήνα/ 2009-2018	ΜΔ	ΜΔ	ΜΔ	ΜΔ
<i>R. mucilaginosa</i> (12)	ΜΔ	Αθήνα/ 2009-2018	ΜΔ	ΜΔ	ΜΔ	ΜΔ
<i>R. mucilaginosa</i> (12)	ΜΔ	Αθήνα/ 2009-2018	ΜΔ	ΜΔ	ΜΔ	ΜΔ
<i>R. mucilaginosa</i> (12)	ΜΔ	Αθήνα/ 2009-2018	ΜΔ	ΜΔ	ΜΔ	ΜΔ
<i>R. mucilaginosa</i> (12)	ΜΔ	Αθήνα/ 2009-2018	ΜΔ	ΜΔ	ΜΔ	ΜΔ
<i>R. mucilaginosa</i> (84)	Θ/48	Πάτρα/ 2012	Κακοήθεια ωοθηκών, βακτηριαμία από <i>K. pneumoniae</i> , ΠΧ, ΠΔ, ΧΚ, ΛΑ	Ναι (FLC, 23)	FLC (1)	Θάνατος
<i>R. mucilaginosa</i> (183)	A/19	Πάτρα/ 2018-2021	ΟΛΛ, ΧΘ, ΧΚ	Ναι (POS, ΜΔ)	L-AMB (ΜΔ)	Βελτίωση
<i>R. mucilaginosa</i> (183)	A/58	Πάτρα/ 2018-2021	ΟΜΛ, ΧΘ, ΧΚ	Ναι (POS, ΜΔ)	L-AMB (ΜΔ)	Βελτίωση
<i>R. mucilaginosa</i> (182)	A/12	Αθήνα/ 2020	ΟΛΛ, ΜΔ παράγοντες κινδύνου	ΜΔ	ΜΔ	ΜΔ
<i>S. cerevisiae</i> (12)	ΜΔ	Αθήνα/ 2009-2018	ΜΔ	ΜΔ	ΜΔ	ΜΔ
<i>S. cerevisiae</i> (12)	ΜΔ	Αθήνα/ 2009-2018	ΜΔ	ΜΔ	ΜΔ	ΜΔ

<i>S. cerevisiae</i> (12)	MΔ	Αθήνα/ 2009-2018	MΔ	MΔ	MΔ	MΔ
<i>S. cerevisiae</i> (12)	MΔ	Αθήνα/ 2009-2018	MΔ	MΔ	MΔ	MΔ
<i>S. cerevisiae</i> (12)	MΔ	Αθήνα/ 2009-2018	MΔ	MΔ	MΔ	MΔ
<i>S. cerevisiae</i> (12)	MΔ	Αθήνα/ 2009-2018	MΔ	MΔ	MΔ	MΔ
<i>S. cerevisiae</i> (12)	MΔ	Αθήνα/ 2009-2018	MΔ	MΔ	MΔ	MΔ
<i>S. cerevisiae</i> (12)	MΔ	Αθήνα/ 2009-2018	MΔ	MΔ	MΔ	MΔ
<i>S. cerevisiae</i> (12)	MΔ	Αθήνα/ 2009-2018	MΔ	MΔ	MΔ	MΔ
<i>S. cerevisiae</i> (182)	Θ/0,6	Αθήνα/ 2010	Ατρησία νήστιδας, ΠΧ	MΔ	MΔ	MΔ
<i>S. cerevisiae</i> (182)	Θ/0,8	Αθήνα/ 2010	Μυελοβλάστωμα, MΔ παράγοντες κινδύνου	MΔ	MΔ	MΔ
<i>S. cerevisiae</i> (182)	Θ/<1	Αθήνα/ 2010	MΔ	MΔ	MΔ	MΔ
<i>S. cerevisiae</i> (182)	Θ/7	Αθήνα/ 2012	ΟΛΛ, MΔ παράγοντες κινδύνου	MΔ	MΔ	MΔ
<i>S. cerevisiae</i> (183)	A/48	Πάτρα/ 2018-2021	Νόσος Fabry, γαστρεκτομή, ΧΚ	Όχι	L-AMB (MΔ)	Βελτίωση

<i>S. cerevisiae</i> (183)	Θ/71	Πάτρα/ 2018-2021	ΜΔ	Όχι	Δεν έλαβε	Θάνατος
<i>S. cerevisiae</i> (182)	Θ/0,2	Αθήνα/ 2019	Συγγενείς καρδιοπάθειες, ΝΑ, ΠΧ	ΜΔ	ΜΔ	ΜΔ
<i>S. cerevisiae</i> (182)	Θ/1,2	Αθήνα/ 2019	Πνευμοκοκκική μηνιγγίτιδα, ΜΔ παράγοντες κινδύνου	ΜΔ	ΜΔ	ΜΔ
<i>S. cerevisiae</i> (180,183)	Α/2	Πάτρα/ 2020	ΛΠ, ΧΚ, ΛΑ	Όχι	MFG (14)	Βελτίωση
<i>S. cerevisiae</i> (179)	Α/73	Πτολεμαΐδα/ 2020	Covid-19, βακτηριαιμία από <i>A. baumannii</i> και <i>S. epidermidis</i> , ΣΔ, ΛΠ, ΧΚ, ΛΑ	Όχι	AFG (7)→ FLC (14)	Βελτίωση
<i>S. cerevisiae</i> (179)	Α/76	Πτολεμαΐδα/ 2020	Covid-19, βακτηριαιμία από <i>A. baumannii</i> και <i>S. hominis</i> , ΛΠ, ΧΚ, ΛΑ	Όχι	AFG (10)→FLC (14)	Βελτίωση
<i>T. asahii</i> (178)	Α/13	Θεσσαλονίκη/ 2004	ΟΛΛ, ουδετεροπενία, ΧΘ, ΧΚ, ΛΑ	Όχι	L-AMB (5)→ L-AMB+VRC (ΜΔ)	Θάνατος
<i>T. asahii</i> (12)	ΜΔ	Αθήνα/ 2009-2018	ΜΔ	ΜΔ	ΜΔ	ΜΔ
<i>T. asahii</i> (12)	ΜΔ	Αθήνα/ 2009-2018	ΜΔ	ΜΔ	ΜΔ	ΜΔ
<i>T. asahii</i> (12)	ΜΔ	Αθήνα/ 2009-2018	ΜΔ	ΜΔ	ΜΔ	ΜΔ
<i>T. asahii</i> (12)	ΜΔ	Αθήνα/ 2009-2018	ΜΔ	ΜΔ	ΜΔ	ΜΔ
<i>T. asahii</i> (182)	Θ/10	Αθήνα/ 2011	Αναιμία Blackfan-Diamond, ΝΑ, ΜΔ παράγοντες κινδύνου	ΜΔ	ΜΔ	ΜΔ

<i>T. asahii</i> (182)	Θ/2,5	Αθήνα/ 2017	Κακοήθεια γεννητικών οργάνων, ΠΧ	ΜΔ	ΜΔ	ΜΔ
<i>T. asahii</i> (182)	A/14	Αθήνα/ 2018	ΟΛΛ, ΜΔ παράγοντες κινδύνου	ΜΔ	ΜΔ	ΜΔ
<i>T. asahii</i> (183)	A/28	Πάτρα/ 2018-2021	Όγκος και ΠΧ στο κρανίο	Όχι	VRC (ΜΔ)	Βελτίωση
<i>T. asahii</i> (183)	A/62	Πάτρα/ 2018-2021	Νευροχειρουργική εκτομή μηνιγγιώματος, ΧΚ	Όχι	VRC (ΜΔ)	Βελτίωση
<i>T. asahii</i> (183)	A/65	Πάτρα/ 2018-2021	ΟΜΛ, ΧΘ, ΧΚ	Ναι (POS, ΜΔ)	VRC (ΜΔ)	Βελτίωση
<i>T. asahii</i> (183)	A/67	Πάτρα/ 2018-2021	ΜΔ	Ναι (AFG, 17)	VRC (ΜΔ)	Βελτίωση
<i>T. asahii</i> (183)	A/68	Πάτρα/ 2018-2021	Κακοήθεια ουροδόχου κύστεως, ΜΔ παράγοντες κινδύνου	Όχι	VRC (ΜΔ)	Βελτίωση
<i>T. asahii</i> (183)	A/72	Πάτρα/ 2018-2021	Λέμφωμα non-Hodgkin, ΧΘ, ΧΚ	Όχι	VRC (ΜΔ)	Βελτίωση
<i>T. asahii</i> (183)	A/73	Πάτρα/ 2018-2021	ΜΔΣ, ΧΘ, ΧΚ	Ναι (POS, ΜΔ)	L-AMB+VRC (ΜΔ)	Θάνατος

GvHD: νόσος μοσχεύματος έναντι του ξενιστή, A: άρρεν, ΕΧΒΓ: εξαιρετικά χαμηλό βάρος γέννησης, Θ: θήλυ, ΛΑ: λήψη αντιβιοτικών, ΛΑΚ λήψη ανοσοκατασταλτικού φαρμάκου, ΛΚ: λήψη κορτικοστεροειδών, ΛΠ: λήψη προβιοτικών, ΜΑΚ: μεταμόσχευση αιμοποιητικών κυττάρων, ΜΔ: μη διαθέσιμο, ΜΔΣ: μυελοδυσπλαστικό σύνδρομο, ΝΑ: νεφρική ανεπάρκεια, ΟΛΛ: οξεία λεμφοβλαστική λευχαιμία, ΟΜΛ: οξεία μυελογενής λευχαιμία, ΠΔ: παρεντερική διατροφή, ΠΧ: πρόσφατο χειρουργείο ΣΔ: σακχαρώδης διαβήτης, ΧΚ: χρήση καθετήρα, ΧΘ: χημειοθεραπεία

Πίνακας 9. Συγκεντρωτικός πίνακας των μεθόδων ταυτοποίησης και του προφίλ της *in vitro* ευαισθησίας των αιτιολογικών παραγόντων για μυκηταιμία από σπάνιο ζυμομύκητα στην Ελλάδα, όπως περιγράφονται σε διάφορες μελέτες.

Αιτιολογικός παράγοντας/ Αναφορά	Μέθοδος ταυτοποίησης	Μέθοδος AFST	MICs (mg/L)
<i>C. albidus</i> (182)	MALDI-ToF MS	ΤΔΣΑ	AMB 2, FLC 256, ITC 0,5, VRC/POS/ISA 1, CAS/AFG/MFG/5FC 32
<i>C. albidus</i> (182)	MALDI-ToF MS	ΤΔΣΑ	AMB/VRC/ISA/POS 0,5, FLC 256, CAS/AFG/MFG/5FC 32, ITC 1
<i>C. gattii</i> (183)	MALDI-ToF MS και μοριακή (πολυπλεκτική PCR και γονοτύπηση)	ΤΔΣΑ	AMB 0,25, 5FC 0,016, FLC 4, ITC 0,5, VRC 0,125, POS 0,25, CAS/MFG/AFG >32
<i>C. neoformans</i> (12)	ΜΔ	ΜΔ	
<i>C. neoformans</i> (12)	ΜΔ	ΜΔ	
<i>C. neoformans</i> (12)	ΜΔ	ΜΔ	
<i>C. neoformans</i> <i>var. grubii</i> (183)	MALDI-ToF MS και μοριακή (πολυπλεκτική PCR και γονοτύπηση)	ΤΔΣΑ	AMB 0,25, 5FC 0,5, FLC 1, ITC/VRC/POS 0,016, CAS/MFG/AFG >32
<i>C. neoformans</i> <i>var. grubii</i> (183)	MALDI-ToF MS και μοριακή (πολυπλεκτική PCR και γονοτύπηση)	ΤΔΣΑ	AMB 0,25, 5FC/FLC 1, ITC 0,125, VRC 0,016, POS 0,5, ISA 0,008, CAS/MFG/AFG >32
<i>C. neoformans var. neoformans</i> (183)	MALDI-ToF MS και μοριακή (πολυπλεκτική PCR και γονοτύπηση)	ΤΔΣΑ	AMB/POS 0,125, 5FC 0,016, FLC 0.25, ITC 0,06, VRC 0,03, CAS/MFG/AFG >32
<i>C. terreus</i> (182)	MALDI-ToF MS	Micronaut-AM (ISA ΤΔΣΑ)	AMB 0,125, FLC 128, ITC 0,03, VRC 0,125, POS 0,25, CAS/AFG/MFG/5FC 8, ISA 1

<i>C. uniguttulatus</i> (182)	MALDI-ToF MS	ΤΔΣΑ	AMB 2, FLC 256, ITC/POS/VRC/ISA 0,5, CAS/MFG/AFG/5FC 32,
<i>C. uniguttulatus</i> (182)	MALDI-ToF MS	ΤΔΣΑ	AMB 2, FLC 256, ITC/POS 0,5, VRC 1, CAS/MFG/AFG/5FC 32, ISA 0,25
<i>E. dermatitidis</i> (174)	Μοριακή (αλληλούχιση ITS1-5.8S-ITS2)	EUCAST BMD	AMB 0,25, FLC 16, ITC/VRC 0,125, ISA 0,5, POS 0,06, AFG/MFG 4, CAS 2
<i>E. dermatitidis</i> (175)	MALDI-ToF MS και μοριακή (αλληλούχιση ITS1-5.8S-ITS2)	ΤΔΣΑ	AMB 0,25, 5FC/CAS/MFG/AFG >32, FLC 8, VRC:0.06, κετοκοναζόλη 0,125
<i>M. capitatus</i> (176)	API ID 32C	CLSI BMD	AMB 0,5, 5FC 2, FLC 16, ITC 1, VRC 0,25, CAS 0,5
<i>M. capitatus</i> (177)	API ID 32C	Micronaut-AM	AMB/VRC 0,25, 5FC 0,06, FLC/CAS/MFG 4, ITC 2, AFG 8
<i>M. furfur</i> (182)	MALDI-ToF MS	ΤΔΣΑ	AMB 0,5, FLC 1, ITC/POS 0,125, VRC/CAS/AFG/MFG/5FC 32, ISA 1
<i>M. furfur</i> (182)	MALDI-ToF MS	ΤΔΣΑ	AMB 0,25, FLC 256, ITC/VRC 0,03, POS 0,06, CAS/AFG/MFG/5FC 32, ISA 0,125
<i>M. furfur</i> (182)	MALDI-ToF MS	ΤΔΣΑ	AMB/FLC 0,25, VRC/POS/ITC 0,125, CAS/AFG/MFG 32, 5FC 16, ISA 0,5
<i>M. furfur</i> (182)	MALDI-ToF MS	ΤΔΣΑ	AMB/ITC/ISA 0,125, FLC 64, VRC/POS 0,06, CAS/AFG/MFG/5FC 32
<i>M. aphidis</i> (78)	Μοριακή (αλληλούχιση ITS1-5.8S-ITS2)	EUCAST BMD	AMB ≤0,125, FLC 8, ITC ≤0,016, VRC/POS 0,03, ISA 0,016, CAS/AFG/MFG >8
<i>R. glutinis</i> (181)	API 20C AUX, Vitek 2	ΤΔΣΑ	FLC 2, 5FC >32

<i>R. glutinis</i> (181)	API 20C AUX, Vitek 2	ΤΔΣΑ	FLC 2, 5FC >32
<i>R. mucilaginosa</i> (170)	Βιοχημικά χαρακτηριστικά	CLSI BMD	AMB 0,5, 5FC <0,125, FLC >64, ITC 4
<i>R. mucilaginosa</i> (173)	API ID 32C	Sensititre YeastOne	AMB/κετοκοναζόλη 0,25, 5FC 0,06, FLC >256, ITC 1
<i>R. mucilaginosa</i> (172)	API 20C AUX	ΜΔ	ΜΔ
<i>R. mucilaginosa</i> (12)	ΜΔ	ΜΔ	
<i>R. mucilaginosa</i> (12)	ΜΔ	ΜΔ	
<i>R. mucilaginosa</i> (12)	ΜΔ	ΜΔ	
<i>R. mucilaginosa</i> (12)	ΜΔ	ΜΔ	
<i>R. mucilaginosa</i> (12)	ΜΔ	ΜΔ	
<i>R. mucilaginosa</i> (12)	ΜΔ	ΜΔ	
<i>R. mucilaginosa</i> (12)	ΜΔ	ΜΔ	
<i>R. mucilaginosa</i> (12)	ΜΔ	ΜΔ	

<i>R. mucilaginosa</i> (12)	MΔ	MΔ	
<i>R. mucilaginosa</i> (12)	MΔ	MΔ	
<i>R. mucilaginosa</i> (12)	MΔ	MΔ	
<i>R. mucilaginosa</i> (12)	MΔ	MΔ	
<i>R. mucilaginosa</i> (84)	API 20C AUX, Vitek 2	ΤΔΣΑ	AMB/VRC 2, 5FC 0,06, FLC >256, ITC 1, κετοκοναζόλη 0,03, POS 0,25, CAS/MFG >32
<i>R. mucilaginosa</i> (183)	MALDI-ToF MS	EUCAST BMD	AMB 1, 5FC <0,06, FLC >256, ITC 0,25, VRC 2, POS 0,5, CAS/MFG/AFG >8
<i>R. mucilaginosa</i> (183)	MALDI-ToF MS	ΤΔΣΑ	AMB/ITC/VRC 1, 5FC 0,06, FLC >256, POS 0,25, CAS/MFG/AFG >32
<i>R. mucilaginosa</i> (182)	MALDI-ToF MS	Micronaut-AM (ISA ΤΔΣΑ)	AMB 0,25, FLC 128, ITC 1, VRC 0.25, POS 0.5, CAS 4, AFG/MFG 8, 5FC 0,06, ISA 0,5
<i>S. cerevisiae</i> (12)	MΔ	MΔ	
<i>S. cerevisiae</i> (12)	MΔ	MΔ	
<i>S. cerevisiae</i> (12)	MΔ	MΔ	
<i>S. cerevisiae</i> (12)	MΔ	MΔ	

<i>S. cerevisiae</i> (12)	MΔ	MΔ	
<i>S. cerevisiae</i> (12)	MΔ	MΔ	
<i>S. cerevisiae</i> (12)	MΔ	MΔ	
<i>S. cerevisiae</i> (12)	MΔ	MΔ	
<i>S. cerevisiae</i> (12)	MΔ	MΔ	
<i>S. cerevisiae</i> (182)	MALDI-ToF MS	Micronaut-AM (ISA TΔΣA)	AMB/AFG 0,125, 5FC/ISA 0,06, FLC/ITC 4, VRC 0,03, POS/CAS/MFG 0,25
<i>S. cerevisiae</i> (182)	MALDI-ToF MS	Micronaut-AM (ISA, VRC TΔΣA)	AMB/AFG/CAS/MFG/ISA 0,125, VRC 0,25, 5FC/POS 0,06, FLC/ITC 4
<i>S. cerevisiae</i> (182)	MALDI-ToF MS	Micronaut-AM (ISA TΔΣA)	AMB/MFG 0,125, FLC 2, ITC 4, VRC 0,016, POS 0,25, CAS/5FC 0,06, AFG/ISA 0,03
<i>S. cerevisiae</i> (182)	MALDI-ToF MS	TΔΣA	AMB/ISA 0,03, FLC 4, ITC 2, VRC 0,125, POS/5FC 1, CAS/MFG 0,25, AFG 0,016
<i>S. cerevisiae</i> (183)	MALDI-ToF MS	TΔΣA	AMB/ISA 0,25, 5FC/VRC/CAS/AFG 0,125, FLC 8, ITC 2, POS 4, MFG 0,06
<i>S. cerevisiae</i> (183)	MALDI-ToF MS	TΔΣA	AMB/VRC/ISA 0,5, 5FC 0,03, FLC/ITC 32, POS 8, CAS/MFG 0,06, AFG 0,125
<i>S. cerevisiae</i> (182)	MALDI-ToF MS	Micronaut-AM (ISA TΔΣA)	AMB/POS/CAS 0,125, 5FC 0,06, FLC 2, ITC/ISA 1, VRC 0,016, AFG 0,03, MFG 0,06

<i>S. cerevisiae</i> (182)	MALDI-ToF MS	Micronaut-AM (ISA ΤΔΣΑ)	AMB 0,125, 5FC 0,06, FLC 128, ITC 2, VRC 0,25, POS 4, CAS 0,125, AFG 0,016, MFG/ISA 0,03
<i>S. cerevisiae</i> (183)	MALDI-ToF MS	ΤΔΣΑ	AMB/CAS 0,03, 5FC 0,016, FLC 64, ITC/POS 8, VRC 0,5, ISA/AFG 0,25, MFG 0,125
<i>S. cerevisiae</i> (179)	Μοριακή (αλληλούχιση ITS1-5.8S-ITS2)	ATB FUNGUS 3 (POS+AFG ΤΔΣΑ)	AMB 0,5, 5FC/FLC/ITC 4, VRC 0,125, POS 0,06, AFG 0,002
<i>S. cerevisiae</i> (179)	Μοριακή (αλληλούχιση ITS1-5.8S-ITS2)	ATB FUNGUS 3 (POS+AFG ΤΔΣΑ)	AMB 1, 5, FC/FLC 4, ITC 0,5, VRC 0,125, POS 0,03, AFG 0,06
<i>T. asahii</i> (178)	API ID 32C	CLSI BMD	AMB/POS/ITC 0,25, FLC 2, VRC ≤0,06
<i>T. asahii</i> (12)	ΜΔ	ΜΔ	
<i>T. asahii</i> (12)	ΜΔ	ΜΔ	
<i>T. asahii</i> (12)	ΜΔ	ΜΔ	
<i>T. asahii</i> (12)	ΜΔ	ΜΔ	
<i>T. asahii</i> (182)	MALDI-ToF MS	Micronaut-AM (ISA ΤΔΣΑ)	AMB 6, FLC 16, ITC 4, VRC 0,25, POS 0,03, CAS/AFG/MFG/5FC 8, ISA 0,125
<i>T. asahii</i> (182)	MALDI-ToF MS	Micronaut-AM (ISA ΤΔΣΑ)	AMB/ISA 0,125, FLC 4, ITC/POS 0,03, VRC 0,016, CAS/AFG/MFG/5FC 8
<i>T. asahii</i> (182)	MALDI-ToF MS	Micronaut-AM (ISA ΤΔΣΑ)	AMB 8, FLC 6, ITC/VRC 0,03, POS 0,25, CAS 16, AFG/MFG/5FC 8, ISA 0,5

<i>T. asahii</i> (183)	MALDI-ToF MS	ΤΔΣΑ	AMB/POS 0,25, 5FC 16, FLC 2, ITC 1, VRC/ISA 0,06, CAS/MFG/AFG >32
<i>T. asahii</i> (183)	MALDI-ToF MS	ΤΔΣΑ	AMB 0,25, 5FC 1, FLC 4, ITC/POS 0,5, VRC 0,06, ISA 0,03, CAS/MFG/AFG >32
<i>T. asahii</i> (183)	MALDI-ToF MS	ΤΔΣΑ	AMB/5FC 0,5, FLC 2, ITC/POS 1, VRC:0,06, ISA 0,125, CAS/MFG/AFG >32
<i>T. asahii</i> (183)	MALDI-ToF MS	EUCAST BMD	AMB 1, 5FC 4, FLC 2, ITC 0,25, VRC 0,06, POS 0,5, CAS/MFG/AFG >8
<i>T. asahii</i> (183)	MALDI-ToF MS	ΤΔΣΑ	AMB/5FC 0,25, FLC 2, ITC 1, VRC 0,03, POS 0,5, ISA 0,125, CAS/MFG/AFG >32
<i>T. asahii</i> (183)	MALDI-ToF MS	ΤΔΣΑ	AMB/POS 0,25, 5FC 16, FLC/ITC 1, VRC 0,03, ISA 0,125, CAS/MFG/AFG >32
<i>T. asahii</i> (183)	MALDI-ToF MS	ΤΔΣΑ	AMB/VRC 0,06, 5FC 8, FLC 2, ITC/POS 0,5, ISA 0,125, CAS/MFG/AFG >32

BMD: μέθοδος μικροαραιώσεων σε ζυμό, ΜΔ: μη διαθέσιμο, ΤΔΣΑ: ταινίες διαβαθμισμένης συγκέντρωσης αντιμυκητικού

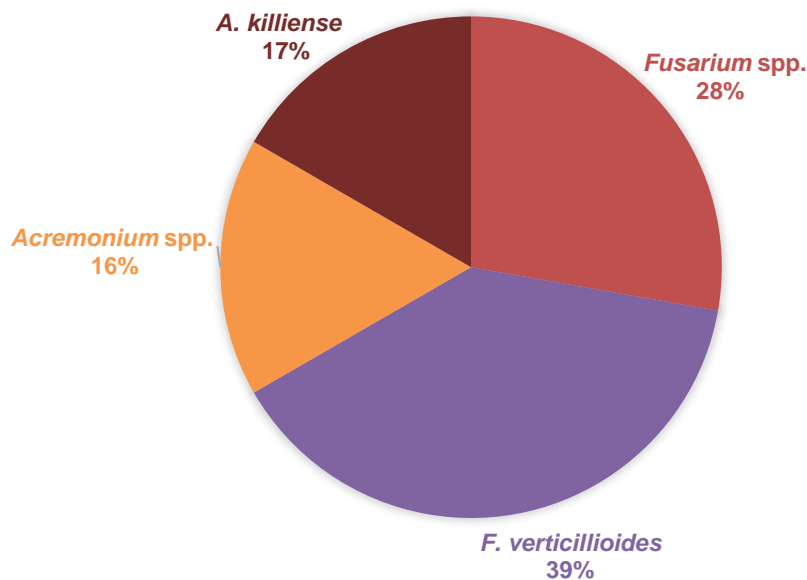
• Νηματοειδείς μύκητες

Τα περιστατικά που αφορούν σε λοίμωξη από νηματοειδή μύκητα είναι περιορισμένα (18/95, 19%) και καταγράφηκαν στη διάρκεια της 25ετίας 1994-2018. Μάλιστα, αξίζει να σημειωθεί ότι τα δεδομένα προέρχονται από μόλις 5 μελέτες ενός κέντρου, όλα δημόσια τριτοβάθμια νοσοκομεία (12,117,171,185,186). Συγκεκριμένα, 1/5 αφορά στην περιγραφή μεμονωμένου περιστατικού σε ενήλικα αιματολογικό ασθενή (Αθήνα, 2003) (171), 1/5 στην καταγραφή σειράς περιστατικών σε παιδιατρικούς με κακοήθειες ασθενείς (Θεσσαλονίκη,1994) (185), 1/5 στην επιδημιολογική επιτήρηση των μυκηταιμιών στο γενικό πληθυσμό (Αθήνα, 2009-2018) (12) και 2/5 στην περιγραφή συρροής κρουσμάτων σε ενήλικες ασθενείς που είχαν υποβληθεί σε μεταμόσχευση αιμοποιητικών κυττάρων (Θεσσαλονίκη, 2011) (187) και σε ενήλικες ανοσοεπαρκείς ασθενείς (Λάρισα 2012) (186). Ως εκ τούτου, στοιχεία αναφορικά με τη συχνότητα εμφάνισης της λοίμωξης στην Ελλάδα μπορούν να αντληθούν μόνο από μία μελέτη, σύμφωνα με την οποία αγγίζει το 1,1% (12).

Δεδομένα σχετικά με τα δημογραφικά και κλινικά χαρακτηριστικά των ασθενών είναι διαθέσιμα σε 4/5 μελέτες (13/18 περιστατικά). Σύμφωνα με αυτά, 10/13 (77%) ήταν άντρες και η μέση (εύρος) ηλικία τους ήταν τα 54 (2-86) έτη. Πολλοί από τους ασθενείς έπασχαν από αιματολογική κακοήθεια (5/13, 38%), ενώ όλοι έφεραν καθετήρα και λάμβαναν αντιβιοτικά (4/13, 21% έπασχαν συγχρόνως από βακτηριαιμία από Gram αρνητικό παθογόνο). Σημειωτέον, η πλειοψηφία των ασθενών ήταν μη ουδετεροπενικοί (9/13, 69%), ωστόσο 6/9 ασθενείς συγκαταλέγονται στην περιγραφή συρροής κρουσμάτων σε μια παθολογική κλινική σε σύντομο χρονικό διάστημα από το πέρας των εργασιών ανασκευής της. Τέλος, 4/13 περιστατικά ήταν εκ διαφυγής λοιμώξεις καθώς οι συγκεκριμένοι ασθενείς ήταν υπό αντιμυκητική αγωγή κατά την εμφάνιση της μυκηταιμίας (1 υπό dAMB για 21 ημέρες, ενώ δεν υπάρχουν στοιχεία για το είδος του αντιμυκητικού και τη διάρκεια της θεραπείας για τους υπόλοιπους 3).

Οι αιτιολογικοί παράγοντες της μυκηταιμίας ανήκαν στα γένη *Fusarium* (12/18 [67%], εκ των οποίων 7 *F. verticillioides* και 5 *Fusarium* spp.) και *Acremonium* (6/18 [33%], εκ των οποίων 3 *A. killiense* και 3 *Acremonium* spp.). Η ταυτοποίηση των απομονωθέντων στελεχών για τα οποία υπάρχουν δεδομένα (13/18) έλαβε

χώρα με συμβατικές φαινοτυπικές (μακροσκοπικά/μικροσκοπικά χαρακτηριστικά των αποικιών, 3/13 [23%]) ή μοριακές (αλληλούχιση ITS1-5.8S-ITS2 ή TEF-1α, 10/13 [77%]) μεθόδους. Στοιχεία αναφορικά με το προφίλ της *in vitro* ευαισθησίας στα αντιμυκητικά υπάρχουν διαθέσιμα μόνο για 3 στελέχη *A. killiense* και 7 στελέχη *F. verticillioides*. Ειδικότερα, ο AFST με ταινίες διαβαθμισμένης συγκέντρωσης αντιμυκητικού υπέδειξε πως μόνο η VRC ήταν δραστική *in vitro* έναντι των *A. killiense* (MIC 0,5 mg/L). Από την άλλη πλευρά, όλα τα αντιμυκητικά που ελέγχθηκαν με την πρότυπη μεθοδολογία CLSI BMD δεν υπέδειξαν δραστικότητα *in vitro* έναντι των *F. verticillioides* (MICs εχिनοκανδινών/AMB/5FC/ITC/POS >16 mg/L και VRC >1 mg/L).



Εικόνα 60. Διαγραμματική απεικόνιση της κατανομής των αιτιολογικών παραγόντων της μυκηταιμίας από σπάνιους νηματοειδείς μύκητες στην Ελλάδα.

Πληροφορίες σχετικά με την αντιμυκητική θεραπεία που χορηγήθηκε υπάρχουν για 13/18 περιστατικά. Ειδικότερα, μονοθεραπεία VRC έλαβαν 9/13 (70%) ασθενείς (6 *F. verticillioides* και 3 *A. killiense*), χωρίς ωστόσο να είναι γνωστή η διάρκεια της, εκ των οποίων 5/9 (56%) (3 *F. verticillioides* και 1 *A. killiense*) τελικά απεβίωσαν. Ένας ασθενής (*F. verticillioides*) δεν έλαβε αντιμυκητική θεραπεία και απεβίωσε. Επίσης, ένας ασθενής (*Fusarium spp.*) έλαβε αρχικά dAMB για 5 ημέρες, ακολουθούμενη από CAS για 21 ημέρες, και επιβίωσε.

Αντίστοιχα, 2 ασθενείς (*Acremonium* spp.) έλαβαν L-AMB για 30 ημέρες, ακολουθούμενη από FLC για 30 ημέρες, και επιβίωσαν. Συνολικά, η καταγεγραμμένη αδρή θνητότητα σε ασθενείς με μυκηταιμία από σπάνιο νηματοειδή μύκητα ήταν 38%.

Πίνακας 10. Συγκεντρωτικός πίνακας των δημογραφικών και κλινικών χαρακτηριστικών των ασθενών με μυκηταιμία από σπάνιο νηματοειδή μύκητα στην Ελλάδα, όπως περιγράφονται σε διάφορες μελέτες.

Αιτιολογικός παράγοντας/ Αναφορά	Φύλο/ Ηλικία (έτη)	Περιοχή/ Χρονολογία (έτος)	Υποκείμενο νόσημα/ Παράγοντες κινδύνου	Εκ διαφυγής μυκηταιμία (αντιμυκητικό, ημέρες χορήγησης)	Αντιμυκητική θεραπεία (ημέρες χορήγησης)	Έκβαση
<i>Acremonium</i> spp. (185)	A/2	Θεσσαλονίκη/ 1994	Νευροβλάστωμα, ουδετεροπενία, ΧΘ, ΧΚ, ΛΑ	Όχι	L-AMB (30)→ FLC (30)	Βελτίωση
<i>Acremonium</i> spp. (185)	Θ/4	Θεσσαλονίκη/ 1994	ΟΛΛ, ουδετεροπενία, ΧΘ, ΧΚ, ΛΑ	Όχι	L-AMB (30)→ FLC (30)	Βελτίωση
<i>Acremonium</i> spp. (12)	ΜΔ	Αθήνα/ 2009-2018	ΜΔ	ΜΔ	ΜΔ	ΜΔ
<i>A. kiliense</i> (187)	A/23	Θεσσαλονίκη/ 2011	ΟΜΛ, ΜΑΚ, βακτηριαιμία από <i>K. pneumoniae</i> , ΜΑΚ, ΧΚ, ΛΑ	Ναι (ΜΔ)	VRC (ΜΔ)	Θάνατος
<i>A. kiliense</i> (187)	Θ/33	Θεσσαλονίκη/ 2011	Λέμφωμα Hodgkin, ΜΑΚ, ΧΚ, ΛΑ	Ναι (ΜΔ)	VRC (ΜΔ)	Βελτίωση
<i>A. kiliense</i> (187)	Θ/39	Θεσσαλονίκη/ 2011	ΟΛΛ, οξεία GnHD, ΜΑΚ, ΧΚ, ΛΑ	Ναι (ΜΔ)	VRC (ΜΔ)	Βελτίωση
<i>Fusarium</i> spp. (171)	A/67	Αθήνα/ 2003	ΟΜΛ, ουδετεροπενία, ΧΘ, ΧΚ, ΛΑ	Ναι (dAMB, 21)	dAMB (5)→ CAS (21)	Βελτίωση
<i>Fusarium</i> spp. (12)	ΜΔ	Αθήνα/ 2009-2018	ΜΔ	ΜΔ	ΜΔ	ΜΔ

<i>Fusarium</i> spp. (12)	ΜΔ	Αθήνα/ 2009-2018	ΜΔ	ΜΔ	ΜΔ	ΜΔ
<i>Fusarium</i> spp. (12)	ΜΔ	Αθήνα/ 2009-2018	ΜΔ	ΜΔ	ΜΔ	ΜΔ
<i>Fusarium</i> spp. (12)	ΜΔ	Αθήνα/ 2009-2018	ΜΔ	ΜΔ	ΜΔ	ΜΔ
<i>F. verticillioides</i> (186)	A/63	Λάρισα/ 2012	ΧΚ, ΛΑ	Όχι	VRC (ΜΔ)	Θάνατος
<i>F. verticillioides</i> (186)	A/70	Λάρισα/ 2012	Αυτοάνοση θρομβοπενία, ουδετεροπενία, ΛΚ, ΧΚ, ΛΑ	Όχι	VRC (ΜΔ)	Θάνατος
<i>F. verticillioides</i> (186)	A/74	Λάρισα/ 2012	Βακτηριαμία από <i>K. pneumoniae</i> , ΣΔ, ΧΚ, ΛΑ	Όχι	VRC (ΜΔ)	Θάνατος
<i>F. verticillioides</i> (186)	A/80	Λάρισα/ 2012	Βακτηριαμία από <i>Proteus</i> spp., <i>E. coli</i> και <i>P. stuartii</i> , ΧΚ, ΛΑ	Όχι	VRC (ΜΔ)	Βελτίωση
<i>F. verticillioides</i> (186)	A/82	Λάρισα/ 2012	ΧΚ, ΛΑ	Όχι	VRC (ΜΔ)	Βελτίωση
<i>F. verticillioides</i> (186)	A/85	Λάρισα/ 2012	Βακτηριαμία από <i>Proteus</i> spp., ΧΚ, ΛΑ	Όχι	VRC (ΜΔ)	Βελτίωση
<i>F. verticillioides</i> (186)	A/86	Λάρισα/ 2012	Ενδοκαρδίτιδα, ΧΚ, ΛΑ	Όχι	Δεν έλαβε	Θάνατος

ΓνHD: νόσος μοσχεύματος έναντι του ξενιστή, Α: άρρεν, Θ: θήλυ, ΛΑ: λήψη αντιβιοτικών, ΛΚ: λήψη κορτικοστεροειδών, ΜΑΚ: μεταμόσχευση αιμοποιητικών κυττάρων, ΜΔ: μη διαθέσιμο, ΟΛΛ: οξεία λεμφοβλαστική λευχαιμία, ΟΜΛ: οξεία μυελογενής λευχαιμία, ΣΔ: σακχαρώδης διαβήτης, ΧΘ: χημειοθεραπεία, ΧΚ: χρήση καθετήρα

Πίνακας 11. Συγκεντρωτικός πίνακας των μεθόδων ταυτοποίησης και του προφίλ της *in vitro* ευαισθησίας των αιτιολογικών παραγόντων της μυκηταιμίας από σπάνιο νηματοειδή μύκητα στην Ελλάδα, όπως περιγράφονται σε διάφορες μελέτες.

Αιτιολογικός παράγοντας/ Αναφορά	Μέθοδος ταυτοποίησης	Μέθοδος AFST	MICs (mg/L)
<i>Acremonium</i> spp. (185)	Μακροσκοπικά/μικροσκοπικά χαρακτηριστικά των αποικιών	ΜΔ	
<i>Acremonium</i> spp. (185)	Μακροσκοπικά/μικροσκοπικά χαρακτηριστικά των αποικιών	ΜΔ	
<i>Acremonium</i> spp. (12)	ΜΔ	ΜΔ	
<i>A. kiliense</i> (187)	Μοριακή (αλληλούχιση ITS1-5.8S-ITS2)	ΤΔΣΑ	AMB 32, VRC 0,5, FLC >256, 5FC/ITC/POS/CAS/AFG >32
<i>A. kiliense</i> (187)	Μοριακή (αλληλούχιση ITS1-5.8S-ITS2)	ΤΔΣΑ	AMB 32, VRC 0,5, FLC >256, 5FC/ITC/POS/CAS/AFG >32
<i>A. kiliense</i> (187)	Μοριακή (αλληλούχιση ITS1-5.8S-ITS2)	ΤΔΣΑ	AMB 32, VRC 0,5, FLC >256, 5FC/ITC/POS/CAS/AFG >32
<i>Fusarium</i> spp. (171)	Μακροσκοπικά/μικροσκοπικά χαρακτηριστικά των αποικιών	ΜΔ	
<i>Fusarium</i> spp. (12)	ΜΔ	ΜΔ	
<i>Fusarium</i> spp. (12)	ΜΔ	ΜΔ	
<i>Fusarium</i> spp. (12)	ΜΔ	ΜΔ	

<i>Fusarium</i> spp. (12)	ΜΔ	ΜΔ	
<i>F. verticillioides</i> (186)	Μοριακή (αλληλούχιση TEF-1α)	CLSI BMD	AMB/5FC/ITC/POS >32, VRC >1, CAS/MFG/AFG >16
<i>F. verticillioides</i> (186)	Μοριακή (αλληλούχιση TEF-1α)	CLSI BMD	AMB/5FC/ITC/POS >32, VRC >1, CAS/MFG/AFG >16
<i>F. verticillioides</i> (186)	Μοριακή (αλληλούχιση TEF-1α)	CLSI BMD	AMB/5FC/ITC/POS >32, VRC >1, CAS/MFG/AFG >16
<i>F. verticillioides</i> (186)	Μοριακή (αλληλούχιση TEF-1α)	CLSI BMD	AMB/5FC/ITC/POS >32, VRC >1, CAS/MFG/AFG >16
<i>F. verticillioides</i> (186)	Μοριακή (αλληλούχιση TEF-1α)	CLSI BMD	AMB/5FC/ITC/POS >32, VRC >1, CAS/MFG/AFG >16
<i>F. verticillioides</i> (186)	Μοριακή (αλληλούχιση TEF-1α)	CLSI BMD	AMB/5FC/ITC/POS >32, VRC >1, CAS/MFG/AFG >16
<i>F. verticillioides</i> (186)	Μοριακή (αλληλούχιση TEF-1α)	CLSI BMD	AMB/5FC/ITC/POS >32, VRC >1, CAS/MFG/AFG >16

BMD: μέθοδος μικροαραιώσεων σε ζυμό, TEF-1α: παράγοντας επιμήκυνσης της μετάφρασης 1-α, ΜΔ: μη διαθέσιμο, ΤΔΣΑ: ταινίες διαβαθμισμένης συγκέντρωσης αντιμυκητικού

3.2 Επιδημιολογία μυκηταιμίας από σπάνιους μύκητες στο Π.Γ.Ν. “Αττικόν”

Κατά τη 14ετία 2009-2022 ο αριθμός των νοσηλευόμενων στο Π.Γ.Ν. “Αττικόν” ήταν 689.141 (μέσος αριθμός νοσηλευόμενων/έτος: 52.205). Στο διάστημα αυτό καταγράφηκαν συνολικά 817 επεισόδια μυκηταιμίας, τα οποία στη συντριπτική πλειοψηφία τους αφορούσαν σε καννινταιμία (776/817, 95%).

• Ζυμομύκητες

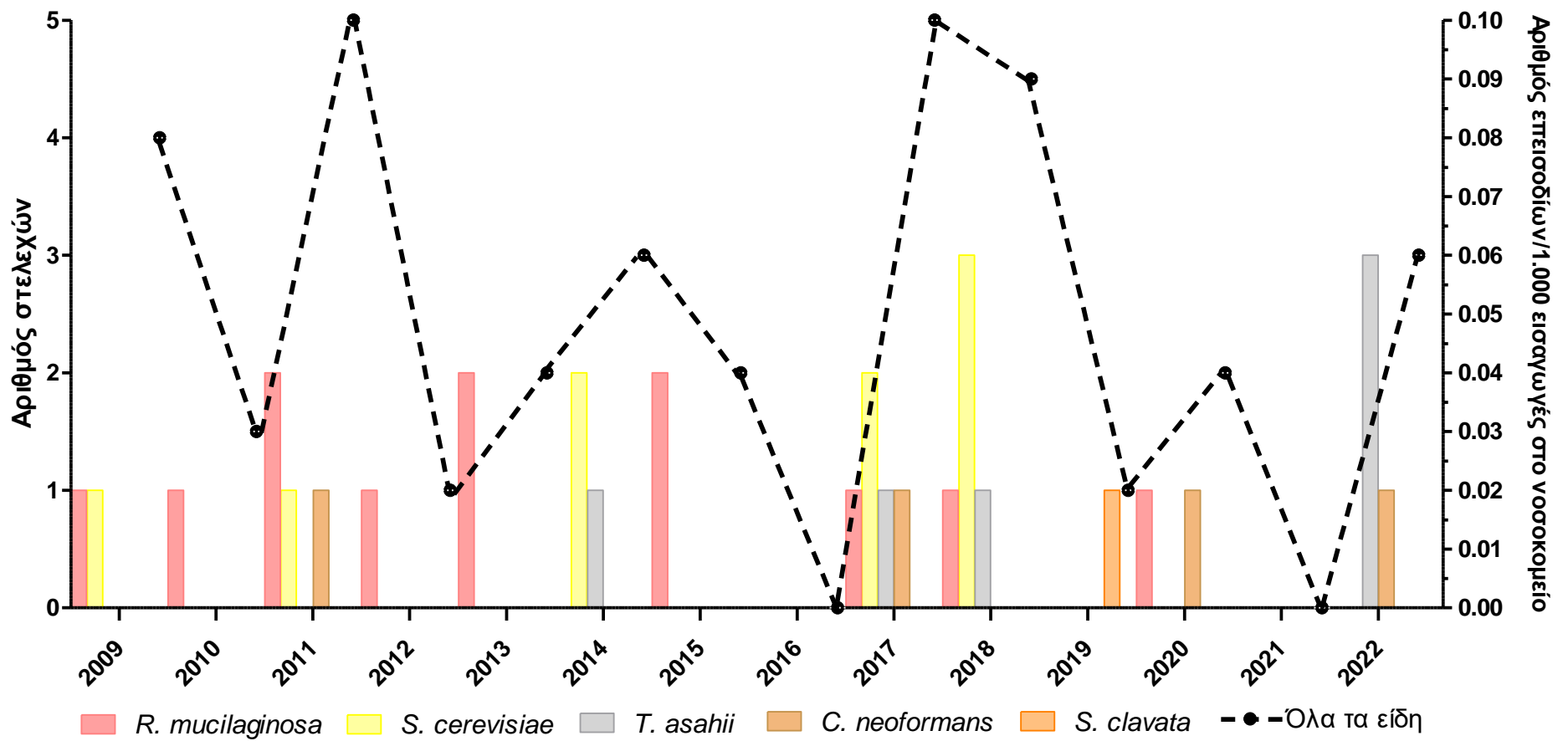
32 περιστατικά μυκηταιμίας είχαν ως αιτιολογικό παράγοντα κάποιο σπάνιο ζυμομύκητα, διαμορφώνοντας τη συνολική (εύρος) συχνότητα εμφάνισης της λοίμωξης στο 3,8% (0-10,3%). Η συνολική (εύρος) επίπτωσή της υπολογίστηκε στα 0,05 (0-0,10) επεισόδια/1.000 εισαγωγές στο νοσοκομείο και στα 0,11 (0-0,23) επεισόδια/10.000 ημέρες νοσηλείας. Η πλειοψηφία των περιπτώσεων (23/32, 72%) αφορούν σε ασθενείς που νοσηλεύτηκαν σε κλινικές του παθολογικού τομέα, 6/32 (19%) σε κλινικές του χειρουργικού τομέα και 3/32 (9%) στη ΜΕΘ.

Αναφορικά με τα δημογραφικά χαρακτηριστικά των ασθενών, 21/32 (66%) ήταν άντρες και η μέση (εύρος) ηλικία τους ήταν τα 66 (17-88) έτη. Πληροφορίες για το κλινικό ιστορικό τους ήταν διαθέσιμες για 28/32 ασθενείς. Ως συχνότερο υποκείμενο νόσημα καταγράφηκε ο ΣΔ (9/28, 32%), η αιματολογική νόσος ή κακοήθεια (8/28, 29%), η κακοήθεια συμπαγούς οργάνου (8/28, 29%) και η αυτοάνοση ηπατίτιδα (2/28, 7%).

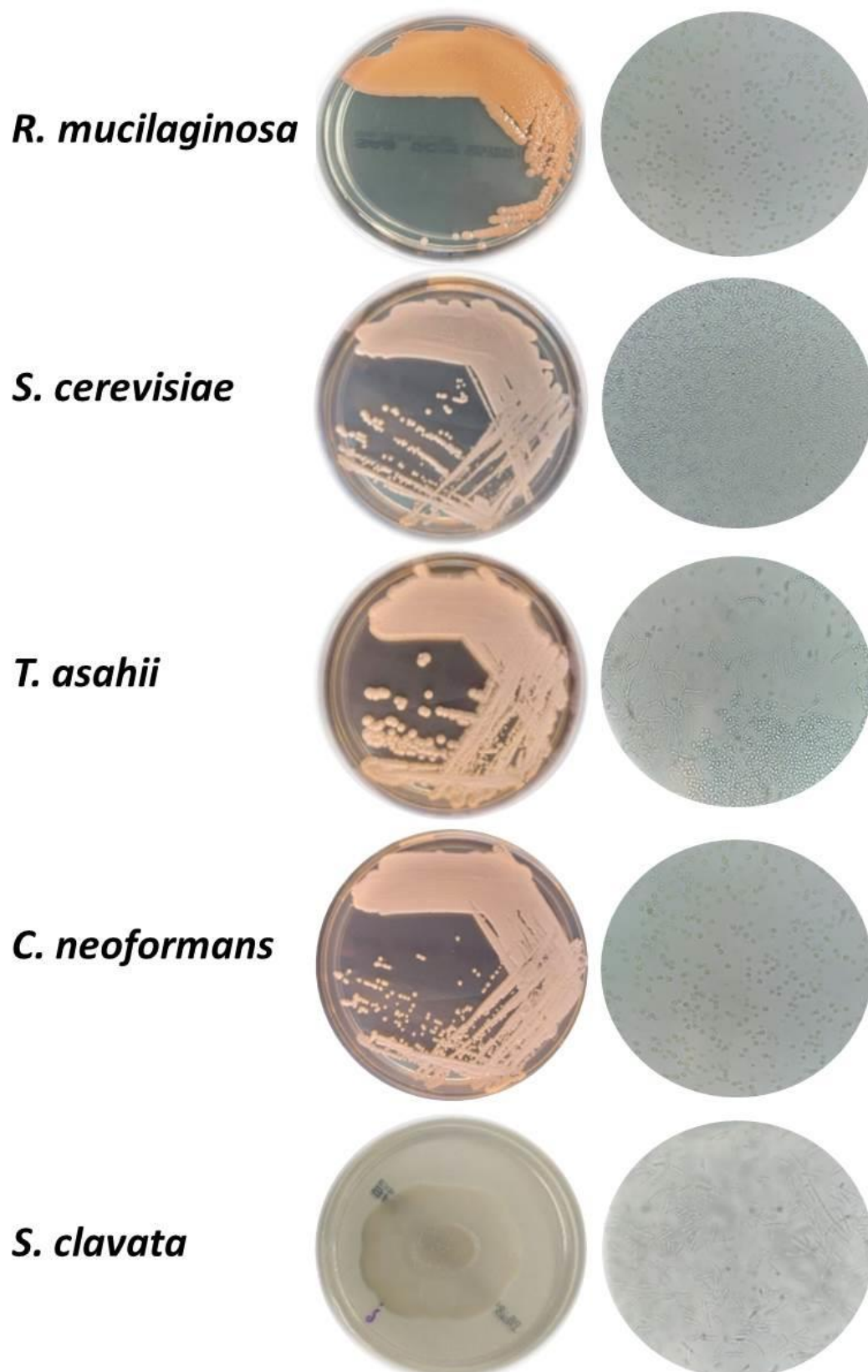
Έλλειψη δεδομένων σχετικά με τους παράγοντες κινδύνου για την εμφάνιση της λοίμωξης καταγράφηκε σε 13/32 (41%) περιπτώσεις. Λαμβάνοντας υπόψη τους εναπομείναντες 19 ασθενείς, όλοι έφεραν καθετήρα και λάμβαναν αντιβιοτικά (4/19, 21% έπασχαν συγχρόνως από βακτηριαίμια), ενώ στους περισσότερους χορηγούνταν παρεντερική διατροφή (11/19, 58%). Επιπλέον, 4/19 (21%) ήταν ουδετεροπενικοί, 7/19 (37%) λάμβαναν κορτικοστεροειδή, 5/19 (26%) είχαν υποβληθεί σε πρόσφατη χειρουργική επέμβαση και 4/19 (21%) λάμβαναν προβιοτικά. Τέλος, 5/19 (26%) περιστατικά ήταν εκ διαφυγής λοιμώξεις καθώς οι ασθενείς ήταν υπό αντιμυκητική αγωγή κατά την εμφάνιση της μυκηταιμίας, και

συγκεκριμένα 1 υπό FLC για 25 ημέρες (*R. mucilaginosa*), 1 υπό MFG για 2 ημέρες ακολουθούμενη από FLC για 11 ημέρες (*R. mucilaginosa*), 1 υπό FLC για 21 ημέρες (*S. cerevisiae*), 1 υπό AFG για 23 ημέρες (*S. cerevisiae*) και 1 υπό AFG για 9 ημέρες (*T. asahii*).

Ο κύριος αιτιολογικός παράγοντας της μυκηταιμίας ήταν η *R. mucilaginosa* (12/32, 38%), ακολουθούμενη από το *S. cerevisiae* (9/32, 28%), το *T. asahii* (6/32, 19%), τον *C. neoformans* (4/32, 12%) και τη *S. clavata* (1/32, 3%). Σημειωτέον, η προαναφερθείσα κατανομή αφορά στην ταυτοποίηση που έλαβε χώρα με συμβατική δοκιμασία ζύμωσης/αφομοίωσης σακχάρων (Vitek 2). Ωστόσο, όταν τα 26/32 διαθέσιμα στελέχη ταυτοποιήθηκαν εκ νέου με MALDI-ToF MS, η συμφωνία μεταξύ των δύο μεθόδων ήταν 100%. Επιπλέον, είναι άξιο αναφοράς πως η πλειονότητα των ασθενών με κακοήθεια συμπαγούς οργάνου και όσων λάμβαναν προβιοτικά εμφάνισαν λοίμωξη από *R. mucilaginosa* (5/8, 62%) και *S. cerevisiae* (3/4, 75%), αντίστοιχα.



Εικόνα 61. Ετήσια κατανομή των αιτιολογικών παραγόντων και επίπτωση της μυκηταιμίας από σπάνιους ζυμομύκητες στο Π.Γ.Ν. “Αττικών” στη διάρκεια της 14ετίας 2009-2022.



Εικόνα 62. Μακροσκοπική (πρόσθια επιφάνεια της αποικίας σε SDA 5 ημερών, 30°C) (αριστερά) και μικροσκοπική (αντικειμενικός φακός 40x) (δεξιά) μορφολογία στελεχών σπάνιων ζυμομυκήτων που μελετήθηκαν στο πλαίσιο της παρούσας εργασίας.

26/32 στελέχη ήταν διαθέσιμα για AFST. Συνολικά, η AMB υπέδειξε δραστικότητα *in vitro* έναντι όλων των εξεταζόμενων ειδών (CLSI/EUCAST MICs 0,25-1 mg/L). Από την άλλη πλευρά, οι εχινοκανδίνες ήταν δραστικές *in vitro* μόνο έναντι του *S. cerevisiae*, ενώ η δραστικότητα των αζολών ήταν ειδο-εξαρτώμενη. Ειδικότερα, υψηλότερη μέση τιμή MIC ανεξαρτήτως είδους παρουσίασε η FLC, η ISA ήταν πιο δραστική *in vitro* έναντι της *R. mucilaginosa* και του *C. neoformans*, ενώ η VRC παρουσίασε υψηλότερη δραστικότητα *in vitro* έναντι του *S. cerevisiae*, του *T. asahii* και της *S. clavata*.

Σύμφωνα με τα EUCAST ECOFFs που διατίθενται μέχρι στιγμής για κάποια από τα εξεταζόμενα είδη και για συγκεκριμένα αντιμυκητικά, όλα τα στελέχη *S. cerevisiae* ανήκουν στο φυσικό πληθυσμό για AMB, ενώ 5/7 (71%) δεν ανήκουν στο φυσικό πληθυσμό για ITC. Αντιθέτως, όλα τα στελέχη *C. neoformans* ανήκουν στο φυσικό πληθυσμό για AMB, POS και VRC. Αντίστοιχα, λαμβάνοντας υπόψη τα διαθέσιμα CLSI επιδημιολογικά όρια, όλα τα στελέχη *S. cerevisiae* ανήκουν στο φυσικό πληθυσμό για AMB, AFG, MFG, CAS, FLC, VRC και POS, 4/7 (57%) δεν ανήκουν στο φυσικό πληθυσμό για ITC. Από την άλλη πλευρά, όλα τα στελέχη *C. neoformans* ανήκουν στο φυσικό πληθυσμό για AMB, FLC, ITC, POS και VRC.

Πίνακας 12. Προφίλ της *in vitro* ευαισθησίας στα αντιμυκητικά των στελεχών σπάνιων ζυμομυκήτων που μελετήθηκαν στο πλαίσιο της παρούσας εργασίας.

Είδος (αριθμός στελεχών)	Αντιμυκητικός παράγοντας	Μέση τιμή (εύρος) CLSI MIC (mg/L)	Μέση τιμή (εύρος) EUCAST MIC (mg/L)
<i>R. mucilaginosa</i> (n=8)	AMB	0,5 (0,5-1)	0,25 (0,25-0,5)
	VRC	2 (1-4)	2 (1-4)
	POS	2 (1-2)	1 (0,5-2)
	ISA	0,25 (0,25-0,5)	0,25 (0,25-2)
	ITC	1 (1-1)	0,5 (0,5-1)
	FLC	>128 (128->128)	>128 (64->128)
	AFG	>4 (>4->4)	>4 (4->4)
	CAS	>4 (>4->4)	>4 (4->4)
	MFG	>4 (>4->4)	>4 (>4->4)
<i>S. cerevisiae</i> (n=7)	AMB	0,25 (0,25-0,5)	0,25 (0,25-0,25)
	VRC	0,125 (0,06-0,25)	0,25 (0,25-0,25)
	POS	0,5 (0,25-1)	1 (0,25-1)
	ISA	0,25 (0,125-0,25)	1 (0,5-1)
	ITC	16 (1-16)	8 (0,5-16)
	FLC	8 (4-8)	16 (8-16)
	AFG	0,06 (0,06-0,125)	0,125 (0,06-0,125)
	CAS	0,06 (0,06-0,5)	0,5 (0,5-1)
	MFG	0,125 (0,125-0,25)	0,125 (0,06-0,125)
<i>T. asahii</i> (n=6)	AMB	0,5 (0,5-1)	1 (1-1)
	VRC	0,125 (0,06-0,125)	0,125 (0,06-0,25)
	POS	0,25 (0,125-0,25)	0,5 (0,25-0,5)
	ISA	0,25 (0,125-0,25)	0,125 (0,06-0,5)
	ITC	0,25 (0,125-0,25)	0,5 (0,125-0,5)
	FLC	4 (2-4)	16 (8-16)
	AFG	>4 (>4->4)	>4 (4->4)
	CAS	>4 (>4->4)	>4 (4->4)
	MFG	>4 (>4->4)	>4 (>4->4)
<i>C. neoformans</i> (n=4)	AMB	0,5 (0,25-0,5)	0,25 (0,25-0,5)
	VRC	0,03 (0,03-0,03)	0,06 (0,06-0,06)
	POS	0,06 (0,03-0,25)	0,125 (0,125-0,5)
	ISA	0,016 (0,008-0,016)	0,06 (0,03-0,06)
	ITC	0,06 (0,06-0,06)	0,125 (0,125-0,25)
	FLC	4 (2-4)	4 (4-4)
	AFG	>4 (>4->4)	>4 (>4->4)
	CAS	>4 (>4->4)	>4 (>4->4)
	MFG	>4 (>4->4)	>4 (>4->4)
<i>S. clavata</i> (n=1)	AMB	1	0,5
	VRC	0,25	0,5
	POS	0,5	0,5
	ISA	1	4
	ITC	0,25	0,25
	FLC	16	8
	AFG	2	>4
	CAS	>4	>4
	MFG	4	>4

Πληροφορίες σχετικά με την αντιμυκητική θεραπεία που χορηγήθηκε υπήρχαν διαθέσιμες για 19/32 περιστατικά. Ειδικότερα, μονοθεραπεία L-AMB χορηγήθηκε σε 2 ασθενείς (*C. neoformans* για 17 ημέρες και *R. mucilaginosa* για 30 ημέρες) και επιβίωσαν. Μονοθεραπεία εχينوκανδινών έλαβαν 5 ασθενείς, εκ των οποίων 1 AFG για 31 ημέρες και επιβίωσε (*R. mucilaginosa*), 1 AFG για 25 ημέρες και επιβίωσε (*S. cerevisiae*), 1 AFG για 6 ημέρες και απεβίωσε (*S. cerevisiae*), 1 AFG για 5 ημέρες και απεβίωσε (*T. asahii*), και 1 CAS για άγνωστη χρονική διάρκεια και επιβίωσε (*S. cerevisiae*). Μονοθεραπεία αζολών χορηγήθηκε 3 ασθενείς, εκ των οποίων 1 (*C. neoformans*) ISA για 1 ημέρα και 2 FLC (*S. cerevisiae* για 2 ημέρες και *R. mucilaginosa* για άγνωστο χρονικό διάστημα) και όλοι απεβίωσαν. Επίσης, σε αρκετούς ασθενείς κρίθηκε σκόπιμη η αλλαγή φαρμάκου στη διάρκεια της θεραπείας. Ειδικότερα, 1 έλαβε συνδυασμό L-AMB+5FC για 28 ημέρες, ακολουθούμενο από FLC για 30 ημέρες (*C. neoformans*), 1 έλαβε FLC για 9 ημέρες, ακολουθούμενη από L-AMB για 7 ημέρες (*R. mucilaginosa*), 1 έλαβε FLC για 6 ημέρες, ακολουθούμενη από CAS για 4 ημέρες (*S. cerevisiae*), 1 έλαβε L-AMB για 3 ημέρες, ακολουθούμενη από συνδυασμό L-AMB+VRC για 4 ημέρες (*T. asahii*), και όλοι απεβίωσαν. Από την άλλη πλευρά, 1 έλαβε CAS για 7 ημέρες, ακολουθούμενη από L-AMB για 19 ημέρες (*R. mucilaginosa*), 1 έλαβε FLC για 5 ημέρες, ακολουθούμενη από L-AMB για 19 ημέρες (*R. mucilaginosa*), 1 έλαβε AFG για 2 ημέρες, ακολουθούμενη από L-AMB για 20 ημέρες (*R. mucilaginosa*), 1 έλαβε L-AMB για 10 ημέρες, ακολουθούμενη από VRC για 21 ημέρες (*T. asahii*), και όλοι επιβίωσαν. Τέλος, σε 1 ασθενή χορηγήθηκε συνδυαστική θεραπεία L-AMB και VRC για 17 ημέρες και απεβίωσε (*T. asahii*).

Η έκβαση της νοσηλείας ήταν γνωστή για το σύνολο των ασθενών. Συγκεκριμένα, 19/32 δεν κατάφεραν να επιβιώσουν, με την αδρή θνητότητα σε ασθενείς με μυκηταιμία από σπάνιο ζυμομύκητα να διαμορφώνεται στο 59%.

Πίνακας 13. Δημογραφικά και κλινικά χαρακτηριστικά των ασθενών με μυκηταιμία από σπάνιο ζυμομύκητα που περιλαμβάνονται στην παρούσα μελέτη.

Αιτιολογικός παράγοντας	Φύλο/ Ηλικία (έτη)	Χρονολογία	Υποκείμενο νόσημα/ Παράγοντες κινδύνου	Εκ διαφυγής μυκηταιμία (αντιμυκητικό)	Αντιμυκητική θεραπεία (ημέρες χορήγησης)	Έκβαση
<i>C. neoformans</i>	A/78	2011	Αυτοάνοση ηπατίτιδα, ουδετεροπενία, ΣΔ, ΛΚ, ΧΚ, ΛΑ	Όχι	L-AMB+5FC (28)→FLC (37)	Θάνατος
<i>C. neoformans</i>	A/61	2017	ΧΛΛ, ουδετεροπενία, ΧΚ, ΛΑ	Όχι	L-AMB (17)	Βελτίωση
<i>C. neoformans</i>	A/42	2020	Κρυπτοκοκκική μηνιγγίτιδα, σάρκωμα Karosi σχετιζόμενο με HIV, ΜΔ παράγοντες κινδύνου	ΜΔ	ΜΔ	Βελτίωση
<i>C. neoformans</i>	A/85	2022	Αιματολογική πάθηση, βακτηριαιμία από <i>A. baumannii</i> , ΧΚ, ΛΑ	Όχι	ISA (1)	Θάνατος
<i>R. mucilaginosa</i>	A/38	2009	Μόρφωμα ήπατος, ΛΚ, ΧΚ, ΛΑ	Όχι	CAS (7)→L-AMB (19)	Βελτίωση
<i>R. mucilaginosa</i>	A/65	2010	ΜΔΣ, λέμφωμα non-Hodgkin, κακοήθεια πνεύμονα, ΜΔ παράγοντες κινδύνου	ΜΔ	ΜΔ	Βελτίωση
<i>R. mucilaginosa</i>	Θ/83	2011	ΠΔ, ΧΚ, ΛΑ	Όχι	FLC (9)→L-AMB (7)	Θάνατος
<i>R. mucilaginosa</i>	Θ/84	2011	Κακοήθεια νεφρού, νόσος του Lobo, αιμοκάθαρση, ΧΚ, ΛΑ	Όχι	L-AMB (30)	Βελτίωση
<i>R. mucilaginosa</i>	A/25	2012	Κακοήθεια οισοφάγου, ΠΔ, ΛΑΚ, ΧΚ, ΛΑ	Ναι (FLC, 25)	FLC (ΜΔ)	Θάνατος

<i>R. mucilaginosa</i>	Θ/39	2013	Λέμφωμα Burkitt, ΧΚ, ΛΑ	Ναι (MFG, 2→ FLC, 11)	FLC (5)→L-AMB (19)	Βελτίωση
<i>R. mucilaginosa</i>	Θ/49	2013	Κακοήθεια μαστού, ΜΔ παράγοντες κινδύνου	ΜΔ	ΜΔ	Θάνατος
<i>R. mucilaginosa</i>	Α/17	2015	ΠΧ, ΠΔ, ΛΠ, ΧΚ, ΛΑ	Όχι	AFG (31)	Βελτίωση
<i>R. mucilaginosa</i>	Α/69	2015	Διάρρηση λεπτού εντέρου, κίρρωση ήπατος, βακτηριαμία από <i>K. pneumoniae</i> , ΠΧ, ΠΔ, ΧΚ, ΛΑ	Όχι	AFG (2)→L-AMB (20)	Βελτίωση
<i>R. mucilaginosa</i>	Α/77	2017	ΧΛΛ, ΜΔ παράγοντες κινδύνου	ΜΔ	ΜΔ	Βελτίωση
<i>R. mucilaginosa</i>	Α/67	2018	ΜΔ	ΜΔ	ΜΔ	Θάνατος
<i>R. mucilaginosa</i>	Α/64	2020	Κακοήθεια μαστού, ΜΔ παράγοντες κινδύνου	ΜΔ	ΜΔ	Βελτίωση
<i>S. cerevisiae</i>	Θ/82	2009	Βακτηριαμία από <i>K. pneumoniae</i> , ΣΔ, ΠΧ, ΠΔ, ΛΠ, ΛΚ, ΧΚ, ΛΑ	Ναι (FLC, 21)	FLC (2)	Θάνατος
<i>S. cerevisiae</i>	Θ/66	2011	ΣΔ, ΠΔ, ΛΠ, ΛΚ, ΧΚ, ΛΑ	Όχι	AFG (6)	Θάνατος
<i>S. cerevisiae</i>	Θ/78	2014	Ενδοκαρδίτιδα, ΜΔ παράγοντες κινδύνου	ΜΔ	ΜΔ	Θάνατος
<i>S. cerevisiae</i>	Θ/70	2014	Λέμφωμα non-Hodgkin, ΜΔ παράγοντες κινδύνου	ΜΔ	ΜΔ	Θάνατος
<i>S. cerevisiae</i>	Α/81	2017	Νόσος Parkinson, ΣΔ, ΜΔ παράγοντες κινδύνου	ΜΔ	ΜΔ	Θάνατος

<i>S. cerevisiae</i>	A/69	2017	Κακοήθεια πνεύμονα, ΛΠ, ΠΔ, ΛΚ, ΧΚ, ΛΑ	Όχι	FLC (6)→CAS (4)	Θάνατος
<i>S. cerevisiae</i>	Θ/53	2018	ΜΔ	ΜΔ	ΜΔ	Θάνατος
<i>S. cerevisiae</i>	Θ/78	2018	Αυτοάνοση ηπατίτιδα, ΣΔ, ΠΔ, ΛΚ, ΧΚ, ΛΑ	Όχι	CAS (ΜΔ)	Βελτίωση
<i>S. cerevisiae</i>	A/77	2018	ΣΔ, ΠΧ, ΠΔ, ΧΚ, ΛΑ	Ναι (AFG, 23)	AFG (25)	Βελτίωση
<i>S. clavata</i>	A/72	2019	ΜΔ	ΜΔ	ΜΔ	Θάνατος
<i>T. asahii</i>	A/84	2014	Όγκος και ΠΧ στο κρανίο, ΛΚ, ΠΔ, ΧΚ, ΛΑ	Όχι	L-AMB (3)→L-AMB+VRC (4)	Θάνατος
<i>T. asahii</i>	A/67	2017	ΟΜΛ, ΜΔ παράγοντες κινδύνου	ΜΔ	ΜΔ	Θάνατος
<i>T. asahii</i>	Θ/74	2018	ΜΔ	ΜΔ	ΜΔ	Θάνατος
<i>T. asahii</i>	A/59	2022	Βακτηριαμία από <i>E. faecium</i> , ΣΔ, ουδετεροπενία, ΧΚ, ΛΑ	Όχι	L-AMB (10)→VRC (21)	Βελτίωση
<i>T. asahii</i>	A/88	2022	Έγκαυμα προσώπου-θώρακα, ΣΔ, ΠΔ, ΧΚ, ΛΑ	Ναι (AFG, 9)	AFG (5)	Θάνατος
<i>T. asahii</i>	A/59	2022	Αιματολογική πάθηση, ουδετεροπενία, ΣΔ, ΧΚ, ΛΑ	Όχι	L-AMB+VRC (17)	Θάνατος

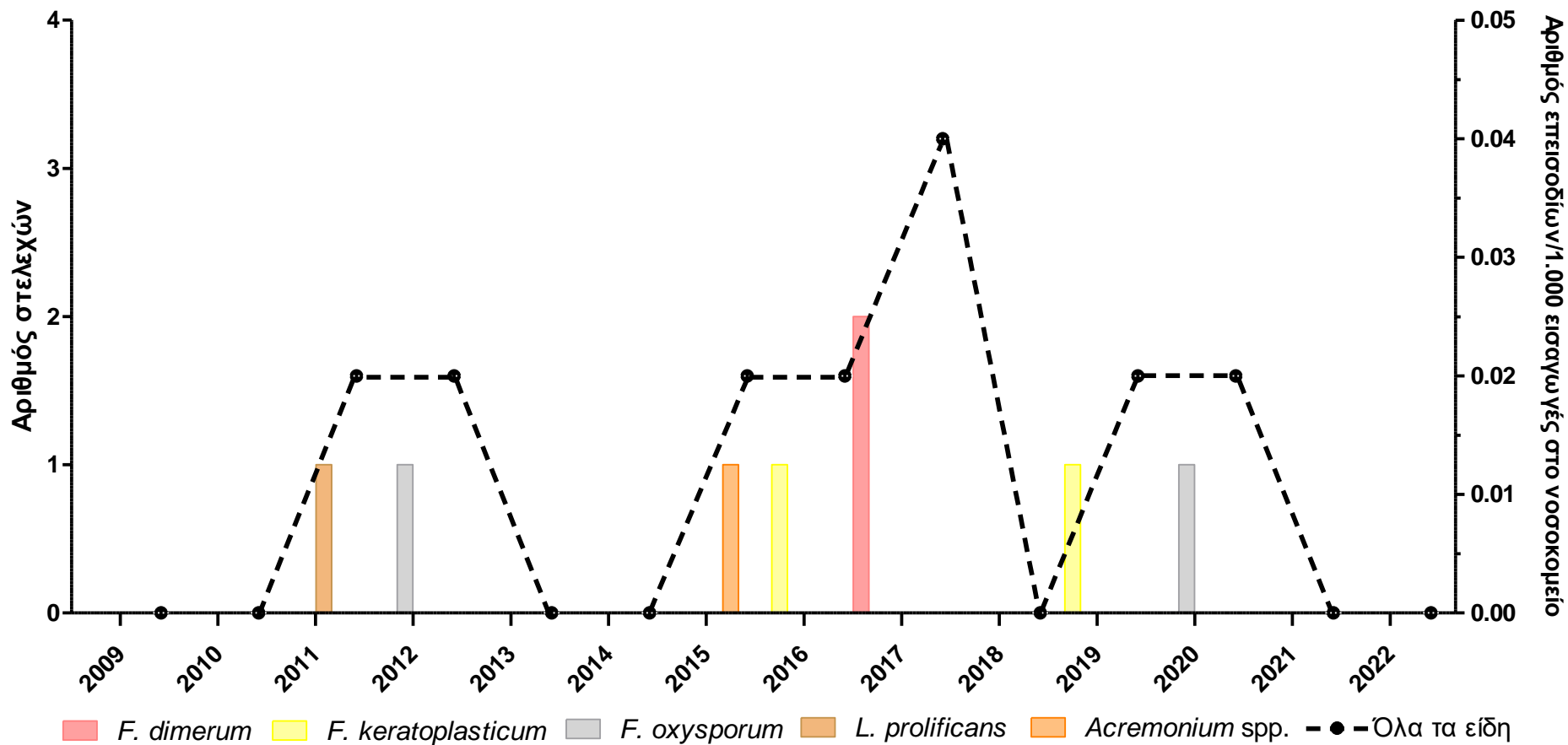
A: άρρεν, Θ: θήλυ, ΛΑ: λήψη αντιβιοτικών, ΛΑΚ: λήψη ανασοκατασταλτικού φαρμάκου, ΛΚ: λήψη κορτικοστεροειδών, ΛΠ: λήψη προβιοτικών, ΜΔ: μη διαθέσιμο, ΜΔΣ: μυελοδυσπλαστικό σύνδρομο, ΟΜΛ: οξεία μυελογενής λευχαιμία, ΠΔ: παρεντερική διατροφή, ΠΧ: πρόσφατο χειρουργείο, ΣΔ: σακχαρώδης διαβήτης, ΧΚ: χρήση καθετήρα, ΧΛΛ: χρόνια λεμφοκυτταρική λευχαιμία

- **Νηματοειδείς μύκητες**

8 περιστατικά μυκηταιμίας είχαν ως αιτιολογικό παράγοντα κάποιο σπάνιο νηματοειδή μύκητα, διαμορφώνοντας τη συνολική (εύρος) συχνότητα εμφάνισης της λοίμωξης στο 1% (0-3,5%). Η συνολική (εύρος) επίπτωσή της υπολογίστηκε στα 0,01 (0-0,04) επεισόδια/1.000 εισαγωγές στο νοσοκομείο και στα 0,03 (0-0,09) επεισόδια/10.000 ημέρες νοσηλείας. Το σύνολο των περιπτώσεων αφορούν σε ασθενείς που νοσηλεύτηκαν σε κλινικές του παθολογικού τομέα.

Αναφορικά με τα δημογραφικά χαρακτηριστικά των ασθενών, 6/8 (75%) ήταν άντρες και η μέση (εύρος) ηλικία τους ήταν τα 60 (27-83) έτη. Ως συχνότερο υποκείμενο νόσημα καταγράφηκε η αιματολογική κακοήθεια (4/8, 50%), ο ΣΔ (2/8, 25%), η κακοήθεια συμπαγούς οργάνου (1/8, 12%) και κάποιο αυτοάνοσο νόσημα (1/8, 12%). Έλλειψη δεδομένων σχετικά με τους παράγοντες κινδύνου για την εμφάνιση της λοίμωξης καταγράφηκε στις μισές περιπτώσεις. Λαμβάνοντας υπόψη τους εναπομείναντες 4 ασθενείς, όλοι έφεραν καθετήρα και λάμβαναν αντιβιοτικά, ενώ στους μισούς χορηγούνταν παρεντερική διατροφή. Επιπλέον, 3/4 (75%) ήταν ουδετεροπενικοί. Τέλος, δεδομένα αναφορικά με τη χορηγηθείσα αντιμυκητική θεραπεία ήταν διαθέσιμα μόλις για τους 3/8 ασθενείς. Σύμφωνα με αυτά, 2/3 (67%) περιστατικά ήταν εκ διαφυγής λοιμώξεις καθώς οι ασθενείς ήταν υπό αντιμυκητική αγωγή κατά την εμφάνιση της μυκηταιμίας, και συγκεκριμένα 1 υπό νυστατίνη για 7 ημέρες (*F. dimerum*) και 1 υπό AFG για 3 ημέρες, ακολουθούμενη με τη σειρά από CAS για 7 ημέρες, L-AMB για 1 ημέρα και συνδυασμό L-AMB+ISA για 3 ημέρες (*F. keratoplasticum*).

Ο κύριος αιτιολογικός παράγοντας της μυκηταιμίας ήταν διάφορα *Fusarium* spp. (6/8, 75%), εκ των οποίων 2 *F. dimerum*, 2 *F. keratoplasticum* και 2 *F. oxysporum*, ακολουθούμενα από τη *L. prolificans* και κάποιο *Acremonium* spp. Όλα τα στελέχη, εκτός του *Acremonium* spp., ήταν διαθέσιμα για μοριακή ταυτοποίηση (αριθμοί πρόσβασης GenBank OR400646, OR400706, OR400707, OR400739, OR400740, OR400759 και OR400739).



Εικόνα 63. Ετήσια κατανομή των αιτιολογικών παραγόντων και επίπτωση της μυκηταιμίας από σπάνιους νηματοειδείς μύκητες στο Π.Γ.Ν. “Αττικόν” στη διάρκεια της 14ετίας 2009-2022.

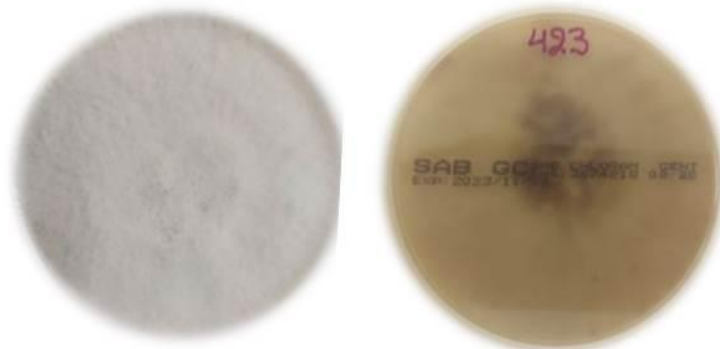
F. dimerum



F. keratoplasticum



F. oxysporum



L. prolificans



Εικόνα 64. Πρόσθια (αριστερά) και οπίσθια (δεξιά) επιφάνεια της αποικίας σε SDA 8 ημερών, 30°C, στελεχών σπάνιων νηματοειδών μυκήτων που μελετήθηκαν στο πλαίσιο της παρούσας εργασίας.

7/8 στελέχη ήταν διαθέσιμα για AFST. Αναφορικά με τα *Fusarium* spp., η AMB ήταν η μόνη που υπέδειξε δραστικότητα *in vitro* έναντι όλων των εξεταζόμενων ειδών (CLSI/EUCAST MICs 0,25-2 mg/L). Λαμβάνοντας υπόψη το EUCAST επιδημιολογικό όριο για το συνδυασμό AMB-συμπλέγματος ειδών *F. solani* (στο οποίο ανήκει το *F. keratoplasticum*), τα στελέχη *F. keratoplasticum* ανήκουν στο φυσικό πληθυσμό για AMB. Από την άλλη πλευρά, κανένα από τα αντιμυκητικά δεν ήταν δραστικό *in vitro* έναντι της *L. prolificans*.

Πίνακας 14. Προφίλ της *in vitro* ευαισθησίας στα αντιμυκητικά των στελεχών σπάνιων νηματοειδών μυκήτων που μελετήθηκαν στο πλαίσιο της παρούσας εργασίας.

Είδος (αριθμός στελεχών)	Αντιμυκητικός παράγοντας	Μέση τιμή (εύρος) CLSI MIC (mg/L)	Μέση τιμή (εύρος) EUCAST MIC (mg/L)
<i>Fusarium</i> spp. (n=6)	AMB	1 (0,5-2)	0,5 (0,25-1)
	VRC	4 (2-8)	4 (2-8)
	POS	8 (2->8)	>8 (2->8)
	ISA	>8 (>8->8)	>8 (>8->8)
	ITC	>16 (>16->16)	>16 (>16->16)
<i>L. prolificans</i> (n=1)	AMB	8	4
	VRC	>8	>8
	POS	>8	>8
	ISA	>8	>8
	ITC	>16	>16

Πληροφορίες σχετικά με την αντιμυκητική θεραπεία που χορηγήθηκε υπήρχαν διαθέσιμες για 3/8 περιστατικά. Ειδικότερα, μονοθεραπεία νυστατίνης χορηγήθηκε σε 1 ασθενή για 7 ημέρες και επιβίωσε (*F. dimerum*), συνδυαστική θεραπεία L-AMB+ISA έλαβε 1 ασθενής για 3 ημέρες και απεβίωσε (*F. keratoplasticum*), ενώ 1 ασθενής απεβίωσε πριν προλάβει να λάβει θεραπεία (*Acremonium* spp.). Η έκβαση της νοσηλείας ήταν γνωστή για το σύνολο των ασθενών. Συγκεκριμένα, 3/8 δεν κατάφεραν να επιβιώσουν, με την αδρή θνητότητα σε ασθενείς με μυκηταιμία από σπάνιο νηματοειδή μύκητα να διαμορφώνεται στο 38%.

Πίνακας 15. Δημογραφικά και κλινικά χαρακτηριστικά των ασθενών με μυκηταιμία από σπάνιο νηματοειδή μύκητα που περιλαμβάνονται στην παρούσα μελέτη.

Αιτιολογικός παράγοντας	Φύλο/ Ηλικία (έτη)	Χρονολογία	Υποκείμενο νόσημα/ Παράγοντες κινδύνου	Εκ διαφυγής μυκηταιμία (αντιμυκητικό)	Αντιμυκητική θεραπεία (ημέρες χορήγησης)	Έκβαση
<i>Acremonium</i> spp.	A/83	2015	ΣΔ, ΠΔ, ΧΚ, ΛΑ	Όχι	Δεν έλαβε	Θάνατος
<i>L. prolificans</i>	A/27	2011	Μυκητική ρινοκολπίτιδα, ΜΔ παράγοντες κινδύνου	ΜΔ	ΜΔ	Βελτίωση
<i>F. dimerum</i>	Θ/42	2017	Ερυθρηματώδης λύκος, ΜΔ παράγοντες κινδύνου	ΜΔ	ΜΔ	Βελτίωση
<i>F. dimerum</i>	Θ/75	2017	Κακοήθεια πνεύμονα, ουδετεροπενία, ΛΑΚ, ΧΚ, ΛΑ	Ναι (Νυστατίνη, 7)	Νυστατίνη (7)	Βελτίωση
<i>F. keratoplasticum</i>	A/58	2016	Λέμφωμα non-Hodgkin, ΜΔ παράγοντες κινδύνου	ΜΔ	ΜΔ	Θάνατος
<i>F. keratoplasticum</i>	A/70	2019	Λέμφωμα non-Hodgkin, ουδετεροπενία, ΠΧ, ΠΔ, ΛΚ, ΧΚ, ΛΑ	Ναι, (AFG, 3→CAS, 7→ L-AMB, 1→ L-AMB+ISA, 3)	L-AMB+ISA (3)	Θάνατος
<i>F. oxysporum</i>	A/73	2012	ΟΜΛ, ΜΔ παράγοντες κινδύνου	ΜΔ	ΜΔ	Βελτίωση
<i>F. oxysporum</i>	A/51	2020	ΟΜΛ, GvHD, ουδετεροπενία, ΣΔ, ΧΘ, ΧΚ, ΛΑ	ΜΔ	ΜΔ	Βελτίωση

GvHD: νόσος μοσχεύματος έναντι του ξενιστή, A: άρρεν, Θ: θήλυ, ΛΑ: λήψη αντιβιοτικών, ΛΑΚ: λήψη ανασοκατασταλτικού φαρμάκου, ΛΚ: λήψη κορτικοστεροειδών, ΜΔ: μη διαθέσιμο, ΟΜΛ: οξεία μυελογενής λευχαιμία, ΠΔ: παρεντερική διατροφή, ΠΧ: πρόσφατο χειρουργείο, ΣΔ: σακχαρώδης διαβήτης, ΧΚ: χρήση καθετήρα, ΧΘ: χημειοθεραπεία

4. Συζήτηση-Συμπεράσματα

Στο πλαίσιο της παρούσας πτυχιακής εργασίας πραγματοποιήθηκε η επιδημιολογική επιτήρηση των σπάνιων μυκηταιμιών ενός μεγάλου νοσηλευτικού ιδρυμάτος της χώρας, για μια χρονική περίοδο 14 ετών (2009-2022). Σε αυτήν την χρονική περίοδο καταγράφηκαν συνολικά 40 περιστατικά μυκηταιμιών με αιτιολογικό παράγοντα κάποιο σπάνιο ζυμομύκητα (32/40, 80%) ή σπάνιο νηματοειδή μύκητα (8/40, 20%). Η συχνότητα εμφάνισης μυκηταιμίας από σπάνιο ζυμομύκητα υπολογίστηκε στο 3,8% και από σπάνιο νηματοειδή μύκητα στο 1%. Η μελέτη των σύγχρονων βιβλιογραφικών ανασκοπήσεων αναφέρει πως περίπου το 1,1%-10% του συνολικού αριθμού των μυκηταιμιών οφείλεται σε κάποιο non-*Candida* είδος ζυμομύκητα (15), ενώ αντίστοιχα δεδομένα για τις μυκηταιμίες από σπάνιους νηματοειδείς μύκητες δεν υπάρχουν. Τα ευρήματα της διεξαχθείσας έρευνας όσον αφορά τη συχνότητα της απομόνωσης σπάνιων μυκητικών παθογόνων από το αίμα βρίσκονται σε συμφωνία με αυτά που αναφέρει η παγκόσμια βιβλιογραφία. Συγχρόνως, πραγματοποιήθηκε βιβλιογραφική ανασκόπηση όλων των εν γνώσει μας περιστατικών μυκηταιμίας από σπάνιο ζυμομύκητα και σπάνιο νηματοειδή μύκητα στην Ελλάδα για μια χρονική περίοδο 29 ετών (1994-2022), με στόχο την διαμόρφωση μιας πρώτης εικόνας για την επιδημιολογία της νόσου σε εθνικό επίπεδο. Η μελέτη της βιβλιογραφίας των περιστατικών μυκηταιμίας, όσον αφορά τα ελληνικά δεδομένα, οδήγησε στην ανάκτηση 20 δημοσιεύσεων (12,78,84,170–183,185–187), στις οποίες περιγράφονται συνολικά 95 περιστατικά μυκηταιμιών από σπάνιους μύκητες, με τα 77/95 (81%) να έχουν ως αιτιολογικό παράγοντα κάποιο σπάνιο ζυμομύκητα και τα 18/95 (19%) κάποιο σπάνιο νηματοειδή μύκητα.

Τα υπάρχοντα διαθέσιμα δεδομένα για αυτό το ζήτημα σε εθνικό επίπεδο είναι ελάχιστα και προέρχονται ως επί το πλείστον από δημοσιευμένες μελέτες που αφορούν μεμονωμένα περιστατικά, είτε μελέτες συρροής κρουσμάτων από μεμονωμένα νοσηλευτικά ιδρύματα, με καμία πολυκεντρική έρευνα να έχει διεξαχθεί (12,78,84,170–183,185–187). Συγχρόνως, ορισμένα από αυτά τα δεδομένα αφορούν προγενέστερες χρονικές περιόδους, ενώ σε κάποιες έρευνες

εντοπίζεται έλλειψη σημαντικών δεδομένων για την διαμόρφωση ασφαλών συμπερασμάτων. Όλες αυτές οι παράμετροι δυσχεραίνουν την αποτύπωση της παρούσας επιδημιολογικής εικόνας της νόσου στη χώρα. Η ανάγκη για έγκυρα και επικαιροποιημένα δεδομένα είναι πιο επιτακτική από ποτέ. Για την επίτευξη της ορθής επιδημιολογικής επιτήρησης της νόσου, απαιτείται συνεργασία και συντονισμός από πλευρά του κράτους, ώστε όλα τα νοσηλευτικά ιδρύματα της χώρας να προχωρήσουν στην επιδημιολογική επιτήρηση των μυκηταιμιών από μη συνηθισμένους αιτιολογικούς παράγοντες.

Αντιστοίχως της παγκόσμιας βιβλιογραφίας, τα δεδομένα για τους σπάνιους ζυμομύκητες είναι περισσότερα από αυτά για τους σπάνιους νηματοειδείς. Η συντριπτική πλειοψηφία των δημοσιευμένων ερευνών αφορά την περιγραφή περιστατικών μυκηταιμίας από σπάνιους ζυμομύκητες (12,78,84,170,172–183), εκ των οποίων δύο είναι οι έρευνες, των οποίων η μελέτη μας πληροφορεί για την συχνότητα εμφάνισης της νόσου στη χώρα (12,183). Η πρώτη είναι μια έρευνα για το χρονικό διάστημα 2018-2021 που διεξήχθη από ερευνητές σε πανεπιστημιακό νοσοκομείο τριτοβάθμιας φροντίδας μεγάλης πόλης της χώρας και αφορά τον γενικό πληθυσμό. Σύμφωνα με αυτήν, η συχνότητα εμφάνισης μυκηταιμιών από σπάνιους ζυμομύκητες είναι 4% (183). Η δεύτερη αφορά και αυτή τον γενικό πληθυσμό και λαμβάνονται πληροφορίες για την συχνότητα εμφάνισης της νόσου, στο πλαίσιο της επιδημιολογικής επιτήρησης των μυκηταιμιών ενός νοσηλευτικού ιδρύματος της χώρας (2009-2018). Από την μελέτη αυτή προκύπτει πως η συχνότητα εμφάνισης της νόσου είναι 6% για μυκηταιμίες με αιτιολογικό παράγοντα σπάνιο ζυμομύκητα. Ωστόσο, δεν παρέχονται σημαντικές πληροφορίες, όπως είναι τα δημογραφικά και κλινικά χαρακτηριστικά των ασθενών (12), που είναι καθοριστικά για την διεξαγωγή ορθών συμπερασμάτων. Άξιο αναφοράς είναι πως η έρευνα αυτή περιλαμβάνει μέρος των δεδομένων του νοσηλευτικού ιδρύματος επιλογής, τα οποία εξετάστηκαν εκτενέστερα στο πλαίσιο διεξαγωγής της παρούσας πτυχιακής εργασίας. Σύμφωνα με τα ευρήματά μας για το χρονικό διάστημα 2009-2022, το ποσοστό εκδήλωσης μυκηταιμίας από σπάνιο ζυμομύκητα ανήλθε σε 3,8%. Κάποιες πληροφορίες λαμβάνονται και από έρευνα που αφορά περιστατικά διηθητικών μυκητικών λοιμωξέων σε νεογνά, βρέφη και παιδιατρικούς ασθενείς σε νοσοκομείο της πρωτεύουσας. Ωστόσο, και σε αυτήν την έρευνα παρατηρείται έλλειψη σημαντικών δεδομένων, όπως η θεραπευτική

αγωγή που χορηγήθηκε στους ασθενείς και η έκβαση των περιστατικών. Η έρευνα αυτή είναι μη αντιπροσωπευτική, καθώς δεν αφορά τον γενικό πληθυσμό, αλλά μια συγκεκριμένη πληθυσμιακή ομάδα με ιδιαίτερα χαρακτηριστικά (182). Επομένως, δεν μπορεί να συμβάλλει στην διεξαγωγή συμπερασμάτων για τον γενικό πληθυσμό. Συγχρόνως, τα δεδομένα για τους νηματοειδείς μύκητες εκλείπουν ακόμη περισσότερο. Πληροφορίες για την συχνότητα εμφάνισης της νόσου στον γενικό πληθυσμό θα μπορούσαν να ληφθούν από μία από τις προαναφερθείσες έρευνες, σύμφωνα με την οποία το ποσοστό απομόνωσης σπάνιου νηματοειδή μύκητα από το αίμα ήταν 1,1%. Όπως αναφέρθηκε και προηγουμένως, η έρευνα αυτή έχει διεξαχθεί σε προγενέστερο χρονικό διάστημα στο νοσηλευτικό ίδρυμα επιλογής (12). Από την επιδημιολογική επιτήρηση των μυκηταιμιών από σπάνιους νηματοειδείς μύκητες αυτού του νοσοκομείου, στο πλαίσιο διαξαγωγής της παρούσας πτυχιακής εργασίας, το ποσοστό απομόνωσης διαμορφώθηκε στο 1%. Εξαιτίας των περιορισμένων δεδομένων που λαμβάνονται από την προαναφερθείσα μελέτη, άντληση πληροφοριών σχετικά με τα δημογραφικά και κλινικά χαρακτηριστικά των ασθενών μπορεί να πραγματοποιηθεί από μόνο 4 συνολικά μελέτες ενός κέντρου (171,185–187). Επομένως, σύμφωνα με τα παραπάνω δεδομένα η συχνότητα εμφάνισης στην Ελλάδα υπολογίζεται περίπου στο 3,8%-4% για τις μυκηταιμίες με αιτιολογικό παράγοντα σπάνιο ζυμομύκητα και στο 1% για αυτές με αιτιολογικό παράγοντα σπάνιο νηματοειδή μύκητα. Γίνεται λοιπόν αντιληπτό, ότι η στήριξη αποκλειστικά στα υπάρχοντα δεδομένα για την αποτύπωση της παρούσας επιδημιολογικής εικόνας των μυκηταιμιών από σπάνιους νηματοειδείς μύκητες, ελλοχεύει σοβαρούς κινδύνους και οδηγεί σε επισφαλή συμπεράσματα.

Παρά την πλήθυνση του αριθμού των διηθητικών λοιμώξεων από σπάνιους μύκητες, μεταξύ των οποίων και οι διηθητικές λοιμώξεις του αίματος από μη συνηθισμένο αιτιολογικό παράγοντα τα τελευταία χρόνια (1), η παγκόσμια κατανομή και επίπτωση των μυκηταιμιών από σπάνιους μύκητες δεν είναι πλήρως ξεκάθαρες (7). Τα παγκόσμια δεδομένα που υπάρχουν διαθέσιμα για τις μυκηταιμίες από σπάνιους μύκητες είναι λίγα. Επιπροσθέτως, στηρίζονται σε μεγάλο βαθμό σε μεμονωμένα περιστατικά (4,6), μελέτες ενός κέντρου (160,266) ή μελέτες σε συγκεκριμένες ομάδες πληθυσμών με συγκεκριμένα κλινικά χαρακτηριστικά (13,14). Συγχρόνως, πολλά από τα δεδομένα που παρουσιάζονται

είναι αναχρονιστικά, καθώς αφορούν προγενέστερες χρονικές περιόδους. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα να μην είναι απολύτως αντιπροσωπευτικά της σύγχρονης επιδημιολογικής εικόνας της νόσου. Επίσης, ποικίλοι είναι οι παράγοντες που καθορίζουν την επιδημιολογία αυτών των μυκηταιμιών (3,7,8), με αποτέλεσμα να παρατηρούνται διακυμάνσεις στα ποσοστά απομόνωσης των σπάνιων μυκήτων από το αίμα μεταξύ των διαφόρων ερευνών.

Σημαντικές προσπάθειες να διαφωτίσουν το «σκοτεινό» ακόμη επιδημιολογικό τοπίο των μυκηταιμιών αυτών έχουν πραγματοποιηθεί από ερευνητές στα πλαίσια πολυκεντρικών μελετών μιας ή περισσότερων χωρών. Ωστόσο, η συντριπτική πλειοψηφία αυτών των ερευνών αφορά μυκηταιμίες από σπάνιους ζυμομύκητες με τα παγκόσμια δεδομένα για τους σπάνιους νηματοειδείς μύκητες να είναι σχεδόν ανύπαρκτα. Περισσότερα όσον αφορά τον γενικό πληθυσμό είναι τα ευρήματα ερευνών που έχουν διεξαχθεί στο πλαίσιο διερεύνησης των περιστατικών από σπάνιους ζυμομύκητες. Ειδικότερα, πολυκεντρικές έρευνες στην Ισπανία (163–165), στη Σουηδία (166), στην Δανία (167) και στην Ινδία (11) υπέδειξαν ένα ποσοστό απομόνωσης των σπάνιων ζυμομυκήτων από το αίμα της τάξεως του 1-2,6%. Πολυκεντρικές έρευνες από την Πορτογαλία (169), την Γαλλία (5), το Βέλγιο (168) και την Κίνα (267) κατέγραψαν υψηλότερο ποσοστό, το οποίο παρουσιάζει διακύμανση 4-8%. Συγχρόνως, σε πολυκεντρική έρευνα 25 νοσηλευτικών ιδρυμάτων 6 μεγάλων χωρών της Ασίας για μια χρονική περίοδο διάρκειας ενός έτους (2010-2011), το ποσοστό των non-*Candida* μυκηταιμιών που καταγράφηκε ήταν 8% (11). Αποτελέσματα υπάρχουν και από 8 χώρες της Λατινικής Αμερικής για την χρονική περίοδο 1997-2022, κατά την οποία έχουν καταγραφεί 249 περιστατικά μυκηταιμίας από σπάνιο ζυμομύκητα, χωρίς όμως να υπάρχει επίγνωση του ποσοστού απομόνωσής τους (7). Όλες αυτές οι αποκλίσεις μεταξύ των ποσοστών τονίζουν για μια ακόμη φορά ότι η γεωγραφία της κάθε χώρας διαδραματίζει καθοριστικό ρόλο στον προσδιορισμό του επιπολασμού (7,8). Η μόνη διεθνής εν γνώσει μας έρευνα που λαμβάνονται πληροφορίες για μυκηταιμίες από σπάνιους νηματοειδείς μύκητες στο γενικό πληθυσμό είναι η επιδημιολογική επιτήρηση των μυκηταιμιών στη Δανία για το χρονικό διάστημα 2004-2009. Σύμφωνα με αυτήν, κατά την διάρκεια αυτής της εξαετίας καταγράφηκαν 11 περιστατικά λοιμώξεων του αίματος από σπάνιους νηματοειδείς μύκητες, με τη συχνότητα εκδήλωσης μυκηταιμίας από σπάνιο νηματοειδή μύκητα να

διαμορφώνεται στο 0,4% (167). Ωστόσο, η περίοδος διεξαγωγής της αφορά ένα παλαιότερο χρονικό διάστημα, με αποτέλεσμα να θεωρείται αμφίβολο αν τα αποτελέσματά της είναι αντικατοπτριστικά της σύγχρονης πραγματικότητας. Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζουν τα αποτελέσματα πολυκεντρικής έρευνας σε καρκινοπαθείς ασθενείς. Ειδικότερα, ο Ευρωπαϊκός Οργανισμός για την Έρευνα και τη Θεραπεία του Καρκίνου (European Organisation for Research and Treatment of Cancer, EORTC) πραγματοποίησε την χρονική περίοδο 01/11/2005-02/11/2009 μια πολυκεντρική έρευνα με στόχο την διερεύνηση των επεισοδίων μυκηταιμίας σε ασθενείς με κακοήθεια. Σε αυτήν συμμετείχαν συνολικά 13 EORTC κέντρα από 8 χώρες. Σύμφωνα με αυτήν αναφέρονται 297 περιστατικά μυκηταιμίας, με τα 21 από αυτά (7%) να ανήκουν σε κάποιο σπάνιο είδος ζυμομύκητα και 4 (1%) από αυτά σε σπάνιο είδος νηματοειδούς μύκητα (268). Γίνεται λοιπόν αντιληπτό πως και σε κάποια ειδική ομάδα του πληθυσμού, όπως είναι οι καρκινοπαθείς, τα ποσοστά απομόνωσης των μυκηταιμιών από σπάνιους νηματοειδείς μύκητες δεν αποκλίνουν από αυτά που έχουν καταγραφεί στο γενικό πληθυσμό. Όσον αφορά τις μυκηταιμίες από σπάνιους ζυμομύκητες, το ποσοστό αυτό είναι περισσότερο συμβατό με αυτό που κατέγραψαν χώρες με υψηλότερο ποσοστό, όπως το Βέλγιο (168) και η Κίνα (267), με ποσοστά απομόνωσης περίπου 8% .

Αναφορικά με τα δημογραφικά χαρακτηριστικά των ασθενών στην ανασκόπηση για την Ελλάδα, πληροφορίες λαμβάνονται από 19 έρευνες (78,84,170-183,185-187). Επίγνωση για το φύλο τους υπήρχε για 62 ασθενείς, με την συντριπτική πλειοψηφία τους να είναι άνδρες (43/62, 70%). Σε πολυκεντρική έρευνα της Ισπανίας για μυκηταιμίες από σπάνιους ζυμομύκητες, σχεδόν όλοι οι ασθενείς (89%) ήταν άνδρες (165). Ωστόσο, προς το παρόν, λόγω της ανεπάρκειας δεδομένων, δεν μπορεί να αναφερθεί με βεβαιότητα ότι το ανδρικό φύλο μπορεί να αποτελέσει επιπρόσθετο παράγοντα κινδύνου. Όσον αφορά τα ηλικιακά δεδομένα, επίγνωση για την ηλικία των ασθενών υπάρχει για τα 62 περιστατικά. Συγκεκριμένα, 10/62 (16%) περιστατικά αφορούσαν την εμφάνιση μυκηταιμίας σε νεογνά και βρέφη (0-1 ετών), 16/62 (25%) σε παιδιατρικούς ασθενείς (1-17 ετών), 11/62 (18%) σε ενήλικες 18-59 ετών και 25/62 (40%) ενήλικες 60 και άνω ετών. Η ηλικιακή ομάδα με τα περισσότερα καταγεγραμμένα περιστατικά ήταν αυτή των ενηλικών 60 και άνω ετών. Σύμφωνα με μελέτη του

τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου του Στάνφορντ στην Καλιφόρνια των ΗΠΑ, από τα 60 έτη και έπειτα, το ανοσοποιητικό σύστημα του ανθρώπου, χάνει την ικανότητα του να προστατεύει δραστικά τον οργανισμό και υφίσταται σημαντικές μεταβολές με αποτέλεσμα να οδηγείται προοδευτικά σε μια κατάσταση ανοσολογικής γήρανσης (269). Η ανοσολογική γήρανση σε συνδυασμό με σοβαρούς προδιαθεσιακούς παράγοντες καθιστούν αυτά τα άτομα πιο ευάλωτα σε λοιμώξεις από σπάνια είδη μυκήτων.

Όσον αφορά τα ελληνικά δεδομένα, ποικίλοι ήταν οι αιτιολογικοί παράγοντες των μυκηταιμιών από σπάνιους ζυμομύκητες, με τα γένη που καταγράφηκαν περισσότερο να είναι τα *Rhodotorula* (27%), *Saccharomyces* (26%) *Trichosporon* (19%) και *Cryptococcus* (16%). Δεδομένα αντλούνται και από τις 16 έρευνες για μυκηταιμίες από σπάνιους ζυμομύκητες (12,78,84,170,172–183). Σε άλλες έρευνες που έχουν διεξαχθεί και αφορούν την απομόνωση σπάνιων ζυμομυκήτων, τα γένη *Rhodotorula*, *Trichosporon*, *Saccharomyces* και *Cryptococcus* ήταν ανάμεσα στα πιο συχνά απομονωθέντα είδη. Συγκεκριμένα, σε μία από τις μεγαλύτερες έρευνες που έχουν πραγματοποιηθεί για την καταγραφή και την μελέτη των διηθητικών λοιμώξεων από ζυμομύκητες είναι το project «ARTEMIS». Σε αυτό συμπεριλαμβάνονται δεδομένα από 133 ινστιτούτα σε 40 χώρες για μια χρονική περίοδο διάρκειας 10,5 ετών, από τον Ιούνιο του 1997 έως τον Δεκέμβριο του 2007. Σύμφωνα με αυτήν καταγράφηκαν 22 διαφορετικά είδη ζυμομυκήτων με το γένος *Cryptococcus* να συγκεντρώνει τα υψηλότερα ποσοστά απομόνωσης (32,9%) και τα γένη *Saccharomyces*, *Trichosporon* και *Rhodotorula* να έπονται με 11,7%, 10,8% και 4,1% αντιστοίχως (10). Συγχρόνως, σε μια πιο πρόσφατη (2010-2011) πολυκεντρική έρευνα με τη συμμετοχή 25 κέντρων από όλη την Ασιατική ήπειρο, απομονώθηκαν συνολικά 175 στελέχη non-*Candida* μυκήτων. Οι αιτιολογικοί παράγοντες κατατάσσονταν με φθίνουσα σειρά απομόνωσης στα γένη *Cryptococcus* (62%), *Trichosporon* (13%), *Rhodotorula* (6%) (11). Τα αποτελέσματα των 2 αυτών ερευνών έρχονται σε συμφωνία με τα αποτελέσματα της ανασκοπικής έρευνας για την Ελλάδα, αφού οι κυριότεροι αιτιολογικοί παράγοντες και στις 3 έρευνες ανήκουν στα ίδια γένη. Ωστόσο, οι αποκλίσεις στα διάφορα ποσοστά απομόνωσης του κάθε αιτιολογικού παράγοντα κάνουν και πάλι αισθητή την επιρροή της επιδημιολογίας αυτών των λοιμώξεων από γεωγραφικούς παράγοντες (7,8). Από την άλλη, μόνο σε 2 γένη

κατατάσσονται οι αιτιολογικοί παράγοντες των επεισοδίων μυκηταιμιών από σπάνιους νηματοειδείς μύκητες σύμφωνα με τα ελληνικά δεδομένα. Συγκεκριμένα, τα γένη των μυκήτων αυτών είναι τα *Fusarium* (67%) και *Acremonium* (33%), με τις πληροφορίες να λαμβάνονται από 5 συνολικά έρευνες (12,171,185–187). Τα δεδομένα σε παγκόσμιο επίπεδο είναι ελάχιστα, με δυνατότητα άντλησης δεδομένων από την επιδημιολογική επιτήρηση των μυκηταιμιών της Δανίας για το χρονικό διάστημα 2004-2009 και την πολυκεντρική έρευνα του EORTC. Σύμφωνα με την πρώτη, ο αιτιολογικός παράγοντας ήταν διάφορα *Fusarium* (167), ενώ σύμφωνα με την δεύτερη οι αιτιολογικοί παράγοντες άνηκαν στα γένη *Fusarium* και *Paecilomyces* (268).

Η ικανότητα της ανοσολογικής απόκρισης του ασθενούς είναι αδήριτη σημασίας για την έκβαση μιας διηθητικής μυκητικής λοίμωξης (189). Στο πλαίσιο της ανασκόπησης των καταγεγραμμένων επεισοδίων μυκηταιμιών στην Ελλάδα πραγματοποιήθηκε η καταγραφή των προδιαθεσιακών παραγόντων των ασθενών. Ειδικότερα, όσον αφορά τις *non-Candida* μυκηταιμίες ένα πολύ μεγάλο μέρος των ασθενών είχε κάποιου είδους καθετήρα (69%), ενώ αναφορά για χορήγηση αντιβιοτικών γίνεται σε σχεδόν τους μισούς (47%). Μεγάλη μερίδα των ασθενών (31%) έπασχε από κάποια αιματολογική ασθένεια ή κακοήθεια. Αιματολογικοί ασθενείς εμφάνισαν μυκηταιμία από πολλούς διαφορετικούς αιτιολογικούς παράγοντες, ωστόσο η πλειονότητα τους (66%) νόσησαν από *T. asahii* και *R. mucilaginosa*. Αν και η ουδετεροπενία είναι από τους πιο συχνούς καταγεγραμμένους παράγοντες, η ανασκόπηση των ελληνικών περιστατικών ανέδειξε μόνο 6 ουδετεροπενικούς ασθενείς (16%). Συγχρόνως, αρκετοί ασθενείς (38%) είχαν υποβληθεί σε χειρουργική επέμβαση, ενώ σε κάποιους ασθενείς (23%) χορηγούνταν παρεντερική διατροφή. Σε μόνο 3 ασθενείς καταγράφηκε χορήγηση προβιοτικών, εκ των οποίων και οι 3 εμφάνισαν μυκηταιμία από *S. cerevisiae* (180,183). Συγχρόνως, λόγω του ότι ένα σημαντικό ποσοστό (16%) των ασθενών μας καταλαμβάνουν νεογνά και βρέφη παρατηρήθηκε πως ένα σημαντικό ποσοστό αυτών (30%) ήταν πρόωρα και είχαν πολύ χαμηλό βάρος γέννησης (78,174,182). Ωστόσο, η προωρότητα αποτελεί παράγοντα κινδύνου μόνο για νεογνά-ασθενείς. Σύμφωνα με έρευνα 29 κέντρων στην Ισπανία, 9 ασθενείς εμφάνισαν *non-Candida* μυκηταιμία, με τους περισσότερους εξ' αυτών να φέρουν κάποιου είδους καθετήρα. Επιπλέον, παρατηρήθηκε πως το 44%

έπασχε από αιματολογική κακοήθεια, το 33% των ασθενών είχε κακοήθεια συμπαγούς οργάνου, ενώ το 33% εμφάνισε ουδετεροπενία. Σε αντίθεση με τα ευρήματα για την Ελλάδα, το 44% από τους ασθενείς που εκδήλωσαν non-*Candida* μυκηταιμία είχαν Χρόνια Αποφρακτική Πνευμονοπάθεια (165). Όσον αφορά τους προδιαθεσιακούς παράγοντες των ασθενών που εκδήλωσαν μυκηταιμία από σπάνιο νηματοειδή μύκητα στην Ελλάδα, παρατηρήθηκε πως και σε αυτήν την περίπτωση πολλοί από τους ασθενείς (38%) έπασχαν από αιματολογική κακοήθεια, εκ των οποίων όλοι νόσησαν από μύκητα του γένους *Acromonium*. Ακόμη, το 23% των ασθενών είχαν υποβληθεί προηγουμένως σε Μεταμόσχευση Αιμοποιητικών Κυττάρων, ενώ ουδετεροπενία εμφάνισε το 17% των ασθενών. Τα δεδομένα προέρχονται από 4 έρευνες (171,185–187). Δεν έχει διεξαχθεί μέχρι στιγμής κάποια πολυκεντρική έρευνα στον γενικό πληθυσμό, που να αφορά μυκηταιμίες από σπάνιο νηματοειδή μύκητα, στην οποία να αναφέρονται οι προδιαθεσιακοί παράγοντες των ασθενών. Από την έρευνα του EORTC γνωρίζουμε πως όλοι οι ασθενείς με μυκηταιμία από σπάνιο νηματοειδή μύκητα είχαν κάποιου είδους κακοήθεια (268). Για άλλη μια φορά τονίζεται η ανάγκη εκπόνησης περισσότερων ερευνών, ιδίως πολυκεντρικών, για να διαμορφωθεί η έγκυρη επιδημιολογική εικόνα της νόσου σε παγκόσμιο επίπεδο.

Η μελέτη των μυκηταιμιών που έχουν ως αιτιολογικό παράγοντα κάποιο σπάνιο είδος μύκητα, έχει αναδείξει ακόμη ένα πολύ σοβαρό ζήτημα, αυτό της προφυλακτικής χορήγησης κάποιου αντιμυκητικού φαρμάκου. Παγκοσμίως, πολλά περιστατικά λοιμώξεων από αυτούς τους μύκητες έχουν συνδεθεί με εκ διαφυγής λοιμώξεις του αίματος (4–6). Η ανασκοπική έρευνα της Ελλάδας ανέδειξε 13 περιπτώσεις εκ διαφυγής λοιμώξεων του αίματος. Ειδικότερα, όσον αφορά τα περιστατικά μυκηταιμιών από σπάνιους ζυμομύκητες, η προφυλακτική αγωγή που είχε χορηγηθεί στους ασθενείς περιλάμβανε φάρμακα που ανήκουν στην κατηγορία των αζολών (POS και FLC) και στην κατηγορία των εχινοκανδινών (AFG). Συγκεκριμένα, παρατηρήθηκε πως το είδος *R. mucilaginosa* συνδέθηκε στενά με την εκδήλωση εκ διαφυγής λοιμώξεων του αίματος, με 4 εκ των 13 συνολικά εκ διαφυγής λοιμώξεων να οφείλονται σε αυτό το είδος. Παρατηρήθηκε πως και οι 4 ασθενείς έπασχαν από κάποια αιματολογική κακοήθεια (84,173,183). Συγκεκριμένα και οι 4 ασθενείς ήταν υπό προφύλαξη αζόλης, με 2 εξ' αυτών να λαμβάνουν POS (183) και 2 FLC (84,173). Υπό προφύλαξη FLC ήταν ακόμη 2

ασθενείς που νόσησαν από *E. dermatitidis* (174) και *M. capitatus* (176), με τον πρώτο να είναι ένα πρόωρο βρέφος και τον δεύτερο ένας ενήλικας αιματολογικός ασθενής. Προφυλακτική αγωγή με αζόλη και συγκεκριμένα POS χορηγήθηκε σε 2 ασθενείς που εκδήλωσαν εκ διαφυγής λοίμωξη του αίματος από *T. asahii*. Από τον ίδιο αιτιολογικό παράγοντα εμφάνισε εκ διαφυγής λοίμωξη του αίματος και ο ασθενής που λάμβανε AFG (183). Από την μελέτη αυτών των περιστατικών γίνεται αντιληπτή η σύνδεση των εκ διαφυγής λοιμώξεων του αίματος από *R.mucilaginosa* και *T.asahii* με την προφυλακτική χορήγηση POS ή FLC. Έτσι τίθενται σοβαρά ερωτήματα για την καταλληλότητα επιλογής χορήγησής τους ως προφυλακτική αγωγή, ιδίως σε ασθενείς με αιματολογικές κακοήθειες. Σε πολυκεντρική έρευνα της Ισπανίας, καταγράφηκαν 2 εκ διαφυγής λοιμώξεις του αίματος με αιτιολογικό παράγοντα μύκητες του είδους *M. capitatus*, με τον πρώτο ασθενή να έχει λάβει προφυλακτικά CAS για 10 ημέρες και τον δεύτερο να έχει λάβει συνδυαστικά FLC και CAS για 18 ημέρες (165). Από την μελέτη των δύο ερευνών αναδεικνύεται και η σύνδεση του είδους *M.capitatus* με εκ διαφυγής λοιμώξεις του αίματος σε ασθενείς, που έχει προηγηθεί προφυλακτική χορήγηση FLC και CAS. Σημαντικά όσον αφορά τις εκ διαφυγής λοιμώξεις του αίματος είναι και τα ευρήματα από την έρευνα για τις μυκηταιμίες από σπάνιο νηματοειδή μύκητα. Συνολικά καταγράφηκαν 4 εκ διαφυγής λοιμώξεις του αίματος, με 3 εξ' αυτών να αφορούν πρόσφατα μεταγγισμένους αιματολογικούς ασθενείς, χωρίς ωστόσο να γίνεται γνωστό το είδος της προφυλακτικής αγωγής ή ο χρόνος χορήγησής της (187). Τέλος, μια εκ διαφυγής λοίμωξη του αίματος από *Fusarium spp.* καταγράφηκε σε ασθενή που είχε λάβει προηγουμένως dAMB για 21 ημέρες (171). Όσον αφορά την πολυκεντρική έρευνα του EORTC, καταγράφηκε πως το 14% (10 περιστατικά) των εκ διαφυγής λοιμώξεων του αίματος οφειλόταν σε σπάνιο είδος ζυμομύκητα (*Trichosporon*, *S. capitata*, *S. clavata*, *C. laurentii*, *Saccharomyces* sp.). Επιπλέον, αναφέρεται πως κατάγραφηκε 1 εκ διαφυγής λοίμωξη του αίματος έκαστος από *Fusarium* sp. και *Paecilomyces species* (268). Σε έρευνα 2 νοσοκομείων της Ιαπωνίας, εκ διαφυγής λοιμώξεις του αίματος από σπάνιο νηματοειδή μύκητα καταγράφηκαν σε 7 αιματολογικούς ασθενείς (2 *F. dimerum* species complex, 5 *F. solani* species complex) υπό προφύλαξη L-AMB, VRC και MFG (270).

Η μελέτη των καταγεγραμμένων περιστατικών στην Ελλάδα, προσφέρει σημαντικές πληροφορίες για τα αποτελέσματα του ελέγχου *in vitro* ευαισθησίας στα αντιμυκητικά φάρμακα. Συνολικά, η AMB υπέδειξε δραστικότητα *in vitro* έναντι όλων των εξεταζόμενων ειδών (78,170,173-183). Εξαίρεση αποτέλεσαν κάποια στελέχη *T. asahii* (182). Οι εχινοκανδίνες εμφάνισαν *in vitro* δραστικότητα μόνο έναντι του *S. cerevisiae* (179,182,183). Υψηλές και πολύ υψηλές τιμές FLC παρατηρήθηκαν σε πολλά στελέχη *R. mucilaginosa* (84,170,172,173,182,183), *C. albidus* και *C. uniguttulatus* (182). Η VRC παρουσίασε υψηλότερη δραστικότητα *in vitro* έναντι του *C. neoformans* (183), της *M. aphidis* (78) και του *T. asahii* (178,182,183). Τέλος, υψηλές 5FC MICs (≥ 32 mg/L) προσδιορίστηκαν για στελέχη *C. albidus*, *C. uniguttulatus* (182), *E. dermatitidis* (175), *M. furfur* (182) και *R. glutinis* (181). Για τους νηματοειδείς μύκητες, παρατηρήθηκαν υψηλές τιμές MIC στα φάρμακα της κατηγορίας των εχινοκανδινών, καθώς και στα φάρμακα AMB/5FC/ITC/POS (>16 mg/L) (186,187). Χαμηλές τιμές καταγράφηκαν μόνο για την VRC (0,5 mg/L για στελέχη *A. killiense* (187) και >1 mg/L για στελέχη *F. verticillioides* (186)). Σε έρευνα που διεξήχθη στην Ισπανία, καταγράφηκαν οι τιμές MIC του AFST στελεχών που απομονώθηκαν από διάφορα κλινικά δείγματα, μεταξύ αυτών και δείγματα αίματος. Σύμφωνα, με αυτήν λαμβάνονται κάποιες σημαντικές πληροφορίες για μύκητες του γένους *Scedosporium* και *L. prolificans* (πρώην *S. prolificans*) και την *in vitro* δραστικότητα των φαρμάκων AMB/ITC/VRC/ραβουκοναζόλη/TRB/CAS/MFG/AFG. Για το είδος *S. boudii* παρατηρήθηκαν μεγάλα εύρη τιμών MIC για όλα τα φάρμακα πέραν της TRB, όπου για όλα καταγράφηκαν MIC= 32 mg/L. Για το είδος *S. apiospereum* παρατηρήθηκαν επίσης μεγάλες διακυμάνσεις στις τιμές των MIC, με την ITC και την TRB να καταγράφουν τιμές 16 mg/L και 32 mg/L αντιστοίχως. Για τα *L. prolificans* παρατηρήθηκε ανθεκτικότητα σε όλα τα στελέχη, με τιμές ίσες με 16 mg/L για ITC/VRC/ραβουκοναζόλη και 32 mg/L για AMB/TRB/MFG/AFG (256). Σε έρευνα 2 κέντρων της Ιαπωνίας, οι τιμές MIC για όλα τα εξεταζόμενα στελέχη του γένους *Fusarium* ήταν για MFG >16 mg/L, για AMB (1 mg/L-4 mg/L), για FLC >64 mg/L και για ITC >8 mg/L. Για την VRC παρουσιάζονται μεγάλες διακυμάνσεις (τιμές MIC ≥ 8 mg/L) με ένα μόνο στέλεχος *F. dimerum* species complex να καταγράφει MIC =4 mg/L (270).

Από τις μεγαλύτερες δυσκολίες που συνδέονται με την διαχείριση των διηθητικών λοιμώξεων από σπάνια είδη μυκήτων γενικότερα, αλλά και των μυκηταιμιών ειδικότερα είναι η θεραπευτική αντιμετώπισή τους. Η μελέτη των ελληνικών περιστατικών έφερε στο φως κοινές αλλά και διαφορετικές προσεγγίσεις από πλευράς των θεράποντων ιατρών. Ειδικότερα, η μονοθεραπεία με VRC φάνηκε ιδιαίτερα αποτελεσματική στην αντιμετώπιση των λοιμώξεων από *T. asahii* με όλους τους ασθενείς να επιβιώνουν (183). Σε ανασκοπική έρευνα που εξετάστηκαν 185 επεισόδια μυκηταιμιών από διάφορα είδη του γένους *Trichosporon*, θετική έκβαση καταγράφηκε σε 12/18 (67%) ασθενείς (109). Θετικά ήταν τα αποτελέσματα από την χορήγηση μονοθεραπείας με L-AMB, με όλους τους ασθενείς που την έλαβαν να επιβιώνουν (2 *R. mucilaginosa*, 1 *S. cerevisiae* (183) και 1 *M. aphidis* (78)). Σύμφωνα με πολλές μελέτες, η L-AMB έχει κριθεί κατάλληλη για την αντιμετώπιση λοιμώξεων από διάφορους αιτιολογικούς παράγοντες (4). Η θεραπεία με FLC κρίθηκε αποτελεσματική στην αντιμετώπιση των λοιμώξεων από *R. glutinis* (181) και *S. cerevisiae* (179). Σε πολλούς ασθενείς επιλέχθηκε η χορήγηση κάποιου συνδυασμού φαρμάκων. Ο συνδυασμός L-AMB και FLC φάνηκε αποτελεσματικός στην αντιμετώπιση των λοιμώξεων από *Cryptococcus*, με την χορήγησή του να συνδέεται με επιβίωση των ασθενών (183). Ωστόσο, ο συνδυασμός L-AMB και VRC φαίνεται να μην έχει τα αναμενόμενα αποτελέσματα, σε 2 ασθενείς με *T. asahii* (178,183). Η μελέτη των ευρημάτων μιας πολυκεντρικής έρευνας στην Ισπανία, ανέδειξε την διαφορετική έκβαση που μπορεί να έχει η χορήγηση του ίδιου είδους φαρμάκου σε 2 ασθενείς. Σε 2 αιματολογικούς ασθενείς με λοίμωξη από *M. aphidis* χορηγήθηκε συνδυασμός L-AMB και VRC με τον έναν να επιβιώνει και τον άλλον να αποβιώνει. Την ίδια τροπή είχε και η έκβαση των 2 ασθενών με λοίμωξη από *R. mucilaginosa* και χορήγηση AMB (165). Όσον αφορά τις μυκηταιμίες από σπάνιο νηματοειδή μύκητα αμφιλεγόμενη κρίθηκε η χορήγηση VRC με το 44% να επιβιώνει. Ωστόσο, ήταν το μόνο αντιμυκητικό φάρμακο από τα εξεταζόμενα, που εμφάνισε *in vitro* δραστηριότητα (186,187), για αυτό και επιλέχθηκε η χορήγησή του. Δεν υπάρχει κάποια εν γνώσει μας πολυκεντρική έρευνα, στην οποία να αναφέρονται τα θεραπευτικά σχήματα που χορηγήθηκαν στους ασθενείς με μυκηταιμία από νηματοειδείς μύκητες.

Η σοβαρότητα των μυκηταιμιών από σπάνια είδη μυκήτων αντικατοπτρίζεται και από τα υψηλά ποσοστά θνητότητας με τα οποία συνδέεται (1). Παρά την πρόοδο που έχει σημειωθεί στην διάγνωση και στην διαχείριση της θεραπευτικής αγωγής, τα ποσοστά θνητότητας παραμένουν σε υψηλό επίπεδο και ποικίλουν αναλόγως με τον αιτιολογικό παράγοντα που προκαλεί τη λοίμωξη σε κάθε περίπτωση. Ειδικότερα, όσον αφορά την ανασκόπηση των ελληνικών περιστατικών το ποσοστό αδρής θνητότητας από σπάνιο ζυμομύκητα ήταν 30%. Σε πολυκεντρική έρευνα της Ισπανίας η θνητότητα που καταγράφηκε ήταν πολύ υψηλότερη και άγγιξε το 56% (165). Σε έρευνα 2 νοσηλευτικών ιδρυμάτων με αιματολογικούς ασθενείς στην Ιαπωνία, καταγράφηκαν εκ διαφυγής λοιμώξεις του αίματος από σπάνιο ζυμομύκητα σε 18 ασθενείς, εκ των οποίων 11 (61%) δεν κατάφεραν να επιβιώσουν (270). Από την ανασκοπική έρευνα στην Ελλάδα προέκυψε πως το ποσοστό αδρής θνητότητας από μυκηταιμίες από σπάνιο νηματοειδή μύκητα ήταν 38%. Στην προαναφερθείσα έρευνα της Ιαπωνίας όπου μελετώνται εκ διαφυγής λοιμώξεις του αίματος, αρνητική ήταν η έκβαση σε 4/7 (57%) ασθενείς με μυκηταιμία από σπάνιο νηματοειδή μύκητα (270).

Ύψιστης αξίας είναι και τα ευρήματα της διεξαχθείσας έρευνας στο νοσηλευτικό ίδρυμα επιλογής. Όσον αφορά τα δημογραφικά χαρακτηριστικά των ασθενών, 27/40 (68%) ήταν άντρες με μέση (εύρος) ηλικία τα 65 (17-88) έτη, 27/40 (68%) άνηκαν στην ηλικιακή ομάδα των 60 και άνω ετών και 13/40 (32%) σε αυτή κατω από τα 60 έτη. Όπως παρατηρείται και σε αυτήν την έρευνα η πλειοψηφία των ασθενών ήταν άνδρες. Οι περισσότεροι ασθενείς (79%) ήταν άνδρες και σε έρευνα Πανεπιστημιακού νοσοκομείου τριτοβάθμιας φροντίδας στην Τουρκία (160), αλλά και σε άλλο ελληνικό νοσηλευτικό ίδρυμα μεγάλης πόλης της χώρας, με το ποσοστό των ανδρών να αγγίζει το 75% (183). Εξαιτίας της αριθμητικής υπεροχής των αρρένων ασθενών και στις προαναφερθείσες έρευνες, είναι άξιο περαιτέρω διερεύνησης, αν μπορεί να θεωρηθεί το ανδρικό φύλο ως προδιαθεσιακός παράγοντας κινδύνου.

Αναφορικά με τα δεδομένα του ιδρύματος επιλογής, οι αιτιολογικοί παράγοντες των μυκηταιμιών από σπάνιους ζυμομύκητες κατά σειρά αριθμού περιστατικών, ανήκουν στα είδη *R. mucilaginosa* (38%), *T. asahii* (28%), *S. cerevisiae* (19%), *C. neoformans* (12%) και *S. clavata* (3%). Από την άλλη, σε 3 γένη κατατάσσονται οι αιτιολογικοί παράγοντες των μυκηταιμιών από σπάνιους νηματοειδείς μύκητες, στα

Fusarium (75%), *Lomentospora* (13%) και *Acremonium* (13%). Στα στελέχη που υπήρχαν διαθέσιμα στο νοσοκομείο πραγματοποιήθηκε ανακαλλιέργεια και έπειτα ταυτοποίηση με σύγχρονες, αξιόπιστες και υψηλής ακρίβειας τεχνικές. Ειδικότερα, όσον αφορά τα στελέχη των ζυμομυκήτων στα 26/32 (81%) των στελεχών που υπήρχαν διαθέσιμα πραγματοποιήθηκε ταυτοποίηση τους με την χρήση του συστήματος MALDI-ToF MS, σε συμφωνία 100%, με τις συμβατικές μεθόδους με τις οποίες είχαν ταυτοποιηθεί στο παρελθόν. Αναφορικά με τους σπάνιους νηματοειδείς μύκητες, η ταυτοποίηση των στελεχών είχε πραγματοποιηθεί με μικροσκοπική και μακροσκοπική παρατήρηση. Στα στελέχη των μυκήτων του γένους *Fusarium* και *L. prolificans*, πραγματοποιήθηκε μοριακή ταυτοποίηση. Για το στέλεχος *L. prolificans* πραγματοποιήθηκε αλληλούχιση της ITS περιοχής τμήματος του γονιδίου της β-τουμπουλίνης και για τα στελέχη *Fusarium* spp. αλληλούχιση του TEF-1α. Συμφωνία μεταξύ των συμβατικών και των μοριακών μεθόδων σε επίπεδο γένους και είδους καταγράφηκε σε 3/6 στελέχη *Fusarium* spp. (1/2 *F. oxysporum*, 1/2 *F. dimerum*, 1/2 *F. keratoplasticum*). Εκ των 3 υπολοίπων στελεχών, 2/3 (*F. oxysporum*, *F. keratoplasticum*) είχαν ταυτοποιηθεί επιτυχώς σε επίπεδο γένους ως *Fusarium* spp. και 1/3 (*F. dimerum*) ανεπιτυχώς ως *F. chlamydosporum*. Συμφωνία συμβατικών και μοριακών μεθόδων υπήρξε και για το στέλεχος *L. prolificans*, το οποίο είχε ταυτοποιηθεί ως *S. prolificans*. Λόγω των ανακατατάξεων στην ταξινόμηση των μυκήτων, οι μύκητες *S. prolificans* έχουν μεταφερθεί στο γένος *L. prolificans* (127).

Όσον αφορά τους προδιαθεσιακούς παράγοντες για τους ζυμομύκητες, στους ασθενείς που ήταν διαθέσιμοι, ως συχνότερο υποκείμενο νόσημα καταγράφηκε ο ΣΔ (32%), η αιματολογική νόσος ή κακοήθεια (29%) και η κακοήθεια συμπαγούς οργάνου (29%). Επιπλέον, όλοι οι ασθενείς έφεραν καθετήρα και λάμβαναν αντιβιοτικά, ενώ στους περισσότερους χορηγούνταν παρεντερική διατροφή (58%). Συμπληρωματικά, μεγάλη μερίδα ασθενών ήταν ουδετεροπενικοί (37%), λάμβαναν κορτικοστεροειδή (37%) και είχαν υποβληθεί σε πρόσφατη χειρουργική επέμβαση (26%). Τέλος, σε 5 περιστατικά (26%) καταγράφηκαν εκ διαφυγής λοιμώξεις, καθώς οι ασθενείς ήταν υπό αντιμυκητική αγωγή κατά την εμφάνιση της μυκηταιμίας και συγκεκριμένα λάμβαναν FLC (*R. mucilaginosa*, *S. cerevisiae*), MFG ακολουθούμενη από FLC (*R. mucilaginosa*) και

AFG (*S. cerevisiae*, *T. asahii*). Το ποσοστό της αδρής θνητότητας για μυκηταιμία από σπάνιο ζυμομύκητα στο νοσηλευτικό ίδρυμα επιλογής ήταν 59%.

Ως συχνότερο υποκείμενο νόσημα για τους σπάνιους νηματοειδείς μύκητες καταγράφηκε η αιματολογική κακοήθεια (50%) και ο ΣΔ (25%). Έλλειψη δεδομένων σχετικά με τους παράγοντες κινδύνου για την εμφάνιση της λοίμωξης καταγράφηκε στις μισές περιπτώσεις. Λαμβάνοντας υπόψη τους εναπομείναντες 4 ασθενείς, όλοι έφεραν καθετήρα και λάμβαναν αντιβιοτικά, ενώ στους μισούς χορηγούνταν παρεντερική διατροφή. Επιπλέον, σχεδόν όλοι (75%) ήταν ουδετεροπενικοί. Τέλος, δεδομένα αναφορικά με τη χορηγηθείσα αντιμυκητική θεραπεία ήταν διαθέσιμα μόλις για το 38% των ασθενών. Σύμφωνα με αυτά, το 67% των περιστατικών ήταν εκ διαφυγής λοιμώξεις, καθώς οι ασθενείς ήταν υπό αντιμυκητική αγωγή κατά την εμφάνιση της μυκηταιμίας. Συγκεκριμένα 1 υπό νυστατίνη (*F. dimerum*) και 1 υπό AFG, ακολουθούμενη με τη σειρά από CAS, L-AMB και συνδυασμό L-AMB+ISA (*F. keratoplasticum*). Συγχρόνως, το ποσοστό αδρής θνητότητας ήταν 38% για μυκηταιμία από σπάνιο νηματοειδή μύκητα.

Στο πλαίσιο διεξαγωγής της επιδημιολογικής επιτήρησης του νοσηλευτικού ιδρύματος πραγματοποιήθηκε AFST στα διαθέσιμα στελέχη, με την πρότυπη μέθοδο BMD και ερμηνεία των αποτελεσμάτων σύμφωνα με ερμηνευτικά κριτήρια κατά EUCAST και CLSI. Οι εχνοκανδίνες (AFG, CAS, MFG) σε όλα τα στελέχη που εξετάστηκαν παρουσίασαν παρόμοια αποτελέσματα (τιμές MIC 2->4 mg/L), τα οποία τις καθιστούν ακατάλληλες για την αντιμετώπιση των λοιμώξεων από τα περισσότερα σπάνια είδη μυκήτων. Εξαιρεση ωστόσο αποτέλεσαν τα στελέχη του γένους *S. cerevisiae*, για τα οποία καταγράφηκαν χαμηλές τιμές MIC (0,06-1 mg/L). Εντοπίζεται μεγάλη διακύμανση όσων αφορά τις MICs για την FLC, χωρίς όμως να εμφανίζονται χαμηλές τιμές. Το εύρος των τιμών MIC είναι 2-128 mg/L, κάτι που δηλώνει σε μεγάλο βαθμό *in vitro* ανθεκτικότητα. Για την AMB οι τιμές MIC περιορίζονται σε χαμηλά νούμερα (0,25–1 mg/L), κάτι ενδεικτικό της δραστικότητάς της απέναντι στα περισσότερα, αν όχι όλα, τα μυκητικά παθογόνα της συγκεκριμένης έρευνας. Σε παρόμοια επίπεδα κυμαίνονται και οι VRC με POS, με εύρος τιμών MIC 0,06-2 mg/L. Η ISA απέδωσε ελπιδοφόρα αποτελέσματα, κατέχοντας τα μικρότερα νούμερα MIC για όλα τα εξεταζόμενα παθογόνα (0,008-1 mg/L). Εξαιρεση σε αυτό αποτελεί το στέλεχος *S. clavata* που απομονώθηκε και εξετάστηκε, στο οποίο καταγράφηκε τιμή MIC ίση με 1 mg/L κατά CLSI και 4 mg/L

κατά EUCAST. Εντύπωση προκαλεί και η μεγάλη διαφορά των αποτελεσμάτων MIC μεταξύ των δύο μεθόδων (CLSI και EUCAST) για το στέλεχος αυτό. Τέλος, η ITC παρουσίασε επίσης χαμηλές τιμές MIC (0,06-1 mg/L), με μοναδική εξαίρεση τους μύκητες του γένους *S. cerevisiae*. Κατά μέσο όρο η τιμή MIC για αυτή την ομάδα μυκήτων ήταν 16 mg/L, κάτι που καθιστά αυτό το αντιμυκητικό φάρμακο ακατάλληλο για την αντιμετώπισή τους. Αξίζει να σημειωθεί ωστόσο, πως ένα από τα στελέχη *S. cerevisiae* είχε MIC 1 mg/L, τιμή εμφανώς χαμηλότερη από τα υπόλοιπα στελέχη. Ο έλεγχος ευαισθησίας που πραγματοποιήθηκε στα στελέχη των νηματοειδών μυκήτων αποκάλυψε μεγάλη δυσκολία στην αντιμετώπισή τους. Αρχικά, το μοναδικό εξεταζόμενο στέλεχος *L. prolificans* παρουσίασε υψηλές τιμές MIC, επομένως και ανθεκτικότητα και στα 5 εξεταζόμενα φάρμακα. Ειδικότερα, καταγράφηκαν τιμές MIC > 8 mg/L και για τις 4 αζόλες που εξετάστηκαν (VRC, POS, ISA και ITC) και κατά CLSI και κατά EUCAST. Ανθεκτικότητα παρουσίασε και στον αντιμυκητικό παράγοντα AMB, με τις τιμές MIC να είναι 8 mg/L κατά CLSI και 4 mg/L κατά EUCAST. Τα αποτελέσματα για τα στελέχη του γένους *Fusarium* δεν αποκλίνουν συγκριτικά με αυτά του *L. prolificans* (MICs 2->16 mg/L), με τη μοναδική διαφορά τις τιμές MIC για το αντιμυκητικό AMB (0,25-2 mg/L). Διεξαχθείσα έρευνα δύο κέντρων στην Ιαπωνία επιβεβαιώνει τα παραπάνω στοιχεία για τον έλεγχο ευαισθησίας σε μύκητες του γένους *Fusarium* (270).

Σε σύγκριση με τα δεδομένα που λαμβάνονται για μυκηταιμίες από σπάνιους ζυμομύκητες από έρευνα για ένα χρονικό διάστημα 4 ετών (2018-2021) νοσοκομείου μεγάλης πόλης της Ελλάδας, πολλά είναι τα κοινά σημεία. Αρχικά, αναφέρεται πως 16/400 (4%) συνολικά λοιμώξεις του αίματος είχαν ως αιτιολογικό παράγοντα κάποιον σπάνιο non-*Candida* ζυμομύκητα. Το ποσοστό εμφάνισης μυκηταιμίας από σπάνιο ζυμομύκητα συμφωνεί μεταξύ αυτής και της διεξαχθείσας έρευνας (3,8%). Οι αιτιολογικοί παράγοντες είναι όμοιοι και στις δύο έρευνες, με την διαφορά πως την κυρίαρχη θέση κατέχει το *Trichosporon*, ενώ η *Rhodotorula* αφορά μόνο 2 περιστατικά. Οι αιματολογικές κακοήθειες ή ασθένειες φαίνεται να είναι συχνό στοιχείο των λοιμώξεων και για τα δύο αυτά παθογόνα. Αξίζει να αναφερθεί και το γεγονός πως εντοπίζονται περιστατικά λοίμωξης από *S. cerevisiae*, μετά από χορήγηση προβιοτικών, και στις δύο αυτές έρευνες. Αναφορικά με τον έλεγχο ευαισθησίας τα αποτελέσματα συμφωνούν κατά το μεγαλύτερο ποσοστό με αυτά της δικής μας έρευνας, ωστόσο στην εν λόγω

έρευνα ο AFST πραγματοποιήθηκε με την χρήση ταινιών διαβαθμισμένης συγκέντρωσης αντιμυκητικού (Etest). Οι διαφορές που εντοπίζονται αφορούν κυρίως τις τιμές MIC για την FLC, όπου στελέχη του γένους *Trichosporon* και *Cryptococcus* εμφάνισαν μικρότερες τιμές από τα στελέχη της δικής μας έρευνας. Ταυτόχρονα, το γένος *S. cerevisiae* χαρακτηρίζεται από ετερογένεια μεταξύ των στελεχών, με την POS να έχει μεγαλύτερες τιμές MIC απ' ό τι στην δική μας έρευνα. Εκ διαφυγής λοιμώξεις παρατηρούνται και στις δύο μελέτες, κατά την χορήγηση εχινοκανδίνων και αζολών (AFG/MFG/POS/FLC) (183). Σε έρευνα της Ελλάδας που αφορούσε συγκεκριμένη πληθυσμιακή ομάδα (νεογνά, βρέφη και παιδιά) οι κύριοι αιτιολογικοί παράγοντες άνηκαν στα γένη *Saccharomyces* (32%) και *Malassezia* (21%). Οι MIC ομοιάζουν, όμως υπάρχουν στελέχη του είδους *T. asahii* που παρουσιάζουν υψηλότερες τιμές για την AMB (6 και 8 mg/L) (182).

Στη διεθνή βιβλιογραφία για μεγάλα νοσηλευτικά ιδρύματα, οι αιτιολογικοί παράγοντες που παρατηρούνται ταυτίζονται με αυτούς της δικής μας έρευνας, τόσο για τους σπάνιους ζυμομύκητες, όσο και για τους σπάνιους νηματοειδείς μύκητες (160,192,266). Ωστόσο, τα διαθέσιμα δεδομένα για τους νηματοειδείς μύκητες είναι ελάχιστα και περιορίζονται κυρίως στην αναφορά των αιτιολογικών παραγόντων. Έρευνα διάρκειας 5 ετών (2012-2016) που διεξήχθη σε νοσοκομείο στο Περού αναφέρει συνολικά 285 περιστατικά μυκηταιμιών, εκ των οποίων τα 7 (2,5%) οφείλονται σε σπάνιο νηματοειδή μύκητα (4 *Fusarium* spp., 3 *Acremonium* spp.) (266). Αναφορά σε μυκηταιμίες από μύκητες του γένους *Fusarium* εντοπίστηκε σε 2 νοσηλευτικά ιδρύματα της Ιαπωνίας, με 7 στελέχη να προκαλούν λοίμωξη, ενώ χορηγούνταν αντιμυκητική αγωγή (L-AMB, VRC ή MFG). Κύριος προδιαθεσιακός παράγοντας για το γένος *Fusarium* φαίνεται να είναι η ουδετεροπενία (270), με τα αντίστοιχα δεδομένα ενός κέντρου να εκλείπουν. Συνεχίζοντας με τους ζυμομύκητες, έρευνες από νοσηλευτικά ιδρύματα της Ιταλίας (271) και της Τουρκίας (160), αναφέρουν συχνότητα εμφάνισης non-*Candida* μυκηταιμίας σε ποσοστό που κυμαίνεται από 1,9%-2,2%, ενώ έρευνες από την Ιαπωνία (192) και το Περού (266) αναφέρουν συχνότητα απομόνωσης 9,5%-10%. Οι παράγοντες κινδύνου που αυξάνουν τις πιθανότητες μυκηταιμίας από σπάνιο ζυμομύκητα επιβεβαιώνονται από κάποιες εκ των προαναφερθεισών μελετών και ιδιαίτερη έμφαση δίνεται ξανά στην συχνότητα εμφάνισης μυκηταιμίας σε ασθενείς με αιματολογική κακοήθεια (160,192,266). Παράλληλα, η παρουσία περιστατικών

εκ διαφυγής λοίμωξεων περιγράφεται και στην διεθνή βιβλιογραφία, με τις εχινοκανδίνες και την FLC να αποτελούν τα κύρια φάρμακα προφυλακτικής αγωγής (160,192). Ωστόσο, έχει καταγραφεί και εκ διαφυγής λοίμωξη ενώ χορηγούνταν AMB (*T. asahii*). Η ανασκόπηση στα αποτελέσματα του ελέγχου ευαισθησίας στις προαναφερθείσες μελέτες, βρίσκεται σε συμφωνία με τα δικά μας αποτελέσματα. Μοναδικό σημείο που χρειάζεται να τονιστεί, είναι οι αυξημένες MICs που εμφάνισαν για την AMB στελέχη *T. asahii* (160), σε αντίθεση με τα στελέχη της διεξαχθείσας έρευνας που είχαν για αυτό το φάρμακο εύρος τιμών MIC 0,5 mg/L-1 mg/L κατά CLSI και 1 mg/L-1 mg/L κατά EUCAST. Η αδρή θνητότητα για τις μυκηταιμίες από σπάνιους ζυμομύκητες σε κάθε περίπτωση ήταν πολύ υψηλή 47%-55% (160,192), ενώ τα δεδομένα για τα ποσοστά αδρής θνητότητας για μυκηταμία από σπάνιο νηματοειδή μύκητα από κάποια μονοκεντρική έρευνα εκλείπουν. Κάποιες πληροφορίες σχετικά με την εξέλιξη επεισοδίων μυκηταιμιών με αιτιολογικό παράγοντα από το γένος *Scedosporium* λαμβάνονται από μονοκεντρική έρευνα σε καρκινοπαθείς ασθενείς στις ΗΠΑ. Σύμφωνα με αυτήν 5 ασθενείς με επιβεβαιωμένη μυκηταιμία από αυτό το γένος δεν κατάφεραν να επιβιώσουν (184).

Συμμετοχή σε δράσεις διάχυσης της μελέτης

Μέρος των ευρημάτων της παρούσας διπλωματικής εργασίας παρουσιάστηκαν σε διεθνές συνέδριο με κριτές. Ειδικότερα,

- 1) D. Mitsopoulos, A. Alevra, S. Pournaras, J. Meletiadis, M. Siopi. Epidemiological trends of fungemia due to rare moulds in a Greek tertiary care academic hospital (P240, αναρτημένη ανακοίνωση). 11th Trends in Medical Mycology (TIMM), 20-23/10/2023, Athens, Greece.
- 2) A. Alevra, D. Mitsopoulos, M. Vargiami, S. Pournaras, J. Meletiadis, M. Siopi. Epidemiological landscape of fungemia due to rare opportunistic yeasts in a Greek tertiary care academic hospital (P265, αναρτημένη ανακοίνωση). 11th Trends in Medical Mycology (TIMM), 20-23/10/2023, Athens, Greece.

Βιβλιογραφία

1. Skiada A, Pavleas I, Drogari-Apiranthitou M. Rare fungal infectious agents: a lurking enemy. *F1000Res*. 2017;6:1917.
2. de Jong AW, Hagen F. Attack, Defend and Persist: How the Fungal Pathogen *Candida auris* was Able to Emerge Globally in Healthcare Environments. *Mycopathologia*. 2019 Jun 17;184(3):353–65.
3. Richardson M, Lass-Flörl C. Changing epidemiology of systemic fungal infections. *Clin Microbiol Infect*. 2008 May;14 Suppl 4:5–24.
4. Chen SCA, Perfect J, Colombo AL, Cornely OA, Groll AH, Seidel D, et al. Global guideline for the diagnosis and management of rare yeast infections: an initiative of the ECMM in cooperation with ISHAM and ASM. *Lancet Infect Dis*. 2021 Dec;21(12):e375–86.
5. Arendrup MC, Boekhout T, Akova M, Meis JF, Cornely OA, Lortholary O, et al. ESCMID and ECMM joint clinical guidelines for the diagnosis and management of rare invasive yeast infections. *Clin Microbiol Infect*. 2014 Apr;20 Suppl 3:76–98.
6. Hoenigl M, Salmanton-García J, Walsh TJ, Nucci M, Neoh CF, Jenks JD, et al. Global guideline for the diagnosis and management of rare mould infections: an initiative of the European Confederation of Medical Mycology in cooperation with the International Society for Human and Animal Mycology and the American Society for Microbiology. *Lancet Infect Dis*. 2021 Aug;21(8):e246–57.
7. Gil Ó, Hernández-Pabón JC, Tabares B, Lugo-Sánchez C, Firacative C. Rare Yeasts in Latin America: Uncommon Yet Meaningful. *Journal of Fungi*. 2023 Jul 14;9(7):747.
8. Malani AN, Kauffman CA. Changing epidemiology of rare mould infections: implications for therapy. *Drugs*. 2007;67(13):1803–12.
9. Sprute R, Cornely OA, Chen SCA, Seidel D, Schuetz AN, Zhang SX. All You Need To Know and More about the Diagnosis and Management of Rare Yeast Infections. *mBio*. 2021 Aug 31;12(4):e0159421.
10. Pfaller MA, Diekema DJ, Gibbs DL, Newell VA, Bijie H, Dzierzanowska D, et al. Results from the ARTEMIS DISK Global Antifungal Surveillance Study, 1997 to 2007: 10.5-year analysis of susceptibilities of noncandidal yeast species to fluconazole and voriconazole determined by CLSI standardized disk diffusion testing. *J Clin Microbiol*. 2009 Jan;47(1):117–23.
11. Lin SY, Lu PL, Tan BH, Chakrabarti A, Wu UI, Yang JH, et al. The epidemiology of non-*Candida* yeast isolated from blood: The Asia Surveillance Study. *Mycoses*. 2019 Feb;62(2):112–20.
12. Siopi M, Tarpatzi A, Kalogeropoulou E, Damianidou S, Vasilakopoulou A, Vourli S, et al. Epidemiological Trends of Fungemia in Greece with a Focus on Candidemia during the Recent Financial Crisis: a 10-Year Survey in a Tertiary Care Academic Hospital and Review of Literature. *Antimicrob Agents Chemother*. 2020 Feb 21;64(3).
13. Caira M, Trecarichi EM, Tumbarello M, Leone G, Pagano L. Uncommon yeast infections in hematological patients: from diagnosis to treatment. *Expert Rev Anti Infect Ther*. 2011 Nov;9(11):1067–75.

14. Chitasombat MN, Kofteridis DP, Jiang Y, Tarrand J, Lewis RE, Kontoyiannis DP. Rare opportunistic (non-Candida, non-Cryptococcus) yeast bloodstream infections in patients with cancer. *J Infect.* 2012 Jan;64(1):68–75.
15. Byrne DD, Reboli AC. Rare Yeast Infections: Risk Factors, Clinical Manifestations, Treatment, and Special Considerations. *Curr Clin Microbiol Rep.* 2017 Dec 15;4(4):218–31.
16. Wirth F, Goldani LZ. Epidemiology of *Rhodotorula*: an emerging pathogen. *Interdiscip Perspect Infect Dis.* 2012;2012:465717.
17. Kapmaz M, Tekin S, Dogan O, Keske S, Can F, Ergonul O. Rare yeasts: emerging threat in immunocompromised patients. *Infectious Diseases and Clinical Microbiology.* 2019 Dec 25;1(3):165–72.
18. May RC, Stone NRH, Wiesner DL, Bicanic T, Nielsen K. *Cryptococcus*: from environmental saprophyte to global pathogen. *Nat Rev Microbiol.* 2016 Feb;14(2):106–17.
19. Fonseca Á, Boekhout T, Fell JW. *Cryptococcus Vuillemin* (1901). In: *The Yeasts.* Elsevier; 2011. p. 1661–737.
20. Khawcharoenporn T, Apisarnthanarak A, Mundy LM. Non-neoformans *Cryptococcal* Infections: a Systematic Review. *Infection.* 2007 Apr;35(2):51.
21. McCurdy LH, Morrow JD. Infections due to non-neoformans *cryptococcal* species. *Compr Ther.* 2003;29(2–3):95–101.
22. Pan W, Liao W, Hagen F, Theelen B, Shi W, Meis JF, et al. Meningitis caused by *Filobasidium uniguttulatum*: case report and overview of the literature. *Mycoses.* 2012 Mar;55(2):105–9.
23. Tintelnot K, Losert H. Isolation of *Cryptococcus adeliensis* from clinical samples and the environment in Germany. *J Clin Microbiol.* 2005 Feb;43(2):1007.
24. Fraser JA, Giles SS, Wenink EC, Geunes-Boyer SG, Wright JR, Diezmann S, et al. Same-sex mating and the origin of the Vancouver Island *Cryptococcus gattii* outbreak. *Nature.* 2005 Oct 27;437(7063):1360–4.
25. Kidd Sarah, Halliday Catriona, Alexiou Helen, Ellis David. Descriptions of medical fungi / Sarah Kidd, Catriona Halliday, Helen Alexiou, David Ellis. Third edition. Australia; 2016.
26. Westblade LF, Burd EM, “Lockhart Shawn R.”, “Procop Gary W.” Larone’s *Medically Important Fungi: A Guide to Identification*, 7th Edition. Seventh.
27. Iyer KR, Revie NM, Fu C, Robbins N, Cowen LE. Treatment strategies for *cryptococcal* infection: challenges, advances and future outlook. *Nat Rev Microbiol.* 2021 Jul;19(7):454–66.
28. Lee Y, Puumala E, Robbins N, Cowen LE. Antifungal Drug Resistance: Molecular Mechanisms in *Candida albicans* and Beyond. *Chem Rev.* 2021 Mar 24;121(6):3390–411.
29. Denning DW. Echinocandin antifungal drugs. *Lancet.* 2003 Oct 4;362(9390):1142–51.
30. Perfect JR, Dismukes WE, Dromer F, Goldman DL, Graybill JR, Hamill RJ, et al. Clinical practice guidelines for the management of *cryptococcal* disease: 2010 update by the infectious diseases society of america. *Clin Infect Dis.* 2010 Feb 1;50(3):291–322.
31. Hawksworth DL, Crous PW, Redhead SA, Reynolds DR, Samson RA, Seifert KA, et al. The amsterdam declaration on fungal nomenclature. *IMA Fungus.* 2011 Jun;2(1):105–12.

32. Sheehy TW, Honeycutt BK, Spencer JT. *Geotrichum* septicemia. *JAMA*. 1976 Mar 8;235(10):1035–7.
33. André N, Coze C, Gentet JC, Perez R, Bernard JL. *Geotrichum candidum* septicemia in a child with hepatoblastoma. *Pediatr Infect Dis J*. 2004 Jan;23(1):86.
34. Keene S, Sarao MS, McDonald PJ, Veltman J. Cutaneous geotrichosis due to *Geotrichum candidum* in a burn patient. *Access Microbiol*. 2019;1(1):e000001.
35. *Geotrichum candidum* [Internet]. Available from: <https://thunderhouse4-yuri.blogspot.com/2012/05/geotrichum-candidum.html>
36. Brunetti G, Visconti V, Ghezzi MC, Mantovani S, Ferretti G, Raponi G. Management and treatment of *Magnusiomyces capitatus* (*Geotrichum capitatum*) pleural infection in a non-neutropenic patient with posaconazole. A new therapeutic opportunity? *New Microbiol*. 2016 Oct;39(4):307–9.
37. Esposto MC, Prigitano A, Lo Cascio G, Ossi C, Grancini A, Cavanna C, et al. Yeast-like filamentous fungi: Molecular identification and in vitro susceptibility study. *Med Mycol*. 2019 Oct 1;57(7):909–13.
38. Ioannou P, Papakitsou I. *Kodamaea ohmeri* infections in humans: A systematic review. *Mycoses*. 2020 Jul;63(7):636–43.
39. Zhou M, Li Y, Kudinha T, Xu Y, Liu Z. *Kodamaea ohmeri* as an Emerging Human Pathogen: A Review and Update. *Front Microbiol*. 2021;12:736582.
40. Santos AR de O, Lee DK, Ferreira AG, do Carmo MC, Rondelli VM, Barros KO, et al. The yeast community of *Conotelus* sp. (Coleoptera: Nitidulidae) in Brazilian passionfruit flowers (*Passiflora edulis*) and description of *Metschnikowia amazonensis* sp. nov., a large-spored clade yeast. *Yeast*. 2020 Mar;37(3):253–60.
41. Bergman MM, Gagnon D, Doern G V. *Pichia ohmeri* fungemia. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 1998 Mar;30(3):229–31.
42. Ni B, Gu W, Mei Y, Miao K, Zhang S, Shao Y. A Rare Life-threatening *Kodamaea ohmeri* Endocarditis Associated With Hemophagocytic Lymphohistiocytosis. *Rev Esp Cardiol (Engl Ed)*. 2018 Jan;71(1):51–3.
43. Kanno Y, Wakabayashi Y, Ikeda M, Tatsuno K, Misawa Y, Sato T, et al. Catheter-related bloodstream infection caused by *Kodamaea ohmeri*: A case report and literature review. *J Infect Chemother*. 2017 Jun;23(6):410–4.
44. Yu Q, Yan J, Gao Z, Yang H, Tang Y, Yang L. Subcutaneous granuloma caused by *Kodamaea ohmeri* in an immunocompromised patient in China. *Australas J Dermatol*. 2020 May;61(2):e213–6.
45. Otag F, Kuyucu N, Erturan Z, Sen S, Emekdas G, Sugita T. An outbreak of *Pichia ohmeri* infection in the paediatric intensive care unit: case reports and review of the literature. *Mycoses*. 2005 Jul;48(4):265–9.
46. Liu C xia, Yang J hong, Dong L, Mai J yun, Zhang L, Zhu J hu. [Clinical features and homological analysis of *Pichia ohmeri*-caused hospital-acquired fungemia in premature infants]. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi*. 2013 Jan 22;93(4):285–8.
47. Diallo K, Lefevre B, Cadelis G, Gallois JC, Gandon F, Nicolas M, et al. A case report of fungemia due to *Kodamaea ohmeri*. *BMC Infect Dis*. 2019 Jul 1;19(1):570.
48. Ding T, Zhu Y, Zhang ZM, Zou Y, An D, Li W, et al. Hospital-acquired pneumonia caused by *Kodamaea ohmeri* during extracorporeal membrane oxygenation treatment: A case report and literature review. *Exp Ther Med*. 2023 Nov 30;27(1):43.
49. Park JY, Shin JH, Uh Y, Kim EC, Kee SJ, Kim SH, et al. [In vitro amphotericin B susceptibility of Korean bloodstream yeast isolates assessed by the CLSI broth

- microdilution method, Etest, and Minimum fungicidal concentration test]. *Korean J Lab Med*. 2008 Oct;28(5):346–52.
50. Chakrabarti A, Rudramurthy SM, Kale P, Hariprasath P, Dhaliwal M, Singhi S, et al. Epidemiological study of a large cluster of fungaemia cases due to *Kodamaea ohmeri* in an Indian tertiary care centre. *Clin Microbiol Infect*. 2014 Feb;20(2):O83–9.
 51. Distasi MA, Del Gaudio T, Pellegrino G, Pirronti A, Passera M, Farina C. Fungemia due to *Kodamaea ohmeri*: First isolating in Italy. Case report and review of literature. *J Mycol Med*. 2015 Dec;25(4):310–6.
 52. Alobaid K, Abdullah AA, Ahmad S, Joseph L, Khan Z. *Magnusiomyces capitatus* fungemia: The value of direct microscopy in early diagnosis. *Med Mycol Case Rep*. 2019 Sep;25:32–4.
 53. Buchta V, Bolehovská R, Hovorková E, Cornely OA, Seidel D, Žák P. *Saprochaete clavata* Invasive Infections - A New Threat to Hematological-Oncological Patients. *Front Microbiol*. 2019;10:2196.
 54. Ortiz-Álvarez J, Reséndiz-Sánchez J, Juárez-Montiel M, Hernández-García JA, Vázquez-Guerrero E, Hernández-Rodríguez C, et al. Invasive Fungal Infection Caused by *Magnusiomyces capitatus* in an Immunocompromised Pediatric Patient with Acute Lymphoblastic Leukemia in Mexico City: A Case Report. *J Fungi (Basel)*. 2022 Aug 15;8(8).
 55. El Zein S, Hindy JR, Kanj SS. Invasive *Saprochaete* Infections: An Emerging Threat to Immunocompromised Patients. *Pathogens*. 2020 Nov 7;9(11).
 56. Lo Cascio G, Vincenzi M, Soldani F, De Carolis E, Maccacaro L, Sorrentino A, et al. Outbreak of *Saprochaete clavata* Sepsis in Hematology Patients: Combined Use of MALDI-TOF and Sequencing Strategy to Identify and Correlate the Episodes. *Front Microbiol*. 2020 Jan 31;11.
 57. D'Assumpcao C, Lee B, Heidari A. A Case of *Magnusiomyces capitatus* Peritonitis Without Underlying Malignancies. *J Investig Med High Impact Case Rep*. 2018 Jan 21;6:232470961879526.
 58. Gaitanis G, Magiatis P, Hantschke M, Bassukas ID, Velegriaki A. The *Malassezia* genus in skin and systemic diseases. *Clin Microbiol Rev*. 2012 Jan;25(1):106–41.
 59. van Belkum A, Boekhout T, Bosboom R. Monitoring spread of *Malassezia* infections in a neonatal intensive care unit by PCR-mediated genetic typing. *J Clin Microbiol*. 1994 Oct;32(10):2528–32.
 60. Chang HJ, Miller HL, Watkins N, Arduino MJ, Ashford DA, Midgley G, et al. An epidemic of *Malassezia pachydermatis* in an intensive care nursery associated with colonization of health care workers' pet dogs. *N Engl J Med*. 1998 Mar 12;338(11):706–11.
 61. Gueho E, Simmons RB, Pruitt WR, Meyer SA, Ahearn DG. Association of *Malassezia pachydermatis* with systemic infections of humans. *J Clin Microbiol*. 1987 Sep;25(9):1789–90.
 62. Chryssanthou E, Broberger U, Petrini B. *Malassezia pachydermatis* fungaemia in a neonatal intensive care unit. *Acta Paediatr*. 2001 Mar;90(3):323–7.
 63. Redline RW, Redline SS, Boxerbaum B, Dahms BB. Systemic *Malassezia furfur* infections in patients receiving intralipid therapy. *Hum Pathol*. 1985 Aug;16(8):815–22.
 64. Morrison VA, Weisdorf DJ. The spectrum of *Malassezia* infections in the bone marrow transplant population. *Bone Marrow Transplant*. 2000 Sep;26(6):645–8.

65. Tragiannidis A, Bisping G, Koehler G, Groll AH. Minireview: *Malassezia* infections in immunocompromised patients. *Mycoses*. 2010 May;53(3):187–95.
66. Spanamberg A, Driemeier D, Sonne L, Ferreira L. Onychomycosis Caused by *Malassezia pachydermatis* in a Dog. *Acta Sci Vet*. 2019 Aug 11;47.
67. Glatz M, Bosshard P, Hoetzenecker W, Schmid-Grendelmeier P. The Role of *Malassezia* spp. in Atopic Dermatitis. *J Clin Med*. 2015 May 29;4(6):1217–28.
68. Ashbee HR. Update on the genus *Malassezia*. *Med Mycol*. 2007 Jun;45(4):287–303.
69. Devlin RK. Invasive fungal infections caused by *Candida* and *Malassezia* species in the neonatal intensive care unit. *Adv Neonatal Care*. 2006 Apr;6(2):68–77; quiz 78–9.
70. Gerin M, Mahlaoui N, Elie C, Lanternier F, Bougnoux ME, Blanche S, et al. Therapeutic drug monitoring of voriconazole after intravenous administration in infants and children with primary immunodeficiency. *Ther Drug Monit*. 2011 Aug;33(4):464–6.
71. Pieper S, Kolve H, Gumbinger HG, Goletz G, Würthwein G, Groll AH. Monitoring of voriconazole plasma concentrations in immunocompromised paediatric patients. *J Antimicrob Chemother*. 2012 Nov;67(11):2717–24.
72. Telles JP, Ribeiro VST, Kraft L, Tuon FF. *Pseudozyma* spp. human infections: A systematic review. *Med Mycol*. 2021 Jan 4;59(1):1–6.
73. Sugita T, Takashima M, Poonwan N, Mekha N, Malaithao K, Thungmuthasawat B, et al. The first isolation of ustilaginomycetous anamorphic yeasts, *Pseudozyma* species, from patients' blood and a description of two new species: *P. parantarctica* and *P. thailandica*. *Microbiol Immunol*. 2003;47(3):183–90.
74. Lin SS, Pranikoff T, Smith SF, Brandt ME, Gilbert K, Palavecino EL, et al. Central venous catheter infection associated with *Pseudozyma aphidis* in a child with short gut syndrome. *J Med Microbiol*. 2008 Apr;57(Pt 4):516–8.
75. Hwang S, Kim J, Yoon S, Cha Y, Kim M, Yong D, et al. First report of brain abscess associated with *Pseudozyma* species in a patient with astrocytoma. *Korean J Lab Med*. 2010 Jun;30(3):284–8.
76. Joo H, Choi YG, Cho SY, Choi JK, Lee DG, Kim HJ, et al. *Pseudozyma aphidis* fungaemia with invasive fungal pneumonia in a patient with acute myeloid leukaemia: case report and literature review. *Mycoses*. 2016 Jan;59(1):56–61.
77. Parahym AMR de C, da Silva CM, Domingos I de F, Gonçalves SS, Rodrigues M de M, de Moraes VLL, et al. Pulmonary infection due to *Pseudozyma aphidis* in a patient with Burkitt lymphoma: first case report. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2013 Jan;75(1):104–6.
78. Mpakosi A, Siopi M, Demetriou M, Falaina V, Theodoraki M, Meletiadis J. Fungemia due to *Moesziomyces aphidis* (*Pseudozyma aphidis*) in a premature neonate. Challenges in species identification and antifungal susceptibility testing of rare yeasts. *J Mycol Med*. 2022 Aug;32(3):101258.
79. Cornely OA, Bassetti M, Calandra T, Garbino J, Kullberg BJ, Lortholary O, et al. ESCMID guideline for the diagnosis and management of *Candida* diseases 2012: non-neutropenic adult patients. *Clinical Microbiology and Infection*. 2012 Dec;18:19–37.
80. Pappas PG, Kauffman CA, Andes DR, Clancy CJ, Marr KA, Ostrosky-Zeichner L, et al. Clinical Practice Guideline for the Management of Candidiasis: 2016 Update by

- the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis*. 2016 Feb 15;62(4):e1-50.
81. Hof H. *Rhodotorula* spp. in the gut - foe or friend? *GMS Infect Dis*. 2019;7:Doc02.
 82. Villar JM, Velasco CG, Delgado JDJ. Fungemia due to *Rhodotorula mucilaginosa* in an immunocompetent, critically ill patient. *J Infect Chemother*. 2012 Aug;18(4):581–3.
 83. Hirano R, Mitsuhashi T, Osanai K. *Rhodotorula mucilaginosa* Fungemia, a Rare Opportunistic Infection without Central Venous Catheter Implantation, Successfully Treated by Liposomal Amphotericin B. *Case Rep Infect Dis*. 2022;2022:7830126.
 84. Spiliopoulou A, Anastassiou ED, Christofidou M. *Rhodotorula* fungemia of an intensive care unit patient and review of published cases. *Mycopathologia*. 2012 Oct;174(4):301–9.
 85. Nguyen Thanh V, Smit MS, Moleleki N, Fell JW. *Rhodotorula cycloclastica* sp. nov., *Rhodotorula retinophila* sp. nov., and *Rhodotorula terpenoidalis* sp. nov., three limonene-utilizing yeasts isolated from soil. *FEMS Yeast Res*. 2004 Sep;4(8):857–63.
 86. Neiman AM. Ascospore formation in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Microbiol Mol Biol Rev*. 2005 Dec;69(4):565–84.
 87. Alsammar H, Delneri D. An update on the diversity, ecology and biogeography of the *Saccharomyces* genus. *FEMS Yeast Res*. 2020 May 1;20(3).
 88. Cimolai N, Gill MJ, Church D. *Saccharomyces cerevisiae* fungemia: case report and review of the literature. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 1987 Oct;8(2):113–7.
 89. Parapouli M, Vasileiadis A, Afendra AS, Hatziloukas E. *Saccharomyces cerevisiae* and its industrial applications. *AIMS Microbiol*. 2020;6(1):1–31.
 90. Poncelet A, Ruelle L, Konopnicki D, Miendje Deyi VY, Dauby N. *Saccharomyces cerevisiae* fungemia: Risk factors, outcome and links with *S. boulardii*-containing probiotic administration. *Infect Dis Now*. 2021 May;51(3):293–5.
 91. Llopis S, Hernández-Haro C, Monteoliva L, Querol A, Molina M, Fernández-Espinar MT. Pathogenic potential of *Saccharomyces* strains isolated from dietary supplements. *PLoS One*. 2014;9(5):e98094.
 92. Pérez-Torrado R, Querol A. Opportunistic Strains of *Saccharomyces cerevisiae*: A Potential Risk Sold in Food Products. *Front Microbiol*. 2015;6:1522.
 93. Murphy A, Kavanagh K. Emergence of *Saccharomyces cerevisiae* as a human pathogen. *Enzyme Microb Technol*. 1999 Oct;25(7):551–7.
 94. Henry S, D'Hondt L, André M, Holemans X, Canon JL. *Saccharomyces cerevisiae* fungemia in a head and neck cancer patient: a case report and review of the literature. *Acta Clin Belg*. 2004;59(4):220–2.
 95. Herbrecht R, Nivoix Y. *Saccharomyces cerevisiae* Fungemia: An Adverse Effect of *Saccharomyces boulardii* Probiotic Administration. *Clinical Infectious Diseases*. 2005 Jun 1;40(11):1635–7.
 96. Jadah N. Effect of Q-Switched Nd: YAG Laser on Some Physiological Parameters of *Saccharomyces cerevisiae*. 2011 Sep;
 97. 'Hlihor R, 'Gavrilescu M. Biosorption of heavy metals from the environment using yeasts as biosorbents. 2009 Jan;
 98. Hamamoto M, Boekhout T, Nakase T. *Sporobolomyces Kluyver & van Niel* (1924). In: *The Yeasts*. Elsevier; 2011. p. 1929–90.
 99. Fairs A, Wardlaw AJ, Thompson, Pashley CH. Guidelines on ambient intramural airborne fungal spores. *J Investig Allergol Clin Immunol*. 2010;20(6):490–8.

100. Moore JE, Xu J, Millar BC, Elshibly S. Edible dates (*Phoenix dactylifera*), a potential source of *Cladosporium cladosporioides* and *Sporobolomyces roseus*: implications for public health. *Mycopathologia*. 2002;154(1):25–8.
101. Li CJ, Zhao D, Li BX, Zhang N, Yan JY, Zou HT. Whole genome sequencing and comparative genomic analysis of oleaginous red yeast *Sporobolomyces pararoseus* NGR identifies candidate genes for biotechnological potential and ballistospore-shooting. *BMC Genomics*. 2020 Dec 24;21(1):181.
102. Satoh K, Makimura K. *Sporobolomyces koalae* sp. nov., a basidiomycetous yeast isolated from nasal smears of Queensland koalas kept in a Japanese zoological park. *Int J Syst Evol Microbiol*. 2008 Dec 1;58(12):2983–6.
103. Serena C, Pastor FJ, Ortoneda M, Capilla J, Nolard N, Guarro J. In vitro antifungal susceptibilities of uncommon basidiomycetous yeasts. *Antimicrob Agents Chemother*. 2004 Jul;48(7):2724–6.
104. Raju DS, Sugunan A, Keechilattu P, Philip A, Reghu R. Chemoport-related Fungemia Caused by *Trichosporon asahii*. *J Pediatr Hematol Oncol*. 2020 Apr;42(3):e193–4.
105. Mehta V, Chander J, Gulati N, Singla N, Vasdeva H, Sardana R, et al. Epidemiological profile and antifungal susceptibility pattern of *Trichosporon* species in a tertiary care hospital in Chandigarh, India. *Curr Med Mycol*. 2021 Mar;7(1):19–24.
106. Singh S, Capoor MR, Varshney S, Gupta DK, Verma PK, Ramesh V. Epidemiology and Antifungal Susceptibility of Infections Caused by *Trichosporon* Species: An Emerging Non-Candida and Non-Cryptococcus Yeast Worldwide. *Indian J Med Microbiol*. 2019;37(4):536–41.
107. Kuo SH, Lu PL, Chen YC, Ho MW, Lee CH, Chou CH, et al. The epidemiology, genotypes, antifungal susceptibility of *Trichosporon* species, and the impact of voriconazole on *Trichosporon* fungemia patients. *J Formos Med Assoc*. 2021 Sep;120(9):1686–94.
108. Lacasse A, Cleveland KO. *Trichosporon mucoides* fungemia in a liver transplant recipient: case report and review. *Transpl Infect Dis*. 2009 Apr;11(2):155–9.
109. Liao Y, Lu X, Yang S, Luo Y, Chen Q, Yang R. Epidemiology and Outcome of *Trichosporon* Fungemia: A Review of 185 Reported Cases From 1975 to 2014. *Open Forum Infect Dis*. 2015 Dec;2(4):ofv141.
110. Subramanian P, Rajendiran P, Hanifah M, M Easow J. TRICHOSPORON ASAHII CAUSING UROSEPSIS: A CASE REPORT. *Indian Journal of Case Reports*. 2019 Apr 30;5(2):195–7.
111. GAMS W, DIEDERICH P, PÖLDMAA K. FUNGICOLOUS FUNGI. In: *Biodiversity of Fungi*. Elsevier; 2004. p. 343–92.
112. Mattei D, Mordini N, Lo Nigro C, Gallamini A, Osenda M, Pugno F, et al. Successful treatment of *Acremonium* fungemia with voriconazole. *Mycoses*. 2003 Dec;46(11–12):511–4.
113. Díaz-Couselo FA, Zylberman M. Catheter-Related *Acremonium kiliense* Fungemia in a Patient with Ulcerative Colitis under Treatment with Infliximab. *Case Rep Infect Dis*. 2011;2011:710740.
114. Park SW, Nguyen TTT, Lee HB. Characterization of Two Species of *Acremonium* (Unrecorded in Korea) from Soil Samples: *A. varicolor* and *A. persicinum*. *Mycobiology*. 2017 Dec;45(4):353–61.

115. Nedret Koç A, Erdem F, Patiroğlu T. Case Report. *Acremonium falciforme* fungemia in a patient with acute leukaemia. *Mycoses*. 2002 Jun;45(5–6):202–3.
116. Pérez-Cantero A, Guarro J. *Sarocladium* and *Acremonium* infections: New faces of an old opportunistic fungus. *Mycoses*. 2020 Nov;63(11):1203–14.
117. Khan Z, Al-Obaid K, Ahmad S, Ghani AA, Joseph L, Chandy R. *Acremonium kiliense*: reappraisal of its clinical significance. *J Clin Microbiol*. 2011 Jun;49(6):2342–7.
118. Hitoto H, Pihet M, Weil B, Chabasse D, Bouchara JP, Rachieru-Sourisseau P. *Acremonium strictum* Fungaemia in a Paediatric Immunocompromised Patient: Diagnosis and Treatment Difficulties. *Mycopathologia*. 2010 Sep 26;170(3):161–4.
119. Weber RW, Levetin E. Allergen of the month--*Fusarium*. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2014 May;112(5):A11.
120. Batista BG, Chaves MA de, Reginatto P, Saraiva OJ, Fuentefria AM. Human fusariosis: An emerging infection that is difficult to treat. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2020;53:e20200013.
121. Cighir A, Mare AD, Vultur F, Cighir T, Pop SD, Horvath K, et al. *Fusarium* spp. in Human Disease: Exploring the Boundaries between Commensalism and Pathogenesis. *Life (Basel)*. 2023 Jun 26;13(7).
122. Thomas B, Audonoeau NC, Machouart M, Debourgogne A. *Fusarium* infections: Epidemiological aspects over 10 years in a university hospital in France. *J Infect Public Health*. 2020 Aug;13(8):1089–93.
123. Nucci M, Anaissie E. *Fusarium* infections in immunocompromised patients. *Clin Microbiol Rev*. 2007 Oct;20(4):695–704.
124. Olal , S., Atuhaire , K. D., Ochwo , S., Kiiza , L., Kangire , A., Musoli , P., et al. Immunodiagnostic potential of a 27 kDa protein of *Fusarium xylarioides*, the cause of coffee wilt disease in Robusta coffee in Uganda. *Afr J Biotechnol*. 2014 Jul 16;13(29):2922–9.
125. *Fusarium* species colony and microscopic description [Internet]. Available from: <https://www.medical-labs.net/fusarium-species-colony-and-microscopic-description-3138/>
126. Al-Hatmi AMS, Curfs-Breuker I, de Hoog GS, Meis JF, Verweij PE. Antifungal Susceptibility Testing of *Fusarium*: A Practical Approach. *J Fungi (Basel)*. 2017 Apr 26;3(2).
127. Konsoula A, Tsioutis C, Markaki I, Papadakis M, Agouridis AP, Spernovasilis N. *Lomentospora prolificans*: An Emerging Opportunistic Fungal Pathogen. *Microorganisms*. 2022 Jun 29;10(7).
128. Bronnimann D, Garcia-Hermoso D, Dromer F, Lanternier F, French Mycoses Study Group, Characterization of the isolates at the NRCMA. *Scedosporiosis/lomentosporiosis observational study (SOS): Clinical significance of Scedosporium species identification*. *Med Mycol*. 2021 May 4;59(5):486–97.
129. Penteado FD, Litvinov N, Sztajnbok J, Thomaz DY, Dos Santos AM, Vasconcelos DM, et al. *Lomentospora prolificans* fungemia in hematopoietic stem cell transplant patients: First report in South America and literature review. *Transpl Infect Dis*. 2018 Aug;20(4):e12908.
130. Elsayed S, Lannigan R, Chin-Yee I. *Scedosporium prolificans* fungemia. *Can J Infect Dis*. 1999 Jan;10(1):75–6.

131. Simarro E, Marín F, Morales A, Sanz E, Pérez J, Ruiz J. Fungemia due to *Scedosporium prolificans*: a description of two cases with fatal outcome. *Clin Microbiol Infect.* 2001 Nov;7(11):645–7.
132. Cooley L, Spelman D, Thursky K, Slavin M. Infection with *Scedosporium apiospermum* and *S. prolificans*, Australia. *Emerg Infect Dis.* 2007 Aug;13(8):1170–7.
133. Cassano F, Cardascia N, Tegola MG La, Boscia F, Alessio G. *Scedosporium apiospermum* contact lens-related keratitis: a case report and literature review. *Med Hypothesis Discov Innov Ophthalmol.* 2021;10(2):80–5.
134. Jabr R, Hammoud K. *Scedosporium apiospermum* fungemia successfully treated with voriconazole and terbinafine. *IDCases.* 2020;22:e00928.
135. Tan SYL, Chung SJ, Tan TE, Teo L, Tan BH, Tan YE. An unusual case of *Scedosporium apiospermum* fungaemia in an immunocompetent patient with a left ventricular assist device and an implantable cardiac device. *Access Microbiol.* 2020;2(9):acmi000148.
136. Visagie CM, Houbraken J, Frisvad JC, Hong SB, Klaassen CHW, Perrone G, et al. Identification and nomenclature of the genus *Penicillium*. *Stud Mycol.* 2014 Jun;78:343–71.
137. Yip DW, Gerriets V. *Penicillin*. 2024.
138. Wang TKF, Yuen K yung, Wong SSY. Asymptomatic *Penicillium marneffei* fungemia in an HIV-infected patient. *International Journal of Infectious Diseases.* 2007 May;11(3):280–1.
139. Filiotou A, Velegraiki A, Giannaris M, Pirounaki M, Mitroussia A, Kaloterakis A, et al. First case of *Penicillium marneffei* fungemia in Greece and strain susceptibility to five licensed systemic antifungal agents and posaconazole. *Am J Med Sci.* 2006 Jul;332(1):43–5.
140. Yu X, Cai X, Xu X, Zhang L, Huang X, Wang L, et al. Fungemia caused by *Penicillium marneffei* in an immunocompetent patient with COPD: A unique case report. *Medicine.* 2018 Jan;97(3):e9658.
141. Money NP. *Fungal Cell Biology and Development*. In: *The Fungi*. Elsevier; 2016. p. 37–66.
142. Ramírez I, Hidrón A, Cardona R. Successful treatment of pulmonary invasive fungal infection by *Penicillium non-marneffei* in lymphoblastic lymphoma: case report and literature review. *Clin Case Rep.* 2018 Jun;6(6):1153–7.
143. Spatafora JW, Quandt CA, Kepler RM, Sung GH, Shrestha B, Hywel-Jones NL, et al. New 1F1N Species Combinations in *Ophiocordycipitaceae* (Hypocreales). *IMA Fungus.* 2015 Dec 4;6(2):357–62.
144. Perdomo H, Cano J, Gené J, García D, Hernández M, Guarro J. Polyphasic analysis of *Purpureocillium lilacinum* isolates from different origins and proposal of the new species *Purpureocillium lavendulum*. *Mycologia.* 2013 Jan 20;105(1):151–61.
145. Schoch CL, Ciufu S, Domrachev M, Hotton CL, Kannan S, Khovanskaya R, et al. *NCBI Taxonomy: a comprehensive update on curation, resources and tools. Database (Oxford).* 2020 Jan 1;2020.
146. Calvillo-Medina RP, Ponce-Angulo DG, Raymundo T, Müller-Morales CA, Escudero-Leyva E, Campos Guillén J, et al. *Purpureocillium roseum* sp. nov. A new ocular pathogen for humans and mice resistant to antifungals. *Mycoses.* 2021 Feb;64(2):162–73.

147. Manual of Techniques in Invertebrate Pathology. Second. Elsevier; 2012.
148. Jacobs H, Gray SN, Crump DH. Interactions between nematophagous fungi and consequences for their potential as biological agents for the control of potato cyst nematodes. *Mycol Res.* 2003 Jan;107(1):47–56.
149. Ocak I, Bollino G, Bering P, Sciortino C, Cavalcante J. *Rasamsonia argillacea* species complex myocarditis in a patient with chronic granulomatous disease. *Radiol Case Rep.* 2019 Jun;14(6):766–70.
150. Sun BD, Chen AJ, Houbraken J, Frisvad JC, Wu WP, Wei HL, et al. New section and species in *Talaromyces*. *MycKeys.* 2020;68:75–113.
151. Frisvad JC, Yilmaz N, Thrane U, Rasmussen KB, Houbraken J, Samson RA. *Talaromyces atroseus*, a New Species Efficiently Producing Industrially Relevant Red Pigments. *PLoS One.* 2013 Dec 19;8(12):e84102.
152. Ryu MR, Yoo IY, Song DJ, Huh HJ, Ki CS, Lee NY. *Penicillium* Species Other Than *Talaromyces marneffe* Producing Red Pigment from Clinical Specimens: Isolation of *Talaromyces albobiverticillius*. *Laboratory Medicine Online.* 2017;7(4):211.
153. Guevara-Suarez M, Sutton DA, Cano-Lira JF, García D, Martin-Vicente A, Wiederhold N, et al. Identification and Antifungal Susceptibility of *Penicillium*-Like Fungi from Clinical Samples in the United States. *J Clin Microbiol.* 2016 Aug;54(8):2155–61.
154. Itoh N, Akazawa N, Murakami H, Ishibana Y, Takahashi Y, Hosoda W, et al. A *Schizophyllum commune* fungus ball in a lung cancer cavity: a case report. *BMC Infect Dis.* 2021 Dec 9;21(1):1052.
155. Chowdhary A, Kathuria S, Singh PK, Agarwal K, Gaur SN, Roy P, et al. Molecular characterization and in vitro antifungal susceptibility profile of *Schizophyllum commune*, an emerging basidiomycete in bronchopulmonary mycoses. *Antimicrob Agents Chemother.* 2013 Jun;57(6):2845–8.
156. Pérez-Cantero A, Guarro J. Current knowledge on the etiology and epidemiology of *Scopulariopsis* infections. *Med Mycol.* 2020 Feb 1;58(2):145–55.
157. Pérez-Cantero A, Guarro J. Current knowledge on the etiology and epidemiology of *Scopulariopsis* infections. *Med Mycol.* 2019 Apr 23;
158. Martínez-Herrera EO, Arroyo-Camarena S, Tejada-García DL, Porrás-López CF, Arenas R. Onychomycosis due to opportunistic molds. *An Bras Dermatol.* 2015;90(3):334–7.
159. Macura AB, Skóra M. 21-year retrospective study of the prevalence of *Scopulariopsis brevicaulis* in patients suspected of superficial mycoses. *Postepy Dermatol Alergol.* 2015 Jun;32(3):189–94.
160. Alp S, Gulmez D, Ayaz CM, Arikan-Akdagli S, Akova M. Fungaemia due to rare yeasts in a tertiary care university centre within 18 years. *Mycoses.* 2020 May 20;63(5):488–93.
161. Li W, Hu YA, Li FQ, Shi LN, Shao HF, Huang M, et al. Distribution of yeast isolates from invasive infections and their in vitro susceptibility to antifungal agents: evidence from 299 cases in a 3-year (2010 to 2012) surveillance study. *Mycopathologia.* 2015 Jun;179(5–6):397–405.
162. Chakrabarti A, Chatterjee SS, Rao KLN, Zameer MM, Shivaprakash MR, Singhi S, et al. Recent experience with fungaemia: change in species distribution and azole resistance. *Scand J Infect Dis.* 2009;41(4):275–84.
163. Peman J, Canton E, Quindos G, Eraso E, Alcoba J, Guinea J, et al. Epidemiology, species distribution and in vitro antifungal susceptibility of fungaemia in a Spanish

- multicentre prospective survey. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2012 May 1;67(5):1181–7.
164. Guinea J, Zaragoza Ó, Escribano P, Martín-Mazuelos E, Pemán J, Sánchez-Reus F, et al. Molecular Identification and Antifungal Susceptibility of Yeast Isolates Causing Fungemia Collected in a Population-Based Study in Spain in 2010 and 2011. *Antimicrob Agents Chemother*. 2014 Mar;58(3):1529–37.
 165. Fernández-Ruiz M, Guinea J, Puig-Asensio M, Zaragoza Ó, Almirante B, Cuenca-Estrella M, et al. Fungemia due to rare opportunistic yeasts: data from a population-based surveillance in Spain. *Med Mycol*. 2017 Feb 1;55(2):125–36.
 166. Ericsson J, Chryssanthou E, Klingspor L, Johansson AG, Ljungman P, Svensson E, et al. Candidaemia in Sweden: a nationwide prospective observational survey. *Clin Microbiol Infect*. 2013 Apr;19(4):E218-21.
 167. Arendrup MC, Bruun B, Christensen JJ, Fuursted K, Johansen HK, Kjaeldgaard P, et al. National surveillance of fungemia in Denmark (2004 to 2009). *J Clin Microbiol*. 2011 Jan;49(1):325–34.
 168. Swinne D, Nolard N, VAN Rooij P, Detandt M. Bloodstream yeast infections: a 15-month survey. *Epidemiol Infect*. 2009 Jul;137(7):1037–40.
 169. Faria-Ramos I, Neves-Maia J, Ricardo E, Santos-Antunes J, Silva AT, Costa-de-Oliveira S, et al. Species distribution and in vitro antifungal susceptibility profiles of yeast isolates from invasive infections during a Portuguese multicenter survey. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2014 Dec;33(12):2241–7.
 170. Papadogeorgakis H, Frangoulis E, Papaefstathiou C, Katsambas A. *Rhodotorula rubra* fungaemia in an immunosuppressed patient. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 1999 Mar;12(2):169–70.
 171. Apostolidis J, Bouzani M, Platsouka E, Belasiotou H, Stamouli M, Harhalakis N, et al. Resolution of fungemia due to *Fusarium* species in a patient with acute leukemia treated with caspofungin. *Clin Infect Dis*. 2003 May 15;36(10):1349–50.
 172. Samonis G, Anatoliotaki M, Apostolakou H, Maraki S, Mavroudis D, Georgoulis V. Transient fungemia due to *Rhodotorula rubra* in a cancer patient: case report and review of the literature. *Infection*. 2001;29(3):173–6.
 173. Petrocheilou-Paschou V, Prifti H, Kostis E, Papadimitriou C, Dimopoulos MA, Stamatelopoulos S. *Rhodotorula* septicemia: case report and minireview. *Clin Microbiol Infect*. 2001 Feb;7(2):100–2.
 174. Mpakosi A, Siopi M, Demetriou M, Falaina V, Theodoraki M, Meletiadiis J. A fatal neonatal case of fungemia due to *Exophiala dermatitidis*-case report and literature review. *BMC Pediatr*. 2022 Aug 10;22(1):482.
 175. Maraki S, Katzilakis N, Neonakis I, Stafylaki D, Meletiadiis J, Hamilos G, et al. *Exophiala dermatitidis* Central Line-Associated Bloodstream Infection in a Child with Ewing's Sarcoma: Case Report and Literature Review on Paediatric Infections. *Mycopathologia*. 2022 Dec;187(5–6):595–602.
 176. Christakis G, Perlorentzou S, Aslanidou M, Megalakaki A, Velegraki A. Fatal *Blastoschizomyces capitatus* sepsis in a neutropenic patient with acute myeloid leukemia: first documented case from Greece. *Mycoses*. 2005 May;48(3):216–20.
 177. Vrioni Georgia, Chronopoulou Genovefa, Vossou Christina, Theodoridou Kalliopi, Tsiamis Constantinos, Helen Karachaliou, et al. *Saprochaete capitata* (former name of *Geotrichum capitatum*) fungemia in a patient with chronic neurological and hematological disease. *ACTA MICROBIOLOGICA HELLENICA*, 62(2), 109-114. 2017 Jul 21;62(2).

178. Antachopoulos C, Papakonstantinou E, Dotis J, Bibashi E, Tamiolaki M, Kolioukas D, et al. Fungemia due to *Trichosporon asahii* in a neutropenic child refractory to amphotericin B: clearance with voriconazole. *J Pediatr Hematol Oncol*. 2005 May;27(5):283–5.
179. Ventoulis I, Sarmourli T, Amoiridou P, Mantzana P, Exindari M, Gioula G, et al. Bloodstream Infection by *Saccharomyces cerevisiae* in Two COVID-19 Patients after Receiving Supplementation of *Saccharomyces* in the ICU. *J Fungi (Basel)*. 2020 Jun 30;6(3).
180. Gkentzi D, Marangos M, Karatza A, Spiliopoulou A, Varvarigou A, Dimitriou G. SACCHAROMYCES CEREVISIAE FUNGAEMIA IN AN IMMUNOCOMPETENT TODDLER. *J Paediatr Child Health*. 2020 Jan;56(1):182.
181. Kofteridis D, Mantadakis E, Christidou A, Samonis G. *Rhodotorula glutinis* fungemia successfully treated with fluconazole: report of two cases. *Int J Infect Dis*. 2007 Mar;11(2):179–80.
182. Noni M, Stathi A, Velegraki A, Malamati M, Kalampaliki A, Zachariadou L, et al. Rare Invasive Yeast Infections in Greek Neonates and Children, a Retrospective 12-Year Study. *J Fungi (Basel)*. 2020 Sep 28;6(4).
183. Spiliopoulou A, Lekkou A, Vrioni G, Leonidou L, Cogliati M, Christofidou M, et al. Fungemia due to rare non-*Candida* yeasts between 2018 and 2021 in a Greek tertiary care university hospital. *Journal of Medical Mycology*. 2023 Aug;33(3):101386.
184. Lionakis MS, Bodey GP, Tarrand JJ, Raad II, Kontoyiannis DP. The significance of blood cultures positive for emerging saprophytic moulds in cancer patients. *Clinical Microbiology and Infection*. 2004 Oct;10(10):922–5.
185. Roilides E, Bibashi E, Acritidou E, Trahana M, Gompakis N, Karpouzas JG, et al. *Acremonium* fungemia in two immunocompromised children. *Pediatr Infect Dis J*. 1995 Jun;14(6):548–50.
186. Georgiadou SP, Velegraki A, Arabatzis M, Neonakis I, Chatzipanagiotou S, Dalekos GN, et al. Cluster of *Fusarium verticillioides* bloodstream infections among immunocompetent patients in an internal medicine department after reconstruction works in Larissa, Central Greece. *J Hosp Infect*. 2014 Apr;86(4):267–71.
187. Ioakimidou A, Vyzantiadis TA, Sakellari I, Arabatzis M, Smias C, Douka V, et al. An unusual cluster of *Acremonium kiliense* fungaemias in a haematopoietic cell transplantation unit. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2013 Mar;75(3):313–6.
188. Burgess TB, Condliffe AM, Elks PM. A Fun-Guide to Innate Immune Responses to Fungal Infections. *J Fungi (Basel)*. 2022 Jul 29;8(8).
189. Jerez Puebla LE. Fungal Infections in Immunosuppressed Patients. In: *Immunodeficiency*. InTech; 2012.
190. Blyth CC, Gilroy NM, Guy SD, Chambers ST, Cheong EY, Gottlieb T, et al. Consensus guidelines for the treatment of invasive mould infections in haematological malignancy and haemopoietic stem cell transplantation, 2014. *Intern Med J*. 2014 Dec 8;44(12b):1333–49.
191. Chen SC, Sorrell TC, Chang CC, Paige EK, Bryant PA, Slavin MA. Consensus guidelines for the treatment of yeast infections in the haematology, oncology and intensive care setting, 2014. *Intern Med J*. 2014 Dec 8;44(12b):1315–32.
192. Yamamoto M, Takakura S, Hotta G, Matsumura Y, Matsushima A, Nagao M, et al. Clinical characteristics and risk factors of non-*Candida* fungaemia. *BMC Infect Dis*. 2013 Dec 28;13(1):247.

193. Desai J V, Lionakis MS. The role of neutrophils in host defense against invasive fungal infections. *Curr Clin Microbiol Rep*. 2018 Sep;5(3):181–9.
194. Neofytos D, Steinbach WJ, Hanson K, Carpenter PA, Papanicolaou GA, Slavin MA. American Society for Transplantation and Cellular Therapy Series, #6: Management of Invasive Candidiasis in Hematopoietic Cell Transplantation Recipients. *Transplant Cell Ther*. 2023 Apr;29(4):222–7.
195. Kim CS. Fluconazole prophylaxis for prevention of invasive candidiasis in extremely preterm infants. *Clin Exp Pediatr*. 2021 Apr 15;64(4):167–8.
196. Lehrnbecher T, Becker K, Groll AH. Current Algorithms in Fungal Diagnosis in the Immunocompromised Host. *Methods Mol Biol*. 2017;1508:67–84.
197. García-Ruiz JC, López-Soria L, Olazábal I, Amutio E, Arrieta-Aguirre I, Velasco-Benito V, et al. Invasive infections caused by *Saprochaete capitata* in patients with haematological malignancies: Report of five cases and review of the antifungal therapy. *Rev Iberoam Micol*. 2013 Oct;30(4):248–55.
198. Cobo F, Zaragoza Ó, Navarro-Marí JM. *Rhodotorula dairenensis* fungemia in a patient with cancer. *Rev Iberoam Micol*. 2020 Apr;37(2):63–4.
199. Gurrieri F, Corbellini S, Piccinelli G, Turra A, Morello E, Malagola M, et al. Management of Invasive Infections due to a Rare Arthroconidial Yeast, *Saprochaete capitata*, in Two Patients with Acute Hematological Malignancies. *Vaccines (Basel)*. 2021 Nov 6;9(11).
200. von Lilienfeld-Toal M, Wagener J, Einsele H, Cornely OA, Kurzai O. Invasive Fungal Infection. *Dtsch Arztebl Int*. 2019 Apr 19;116(16):271–8.
201. Kidd SE, Chen SCA, Meyer W, Halliday CL. A New Age in Molecular Diagnostics for Invasive Fungal Disease: Are We Ready? *Front Microbiol*. 2019;10:2903.
202. Miceli MH, Díaz JA, Lee SA. Emerging opportunistic yeast infections. *Lancet Infect Dis*. 2011 Feb;11(2):142–51.
203. Goldman C, Akiyama MJ, Torres J, Louie E, Meehan SA. *Scedosporium apiospermum* infections and the role of combination antifungal therapy and GM-CSF: A case report and review of the literature. *Med Mycol Case Rep*. 2016 Mar;11:40–3.
204. Kozel TR, Wickes B. Fungal diagnostics. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2014 Apr 1;4(4):a019299.
205. Wiederhold NP. Antifungal Susceptibility Testing: A Primer for Clinicians. *Open Forum Infect Dis*. 2021 Nov 1;8(11).
206. Fang W, Wu J, Cheng M, Zhu X, Du M, Chen C, et al. Diagnosis of invasive fungal infections: challenges and recent developments. *J Biomed Sci*. 2023 Jun 19;30(1):42.
207. Lamy B, Dargère S, Arendrup MC, Parienti JJ, Tattevin P. How to Optimize the Use of Blood Cultures for the Diagnosis of Bloodstream Infections? A State-of-the Art. *Front Microbiol*. 2016 May 12;7.
208. Arendrup MC, Sulim S, Holm A, Nielsen L, Nielsen SD, Knudsen JD, et al. Diagnostic Issues, Clinical Characteristics, and Outcomes for Patients with Fungemia. *J Clin Microbiol*. 2011 Sep;49(9):3300–8.
209. Yang CS. MICROSCOPIC EXAMINATION OF STICKY TAPE OR BULK SAMPLES FOR THE EVALUATION AND IDENTIFICATION OF FUNGI.
210. Bouz G, Doležal M. Advances in Antifungal Drug Development: An Up-To-Date Mini Review. *Pharmaceuticals (Basel)*. 2021 Dec 16;14(12).

211. Singulani J de L, Galeane MC, Ramos MD, Gomes PC, dos Santos CT, de Souza BM, et al. Antifungal Activity, Toxicity, and Membranolytic Action of a Mastoparan Analog Peptide. *Front Cell Infect Microbiol*. 2019 Dec 6;9.
212. Knoll MA, Ulmer H, Lass-Flörl C. Rapid Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts and Molds by MALDI-TOF MS: A Systematic Review and Meta-Analysis. *J Fungi (Basel)*. 2021 Jan 18;7(1).
213. EUCAST DEFINITIVE DOCUMENT E.DEF 7.3.2 [Internet]. 2020. Available from: https://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/AFST/Files/EUCAST_E_Def_7.3.2_Yeast_testing_definitive_revised_2020.pdf
214. EUCAST DEFINITIVE DOCUMENT E.DEF 9.4 [Internet]. 2022. Available from: https://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/AFST/Files/EUCAST_EDef_9.4_method_for_susceptibility_testing_of_moulds.pdf
215. CLSI. Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts. CLSI standard M27. [Internet]. Fourth. CLSI; 2017. Available from: <https://clsi.org/standards/products/microbiology/documents/m27/>
216. CLSI. Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Filamentous Fungi. CLSI standard M38. [Internet]. Third. CLSI; 2017. Available from: <https://clsi.org/standards/products/microbiology/documents/m38/>
217. Berkow EL, Lockhart SR, Ostrosky-Zeichner L. Antifungal Susceptibility Testing: Current Approaches. *Clin Microbiol Rev*. 2020 Jun 17;33(3).
218. Mendonça A, Santos H, Franco-Duarte R, Sampaio P. Fungal infections diagnosis - Past, present and future. *Res Microbiol*. 2022;173(3):103915.
219. Morovati H, Kord M, Ahmadikia K, Eslami S, Hemmatzadeh M, Kurdestani K, et al. A comprehensive review of identification methods for pathogenic yeasts: Challenges and approaches. *Adv Biomed Res*. 2023;12(1):187.
220. Calderaro A, Chezzi C. MALDI-TOF MS: A Reliable Tool in the Real Life of the Clinical Microbiology Laboratory. *Microorganisms*. 2024 Feb 3;12(2):322.
221. Fraser M, Brown Z, Houldsworth M, Borman AM, Johnson EM. Rapid identification of 6328 isolates of pathogenic yeasts using MALDI-ToF MS and a simplified, rapid extraction procedure that is compatible with the Bruker Biotyper platform and database. *Med Mycol*. 2016 Jan;54(1):80–8.
222. Ranque S, Normand AC, Cassagne C, Murat JB, Bourgeois N, Dalle F, et al. MALDI-TOF mass spectrometry identification of filamentous fungi in the clinical laboratory. *Mycoses*. 2014 Mar;57(3):135–40.
223. Lau AF. Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization Time-of-Flight for Fungal Identification. *Clin Lab Med*. 2021 Jun;41(2):267–83.
224. Robert MG, Cornet M, Hennebique A, Rasamoelina T, Caspar Y, Pondérand L, et al. MALDI-TOF MS in a Medical Mycology Laboratory: On Stage and Backstage. *Microorganisms*. 2021 Jun 12;9(6).
225. Schoch CL, Seifert KA, Huhndorf S, Robert V, Spouge JL, Levesque CA, et al. Nuclear ribosomal internal transcribed spacer (ITS) region as a universal DNA barcode marker for *Fungi*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2012 Apr 17;109(16):6241–6.
226. Morovati H, Kord M, Ahmadikia K, Eslami S, Hemmatzadeh M, Kurdestani KM, et al. A Comprehensive Review of Identification Methods for Pathogenic Yeasts: Challenges and Approaches. *Adv Biomed Res*. 2023;12:187.

227. Arvanitis M, Anagnostou T, Fuchs BB, Caliendo AM, Mylonakis E. Molecular and nonmolecular diagnostic methods for invasive fungal infections. *Clin Microbiol Rev.* 2014 Jul;27(3):490–526.
228. Rogers TR, Verweij PE, Castanheira M, Dannaoui E, White PL, Arendrup MC, et al. Molecular mechanisms of acquired antifungal drug resistance in principal fungal pathogens and EUCAST guidance for their laboratory detection and clinical implications. *J Antimicrob Chemother.* 2022 Jul 28;77(8):2053–73.
229. Mercier T, Castagnola E, Marr KA, Wheat LJ, Verweij PE, Maertens JA. Defining Galactomannan Positivity in the Updated EORTC/MSGERC Consensus Definitions of Invasive Fungal Diseases. *Clin Infect Dis.* 2021 Mar 12;72(Suppl 2):S89–94.
230. Nalintya E, Kiggundu R, Meya D. Evolution of Cryptococcal Antigen Testing: What is new? *Curr Fungal Infect Rep.* 2016 Jun;10(2):62–7.
231. Warkentien T, Crum-Cianflone NF. An update on Cryptococcus among HIV-infected patients. *Int J STD AIDS.* 2010 Oct;21(10):679–84.
232. Zhao Y, Ye L, Zhao F, Zhang L, Lu Z, Chu T, et al. Cryptococcus neoformans, a global threat to human health. *Infect Dis Poverty.* 2023 Mar 17;12(1):20.
233. Giacobbe DR, Del Bono V, Viscoli C, Mikulska M. Use of 1,3- β -D-glucan in invasive fungal diseases in hematology patients. *Expert Rev Anti Infect Ther.* 2017 Dec;15(12):1101–12.
234. De Carolis E, Marchionni F, Torelli R, Angela MG, Pagano L, Murri R, et al. Comparative performance evaluation of Wako β -glucan test and Fungitell assay for the diagnosis of invasive fungal diseases. *PLoS One.* 2020;15(7):e0236095.
235. Montagna MT, Coretti C, Lovero G, De Giglio O, Montagna O, Laforgia N, et al. Diagnostic performance of 1 \rightarrow 3- β -D-glucan in neonatal and pediatric patients with Candidemia. *Int J Mol Sci.* 2011;12(9):5871–7.
236. Siopi M, Karakatsanis S, Roumpakis C, Korantanis K, Eldeik E, Sambatakou H, et al. Evaluation of the Dynamiker® Fungus (1-3)- β -D-Glucan Assay for the Diagnosis of Invasive Aspergillosis in High-Risk Patients with Hematologic Malignancies. *Infect Dis Ther.* 2022 Jun;11(3):1161–75.
237. Mery A, Sendid B, François N, Cornu M, Poissy J, Guerardel Y, et al. Application of Mass Spectrometry Technology to Early Diagnosis of Invasive Fungal Infections. *J Clin Microbiol.* 2016 Nov;54(11):2786–97.
238. Vatanshenassan M, Arastehfar A, Boekhout T, Berman J, Lass-Flörl C, Sparbier K, et al. Anidulafungin Susceptibility Testing of Candida glabrata Isolates from Blood Cultures by the MALDI Biotyper Antibiotic (Antifungal) Susceptibility Test Rapid Assay. *Antimicrob Agents Chemother.* 2019 Sep;63(9).
239. Tsuchida S, Umemura H, Nakayama T. Current Status of Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization-Time-of-Flight Mass Spectrometry (MALDI-TOF MS) in Clinical Diagnostic Microbiology. *Molecules.* 2020 Oct 17;25(20).
240. Keighley C, Cooley L, Morris AJ, Ritchie D, Clark JE, Boan P, et al. Consensus guidelines for the diagnosis and management of invasive candidiasis in haematology, oncology and intensive care settings, 2021. *Intern Med J.* 2021 Nov 22;51(S7):89–117.
241. Ramos JT, Villar S, Bouza E, Bergon-Sendin E, Perez Rivilla A, Collados CT, et al. Performance of a Quantitative PCR-Based Assay and Beta- β -Glucan Detection for Diagnosis of Invasive Candidiasis in Very-Low-Birth-Weight Preterm Neonatal Patients (CANDINEO Study). *J Clin Microbiol.* 2017 Sep;55(9):2752–64.

242. Johnson MD, Lewis RE, Dodds Ashley ES, Ostrosky-Zeichner L, Zaoutis T, Thompson GR, et al. Core Recommendations for Antifungal Stewardship: A Statement of the Mycoses Study Group Education and Research Consortium. *J Infect Dis*. 2020 Aug 5;222(Supplement_3):S175–98.
243. <https://www.ausdiagnostics.com/hospital-care-and-drug-resistance/>.
244. Meyer W, Irinyi L, Hoang MTV, Robert V, Garcia-Hermoso D, Desnos-Ollivier M, et al. Database establishment for the secondary fungal DNA barcode *translational elongation factor 1α* (*TEF1α*). *Genome*. 2019 Mar;62(3):160–9.
245. Irinyi L, Serena C, Garcia-Hermoso D, Arabatzis M, Desnos-Ollivier M, Vu D, et al. International Society of Human and Animal Mycology (ISHAM)-ITS reference DNA barcoding database—the quality controlled standard tool for routine identification of human and animal pathogenic fungi. *Med Mycol*. 2015 May 1;53(4):313–37.
246. Zieliński B, Sroka-Oleksiak A, Rymarczyk D, Piekarczyk A, Brzychczy-Włoch M. Deep learning approach to describe and classify fungi microscopic images. *PLoS One*. 2020 Jun 30;15(6):e0234806.
247. Koo T, Kim MH, Jue MS. Automated detection of superficial fungal infections from microscopic images through a regional convolutional neural network. *PLoS One*. 2021 Aug 17;16(8):e0256290.
248. ΕΛΣΤΑΤ. Αποτελέσματα απογραφής πληθυσμού κατοικιών ΕΛΣΤΑΤ 2021 [Internet]. Available from: https://elstat-outsourcers.statistics.gr/Census2022_GR.pdf
249. Atlas of Clinical Fungi [Internet]. Fourth. Available from: <https://www.atlasclinicalfungi.org/>
250. Posteraro B, Efremov L, Leoncini E, Amore R, Posteraro P, Ricciardi W, et al. Are the Conventional Commercial Yeast Identification Methods Still Helpful in the Era of New Clinical Microbiology Diagnostics? A Meta-Analysis of Their Accuracy. *J Clin Microbiol*. 2015 Aug;53(8):2439–50.
251. MALDI-TOF Mass Spectrometry [Internet]. Available from: <https://www.creative-proteomics.com/technology/maldi-tof-mass-spectrometry.htm>
252. MALDI Biotyper® [Internet]. Available from: https://www.agsanalitica.com/archivos/productos/219/1866135_MALDI_Biotyper_R_UO_brochure_01-2019_eBook.pdf
253. Maldi-Tof confirmation method for campylobacter [Internet]. Available from: <https://www.scientistlive.com/content/maldi-tof-confirmation-method-campylobacter>
254. Consumables & Accessories for CA Systems [Internet]. Available from: <https://www.bruker.com/es/products-and-solutions/microbiology-and-diagnostics/microbial-identification-for-clinical-laboratories-us-ivd/consumables-accessories-for-ca-systems.html>
255. QIAamp® DNA Mini and Blood Mini Handbook. In 2023.
256. Alastruey-Izquierdo A, Mellado E, Peláez T, Pemán J, Zapico S, Alvarez M, et al. Population-based survey of filamentous fungi and antifungal resistance in Spain (FILPOP Study). *Antimicrob Agents Chemother*. 2013 Jul;57(7):3380–7.
257. PCR clean-up and Gel extraction [Internet]. 2023. Available from: <https://www.mn-net.com/media/pdf/02/1a/74/Instruction-NucleoSpin-Gel-and-PCR-Clean-up.pdf>
258. Basic Local Alignment Search Tool [Internet]. Available from: <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>

259. CLSI. Performance Standards for Antifungal Susceptibility Testing of Filamentous Fungi. CLSI supplement M38M51S [Internet]. Third. 2022. Available from: <https://clsi.org/standards/products/microbiology/documents/m38m51s/>
260. CLSI. Performance Standards for Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts. CLSI supplement M27M44S. [Internet]. Third. CLSI; 2022. Available from: <https://clsi.org/standards/products/microbiology/documents/m27m44s/>
261. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Routine and extended internal quality control for MIC determination and agar dilution for yeasts, moulds and dermatophytes as recommended by EUCAST. Version 7.0 [Internet]. 2023. Available from: <http://www.eucast.org>
262. MIC, MBC, and MFC Assays [Internet]. Available from: <https://emerypharma.com/solutions/cell-microbiology-services/minimum-inhibitory-concentration/>
263. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Overview of antifungal ECOFFs and clinical breakpoints for yeasts, moulds and dermatophytes using the EUCAST E.Def 7.4, E.Def 9.4 and E.Def 11.0 procedures. Version 4.0 [Internet]. Vol. 4. 2023. Available from: <https://www.eucast.org/>
264. CLSI. Epidemiological Cutoff Value for Antifungal Susceptibility Testing. CLSI supplement M57S. [Internet]. Fourth. Clinical and Laboratory Standards Institute ; 2022. Available from: <https://clsi.org/>
265. CLSI. Epidemiological Cutoff Values for Antifungal Susceptibility Testing. CLSI supplement M59. [Internet]. Second. Clinical and Laboratory Standards Institute; 2018. Available from: <https://clsi.org/>
266. Villanueva F, Veliz J, Canasa Calvo K, Bellido E, Martell S, Ortega S, et al. Características de las fungemias en un centro de referencia del Perú: análisis retrospectivo de cinco años. *Rev Peru Med Exp Salud Publica*. 2020 Jun 5;37(2):276–81.
267. Dong D, Li Z, Zhang L, Jiang C, Mao E, Wang X, et al. Clinical and Microbiological Investigation of Fungemia from Four Hospitals in China. *Mycopathologia*. 2015 Jun 27;179(5–6):407–14.
268. Cornely OA, Gachot B, Akan H, Bassetti M, Uzun O, Kibbler C, et al. Epidemiology and outcome of fungemia in a cancer Cohort of the Infectious Diseases Group (IDG) of the European Organization for Research and Treatment of Cancer (EORTC 65031). *Clin Infect Dis*. 2015 Aug 1;61(3):324–31.
269. Weyand CM, Goronzy JJ. Aging of the Immune System. Mechanisms and Therapeutic Targets. *Ann Am Thorac Soc*. 2016 Dec;13 Suppl 5(Suppl 5):S422–8.
270. Kimura M, Asano-Mori Y, Sakoh T, Abe M, Ueno K, Hoshino Y, et al. Factors Associated with Breakthrough Fungemia Caused by *Candida* , *Trichosporon* , or *Fusarium* Species in Patients with Hematological Disorders. *Antimicrob Agents Chemother*. 2022 Mar 15;66(3).
271. Posteraro B, Spanu T, Fiori B, De Maio F, De Carolis E, Giaquinto A, et al. Antifungal Susceptibility Profiles of Bloodstream Yeast Isolates by Sensititre YeastOne over Nine Years at a Large Italian Teaching Hospital. *Antimicrob Agents Chemother*. 2015 Jul;59(7):3944–55.

Παραρτήματα

Κατάλογος εικόνων

-
- Εικόνα 1** Μακροσκοπική και μικροσκοπική μορφολογία *C. neoformans*. Α) Πρόσθια επιφάνεια της αποικίας (λευκή) σε SDA 3 ημερών (30°C). Β) Πρόσθια επιφάνεια της αποικίας (καφέ) σε bird seed άγαρ 3 ημερών (θερμοκρασία δωματίου). Γ) Σφαιρικά κύτταρα, με σκούρο τοίχωμα. Δ) Παχιά έλυτρα γύρω από τα κύτταρα όπως διακρίνονται με χρώση σινικής μελάνης
- Εικόνα 2** Στοχευμένη αντιμυκητική θεραπεία κρυπτοκόκκωσης από non-*neoformans*/non-*gattii* *Cryptococcus* spp.
- Εικόνα 3** Μακροσκοπική και μικροσκοπική μορφολογία *G. candidum*. Α) Πρόσθια επιφάνεια της αποικίας σε SDA 5 ημερών (30°C). Β) Αληθείς υφές και μονήρη ή σε αλυσίδες αρθροκονίδια
- Εικόνα 4** Αντιμυκητική θεραπεία πρώτης γραμμής και διαχείριση ασθενών με διηθητική γεωτρίχωση
- Εικόνα 5** Α) Καλλιέργεια *K. ohmeri* σε SDA 3 ημερών. Β) Μικροσκοπική απεικόνιση μετά από χρώση κατά Gram
- Εικόνα 6** Συνιστώμενη συστηματική αντιμυκητική θεραπεία και διαχείριση ασθενών με λοίμωξη από *K. ohmeri*
- Εικόνα 7** Μακροσκοπική και μικροσκοπική μορφολογία *Saprochaete/Magnusiomyces* spp. Α) Πρόσθια επιφάνεια της αποικίας *M. capitatus* σε SDA 5 ημερών. Β) Αρθροκονίδια *S. clavata* μετά από επώαση σε άγαρ αραβοσίτου για 5 ημέρες (35°C)
- Εικόνα 8** Συνιστώμενη συστηματική αντιμυκητική θεραπεία και διαχείριση ασθενών με συστηματική λοίμωξη από *Saprochaete/Magnusiomyces* spp.
- Εικόνα 9** Μακροσκοπική και μικροσκοπική μορφολογία *Malassezia* spp. Α) Πρόσθια επιφάνεια της αποικίας σε SDA. Β) Βλαστοκονίδια με μικρού εύρους βάση εκβλάστησης
- Εικόνα 10** Συνιστώμενη συστηματική αντιμυκητική θεραπεία και διαχείριση ασθενών με λοίμωξη από *Malassezia* spp.
- Εικόνα 11** Μακροσκοπική και μικροσκοπική μορφολογία *Moesziomyces aphidis* (πρώην *Pseudozyma aphidis*). Α) Πρόσθια επιφάνεια της αποικίας σε SDA 5 ημερών (30°C). Β) Ατρακτοειδή επιμήκη βλαστοκονίδια και ψευδοϋφές
- Εικόνα 12** Συνιστώμενη συστηματική αντιμυκητική θεραπεία και διαχείριση ασθενών με λοίμωξη από *Pseudozyma* spp.
- Εικόνα 13** Μακροσκοπική και μικροσκοπική μορφολογία *Rhodotorula* spp. Α) Πρόσθια επιφάνεια της αποικίας σε SDA 5 ημερών (30°C). Β) Ωοειδή βλαστοκονίδια με εκβλαστώματα μετά από επώαση σε άγαρ yeast malt για 3 ημέρες (20°C)
- Εικόνα 14** Συνιστώμενη συστηματική αντιμυκητική θεραπεία και διαχείριση ασθενών με λοίμωξη από *Rhodotorula* spp.

- Εικόνα 15** Μακροσκοπική και μικροσκοπική μορφολογία *S. cerevisiae*. A) Πρόσθια επιφάνεια της αποικίας σε PDA. B) Μεγάλα ελλειψοειδή κύτταρα
- Εικόνα 16** Συνιστώμενη συστηματική αντιμυκητική θεραπεία και διαχείριση ασθενών με λοίμωξη από *Saccharomyces* spp.
- Εικόνα 17** Μακροσκοπική και μικροσκοπική μορφολογία *Sporobolomyces* spp. A) Πρόσθια επιφάνεια της αποικίας σε άγαρ yeast extract peptone dextrose. B) Ωοειδή, επιμήκη κύτταρα και ψευδοϋφές μετά από επώαση σε ζυμό yeast malt για 1 ημέρα (28°C) (αριστερά) και βαλλιστοκονίδια μετά από επώαση σε άγαρ αραβοσίτου για 3 ημέρες (17°C) (δεξιά)
- Εικόνα 18** Συνιστώμενη συστηματική αντιμυκητική θεραπεία και διαχείριση ασθενών με λοίμωξη από *Sporobolomyces* spp.
- Εικόνα 19** Μακροσκοπική και μικροσκοπική μορφολογία *T. asahii*. A) Πρόσθια επιφάνεια της αποικίας σε SDA. B) Υφές με αρθροκονίδια
- Εικόνα 20** Αντιμυκητική θεραπεία και διαχείριση ασθενών με συστηματική τριχοσπορίωση
- Εικόνα 21** Μακροσκοπική και μικροσκοπική μορφολογία *Acremonium* spp. A) Πρόσθια/οπίσθια επιφάνεια της αποικίας σε SDA 5 ημερών (30°C). B) Φιαλοκονίδια συσσωρεύονται στο άκρο λεπτής φιαλίδας
- Εικόνα 22** Το φάσμα των λοιμώξεων από *Acremonium* spp. και *Sarocladium* spp. Κάτω από κάθε κλινική εκδήλωση αναγράφονται τα συνιστώμενα αντιμυκητικά για την αντιμετώπιση της εκάστοτε λοίμωξης
- Εικόνα 23** Μακροσκοπική και μικροσκοπική μορφολογία *Fusarium* spp. A) Πρόσθια/οπίσθια επιφάνεια της αποικίας σε PDA 10 ημερών (θερμοκρασία δωματίου). B) Δρεπανοειδή μακροκονίδια, με ποδοκύτταρο και οξύαιχο άκρο (πάνω), και μικροκονίδια, που εκφύονται κατά ομάδα στο άκρο φιαλίδας (κάτω)
- Εικόνα 24** Συνιστώμενη συστηματική αντιμυκητική θεραπεία σε ενήλικες ασθενείς με φουζαρίωση
- Εικόνα 25** Μακροσκοπική και μικροσκοπική μορφολογία *L. prolificans*. A) Πρόσθια επιφάνεια της αποικίας. B) Κονιδιοφόροι σε σχήμα φιάλης, με διογκωμένες βάσεις, από τις οποίες εκφύονται ωοειδή κονίδια σε συστάδες
- Εικόνα 26** Συνιστώμενη συστηματική αντιμυκητική θεραπεία σε ενήλικες ασθενείς με λομεντοσπορίωση
- Εικόνα 27** Μακροσκοπική και μικροσκοπική μορφολογία συμπλέγματος ειδών *S. apiospermum*. A) Πρόσθια/οπίσθια επιφάνεια της αποικίας σε SDA 7 ημερών (30°C). B) Ροπαλοειδή κονίδια, με στρογγυλεμένο το πάνω μέρος τους και κολοβωμένες βάσεις, που εκφύονται από κονιδιοφόρους
- Εικόνα 28** Συνιστώμενη συστηματική αντιμυκητική θεραπεία σε ενήλικες ασθενείς με σκεδοσπορίωση
- Εικόνα 29** Μακροσκοπική και μικροσκοπική μορφολογία *P. variotii*. A) Πρόσθια επιφάνεια της αποικίας σε SDA 4 ημερών (30°C). B) Φιαλίδες με οξύαιχο άκρο από το οποίο ξεκινούν αλυσίδες φιαλοκονιδίων (αριστερά) και τελικά χλαμυδοκονίδια (δεξιά)

- Εικόνα 30** Συνιστώμενη συστηματική αντιμυκητική θεραπεία σε ενήλικες ασθενείς με λοίμωξη από *Paecilomyces* spp.
- Εικόνα 31** Μακροσκοπική και μικροσκοπική μορφολογία *Penicillium* spp. A) Πρόσθια επιφάνεια της αποικίας σε SDA 4 ημερών (30°C). B) Κονιδιακή κεφαλή που ομοιάζει με θύσανο και φιαλίδες, από το άκρο των οποίων εκφύονται φιαλοκονίδια σε αλυσίδες
- Εικόνα 32** Συνιστώμενη συστηματική αντιμυκητική θεραπεία σε ενήλικες ασθενείς με λοίμωξη από *Penicillium* spp.
- Εικόνα 33** Μακροσκοπική και μικροσκοπική μορφολογία αποικίας *P. lilacinum*. A) Πρόσθια επιφάνεια της αποικίας σε PDA 4 ημερών (30°C). B) Κονιδιοφόροι με τραχύ τοίχωμα και ατρακτοειδή φιαλοκονίδια σε αλυσίδες που αποκλίνουν
- Εικόνα 34** Συνιστώμενη συστηματική αντιμυκητική θεραπεία σε ενήλικες ασθενείς με λοίμωξη *Purpureocillium* spp.
- Εικόνα 35** Μακροσκοπική και μικροσκοπική μορφολογία *R. argillacea*. A) Πρόσθια επιφάνεια της αποικίας σε άγαρ yeast extract peptone dextrose 7 ημερών. B) Κονιδιοφόροι με τραχύ τοίχωμα και κυλινδρικά φιαλοκονίδια σε αλυσίδες
- Εικόνα 36** Συνιστώμενη συστηματική αντιμυκητική θεραπεία σε ενήλικες ασθενείς με διηθητική λοίμωξη από *Rasamsonia* spp.
- Εικόνα 37** Μακροσκοπική και μικροσκοπική μορφολογία *T. albobiverticillius*. A) Πρόσθια επιφάνεια της αποικίας σε SDA agar (25-30°C). B) Κονιδιακή κεφαλή που ομοιάζει με θύσανο και φιαλίδες, από το άκρο των οποίων εκφύονται φιαλοκονίδια σε αλυσίδες
- Εικόνα 38** Συνιστώμενη συστηματική αντιμυκητική θεραπεία σε ενήλικες ασθενείς με λοίμωξη από non-*marnefii* ταλαρομύκωση
- Εικόνα 39** Μακροσκοπική και μικροσκοπική εικόνα *S. commune*. A) Βασιδιοσπόρια σε άγαρ εκχυλίσματος βύνης. B) Υαλοειδείς υφές με συνδέσεις σφιγκτήρα
- Εικόνα 40** Συνιστώμενη συστηματική αντιμυκητική θεραπεία σε ενήλικες ασθενείς με λοίμωξη από *S. commune*
- Εικόνα 41** Μακροσκοπική και μικροσκοπική μορφολογία *S. brevicaulis*. A) Πρόσθια/οπίσθια επιφάνεια της αποικίας σε SDA 5 ημερών (30°C). B) Αννελίδια, στα άκρα των οποίων σηματοποιούνται αλυσίδες ωοειδών κονιδίων με παχύ τοίχωμα
- Εικόνα 42** Συνιστώμενη συστηματική αντιμυκητική θεραπεία σε ενήλικες ασθενείς με λοίμωξη από *Scopulariopsis* spp.
- Εικόνα 43** Παγκόσμιος επιπολασμός (περιστατικά/1.000.000 κατοίκους) των καταγεγραμμένων λοιμώξεων από σπάνιους ζυμομύκητες
- Εικόνα 44** Επιπολασμός των λοιμώξεων από σπάνιους ζυμομύκητες στις χώρες της Λατινικής Αμερικής κατά την 25ετία 1997 με 2022
- Εικόνα 45** Διαγραμματική απεικόνιση των δυνατοτήτων του συστήματος MALDI-ToF MS στον κλάδο της Κλινικής Μυκητολογίας

- Εικόνα 46** Διάταξη της συστοιχίας του rDNA
- Εικόνα 47** Δοκιμασίες ανίχνευσης αντιγόνου *Cryptococcus* σε ορό
- Εικόνα 48** Σχηματική αναπαράσταση της βελτιωμένης ροής εργασίας για τη διάγνωση μυκηταιμίας απευθείας από τη φιάλη θετικής αιμοκαλλιέργειας με MALDI-ToF MS
- Εικόνα 49** Σχηματική αναπαράσταση της ροής εργασίας για τη διάγνωση μιας μυκητιακής λοίμωξης απευθείας από το κλινικό δείγμα με τεχνολογίες NGS
- Εικόνα 50** Σχηματική αναπαράσταση των κύριων αρχών μηχανικής μάθησης, εποπτευόμενης (αριστερά), χωρίς επίβλεψη (στη μέση) και ενίσχυσης (δεξιά), για την ταυτοποίηση μυκήτων σύμφωνα με τη μικροσκοπική τους απεικόνιση
- Εικόνα 51** Σχηματική αναπαράσταση Α) της ροής εργασίας σε έναν αναλυτή MALDI-ToF MS και Β) των τελικών σταδίων που ακολουθούνται για την ταυτοποίηση μικροοργανισμών με τη χρήση του συστήματος MALDI Biotyper®
- Εικόνα 52** Αναλυτής MALDI Biotyper® (αριστερά) και ανοξεϊδωτή πλάκα 96-θέσεων για τη φόρτωση των δειγμάτων (δεξιά)
- Εικόνα 53** Σχηματική αναπαράσταση της ροής εργασίας για την απομόνωση γονιδιωματικού DNA νηματοειδών μυκήτων με στήλες διαχωρισμού QIAamp Mini
- Εικόνα 54** Σχηματική αναπαράσταση της ροής εργασίας για την ηλεκτροφόρηση των PCR προϊόντων σε πηκτή αγαρόζης 1,5%
- Εικόνα 55** Σχηματική αναπαράσταση της ροής εργασίας για τον καθαρισμό PCR προϊόντων με την δοκιμασία NucleoSpin® Gel and PCR Clean-up
- Εικόνα 56** Κατά ISO αραιώσεις για την παρασκευή διαλυμάτων εργασίας αντιμυκητικού, με επιθυμητό εύρος τελικών εξεταζόμενων συγκεντρώσεων 0,004-4 mg/L, η δραστηριότητα του οποίου θα ελεγχθεί σύμφωνα με την EUCAST BMD
- Εικόνα 57** Κατά ISO αραιώσεις για την παρασκευή διαλυμάτων εργασίας αντιμυκητικού, με επιθυμητό εύρος τελικών εξεταζόμενων συγκεντρώσεων 0,06-64 mg/L, η δραστηριότητα του οποίου θα ελεγχθεί σύμφωνα με τη CLSI BMD
- Εικόνα 58** Σχηματική απεικόνιση της ροής εργασίας του AFST με την πρότυπη μέθοδο BMD
- Εικόνα 59** Διαγραμματική απεικόνιση της κατανομής των αιτιολογικών παραγόντων της μυκηταιμίας από σπάνιους ζυμομύκητες στην Ελλάδα
- Εικόνα 60** Διαγραμματική απεικόνιση της κατανομής των αιτιολογικών παραγόντων της μυκηταιμίας από σπάνιους νηματοειδείς μύκητες στην Ελλάδα
- Εικόνα 61** Ετήσια κατανομή των αιτιολογικών παραγόντων και επίπτωση της μυκηταιμίας από σπάνιους ζυμομύκητες στο Π.Γ.Ν. “Αττικόν” στη διάρκεια της 14ετίας 2009-2022

- Εικόνα 62** Μακροσκοπική (πρόσθια επιφάνεια της αποικίας σε SDA 5 ημερών, 30°C) (αριστερά) και μικροσκοπική (αντικειμενικός φακός 40x) (δεξιά) μορφολογία στελεχών σπάνιων ζυμομυκήτων που μελετήθηκαν στο πλαίσιο της παρούσας εργασίας
- Εικόνα 63** Ετήσια κατανομή των αιτιολογικών παραγόντων και επίπτωση της μυκηταιμίας από σπάνιους νηματοειδείς μύκητες στο Π.Γ.Ν. “Αττικόν” στη διάρκεια της 14ετίας 2009-2022
- Εικόνα 64** Πρόσθια (αριστερά) και οπίσθια (δεξιά) επιφάνεια της αποικίας σε SDA 8 ημερών, 30°C, στελεχών σπάνιων νηματοειδών μυκήτων που μελετήθηκαν στο πλαίσιο της παρούσας εργασίας
-

Κατάλογος πινάκων

- Πίνακας 1** Παράγοντες διαμόρφωσης των επιδημιολογικών τάσεων των ευκαιριακών μυκητικών λοιμώξεων
- Πίνακας 2** Συστατικά της αντίδρασης PCR και απαιτούμενοι όγκοι τους για την ενίσχυση της περιοχής ITS1-5.8S-ITS2, τμήματος του γονιδίου της β-τουμπουλίνης και της περιοχής του γονιδίου που κωδικοποιεί τον TEF-1α
- Πίνακας 3** Πρόγραμμα της αντίδρασης PCR για την ενίσχυση της περιοχής ITS1-5.8S-ITS2, τμήματος του γονιδίου της β-τουμπουλίνης και της περιοχής του γονιδίου που κωδικοποιεί τον TEF-1α
- Πίνακας 4** Τεχνικές διαφορές μεταξύ των CLSI και EUCAST μεθοδολογιών BMD για τον AFST έναντι non-*Candida* ζυμομυκήτων και non-*Aspergillus*/non-Mucorales νηματοειδών μυκήτων
- Πίνακας 5** Συστατικά και τρόπος παρασκευής 1 L θρεπτικού υλικού RPMI 1640 (2x) για τον AFST με τη μεθοδολογία CLSI/EUCAST BMD
- Πίνακας 6** Διαλύτης που χρησιμοποιήθηκε για την παρασκευή των μητρικών διαλυμάτων φαρμάκου, συγκέντρωση του εκάστοτε stock διαλύματος και εύρος των τελικών συγκεντρώσεων αντιμυκητών παραγόντων που εξετάστηκαν με τη μεθοδολογία BMD στο πλαίσιο της παρούσας μελέτης
- Πίνακας 7** EUCAST/CLSI ECOFFs/ECVs για όσους από τους συνδυασμούς σπάνιου μύκητα- αντιμυκητικού είναι διαθέσιμα
- Πίνακας 8** Συγκεντρωτικός πίνακας των δημογραφικών και κλινικών χαρακτηριστικών των ασθενών με μυκηταιμία από σπάνιο ζυμομύκητα στην Ελλάδα, όπως περιγράφονται σε διάφορες μελέτες
- Πίνακας 9** Συγκεντρωτικός πίνακας των μεθόδων ταυτοποίησης και του προφίλ της *in vitro* ευαισθησίας των αιτιολογικών παραγόντων για μυκηταιμία από σπάνιο ζυμομύκητα στην Ελλάδα, όπως περιγράφονται σε διάφορες μελέτες
- Πίνακας 10** Συγκεντρωτικός πίνακας των δημογραφικών και κλινικών χαρακτηριστικών των ασθενών με μυκηταιμία από σπάνιο νηματοειδή μύκητα στην Ελλάδα, όπως περιγράφονται σε διάφορες μελέτες
- Πίνακας 11** Συγκεντρωτικός πίνακας των μεθόδων ταυτοποίησης και του προφίλ της *in vitro* ευαισθησίας των αιτιολογικών παραγόντων της μυκηταιμίας από σπάνιο νηματοειδή μύκητα στην Ελλάδα, όπως περιγράφονται σε διάφορες μελέτες
- Πίνακας 12** Προφίλ της *in vitro* ευαισθησίας στα αντιμυκητικά των στελεχών σπάνιων ζυμομυκήτων που μελετήθηκαν στο πλαίσιο της παρούσας εργασίας
- Πίνακας 13** Δημογραφικά και κλινικά χαρακτηριστικά των ασθενών με μυκηταιμία από σπάνιο ζυμομύκητα που περιλαμβάνονται στην παρούσα μελέτη
- Πίνακας 14** Προφίλ της *in vitro* ευαισθησίας στα αντιμυκητικά των στελεχών σπάνιων νηματοειδών μυκήτων που μελετήθηκαν στο πλαίσιο της παρούσας εργασίας

Πίνακας 15 Δημογραφικά και κλινικά χαρακτηριστικά των ασθενών με μυκηταιμία από σπάνιο νηματοειδή μύκητα που περιλαμβάνονται στην παρούσα μελέτη
