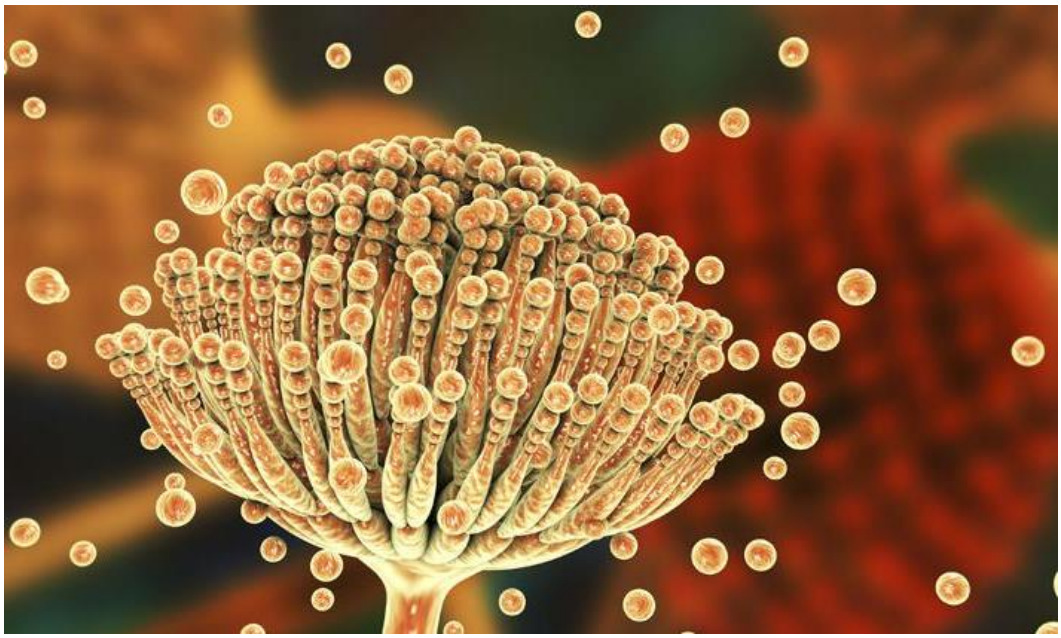
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΔΥΤΙΚΗΣ ΑΤΤΙΚΗΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΑΓΓΕΛΜΑΤΩΝ ΥΓΕΙΑΣ ΚΑΙ ΠΡΟΝΟΙΑΣ

ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΩΝ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΩΝ

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ:

«ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ, ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΔΙΑΓΝΩΣΗΣ ΚΑΙ ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΑΣΠΕΡΓΙΛΩΣΗΣ»



ΟΝ/ΜΟ ΦΟΙΤΗΤΗ: ΔΑΣΚΑΛΑΚΗ ΑΝΝΑ Α.Μ. 13129

ΟΝ/ΜΑ ΕΙΣΗΓΗΤΗ: ΠΟΥΡΗΣ ΙΩΑΝΝΗΣ, ΒΙΟΛΟΓΟΣ

Αθήνα, 2020

Περιεχόμενα

Ι. ΕΙΣΑΓΩΓΗ	**3**
ΙΙ. ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	**6**
ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΜΥΚΗΤΟΛΟΓΙΑΣ	**6**
Ορισμός μυκήτων	**6**
Δομή - Κατάταξη μυκήτων	**6**
ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΑΣΠΕΡΓΙΛΛΟΥ	**8**
Μορφολογία ασπέργιλλων	**8**
Πολλασπλασιασμός ασπέργιλλων	**9**
Ταξινόμηση	**9**
ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑΣ	**11**
Παθογένεια ασπέργιλλου	**11**
Κλινική εικόνα της νόσου	**14**
Παράγοντες κινδύνου εμφάνισης λοίμωξης από ασπέργιλλο	**14**
Ασθένειες που οφείλονται σε ασπέργιλλο	**17**
ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΔΙΑΓΝΩΣΗΣ ΑΣΠΕΡΓΙΛΛΩΣΗΣ	**26**
Διαφορική διάγνωση ασπεργιλλώσεων	**26**
Μικροσκοπική διάγνωση ασπεργιλλώσεων	**29**
Φαινοτυπική και μοριακή ανίχνευση και διάγνωση	**31**
ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΑΣΠΕΡΓΙΛΛΩΣΗΣ	**35**
Σύγχρονες μελέτες για τη θεραπεία της ασπεργίλλωσης	**35**
Χορήγηση θεραπείας ανάλογα με το είδος της λοίμωξης	**36**
ΙΙΙ. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	**39**
Α. Συζήτηση	**39**
Β. Συμπεράσματα	**41**

Γ. Περίληψη **47**

Δ. Summary **47**

Ε. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ **48**

I. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Τα τελευταία χρόνια έχει επέλθει μια δραματική αύξηση της επίπτωσης του *Aspergillus* στον άνθρωπο, ως αποτέλεσμα της όλο και πιο δραστικής ανοσοκατασταλτικής θεραπείας. Ο *A. fumigatus* έχει αναδειχθεί στον πλέον σημαντικό αερομεταδιδόμενο παθογόνο μύκητα στις αναπτυγμένες χώρες. Η λοίμωξη του αναπνευστικού από *Aspergillus* εμπλέκεται με αλλεργικές αντιδράσεις, όπως στο άσθμα και την πνευμονίτιδα εξ υπερευαισθησίας, αλλά και με αποικισμό του βρογχικού δένδρου, με επακόλουθη αλλεργική βρογχοπνευμονική ή διηθητική ασπεργίλλωση. Παρά τις νεότερες εξελίξεις στη μελέτη του μύκητα αυτού, υπάρχουν πολλές άγνωστες πτυχές στη συμπεριφορά του και στην παθογένεια των νόσων που προκαλεί. Εξαιτίας της έλλειψης αυτής της γνώσης, η αντιμετώπιση των σχετιζόμενων με το μύκητα παθήσεων γίνεται συνήθως εμπειρικά και με δυσκολία. Για την καλύτερη κατανόηση των παθήσεων αυτών θα πρέπει να ανασυνταχθούν οι στρατηγικές της διάγνωσης, της επιδημιολογίας, της θεραπείας και της παθογένειάς τους (Δημητρόπουλος, & Φιλίππου, 2008).

Πριν από τέσσερις δεκαετίες η ασπεργίλλωση ήταν μια σπάνια λοίμωξη, ακόμη και για τους ανοσοκατασταλμένους ασθενείς. Τα τελευταία χρόνια, εξαιτίας της αύξησης του αριθμού των ανοσοκατασταλμένων ασθενών, της πιο δραστικής χημειοθεραπείας, η οποία έχει ως αποτέλεσμα την παρατεταμένη ουδετεροπενία, του καλύτερου ελέγχου των βακτηριδιακών λοιμώξεων και της αυξημένης χρήσης των κορτικοειδών, η ασπεργίλλωση απαντάται όλο και πιο συχνά (Perez-cantero, et al., 2019).

Οι πρώτες έρευνες για την αερομεταδιδόμενη μυκητιακή χλωρίδα άρχισαν στην Αθήνα το 1971 και συνέδεσαν τον Aspergillus και άλλους μύκητες (Penicillium, Candida, Rhodotorula και Mucor) με τον ατμοσφαιρικό αέρα της πρωτεύουσας, τις εποχές και τις διακυμάνσεις της θερμοκρασίας και της υγρασίας. Πιο πρόσφατες έρευνες απέδειξαν την ύπαρξη του μύκητα σε όλα τα δείγματα που ελήφθησαν τυχαία από παράκτια ύδατα της βόρειας Ελλάδας και στο 98,9% των δειγμάτων δύο

μεγάλων ποταμών της χώρας (Αλιάκμονας και Αξιός) (Δημητρόπουλος, & Φιλίππου, 2008).

Στο νοσοκομειακό περιβάλλον μελετήθηκαν αέρας, διάφορες επιφάνειες και πόσιμο νερό σε τμήματα ασθενών υψηλού κινδύνου, σε τρεις μεγάλες πόλεις. Το μυκητιακό φορτίο του αέρα βρέθηκε χαμηλότερο το χειμώνα και υψηλότερο το καλοκαίρι και το φθινόπωρο, αλλά σπάνια πάνω από τα επιτρεπτά όρια. Στους νηματοειδείς μύκητες (*Cladosporium carrionii, Phialophora verrucosa, Madurella mycetomatis, Aspergillus spp, Mucor spp* κ.ά.), που απομονώθηκαν, ο Aspergillus spp αντιπροσώπευε το 70,5%, με κύρια στελέχη τους A. niger, A. flavus και A. fumigatus. Τα υψηλότερα φορτία, που παρατηρήθηκαν στην Αθήνα και τη Θεσσαλονίκη, αποδόθηκαν σε διάφορες παράπλευρες εργασίες ανακαίνισης των χώρων. Επίσης, νηματοειδείς μύκητες και βλαστομύκητες ανέδειξε και το 60% όλων των επιφανειών που εξετάστηκαν, ενώ θετικά δείγματα βρέθηκαν σε νοσοκομείο του Ηρακλείου στο πόσιμο νερό. Υψηλά ποσοστά παρουσίας *Aspergillus spp* εντοπίστηκαν και στο επεξεργασμένο νερό και τους διαλύτες, σε έρευνα όλων των μονάδων αιμοκάθαρσης της χώρας (Δημητρόπουλος, & Φιλίππου, 2008).

Επιπρόσθετα, ένα μικρό αλλά σημαντικό ποσοστό ασθενών με ατοπία παρουσιάζει θετικές δερματικές δοκιμασίες σκαριφισμού στον *Aspergillus spp*, που σημαίνει ότι τα άτομα αυτά μολύνθηκαν και ανέπτυξαν μηχανισμούς υπερευαισθησίας (Li, et al., 2017).

Οι πνευμονικές παθήσεις που προκαλούνται από τον *A. fumigatus* ταξινομούνται ανάλογα με το σημείο της λοίμωξης μέσα στις αεροφόρες οδούς και την έκταση του αποικισμού εισβολής του μύκητα, καταστάσεις που εξαρτώνται από την ανοσιακή επάρκεια του ασθενούς. Παρά το γεγονός ότι συνήθως βαριές λοιμώξεις αναφέρονται μόνο σε ανοσοκατασταλμένους ασθενείς, στη βιβλιογραφία έχουν καταγραφεί περιστατικά καταληκτικής πνευμονίας της κοινότητας από *Aspergillus* σε πιθανά ανοσοεπαρκείς ασθενείς. Αλλεργικές αντιδράσεις, μεταξύ των οποίων άσθμα, αλλεργική παραρρινοκολπίτιδα και αλλεργική κυψελίτιδα, μπορούν επίσης να παρατηρηθούν μετά από επανειλημμένη έκθεση στα σπόρια ή τα αντιγόνα του μύκητα, χωρίς αποικισμό του βρογχικού δένδρου, και στις

περισσότερες των περιπτώσεων επέρχεται κλινική βελτίωση μετά την απομάκρυνση του ασθενούς από την πηγή της έκθεσης. Σε αντίθεση με αυτές, άλλες παθήσεις, όπως η αλλεργική βρογχοπνευμονική ασπεργίλλωση, που εμπλέκουν ανάπτυξη μυκήτων ασπέργιλλου στον οργανισμό, απαιτούν κατευθυνόμενη θεραπευτική αντιμετώπιση (Baddley, et al., 2010).

Στη βιβλιογραφία αναφέρονται επίσης περιπτώσεις αποικισμού και λοίμωξης του λάρυγγα από *Aspergillus* σε ασθενείς που ελάμβαναν αυξημένες δόσεις φλουτικαζόνης (>2 mg/ημέρα), οι οποίες υποχώρησαν μετά από τη διακοπή του κορτικοειδούς και θεραπεία με τοπική αμφοτερικίνη Β (Koehler, et al.,2017, Gregg, & Kauffman, 2015, Kousha, Tadi, & Soubani, 2011, Baddley, et al., 2003).

ΙΙ. ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΜΥΚΗΤΟΛΟΓΙΑΣ

Ορισμός μυκήτων

Οι μύκητες χαρακτηρίζονται ως ευκαρυωτικοί πολυκύτταροι ή μονοκύτταροι οργανισμοί οι οποίοι πολλαπλασιάζονται αμφιγονικώς ή και μονογονικώς. Αναπτύσσονται σε οποιοδήποτε οργανικό υπόστρωμα και απαντώνται σε αυτό σαν σαπρόφυτα ή και παράσιτα (Verweij, et al., 2015).

Οι μύκητες αποτελούνται από κυτταρικό τοίχωμα το οποίο απαρτίζεται από χιτίνη, κυτταρίνη, γλυκάνες, μαννάνες και χιτοζάνη. Οι πολυσακχαρίτες αυτοί σχηματίζουν δίκτυο το οποίο έρχεται σε επαφή με τη θεμέλιο ουσία (matrix) του κυτταρικού τοιχώματος. Η θεμέλιος ουσία περιλαμβάνει λιπίδια, πρωτεΐνες και πολυσακχαρίτες. Η δομή του κυτταρικού τοιχώματος των μυκήτων πλέον χαρακτηρίζεται σαν αξιόλογο ταξινομικό κριτήριο και αυτό το οφείλει στη σταθερότητά της στις διάφορες ομάδες μυκήτων (Segal, 2009).

Οι μύκητες απαντώνται φυσικά σε ιστούς άλλων οργανισμών ζωντανών ή νεκρών, στο έδαφος, στο νερό, στη θάλασσα, στον αέρα αλλά βρίσκονται και στο χώρο του εργαστηρίου σε καλλιέργειες. Στο εργαστήριο τους διακρίνουμε με τη βοήθεια των ηλεκτρονικών μικροσκοπιών αλλά και με γυμνό μάτι σε καλλιέργειες. Στη φύση είναι ορατοί με τις μακροσκοπικές μορφές που αναφέρθησαν παραπάνω (Segal, 2009).

Δομή - Κατάταξη μυκήτων

Μικροσκοπικά μπορούμε να διακρίνουμε: 1) Μονοκύτταρες μορφές (Chytridiomycota, Blastomycetes), 2) κοινοκυττάριες μορφές και 3) νηματομύκητες. Συνήθως τα κύτταρα των μονοκύτταρων μυκήτων είναι σφαιρικά και σπάνια

κυλινδρικά. Πολλαπλασιάζονται με εκβλάστηση από ένα σημείο του κυττάρου το οποίο αναπτύσσεται, αποκτά το ίδιο μέγεθος με το μητρικό κύτταρο και κατόπιν αποχωρίζεται από αυτό. Αρκετές φορές οι βλαστομύκητες μπορούν να δώσουν ροπαλοειδή κύτταρα τα οποία δεν αποσπώνται και μικροσκοπικά δίνουν την εντύπωση νηματομύκητα. Υπάρχουν όμως διαφορικά στοιχεία που τους ξεχωρίζουν (Bader, et al., 2015).

Μέσω της χρήσης μικροσκοπίου, οι πολυκύτταροι μύκητες παρουσιάζουν τα νηματοειδή τους κύτταρα τα οποία καλούνται υφές. Οι υφές διακλαδίζονται σχηματίζοντας το σώμα των μυκήτων το οποίο ονομάζεται θαλλός ή μυκητύλλιο. Όταν ο θαλλός φέρει χωρίσματα καλείται διαφραγματικός (septae), ενώ όταν παρουσιάζει ενιαία δομή χωρίς χωρίσματα καλείται αδιαφραγματικός (aseptae) (Steinbach, et al., 2012).

Οι ασπέργιλλοι λόγω της ύπαρξης ασκών κατατάσσονται στους ασκομύκητες. Οι ασκοί δημιουργούνται απο σχηματισμισμούς οι οποίοι καλούνται ασκόκαρποι και περιλαμβάνουν 4 έως 8 ασκοσπόρια που φέρουν φακοειδές σχήμα. Οι ασπέργιλλοι έχουν υφές και η κατάταξή τους στους ασκομύκητες καθορίζεται απ τον πολλαπλασιασμό τους, ενώ η έλλειψη σεξουαλικού πολλαπλασιασμού κατατάσσει κάποιους ασπέργιλλους στους ατελείς μύκητες (Segal, 2009).

ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΑΣΠΕΡΓΙΛΛΟΥ

Μορφολογία ασπέργιλλων

Δίνουν ανοιχτόχρωμες χνουδωτές αποικίες αλλά όσο εξελίσσεται η ανάπτυξη των σπορίων, οι αποικίες δημιουργούν κοκκιώδη μορφή που ομοιάζει με κόκκους ζάχαρης. Η μορφολογία των αποικιών ποικίλλει ανάλογα με το θρεπτικό μέσο που χρησιμοποιείται και τις συνθήκες επώασης. Οι ασπέργιλλοι σχηματίζουν χρωματισμένα σπόρια και κατά συνέπεια δίνουν χρωματισμένες αποικίες άλλοτε λευκές, κιτρινοπράσινες, γκριζογάλανες αλλά και μαύρες. Οι ασπέργιλοι σχηματίζουν για να επιβιώσουν σε δυσμενή περιβάλλοντα σκληρώτια και χλαμυδοκονίδια. Τα δεύτερα είναι μονοκυτταρικοί σχηματισμοί και προκύπτουν από την πάχυνση του τοιχώματος του κυττάρου που πρόκειται να μετεξελιχθεί σε αυτά. Τέτοιο κύτταρο μπορεί να είναι το ακραίο της υφής ή ένα- ή περισσότερα- ενδιάμεσα. Αποθηκεύονται επαρκείς ποσότητες θρεπτικών συστατικών, παράγεται εξαιρετικά ανθεκτικό τοίχωμα που προστατεύει από μηχανικές (σύνθλιψη), φυσικές (ξήρανση) ή χημικές (απολιπιδοποίηση) βλάβες το κύτταρο και το χλαμιδοκονίδιο παραμένει εν υπνώσει πλην βιοτικό για μακρά χρονικά διαστήματα, ενώ η υπόλοιπη υφή μπορεί να αποσυντεθεί ή με άλλο τρόπο να καταστεί μη βιοτική (Gregg, & Kauffman, 2015).

Η περίπτωση του σκληρώτιου είναι διαφορετική. Είναι πολυκύτταρος σχηματισμός, αρκετά διαφοροποιημένος και περιλαμβάνει ανθεκτικότατο και παχύ περίβλημα από κύτταρα που φέρουν μελανίνη και εξωκυττάριες ουσίες ενώ στο εσωτερικό (μυελό) προφυλάσσονται τμήματα υφών πολλαπλώς αναστομούμενα και διακλαδιζόμενα. Ανάλογα με την τοπολογία σχηματισμού του συμπλέγματος των υφών και του σχηματισμού του σκληρώτιου διακρίνουμε τρεις βασικούς τύπους. Ο πρώτος τύπος είναι παραγόμενα κύτταρα όπου αρχίζουν να διακλαδίζονται έντονα και να αναστομώνονται, παράγοντας την μάζα των υφών, που κατόπιν θα εξελιχθούν σε σκληρώτιο. Ο δεύτερος τύπος είναι ο σχηματιζόμενος από ενδιάμεσο κύτταρο υφής, το οποίο αλλάζει πόλωση, διχοτομείται και

δημιουργεί το σύμπλεγμα αυτό κατά τρόπο τελείως ασύμβατο με τη μεταβολική δραστηριότητα των γειτονικών του κυττάρων στην υφή. Και ο τρίτος τύπος είναι από παράπλευρα ευρισκόμενες υφές, οι οποίες εισάγονται στην προηγούμενη διαδικασία και οι νέες υφές, που προέρχονται πλέον από περισσότερες της μιας μητρικές, αποτελούν το σκληρώτιο. Πρέπει να τονιστεί ότι κατά το σχηματισμό του σκληρώτιου, οι υφές έλκονται μεταξύ τους, ενώ κατά την ανάπτυξη του μυκηλίου απωθούνται, για να έχουν την πλέον ομοιόμορφη κατανομή και να καλύπτουν την μέγιστη δυνατή έκταση. Το σκληρώτιο είναι σαφώς περισσότερο εξελιγμένη μορφή επιβίωσης σε δυσμενείς συνθήκες, με εξεζητημένες λύσεις στο θέμα του εφοδιασμού και της προφύλαξης και δυνατότητες για ταχεία ανάπτυξη, χάρη στην ύπαρξη αρκετών διαφορετικών τμημάτων υφών, που έκαστη θα επιτρέψει ανεξάρτητη διεύθυνση αύξησης παρέχοντας συνολικά ταχύτερη εξάπλωση στην τυχούσα ευνοϊκή επιφάνεια (Baddley, et al., 2010).

Πολλασπλασιασμός ασπέργιλλων

Ο πολλαπλασιαμός των ασπέργιλλων γίνεται ασεξουαλικά και σεξουαλικά. Κατά την ασεξουαλική μορφή, ο πολλαπλασιαμός επιτυγχάνεται μέσω των σπορίων που παράγονται από τα κονίδια τα οποία προέρχονται από τα φιαλίδια. Τα σπόρια παραμένουν το ένα δίπλα το άλλο σε σειρά και φέρουν μεμβράνη που αποτρέπει την αποξήρανσή τους. Η σεξουαλική μορφή βρίσκεται στα περισσότερα είδη ασπέργιλλων και πραγματοποιείται με τα κλειστοωθήκια τα οποία περιλαμβάνουν ασκούς (Pagano, et al.,2010).

Ταξινόμηση

Συχνότερα, απαντώνται τρία είδη ασπέργιλλων σε διάφορα κλινικά δείγματα (Segal, 2009):

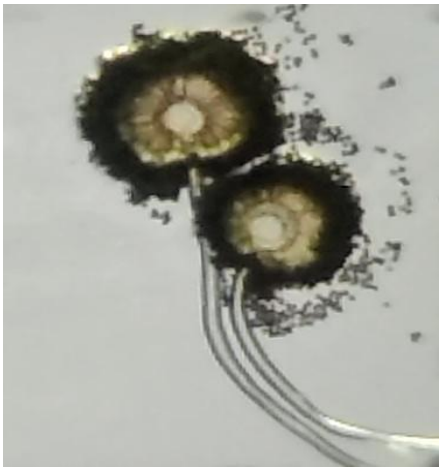
- **Aspergillusfumigatus**: Συνήθως αναπτύσσεται σε Sabouraudagar και εμφανίζει βαθυπράσινες αποικίες με κοκκιώδη σύσταση και λευκή

περιφέρεια. Η κοκκιώδης σύσταση οφείλεται στην ύπαρξη κονιδίων τα οποία είναι μικρά, ωοειδή, από 2 έως 2.5 μέτρα με βαθυπράσινο χρώμα και σχηματίζουν αλυσίδες που φθάνουν έως και τα 100 μέτρα λόγω της δυνατότητας τους να συγκολλούνται.

- **Aspergillusflavus**: Δίνει αποικίες με κιτρινωπό χρώμα έως καφέ. Τα κονίδια δε σχηματίζουν αλυσίδες, αλλά δημιουργούν μάζες που καλύπτουν την κεφαλή. Η κεφαλή είναι στρογγυλή και φέρει δύο στηρίγματα όπου το πρώτο έχει το διπλάσιο μέγεθος από το δεύτερο. Τα κονίδια ποικίλλουν από πορτοκαλί μέχρι κίτρινο καφέ.

Εικόνα 1.1 *Aspergillusflavus*

- ***Aspergillusniger***: Το μαύρο χρώμα των αποικιών οφείλεται στη δημιουργία μαύρων σπορίων. Όπως και στον Aspergillusflavus, δημιουργούνται δύο σειρές από φιαλίδια. Παράγει κονίδια με μαύρο χρώμα και καλύπτουν όλη την επιφάνεια της κεφαλής.



Εικόνα: 1.2 *Aspergillus niger*

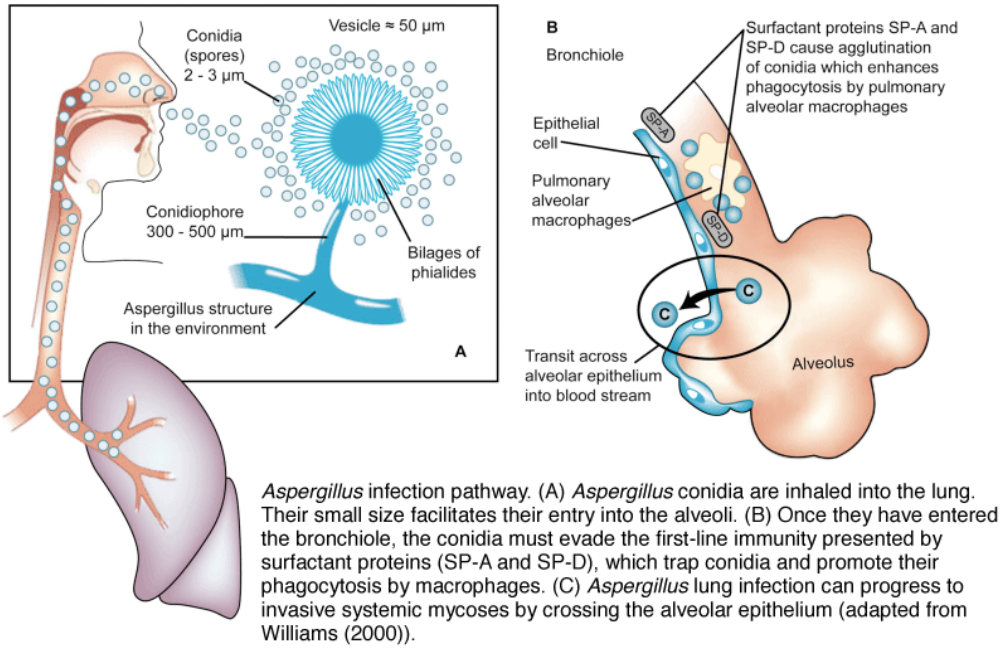
ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑΣ

Παθογένεια ασπέργιλλου

Οι ασπέργιλλοι βρίσκονται στο έδαφος, στον αέρα, στα φύλλα των δέντρων και σε κόκκους πολλών δημητριακών. Κάποια είδη του προκαλούν λοίμωξη στα ζώα, κάποια στα φυτά, κάποια στα πτηνά και κάποια στον άνθρωπο. Από τα πτηνά, ευαίσθητα στην λοίμωξη από ασπέργιλλο είναι τα περιστέρια, ενώ από τα ζώα ευπαθή είναι τα κουνέλια και οι ινδόχοιροι (Taccone, Van den Abeele, & Bulpa, 2015).

Ο άνθρωπος προσβάλλεται σπάνια από τα πτηνά και τα ζώα. Οι ενήλικες νοσούν συχνότερα από τα παιδιά ενώ, βρέφη και νεογνά νοσούν σπανιότατα. Πιο ευπαθής ωστόσο, είναι τα παχύσαρκα άτομα (Verweij, et al., 2015).

Η μόλυνση από ασπέργιλλο επιτυγχάνεται με την εισπνοή των σπορίων του τα οποία μόλις εισέλθουν στον οργανισμό μολύνουν το αναπνευστικό σύστημα. Η επώασή του διαρκεί από λίγες μέρες μέχρι λίγες εβδομάδες, ενώ δεν μεταδίδεται από άνθρωπο σε άνθρωπο (Segal, 2009).



Aspergillus infection pathway. (A) *Aspergillus* conidia are inhaled into the lung. Their small size facilitates their entry into the alveoli. (B) Once they have entered the bronchiole, the conidia must evade the first-line immunity presented by surfactant proteins (SP-A and SP-D), which trap conidia and promote their phagocytosis by macrophages. (C) *Aspergillus* lung infection can progress to invasive systemic mycoses by crossing the alveolar epithelium (adapted from Williams (2000)).

Εικόνα: 1.3 Το μονοπάτι της λοίμωξης από ασπέργιλλο.

Σε ορισμένες κατηγορίες επαγγελμάτων οι εργαζόμενοι εμφανίζουν περισσότερες πιθανότητες νόσησης από ασπέργιλλο σε σχέση με άλλες εργασίες. Οι κατηγορίες αυτές είναι γεωργοί οι οποίοι είναι εκτεθειμένοι στην σκόνη αλωνίσματος, οι μυλωνάδες, οι εκτροφείς πτηνών και περιστεριών, οι κατασκευαστές περουκών κ.λπ. (Moss, 2014).

Ωστόσο, ενδιαφέρον προκαλεί το γεγονός ότι μεγάλος αριθμός σπορίων του ασπέργιλλου έχει παρατηρηθεί σε θαλάμους νοσοκομείων που αφορούν νοσήσεις του θώρακα και γι αυτό το λόγο η ασπεργίλλωση έχει μεγαλύτερη επίπτωση σε άτομα με πνευμονοπάθειες σε σχέση με τον υπόλοιπο πληθυσμό. Συνεπώς, όταν υπάρχει αύξηση του αριθμού των αποικιών στον αέρα, προκύπτουν συχνότερες ενδονοσοκομειακές ασπεργιλλώσεις. Τμήματα μεταμόσχευσης οργάνων, τεχνητού νεφρού και καρδιοθωρακοχειρουργικών επεμβάσεων θα πρέπει να διατηρούνται άσηπτα διότι οι ασθενείς βρίσκονται σε ανοσοκαταστολή οπότε διατρέχουν σοβαρό κίνδυνο μόλυνσης από ασπέργιλλο (Pham, et al., 2014).

Ο ασπέργιλλος σπάνια προσβάλλει πνεύμονες υγιών ανθρώπων εκτός από εκείνους που λόγω εργασίας έρχονται σε καθημερινή επαφή με μεγάλες ποσότητες

σπορίων ασπέργιλλου. Προκαλεί νόσο σε εξασθενημένους οργανισμούς και σε άτομα με καταστολή του ανοσοβιολογικού συστήματος. Ασθένειες που προδιαθέτουν σε λοίμωξη από ασπέργιλλο είναι η κίρρωση του ήπατος, το νεφρωσικό σύνδρομο, ο σακχαρώδης διαβήτης, η καχεξία κ.λπ. Ευπρόσβλητοι από ασπεργίλλωση είναι επίσης οι καρκινοπαθείς, καθώς και εκείνοι που πάσχουν από λεμφώματα, από χρόνιες λευχαιμίες και οι ασθενείς μετά από μεταμόσχευση. Τα ανοσοκατασταλτικά, οι χημειοθεραπείες, τα κορτικοειδή και η ακτινοθεραπεία αποτελούν παράγοντες θεραπείας νοσούντων ατόμων αλλά και ταυτόχρονα προδιαθεσικούς παράγοντες εκδήλωσης ασπεργιλλώσεως. Τέλος η ευρεία και αλόγιστη χρήση των αντιβιοτικών έχει συμβάλλει αποτελεσματικά στην αύξηση της λοίμωξης από ασπέργιλλο (Gregg, & Kauffman, 2015).

Η διεισδυτική απεργίλλωση αποτελεί μία συχνά θανατηφόρα μυκητισιακή λοίμωξη που επηρεάζει κυρίως τους ανοσοκατεσταλμένους ασθενείς λόγω της δυσκολίας στη διάγνωση αλλά και της καθυστερημένης έναρξης αντιμυκητιασικής αγωγής. Οι αζόλες είναι η μόνη κατηγορία φαρμάκων που μπορούν να χορηγηθούν από το στόμα αλλά και ενδοφλέβια και χρησιμοποιούνται για θεραπεία αλλά και για την πρόληψη (ποζακοναζόλη) διηθητικής ασπεργίλλωσης. Όμως, ανησυχία προκαλεί το γεγονός ότι στελέχη του ασπέργιλλου *Fumigatus*που έχουν απομονωθεί στην κλινική παρουσιάζουν μεγάλη ανθεκτικότητα στις αζόλες. Το γεγονός αυτό αποτελεί παράγοντα ο οποίος απειλεί την αποτελεσματικότητα των ήδη διαθέσιμων αντιμυκητισιακών φαρμάκων και επομένως περιπλέκεται η κλινική αντιμετώπιση της λοίμωξης αυτής. Εν κατακλείδι, η αντίσταση στην αζόλη είναι καθοριστικός παράγοντας της κακής κλινικής έκβασης και η εξάπλωση και επικράτησή της αποτελεί αντικείμενο εντατικής έρευνας προκειμένου να προληφθεί και να ελαχιστοποιηθεί ο αντίκτυπός της (Baddley, et al., 2010).

Ο μολυσματικός κύκλος ζωής του ασπέργιλλου ξεκινά με την παραγωγή αερομεταφερόμενων κονιδίων (ασεξουαλικών σπορίων) που διασκορπίζονται στον αέρα σε εσωτερικό και σε εξωτερικό περιβάλλον. Η κύρια οδός της ανθρώπινης μόλυνσης είναι μέσω της εισπνοής κονιδίων, και ακολουθεί η εναπόθεση τους στους βρογχιούς ή στους κυψελικούς χώρους. Το παθογόνο δυναμικό των ειδών του ασπέργιλλουφαίνεται να εξαρτάται από τις επιφανειακές τους ιδιότητες και την

απελευθέρωση διαφόρων εξωκυτταρικών πρωτεϊνών, συμπεριλαμβανομένων των λυτικών ενζύμων ή τοξινών. Το βάρος των βιώσιμων εισπνεόμενων κονιδίων και η σχέση τους με την εξασθένιση της αναπνευστικής άμυνας είναι καθοριστικής σημασίας. Σε υγιή άτομα, τα κονίδια τα οποία δεν έχουν απομακρυνθεί αντιμετωπίζουν επιθηλιακά κύτταρα ή κυψελιδικά μακροφάγα, τα οποία ευθύνονται κυρίως για την φαγοκυττάρωση και την θανάτωση των κονιδίων του ασπέργιλλου καθώς και για την επαγωγή μιας προφλεγμονώδους απόκρισης η οποία συγκεντρώνει ουδετερόφιλα στην περιοχή της μόλυνσης. Συγκεκριμένα, τα κονίδια τα οποία έχουν αποφύγει την θανάτωση με την μεσολάβηση των μακροφάγων και έχουν βλαστήσει, γίνονται στόχος διείσδυσης ουδετερόφιλων που καταφέρνουν να καταστρέψουν τις υφές. Ο κίνδυνος ανάπτυξης διεισδυτικής ασπεργίλλωσης οφείλεται κυρίως σε δυσλειτουργία στις άμυνες του ξενιστή σε συνδυασμό με μυκητιασικές ιδιότητες οι οποίες επιτρέπουν τόσο την επιβίωση όσο και την ανάπτυξη των κονιδίων στο πνευμονικό παρέγχυμα. Ως εκ τούτου, σε ανοσοκατεσταλμένα άτομα πουδιατρέχουν κίνδυνο για εν τω βάθει ασπεργίλλωση, τα κονίδια αποικίζουν το τραυματισμένο πνευμονικό επιθήλιο ή ιστό (Baddley, et al., 2010).

Κλινική εικόνα της νόσου

Ο πόνος στο πρόσωπο και η πυώδης αποστράγγιση μπορεί να είναι ενδεικτική μυκητιασική παραρρινοκολπίτιδα, με μειωμένη οπτική οξύτητα και ο οφθαλμικός πόνος εμφανίζεται με ενδοφθαλμίτιδα. Διαταραχή ψυχικής κατάστασης και οι επιληπτικές κρίσεις μπορεί να είναι σημάδια εγκεφαλικής ασπεργίλλωσης. Οι δερματικές αλλοιώσεις μπορούν να αναπτυχθούν γρήγορα και να διαδοθούν ευρέως. Αυτοί ξεκινούν ως ερυθηματώδη κοκκία που είναι ανώδυνα και μπορούν να εξελιχθούν σε κεντρική νέκρωση που συνοδεύεται από πόνο (Gregg, & Kauffman, 2015).

Παράγοντες κινδύνου εμφάνισης λοίμωξης από ασπέργιλλο

Οι παράγοντες κινδύνου περιλαμβάνουν (Kousha, Tadi, & Soubani, 2011):

- Παρατεταμένη ουδετεροπενία
- Λήψη μεγάλων δόσεων γλυκοκορτικοειδών
- Άλλα φάρμακα ή καταστάσεις που οδηγούν σε διαταραχές της κυτταρικής ανοσίας.

Η διεισδυτική νόσος είναι πιο συχνή όταν υπάρχει υψηλό ποσοστό έκθεσης αερογενώς ή όταν ο ξενιστής βρίσκεται σε φάση όπου τα κονίδια δεν καθορίζονται αποτελεσματικά. Ιστορικά, το μεγαλύτερο κίνδυνο για δυεισδυτικές λοιμώξεις διατρέχουν οι ανοσοκατεσταλμένοι ασθενείς, οι ασθενείς που έχουν υποβληθεί σε μεταμόσχευση αιμοποιητικών κυττάρων ,οι ασθενείς με μεταμόσχευση οργάνων και οι ασθενείς με παρατεταμένη ουδετεροπενία. Ωστώσο υπάρχουν και κάποιες κληρονομικές ανοσοανεπάρκειες όπως η κοκκιωματώδης νόσος , η οποία οδηγεί σε υψηλό κίνδυνο δυεισδυτικής ασπεργίλλωσης (Bader, et al., 2015).

Ορισμένοι παράγοντες κινδύνου είναι συγκεκριμένοι για ασθενείς με υποκείμενες ασθένειες (Kousha, Tadi, & Soubani, 2011):

- Σε ασθενείς με μεταμόσχευση αιμοποιητικών κυττάρων οι κίνδυνοι που εμφανίζονται νωρίς είναι διαφορετικοί σε σχέση με εκείνους που εμφανίζονται μετά τη λήψη βλαστοκυττάρων. Η ουδετεροπενία και οι τύποι των βλαστοκυττάρων προκαλούν κίνδυνο επιπτώσεων αμέσως μετά τη μεταμόσχευση. Επιπρόσθετοι παράγοντες κινδύνου κατά τη τελευταία περίοδο περιλαμβάνουν την ασθένεια μοσχεύματος έναντι ξενιστή και λοίμωξη απ τον κυτταρομεγαλοιο (CMV).

- Διάφοροι γενετικοί πολυμορφισμοί έχουν συσχετιστεί με αυξημένο κίνδυνο δυεισδυτικής ασπεργίλλωσης.

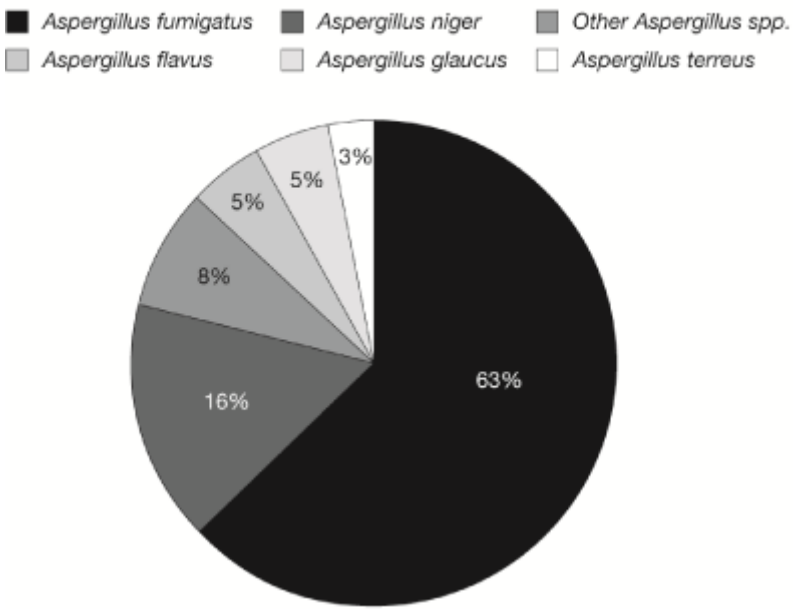
- Ο αποικισμός των αεραγωγών σε παραλήπτες μεταμόσχευσης πνεύμονα με κυστική ίνωση είναι ένας παράγοντας κινδύνου πρόκλησης νόσου μετά τη μεταμόσχευση.

- Σε λήπτες μεταμόσχευσης ήπατος, αυξημένη ανοσοκαταστολή, αιμοκάθαρση και λοίμωξη από τον κυτααρομεγαλοιό είναι παράγοντες κινδύνου.

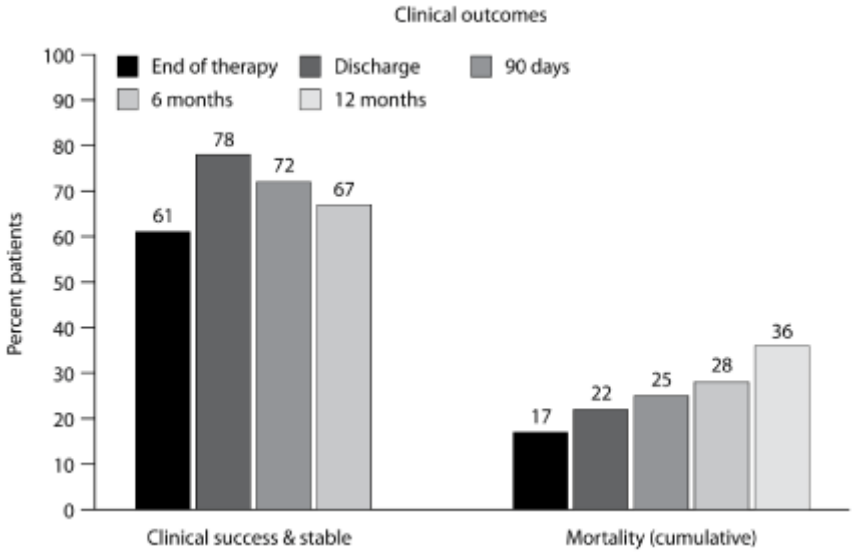
Το επιδημιολογικό τοπίο της διεισδυτικής ασπεργίλλωσης αλλάζει λόγω της σύγχρονης ιατρικής προόδου κατά κλασικών υποκείμενων ασθενειών, νεότερων ομάδων κινδύνου που αναπτύσσονται, αναδυόμενων αντιμυκητιακών στρατηγικών, εξελισσόμενης αντιμυκητιακής αντοχής και νέων μοριακών διαγνωστικών εργαλείων. Η διεισδυτική ασπεργίλλωση είναι η δεύτερη πιο συχνή μυκητιασικήλοίμωξη, με αυξανόμενη συχνότητα τις τελευταίες δύο δεκαετίες που συσχετίζεται κυρίως με την πρόοδο στη θεραπεία αιματολογικών κακοηθειών, συμπεριλαμβανομένων των αλλαγών στις θεραπευτικές αγωγές χημειοθεραπείας, τις καινοτόμες στρατηγικές προφύλαξης για μόλυνση από κυτταρομεγαλοϊό, πηγές βλαστικών κυττάρων και χρήση θεραπευτικών μονοκλωνικών αντισωμάτων. Δεδομένου ότι η παρατεταμένη ουδετεροπενία είναι ο κύριος παράγοντας κινδύνου για τη νόσο αυτή, οι ασθενείς με οξεία μυελογενή λευχαιμία και εκείνοι που υποβάλλονται σε μεταμόσχευση αιμοποιητικών κυττάρων έχουν τον υψηλότερο κίνδυνο, με συνολική επίπτωση που κυμαίνεται από 5 έως 13%. Τα δεδομένα δείχνουν ότι τα τελευταία χρόνια υπήρξε προοδευτική μείωση του ποσοστού θνησιμότητας λόγω της διηθητικής ασπεργίλλωσης σε αυτούς τους ασθενείς (από 60% το 2001 σε 27% σήμερα), κυρίως λόγω της εισαγωγής βελτιωμένων διαγνωστικών μεθόδων. Σε χαμηλότερο κίνδυνο είναι οι λήπτες μεταμοσχεύσεων αιμοποιητικών κυττάρων και μεταμοσχεύσεων στερεών οργάνων (Lortholary, et al., 2011).

Ειδικότερα, η διηθητική ασπεργίλλωση είναι πιο συχνή στους ασθενείς που υποβάλλονται σε μεταμόσχευση πνεύμονα (44 - 66%) και ακολουθούν οι λήπτες νεφρών, ήπατος και καρδιάς, ενώ τα αναφερόμενα ποσοστά επιβίωσης 12 εβδομάδων και 1 έτους, ανεξάρτητα από τον τύπο των μεταμοσχεύσεων των οργάνων είναι 78% και 59%, αντίστοιχα. Ειδικότερα, σε όλους τους δέκτες μοσχεύματος οργάνων, το διάστημα μεταξύ της έναρξης της λοίμωξης και της μεταμόσχευσης έχει αυξηθεί (Segal, 2009).

Οι ασθενείς ελέγχονται με διάφορες διαγνωστικές μεθόδους για να διαπιστωθεί η ύπαρξη της διεισδυτικής ασπεργίλλωσης. Αυτές περιλαμβάνουν την ακτινολογική εξέταση, τη βιοψία, τις ορολογικές δοκιμασίες και τις μικροβιολογικές δοκιμασίες (Εικόνα 1.4) (Perez-cantero, et al., 2019).



Εικόνα: 1.4 Κατανομή του Aspergillus spp. Απομονωμένα δείγματα από κλινικά δείγματα.



Εικόνα 1.5: Κλινικές εκβάσεις σε ασθενείς με αποδεδειγμένη ή πιθανή επεμβατική ασπεργίλλωση.

Είναι αρκετά ενδιαφέρον ότι βακτηριακές συνλοιμώξεις παρατηρήθηκαν συχνά σε ασθενείς με ασπεργίλλωση και βρέθηκαν σε 17 ασθενείς (50%). Στην πλειοψηφία, παρατηρήθηκε σε ασθενείς με αποδεδειγμένη ασπεργίλλωση και πέντε σε ασθενείς με πιθανή δυεισδυτική ασπεργίλλωση. Τα πιο συχνά απομονωμένα βακτήρια περιλάμβαναν *Streptococcus spp*. και τα αρνητικά κατά Gram βακτήρια (*Pseudomonas aeruginosa* και *Haemophilus spp*.) ανακτήθηκαν από το 32% και το 24% των ασθενών, αντίστοιχα (Steinmann, et al., 2015).

Διεξήχθη δοκιμή ευαισθησίας in vitro σε 22 δείγματα *Aspergillus spp* που ανακτήθηκαν από ασθενείς. Όλα τα προϊόντα απομόνωσης βρέθηκαν ευαίσθητα σε όλα τα αντιμυκητικά που εξετάστηκαν, εκτός από ένα απομονωμένο στέλεχοςασπέργιλλου που εμφάνισε δευτερογενή αντίσταση στη βορικοναζόλη, αλλά παρέμεινε ευαίσθητο στην ποζακοναζόλη. Το προϊόν απομόνωσης του *A.Flavus* ανακτήθηκε από δέκτη μεταμόσχευσης πνεύμονα ο οποίος ανέπτυξε πνευμονική ασπεργίλλωση και εμπύημα και ακολούθως χρειάστηκε θεραπευτική αγωγή με βορικοναζόλη περισσότερο από 6 μήνες. Αν και τα αρχικά απομονωθέντα στελέχη του ασπέργιλλου ήταν ευαίσθητα στη βορικοναζόλη και την ποζακοναζόλη, το τελικό προϊόν απομόνωσης ανακτήθηκε μόλις πριν από το θάνατο του ασθενούς και βρέθηκε να είναι ανθεκτικό στη βορικοναζόλη αλλά παρέμεινε ευαίσθητο στην ποζακοναζόλη (Oda, et al., 2018).

Οι κλινικοί γιατροί πρέπει να έχουν υψηλή υποψία για διηθητική ασπεργίλλωση πολύ καιρό μετά τη μεταμόσχευση, ειδικά σε ασθενείς με μακροχρόνια ανοσοκαταστολή και θεραπεία με υψηλή δόση κορτικοστεροειδών που σχετίζονται με ασθένεια μοσχεύματος έναντι ξενιστή, απόρριψη οργάνου ή άλλες επιπλοκές μεταμόσχευσης. Λιγότερο επηρεάζονται τα άτομα που έχουν προσβληθεί από τον ιό της ανθρώπινης ανοσοανεπάρκειας, τον διαβήτη, τη σήψη, την υποκείμενη πνευμονική νόσο και τον καρκίνο. Επιπλέον, πρόσφατα στοιχεία δείχνουν ότι η διηθητική ασπεργίλλωση θα πρέπει να επανεξεταστεί ως μια αναδυόμενη και καταστροφική μόλυνση σε ασθενείς σε μονάδα εντατικής θεραπείας. Ακόμη και αν ο επιπολασμός της λοίμωξης σε αυτόν τον πληθυσμό δεν είναι υψηλός (0,2 - 7%) ο ρυθμός θνησιμότητας κυμαίνεται από 60 έως 91%. Αξίζει να σημειωθεί ότι σε αυτούς τους ασθενείς με κρίσιμη νόσο η λοίμωξη ενδέχεται να

επηρεάσει πολλαπλά όργανα και να εξελιχθεί σε μια διάχυτη ασθένεια η οποία εξακολουθεί να είναι σε μεγάλο βαθμό υποδιαγνωσμένη και σχετίζεται με κακή έκβαση (Tsubouchi, et al., 2019).

Ασθενείς υψηλού κινδύνου για εμφάνιση διηθητικής ασπεργίλλωσης στη μονάδα εντατικής θεραπείας αποτελούν οι πάσχοντες από χρόνια αποφρακτική πνευμονοπάθεια, κίρρωση του ήπατος καθώς και εκείνοι που υποβάλλονται σε παρατεταμένη χορήγηση κορτικοστεροειδών πριν από την εισαγωγή τους στη μονάδα εντατικής θεραπείας. Τέλος, οι ασθενείς στους οποίους χορηγούνται φάρμακα για τη θεραπεία ρευματικών διαταραχών και άλλων φλεγμονωδών ασθενειών συνιστούν αυξανόμενο κίνδυνο πληθυσμού για επεμβατική ασπεργίλλωση. Οι συνηθέστεροι εμπλεκόμενοι βιολογικοί παράγοντες είναι ανταγωνιστές παραγόντων νεκρώσεως όγκων, αναστολείς κινάσης και μονοκλωνικά αντισώματα (van Ingen, et al., 2015).

Ο αριθμός των αναφορών που αναφέρονται σε επεμβατικές λοιμώξεις που προκλήθηκαν από το A.fumigatus ολοένα και αυξάνονται, λόγω του αυξανόμενου αριθμού των ανοσοκατασταλμένων και ιδιαίτερα των ουδετεροπενικών ασθενών (Perkhofer, et al., 2010).

Οι αποτελεσματικές στρατηγικές πρόληψης μπορούν να ενισχυθούν από ένα καλύτερο μοντέλοκατανόησης των περιβαλλοντικών πηγών και των οδών των στελεχών του *A. fumigatus* που εμπλέκονται σε μολύνσεις. Η εισπνοή αερομεταφερόμενων σπόρων στους πνεύμονες είναι η πιο πιθανή οδός μόλυνσης ή εναλλακτικά, αερόλυμα με υδατοδιαλυτό *Aspergillus*. Οι επιδημιολογικές έρευνες θα διευκολυνθούν από ένα απλό και γρήγορο σύστημα δακτυλογράφησης προκειμένου να επιλυθεί ιατρικά (Hirota, et al., 2019).

Μια μελέτη κατά την οποία παρακολουθήθηκε η συχνότητα της ευαισθητοποίησης στα αντιγόνα του ασπέργιλλου σε μια ομάδα ασθματικών στο Κλίβελαντ του Οχάιο, τη σύγκριναν με μια ομάδα ασθματικών στο Λονδίνο. Χρησιμοποιήθηκαν κοινά αντιγόνα για την εξέταση των αποτελεσμάτων και η έρευνα έδειξε ότι η συχνότητα της ευαισθητοποίησης ήταν παρόμοια στους ασθματικούς από το Κλίβελαντ και το Λονδίνο, με το 28% των κατοίκων του

Κλίβελαντ και το 23% των Λονδρέζων να παρουσιάζουν ευαισθητοποίηση στο αντίσωμα. Επίσης, το 7,5% των κατοίκων του Κλίβελαντ και 10,5% των Λονδρέζων κατέδειξε το ιζηματοποιητικό αντίσωμα στο *A. fumigates* (Steinbach, et al., 2012).

Η αντιδραστικότητα του δέρματος με τον ασπέργιλλο σχετίζεται με τη σοβαρότητα της απόφραξης των αεραγωγών, αλλά δεν επηρεάζεται από άλλους παράγοντες, όπως η ηλικία, το φύλο, η διάρκεια του άσθματος και η γεωγραφική θέση. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα μιας πρόσφατης μελέτης για τον προσδιορισμό της επίπτωσης της άμεσης ευαισθησίας στον ασπέργιλλο *fumigates σε*200ασθματικούς από το Μόντρεαλ του Καναδά. Διεξήχθησαν δοκιμές δέρματος με δύο εκχυλίσματα ασπέργιλου Fumigatus, τα οποία αποδείχθηκαν ότι προκαλούν θετική αντίδραση σε 50 ασθενείς με καθιερωμένη αλλεργική ασπεργίλλωση (Gregg, & Kauffman, 2015).

Χρησιμοποιώντας το εκχύλισμα Brompton σημειώθηκε επίπτωση θετικότητας 19,5% με συγκέντρωση 1 mg / ml. Από όλους τους ασθματικούς, το 21% αντέδρασεκαι με τα δύο εκχυλίσματα, τα οποία θεωρήθηκαν ότι ήταν κοντά στην πραγματική επίπτωση άμεσης αντιδραστικότηταςστους ασθματικούς. Αυτοί οι ερευνητές μετρούσαν επίσης την ειδική IgE με το αντιγόνο Brompton και διαπίστωσαν καλή συσχέτιση μεταξύ του μεγέθους της αντίδρασης της δοκιμασίας και των ειδικών IgE (van Ingen, et al., 2015).

Οι περισσότερες διεισδυτικές λοιμώξεις προκαλούνται από στελέχη του *A.fumigatus.* Σε μία αναφορά 218 λοιμώξεων σε 24 κέντρα μεταμόσχευσης στις Ηνωμένες Πολιτείες, 67% των λοιμώξεων είχαν προκληθεί απο στελέχη του *A.fumigatus,* ενώ ακολουθούν σε συχνότητα οι *A.flavus (13%), A.niger (9%)* και*A.terreus (7%).* Τα τωρινά αυτά δεδομένα αντικρούονται με επιδημιολογικά δεδομένα της προηγούμενης δεκαετίας όταν η πλειοψηφία των περιστατικών (90%) οφειλόταν δευτερογενώς σε είδη του *A.fumigatus*αντανακλώντας έτσι αλλαγές στη μικροβιακή επιδημιολογία και αλλαγές σε ορισμένες μεθόδους (Page, et al., 2019).

Ασθένειες που οφείλονται σε ασπέργιλλο

ΠΝΕΥΜΟΝΙΚΗ ΑΣΠΕΡΓΙΛΛΩΣΗ:

Οι ασθενείς μπορούν να εμφανίσουν ποικίλα συμπτώματα: Πυρετό, στηθάγχη, βήχα ή/και αιμόπτυση. Η τριάδα συμπτωμάτων που έχει περιγραφεί σε ουδετεροπενικούς ασθενείς με πνευμονική ασπεργίλωση είναι πυρετός, πόνος στο στήθος και αιμόπτυση. Όμως απουσία αυτών των τριών συμπτωμάτων δεν αποκλείει την πνευμονική ασπεργίλωση καθώς αποτελούν παράγοντες κινδύνου αφού οι ουδετεροπενικοί ασθενείς συχνά παρουσιάζονται μόνο με πυρετό. Σε αυτούς τους ασθενείς παρουσιάζονται πνευμονικά οζίδια τα οποία μπορεί να είναι διεισδυτικά (Βυζαντιάδης, 2010).

Η ακτινογραφία θώρακος χαρακτηρίζεται από χαμηλή ευαισθησία για τη διάγνωση των πρώιμων σταδίων της νόσου. Η αξονική τομογραφία δείχνει τυχόν εστιακές αλλοιώσεις. Τυχόν ραδιογραφική ανωμαλία ποικίλλει ανάλογα με τον τύπο της ασθένειας δηλαδή βρογχοπνευμονία, τραχειοβρογχίτιδα ή χρόνια νεκρωτική ασπεργίλωση (Βυζαντιάδης, 2010).

Η πνευμονική ασπεργίλωση συνήθως εμφανίζει απλά ή πολλαπλά οζίδια με μικρή ή τμηματική ενοποιήση ή περιβρογχιακή διείσδυση με ή χωρίς να σχηματίζει «δέντρο». Πρόσφατη έρευνα έδειξε ότι μικρού μεγέθους οζίδια (<1cm) συνοδεύονται κυρίως από ενοποιημένα μεγαλύτερα οζίδια και περιβρογχιακές διεισδύσεις (Βυζαντιάδης, 2010).

Πρόσθετη έρευνα αναφέρει ότι ουδετεροπενικοί και μη ουδετεροπενικοί ασθενείς χαρακτηρίζονται από πιο συγκεκριμένα συμπτώματα και ραδιογραφικά ευρήματα ενοποιημένων στρογγυλών ευρημάτων (Verweij, et al., 2015).

ΤΡΑΓΧΕΙΟΒΡΟΓΧΙΤΙΔΑ:

Η τραγχειοβρογχίτιδα οφειλόμενη σε ασπέργιλλο έχει αναφερθεί πιο συχνά σε ασθενείς που έχουν υποβληθεί σε μεταμόσχευση πνεύμονα αλλά και σε άλλες

κατηγορίες ξενιστών όπως οι ασθενείς με μόλυνση από τον HIV (Human Immunodeficiency Virus) ή και σε ασθενείς με μεταμόσχευση οργάνων. Οι ασθενείς εμφανίζονται με έντονη δύσπνοια και βήχα. Περιστασιακά εμφανίζονται αποχρέμψεις. Η ακτινογραφία θώρακος μπορεί να παρουσιαστεί χωρίς ευρήματα ή να αποκαλύψει περιοχές πάχυνσης των αεραγωγών, ανομοιόμορφα διηθήματα, ή οζίδια (Altman, et al., 2017).

Έχουν περιγραφεί διάφορες μορφές τραγχειοβρογχίτιδας από ασπέργιλλο (Altman, et al., 2017):

- Αποφρακτική βρογχική ασπεργίλλωση, στην οποία οι αποχρέμψεις των βλεννογόνων περιέχουν υφές του ασπέργιλλου που βρίσκονται στους αεραγωγούς και προκαλούν μικρή φλεγμονή του βλεννογόνου ή διείσδυση στο βλεννογόνο.
- Ελκωτική τραγχειοβρογχίτιδα, όπου υπάρχει εστιακή εισβολή του τραχειοβρογχικού βλεννογόνου.
- Ψευδομεμβρανική τραγχειοβρογχίτιδα, η οποία χαρακτηρίζεται από εκτεταμένη φλεγμονή και διείσδυση του τραχειοβρογχικού δέντρου με σχηματισμό ψευδομεμβράνης που αποτελείται από νεκρωτικά υπολείμματα υφών του ασπέργιλλου επί του βλεννογόνου.

ΧΡΟΝΙΑ ΝΕΚΡΩΤΙΚΗ ΚΑΙ ΠΝΕΥΜΟΝΙΚΗ ΑΣΠΕΡΓΙΛΛΩΣΗ:

Ασθενείς με χρόνια ασθένεια των πνευμόνων βρίσκονται σε κίνδυνο για ορισμένες μορφές πνευμονικής ασπεργίλλωσης, οι οποίες χαρακτηρίζονται από κοιλότητες ή διηθήματα που μπορεί να υποδεικνύουν διείσδυση των υφών σε ιστούς. Η αργή εξέλιξη της λοίμωξης αποδίδεται σε ενεργοποίηση του ανοσοποιητικού συστήματος του ξενιστή η οποία μπορεί να ελέγξει τη λοίμωξη όχι όμως να την εξαλείψει. Βήχας, απώλεια βάρους και πόνος στο στήθος είναι συχνά, ενώ η ακτινογραφία θώρακος εμφανίζει αλλοίωση η οποία μπορεί καλύτερα να προσδιοριστεί μέσω αξονικής τομογραφίας (Gregg, & Kauffman, 2015).

ΡΙΝΟΚΟΛΠΙΤΙΔΑ:

Στους παραρρίνιους κόλπους η ασπεργίλλωση μπορεί να παρουσιαστεί κατά τον ίδιο τρόπο με τη μουκορμύκωση. Ωστόσο, η ρινοεγκεφαλική ασπεργίλλωση παρατηρείται συνήθως σε ουδετεροπενικούς ασθενείς με αιματολογική κακοήθεια, ενώ η μουκορμύκωση εμφανίζεται συχνότερα σε ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη ή αιματολογική κακοήθεια. Η φλεγμονώδης ανταπόκριση στη λοίμωξη μπορεί να αμβλυνθεί εξαιτίας της ουδετεροπενίας και τα ευρήματα μπορεί να είναι διακριτά. Παρ 'όλα αυτά, η ρινική συμφόρηση, ο πυρετός και ο πόνος στο πρόσωπο και γύρω από το μάτι είναι κοινά γνωρίσματα. Άλλα συμπτώματα μπορεί να περιλαμβάνουν θολή όραση και πρόπτωση. Η λοίμωξη μπορεί επίσης να επεκταθεί τοπικά στο αγγειακό σύστημα και στον εγκέφαλο, οδηγώντας σε σπηλαιώδη θρόμβωση και σε διάφορες εκδηλώσεις του κεντρικού νευρικού συστήματος. Τα ευρήματα της αξονικής τομογραφίας μπορεί να είναι διακριτά και μπορεί να περιλαμβάνουν σημεία εστιακού μαλακού ιστού, λεπτές εστιακές οστικές διαβρώσεις και εστιακές περιοχές υποδιπλασιασμού. Η απεικόνιση μαγνητικού τομογράφου (MRI) μπορεί επίσης να παρουσιάσει αλλοιώσεις μαλακών ιστών καθώς και εστιακή ενίσχυση της επένδυσης κόλπων. Η βιοψία είναι απαραίτητη για την καθιέρωση της διάγνωσης. Πολλές φορές οι πολλαπλές βιοψίες είναι απαραίτητες (Baddley, et al., 2010).

ΛΟΙΜΩΞΗ ΚΕΝΤΡΙΚΟΥ ΝΕΥΡΙΚΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ:

Η ασπεργίλλωση του κεντρικού νευρικού συστήματος μπορεί να συμβεί στο πλαίσιο της διάδοσης της λοίμωξης καθώς και από την τοπική επέκταση από τους παραρινικούς κόλπους. Ασθενείς με προσβολή του ΚΝΣ με aspergillus spp μπορεί να παρουσιάσουν επιληπτικές κρίσεις ή εστιακά νευρολογικά σημεία. Τα μυκητιακά ανευρύσματα αναπτύσσονται σε κάποιες περιπτώσεις και μπορούν να διασπαστούν, οδηγώντας σε αιμορραγικό αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο, υποαραχνοειδή αιμορραγία και σχηματισμό εμφύμου (Kousha, Tadi, & Soubani, 2011).

ΕΝΔΟΚΑΡΔΙΤΙΔΑ:

Ο *Aspergillus spp* είναι δεύτερος σε σχέση με την *Candida spp* ως αιτία μυκητιακής ενδοκαρδίτιδας. Αυτή η λοίμωξη εμφανίζεται κυρίως σε ασθενείς με

προσθετικές καρδιακές βαλβίδες. Σε πολλούς ασθενείς, η μόλυνση εμφανίζεται κατά τη στιγμή της επέμβασης, με τον μύκητα να μολύνει τη χειρουργική περιοχή (Baddley, et al., 2010).

Η πρόγνωση της ενδοκαρδίτιδας από ασπέργιλλο είναι δυσμενής. Ακόμη και με συνδυασμένη ιατρική και χειρουργική θεραπεία, το ποσοστό θνησιμότητας πλησιάζει το 100% (Steinmann, et al., 2015).

ΔΙΑΔΕΔΟΜΕΝΗ ΜΟΛΥΝΣΗ:

Σε παρουσία αγγειο-επεμβατικής νόσου, ο aspergillus spp μπορεί να διαδοθεί πέρα από την αναπνευστική οδό σε πολλαπλά διαφορετικά όργανα συμπεριλαμβανομένου του δέρματος, του εγκεφάλου, των ματιών, του ήπατος και των νεφρών. Η διάγνωση της λοίμωξης συνδέεται με κακή πρόγνωση (Li, et al., 2017).

ΔΕΡΜΑΤΙΚΗ ΑΣΠΕΡΓΙΛΛΩΣΗ:

Μπορεί να είναι είτε πρωτογενής, που προέρχεται από τον άμεσο εμβολιασμό, συνήθως από παρουσία τραύματος, ή δευτερογενής, που προκύπτει από συνεχόμενη επέκταση ή εξάπλωση στο αίμα (Kousha, Tadi, & Soubani, 2011).

Μια έρευνα επισήμανε ότι οι υγιείς ξενιστές μπορούν να αναπτύξουν δερματική ασθένεια σε χειρουργικές πληγές ή σε τραυματισμό, ειδικά όταν αυτό συμβαίνει παρουσία υψηλού αριθμού σπορίων, όπως μπορεί να συμβεί κατά τη διάρκεια αγροτικού ατυχήματος. Ενώ τα θύματα εγκαυμάτων, τα νεογνά και οι παραλήπτες μεταμόσχευσης στερεών οργάνων τείνουν να αναπτύσσουν πρωτογενή δερματική νόσο παρουσία παρατεταμένης τοπικής βλάβης του δέρματος, οι ασθενείς με αιματολογικές κακοήθειες και με μεταμοσχεύσεις αιμοποιητικών κυττάρων αναπτύσσουν συχνότερα ασθένειες που οφείλονται σε συνεχή ή αιματογενή εξάπλωση στο δέρμα (Pagano, et al., 2010).

Η διάγνωση μπορεί να επιβεβαιωθεί μόνο με βιοψία του δέρματος, η οποία πρέπει να ληφθεί από το κέντρο της βλάβης και να φθάσει το υποδόριο ιστό

προκειμένου να απεικονιστούν οι υφές που εισβάλλουν στα αιμοφόρα αγγεία του δέρματος (Kousha, Tadi, & Soubani, 2011).

ΓΑΣΤΡΕΝΤΕΡΙΚΗ ΑΣΠΕΡΓΙΛΛΩΣΗ:

Η ασπεργίλλωση μπορεί να εμπλέκει τη γαστρεντερική οδό, προκαλώντας εστιακή εισβολή ως πρωτεύουσα θέση εμβολιασμού και παρουσιάζοντας ουδετεροπενική εντεροκολίτιδα (τυφλιτική) σκωληκοειδίτιδα, κοιλιακό άλγος και / ή αιμορραγία GL (Segal, 2009).

ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΔΙΑΓΝΩΣΗΣ ΑΣΠΕΡΓΙΛΛΩΣΗΣ

Διαφορική διάγνωση ασπεργιλλώσεων

Η διειδυτική ασπεργίλλωση εμφανίζεται με ένα ευρύ φάσμα κλινικών εκδηλώσεων και εξακολουθεί να συνδέεται με ένα απαράδεκτα υψηλό ποσοστό θνησιμότητας. Η έγκαιρη διάγνωση είναι καθοριστική για ένα ευνοϊκό αποτέλεσμα, αλλά είναι δύσκολο να επιτευχθεί με τις τρέχουσες μεθόδους. Τα διαγνωστικά δείγματα βαθέων ιστών συχνά είναι δύσκολο να ληφθούν από ασθενείς με κρίσιμη νόσο. Οι νεότεροι αντιμυκητιασικοί παράγοντες εμφανίζουν διαφορική δραστηριότητα, αυξάνοντας έτσι τη σημασία της καθιέρωσης συγκεκριμένης διάγνωσης της διηθητικής ασπεργίλλωσης. Για τους λόγους αυτούς, έχει διερευνηθεί μια σειρά εναλλακτικών διαγνωστικών στρατηγικών. Οι περισσότερες ερευνητικές προσπάθειες επικεντρώθηκαν στις μοριακές και ορολογικές διαγνωστικές τεχνικές. Η ανίχνευση μεταβολιτών που παράγονται από ασπέργιλλο και μια σειρά ειδικών αντισωμάτων έναντι του ασπέργιλλου αντιπροσωπεύουν επιπρόσθετες, αλλά σχετικά μη χρησιμοποιημένες, διαγνωστικές οδούς (Altman, et al., 2017).

Η ανίχνευση γαλακτομαννάνης έχει ενσωματωθεί στα διαγνωστικά κριτήρια για την ασπεργίλλωση, αντανακλώντας την αυξημένη κατανόηση της απόδοσης, της χρησιμότητας και των περιορισμών αυτής της τεχνικής. Η μέτρηση της β γλυκάνης στο αίμα μπορεί να είναι χρήσιμη ως προκαταρκτικό εργαλείο διαλογής για ασπεργίλλωση, παρά το γεγονός ότι αυτό το αντιγόνο μπορεί να ανιχνευθεί σε έναν αριθμό άλλων μυκήτων (Hirota, et al., 2019).

Οι μύκητες (μούχλα) είναι πανταχού παρόντες των οποίων τα κονίδια εισέρχονται στην αναπνευστική οδό, όπου μπορούν να προκαλέσουν απειλητικές για τη ζωή λοιμώξεις. Μεταξύ αυτών των λοιμώξεων είναι η διηθητική ασπεργίλλωση, η οποία αποτελεί κύρια αιτία θνησιμότητας κυρίως στους σοβαρά ανοσοκατασταλμένους. Οι παράγοντες κινδύνου για επεμβατική ασπεργίλλωση περιλαμβάνουν παρατεταμένη και σοβαρή ουδετεροπενία, μεταμόσχευση

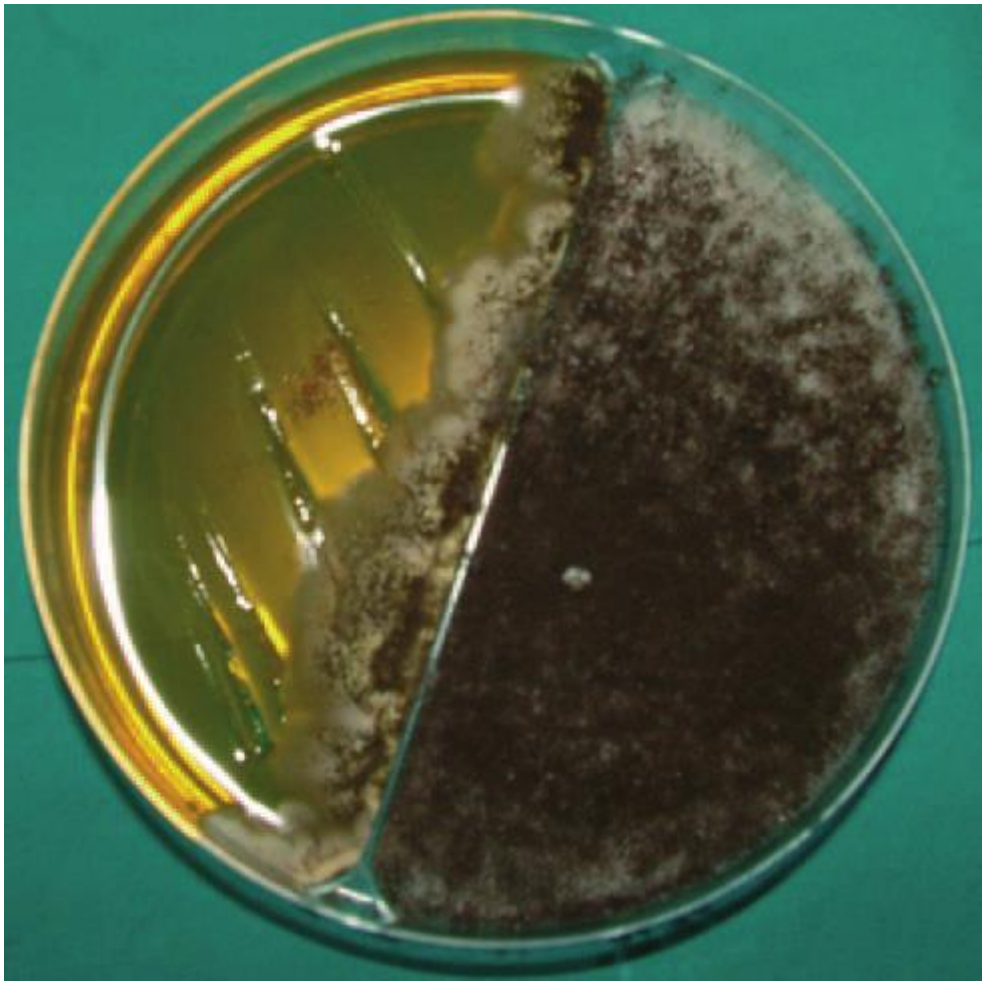
αιμοποιητικών στελεχιαίων κυττάρων και στερεών οργάνων, προχωρημένο AIDS και χρόνια κοκκιωματώδη νόσο. Η επεμβατική ασπεργίλλωση συνηθέστερα συνεπάγεται τον θώρακα που αντικατοπτρίζει την εισπνοή ως την κύρια πύλη εισόδου. Η αξονική τομογραφία στο θώρακα και οι νέες δοκιμασίες που δεν βασίζονται σε καλλιέργειες, όπως ανίχνευση αντιγόνου και αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης, μπορούν να διευκολύνουν την έγκαιρη διάγνωση της επεμβατικής ασπεργίλλωσης, αλλά έχουν περιορισμούς (Hirota, et al., 2019).

Η επεμβατική πνευμονική ασπεργίλλωση (IPA) αποτελεί μοιραία περιπλοκή σε ανοσοκατασταλμένους ξενιστές που υποβάλλονται σε εντατικές κυτταροτοξικές χημειοθεραπείες. Η επιβίωση των ασθενών αυτών εξαρτάται από την έγκαιρη διάγνωση και την άμεση έναρξη θεραπευτικών μέτρων, αλλά η μυκητολογική και η ιστοπαθολογική διάγνωση σπανίως ενδείκνυται επειδή η καλλιέργεια αίματος δεν έχει υψηλή ευαισθησία οπότε επεμβατικές διαδικασίες είναι απαραίτητες ώστε να ληφθούν παθολογικά στοιχεία. Η δυσκολία της έγκαιρης διάγνωσης της ασπεργίλωσης είναι ένα κρίσιμο πρόβλημα. Παρ’ όλα αυτά έχουν γίνει προσπάθειες ώστε να αναπτυχθούν αξιόπιστες μη επεμβατικές διαγνωστικές τεχνικές (Gregg, & Kauffman, 2015).

Η PCR μπορεί να είναι χρήσιμη για την ανίχνευση μυκητιακών νουκλεϊνικών οξέων επειδή είναι πιο ευαίσθητη από τις τρέχουσες μεθόδους ανίχνευσης αντιγόνου. Έχουν καθιερωθεί πολυάριθμα πρωτόκολλαγια τη διάγνωση της μόλυνσης με ασπέργιλο με χρήση PCR και έχουν χρησιμοποιηθεί με επιτυχία για την ανίχνευση τουDNAασπέργιλου σε βρογχοκυψελιδικό υγρό πλύσης και στον ορό που λαμβάνεται από ασθενείς. Αν και η PCR είναι εξαιρετικά ευαίσθητη, με όριο ανίχνευσης 10 fg DNAτου ασπέργιλου, δεν παρέχει ποσοτικά πληροφορίες για το μυκητιακό βάρος. Οι πληροφορίες αυτές είναι απαραίτητες για τη διαχείριση της ασπεργίλωσης (Baddley, et al., 2010).

Η χλωραμφενικόλη και / ή η τετρακυκλίνη μπορούν να προστεθούν ως αντιμικροβιακά φάρμακα ευρέος φάσματος για την αναστολή της ανάπτυξης ενός ευρέος φάσματος θετικών κατά Gram και αρνητικών κατά Gram βακτηρίων. Η γενταμυκίνη προστίθεται για περαιτέρω αναστολή της ανάπτυξης αρνητικών κατά

Gram βακτηρίων. Το ουδέτερο pH φαίνεται να ενισχύει την ανάπτυξη ορισμένων παθογόνων μυκήτων (Pham, et al., 2014).



Εικόνα 1.5: *Aspergillus fumigates* culture (Sabouraud's dextroseagar +/- cloramfenicol

Αρκετοί μύκητες μπορούν να προκαλέσουν διεισδυτικές λοιμώξεις που δεν διακρίνονται από την επεμβατική ασπεργίλλωση σε κλινικό ή ραδιογραφικό έδαφος μόνο. Επιπλέον, ο παράγοντας κινδύνου για την επεμβατική ασπεργίλλωση είναι παρόμοιος με αυτούς για άλλες επεμβατικές μυκητιακές λοιμώξεις. Είναι σημαντικό να καθοριστεί μια μικροβιολογική διάγνωση δεδομένου ότι το θεραπευτικό σχήμα εξαρτάται από τα είδη που απομονώνονται (Terashima, et al., 2018).

Οι μύκητες που μπορούν να προκαλέσουν επεμβατικές πνευμονικές λοιμώξεις με κλινικά και ακτινογραφικά χαρακτηριστικά που είναι παρόμοια με

εκείνα που προκαλούνται από τον Aspergillus spp περιλαμβάνουν (Steinmann, et al., 2015):

- *Mucorales*
- *Fusarium spp*
- Σύμπλεγμα *Scedosporium apiospermum Lomentospora prolificans*

Τα ευρήματα απεικόνισης της διηθητικής πνευμονικής ασπεργίλλωσης μπορούν επίσης να συμπίπτουν με αυτά της φυματίωσης (Steinmann, et al., 2015).

Η μουκορμύκωση μπορεί επίσης να προκαλέσει ρινοκολπίτιδα με επέκταση στο κεντρικό νευρικό σύστημα που είναι κλινικά και ραδιογραφικά παρόμοια με την επεμβατική ασπεργίλλωση. Ωστόσο, η ρινοεγκεφαλική ασπεργίλλωση παρατηρείται συνήθως σε ασθενείς με ουδετεροπενία με αιματολογική κακοήθεια, ενώ η μουκορμύκωση εμφανίζεται επίσης σε ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη. Εκτός από τον *Aspergillus spp*, τα αποστήματα του εγκεφάλου μπορούν να προκληθούν από μια ποικιλία μυκήτων συμπεριλαμβανομένων των *Mucorales, Fusarium spp, Scedosporium spp* και των εκφυλιστικών μυκήτων (Verweij, et al., 2015).

Μικροσκοπική διάγνωση ασπεργιλλώσεων

Η μικροσκόπηση είναι απαραίτητη σε πολλές πτυχές της μυκητολογίας. Έχει τρεις κύριες χρήσεις (Segal, 2009):

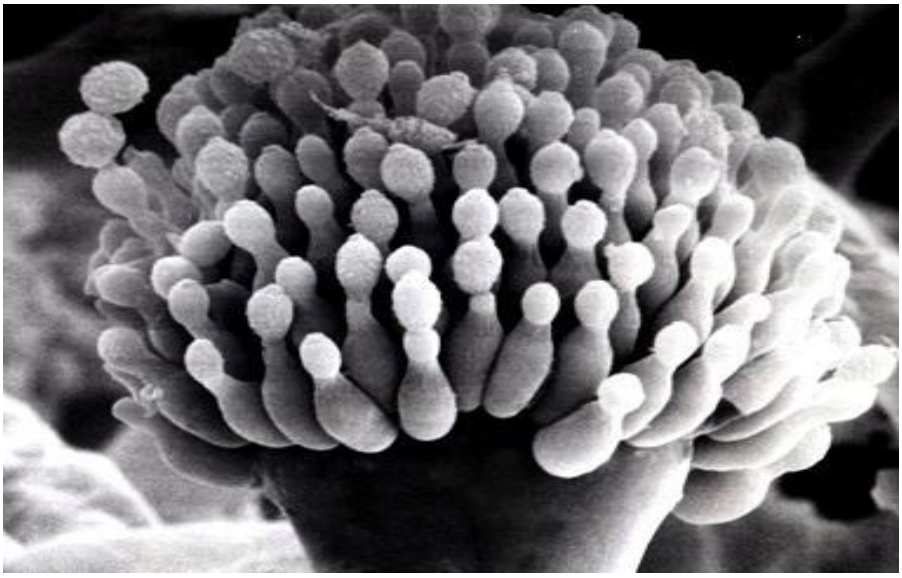
1) Ανίχνευση μυκήτων απευθείας σε κλινικά.
2) Επιβεβαίωση ότι η καλλιέργεια αερομεταφερόμενου μύκητα όπως ο ασπέργιλλος είναι η αιτία της μόλυνσης.
3) Προσδιορισμός των μυκήτων, με βάση τα μορφολογικά χαρακτηριστικά τους.

Το παλαιότερο ειδικό παρασκεύασμα για μικροσκόπηση είναι ένα συμπυκνωμένο (10 - 20%) διάλυμα υδροξειδίου του καλίου, το οποίο μαλακώνει

την κερατίνη και επιτρέπει την άμεση οπτικοποίηση των μυκήτων και την αξιολόγηση μορφολογίας (Pham, et al., 2014).

Στη διάγνωση σημαντικό ρόλο παίζουν τα άμεσα και έμμεσα παρασκευάσματα. Στα άμεσα περιλαμβάνεται η ανεύρεση μυκητιακών στοιχείων μέσω της μικροσκόπησης στα πτύελα, στο βρογχοκυψελιδικό έκπλυμα, στις βρογχικές εκκρίσεις και στην λήψη υλικού απ τους παρραρίνιους κόλπους. Στα δείγματα αυτά αναζητείται η ανάπτυξη ενός νηματοειδούς μύκητα σε καλλιέργεια όπως τα είδη των Aspergillus, Fusarium, Zygomycetes και Scedosporium. Στα έμμεσα περιλαμβάνονται η ανεύρεση αντιγόνων ή συστατικών του κυτταρικού τοιχώματος. Για την ασπεργίλλωση ελέγχεται το αντιγόνο γαλακτομαννάνης στο πλάσμα, στον ορό, στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό και στο βρογχοκυψελιδικό έκπλυμα, ενώ για τις δυεισδυτικές μυκητιάσεις η (1,3)-β-D-γλυκάνη στον ορό. Αποδεδειγμένη μυκητιακή λοίμωξη (μικροβιολογικά) θεωρείται όταν εντοπίζεται μύκητας κατά τη μικροσκόπηση σε υλικό που έχει ληφθεί με αναρρόφηση με βελόνα ή με βιοψία από στείρα περιοχή σε συνδυασμό με νέκρωση του ιστού σε παθολογοανατομικό παρασκεύασμα (Lortholary, et al., 2011).

Η μικροσκόπηση του κλινικού δείγματος αυξάνει τη διαγνωστική επιτυχία συγκριτικά με μόνη την καλλιέργεια. Σε διάφορες κατηγορίες ασθενών η μικροσκόπηση επιφέρει βελτίωση της ικανότητας της διάγνωσης πάνω από 20%. Η μικροσκόπηση και η καλλιέργεια υλικού απ το ίζημα βοηθούν στην ανίχνευση του μύκητα. Σημαντικό πλεονέκτημα της μικροσκόπησης είναι η ταχύτητα. Η γρήγορη έκδοση ενός θετικού αποτελέσματος μέσα σε 2 έως 4 ώρες είναι πολύ σημαντική. Μπορεί να βοηθήσει στη διάκριση μεταξύ νηματοειδών μυκήτων που παρουσιάζουν υφές με διαφράγματα ή όχι. Διαφράγματα διαθέτουν πολλοί νηματοειδείς μύκητες. Οι πιο συνηθισμένοι είναι υφομύκητες των γένων Aspergillus, Fusarium και Scedosporiumτων οποίων οι υφές είναι σταδιακά διχοτομούμενες με παράλληλα τοιχώματα και χωρίς παρουσία χρωστικής. Χωρίς διαφράγματα εμφανίζονται μύκητες της τάξης Mucorales όπως οι Rhizomucorspp., Rhizopusspp., Mucorspp., Absidiaspp των οποίων οι υφές είναι χωρίς παράλληλα τοιχώματα και οι διακλαδώσεις τους είναι ακανόνιστες. Ένα πολύ τυπικό χαρακτηριστικό είναι οι κονιδιακές κεφαλές των ασπεργίλλων (Page, et al., 2019).



Εικόνα: 1.8 Κεφαλή του *Aspergillusfumigatus.*

Το δείγμα αν είναι υγρό μικροσκοπείται αυτούσιο, ή με προσθήκη φυσιολογικού ορού ή με λευκό Calcofluor με χρησιμοποιήση μικροσκοπίου φθορισμού στα 420 nm. Το διάλυμα ΚΟΗ 10%-20% με ή χωρίς επώαση στους 56 βαθμούς κελσίου είναι πολύ χρήσιμο σε στερεά δείγματα όπως στις βιοψίες (Altman, et al., 2017).

Η ευαισθησία της άμεσης μικροσκόπησης εξαρτάται από την ποιότητα και το είδος του δείγματος, την ποιότητα του μικροσκοπίου και την εμπειρία του μικροσκοπιστή. Η μικροσκόπηση και για την ταυτοποίηση του μύκητα με τον αντικειμενικό φακό (Χ10) ή με τον (Χ40) για λεπτομερέστερη εξέταση. Ο καταδυτικός φακός (Χ100) μπορεί να αποκαλύψει σημαντικά στοιχεία που αλλιώς μπορεί να διαφύγουν (Altman, et al., 2017).

Φαινοτυπική και μοριακή ανίχνευση και διάγνωση

Η ταυτοποιήση του είδους ή του γένους είναι απαραίτητη για την ορθή και έγκαιρη θεραπεία, τη γνώση και την κατανόηση της παθογένειας της λοίμωξης, την ανίχνευση πιθανής αντοχής στους αντιμυκητιακούς παράγοντες και την ανίχνευση των αιτιών των νοσοκομειακών λοιμώξεων. Ο καθορισμός ενός στελέχους που αναπτύσσεται σε μία καλλιέργεια είναι ορισμένες φορές δύσκολος ειδικά όταν η

μικροσκόπηση του δείγματος είναι αρνητική. Η πλειοψηφία ταυτοποιήσεων νηματοειδών μυκήτων γίνεται κυρίως φαινοτυπικά με τη χρήση μορφολογικών κριτηρίων. Όμως η φαινοτυπική ταυτοποιήση παρουσιάζει δυσκολία καθώς οι προόδοι στη φυλογενετική ταξινομική έχουν αποκαλύψει την ύπαρξη διαφορετικών <κρυφών> ειδών μεταξύ μορφολογικά πανομοιότυπων στελεχών. Για παράδειγμα, νέα είδη ασπέργιλλων έχουν αναγνωριστεί και δημοσιευτεί ως είδη της γενικότερης ομάδας *Fumigati* που περιλαμβάνει τον *Aspergillusfumigatus.*Διαφορετικά είδη του ίδιου γένους μυκήτων μπορεί να έχουν διαφορετική απόκριση στα αντιμυκητιακά φάρμακα. Οι ασπέργιλλοι είναι ανθεκτικοί στη φλουκοναζόλη. Ο *Aspergillusterreus* είναι ανθεκτικός στην αμφοτερικίνη Β, ενώ και ο *Aspergillusnidulans* δεν ανταποκρίνεται στην αμφοτερικίνη το ίδιο καλά με τον *A.fimigatus*. Έχουν αναφερθεί κλινικά στελέχη του *A.fumigatus* με αντοχή στις καινούργιες τριαζόλες. Η υποκείμενη νόσος είναι καθοριστικός παράγοντας για την αξιολόγηση μιας θετικής καλλιέργειας με ασπέργιλλο σε δείγματα εκκρίσεων του αναπνευστικού. Η διαγνωστική ικανότητα και η πιθανότητα κλινικής αξιολόγησης της απομόνωσης ασπεργίλλων από κλινικά δείγματα αυξάνει όσο αυξάνει και ο βαθμός της ανοσοκαταστολής των ασθενών. Έτσι, στους μη ανοσοκατεσταλμένους η απομόνωση είναι σπάνια ενδεικτική δυεισδυτικής πνευμονικής ασπεργίλλωσης. Στους ανοσοκατεσταλμένους αλλά μη ουδετεροπενικούς, μεταμοσχευμένους ή πάσχοντες από λέμφωμα η απομόνωση ασπέργιλλου είναι παράγοντας επαγρύπνησης. Σε ουδετεροπενικούς ασθενείς ή σε ασθενείς με λευχαιμία η απομόνωση ασπέργιλλου από τις εκκρίσεις του αναπνευστικού είναι διάγνωση δυεισδυτικής πνευμονικής ασπεργίλλωσης (Baddley, et al., 2010).

Η απομόνωση ειδών ασπέργιλλου από δείγματα του κατώτερου αναπνευστικού έχει σημαντική θετική προγνωστική αξία ανάλογα με την ομάδα κινδύνου: 82% για τους μεταμοσχευμένους μυελού των οστών, 72% για τους ασθενείς με αιματολογικές κακοήθειες, 56% για τους μεταμοσχευμένους συμπαγών οργάνων και 63% για τους ασθενείς υπό κορτικοθεραπεία. Παρα την ύπαρξη ειδικών μορφολογικών χαρακτηριστικών στη μικροσκόπηση των ασπέργιλλων, μόνο η μικροσκόπηση πολλές φορές, ίσως να μη δώσει σωστό αποτέλεσμα. Είναι χρήσιμη τακτική ιδίως για λόγους μείωσης του χρόνου να χρησιμοποιούνται ταυτόχρονα

υλικά καλλιλεργειας και ταυτοποίησης όπως το sabouraud'sglucoseagar, malt extract agar και CzapekDoxagar. Η θερμοκρασία επώασης των καλλιεργειών ασπέργιλλου είναι 30 βαθμοί κελσίου ενώ η επώαση ταυτόχρονα στους 35 έως στους 37 βαθμούς κελσίου είναι χρήσιμη για τη διαφορική διάγνωση με την εμφάνιση ή μη διαφόρων μορφολογικών χαρακτηριστικών, τον αποκλεισμό της ύπαρξης ενός δίμορφου μύκητα στο κλινικό δείγμα και τη γρηγορότερη ανάπτυξη (Kousha, Tadi, & Soubani, 2011).

Το 1965 οι Rapper και Fennel σημείωσαν πως όταν μελετούμε τους ασπέργιλλους σημαντικό είναι να κατανοούμε ότι: 1) στελέχη του ίδιου είδους μπορεί να διαφέρουν μεταξύ τους, 2) τα είδη μπορεί να ποικίλλουν μέσα σε μία ομάδα ειδών και 3) οι διάφορες ομάδες μπορεί να αλληλεπικαλύπτονται μέσα στο ίδιο γένος. Υπάρχουν δυσκολίες στη φαινοτυπική ταυτοποιήση που αφορούν: α) Στα μη σταθερά φαινοτυπικά χαρακτηριστικά όπως η παραγωγή ασκοσπορίων ή το χρώμα των αποικιών που εξαρτάται απ τις περιβαλλοντικές συνθήκες, β) Στους άτυπους φαινότυπους των ασπέργιλλων που αναπτύσσονται στις καλλιέργειες, γ) Στα αλληλοεπικαλυπτώμενα μορφολογικά χαρακτηριστικά μεταξύ των ειδών, δ) Στη χρησιμοποίηση διάφορων θρεπτικών υλικών, ε) Στην αναγκαιότητα ύπαρξης ειδικά εκπαιδευμένου προσωπικού για την ταυτοποίηση (Βυζαντιάδης, 2010).

Εκτός από την μικροσκόπηση και την καλλιέργεια υπάρχουν και ορολογικές εξετάσεις όπως είναι ο έλεγχος για το αντιγόνο (γαλακτομαννάνη) ασπέργιλλου στον ορό αλλά και στο βρογχοκυψελιδικό εκπλυμα καθώς και το εγκεφαλονωτιαίο υγρό. Μέσω της συχνής παρακολούθησης του τίτλου είναι εφικτό να επιτευχθεί ο έλεγχος της απόκρισης στην θεραπεία καθώς και η έγκαιρη ανίχνευση πιθανής υποτροπής (Baddley, et al., 2003).

Συνεπακόλουθα, η βρογχοσκόπηση με βρογχοκυψελιδική εκπλύση (BAL) προτείνεται σε ασθενείς με υποψία πνευμονικής ασπεργίλλωσης. Σημαντικές συννοσηρότητες όπως η σοβαρή υποξαιμία, η αιμορραγία και η ανθεκτική στη μετάγγιση αιμοπεταλίων θρομβοπενία μπορεί να αποκλείσουν τη βρογχοσκόπηση. Η απόδοση της εξέτασης είναι χαμηλή για τις περιφερικές οζιδιακές βλάβες, επομένως πρέπει να εξεταστεί η διαδερμική ή ενδοβρογχική βιοψία του πνεύμονα.

Συνιστάται χρήση μιας τυποποιημένης διαδικασίας BAL και την αποστολή του δείγματος BAL για καλλιέργειες ρουτίνας και κυτταρολογία, καθώς και μεθόδους που δεν βασίζονται σε καλλιέργειες (π.χ. GM) (Baddley, et al., 2003).

ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΑΣΠΕΡΓΙΛΛΩΣΗΣ

Σύγχρονες μελέτες για τη θεραπεία της ασπεργίλλωσης

Τις τελευταίες δεκαετίες σημειώθηκαν σημαντικές αλλαγές στην επιδημιολογία, τη διάγνωση και τη θεραπεία της επεμβατικής ασπεργίλλωσης. Από εκεί που η νόσος ήταν θανατηφόρα ασθένεια σε ανοσοκατεσταλμένους ασθενείς, πλέον έχει μετατραπεί σε ασθένεια που μπορεί να διαγνωστεί νωρίτερα και να αντιμετωπιστεί πιο επιθετικά με ασφαλέστερους αντιμυκητιασικούς παράγοντες. Νεότερες τακτικές προφύλαξης που απευθύνονται στις ομάδες υψηλού κινδύνου παρεμποδίζουν την ασθένεια σε πολλούς ασθενείς. Την ίδια στιγμή, είναι εντυπωσιακή η εμφάνιση επεμβατικής ασπεργίλλωσης σε διαφορετικούς πληθυσμούς,όπως σε μονάδες εντατικής θεραπείας (ΜΕΘ), που είχε θεωρηθεί προηγουμένως ότι δεν διατρέχει υψηλό κίνδυνο για μολύνσεις με ασπέργιλλο. Πολλές χρόνιες μορφές ασπεργίλλωσης, συμπεριλαμβανομένων εκείνων που έχουν προδιάθεση για λοίμωξη, έχουν προσδιοριστεί καλύτερα και έχουν καθοριστεί οι μέθοδοι θεραπείας για αυτούς τους τύπους λοιμώξεων. Το ποσοστό θνησιμότητας φθάνει το 50 έως 60% στις ομάδες υψηλού κινδύνου οπότε περαιτέρω βελτιώσεις στη διάγνωση και τη θεραπεία πρέπει να συνεχίσουν να αναζητούνται (Gregg, & Kauffman, 2015).

Η μόλυνση προέρχεται από την εισπνοή κονιδίων. Σε περίπτωση εμφάνισης επιδημίας των κρουσμάτων, υπάρχει συνήθως μία διακριτή πηγή μόλυνσης. Αυτές οι πηγές περιλαμβάνουν μόνωση, πυρίμαχο υλικό, τάπητα, μολυσμένα φίλτρα αέρα, καθώς και άλλα ελαττώματα στο σύστημα εξαερισμού. Ωστόσο, οι περισσότερες περιπτώσεις επεμβατικής ασπεργίλλωσης εμφανίζονται σποραδικά και μια συγκεκριμένη πηγή σημείου δεν βρέθηκε ποτέ, της φύσης των ειδών ασπέργιλλου. Δείγματα τα οποία λαμβάνονται από ντους, βρύσες και αποχετεύσεις παράγουν συχνά ασπέργιλλο, αλλά αν το νερό είναι η κύρια πηγή μόλυνσης εξακολουθεί να παραμένει ένα σαφώς αμφιλεγόμενο σημείο. Αρκετές μελέτες έχουν διαπιστώσει ότι ορισμένα τρόφιμα έχουν μολυνθεί με κονίδια του ασπέργιλλου. Αυτά περιλαμβάνουν πιπέρι, τσάι σε σάκους, λυοφιλοποιημένες σούπες και φρούτα με «ασαφείς» επιφάνειες. Άλλες πηγές συμπεριλαμβάνουν τη γαρίδα, τις γλάστρες και μολυσμένες ταινίες που χρησιμοποιούνται στα

νοσοκομεία(Hirota, et al., 2019, Page, et al., 2019, Oda, et al., 2018, Li, et al., 2017, Moss, 2014, Steinbach, et al., 2012, Perkhofer, et al., 2010).

Χορήγηση θεραπείας ανάλογα με το είδος της λοίμωξης

Βορικοναζόνη.

Τα τριαζόλια αναστέλλουν τη σύνθεση της εργοστερόλης αναστέλλοντας τα ένζυμα του κυτοχρώματος P450 που είναι απαραίτητα για τον σχηματισμό της εργοστερόλης στην κυτταρική μεμβράνη των μυκήτων, οδηγώντας σε αναστολή ανάπτυξης κυττάρων μυκήτων και κατά συνέπεια επέρχεται κυτταρικός θάνατος. Δυστυχώς, η αντίσταση στην αζόλη αυξάνεται και μπορεί να επηρεάσει τη θεραπεία της επεμβατικής ασπεργίλλωσης. Η βορικοναζόλη εγκρίθηκε για τη θεραπεία της επεμβατικής ασπεργίλλωσης το 2002 με βάση τα αποτελέσματα του Global Comparative Aspergillus. Η μελέτη αυτή ήταν χωρίς κλινική δοκιμή και συνέκρινε τη βορικοναζόλη με την αμφοτερικίνη Β σε 277 ασθενείς με σαφή ή πιθανή επεμβατική ασπεργίλλωση. Σε περισσότερο από το 80% των ασθενών, ο πρωταρχικός τόπος μόλυνσης ήταν πνευμονικός και περισσότερο από80% είχαν αιματολογική κακοήθεια ή ήταν αποδέκτες (Steinmann, et al., 2015).

Αμφοτερικίνη Β.

Ήταν η θεραπεία επιλογής για επεμβατική ασπεργίλλωση για αρκετές δεκαετίες, αλλά η τοξικότητα αυτού του παράγοντα ήταν περιοριστική για τη δόσης σε πολλούς ασθενείς. Όταν η βορικοναζόλη αποδείχθηκε ότι είναι και πιο αποτελεσματική και λιγότερο τοξική από αυτήνη αμφοτερικίνη Β, μειώθηκε χρήση της. Τα λιπιδιακά σκευάσματα της αμφοτερικίνης Β σχεδιάστηκαν για να βελτίωση της τοξικότητας. Τα διαθέσιμα σήμερα σκευάσματα όπως λιποσωματική αμφοτερικίνη Β και λιπίδιο αμφοτερικίνης Βέχουν λιγότερες παρενέργειες και λιγότερη νεφροτοξικότητα (Terashima, et al., 2018).

Εχινοκανδίνες.

Τρεις παράγοντες εχινοκανδίνης - caspofungin, micafungin και anidulafungin - είναι διαθέσιμα και, ως επί το πλείστον, είναι εναλλάξιμες όσον αφορά την κλινική χρήση. Ως ομάδα, οι εχινοκανδίνες είναι καλά ανεκτές. Αυτό είναι πιθανό επειδή ασκούν την αντιμυκητιασική τους δραστικότητα σε μυκητιακά κυτταρικά τοιχώματα και δομές. Οι εχινοκανδίνες είναι μυκητοκτόνες για τα περισσότερα είδη *Candida*, αλλά είναι μυκητοστατικά για το είδος του ασπέργιλλου. Οι περισσότερες αναφορές είναι σχετικά με τη χρήση του caspofungin, και μερικές μελέτες που μελετήθηκαν σε micafungin. Τα ποσοστά ανταπόκρισης ήταν περίπου 40 έως 45% σε αυτές τις μελέτες και ελάχιστες παρενέργειες σημειώθηκαν (Oda, et al., 2018, Li, et al., 2017, Moss, 2014, Steinbach, et al., 2012, Perkhofer, et al., 2010). Caspofungin χρησιμοποιήθηκαν για πρωτογενή θεραπεία σε αρκετές μικρές μελέτες με χαμηλότερα από τα επιθυμητά ποσοστά απόκρισης 33 έως 42%, αλλά η δόση μπορεί να ήταν πολύ χαμηλή (έως 200 mg ημερησίως) (Hirota, et al., 2019, Page, et al., 2019). Οι περισσότεροι ασθενείς με διηθητική ασπεργίλλωση, χρησιμοποιήσαν εχινοκανδίνες για κλινική θεραπεία μετά την αρχική θεραπεία με βορικοναζόλη. Έχουν επίσης χρησιμοποιηθεί για πρωτοβάθμια θεραπεία σε συνδυασμό με άλλα αντιμυκητιακά φάρμακα (van Ingen, et al., 2015).

Οι επεμβατικές μυκητιακές μολύνσεις συνδέονται σημαντικά με την νοσηρότητα καθώς και την θνησιμότητα. Στον ελλαδικό χώρο, περίπου 1,79 ανά 100.000 άτομα πάσχουν από σοβαρή μυκητιακή νόσο σε ετήσια βάση. Τις τελευταίες δύο δεκαετίες, ιδιαίτερα η καντινταιμία αυξήθηκε, οδηγώντας σε μια επακόλουθη αύξηση της χρήσης αντιμυκητιασικών φαρμάκων. Εκτός από την θεραπεία για τις μυκητιασικές λοιμώξεις, τα αντιμυκητιασικά φάρμακα συνταγογραφούνται ως προφύλαξη, εμπειρική ή προληπτική θεραπεία, ειδικά σε αιματολογικές ασθένειες με υψηλό κίνδυνο εμφάνισης αντιμυκησικών λοιμώξεων ή σε ασθενείς με κρίσιμη νόσο με κλινικά κριτήρια και τη χρήση βιολογικών δεικτών. Δεδομένου ότι δεν υπάρχουν στοιχεία σχετικά με τις αντιμυκητιακές συνταγές σε εθνικό επίπεδο, σημείο επικράτησης για την αντιμυκητιασική θεραπεία, έχουν ως επίκεντρο τους παράγοντες οι οποίοι χρησιμοποιούνται καθώς και τις σχετικές

ενδείξεις τους σε νοσηλευόμενους ενήλικες ασθενείς (Δημητρόπουλος, & Φιλίππου, 2008).

III. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

Α. Συζήτηση

Μεταξύ των 2568 ασθενών που εξετάστηκαν το 2015 από τα πέντε νοσοκομεία που πραγματοποιήθηκε η έρευνα, 76 αντιμυκητιακές συνταγές καταγράφηκαν σε 73 ασθενείς (3%) (Bader, et al., 2015). Το 2017, μεταξύ των 3244 ασθενών που συμπεριλήφθηκαν από τα έξι συμμετέχοντα νοσοκομεία, 59 αντιμυκητιακές συνταγές καταγράφηκαν σε 56 ασθενείς (2%). Μεταξύ των 129 ασθενών που συμπεριλήφθηκαν και στις δύο περιόδους, χρησιμοποιήθηκαν αντιμυκητιασικά ως προφύλαξη σε 31 (24%), προληπτικά σε 32 (25%), εμπειρικά σε 38 (30%) και ως στοχευόμενη θεραπεία σε 28 (22%). Συνδυασμός αντιμυκητιακών χορηγήθηκε σε έξι ασθενείς (5%). Τα τριαζόλια ήταν η αντιμυκητιασική κατηγορία που συνταγογραφήθηκε κυρίως (65 ασθενείς, 50%), και ακολουθούν οι εχινοκανδίνες (59, 46%) και λιποσωματικές της αμφοτερικίνης Β (12,9%). Σε περιπτώσεις προφύλαξης, η ποζακοναζόλη ήταν η συνηθέστερα χρησιμοποιούμενη (12 από 31, 39%). Η χρήση εχινοκανδινών ήταν συνηθέστερη στις ΜΕΘ σε σύγκριση με τα υπόλοιπα τμήματα (73% έναντι 40%, P 0,009). Η αντιμυκητιασική θεραπεία θεωρήθηκε ακατάλληλη ως προς τη χορήγηση και τη δοσολογία σε 32 ασθενείς (25%), ενώ παρατηρήθηκε και αύξηση (P 0,014) ακατάλληλης αντιμυκητιασικής χρήσης μεταξύ 2015 (12 από τους 73 ασθενείς, 16%) και 2017 (20 από τους ασθενείς) 56 ασθενείς. 36%). Η ακατάλληλη αντιμυκητιασική χρήση ήταν πιο συχνή εάν υποδεικνύεται από τον κύριο ιατρό, σε σύγκριση με εάν υποδεικνύεται από ειδικευμένο προσωπικό (30 από τις 86 περιπτώσεις, 35% έναντι 2 από τις 43 περιπτώσεις, 5%. P <0,001) (Altman, et al., 2017).

Η καντινταιμία αποτελεί την πλειοψηφία των μικροβιολογικών τεκμηριωμένα λοιμώξεων με 12 περιπτώσεις (43%), συμπεριλαμβανομένων τριών καντιντιάσεων που σχετίζονται με τον καθετήρα και δύο κρούσματα ενδοκαρδίτιδας οφειλόμενης σε μύκητες. Τέσσερις *Candida albicans*, δύο *Candida parapsilosis,* τρεις *Candida glabrata* και τρεις *Candidatropicalis*ήταν αναφερόμενα ως υπεύθυνα παθογόνα. Η δεύτερη συχνότερη λοίμωξη ήταν αυτή του ουροποιητικού συστήματος με έξι*C. albicans*, μια *C. parapsilosis*, και μια C.

Tropicalis να ευθύνονται για την λοίμωξη. Άλλες τεκμηριωμένες λοιμώξεις περιελάμβαναν δύο περιπτώσεις πνευμονικής ασπεργίλλωσης *(Aspergillus fumigatus*), μία κρυπτοκοκκική μηνιγγίτιδα, μία πνευμονική λοίμωξη από *Trichosporon asahii*, μία λεϊσμανίαση, μία χειρουργική λοίμωξη από την *C. albicans*, μία μόλυνση του δέρματος και των μαλακών μορίων από S*cedosporium apiospermum,* και μία περιτονίτιδα του *Saccharomyces cerevisiae* (Koehler, et al.,2017).

Β. Συμπεράσματα

Οι αιματολογικοί ασθενείς έλαβαν συχνότερα αντιμυκητιασικά θεραπείας, είτε ως προφύλαξη είτε ως θεραπεία για υποψία ή αποδεδειγμένη μόλυνση. Οι βιολογικοί δείκτες μυκητιακών λοιμώξεων, όπως βήτα-D-γλυκάνη, γαλακτομαννάνη ή PCR, για*Aspergillus spp.* δεν ήταν ευρέως διαθέσιμα στα περισσότερα συμμετέχοντα κέντρα, αν και τα περισσότερα ήταν πανεπιστημιακά νοσοκομείαμε ασθενείς που έλαβαν αλλογενή μεταμόσχευση μυελού των οστών. Σε μια προηγούμενη μελέτη, μεταξύ 17 ελληνικών νοσοκομείων με αιματολογικά τμήματα, μόνο εννέα είχαν την ικανότητα να εκτελούν γαλακτομαννάνη, δύο βήτα-D-γλυκάνη και μία PCR για *Aspergillus spp*. Στην παρούσα μελέτη, μόνο ένα κέντρο πραγματοποίησε γαλακτομαννάνη και PCR για *Aspergillus spp.,* ενώ κανένα κέντρο δεν εκτέλεσε βήτα-D-γλυκάνη. Η μη διαθεσιμότηταταυτών των εξετάσεων, σε ασθενείς με επιρρεπή ουδετεροπενία,πιθανώς οδήγησε σε αυξημένη χρήση της ποζακοναζόλης για την πρόληψη όχι μόνο των λοιμώξεων που οφείλονται στην *Candidaspp*. αλλά και αυτές που οφείλονται σε νηματοειδείς μύκητες (Δημητρόπουλος, & Φιλίππου, 2008).

Η χρήση εχινοκανδινών ήταν υψηλότερη στους ασθενείς της ΜΕΘ σε σύγκριση με τα υπόλοιπα τμήματα. Μια εξήγηση θα μπορούσε να είναι ότι σε μερικές μονάδες, η φλουκοναζόλη χρησιμοποιήθηκε ως προφύλαξη σύμφωνα με τις κατευθυντήριες γραμμές του ESCMID και, κατά συνέπεια, οι εχινοκανδίνες χρησιμοποιήθηκαν σε περίπτωση υποψίας μυκητιακών λοιμώξεων. Η συνολική χρήση εχινοκανδίνης ήταν υψηλότερη στην παρούσα μελέτη, σε σύγκριση με αυτή της Ευρωπαϊκής μελέτης PPS που πραγματοποιήθηκε μεταξύ 2008 και 2009. Λιποσωμική χορήγηση αμφοτερικίνης Β στην παρούσα μελέτη ήταν λιγότερο συνηθισμένη και συγκρίσιμη με αυτή που αναφέρθηκε στην Ευρωπαϊκή μελέτη. Αυτό οφείλεται πιθανώς στον κίνδυνο νεφροτοξικότητας. Ως εκ τούτου, είχε προταθεί ως θεραπεία σε περιπτώσεις που άλλα αντιμυκητιασικά δεν ενδείκνυνται (Pagano, et al., 2010).

Πρόκειται για την πρώτη ελληνική πολυκεντρική μελέτη που επικεντρώνεται στην αντιμυκητιασικήσυνταγή μεταξύ των ενήλικων νοσηλευόμενων ασθενών.

Η ποζακοναζόλη και η φλουκοναζόλη ήταν η πιο συχνά προδιαγεγραμμένη αντιμυκητιασικά ως προφυλακτική αιματολογική και άρρωστους ασθενείς αντίστοιχα (Δημητρόπουλος, & Φιλίππου, 2008). Η ακατάλληλη χρήση αντιμυκητιασικής θεραπείας σημαντικά αυξήθηκε το 2017, πιθανώς λόγω ανεπαρκούς αιτιολογίας τις περισσότερες φορές από τον ιατρό με τη μη διαθεσιμότητα σύγχρονων διαγνωστικών εργαλείων από τα συμμετέχοντα νοσοκομεία. Και τα δύο υποδεικνύουν την ανάγκη ενός αντιμυκητιασικού μοντέλου μελέτης θεραπείας σε εθνικό επίπεδο. Εξάλλου, πρέπει να καταβληθούν προσπάθειες για την ευρύτερη χρήση των σύγχρονων διαγνωστικών μεθόδων, ιδίως στα τριτοβάθμια νοσοκομεία ή στα περιφερειακά κέντρα υγείας, ώστε να μελετηθούν περαιτέρω η αναγνώριση των μυκήτων, η αντιμυκητιακή ευαισθησία και οι δοκιμές και βιοδείκτες για να διευκολύνουν την έγκαιρη και κατάλληλη αντιμυκητιασική θεραπεία (Page, et al., 2019).

Δεν υπάρχουν επαρκή στοιχεία σχετικά με την επιδημιολογία της δυεισδυτικής ασπεργίλλωσης. Αν και ο *Aspergillus fumigatus* εξακολουθεί να θεωρείται ο συχνότερος παράγοντας αιτίας της πάθησης, τα ποσοστά μόλυνσης που οφείλονται σε άλλα αναδυόμενα είδη είναι αβέβαια και πιθανώς υποεκτιμήθηκαν ως αποτέλεσμα της ανακριβούς μοριακής ταυτοποίησης (Pham, et al., 2014).

Η ανθεκτικότητα σε αζόλες είναι η ικανότητα των μυκητικών στελεχών να ξεπεράσουν τις δόσεις φαρμάκων αζόλης που ασκούν αντιμυκητιακή δράση σε ευαίσθητα προϊόντα απομόνωσης. Οι τιμές cutoffπου διακρίνουν τα ανθεκτικά από υποκείμενα στελέχη προσδιορίζονται με προσδιορισμό της ελάχιστης συγκέντρωσης αναστολής (MIC) ενός φαρμάκου έναντι ευρείας ποικιλίας στελεχών. Συγκεκριμένα, οι κατανομές MIC μαζί με τα φαρμακοκινητικά / φαρμακοδυναμικά προφίλ επιτρέπουν τη δημιουργία (CBPs) κλινικών σημείων διακοπής, τα οποία χρησιμοποιούνται ως πρόβλεψη για την πρόβλεψη της αποτελεσματικότητας της θεραπείας σε ασθενείς. Στην περίπτωση του *Aspergillus spp.* Έχουν καθοριστεί διαφορετικές μέθοδοι αναφοράς για τον χαρακτηρισμό των απομονώσεων με βάση την αντιμυκητιακή ευαισθησία τους, όπως αυτές που αναπτύχθηκαν από την Ευρωπαϊκή Επιτροπή για τη δοκιμή ευαισθησίας κατά της μικροβιακής αντοχής

(EUCAST) και το Ινστιτούτο Κλινικών Εργαστηριακών Προτύπων (CLSI). Ενώ ορισμένοι CBPs έχουν καθιερωθεί για μερικές αντι-λειτουργίες έναντι του *Aspergillus spp.* με τη μέθοδο EUCAST, δεν υπάρχουν διαθέσιμες CBP που ορίζονται από τη μέθοδο CLSI, παρόλο που αντί αυτού παρέχονται επιδημιολογικά CutoffValues (ECVs) για τον ασπεργιλλο. Τα ECV ταξινομούν τα προϊόντα απομόνωσης σε άγριου τύπου (WT) ή μη άγριου τύπου (μη WT), με το τελευταίο να είναι ενδεικτικό μειωμένης απόκρισης σε ένα συγκεκριμένο αντιμυκητιακό παράγοντα. Αυτή η μείωση μπορεί να συνδεθεί με τους πιθανούς μηχανισμούς αντίστασης, αν και, αντίθετα με τις CBPs, δεν μπορεί να θεωρηθεί ως πρόβλεψη της ανταπόκρισης του ασθενούς στη θεραπεία. Για να αποκρυπτογραφήσουμε τους μηχανισμούς που είναι υπεύθυνοι για την αντιμυκητιασική αντίσταση, είναι σημαντικό να εξετάσουμε την επίδραση του φαρμάκου μέσα στο κύτταρο. Συγκεκριμένα, οι αζόλες ασκούν μια εγγενή αντιμυκητιακή ισχύ συνδέοντας την πρωτεΐνη Cyp51. Παρ 'όλα αυτά, τα ακριβή φυσιολογικά αποτελέσματα που προέρχονται από την αναστολή Cyp51 στη βιολογία των μυκητιακών κυττάρων παραμένουν ασαφή και οι ιδιαιτερότητες της μυκητοκτόνου επίδρασης των αζολών στον ασπέργιλλο βρίσκονται υπό μελέτη (van Ingen, et al., 2015).

Αν και είναι ευρέως αποδεκτό ότι η απελευθέρωση εργοστερόλης που σχετίζεται με αζόλη είναι η κύρια αιτία της μυκητιακής βιωσιμότητας και της αναστολής ανάπτυξης, λίγα είναι γνωστά για τον ακριβή μηχανισμό που προκαλείται από τις αζόλες για να ασκηθεί η μυκητοκτόνος επίδρασή τους στον ασπέργιλλο. Σε αυτό το πλαίσιο, έχει αναφερθεί ότι τα γεγονότα ανθεκτικότητας, αν και αποδεδειγμένα μεσολαβούν από το Cyp51, θα μπορούσαν να προκύψουν από τις αποκρίσεις κυτταρικού στρες που εμφανίζονται από το μυκητιακό κύτταρο ή άλλους μοριακούς μηχανισμούς. Η οδός ακεραιότητας του κυτταρικού τοιχώματος καθώς και άλλες ενδοκυτταρικές οδοί είναι μερικά παραδείγματα μηχανισμών που έχουν πρόσφατα αναγνωριστεί ότι παίζουν ρόλο στην απόκριση και αντίσταση του ασπέργιλλου (van Ingen, et al., 2015).

Παρ’ ότι τα τελευταία χρόνια οι γενετικές και μοριακές μελέτες έχουν ρίξει φως σε διάφορους μηχανισμούς που συμβάλλουν στην αντοχή στην αζόλη, είναι σαφές ότι η αντίσταση στην αζόλη είναι ένα περίπλοκο και πολυφασικό γεγονός

που απαιτεί πολλά στοιχεία. Μέχρι σήμερα, οι μηχανισμοί αντίστασης δεν χαρακτηρίζονται πλήρως από τον *A. fumigatus*, το οποίο είναι το πιο διαδεδομένο είδος που προκαλεί ασπεργίλλωση, και υπάρχουν πολλά να μελετηθούν στο αναδυόμενο είδος *A. Flavus, A. Terreus, A. Niger.* Υπό αυτή την έννοια, είναι αναγκαίες περισσότερες μελέτες που περιλαμβάνουν μεγαλύτερο αριθμό απομονωμένων στελεχών για να προσδιοριστεί η πραγματική σημασία όλων αυτών των παραγόντων καθώς και για να διευκρινιστεί η διαμάχη γύρω από τους πλέον μελετημένους μηχανισμούς, όπως η υπερέκφραση του cyp51 και η συμβολή των αντλιών εκροής πολλαπλών φαρμάκων (Tsubouchi, et al., 2019).

Βασικός άξονας της θεραπείας είναι η αντιμυκητιακή θεραπεία. Η αμφοτερικίνη Β χρησιμοποιήθηκε αρχικά σε δόσεις 0,5-1 mg-1 · kg-1 · ημέρα-1 (4-5 mg · kg-1 · ημέρα-1 για τη σύνθεση λιπιδίων) με ευνοϊκά αποτελέσματα. Η ιτρακοναζόλη έγινε αργότερα μια αποτελεσματική εναλλακτική λύση στη σχετικά τοξική αμφοτερικίνη Β. Πιο πρόσφατα, η βορικοναζόλη έχει αναδειχθεί ως πρωτογενής θεραπεία. Σε μια πρόσφατη μελέτη, όπου η βορικοναζόλη 200 mg χορηγήθηκε δύο φορές ημερησίως για μια περίοδο 4-24 εβδομάδων ως πρωτοπαθής ή σωφρονιστική θεραπεία για 39 ασθενείς με ασπεργίλλωση, παρατηρήθηκε πλήρης ή μερική απόκριση στο 43% των ασθενών και βελτίωση ή σταθερότητα παρατηρήθηκε στο 80%. Η πρόσφατη δήλωση της αμερικανικής θωρακικής κοινωνίας ευνοεί τη χορήγηση είτε βορικοναζόλης είτε ιτρακοναζόλης για ήπια έως μέτρια ασθένεια μέχρι την εξάλειψη ή σταθεροποίηση των κλινικών και ακτινογραφικών εκδηλώσεων, ενώ σε ασθενείς με σοβαρή νόσο θα πρέπει να ληφθεί υπόψη η αρχική θεραπεία με ενδοφλέβια αμφοτερικίνη Β ή ενδοφλέβια βορικοναζόλη (van Ingen, et al., 2015).

Η αξιολόγηση της ανταπόκρισης στη θεραπεία γίνεται καλύτερα με κλινικές, ραδιολογικές, ορολογικές και μικροβιολογικές παραμέτρους. Χρήσιμες παράμετροι απόκρισης περιλαμβάνουν αύξηση βάρους και αυξημένο επίπεδο ενέργειας, βελτιωμένα πνευμονικά συμπτώματα, πτώση των φλεγμονωδών δεικτών και ολικό επίπεδο IgE στον ορό, βελτίωση των διηθητικών παρακέντησης και τελικά μείωση του μεγέθους της κοιλότητας (Verweij, et al., 2015).

Η ιτρακοναζόλη μπορεί να είναι χρήσιμη στη διαχείριση επιλεγμένων ασθενών με ασπεργίλωμα επειδή έχει υψηλή διείσδυση ιστού. Η στοματική ιτρακοναζόλη έχει χρησιμοποιηθεί με ακτινογραφική και συμπτωματική βελτίωση στα μισά έως τα δύο τρίτα των ασθενών. Περιστασιακά οι ασθενείς έχουν πλήρη ανταπόκριση. Σε μία μελέτη, τα σημαντικά επίπεδα ιτρακοναζόλης μέσα στις κοιλότητες του ασπεργιλλώματος αποδείχθηκαν μετά τη χρήση της τυποποιημένης δόσης ιτρακοναζόλης (100-200 mg · ημέρα-1). Ο σημαντικότερος περιορισμός της ιτρακοναζόλης είναι ότι λειτουργεί αργά και δεν θα ήταν χρήσιμο σε περιπτώσεις αιμορραγίας της αιμόπτυσης (van Ingen, et al., 2015).

Έχουν γίνει αρκετές μελέτες σχετικά με τη χρησιμότητα του αντιμυκητιασικού παράγοντα ιτρακοναζόλη στη διαχείριση ασθενών με λοίμωξη. Έχει αποτελεσματική βελτίωση των συμπτωμάτων διευκόλυνση του απογαλακτισμού από κορτικοστεροειδή, μείωση των τίτλων του ασπέργιλλου και βελτίωση των ακτινογραφικών ανωμαλιών και πνευμονικής λειτουργίας (Taccone, Van den Abeele, & Bulpa, 2015, Pham, et al., 2014, Kousha, Tadi, & Soubani, 2011). Μια τυχαιοποιημένη, ελεγχόμενη με εικονικό φάρμακο δοκιμή με ιτρακοναζόλη 200 mg δύο φορές την ημέρα για 16 εβδομάδες σε ασθενείς με ABPA που έλαβαν ήδη κορτικοστεροειδή. Το 46% των ασθενών που έλαβαν ιτρακοναζόλη πέτυχε σημαντική απόκριση, που ορίζεται ως μείωση τουλάχιστον κατά 50% στη δόση κορτικοστεροειδών, μείωση κατά τουλάχιστον 25% της συγκέντρωσης IgE στον ορό και μία από τις ακόλουθες: βελτίωση κατά 25% ή αποτελέσματα δοκιμών πνευμονικής λειτουργίας ή μερική ή πλήρη διάλυση πνευμονικών διηθήσεων. Εν τούτοις, η ιτρακοναζόλη μπορεί να αυξήσει τη δραστηριότητα των κορτικοστεροειδών μέσω αναστολής του μεταβολισμού τους, η οποία μπορεί να οδηγήσει σε μη φυσιολογική διέγερση των αδρενοκορτικοτροπτικών ορμονών και επινεφριδιακή ανεπάρκεια. Πρόσφατα, η βορικοναζόλη δοκιμάστηκε επίσης στη θεραπεία του ABPA και έδειξε ευνοϊκή θεραπευτική ανταπόκριση στις λίγες διαθέσιμες αναφορές περιστατικών (Steinbach, et al., 2012). Σε μια μελέτη μικρού αριθμού παιδιών με κυστική ίνωση και ABPA, η θεραπεία με βορικοναζόλη κατέδειξε σημαντικές κλινικές και ορολογικές βελτιώσεις. Απαιτούνται τυχαιοποιημένες δοκιμές για την αξιολόγηση της αποτελεσματικότητας της

βορικοναζόλης στη διαχείριση του ABPA (Tsubouchi, et al., 2019). Λίγα αναφορές περιπτώσεων έχουν περιγράψει την ωφέλιμη χρήση του αντι-IgE μονοκλωνικού αντισώματος σε ασθενείς με ABPA. Έχουν δείξει ταχεία βελτίωση των αναπνευστικών συμπτωμάτων και της λειτουργίας των πνευμόνων (Li, et al., 2017).

Γ. Περίληψη

Η παρούσα πτυχιακή εργασία πραγματεύεται την «Επιδημιολογία, τις Τεχνικές Διάγνωσης και την Θεραπεία της Ασπεργίλωσης». Στο γενικό μέρος παρουσιάζονται ο ορισμός, η δομή, καθώς και η κατάταξη των μυκήτων. Έπειτα αναπτύσσονται η μορφολογία, ο πολλαπλασιασμός καθώς και η ταξινόμηση του ασπέρλιλλου. Στην συνέχεια, αναφέρονται η παθογένεια, η κλινική εικόνα καθώς και οι παράγοντες κινδύνου εμφάνισης λοίμωξης από ασπέργιλλο. Ακόμη, αναπτύσσονται οι τεχνικές διάγνωσης της ασπεργίλλωσης (διαφορική διάγνωση, μικροσκοπική διάγνωση καθώς και φαινοτυπική και μοριακή ανίχνευση και διάγνωση), καθώς και η θεραπεία της ασπεργίλλωσης. Τέλος, παρατίθενται συμπεράσματα τα οποία προέκυψαν μέσα από την βιβλιογραφική έρευνα που πραγματοποιήθηκε.

Λέξεις κλειδιά: *ασπεργίλλωση, κλινική εικόνα, παράγοντες κινδύνου διάγνωση, θεραπεία.*

Δ. Summary

This dissertation deals with "Epidemiology, Diagnostic Techniques and Treatment of Aspergillosis". The general part presents the definition, structure, and classification of fungi. Then the morphology, the multiplication as well as the classification of asparagus are developed. Then, the pathogenesis, the clinical picture as well as the risk factors for aspergillus infection are reported. Furthermore, the techniques of diagnosis of aspergillosis (differential diagnosis, microscopic diagnosis as well as phenotypic and molecular detection and diagnosis) are developed, as well as the treatment of aspergillosis. Finally, the conclusions are presented which emerged from the literature research which was held.

Keywords: *aspergillosis, clinical picture, risk factors diagnosis, treatment.*

Ε. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Α. Ελληνική

Βυζαντιάδης Τ.Α., (2010). Διεισδυτικός ασπεργιλλώσεις: Εργαστηριακή διάγνωση και παρακολούθηση, *Εφαρμοσμένη Κλινική Μικροβιολογία και Εργαστηριακή Διάγνωση*, 15(4): 174 – 189.

Δημητρόπουλος Χ., & Φιλίππου Ν., (2008). Τα πολλά πρόσωπα του *Aspergillus fumigatus* και οι επιπτώσεις του στον άνθρωπο, *Αρχεία Ελληνικής Ιατρικής,* 25(3): 295 – 307.

Β. Ξενόγλωσση

Altman M.C., Lenington J., Bronson S., Ayars A.G., (2017). Combination omalizumab and mepolizumab therapy for refractory allergic bronchopulmonary aspergillosis, *J. Allergy Clin. Immunol. Pract*., (5): 1137 – 1139.

Bader O., Tunnermann J., Dudakova A., Tangwattanachuleeporn M., Weig M., & Gross U., (2015). Environmental isolates of azole-resistant Aspergillus fumigatus in Germany, *Antimicrob Agents Chemother*, (59): 4356 – 4359.

Baddley J.W., Andes D.R., Marr K.A., Kontoyiannis D.P., Alexander B.D., Kauffman C.A., (2010). Factors associated with mortality in transplant patients with invasive aspergillosis, *Clin Infect Dis,* (50): 1559 – 1567.

Baddley J.W., Pappas P.G., Smith A.C., & Moser S.A., (2003). Epidemiology of Aspergillus terreus at a university hospital, *Journal of Clinical Microbiology*, 41(12) 5525 – 5529.

Baddley J.W., Andes D.R., Marr K.A., Kontoyiannis D.P., Alexander B.D., & Kauffman C.A., (2010). Factors associated with mortality in transplant patients with invasive aspergillosis, *Clin Infect Dis*, (50): 1559 – 1567.

Gregg K., & Kauffman C., (2015). Invasive Aspergillosis: Epidemiology, Clinical Aspects, and Treatment, *Semin Respir Crit Care Med*, 36(5): 662 - 672.

Hirota S., Kobayashi Y., Ishiguro T., Nishida T., Kagiyama N., Shimizu Y., & Takayanagi N., (2019). Allergic bronchopulmonary aspergillosis successfully treated with mepolizumab: case report and review of the literature, *Respir. Med. Case Rep.,* (26): 59 – 62.

Koehler P., Hamprecht A., Bader O., Bekeredjian-Ding I., Buchheidt D., Doelken G., Elias J., Haase G., Hahn-Ast C., Karthaus M., Kekule A., Keller P., Kiehl M., Krause S., Kramer C., Neumann S., & Rohde H., (2017). Epidemiology of invasive aspergillosis and azole resistance in patients with acute leukaemia: the SEPIA Study, *International Journal of Antimicrobial Agents*, 49(2): 218 – 223.

Kousha M., Tadi R., & Soubani A.O., (2011). Pullmonary aspergillosis: a clinical review, *European Respiratory Review*, (20): 156 – 174.

Li J.X., Fan L.C., Li M.H., Cao W.J., & Xu J.F., (2017). Beneficial effects of Omalizumab therapy in allergic bronchopulmonary aspergillosis: a synthesis review of published literature, *Respir. Med.,* (122): 33 – 42.

Lortholary O., Gangneux J.P., Sitbon K., Lebeau B., de Monbrison F., Le Strat Y., (2011). Epidemiological trends in invasive aspergillosis in France: the SAIF network (2005 – 2007), *Clin Microbiol Infect*, (17): 1882 – 1889.

Moss R.B. , (2014). Treatment options in severe fungal asthma and allergic bronchopulmonary aspergillosis, *Eur. Respir. J.,* (43): 1487 – 1500.

Oda N., Miyahara N., Senoo S., Itano J., Taniguchi A., Morichika D., Fujii U., Maeda Y., Kiura K., & Kanehiro A., (2018). Severe asthma concomitant with allergic bronchopulmonary aspergillosis successfully treated with mepolizumab, *Allergol. Int.,* (67): 521 – 523.

Pagano L., Caira M., Candoni A., Offidani M., Martino B., & Specchia G., (2010). Invasive aspergillosis in patients with acute myeloid leukemia: a SEIFEM-2008 registry study, *Haematologica*, (95): 644 – 650.

Page I., Byanyima R., Hosmane S., Onyachi N., Opira C., Richardson M., Sawyer R., Sharman A., &. Denning D., (2019). Chronic pulmonary aspergillosis

commonly complicates treated pulmonary tuberculosis with residual cavitation, *European Respiratory Journal*, (53): 180 – 184.

Perez-cantero A., Lopez-Fernandez L., Guarro J., & Capilla J., (2019). Azole resistance mechanisms in Aspergillus: update and recent advances, *International Journal of Antimicrobial Agents*, (55): 105 - 117.

Perkhofer S. , Lass-Florl C., Hell M., Russ G., Krause R. , & Honigl M., (2010). The Nationwide Austrian Aspergillus Registry: a prospective data collection on epidemiology, therapy and outcome of invasive mould infections in immunocompromised and/or immunosuppressed patients, *Int J Antimicrob Agents*, (36): 531 – 536.

Pham C.D., Reiss E., Hagen F., Meis J.F., Lockhart S.R., (2014). Passive surveillance for azole-resistant Aspergillus fumigatus, United States, 2011–2013, *Emerg Infect Dis,* (20): 1498 – 1503.

Segal B.H., (2009). Aspergillosis, *N Engl J Med*, (360): 1870 – 1884.

Steinbach W., Marr K., Anaissie E., Azie N., Quan S.P., Meier-Kriesche H., Apewokin S., & Horn D., (2012). Clinical epidemiology of 960 patients with invasive aspergillosis from the PATH Alliance registry, *Journal of Infection*, 65(5): 453 – 464.

Steinmann J., Hamprecht A., Vehreschild M.J., Cornely O.A., Buchheidt D., Spiess B., (2015). Emergence of azole-resistant invasive aspergillosis in HSCT recipients in Germany, *J Antimicrob Chemother*, (70): 1522 – 1526.

Taccone F.S., Van den Abeele A., & Bulpa P. (2015). Epidemiology of invasive aspergillosis in critically ill patients: clinical presentation, underlying conditions, and outcomes, *Crit Care*, 19 (7): 1 – 11.

Terashima T., Shinozaki T., Iwami E., Nakajima T., & Matsuzaki T., (2018). A case of allergic bronchopulmonary aspergillosis successfully treated with mepolizumab, *BMC Pulm. Med*., (18): 53.

Tsubouchi H., Tsuchida S., Yanagi S., Shigekusa T., Miura M., Sakaguchi K., Matsumoto N., & Nakazato M., (2019). Successful treatment with mepolizumab in a

case of allergic bronchopulmonary aspergillosis complicated with nontuberculous mycobacterial infection, *Respiratory Medicine Case Reports,* (28): 875 – 891.

van Ingen J., van der Lee H.A., Rijs T.A., Zoll J., Leenstra T., & Melchers W.J., (2015). Azole, polyene and echinocandin MIC distributions for wild-type, TR34/L98H and TR46/Y121F/T289A Aspergillus fumigatus isolates in The Netherlands, *J Antimicrob Chemother*, (70): 178 – 181.

Verweij P.E., Ananda-Rajah M., Andes D., Arendrup M.C., Bruggemann R.J., & Chowdhary A., (2015). International expert opinion on the management of infection caused by azole-resistant Aspergillus fumigates, *Drug Resist Updat*, (21–22): 30 – 40.