

INFECȚIILE FUNGICE ȘI STRATEGII TERAPEUTICE LA ADULȚII INFECTAȚI HIV

Dr. Simona Ersoiu, Dr. Maria Nica, Dr. Elena Moseș, Dr. Tatiana Biolan
Spitalul Clinic de Boli Infecțioase și Tropicale „Dr. V. Babeș“, București

REZUMAT

Introducere: odată cu apariția infecției HIV, dar și a altor cauze de imunodepresie severă, numărul infecțiilor fungice a crescut dramatic. Dintre toți fungii patogeni pentru om, sp de *Candida* (*albicans* și *non-albicans*) dau cele mai multe infecții care evoluează de la infecții localizate cutaneo-mucoase până la infecții severe sistemice. Dacă stomatitele sunt întâlnite la peste 90% dintre bolnavii HIV + și au un prognostic bun, infecțiile SNC și fungemiile sunt mai rare, dar cu prognostic rezervat.

Obiective: identificarea etiologiei și a sensibilității la antimicotice a fungilor izolați la adulții infectați HIV, internați în clinică într-o perioadă de 12 luni.

Metode: au fost folosite pentru depistarea fungilor implicați tehnicile standard de diagnostic: microscopia directă și culturi din produsele suspiciate (sânge, urină, spută, secreții faringiene, oculare, fecale, LCR și leziuni superficiale). CMI-ul tulpinilor izolate a fost determinat conform normelor NCCLS. Antifungicele testate au fost: amphotericina B deoxicolat, itraconazol, fluconazol, 5-fluorocitozina pentru 132 de tulpini și voriconazol și caspofungin, în ultimul timp, doar pentru 4 tulpini.

Rezultate: în perioada august 2005 – august 2006 au fost izolate 338 de tulpini de la 148 de pacienți. S-au izolat: 230 sp. de *Candida albicans*, 91 sp. de *Candida non-albicans* (cele mai frecvente sp de C au fost: *C. C. tropicalis* și *C. glabrata*), 8 *Cryptococcus neoformans*, 2 sp. de *Aspergillus*., 1 *Blastomyces dermatitidis*. Antifungigrama a arătat rezistența înaltă la amphotericina B pentru: 17 sp. *C. albicans*, 13 *C. non-albicans*, și 3 *Cryptococcus neoformans*. Rezistența la fluconazol au avut: 51 sp. de *C. albicans*, 28 sp. de *C non-albicans* și 1 *Cryptococcus neoformans*. Rezistență înaltă la itraconazol au avut: 61 sp. de *C. albicans*, 34 sp. de *C. non-albicans*, și 1 *Cryptococcus neoformans*. O tulpină de *C. albicans* din cele 4 testate pentru voriconazol a fost rezistentă. Mediana limfocitelor CD4 a fost de 189/mm³. Doar 189 pacienți primiseră HAART. Am înregistrat 295 de evoluții favorabile și doar un deces prin meningoencefalită dată de *Cryptococcus neoformans* multirezistent.

Concluzii: infecțiile fungice sunt prezente în toate stadiile bolii HIV, dar mai ales în stadiile tardive ale bolii, clasa C. Atât antibioticoterapia cât și diareea însăși sunt responsabile de creșterea numărului de sp de C. izolate din fecale. Diagnosticul unei infecții fungice depinde de asocierea observației clinice și a modificărilor de laborator. Oricărui fung izolat trebuie să i se testeze sensibilitatea la antimicotice. Itraconazolul pare să fie fungul cu cea mai mare rezistență la antifungice.

Cuvinte cheie: fungi, antifungice, infecție HIV

ABSTRACT

Background: the number of fungal infections increased dramatically at the moment of HIV infection and/or other causes of immunodeficiency outbreak. *Candida* spp. (*albicans* and *nonalbicans*) are the most frequent infections, which are muco-cutaneous localised or are severe systemic infections. If stomatitis are diagnosed in more than 90% of HIV infected patients and have a good prognosis, CNS infections and fungemia are less frequent with poor prognosis.

Objectives: to identify the etiology and the susceptibility of fungal infection in HIV infected adults admitted in our clinic during a period of 12 months.

Methods: standard techniques including direct microscopic examination and cultures of all suspicious clinical specimens as blood, urine, sputum, pharyngeal, ocular, feces, CSF and superficial lesions, to detect the presence of fungal components were done. The MIC's for the isolates was determined according the NCCLS methods. The antifungal agents tested were: amphotericin B deoxycholate, itraconazole, fluconazole, 5-fluorocytosine for 132 isolates and voriconazol and caspofungin for other 4 strains.

Results: three hundred and thirty eight specimens were isolated from August 2005 to August 2006, from 148 patients. The isolated strains were: 230 *Candida albicans* spp., 91 *Candida non albicans* spp. (the most frequent specimens: *C. tropicalis* and *Candida glabrata*), 8 *Cryptococcus neoformans*, 2 *Aspergillus* spp., 1 *Blastomyces dermatitidis*. The susceptibility of different isolates showed 17 *C. albicans*, 13 *C. non-albicans* spp. and 3 *Cryptococcus neoformans* with high resistance to amphotericin B, 51 *C. albicans* and 28 *Candida non-albicans* spp. and 1 *Cryptococcus neoformans* with high resistant to Fluconazol, 61 *C. albicans*, 34 *C. non-albicans* spp. and 1 *Cryptococcus neoformans* with high resistant to itraconazol. One strain of *C. albicans* from 4 tested was resistant to voriconazol. Median count number of CD4 lymphocytes/mm³ was 189. Only 189 patients received HAART. We registered 147 recoveries and only 1 death in a patient with meningitis due to a high resistant *Cryptococcus neoformans* strain.

Conclusions: fungal infections are frequent in all stages of HIV infection, especially in the latest. Both antibiotic therapy and diarrhoea itself are responsible for increased fecal count of *Candida*. Diagnosis of fungal infections depends on a combination of clinical observation and laboratory investigation. All fungal isolate requests to identify the susceptibility to antifungal drugs. Itraconazol seems to be the most resistant antifungal drug.

Key words: fungi, antifungal drugs, HIV infection

INTRODUCERE

Incidența infecțiilor fungice a crescut dramatic în proporție de 207%, în ultimii 20 de ani (1). Fungii sunt al 4-lea agent infecțios nosocomial în SUA și 5% dintre cazurile de sepsis sunt datorate tot acestor germeni. Fungi precum speciile de *Candida* au devenit dominanți la mulți bolnavi imunodeprimați, acestora adăugându-li-se și alte specii de fungi emergenți și reemergenți (2). Deși sp. de *Candida* aparțin microflorei normale, mai ales la nivelul tractului gastrointestinal, colonizarea normală servește ca sursă endogenă de infecție și imunodepresia favorizează apariția unei candidoze localizate sau sistemice. Infecțiile date de *Candida albicans* și *non-albicans* au fost și rămân cele mai frecvente manifestări ale patologiei fungice la toate tipurile de bolnavi cu imunodepresie. Localizate sau sistemice, infecțiile candidozice pot fi întâlnite la bolnavii cu infecție HIV, la neutropenici, la bolnavii aflați sub tratamente imunosupresoare, la bolnavii din secțiile de terapie intensivă, după transplant de măduvă osoasă, dar și după organe solide. Factorii de risc major pentru apariția candidemiei sunt reprezentați de: antibioticoterapia cu spectru larg, catetere venoase centrale, alimentația parenterală, spitalizarea prelungită, neutropenia, corticoterapia. Candidoza orală a fost cea mai frecventă infecție fugică diagnosticată. Candidoza orală apare, virtual, în orice moment al infecției HIV și se întâlnește la peste 90% dintre cei seropozitivi, cel puțin o dată în timpul bolii, dar cel mai adesea are caracter recidivant, fenomen ce declanșează și dezvoltarea rezistenței la antifungicele cele mai folosite. Prezența acestei infecții este un factor predictiv al progresiei către SIDA, al bolnavilor fără TARV. Cu toate acestea, evoluția către o candidoză sistemică se întâlnește rar la bolnavii cu infecție HIV comparativ cu alte categorii de gazde imunodeprimate (neutropenici, bolnavii chirurgiali din secțiile de terapie intensivă etc.). Majoritatea bolnavilor care dezvoltă candidemie nu sunt imunodeprimați în sensul clasic (2, 23). Candidemiile sunt iatrogene și/sau nosocomiale (2,23,24), astfel că bolnavii cu infecție HIV, ca și diabeticii, fac cel mai adesea infecții mucocutate și nu sistemice. Infecția HIV este mai curând un cofactor și nu un factor de risc independent.

Infecția cu HIV determină o deteriorare progresivă a imunității gazdei, alterând nu numai funcția celulelor T helper, ci și declanșând defecte ale funcției limfocitelor B, a neutrofilelor, a monocito/macrofagelor, dar și defecte de modulare a funcției imune a unei varietăți de citokine.

Fungii sunt microorganisme ubicuitare, răspândiți în mediul exterior. Plămânul este adesea cea mai importantă poartă de intrare a fungilor patogeni pentru gazda umană. Multiple componente ale mecanismelor normale de apărare ale gazdei umane controlează infecțiile fungice și previn progresia locală și diseminarea acestora. Studiile experimentale cu fungi patogeni pe plămânul unor animale de laborator declanșează un răspuns al neutrofilelor, urmat de un aflux de mononucleare. Se pare că ambele tipuri de celule pot omorî fungii prin mecanisme oxidative și non-oxidative, iar anumiți fungi sunt mai susceptibili decât alții la acțiunea de distrugere a neutrofilelor. Rezistența dobândită la fungi reflectă o interacțiune complexă implicând limfocitele T sensibilizate, care acționează ca inductor al macrofagelor. De asemenea, anticorpii distrugători mediați de limfocite, monocite sau neutrofile pot fi un factor important în limitarea creșterii unor anumite specii de fungi. Datorită rolului acestor mecanisme de apărare, a abundenței de fungi în mediul înconjurător și a spectrului defectelor imunitare secundare imunodepresiei, afecțiunile fungice pot complica infecția HIV.

90% dintre infecțiile fungice (micoze) sunt produse de câțiva fungi cu potențial patogen. Speciile patogene posedă enzime necesare dezvoltării direct din țesuturile gazdei unde ele se localizează. Membrana celulară a fungilor conține un complex lipidic numit sterol (ergosterol), care este ținta medicației antifungice.

Factori care contribuie la creșterea prevalenței infecțiilor fungice invazive au fost:

- epidemia HIV și supraviețuirea îndelungată a bolnavilor cu SIDA;
- chemoterapia mai agresivă a cancerului;
- creșterea numărului de transplante de organ și măduvă osoasă;
- terapia intensivă mai agresivă a prematurilor și adulților;
- creșterea folosirii antibioticelor cu spectru larg;
- creșterea turismului internațional; expunerea la micoze endemice;
- creșterea consumatorilor de droguri IV;
- creșterea nutriției parenterale;
- creșterea numărului de catetere venoase centrale;
- creșterea numărului infecțiilor chirurgicale laborioase;
- creșterea duratei de spitalizare;
- creșterea duratei de viață și a numărului vârstnicilor cu imunodepresie fiziologică

complicată cu cea dată de diferite afecțiuni cronice.

Numărul afecțiunilor fungice a crescut dramatic în ultimele două decade, mai ales la pacienții fără tratament antiretroviral (TARV). Dintre toți fungii patogeni pentru om, sp de *Candida albicans*, sp. *non-albicans* și *Cryptococcus neoformans* dau cele mai multe infecții, adesea severe, care necesită tratament îndelungat și profilaxie secundară. Manifestările clinice sunt diverse: de la stomatite, cheilite și vaginite până la meningite și/sau infecții sistemice. Cu toate acestea, introducerea HAART a făcut ca incidența unor infecții fungice să scadă.

Un studiu prezentat în 1998, la a 5-a Conferință privind Retrovirusurile Umane și Infecțiile Oportunistice, a arătat o scădere cu 39% (de la 4,1% la 2,4%/an) a esofagitei candidozice și o scădere de 68% (0,7 până la 0,2% /an) a bolii cu *Cryptococcus* numai datorită HAART (3).

Diferiți agenți antifungici au ținte diferite pentru a acționa, mergând de la molecule din peretele fungic, mai ales ergosterolul, până la enzime citoplasmice și sinteza de acizi nucleici (5).

Timp de mai multe decade, o singură clasă de preparate antifungice a fost disponibilă pentru terapia infecțiilor sistemice și a celor apărute la gazdele imunocompromise și aceasta a fost cea a polienelor, reprezentată de amphotericina B (AmB) convențională deoxicholat. AmB formează cu ergosterolul un complex ireversibil care alterează fluiditatea membranei și face ca peretele fungic să fie permeabil pentru pierderea elementelor

citoplasmice. Mult timp ea a fost eficientă cu toate că era greu suportată de bolnavi, prin reacțiile sale adverse reprezentate mai ales de toxicitatea renală. Progresele făcute în terapia antifungică au dus la apariția unor noi derivați (3 derivați liposolubili de amphotericină) mai puțin renotoxici, dar mai eficienți și mai costisitori. Flucitozina este folosită în combinație cu AmB, dar nu-și demonstrează activitatea în administrare unică. Acestei clase i s-au adăugat azolii cu reprezentantul de seamă fluconazolul (Flu). Toți azolii sunt fungistatici, dar dependent de doză sunt fungicizi și eficienți împotriva speciilor de *Candida* și *Cryptococcus*. Noii azoli, voriconazolul, posaconazolul, ravuconazolul, demonstrează activitate fungicidă împotriva speciilor de *Aspergillus* și *Fusarium*. Ei acționează prin inhibarea biosintezei ergosterolului prin blocarea enzimei citocromului P450 fungic, lanosterol 14-desmetilaza. Ei interferează cu numeroase subtipuri de citocrom P450 hepatic și intestinal, responsabili de metabolizarea altor agenți terapeutici. Isoenzima P450 care este implicată în metabolismul azolilor antifungici include CYP 3A4 (ketoconazol, fluconazol, voriconazol, itraconazol și posaconazol) și CYP 2C9 (ketoconazol, fluconazol, voriconazol). Astfel, azolii produc interacțiuni cu o largă varietate de medicamente: antihistaminicele H1, citostaticele, steroizii, antibioticele, antiretroviralele, opioidele, cardiotonicele, psihotropele și anticoncepționalele. Astfel s-a ajuns la prepararea unei noi clase de antifungice – echinocandinele (caspofungin,

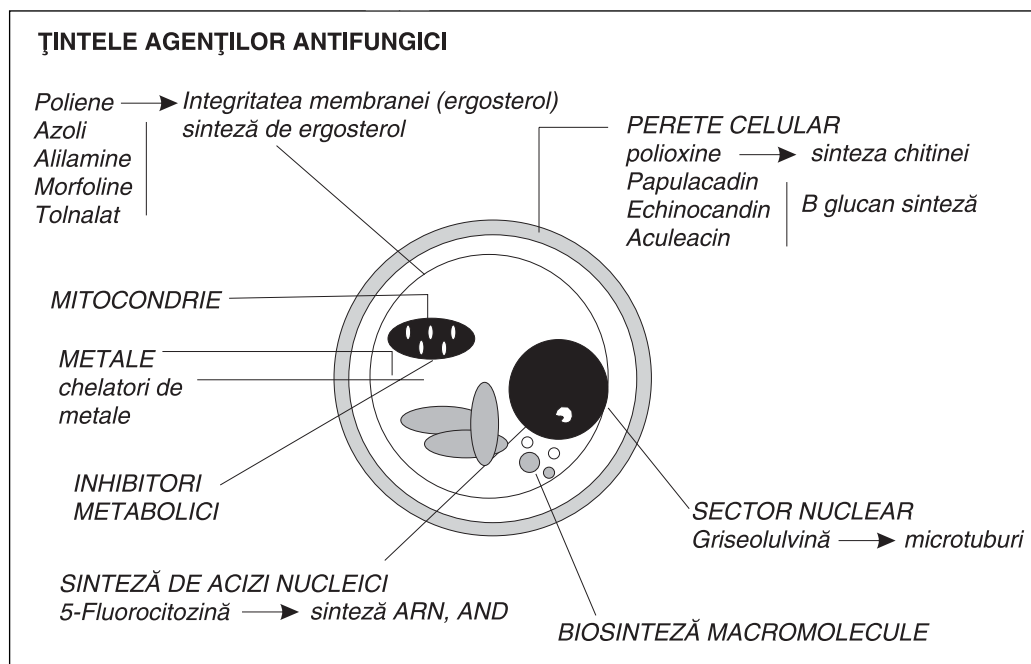


Figura 1

Reprodus după Merck – Introduction to Medical Mycology, 2001(5)

micafungin, anidulafungin). Toate echinocandinele inhibă sinteza celulară de glucani din peretele fungic. Posedă activitate fungicidă împotriva speciilor de fungi, dar fungistatică împotriva sp de *Aspergillus*, dar nu și împotriva sp de *Cryptococcus* și a altor fungi precum *Zygomycetes* sau *Fusarium*. Echinocandinele nu interacționează esențial cu citocromul P450, astfel că au puține interacțiuni cu alte medicamente (6, 7). Cu toate aceste progrese, terapia antifungică ca și cea antibacterină semnalează apariția fenomenului de rezistență la preparatele actuale.

Din punct de vedere istoric, rezistența la preparatele antimicrobiene a fost definită ca persistentă sau progresia unei infecții, în ciuda unei terapii considerată a fi adecvată. Standardele NCCLS stabilite în ultimii 5 ani recomandă ca antifungigrama difuzimetrică să fie înlocuită cu E-teste, alte metode, iar la baza tratamentului să stea datele clinice cu care să se facă corelații.

Folosirea profilactică a Flu a arătat o scădere a candidozelor sistemice la bolnavii cu chemoterapie pentru cancer și transplant de măduvă. Folosirea lui ca tratament preventiv la neutropenici a fost eficientă. Cu toate acestea, în ultimii ani s-au semnalat rezistențe la Flu la diverse categorii de pacienți, ca urmare a folosirii lui profilactice timp prea îndelungat și în doze inadecvate (8). Unii fungi au din start o sensibilitate mai redusă la medicația antifungică (MAF) (*Zygomycete*, *Scedosporium*, *Fusarium*). Cauzele care au condus la apariția rezistenței antifungicelor se datoresc mai multor factori. Cât de importantă este această rezistență pentru fungi precum: *C. albicans*, *C. non-albicans*, (mai ales *C. glabrata*), *Cryptococcus*, *Aspergillus* (*A. terreus*), *Histoplasma*, alți fungi? În tabelul 1 sunt prezentate principalele cauze care duc la apariția rezistenței la medicația antifungică (MAF):

Creșterea incidenței infecțiilor fungice a condus la exacerbarea nevoii unor noi generații de medicamente antifungice. Deoarece multe preparate antifungice au efecte adverse, ele sunt ineficiente împotriva unor noi fungi reemergenți; duc la o rapidă dezvoltare a rezistenței, mai ales prin folosirea lor abuzivă și incorectă în scop profilactic. Extrem de rară acum 10 ani, deși semnalată încă din 1980 (8), rezistența la MAF a devenit o importantă problemă de terapie la anumite categorii de pacienți, mai ales la cei infectați HIV, dar și la bolnavii aflați în stare critică. Folosirea în exces a tratamentelor cu azoli, mai ales a fluconazolului în terapia candidozei orofaringiene, a dus la apariția rezistenței la acest preparat mai ales la bolnavii HIV+ cu repetate episoade. 33% dintre bolnavii aflați în stadii avansate ale SIDA au tulpini de *Candida albicans* cu rezistență mai ales la Flu. Aceasta a condus la inițierea unor studii clinice, biochimice, genetice și moleculare, care să explice cauzele fenomenului și să definească metodele de a împiedica extinderea fenomenului de rezistență.

Mecanismele celulare de apariție a fenomenului de rezistență sunt intrinseci pentru specii precum *C. glabrata* și *C. krusei*. De asemenea, înlocuiri de tulpini sau specii, alterarea genetică, expresia genetică tranzitorie au fost descrise în apariția fenomenului de rezistență. Mecanismele moleculare ale rezistenței se bazează pe modificări în compoziția membranei sterolului, modificări genetice ale genei ERG 11 (care răspunde de sinteza ergosterolului), alterări ale altor enzime ale sintezei ergosterolului, creșterea pompei de eflux (8). În tratamentul cu Flu, raportul AUC/CMI este precursor al răspunsului clinic, iar doza/CMI > 25 reprezintă un factor predictiv de succes terapeutic (9). Rezistența apărută la speciile non-albicans (*C. krusei*, *C. glabrata*) izolate de la pacienți cu

Tabelul 1

Factorii care influențează apariția rezistenței la medicația antifungică

FACTORII ANTIFUNGICI	TIPUL MAF	GAZDA (ȘI ALȚI FACTORI)
CMI inițial	Fungistatic	Status imun
Tipul celulei fung, hifa	Dozaj	Locul infecției
fenotipul	Frecvență	Severitatea infecției
serotipul	Calitate	Prezența de materiale străine (cateter etc.)
	Regim (intermitent vs. continuu)	Formarea de abcese
Stabilitatea genomică	Doza cumulativă	Non-compliance pacientului cu regimul MAF
Mărimea populației	Farmacocinetica	
Populația „bottleneck“	Absorbția	
Biofilm	Distribuția	
	Metabolism	
	Interacțiuni medicamentoase	

infecții fungice este îngrijorătoare. Iată câteva date despre rezistența *C. glabrata*, relevate de studiile întreprinse în zone geografice diferite: 10,2% în zona Asia Pacific, 7,5% în America de Sud, 12,9% în Europa, 20,1 în Canada și 16,3% în SUA (10).

Într-un studiu efectuat în 39 de țări, în perioada iunie 1997–decembrie 2003 au fost izolate și testate difuzimetric după normele CLSI (vechiul NCCLS) M44-A⁸ la Flu, 140 767 de tulpini de fungi. Studiul a arătat o scădere a izolării tulpinilor de *C. albicans* și o creștere a speciilor nonalbicans (*C. tropicalis* și *C. parapsilosis*). Cu toate că s-au înregistrat cazuri puține, se pare că tendința este «emergentă» pentru specii ca: *C. rugosa*, *C. famata*, *C. inconspicua*, *C. norvegiensis*. Printre speciile noncandida un loc din ce în ce mai important pare să îl câștige specii precum *C. neoformans*, *Saccharomyces*, *Trichosporum* și sp. de *Rhodotorus*, mai ales prin scăderea sensibilității lor la cei mai importanți derivați antifungici. Deși majoritatea speciilor s-au dovedit sensibile la Flu și Vor, *C. glabrata* s-a demonstrat a avea o rezistență în creștere, mai ales în anumite zone geografice (Belgia – 18,5%, Venezuela – 38,8%) unde de altfel există și rezistență în creștere la Flu. Datele comunicate de acest studiu, primul cu un număr atât de mare de izolare, din diverse zone geografice, evidențiază necesitatea testării sensibilității la MAF a oricărei tulpini izolate.

Noile antifungice sensibile pentru speciile de C cu rezistență semnalată la azoli, au arătat că echinocandinele au spectru de sensibilitate apropiat *in vitro* de cel *in vivo*. Sunt recomandate având o eficacitate și o toxicitate redusă comparativ cu AmB (2002) (9) fiind indicate nu numai în infecțiile date de C rezistenți, ci și în cele date de *C. glabrata* (CMI >) și *C. krusei* (activitate excelentă *in vitro/in vivo*). Noii azoli precum Vor sunt eficienți în candidoza esofagiană, altfel destul de rezistentă la Flu. De asemenea, s-a remarcat o creștere importantă a CMI pentru *C. parapsilosis*, *C. guillermundi*. Dezvoltarea rezistenței sau emergența tulpinilor rezistente pare rară atât pentru noii azoli, cât și pentru echinocandine. Toxicitatea lor este minimă, au foarte puține reacții adverse (flebita la administrarea iv a caspofunginului), interacțiuni medicamentoase minime. Sunt un avantaj și eficacitatea clinică este comparabilă cu cea a AmB lipoidică.

După unele studii, prevalența albicans/nonalbicans este inversă (11). Sp. de *Candida nonalbicans* au crescut de la 40% în '80, la 60% în 2004 (10). Rezistența la Flu a *C. albicans* a fost semnalată în 20-30%, iar sp noncandida în 25-45% dintre cazuri în studii efectuate pe bolnavi cu

infecții invazive la bolnavii din secțiile de terapie intensivă (9,10). Peste 30% dintre pacienții rezistenți la fluconazol sunt rezistenți și la voriconazol (10), iar rezistența încrucișată se poate instala în câteva zile (*C. glabrata* vorico-rezistentă în 4 zile după expunere la Flu).

Pentru exemplificarea datelor prezentate vom face o scurtă analiză a infecțiilor fungice diagnosticate în clinica noastră în perioada august 2005–august 2006, la adulții HIV+.

Obiectivele acestui studiu au constituit evidențierea manifestărilor clinice a infecțiilor fungice și a etiologiei lor, cât și a sensibilității la antifungicele disponibile în țara noastră, a speciilor izolate.

METODE

Examinarea și manifestările clinice au orientat către o posibilă etiologie fungică. Diagnosticul de confirmare a infecțiilor fungice a fost cel clasic, constând în evidențierea prin microscopie directă și culturi a fungilor izolați din sânge, LCR, urină, secreții linguale, oculare, spută, secreții vaginale și leziuni cutanate. Nu s-au folosit teste serologice. Antifungigrama a fost efectuată prin E-teste, în funcție de posibilități, la antifungicele existente în țara noastră: fluconazol (Flu), itraconazol (Itc), 5-fluorocitozina (5-Flc), dar și amphotericina B deoxicholat (AmB), iar în ultima perioadă și la noile antifungice voriconazol (Vor) și caspofungin (Casp).

REZULTATE

În perioada august 2005–august 2006 au fost izolate 338 de tulpini de la 148 de pacienți (2,28 tulpini/bolnav). Infecțiile fungice au fost diagnosticate la 65 de femei și 73 de bărbați cu mediana vârstei de 37 de ani (limite: 18-74 de ani). Clinic și imunologic bolnavii au fost clasificați în: clasa A – 4 bolnavi, clasa B – 49 de bolnavi și clasa C – 95 de bolnavi (93% aparținând stadiului clinico-imunologic C3). Mediana limfocitelor CD4 a fost de 118 limfocite/mm³ (limite 0-1165), iar mediana viremiei la cei 84 de bolnavi testați a fost de 5,27 log₁₀ (limite: 1,69-6,67). Sub tratament antiretroviral s-au aflat 87 de bolnavi, 7 bolnavi avuseseră terapie anterioară, abandonând, iar 33 au fost incluși în tratament până la sfârșitul studiului. 23 de pacienți au fost depistați cu infecție HIV în perioada studiului, iar 17 au revenit în supraveghere după o dispariție în medie de 2,6 ani. Antibioticoterapie anterior episodului de infecție fungică a fost semnalată la 46 de bolnavi. Cele

mai folosite antibiotice au fost amoxicilina și ciprofloxacina la câte 13 bolnavi. Peste jumătate dintre bolnavi au luat tratament antibiotic fără recomandare medicală, anterior unui consult medical. 14 bolnavi s-au aflat sub tratament tuberculostatic la momentul diagnosticării infecției fungice, 5 bolnavi au primit citostatice pentru diferite tipuri de limfoame, iar 3 bolnavi au fost diagnosticați cu toxoplasmoză în timpul episodului fungic.

Izolarea fungilor s-a efectuat din: 177 tampoane nasofaringiene, 94 materii fecale (pacienți cu sau fără diaree postantibioticoterapie), 38 secreții vaginale, 10 LCR-uri, 7 leziuni cutanate, 3 hemoculturi, 2 uroculturi, o secreție oculară. Unui număr important de bolnavi li s-au recoltat mai multe probe în timpul aceluiași episod (în medie 2,4 probe per bolnav). Identificarea speciilor de candida nu a fost constant posibilă. S-au izolat: 230 sp. de *Candida albicans*, 91 sp. de *Candida non-albicans* (cele mai frecvente sp non *C* au fost: *C. tropicalis* și *C. krusei* și *C. glabrata*), 6 *Cryptococcus neoformans*, 4 sp. de *Aspergillus*., 3 sp *geotricum*, 3 sp. *Trichosporum*, 1 *Blastomyces dermatitidis*. Antifungigrama a fost efectuată la 131 de tulpini. S-a demonstrat rezistență înaltă la amphotericina B pentru: 18 sp. *C. albicans* (7,82%), 13 *C. non-albicans* (14,2%) și 1 *Cryptococcus neoformans* (16,67%). Rezistență la Flu au avut: 51 sp. de *C. albicans* (22,17%), 28 sp. de *C. non-albicans* (30,76%) și 1 *Cryptococcus neoformans* (16,67%). Rezistență înaltă la itraconazol au avut: 61 sp. de *C. albicans* (26,52%), 34 sp. de *C. non-albicans* (37,6%) și 1 *Cryptococcus neoformans* (16,67%). O tulpină de *C. albicans* dintre cele 4 testate pentru voriconazol a fost rezistentă, dar sensibilă la Casp.

Esofagita candidozică nu a putut fi confirmată endoscopic și prin microscopie și/sau culturi. Ea a fost suspiciată clinic și confirmată prin tranzit baritat și prin răspunsul favorabil la tratamentul empiric cu Flu. Am semnalat doar 6 esofagite, rezolvate favorabil, deci cu sp. *Candida* sensibile probabil la Flu.

Sp. *non candida* au fost izolate atât din orofaringe (44 tulpini), cât și din secrețiile vaginale (14 tulpini), otice (6 tulpini), o secreție oculară și chiar plăgi (4). Restul tulpinilor au fost izolate din materiile fecale. Aprecierea ca agent patogen a fungilor izolați din materiile fecale rămâne o problemă discutabilă, având în vedere colonizarea normală a tractului digestiv de către acest fung. A fost luat în considerație ca agent patogen doar la pacienții cu tratament anterior cu antibiotice, în

contextul izolării concomitente și din orofaringe și în cazul unor diaree rebele la alte tratamente care în urma probei terapeutice au evoluat favorabil. În 70% dintre cazuri au fost sensibile la Flu, date conforme cu cele relevate de alte studii. 7 tulpini de *C. krusei* au fost izolate din candidozele bucale, 2 din aspiratele traheale și 2 din materiile fecale. Doar 3 tulpini au fost sensibile la Flu. *C. glabrata* a fost izolată din secrețiile vaginale, doar una fiind sensibilă la Flu. *C. tropicalis* a fost izolată dintr-o plagă și din fecale, ambele fiind rezistente la Flu.

Jumătate dintre vaginitele diagnosticate au fost date de sp de *C. non-albicans*, o treime fiind rezistente la Flu.

Un singur bolnav a prezentat o pneumonie candidozică cu *C. albicans* izolat din spută și cu rezistență la Flu, dar și la Vor. Sensibilitatea la AmB a fost prezentă, dar bolnavul prezenta deja un grad de insuficiență renală, astfel încât administrarea caspofunginului a fost singura soluție, conducând la o evoluție favorabilă.

Germenii izolați din secrețiile otice au fost variați: *Aspergillus flavus* și *A. fumigatus* în 2 cazuri, și *Candida non-albicans* în celelalte 2 cazuri. Toate secrețiile otice au fost rezistente la Flu.

147 de bolnavi au fost recuperați. S-a înregistrat un singur deces prin meningoencefalita cu *C. neoformans* la un bolnav nou depistat HIV cu ocazia criptococozii și cu imunodepresie severă cu limfocite CD4 < 50/mm³ și viremie > 2 mil de copii/ml, depistat tardiv.

Profilaxia infecțiilor fungice nu s-a putut realiza corect, astfel că recăderile au apărut, mai ales la pacienții fără TARV și complianță la tratamente. Nu s-au înregistrat efecte adverse majore. Citoliza hepatică moderată după Flu a apărut mai ales la bolnavii cu coinfecție cu virisuri hepatice, la cei cu tratament tuberculostatic și la consumatorii de alcool. Dar oricum, numărul acestor bolnavi a fost mic și citoliza nu a impus întreruperea tratamentului.

DISCUȚII

În studiul întreprins au fost incluși doar pacienții care clinic prezentau semnele unei infecții fungice. Hemoculturi pentru fungi s-au efectuat tuturor bolnavilor febrili și/sau celor cu valoare a limfocitelor CD4 < 200/mm³, în funcție de posibilitățile tehnice. Toate LCR au fost testate pentru *C. neoformans* prin colorația cu tuș de China. Nu s-a identificat nici o hemocultură pozitivă pentru *Candida*. Pentru infecția HIV, *Cryptococcus neoformans* s-a demonstrat a fi cel mai frecvent germene izolat din hemoculturi (14,15,22). În

prezentul studiu, el a fost identificat doar dintr-o hemocultură: un bolnav cu repetate abandonuri terapeutice a TARV la care din 2 hemoculturi s-a izolat pe lângă *C. neoformans* și *Salmonella BO* și *Enterobacter*. La acest bolnav, *C. neoformans* s-a izolat și dintr-o leziune cutanată, în lipsa unei meningite. Sensibilitatea la Flu a permis administrarea acestui antifungic alături de antibioticoterapie, tratamente etiologice, care au condus către o evoluție favorabilă.

După cum sunt cunoscute și datele din alte studii, candidoza orofaringeală a fost cea mai frecventă infecție care a dus la izolarea tulpinilor de *C.* la 128 de bolnavi (86,48%), incidența asemănătoare cu datele raportate de alți autori (17). Astfel se explică de ce tratamentele repetate și adesea prelungite au dus la apariția rezistenței la antifungice. Dacă la începutul istoriei naturale a infecției HIV în țara noastră, ca de altfel peste tot în lume, tratamentul cu topice locale era pe primul loc (clotrimazol, nistatin, pimafucin), acestea au fost înlocuite la începutul anilor 2000 cu administrarea de Itr. Acest preparat administrat în doze și durate inadecvate a dus la apariția rezistenței în creștere: 26,52% rezistența la speciile de *C. albicans* și 37,6% la sp. *non candida*. Ulterior, candidozele au început să fie tratate cu Flu, așa cum s-a întâmplat și la lotul nostru de bolnavi. Primul episod, mai ales la bolnavii naivi pentru Flu și recent depistați cu infecție HIV a condus la vindecare rapidă. Episoadele următoare au dus la dezvoltarea rezistenței candidozei față de Flu, la un număr de 27 de bolnavi. Studiile au demonstrat că folosirea îndelungată a Flu în cazul unor candidoze orofaringiene repetate poate duce la apariția rezistenței la Flu prin fenomenul de presiune selectivă, atribuit folosirii preparatului ca profilaxie (Barchiesi et al. 1996, Dronda et al. 1996) (17). Multe studii au estimat incidența rezistenței clinice a Flu la 6-36%, în funcție de grupul de pacienți studiați și de definiția de caz (Baily et al. 1994, Chavanet et al. 1994, Johnson et al. 1995) (17). La 2 bolnavi cu candidoza orofaringeană rezistentă la tratamentul cu Flu am folosit Vor, care și-a demonstrat eficacitatea. Nu am administrat doze mai mari de 200 mg/zi de Flu, recomandare existentă în ghidurile internaționale de tratament al candidozelor (3, 18).

În cazurile de candidoză orofaringeană refractară la tratament, la pacienții cu HIV, Vasquez și colab. (3) au demonstrat utilitatea administrării de GM-CSF (Granulocyte-Macrophage Colony Stimulating Factor) ca adjuvant la tratamentul cu fluconazol. Se pare că GM-CSF are capacitatea

de a crește abilitatea leucocitelor (neutrofilelor) de a omorî fungii datorită potențialului GM-CSF de a crește replicarea HIV, de aceea fiind necesară administrarea împreună cu TARV.

Manifestările clinice date de sp. *non-albicans* au fost variate și mai ales în cazul diareilor a fost extrem de dificil în a diferenția patogenitatea de colonizare. Speciile *non-albicans* s-au dovedit rezistente la Flu la 30,76% din izolate, dar și mai rezistente la Itr. (37,6%). Manifestările clinice date de *C. krusei*, *C. glabrata*, *C. tropicalis* au fost polimorfe. Este de remarcat izolarea lor din plăgi, izolare neîntâlnită la bolnavii non HIV. Rezistența lor la Flu, Itr. a fost mare comparativ cu sp. *albicans*. Trei dintre cele 4 tulpini de *C. krusei* și cele 2 de *C. glabrata* au fost rezistente la toate antifungicele testate.

Vulvovaginitele candidozice au o incidență care nu a putut fi precizată. Rata colonizării *Candidaei* vaginale este mai mare decât la femeile non HIV, păstrându-se aceleași caracteristici demografice și apărând în aceleași condiții de comportament. Rata colonizării crește în corelație cu severitatea imunosupresiei. Expunerea la azoli duce la creșterea izolării sp. *non-albicans* din vagin (20). Tratamentul este mai ales local, dar recurențele sunt frecvente, așa cum s-a întâmplat și în prezentul studiu.

Ca și în alte cercetări (21), infecțiile cu *Aspergillus* și-au demonstrat sensibilitatea la AmB, dar și rezistența la Flu și Itr. Colonizarea bronșică cu sp. de *Aspergillus* a fost rar depistată, nediagnosticându-se nici o aspergiloză invazivă așa cum se întâlnește la alte categorii de gazde imunocompromise.

Fungi mai rar sau excepțional izolați la gazdele imunocompetente au fost izolate de la seropozitivi HIV din fecale (sp. *Trichosporum*) și aspirat traheal (sp. *Geotrichum*), specii de fungi rar întâlniți chiar și la alte gazde imunodeprimate, dar a căror izolare este în creștere. Oricum, sensibilitatea lor la AmB este menționată în unele studii. Tulpinile izolate la pacienții noștri au avut o rezistență totală.

Cele mai severe forme de infecții fungice au fost create de meningoencefalitele date de *C. neoformans*. Sensibilitatea lui la azoli, mai ales la Flu a fost păstrată la bolnavii studiați, doar unul dintre pacienți, cu abandon la cura completă cu Flu, a dezvoltat la reactivare, o infecție plurirezistentă, dar cu păstrarea sensibilității la AmB, tratament pe care l-a urmat cu manifestări reversibile de toxicitate renală. A fost singura fungemie care a

evoluat sever, dar cu recuperare după tratament îndelungat și asocierea HAART.

Deși ghidurile actuale discută despre terapia combinată, nu am folosit combinațiile de antifungice. Deși antifungigrama a permis testarea sensibilității și la 5-Flc, preparatul nu a fost folosit, și oricum recomandarea este de folosire în asociație cu AmB.

Ghidul elvețian 2006 recomandă ca, în cazul unei candidoze invazive, tratamentul să se facă cu Casp. Amfotericina B încă mai este menționată în ghiduri, cu specificația că efectele adverse apar la 90% dintre cazurile administrate. De asemenea, Casp este recomandat în cazul infecțiilor severe, mai ales la cei cu cauze diverse de imunosupresie, dar nu și în infecțiile date de *C. neoformans*.

Flu poate fi folosit acolo unde nu a fost folosit în antecedente și numai dacă pacientul este stabil hemodinamic. Nu se recomandă utilizarea Vor după Flu din cauza riscului mare de rezistență încrucișată (referințele publicate arată deja o astfel de rată de cross-rezistență la peste 30% dintre cazuri).

Voriconazolul poate fi folosit în deescaladare, după caspofungin, atunci când pacientul se stabilizează hemodinamic și poate lua forma orală. Testul de sensibilitate la Vor este obligatoriu.

În aspergiloza invazivă, datele clinice de eficiență ale Casp în terapia de primă intenție le depășesc pe cele ale Vor (56% vs. 52%). De asemenea, Casp este eficient chiar și la pacienții refractari la tratamentele clasice, inclusiv triazoli. *In vivo*, Casp are acțiune fungicidă pe sp. de *Aspergillus*, având un mod particular de a modifica morfologia tulpinilor.

Noile date de terapie combinată arată eficiența cea mai bună pentru combinația dintre Casp și Vor, deși rezultate superioare monoterapiei s-au înregistrat și în combinația Casp plus AmB, și nu Vor plus AmB.

Rezolvarea recăderilor și reactivărilor infecțiilor fungice a dat-o administrarea HAART. Se poate afirma că infecțiile fungice au fost încă o dovadă a aderenței la TARV la majoritatea bolnavilor cu infecții fungice recurente.

Deși resursele terapiei antifungice s-au îmbogățit, folosirea lor rațională va face să stagneze fenomenul de rezistență deja apărut și la bolnavii noștri.

CONCLUZII

Deși au scăzut mult ca frecvență și gravitate odată cu apariția HAART, infecțiile fungice continuă să reprezinte o incidență crescută, adesea ele fiind și momentul depistării infecției HIV. Creșterea numărului și a rezistenței tulpinilor de *C. non-albicans* a început să devină o problemă la debutul tratamentului empiric.

După rezultatele mai multor studii internaționale și a datelor prezentate de acest studiu, putem spune că principalele cauze ale rezistenței la medicația antifungică sunt existența factorilor de risc prin folosirea în exces a azolilor (> Flu) și dozarea inadecvată, la care se adaugă emergența rezistenței prin tratamentul cronic cu doze mici la bolnavii cu imunodepresie severă din SIDA.

Cunoștințele actuale legate de apariția fenomenului de rezistență la MAF sunt mai puțin documentate decât cele ale rezistenței la antibiotice.

Am prezentat factorii clinici, celulari și moleculari implicați în apariția fenomenului de rezistență a antifungicelor. Informațiile sunt încă sumare, fenomenul fiind mult mai complex, dar folosirea rațională a acestei medicații poate stăvili acest fenomen care poate face victime.

Amplificarea cunoștințelor privind rezistența la droguri antifungice implică dezvoltarea unor noi strategii de diagnostic, în vederea identificării cât mai rapide a tulpinilor rezistente, izolate de la populația expusă.

Elaborarea de noi strategii terapeutice, dar și descoperirea de noi preparate antifungice sunt necesare în vederea învingerii fenomenului de rezistență, care se extinde continuu. Apariția fenomenului de rezistență stârnește aceleași neliniști ca și cel al rezistenței antibacteriene.

BIBLIOGRAFIE

1. Martin GS, Mannino DM, Eaton S, Moss M – The epidemiology of sepsis in the USA, *N Engl J. Med* 348: 1546-1554, 2003.
2. Brad J. Spellberg, Scott G Filler, John E Edwards Jr – Current treatment Strategies for Disseminated Candidiasis - *Clinical Infectious Diseases* 2006; 42: 244-51, 5th CROI-San Francisco, 1998
3. Tortorano AM, Casani L, Rigoni AL et. al – Candidosin the intensive care unit: a 20 years survey, *Hosp. Infect.* 2004, 57: 8-13
4. Merck – Introduction to Medical Mycology, 2001
5. Denning DW – Echinocandin antifungal drugs, *Lancet*, 2003 362, 1142-1151
6. Erscoiu SM – Aspecte actuale ale infecțiilor și tratamentul antifungic, *Actualități în Bolile Infecțioase* 2000, 168-177

7. **Theodore C White, Kieren A Marr and Raleigh A Bowden** – Clinical, Cellular, and Molecular Factors That Contribute to Antifungal Drug Resistance, *Clinical Microbiology Reviews*, April 1998, p. 382-402, Vol. 11, No. 2
8. **Petterson T** – Antifungal resistance: How big is the problem, *Lectures ISAAR* 2003
9. **Pfaller MA, Diekema DJ et al** – Results from ARTEMIS DISK Global Antifungal Surveillance Study: a 6.5 year Analysis of Susceptibility of Candida and other Yeast Species to Fluconazole and Voriconazole by Standardized Disk Diffusion Testing, *J. of Clin. Microbiology*, dec 2005, 5848-5859
10. **Ostrosky-Papas et al** – Invasive candidiasis in the ICU, 2006
11. **Magill S, Shields C** – Triazole Cross-Resistance among Candida spp, *JCM*, 2006
12. **Borst A** – Rapid Acquisition of stable azole resistance by *C. glabrata*, *AAC*, 2005
13. **Dismukes W** – Treatment of systemic candidiasis, *Lectures ISAAR* 2003
14. **Dismukes W** – Cryptococcosis, *Lectures ISAAR* 2003
15. **Maarit Kokki** – Therapeutical guidelines in systemic fungal infections, 1998.
16. **Eveline Pipolo Milan, Priscila S Sant Ana, Ricardo Diaz** – Prevalence of oral colonisation of Candida among HIV infected patients under antiretroviral therapy, *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* vol.97 no.2 Rio de Janeiro Mar. 2002
17. **Peter G Papas, John H Rex, Jack D Sobel et al** – Guidelines for Treatment of Candidiasis, *CID* 2004: 38
18. **Lisa Mark** – Candida Esophagitis, *The Body*, 1995
19. **CDC** – Guidelines for Sexual Transmitted diseases, 2006
20. **Thomas Patterson** – Recent Advances in Invasive Aspergillosis, *Lectures, ISAAR*, 2003
21. **Garbino J, Kolarova L, Lew D et al** – Fungemia in HIV-Infected Patients: A 12-Year Study in a Tertiary Care Hospital, Aug 2001, Vol. 15, No. 8: 407-410
22. **Santos J, Palacios R, Esteve A, Garcia V, Rivero A, Marquez M** – Fungemia in patients with HIV infection, *An Med Interna*. 1998 Oct;15(10):523-7