



**UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI GENOVA**

**Facoltà di Medicina e Chirurgia**

**Laurea in Medicina e Chirurgia**

**TESI DI LAUREA SPERIMENTALE**

**QUALI SONO LE POSSIBILITÀ DIAGNOSTICHE E TERAPEUTICHE A  
DISPOSIZIONE DEI MEDICI ITALIANI PER LA GESTIONE DEI PAZIENTI  
CON INFEZIONI FUNGINE INVASIVE?  
UNO STUDIO PROSPETTICO MULTICENTRICO**

Candidato: Lorenzo Bini

Relatore: Prof. Matteo Bassetti

Correlatore: Dott. Antonio Vena

# SOMMARIO

<b>ABSTRACT</b> .....	<b>3</b>
<b>INTRODUZIONE</b> .....	<b>5</b>
Definizione di infezione fungina invasiva.....	5
Patogeni coinvolti nelle infezioni fungine invasive .....	7
Candidiasi invasiva.....	8
Aspergillosi invasiva .....	9
Altre infezioni fungine invasive .....	10
<b>RAZIONALE DELLO STUDIO</b> .....	<b>12</b>
<b>OBIETTIVO DELLO STUDIO</b> .....	<b>13</b>
<b>MATERIALI E METODI</b> .....	<b>14</b>
Disegno dello studio.....	14
Analisi Statistica.....	16
<b>RISULTATI</b> .....	<b>17</b>
Partecipazione allo studio .....	17
Incidenza delle IFI.....	17
Risultati dei test diagnostici disponibili .....	18
Disponibilità dei farmaci antifungini .....	20
<b>DISCUSSIONE</b> .....	<b>22</b>
<b>CONCLUSIONE</b> .....	<b>27</b>
<b>BIBLIOGRAFIA</b> .....	<b>28</b>
<b>FIGURE E TABELLE</b> .....	<b>34</b>

## ABSTRACT

**Premessa:** L'obiettivo principale di questa tesi è stato valutare le possibilità diagnostiche e terapeutiche offerte dai vari centri italiani per la gestione delle infezioni fungine invasive (IFI), al fine di individuarne i limiti e identificare potenziali miglioramenti.

**Metodi:** Attraverso la piattaforma [www.clinicalsurveys.net](http://www.clinicalsurveys.net) è stata creata una survey online alla quale sono stati invitati a partecipare medici appartenenti a tutti gli ospedali presenti sul territorio nazionale. L'indagine ha raccolto informazioni riguardanti diversi aspetti tra cui: a) profilo dell'ente di appartenenza, b) percezione relativa all'incidenza delle IFI nei rispettivi centri, c) disponibilità di diverse tecniche diagnostiche quali la microscopia, gli esami colturali, i saggi di sensibilità, le sierologie, gli antigeni fungini, i test molecolari e il monitoraggio sierico dei livelli dei farmaci antifungini (TDM). Con il fine di identificare eventuali differenze presenti sul territorio nazionale, le possibilità diagnostiche e terapeutiche sono state comparate in relazione al prodotto interno lordo (PIL) pro capite delle regioni di appartenenza.

**Risultati:** Allo studio hanno partecipato 49 medici provenienti da altrettanti centri italiani, con una distribuzione geografica omogenea delle sedi. La maggior parte dei partecipanti (n=36, 73%) ha valutato l'incidenza delle IFI nel proprio centro come moderata-alta, con *Aspergillus spp.* identificato come il patogeno di maggiore preoccupazione, seguito da *Candida spp.* e *Mucorales*. Per quanto riguarda la diagnosi, su un totale di 49 partecipanti, 46 (94%) avevano a disposizione la microscopia, anche se meno della metà di loro la utilizzava in maniera routinaria in presenza di un sospetto clinico di IFI. Gli esami colturali erano disponibili in tutti i laboratori partecipanti, mentre i test molecolari e le sierologie risultavano essere disponibili in 41 centri (83%). Per quanto riguarda i test antigenici e i farmaci antimicotici, entrambi erano

disponibili in oltre il 90% dei centri partecipanti. Tuttavia, l'accesso al TDM si è dimostrato essere limitato (n=31, 63%), con un'associazione significativamente diretta tra la possibilità di disporre di questa metodica e il PIL pro capite.

**Conclusioni:** A eccezione del TDM, l'Italia è adeguatamente preparata per la diagnosi e il trattamento delle IFI, senza disparità significative in base al PIL pro capite. Tuttavia, gli sforzi futuri dovranno concentrarsi sul miglioramento della disponibilità e dell'applicazione sistematica dei metodi di microscopia diretta, nonché sull'uso del TDM, al fine di promuovere un trattamento ottimale e ottenere migliori risultati per i pazienti.

# INTRODUZIONE

## Definizione di infezione fungina invasiva

Le infezioni fungine costituiscono un problema clinico grave che può causare un'ampia varietà di manifestazioni cliniche, a seconda del sito dell'infezione e del tipo di pazienti. In generale, queste infezioni sono solitamente classificate in base alla loro profondità, in micosi superficiali, quando coinvolgono solo tessuti come la pelle e le unghie, e micosi invasive, quando coinvolgono tessuti ed organi profondi.

Negli ultimi anni le infezioni che hanno destato maggior preoccupazione sono proprio le infezioni invasive, a causa dell'elevata morbilità e mortalità ad esse associate. Queste infezioni rappresentano un pericolo clinico significativo, che può colpire un'ampia coorte di pazienti, tra cui quelli a più alto rischio risultano essere i pazienti ricoverati in terapia intensiva (TI), pazienti affetti da immunodeficienze congenite, granulocitopenia ( $<0.5 \times 10^9/L$ ) protratta ( $>10$  giorni), trapianto staminale allogenico, trattamento con farmaci immunosoppressivi o steroidei, soggetti con patologia strutturale polmonare e pazienti con gravi polmoniti virali (es. influenza o SARS-CoV-2)<sup>1-7</sup>.

Le IFI rappresentano un attuale problema sanitario per quanto riguarda la capacità diagnostica, per non parlare dei costi e della prolungata ospedalizzazione dei pazienti. Nonostante il progressivo incremento in termini di prevalenza osservato nel corso degli ultimi anni, le IFI sono ancora sotto-diagnosticate in molti Paesi, a causa della mancanza di sospetto clinico tra gli operatori sanitari<sup>8,9</sup> e a causa della mancanza degli strumenti diagnostici adeguati presso la maggior parte delle strutture ospedaliere<sup>10-11</sup>. Una volta identificate, il trattamento dell'IFI rimane in ogni caso particolarmente difficile<sup>12</sup> a causa della scarsità di terapie antimicotiche efficaci<sup>13,14</sup>. Inoltre, le opzioni

terapeutiche esistenti sono gravate da tossicità<sup>15</sup> e dalla necessità di monitoraggio sierico costante<sup>16,17</sup>. Questi fattori causano un'alta percentuale di trattamenti inadeguati per i pazienti e un aumento dei costi per il sistema sanitario nazionale.

## **Patogeni coinvolti nelle infezioni fungine invasive**

I patogeni più comunemente coinvolti nelle IFI sono: *Candida spp.*, *Aspergillus spp.*, e *Cryptococcus*, mentre risultano essere meno frequenti, ma di rilievo a causa dell'aumento di incidenza e della difficoltà nel trattamento, altri funghi filamentosi come *Mucorales* e *Fusarium*<sup>18-19</sup>.

## Candidiasi invasiva

Per quanto riguarda le IFI causate da *Candida spp.*, si distinguono due entità cliniche differenti, ovvero la candidemia, definita come la presenza di funghi nel torrente circolatorio, con positivizzazione delle emocolture, e la candidosi invasiva, con interessamento degli organi profondi. Da un punto di vista epidemiologico, si stima che dei casi di candidiasi invasiva, circa un terzo dei pazienti si presenti con candidemia, un terzo presenti invece un coinvolgimento degli organi profondi e il rimanente terzo presenti entrambe le condizioni contemporaneamente. I fattori di rischio per lo sviluppo di candidosi invasiva sono l'utilizzo di antibiotici ad ampio spettro, la chirurgia addominale, la presenza di un catetere venoso centrale (CVC), la nutrizione parenterale (NPT), lo sviluppo di insufficienza renale nei pazienti critici, la neutropenia e il trattamento con farmaci immunosoppressori<sup>20</sup>.

Ogni anno, globalmente, si registrano più di 700.000 casi di candidosi invasiva<sup>5</sup>, con 7,07 episodi ogni 1000 ricoveri in TI in Europa e un'incidenza annua stimata di 3,88 casi per 100.000 abitanti nel continente europeo<sup>21-22</sup>. Dei 79 casi di candidemia stimati in Europa ogni giorno, il 37% (29 pazienti) andrà incontro a decesso a 30 giorni dalla diagnosi<sup>22</sup>. Alcuni fattori che influenzano la mortalità della candidemia sono l'età, il focolaio infettivo (per esempio quando la sede è diversa da un CVC) e la presenza di sepsi o shock settico<sup>23</sup>.

## Aspergillosi invasiva

Per quanto riguarda l'aspergillosi invasiva (AI), si tratta di un'infezione causata da *Aspergillus spp.*, un fungo filamentoso comunemente presente nell'aria o nel terreno. Nel 90% dei casi le specie coinvolte sono *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, e *Aspergillus terreus*. Le spore prodotte dal fungo, quando inalate, possono causare infezione soprattutto in pazienti con deficit immunitario sia temporaneo che permanente. I pazienti più esposti sono storicamente i pazienti onco-ematologici, che hanno da sempre rappresentato il gruppo a più alto rischio, soprattutto quelli che hanno recentemente effettuato un trapianto allogenico di cellule staminali emopoietiche. Inoltre, altri fattori di rischio classici per lo sviluppo di una aspergillosi polmonare invasiva (API) sono la neutropenia e la terapia cronica con corticosteroidi. Detto ciò, negli ultimi anni, si è assistito ad un aumento di incidenza anche in pazienti che non presentano questi classici fattori di rischio, ma altre patologie quali la bronco-pneumopatia cronico ostruttiva (BPCO), gravi epatopatie e alcune infezioni virali complicate come ad esempio la polmonite da SARS-CoV-2. Si è visto inoltre come il rischio di sviluppare API aumentasse molto quando i pazienti necessitavano di ricovero in TI<sup>24-29</sup>. L'incidenza di API in TI varia tra lo 0,3% e il 5,8%<sup>25-26</sup>, con una mortalità che raggiunge l'80%<sup>24,30</sup> dei casi.

## **Altre infezioni fungine invasive**

Oltre alle specie già citate, esistono altre specie fungine che possono causare infezioni profonde, il cui incremento, registrato negli ultimi anni, è stato associato a varie cause, tra cui l'utilizzo crescente di echinocandine a scopo profilattico<sup>31</sup>. Gli altri agenti eziologici che possono causare IFI sono *Cryptococcus neoformans*, *Fusarium spp.*, e *Mucorales*.

Il *Cryptococcus neoformans*, agente eziologico della criptococcosi, è un fungo patogeno opportunista ubiquitario, che causa spesso infezione in pazienti affetti da sindrome da immunodeficienza acquisita (AIDS; la criptococcosi è una infezione AIDS definente) così come in pazienti ematologici (soprattutto affetti da linfoma di Hodgkin e non Hodgkin) e in pazienti che assumono farmaci immunosoppressori.

Le infezioni da *Fusarium spp.* coinvolgono prevalentemente pazienti emato-oncologici, neutropenici o in cura con corticosteroidi. Tipicamente questi pazienti sviluppano una IFI in corso di profilassi antifungina.

Un'altra IFI clinicamente significativa è la mucormicosi, causata da funghi appartenenti alla famiglia del *Mucorales*, la cui incidenza è molto minore rispetto all'aspergillosi e alla candidosi. Nonostante ciò, la sua incidenza è in aumento, come dimostrato da uno studio francese che ha evidenziato un incremento di incidenza da 0,7 casi per 1.000.000 di abitanti nel 1997 a 1,2 casi per 1.000.000 nel 2006<sup>32</sup>. In Spagna l'incidenza nel 2005 è risultata essere di 0,43 casi per 1.000.000 sulla popolazione generale e 062 casi su 100.000 ricoveri/ anno<sup>33</sup>. L'aumento di casi di mucormicosi negli ultimi anni è stato evidenziato anche da ulteriori studi<sup>34-35</sup>. Anche per quanto riguarda i pazienti colpiti da questa infezione l'accesso in TI risulta essere un fattore

predisponente, con il 37% dei casi in un unico centro che sono risultati essere diagnosticati in pazienti trattati in TI<sup>36</sup>.

## **RAZIONALE DELLO STUDIO**

La Confederazione Europea di Micologia Medica (ECMM) ha recentemente pubblicato i risultati di uno studio condotto in 45 Paesi europei per valutare le metodologie diagnostiche utilizzate nei laboratori di microbiologia clinica per la diagnosi di IFI e per esaminare la disponibilità di terapie antimicotiche<sup>37</sup>. Lo studio dell'ECMM ha riscontrato differenze significative tra i laboratori nelle singole nazioni, spingendo a condurre indagini nazionali per comprendere meglio le problematiche specifiche e sostenere lo sviluppo di politiche mirate<sup>37</sup>.

## **OBIETTIVO DELLO STUDIO**

Abbiamo condotto un'indagine a livello nazionale per determinare lo spettro di test diagnostici attualmente utilizzati dagli ospedali italiani per la diagnosi di IFI e per definire l'attuale armamentario antimicotico disponibile presso i centri sul nostro territorio. L'obiettivo di questo studio era sia valutare la presenza di certi standard diagnostici, imprescindibili per fare correttamente diagnosi di IFI, sia valutare se venivano utilizzati in modo corretto. Inoltre, abbiamo comparato possibili disuguaglianze riscontrate nei risultati con la ricchezza della regione di appartenenza dei vari centri, e per questo abbiamo usato il PIL pro capite.

# MATERIALI E METODI

## Disegno dello studio

Questo studio multicentrico, svolto tra marzo e novembre 2022, è basato sulle risposte fornite ad un questionario riguardante le capacità e le opzioni diagnostiche e terapeutiche che i vari medici partecipanti hanno riferito essere a disposizione presso il proprio centro. La raccolta dei dati è avvenuta tramite una scheda elettronica del tipo “case report” presente online sul sito [www.clinicalsurveys.net/uc/IFI\\_management\\_capacity/](http://www.clinicalsurveys.net/uc/IFI_management_capacity/). TIVIAN GmbH, Colonia, Germania (EFS Summer 2021). (vedi tabella supplementare 1). Le risposte di ogni partecipante sono state convalidate prima dell'analisi per garantire la correttezza e la completezza dei dati. L'indagine ha valutato numerose variabili rilevanti per la diagnosi e il trattamento dell'IFI, tra cui a) profilo dell'istituzione, b) percezione dell'incidenza e della rilevanza delle IFI nella specifica istituzione, c) disponibilità della microscopia, d) disponibilità della coltura e dell'identificazione dei funghi, e) disponibilità della sierologia, f) disponibilità del rilevamento dell'antigene, g) disponibilità dei test molecolari e h) disponibilità del TDM.

Ai partecipanti è stato chiesto di rispondere indicando se ciascuna tecnica in questione fosse o meno presente presso la propria struttura. Nel caso della sierologia, del rilevamento dell'antigene, dei test molecolari e del TDM, i medici referenti sono stati invitati a specificare se queste tecniche fossero accessibili in loco o necessitassero di un laboratorio esterno per essere effettuate.

Per stimare la prevalenza delle IFI è stata utilizzata una scala Likert, con risposte che andavano da 1 (estremamente bassa) a 5 (molto alta) (Tabella supplementare 1).

I ricercatori sono stati contattati tramite e-mail, inviata su larga scala, la quale è stata indirizzata non solo agli stretti collaboratori degli autori, ma anche ai membri di importanti organizzazioni scientifiche come la Società Internazionale di Micologia Umana e Animale (ISHAM; [www.isham.org](http://www.isham.org)), la Confederazione Europea di Micologia Medica (ECMM; [www.ecmm.info](http://www.ecmm.info))<sup>38</sup>, Sorveglianza Epidemiologica delle Infezioni nelle Malattie Ematologiche d'Italia (SEIFEM; [www.seifem.org](http://www.seifem.org)) e la Società Italiana di Terapia Antinfettiva (SITA; [www.sitaonline.net](http://www.sitaonline.net)). Per individuare il più ampio bacino possibile di partecipanti sono stati inoltre vagliati gli archivi scientifici online (ClinicalTrials.gov<sup>39</sup>, EU Clinical Trials Register<sup>40</sup>, Google Scholar<sup>41</sup>, PubMed<sup>39</sup>, e ScienceDirect<sup>42</sup>) e le pubblicazioni di micologia. Inoltre, sono stati lanciati inviti online sui social network come LinkedIn® e Twitter®.

## **Analisi Statistica**

Gli ospedali partecipanti sono stati divisi in base al PIL pro capite della regione di appartenenza per valutare se vi fossero variazioni statisticamente significative nella disponibilità dei test diagnostici o dei farmaci antimicotici tra le regioni italiane a PIL pro capite più alto rispetto alla media italiana e quelle con PIL pro capite più basso. È stato creato un cut-off, basato sul PIL medio italiano (29.661,5 € per l'anno 2019)<sup>43</sup>, dividendo il Paese in regioni con PIL inferiore a 30.000 € o superiore a 30.000 € (Tabella supplementare 2). I dati raccolti tramite questa tesi di laurea sono stati espressi con numeri assoluti e percentuali. Le proporzioni sono state presentate in tabelle di contingenza e confrontate utilizzando il test esatto di Fisher e il test  $X^2$ , ove applicabili. I valori  $P < 0,05$  sono stati considerati statisticamente significativi. Eventuali differenze tra le regioni con PIL pro capite superiore o inferiore a 30.000€ sono state analizzate confrontando i due diversi gruppi. Per l'analisi statistica è stato utilizzato SPSS v27.0 (SPSS, IBM Corp., Chicago, IL, Stati Uniti).

# RISULTATI

## Partecipazione allo studio

Durante il periodo di studio, hanno partecipato al sondaggio 49 medici provenienti da 49 strutture diverse, localizzate in 15 diverse regioni italiane (Figura 1). Di queste 49 strutture, 26 (53,1%) sono risultate essere ospedali universitari o istituti di ricerca nazionali, 22 (44,9%) ospedali pubblici non universitari e solamente uno (2,0%) è risultato essere un ospedale privato (Tabella 1). In questi centri, giungono e vengono trattati pazienti con COVID-19 (n=46, 93,9%), tumori solidi (n=43, 87,8%), neoplasie ematologiche (n=42, 85,7%), pazienti affetti da HIV o AIDS (n=39, 79,6%) e pazienti sottoposti a trapianto di cellule staminali ematopoietiche (n=32, 65,3%) o di organi solidi (n=29, 59,2%). La NPT veniva effettuata in maniera routinaria in 43 (87,8%) dei centri presi in considerazione in questo studio. Tutti i responsabili dei centri partecipanti hanno dichiarato di avere un laboratorio di microbiologia presso la propria struttura, e 29 (59,2%) di essi hanno dichiarato di eseguire le diagnosi micologiche sempre in loco. I medici dei restanti 20 centri (40,8%) hanno dichiarato che presso la propria struttura alcuni test venivano eseguiti in loco, mentre altre analisi venivano effettuate presso laboratori esterni (Tabella 1).

## Incidenza delle IFI

Per quanto riguarda l'epidemiologia, la maggior parte degli intervistati ha valutato l'incidenza dell'IFI nella propria istituzione come moderata (n=25, 51,0%) o alta (n=11, 22,4%). I patogeni fungini più frequentemente rilevati sono risultati essere *Aspergillus spp.* (n=45, 91,8%), *Candida spp.* (n=44, 89,8%), *Mucorales* (n=14, 28,6%) e *Fusarium spp.* (n=10, 20,4%).

## Risultati dei test diagnostici disponibili

Per quanto riguarda la microscopia (Tabella 2), il 95% (n=46) dei centri ha dichiarato di avere a disposizione almeno una o più colorazioni diverse per effettuare la microscopia. Le colorazioni più frequentemente disponibili sono risultate essere l'inchiostro di China/India (n=34, 69,4%), la colorazione argentica (n=24, 49,0%), Giemsa (n=24, 49,0%), seguiti dall'idrossido di potassio (n=15, 30,6%) e dal bianco calcofluoro (n=12, 24,5%). Volendo approfondire quanto frequente venisse utilizzata la microscopia in caso di sospetto clinico di IFI, le colorazioni specifiche venivano effettuate sempre in meno della metà dei centri (n=21, 42,9%), frequentemente in 9 (18,4%) centri, solo alcune volte in 12 (24,5%) e presso 6 (12,2%) centri solo raramente. Solo un medico ha dichiarato che, nel proprio centro, in caso di sospetto di IFI, non veniva mai utilizzata la microscopia diretta. Tutti i medici referenti hanno comunicato di avere a disposizione, presso i propri centri, terreni di coltura specifici per funghi. Inoltre, tutti i centri sono risultati essere in grado di eseguire emocolture per escludere un'eventuale fungemia.

In 40 istituti (81,6%), la spettrometria con desorbimento/ionizzazione laser assistito da matrice (MALDI-TOF-MS) è risultata essere la tecnologia più utilizzata per l'identificazione della specie fungina (Tabella 2). Nel 67,3% (n=33) dei centri era disponibile l'identificazione automatizzata con un sistema VITEK®, mentre i test biochimici convenzionali erano presenti nel 57,1% (n=28).

L'accesso ai metodi molecolari è risultato relativamente limitato, con solamente 26 (53,1%) centri che avevano a disposizione il sequenziamento dell'acido desossiribonucleico (DNA). I test di suscettibilità per i soli lieviti erano accessibili nel 26,5% (n=13) dei laboratori, mentre i test per lieviti e muffe erano disponibili nel 65,3% (n=32). La microdiluzione in brodo secondo gli standard

dell'European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing Standards (EUCAST) era disponibile in meno della metà dei centri ( n=23, 46,9%), mentre l'accesso alla microdiluizione in brodo secondo il Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) era presente nel 36,7% (n=18) dei centri. Inoltre, il 36,7% (n=18) dei centri aveva a disposizione il sistema automatizzato E-test® o VITEK®.

I test sierologici sono risultati essere disponibili in tutte le strutture partecipanti. La maggior parte degli istituti (n=39, 79,6%) aveva la disponibilità ad effettuare la sierologia per *Aspergillus spp.* I test sierologici erano per lo più disponibili in loco, anche se circa un quinto dei referenti dei centri partecipanti ha riferito di appoggiarsi, per la rilevazione degli anticorpi sierici, a strutture esterne.

Per quanto riguarda la diagnostica fungina su base antigenica, questa survey ha evidenziato un'elevata disponibilità di queste ultime tecniche diagnostiche, anche se alcuni medici referenti hanno dichiarato di appoggiarsi a laboratori esterni (Tabella 2). L'immunodosaggio del galattomannano, principalmente utilizzato nella diagnosi delle infezioni invasive da *Aspergillus spp.*, è risultato essere disponibile in 47 (95,9%) ospedali, di cui 8 (16,3%) avevano la necessità di appoggiarsi ad un laboratorio esterno per effettuare l'indagine. Per quanto riguarda il 1-3-Beta-D-glucano, 42 medici (85,7%) hanno dichiarato di poter eseguire il test presso il proprio centro (n=27, 55,1%) mentre i restanti medici (n=15, 30,6%) hanno dichiarato di poter effettuare il suddetto test, ma appoggiandosi a strutture esterne. La disponibilità del test del lattice per la diagnosi di *Cryptococcus spp.* è risultata essere più limitata, con 34 (69,4%) medici referenti che hanno dichiarato di poter effettuare l'indagine presso il proprio centro, mentre in 4 (8,2%) strutture era necessario appoggiarsi ad un laboratorio esterno.

In 41 (83,7%) strutture risultavano disponibili i test molecolari, come la reazione a catena della polimerasi (PCR). I test molecolari più spesso disponibili riguardavano la diagnosi di infezioni da *Pneumocystis spp.* (n=35, 71,4%), *Aspergillus spp.* (n=32, 65,3%) o *Candida spp.* (n=25, 51,0%).

### **Disponibilità dei farmaci antifungini**

In Tabella 3 è riportata la disponibilità dei farmaci antimicotici presso i centri partecipanti. Tra i triazoli, il fluconazolo (n=45, 91,8%) e l'itraconazolo (n=45, 91,8%) sono risultati essere quelli più frequentemente disponibili, seguiti dal voriconazolo (n=44, 89,4%). In 45 (91,8%) centri era disponibile almeno un'echinocandina, più frequentemente la micafungina (n=45; 91,8%). Le formulazioni di flucitosina, terbinafina e amfotericina B (in particolare la formulazione liposomiale [n=43, 87,8%] e la formulazione a complessi lipidici [n=15, 30,6%]) sono risultate essere disponibili rispettivamente in 44 (89,8%), 24 (49,0%) e 7 (14,3%) strutture. Come detto è stato valutato anche la possibilità di effettuare il TDM dei farmaci, che è risultato essere principalmente disponibile in loco per quanto riguarda il voriconazolo (n=23, 46,9%), mentre disponibile ma effettuabile presso un laboratorio esterno in 8 (16,3%) centri. Il TDM per quanto riguarda il posaconazolo, l'itraconazolo e 5-flucitosina era disponibile rispettivamente in 22 (44,9%), 14 (28,6%) e 6 (12,2%) centri, considerando sia la condizione in cui poteva essere effettuato presso il proprio laboratorio, sia quando era necessario affidarsi ad un laboratorio esterno.

### **Differenze riscontrate in relazione al PIL pro capite**

Con il fine di valutare eventuali differenze in base alla ricchezza delle regioni abbiamo confrontati i dati ottenuti in funzione del PIL pro capite delle regioni di appartenenza. Non sono state riscontrate differenze statisticamente

significative tra i due gruppi in termini di diffusione delle varie tecniche di microscopia, di coltura, dei test molecolari, della sierologia, della diagnosi su base antigenica e della PCR, nonché nella disponibilità dei farmaci antifungini. Tuttavia, la microdiluizione in brodo secondo gli standard CLSI e la disponibilità del TDM risultavano essere maggiormente disponibili nelle regioni italiane più ricche, ovvero in quelle con PIL pro capite superiore a 30.000€. (Tabella 2 e Tabella 3)

## DISCUSSIONE

Questa è stata la prima valutazione a livello nazionale sulle capacità diagnostiche e terapeutiche disponibili nelle strutture italiane per quanto riguarda le IFI. Il gruppo di studio ECMM ha recentemente pubblicato un'indagine condotta in 45 nazioni europee, tra cui l'Italia<sup>37</sup>. Tuttavia, nel suddetto studio, aveva partecipato un numero limitato di ospedali italiani, mentre il presente studio è riuscito ad includere 49 centri di varie dimensioni e regioni geografiche.

I nostri risultati mostrano che gli ospedali italiani sono ben preparati a gestire le IFI, con adeguatezza rispetto alle norme e linee guida vigenti, indipendentemente dalla ricchezza regionale. Tuttavia, la ricerca ha evidenziato alcune lacune diagnostiche e terapeutiche, rendendo necessari futuri sforzi mirati al fine di migliorare la gestione delle IFI.

Un fattore rilevante da considerare è la percezione di incidenza delle infezioni indicata dagli intervistati italiani. Secondo i risultati di questa indagine, *Aspergillus spp.* è risultata la specie considerata più frequente dai medici intervistati, seguita da *Candida spp.*, *Mucorales* e *Fusarium spp.* Questi risultati contrastano con i dati epidemiologici delle infezioni causate dai patogeni fungini in Italia nel 2008<sup>44,45</sup>, così come con i recenti risultati ottenuti da studi europei, che hanno evidenziato un notevole problema epidemiologico soprattutto per quanto riguarda *Candida spp.* La maggiore preoccupazione rilevata nei confronti di *Aspergillus spp.* è probabilmente dovuta all'elevato numero di pazienti affetti da COVID-19 o da neoplasie ematologiche che venivano gestiti presso i centri partecipanti e che sono a più alto rischio di contrarre l'aspergillosi invasiva<sup>46-48</sup>. Inoltre, la crescente preoccupazione in

Italia per lo sviluppo di ceppi di *Aspergillus spp.* resistenti agli azoli e il relativo alto tasso di mortalità potrebbero aver contribuito ai risultati riportati<sup>49-52</sup>.

Nonostante la microscopia sia risultata disponibile in più del 90% dei centri, essa veniva eseguita in meno della metà dei casi con sospetto clinico di IFI. Ciò risulta essere in contrasto con le linee guida esistenti, le quali suggeriscono che i campioni clinici di pazienti con sospetto di IFI dovrebbero sempre essere analizzati al microscopio e che i risultati dovrebbero essere riportati il prima possibile per aiutare nella diagnosi e nella gestione dell'infezione<sup>53-55</sup>. Inoltre, la nostra indagine ha rilevato una disponibilità ancora più limitata per i test diretti che impiegano sbiancanti ottici, quali la colorazione al bianco di calcofluoro disponibile in meno del 25% dei centri presi in considerazione. Questo risultato non può essere attribuito solamente a un problema di costi, poiché, in studi precedenti, è stata riscontrata una maggiore disponibilità di questa metodica diagnostica nelle aree dell'Asia/Pacifico con un PIL simile (60%)<sup>37</sup> a quello italiano e in Europa (~38%), in generale<sup>8-10</sup>. Il problema della limitata disponibilità di questa colorazione, che consente l'identificazione rapida e presuntiva delle specie fungine, potrebbe essere affrontato discutendo con le principali istituzioni italiane per favorire l'aumento della sua disponibilità, in particolare per la diagnosi dell'aspergillosi<sup>55</sup> e della mucormicosi<sup>12</sup>.

Tutti i medici dei centri italiani partecipanti hanno dichiarato di essere in grado, presso la propria struttura, di preparare e processare i materiali per la coltura e l'identificazione fungina. È di rilievo notare come oltre l'80% degli intervistati avesse accesso alla tecnologia MALDI-TOF-MS presso il proprio centro per l'identificazione rapida dei funghi, una percentuale di molto superiore a quella riportata in Africa (17,5%)<sup>56</sup>, in Asia (43,0%)<sup>37</sup> e in altri Paesi europei (~61,0%)<sup>8,10</sup>. Questa elevata disponibilità risulta essere molto positiva poiché il MALDI-TOF-MS riduce i tempi di risposta<sup>57</sup>, è economicamente vantaggioso<sup>57</sup>, non richiede competenze tecniche sofisticate ed è

estremamente utile nell'identificazione di *Candida spp.* e *Aspergillus spp.*, nonché di specie patogene più rare<sup>58</sup>.

L'esecuzione routinaria di test di suscettibilità antimicotica è fondamentale nel trattamento dei pazienti affetti da IFI. I test di suscettibilità antimicotica non solo aiutano a determinare la terapia più appropriata per i singoli pazienti, ma forniscono anche informazioni sull'epidemiologia locale di resistenza agli antimicotici all'interno delle strutture sanitarie, il che risulta essere fondamentale per guidare la selezione del trattamento empirico ottimale quando si sospetta una IFI<sup>49</sup>. L'esecuzione di test di suscettibilità antimicotica di routine è utile anche per individuare le resistenze intrinseche e quelle recentemente acquisite<sup>49</sup>. Secondo i nostri risultati, la maggior parte dei laboratori italiani è in grado di eseguire test di suscettibilità per lieviti e muffe. L'accesso alla microdiluzione CLSI, invece, risulta distribuito in modo disomogeneo, con solo il 15,8% delle aree con un PIL inferiore a 30.000 euro che aveva accesso a questa metodica, rispetto al 50% delle regioni con un PIL >30.000 euro (p=0,001). In ogni caso, la disponibilità della microdiluzione EUCAST, la tecnica di analisi antimicotica preferita in Europa<sup>59</sup>, è risultata simile nelle diverse regioni italiane, indipendentemente dal PIL pro capite. La variazione nella disponibilità della microdiluzione CLSI potrebbe essere attribuita al fatto che gli ospedali in regioni con minori risorse economiche preferiscono investire in metodi diagnostici commerciali efficienti in termini di costi e tempo, come E-test® o VITEK®, che hanno dimostrato un'elevata correlazione, in termini di consistenza di risultati, con le procedure standard<sup>59</sup>.

Per quanto riguarda le terapie antimicotiche, sono risultati ampiamente disponibili tutti i principali antimicotici utilizzati nella pratica clinica, con una diffusione omogenea in tutto il Paese. Il tasso di disponibilità nei centri è risultato essere di circa il 90% non solo per i farmaci definiti essenziali dall'Organizzazione Mondiale della Sanità<sup>60</sup>, ma anche per farmaci aggiuntivi

come l'isavuconazolo (terapia di prima linea insieme al voriconazolo per l'aspergillosi invasiva) o il posaconazolo (indicato per la profilassi delle infezioni fungine nei pazienti ematologici ad alto rischio e per il trattamento della mucormicosi). Alcuni antimicotici sistemici, come la 5-flucitosina e la terbinafina, sono risultati meno frequentemente disponibili, probabilmente a causa della scarsa richiesta, poiché le IFI che necessitano di questi farmaci come terapia di prima linea sono poco comuni in Europa (ad esempio, criptococcosi disseminata o scedosporiosi)<sup>61-64</sup>.

La nostra ricerca ha purtroppo evidenziato un preoccupante problema di indisponibilità per quanto riguarda il TDM tra i centri partecipanti. Innanzitutto, rispetto a recenti indagini europee e spagnole, la disponibilità del TDM in Italia è risultato inferiore e generalmente inadeguato, in particolare per il monitoraggio di flucitosina (12,2%), dell'itraconazolo (28,6%), del posaconazolo (44,9%) e del voriconazolo (63,3%), per i quali il dosaggio di routine è ora raccomandato da diverse linee guida<sup>65</sup>. In secondo luogo, oltre la metà dei centri partecipanti ha dichiarato di inviare i campioni di sangue a un laboratorio esterno per il dosaggio sierico dei farmaci antimicotici, il che potrebbe contribuire a ritardi nei risultati e nell'eventuale cambio del dosaggio del farmaco in questione. È stata quindi riscontrata una distribuzione disomogenea della disponibilità del TDM sul territorio italiano, con una sostanziale associazione tra la non disponibilità del TDM e il PIL pro capite inferiore al valore soglia di 30.000€.

Visti i potenziali benefici di questa metodica, come la maggiore efficacia terapeutica<sup>36,66</sup>, la riduzione del rischio di tossicità<sup>16</sup>, il risparmio economico e la teorica diminuzione nell'emergenza di ceppi resistenti agli antimicotici<sup>67</sup>, si ritiene importante affrontare questa limitazione nella disponibilità della suddetta tecnologia.

Il principale punto debole del nostro studio è rappresentato dal fatto che l'indagine è stata condotta via e-mail, con una risposta su base volontaria che può comportare un bias di risposta. Inoltre, la maggior parte delle risposte è pervenuto da ospedali universitari o istituti di ricerca nazionali, che spesso vedono un volume maggiore di pazienti e dispongono di maggiori risorse finanziarie. Pertanto, i risultati di questo studio potrebbero non essere applicabili a contesti clinici meno specializzati. Inoltre, è fondamentale notare che la nostra analisi è stata limitata dall'impossibilità di includere centri di tutte le aree d'Italia. Tuttavia, per quanto ne sappiamo, questa indagine rappresenta il più ampio studio mai intrapreso per indagare le capacità diagnostiche delle infezioni fungine invasive nei laboratori italiani.

## CONCLUSIONE

In conclusione, i nostri dati mostrano come le capacità diagnostiche per le IFI in Italia siano complessivamente adeguate, senza variazioni significative in base al PIL, tranne che per quanto riguarda il TDM e la microdiluizione secondo standard CLSI. Questo studio rappresenta un ottimo punto di partenza per riuscire ad avere una panoramica su quelle che sono le capacità delle strutture italiane nell'approccio a questo tipo di infezione. Avendo dimostrato come, a parte per il TDM, gli strumenti a disposizione dei centri italiani risultino essere adeguati al trattamento di queste infezioni, in futuro sarà importante lavorare sull'ottimizzazione nell'utilizzo di queste metodiche, in modo che esse vengano sempre utilizzate quando necessario e previsto dalle linee guida. Gli sforzi futuri, a nostro avviso, dovrebbero concentrarsi sul miglioramento della disponibilità e dell'uso di metodi microscopici diretti, nonché sul monitoraggio sierico dei farmaci, al fine di ottenere un trattamento ottimale e migliori risultati per i pazienti.

## BIBLIOGRAFIA

1. Colombo AL, de Almeida Junior JN, Slavin MA, Chen SC, Sorrell TC. Candida and invasive mould diseases in non-neutropenic critically ill patients and patients with haematological cancer. *Lancet Infect Dis* 2017; **17**(11): e344-e56.
2. von Lilienfeld-Toal M, Wagener J, Einsele H, Cornely OA, Kurzai O. Invasive Fungal Infection. *Dtsch Arztebl Int.* 2019 Apr 19; **116**(16):271-278. doi: 10.3238/arztebl.2019.0271. PMID: 31159914; PMCID: PMC6549129.
3. Bassetti M, Peghin M, Vena A. Challenges and Solution of Invasive Aspergillosis in Non-neutropenic Patients: A Review. *Infect Dis Ther* 2018; **7**(1): 17-27.
4. Munoz P, Vena A, Ceron I, et al. Invasive pulmonary aspergillosis in heart transplant recipients: two radiologic patterns with a different prognosis. *J Heart Lung Transplant* 2014; **33**(10): 1034-40.
5. Bongomin F, Gago S, Oladele RO, Denning DW. Global and Multi-National Prevalence of Fungal Diseases-Estimate Precision. *J Fungi (Basel)* 2017; **3**(4).
6. Ruping MJ, Vehreschild JJ, Cornely OA. Patients at high risk of invasive fungal infections: when and how to treat. *Drugs* 2008; **68**(14): 1941-62.
7. Fortun J, Muriel A, Martin-Davila P, et al. Caspofungin versus fluconazole as prophylaxis of invasive fungal infection in high-risk liver transplantation recipients: A propensity score analysis. *Liver Transpl* 2016; **22**(4): 427-35.
8. Driemeyer C, Falci DR, Hoenigl M, et al. The current state of Clinical Mycology in Eastern and South-Eastern Europe. *Med Mycol* 2022; **60**(4).
9. Valerio M, Vena A, Bouza E, et al. How much European prescribing physicians know about invasive fungal infections management? *BMC Infect Dis* 2015; **15**: 80.
10. Salmanton-Garcia J, Au WY, Hoenigl M, et al. The current state of laboratory mycology in Asia/Pacific: A survey from the European Confederation of Medical Mycology (ECMM) and International Society for Human and Animal Mycology (ISHAM). *Int J Antimicrob Agents* 2023; **61**(3): 106718.
11. Mikulska M, Magnasco L, Signori A, et al. Sensitivity of Serum Beta-D-Glucan in Candidemia According to Candida Species Epidemiology in Critically Ill Patients Admitted to the Intensive Care Unit. *J Fungi (Basel)* 2022; **8**(9).
12. Vena A, Bouza E, Corisco R, et al. Efficacy of a "Checklist" Intervention Bundle on the Clinical Outcome of Patients with Candida Bloodstream Infections: A Quasi-Experimental Pre-Post Study. *Infect Dis Ther* 2020; **9**(1): 119-35.

13. Cornely OA, Alastruey-Izquierdo A, Arenz D, et al. Global guideline for the diagnosis and management of mucormycosis: an initiative of the European Confederation of Medical Mycology in cooperation with the Mycoses Study Group Education and Research Consortium. *Lancet Infect Dis* 2019; **19**(12): e405-e21.
14. Hoenigl M, Salmanton-Garcia J, Walsh TJ, et al. Global guideline for the diagnosis and management of rare mould infections: an initiative of the European Confederation of Medical Mycology in cooperation with the International Society for Human and Animal Mycology and the American Society for Microbiology. *Lancet Infect Dis* 2021; **21**(8): e246-e57.
15. Mellinghoff SC, Bassetti M, Dorfel D, et al. Isavuconazole shortens the QTc interval. *Mycoses* 2018; **61**(4): 256-60.
16. Guinea J, Escribano P, Marcos-Zambrano LJ, et al. Therapeutic drug monitoring of voriconazole helps to decrease the percentage of patients with off-target trough serum levels. *Med Mycol* 2016; **54**(4): 353-60.
17. Vena A, Munoz P, Mateos M, et al. Therapeutic Drug Monitoring of Antifungal Drugs: Another Tool to Improve Patient Outcome? *Infect Dis Ther* 2020; **9**(1): 137-49.
18. Enoch DA, Yang H, Aliyu SH, Micallef C. The changing epidemiology of invasive fungal infections. *Methods Mol Biol.* 2017;1508:17-65
19. Webb BJ, Ferraro JP, Rea S, Kaufusi S, Goodman BE, Spalding J. Epidemiology and clinical features of invasive fungal infection in a us health care network. *Open Forum Infect Dis.* 2018;5:ofy187
20. Pappas PG, Kauffman CA, Andes DR, Clancy CJ, Marr KA, Ostrosky-Zeichner L, Reboli AC, Schuster MG, Vazquez JA, Walsh TJ, Zaoutis TE, Sobel JD. Clinical practice guideline for the management of candidiasis: 2016 update by the infectious diseases society of america. *Clin Infect Dis.* 2016;62:e1-50
21. Bassetti, M., Giacobbe, D.R., Vena, A. et al. Incidence and outcome of invasive candidiasis in intensive care units (ICUs) in Europe: results of the EUCANDICU project. *Crit Care* 23, 219 (2019). <https://doi.org/10.1186/s13054-019-2497-3>
22. Koehler P, Stecher M, Cornely OA, Koehler D, Vehreschild MJGT, Bohlius J, Wisplinghoff H, Vehreschild JJ. Morbidity and mortality of candidaemia in Europe: an epidemiologic meta-analysis. *Clin Microbiol Infect.* 2019 Oct;25(10):1200-1212. doi: 10.1016/j.cmi.2019.04.024. Epub 2019 Apr 27. PMID: 31039444.
23. Puig-Asensio M, Padilla B, Garnacho-Montero J, Zaragoza O, Aguado JM, Zaragoza R, Montejo M, Muñoz P, Ruiz-Camps I, Cuenca-Estrella M, Almirante B; CANDIPOP Project; GEIH-GEMICOMED (SEIMC); REIPI. Epidemiology and predictive factors for early and late mortality in Candida bloodstream infections: a population-based surveillance in Spain. *Clin Microbiol Infect.* 2014 Apr;20(4):O245-54. doi: 10.1111/1469-0691.12380. Epub 2013 Oct 11. PMID: 24125548.

24. Taccone FS, Van den Abeele AM, Bulpa Pet al.; AspICU Study Investigators. Epidemiology of invasive aspergillosis in critically ill patients: clinical presentation, underlying conditions, and outcomes. *Crit Care* 2015;19:7.
25. Garnacho-Montero J, Amaya-Villar R, Ortiz-Leyba Cet al. Isolation of *Aspergillus* spp. from the respiratory tract in critically ill patients: risk factors, clinical presentation and outcome. *Crit Care* 2005;9: R191–9.
26. Meersseman W, Vandecasteele SJ, Wilmer Aet al. Invasive aspergillosis in critically ill patients without malignancy. *Am J Respir Crit Care Med* 2004;170:621–5.
27. Cornillet A, Camus C, Nimubona Set al. Comparison of epidemiological, clinical, and biological features of invasive aspergillosis in neutropenic and nonneutropenic patients: a 6-year survey. *Clin Infect Dis* 2006;43: 577–84.
28. Guinea J, Torres-Narbona M, Gijon Pet al. Pulmonary aspergillosis in patients with chronic obstructive pulmonary disease: incidence, risk factors, and outcome. *Clin Microbiol Infect* 2010;16: 870–7
29. Khasawneh F, Mohamad T, Moughrabieh Met al. Isolation of *Aspergillus* in critically ill patients: a potential marker of poor outcome. *J Crit Care* 2006;21:322–7.
30. Vandewoude K, Blot S, Benoit Det al. Invasive aspergillosis in critically ill patients: analysis of risk factors for acquisition and mortality. *Acta Clin Belg* 2004;59: 251–7
31. Alvarez-Uria A, Munoz P, Vena A, Guinea J, Marcos-Zambrano LJ, Escribano P, Sanchez-Carrillo C, Bouza E, Collaborative Study Group of M. Fungaemia caused by rare yeasts: Incidence, clinical characteristics and outcome over 10 years. *J Antimicrob Chemother.* 2017
32. Baraia J, Muñoz P, Bernaldo de Quiros JCet al. Cutaneous mucormycosis in a heart transplant patient associated with a peripheral catheter. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1995;14: 813–5.
33. Torres-Narbona M, Guinea J, Martinez-Alarcon Jet al. Impact of zygomycosis on microbiology workload: a survey study in Spain. *J Clin Microbiol* 2007;45: 2051–3.
34. Saegeman V, Maertens J, Meersseman Wet al. Increasing incidence of mucormycosis in University Hospital, Belgium. *Emerg Infect Dis* 2010;16:1456–8.
35. Petrikos G, Skiada A, Lortholary Oet al. Epidemiology and clinical manifestations of mucormycosis. *Clin Infect Dis* 2012;54Suppl 1: S23–34
36. Bassetti M, Bouza E. Invasive mould infections in the ICU setting: complexities and solutions. *J Antimicrob Chemother.* 2017 Mar 1;72(suppl\_1):i39-i47. doi: 10.1093/jac/dkx032. PMID: 28355466.

37. Salmanton-Garcia J, Hoenigl M, Gangneux JP, et al. The current state of laboratory mycology and access to antifungal treatment in Europe: a European Confederation of Medical Mycology survey. *Lancet Microbe* 2023; **4**(1): e47-e56.
38. Hoenigl M, Gangneux JP, Segal E, et al. Global guidelines and initiatives from the European Confederation of Medical Mycology to improve patient care and research worldwide: New leadership is about working together. *Mycoses* 2018; **61**(11): 885-94.
39. United States National Library of Medicine (NLM). ClinicalTrials.gov. <https://clinicaltrials.gov/> (Last accessed February 1, 2022).
40. European Medicines Agency. EU Clinical Trials Register. <https://www.clinicaltrialsregister.eu/> (Last accessed February 1, 2023).
41. Google Scholar. <http://scholar.google.com/> (Last accessed February 1, 2023).
42. Elsevier. ScienceDirect. <https://www.sciencedirect.com/> (Last accessed February 1, 2023).
43. ASR Lombardia. Annuario Statistico Regionale. PIL a prezzi di mercato per abitante – Regionale. <https://www.asr-lombardia.it/asrlomb/it/8001pil-prezzi-di-mercato-abitante-regionale> (Last accessed March 13, 2023).
44. Montagna MT, Caggiano G, Lovero G, et al. Epidemiology of invasive fungal infections in the intensive care unit: results of a multicenter Italian survey (AURORA Project). *Infection* 2013; **41**(3): 645-53.
45. Montagna MT, Giglio O, Napoli C, et al. Invasive fungal infections in patients with hematologic malignancies (aurora project): lights and shadows during 18-months surveillance. *Int J Mol Sci* 2012; **13**(1): 774-87.
46. Prigitano A, Esposito MC, Grancini A, et al. Azole resistance in *Aspergillus* isolates by different types of patients and correlation with environment - An Italian prospective multicentre study (ARiA study). *Mycoses* 2021; **64**(5): 528-36.
47. Mikulska M, Furfaro E, Dettori S, et al. *Aspergillus*-PCR in bronchoalveolar lavage - diagnostic accuracy for invasive pulmonary aspergillosis in critically ill patients. *Mycoses* 2022; **65**(4): 411-8.
48. Verweij PE, Bruggemann RJM, Azoulay E, et al. Taskforce report on the diagnosis and clinical management of COVID-19 associated pulmonary aspergillosis. *Intensive Care Med* 2021; **47**(8): 819-34.
49. Bassetti M, Vena A, Bouza E, et al. Antifungal susceptibility testing in *Candida*, *Aspergillus* and *Cryptococcus* infections: are the MICs useful for clinicians? *Clin Microbiol Infect* 2020; **26**(8): 1024-33.
50. van der Linden JW, Arendrup MC, Warris A, et al. Prospective multicenter international surveillance of azole resistance in *Aspergillus fumigatus*. *Emerg Infect Dis* 2015; **21**(6): 1041-4.
51. Salmanton-Garcia J, Sprute R, Stemler J, et al. COVID-19-Associated Pulmonary Aspergillosis, March-August 2020. *Emerg Infect Dis* 2021; **27**(4): 1077-86.

52. Bartoletti M, Pascale R, Cricca M, et al. Epidemiology of Invasive Pulmonary Aspergillosis Among Intubated Patients With COVID-19: A Prospective Study. *Clin Infect Dis* 2021; **73**(11): e3606-e14.
53. De Pauw B, Walsh TJ, Donnelly JP, et al. Revised definitions of invasive fungal disease from the European Organization for Research and Treatment of Cancer/Invasive Fungal Infections Cooperative Group and the National Institute of Allergy and Infectious Diseases Mycoses Study Group (EORTC/MSG) Consensus Group. *Clin Infect Dis* 2008; **46**(12): 1813-21.
54. Bassetti M, Azoulay E, Kullberg BJ, et al. EORTC/MSGERC Definitions of Invasive Fungal Diseases: Summary of Activities of the Intensive Care Unit Working Group. *Clin Infect Dis* 2021; **72**(Suppl 2): S121-S7.
55. Ullmann AJ, Aguado JM, Arikan-Akdagli S, et al. Diagnosis and management of Aspergillus diseases: executive summary of the 2017 ESCMID-ECMM-ERS guideline. *Clin Microbiol Infect* 2018; **24 Suppl 1**: e1-e38.
56. Driemeyer C, Falci DR, Oladele RO, et al. The current state of clinical mycology in Africa: a European Confederation of Medical Mycology and International Society for Human and Animal Mycology survey. *Lancet Microbe* 2022; **3**(6): e464-e70.
57. Dhiman N, Hall L, Wohlfiel SL, Buckwalter SP, Wengenack NL. Performance and cost analysis of matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry for routine identification of yeast. *J Clin Microbiol* 2011; **49**(4): 1614-6.
58. Barker KR, Kus JV, Normand AC, et al. A Practical Workflow for the Identification of Aspergillus, Fusarium, Mucorales by MALDI-TOF MS: Database, Medium, and Incubation Optimization. *J Clin Microbiol* 2022; **60**(12): e0103222.
59. yeasts ECoASTEEDdEDMftdobdmicoaaf.
60. WHO; World Health Organization model list of essential medicines 22nd list. 2021  
<https://apps.who.int/iris/rest/bitstreams/1374779/retrieve> (Last accessed February 3, 2023).
61. Rivoisy C, Vena A, Schaeffer L, et al. Prosthetic Valve Candida spp. Endocarditis: New Insights Into Long-term Prognosis-The ESCAPE Study. *Clin Infect Dis* 2018; **66**(6): 825-32.
62. Vena A, Munoz P, Guinea J, et al. Fluconazole resistance is not a predictor of poor outcome in patients with cryptococcosis. *Mycoses* 2019; **62**(5): 441-9.
63. Jenks JD, Seidel D, Cornely OA, et al. Voriconazole plus terbinafine combination antifungal therapy for invasive Lomentospora prolificans infections: analysis of 41 patients from the FungiScope(R) registry 2008-2019. *Clin Microbiol Infect* 2020; **26**(6): 784 e1- e5.

64. Vena A, Bouza E, Alvarez-Uria A, et al. The misleading effect of serum galactomannan testing in high-risk haematology patients receiving prophylaxis with micafungin. *Clin Microbiol Infect* 2017; **23**(12): 1000 e1-e4.
65. Ashbee HR, Barnes RA, Johnson EM, Richardson MD, Gorton R, Hope WW. Therapeutic drug monitoring (TDM) of antifungal agents: guidelines from the British Society for Medical Mycology. *J Antimicrob Chemother* 2014; **69**(5): 1162-76.
66. Munoz P, Bouza E, group Cs. The current treatment landscape: the need for antifungal stewardship programmes. *J Antimicrob Chemother* 2016; **71**(suppl 2): ii5-ii12.
67. Ioannidis K, Papachristos A, Skarlatinis I, et al. Do we need to adopt antifungal stewardship programmes? *Eur J Hosp Pharm* 2020; **27**(1): 14-8.

## FIGURE E TABELLE

Tabella 1. caratteristiche dei centri italiani partecipanti.

	Totale		PIL			
	(n=49)		<30,000 € (n=19)		>30,000 € (n=30)	
<b>Tipo di centro</b>	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%
Ospedale universitario/ centro di ricerca	26	53.1%	8	42.1%	18	60.0%
Ospedale pubblico	22	44.9%	11	57.9%	11	36.7%
Ospedale privato	1	2.0%	0	0.0%	1	3.3%
<b>Tipo di pazienti trattati</b>						
COVID-19	46	93.9%	17	89.5%	29	96.7%
Diabete mellito	43	87.8%	16	84.2%	27	90.0%
NPT	43	87.8%	16	84.2%	27	90.0%
Oncologici	43	87.8%	15	78.9%	28	93.3%
Ematologici	42	85.7%	15	78.9%	27	90.0%
HIV/AIDS	39	79.6%	14	73.7%	25	83.3%
Trapiantati cellule staminali	32	65.3%	9	47.4%	23	76.7%
TI neonatale	29	59.2%	12	63.2%	17	56.7%
Trapiantati di organo solido	29	59.2%	9	47.4%	20	66.7%
<b>Disponibilità in loco della microbiologia</b>	49	100.0%	19	100.0%	30	100.0%
<b>Effettuate procedure di diagnosi fungina?</b>						
Sempre in loco	29	59.2%	12	63.2%	17	56.7%
In parte in loco/ in parte fuori	20	40.8%	7	36.8%	13	43.3%
<b>Incidenza delle IFI</b>						
Molto bassa	2	4.1%	2	10.5%	0	0.0%
Bassa	11	22.4%	6	31.6%	5	16.7%
Moderata	25	51.0%	11	57.9%	14	46.7%
Alta	11	22.4%	0	0.0%	11	36.7%
Molto alta	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%
<b>Patogeni più importanti</b>						
<i>Aspergillus spp.</i>	45	91.8%	17	89.5%	28	93.3%
<i>Candida spp.</i>	44	89.8%	18	94.7%	26	86.7%
<i>Mucorales</i>	14	28.6%	4	21.1%	10	33.3%
<i>Fusarium spp.</i>	10	20.4%	2	10.5%	8	26.7%
<i>Cryptococcus spp.</i>	9	18.4%	4	21.1%	5	16.7%
<i>Histoplasma spp.</i>	2	4.1%	1	5.3%	1	3.3%

**COVID-19**, malattia da SARS-Cov-2; **€**, Euro; **PIL**, prodotto interno lordo; **HIV/AIDS**, virus immunodeficienza umana/ sindrome da immunodeficienza acquisita; **TI**, terapia intensiva; **IFI**, infezioni fungine invasive; **spp.**, specie; **NPT**, nutrizione parenterale

Tabella 2. Comparazione delle diverse tecniche diagnostiche micologiche disponibili in Italia.

	PIL					
	Totale (n=49)		<30,000 € (n=19)		>30,000 € (n=30)	
	n	%	n	%	n	%
<b>Microscopia</b>	46	93.9%	17	89.5%	29	96.7%
Colorazioni						
<i>Inchiostro China/India</i>	34	69.4%	14	73.7%	20	66.7%
<i>Colorazione argantica</i>	24	49.0%	8	42.1%	16	53.3%
<i>Colorazione di Giemsa</i>	24	49.0%	7	36.8%	17	56.7%
<i>Idrossido di Potassio</i>	15	30.6%	6	31.6%	9	30.0%
<i>Bianco di Calcofluoro</i>	12	24.5%	4	21.1%	8	26.7%
Frequenza della microscopia diretta su sospetto di IFI						
<i>Mai</i>	1	2.0%	1	5.3%	0	0.0%
<i>Raramente</i>	6	12.2%	4	21.1%	2	6.7%
<i>A volte</i>	12	24.5%	6	31.6%	6	20.0%
<i>Spesso</i>	9	18.4%	1	5.3%	8	26.7%
<i>Sempre</i>	21	42.9%	7	36.8%	14	46.7%
Disponibilità delle colorazioni fluorescenti	19	38.8%	8	42.1%	11	36.7%
Diagnosi diretta in sospetto di criptococcosi	39	79.6%	15	78.9%	24	80.0%
<i>Inchiostro di India</i>	34	69.4%	14	73.7%	20	66.7%
<i>Altre colorazioni</i>	5	10.2%	1	5.3%	4	13.3%
Microscopia diretta in sospetto di mucormicosi	26	53.1%	12	63.2%	14	46.7%
Colorazione argantica per sospetto <i>Pneumocystis</i>	21	42.9%	8	42.1%	13	43.3%
<b>Identificazione colturale</b>	49	100.0%	19	100.0%	30	100.0%
Emocolture in caso di sospetta fungemia	49	100.0%	19	100.0%	30	100.0%
Coltura fungina						
<i>Agar destrosio Sabouraud</i>	27	55.1%	10	52.6%	17	56.7%
<i>Agar destrosio Sabouraud + Cloramfenicolo</i>	26	53.1%	11	57.9%	15	50.0%
<i>Agar destrosio Sabouraud + Gentamicina</i>	22	44.9%	10	52.6%	12	40.0%
<i>Cromogeno</i>	21	42.9%	7	36.8%	14	46.7%
<i>Agar selettivo (Cloramfenicolo + Cicloeximide)</i>	17	34.7%	6	31.6%	11	36.7%
<i>Agar di patata destrosio</i>	13	26.5%	6	31.6%	7	23.3%
<i>Agar Niger</i>	10	20.4%	6	31.6%	4	13.3%
<i>Agar lactrimel</i>	4	8.2%	2	10.5%	2	6.7%
Test disponibili per identificazione specifica	46	93.9%	18	94.7%	28	93.3%
<i>MALDI – TOF – MS</i>	40	81.6%	14	73.7%	26	86.7%
<i>Identificazione automatica (i.e., VITEK®)</i>	33	67.3%	14	73.7%	19	63.3%
<i>Test biochimici (micologia convenzionale)</i>	28	57.1%	13	68.4%	15	50.0%
<i>Sequenziamento del DNA</i>	26	53.1%	8	42.1%	18	60.0%
Test di suscettibilità agli antifungini	45	91.8%	16	84.2%	29	96.7%
<i>Per i lieviti e le muffe</i>	32	65.3%	13	68.4%	19	63.3%
<i>Solo per i lieviti</i>	13	26.5%	3	15.8%	10	33.3%
Test di suscettibilità agli antifungini disponibili?						
<i>Diluizione in brodo secondo standard EUCAST</i>	23	46.9%	9	47.4%	14	46.7%
<i>VITEK®</i>	18	36.7%	8	42.1%	10	33.3%
<i>E-test®</i>	18	36.7%	5	26.3%	13	43.3%
<i>Diluizione in brodo secondo standard CLSI</i>	18	36.7%	3	15.8%	15	50.0%
massima capacità di identificazione						
<i>Lieviti</i>	49	100.0%	19	100.0%	30	100.0%
<i>Genere / specie</i>	20	40.8%	11	57.9%	9	30.0%
<i>Genere / specie / complesso</i>	19	38.8%	4	21.1%	15	50.0%
<i>Genere / specie / complesso / specie criptiche</i>	8	16.3%	4	21.1%	4	13.3%
<i>Genere</i>	2	4.1%	0	0.0%	2	6.7%
<i>Muffe</i>	49	100.0%	19	100.0%	30	100.0%

Genere / specie	41	83.7%	17	89.5%	24	80.0%
Genere	8	16.3%	2	10.5%	6	20.0%
<b>Sierologia</b>	41	83.7%	16	84.2%	25	83.3%
<i>Aspergillus</i> spp.	39	79.6%	16	84.2%	23	76.7%
<i>In loco</i>	31	63.3%	12	63.2%	19	63.3%
Laboratorio esterno	8	16.3%	4	21.1%	4	13.3%
<i>Candida</i> spp.	28	57.1%	13	68.4%	15	50.0%
<i>In loco</i>	20	40.8%	9	47.4%	11	36.7%
Laboratorio esterno	8	16.3%	4	21.1%	4	13.3%
<i>Histoplasma</i> spp.	25	51.0%	8	42.1%	17	56.7%
<i>In loco</i>	14	28.6%	4	21.1%	10	33.3%
Laboratorio esterno	11	22.4%	4	21.1%	7	23.3%
<b>Riconoscimento antigenico</b>	49	100.0%	19	100.0%	30	100.0%
Aspergillus totale	42	85.7%	17	89.5%	25	83.3%
<i>Aspergillus galattomannano</i> ELISA	47	95.9%	19	100.0%	28	93.3%
<i>In loco</i>	39	79.6%	16	84.2%	23	76.7%
Laboratorio esterno	8	16.3%	3	15.8%	5	16.7%
<i>Aspergillus galattomannano</i> LFA	18	36.7%	8	42.1%	10	33.3%
<i>In loco</i>	14	28.6%	6	31.6%	8	26.7%
Laboratorio esterno	4	8.2%	2	10.5%	2	6.7%
<i>Aspergillus</i> LFD	13	26.5%	6	31.6%	7	23.3%
<i>In loco</i>	10	20.4%	4	21.1%	6	20.0%
Laboratorio esterno	3	6.1%	2	10.5%	1	3.3%
1-3-Beta-D-glucano	42	85.7%	14	73.7%	28	93.3%
<i>In loco</i>	27	55.1%	10	52.6%	17	56.7%
Laboratorio esterno	15	30.6%	4	21.1%	11	36.7%
Cryptococcus totale	38	77.6%	13	68.4%	25	83.3%
<i>Cryptococcus</i> LAT	38	77.6%	15	78.9%	23	76.7%
<i>In loco</i>	34	69.4%	12	63.2%	22	73.3%
Laboratorio esterno	4	8.2%	3	15.8%	1	3.3%
<i>Cryptococcus</i> LFA	20	40.8%	9	47.4%	11	36.7%
<i>In loco</i>	15	30.6%	5	26.3%	10	33.3%
Laboratorio esterno	5	10.2%	4	21.1%	1	3.3%
Antigeni Candida	22	44.9%	11	57.9%	11	36.7%
<i>In loco</i>	15	30.6%	7	36.8%	8	26.7%
Laboratorio esterno	7	14.3%	4	21.1%	3	10.0%
<i>Histoplasma</i>	18	36.7%	7	36.8%	11	36.7%
<i>In loco</i>	8	16.3%	2	10.5%	6	20.0%
Laboratorio esterno	10	20.4%	5	26.3%	5	16.7%
<b>Test molecolari</b>	41	83.7%	16	84.2%	25	83.3%
Pneumocystis PCR	35	71.4%	14	73.7%	21	70.0%
<i>In loco</i>	29	59.2%	11	57.9%	18	60.0%
Laboratorio esterno	6	12.2%	3	15.8%	3	10.0%
Aspergillus PCR	32	65.3%	12	63.2%	20	66.7%
<i>In loco</i>	23	46.9%	8	42.1%	15	50.0%
Laboratorio esterno	9	18.4%	4	21.1%	5	16.7%
Candida PCR	25	51.0%	9	47.4%	16	53.3%
<i>In loco</i>	15	30.6%	4	21.1%	11	36.7%
Laboratorio esterno	10	20.4%	5	26.3%	5	16.7%
PCR per altri funghi	19	38.8%	8	42.1%	11	36.7%
<i>In loco</i>	9	18.4%	3	15.8%	6	20.0%
Laboratorio esterno	10	20.4%	5	26.3%	5	16.7%
Mucorales PCR	18	36.7%	9	47.4%	9	30.0%
<i>In loco</i>	9	18.4%	3	15.8%	6	20.0%
Laboratorio esterno	9	18.4%	6	31.6%	3	10.0%

\* Questa differenza è stata considerata statisticamente significativa, p=0.032

**CLSI**, Clinical and Laboratory Standards Institute; **DNA**, acido desossiribonucleico; **ELISA**, saggio immuno-assorbente enzimatico; **E-test**<sup>®</sup>, test epsilometro; **EUCAST**, European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing; **€**, euro; **PIL**, prodotto interno lordo; **IFI**, infezione fungina invasiva; **LAT**, test agglutinazione al lattice; **LFA**, saggio a flusso laterale; **LFD**, device a flusso laterale; **MALDI – TOF**, spettrometria con desorbimento/ionizzazione laser assistito da matrice laser; **PCR**, reazione a catena della polimerasi; **spp.**, specie

Tabella 3. Disponibilità di farmaci antifungini in Italia.

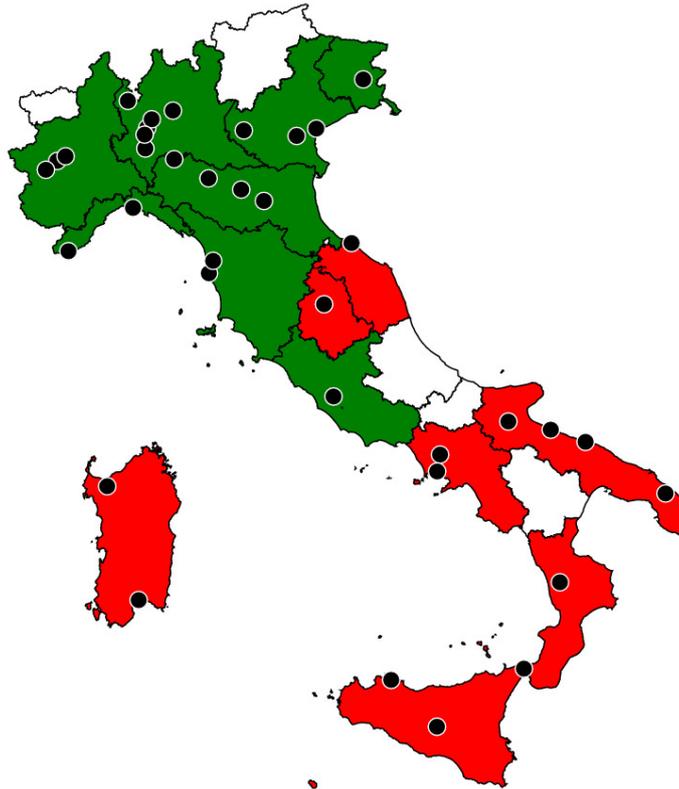
	Totale		PIL				
	(n=49)		<30,000 €		>30,000 €		
	n	%	n	%	n	%	
<b>Aantifungini disponibili</b>							
<i>Triazoli</i>	45	91.8%	18	94.7%	27	90.0%	
Fluconazolo	45	91.8%	18	94.7%	27	90.0%	
Itraconazolo	44	89.8%	18	94.7%	26	86.7%	
Voriconazolo	44	89.8%	17	89.5%	27	90.0%	
Posaconazolo	41	83.7%	18	94.7%	23	76.7%	
Isavuconazolo	39	79.6%	16	84.2%	23	76.7%	
<i>Echinocandine</i>	45	91.8%	18	94.7%	27	90.0%	
Micafungina	45	91.8%	18	94.7%	27	90.0%	
Anidulafungina	36	73.5%	15	78.9%	21	70.0%	
Caspofungina	36	73.5%	13	68.4%	23	76.7%	
<i>Amfotericina B</i>	44	89.8%	18	94.7%	26	86.7%	
Liposomiale	43	87.8%	17	89.5%	26	86.7%	
Complessi lipidici	15	30.6%	6	31.6%	9	30.0%	
Deossicolato	9	18.4%	1	5.3%	8	26.7%	
<i>Flucitosina</i>	24	49.0%	11	57.9%	13	43.3%	
<i>Terbinafina</i>	7	14.3%	2	10.5%	5	16.7%	
<b>TDM</b>	31	63.3%	7	36.8%	24	80.0%	*
Voriconazolo	31	63.3%	7	36.8%	24	80.0%	**
<i>In loco</i>	23	46.9%	6	31.6%	17	56.7%	
<i>Laboratorio esterno</i>	8	16.3%	1	5.3%	7	23.3%	
Posaconazolo	22	44.9%	3	15.8%	19	63.3%	*
<i>In loco</i>	16	32.7%	2	10.5%	14	46.7%	
<i>Laboratorio esterno</i>	6	12.2%	1	5.3%	5	16.7%	
Itraconazolo	14	28.6%	3	15.8%	11	36.7%	
<i>In loco</i>	10	20.4%	2	10.5%	8	26.7%	
<i>Laboratorio esterno</i>	4	8.2%	1	5.3%	3	10.0%	
Flucitosina	6	12.2%	1	5.3%	5	16.7%	
<i>In loco</i>	5	10.2%	1	5.3%	4	13.3%	
<i>Laboratorio esterno</i>	1	2.0%	0	0.0%	1	3.3%	

\* Questa differenza è stata considerata statisticamente significativa, p=0.005

\*\* Questa differenza è stata considerata statisticamente significativa, p<0.001

PIL, prodotto interno lordo; US\$, dollari statunitensi

Figura 1. Mappa dei centri italiani partecipanti.



Le regioni con PIL pro capite <30,000 € sono evidenziate in rosso. Le regioni con un PIL pro capite >30,000 € sono evidenziate in verde. Le regioni in bianco sono quelle con nessun centro incluso nello studio.

## TABELLE SUPPLEMENTARI

### TABELLA SUPPLEMENTARE 1. Survey

#### 1. *Profilo dell'istituzione*

- 1.1. il suo Ruolo
  - 1.1.1. Medico
  - 1.1.2. Medico specialista in malattie infettive
  - 1.1.3. Microbiologo clinico
  - 1.1.4. Direttore
  - 1.1.5. Controllo rischio infettivo
  - 1.1.6. Responsabile di laboratorio
  - 1.1.7. Professore
  - 1.1.8. Altro
  
- 1.2. Informazioni di contatto
  - 1.2.1. Nome
  - 1.2.2. Mail
  
- 1.3. Struttura
  - 1.3.1. Nome
  - 1.3.2. Dipartimento
  
- 1.4. Luogo
  - 1.4.1. Città
  - 1.4.2. Regione
  - 1.4.3. Nazione
  
- 1.5. Profilo del centro
  - 1.5.1. Day-Hospital
  - 1.5.2. Clinica dialitica
  - 1.5.3. Istituto nazionale / Ospedale di ricerca
  - 1.5.4. Clinica oncologica
  - 1.5.5. Ospedale privato
  - 1.5.6. Laboratorio privato
  - 1.5.7. Ospedale pubblico
  - 1.5.8. Ospedale universitario
  - 1.5.9. Altro, specifica:
  
- 1.6. Dimensione del centro – numero di letti
  - 1.6.1. Totale
  - 1.6.2. Numero letti terapia intensiva per adulti
  - 1.6.3. Numero letti terapia intensiva per bambini
  
- 1.7. Nel suo centro vengono trattati i seguenti pazienti? *Rispondere con si, no, non lo so.*
  - 1.7.1. COVID-19
  - 1.7.2. Diabete mellito
  - 1.7.3. Ematologici
  - 1.7.4. HIV/AIDS
  - 1.7.5. TI neonatale
  - 1.7.6. Oncologici
  - 1.7.7. Necessitanti Nutrizione parenterale totale
  - 1.7.8. Trapianto organo solido
  - 1.7.9. Trapianto cellule staminali

1.8. Il centro presso il quale lavora dispone di un laboratorio di microbiologia?

- 1.8.1. Sì
- 1.8.2. Sì, ma con appoggio a laboratorio esterno
- 1.8.3. No

1.9. Dove vengono svolte le pratiche diagnostiche antifungine?

- 1.9.1. Sempre in loco
- 1.9.2. In parte in loco/ in parte presso laboratorio esterno
- 1.9.3. Completamente presso laboratorio esterno
- 1.9.4. Non abbiamo a disposizione tecniche diagnostiche

## **2. *Percezione delle infezioni fungine invasive***

2.1. Per piacere valuti l'incidenza delle infezioni fungine invasive in una scala da molto bassa (1) a molto alta (5)

2.2. Per piacere valuti l'incidenza della mucormicosi in una scala da molto bassa (1) a molto alta (5)

2.3. Patogeno di maggior importanza

- 2.3.1. *Aspergillus* spp.
- 2.3.2. *Candida* spp.
- 2.3.3. *Cryptococcus* spp.
- 2.3.4. *Fusarium* spp.
- 2.3.5. *Histoplasma* spp.
- 2.3.6. Mucorales

2.4. Qual è il numero approssimativo di campioni (per mese) processati presso il vostro laboratorio di microbiologia?

- 2.4.1. NUMERO TOTALE
- 2.4.2. CAMPIONI DI SANGUE
- 2.4.3. BAL (liquido di lavaggio bronco alveolare)
- 2.4.4. TESSUTO BIOPTICO
- 2.4.5. URINE

2.5. Che farmaci sono disponibili presso il vostro centro? *Rispondere con sì, no, non lo so.*

- 2.5.1. Amfotericina B deossicolato
- 2.5.2. Amfotericina B a complessi lipidici
- 2.5.3. Amfotericina B liposomiale
- 2.5.4. Amfotericina B – altre formulazioni
- 2.5.5. Anidulafungina
- 2.5.6. Caspofungina
- 2.5.7. Fluconazolo
- 2.5.8. Flucitosina (5-FC)
- 2.5.9. Isavuconazolo
- 2.5.10. Itraconazolo
- 2.5.11. Micafungina
- 2.5.12. Posaconazolo
- 2.5.13. Terbinafina
- 2.5.14. Voriconazolo

### 3. *Microscopia*

3.1. Quali metodologie vengono utilizzate per la microscopia? Rispondere con sì, no, non lo so.

- 3.1.1. Bianco di calcofluoro
- 3.1.2. Colorazione Giemsa
- 3.1.3. Inchiostro di China/India
- 3.1.4. Idrossido di potassio
- 3.1.5. Colorazione argentea
- 3.1.6. Altre

3.2. Quanto frequentemente viene effettuata la microscopia quando è sospettata una IFI?  
Rispondere da mai (1) a sempre (5)

3.3. Avete a disposizione colorazioni fluorescenti?

3.4. Quando c'è sospetto di criptococcosi, viene effettuata indagine diretta del fluido corporeo disponibile?

- 3.4.1. Sì, con India ink
- 3.4.2. Sì, con altre colorazioni
- 3.4.3. No

3.5. Quando c'è il sospetto di pneumocistosi, viene effettuata indagine microscopica diretta con colorazione argentea?

- 3.5.1. Sì
- 3.5.2. No

3.6. Quando c'è il sospetto di mucormicosi, viene effettuata indagine microscopica diretta con sbiancanti ottici?

- 3.6.1. Sì
- 3.6.2. No

### 4. *Colture e identificazione fungina*

4.1. In sospetto di fungemia, sono effettuabili emocolture?

- 4.1.1. Sì
- 4.1.2. No

4.2. Per piacere riferisca quali metodi vengono utilizzati. *Rispondere con sì, no, non lo so.*

- 4.2.1. Agar Niger
- 4.2.2. Cromogeno
- 4.2.3. Agar Lactrimel
- 4.2.4. Agar di patata destrosio
- 4.2.5. Sabouraud
- 4.2.6. Sabouraud + Cloramfenicolo
- 4.2.7. Sabouraud + Gentamicina
- 4.2.8. Agar selettivi (Cloramfenicolo + Cicloeximide)
- 4.2.9. Altri

- 4.3. Indicare tutti I test per identificazione di specie disponibili. *Rispondere con si, no, non lo so.*
- 4.3.1. Identificazione automatizzata (i.e., VITEK<sup>®</sup>, altri test commerciali)
  - 4.3.2. Test biochimici (micologia classica)
  - 4.3.3. Sequenziamento DNA
  - 4.3.4. MALDI – TOF – MS
- 4.4. Avete a disposizione metodiche per valutare la suscettibilità agli antifungini?
- 4.4.1. Per I lieviti
  - 4.4.2. For le muffe
  - 4.4.3. For entrambi
  - 4.4.4. Per nessuno dei due
- 4.5. Quali delle seguenti tecnologie per la valutazione delle sensibilità sono disponibili?  
*Rispondere con si, no, non lo so.*
- 4.5.1. Microdiluzione in brodo secondo standard CLSI
  - 4.5.2. Microdiluzione in brodo secondo standard EUCAST
  - 4.5.3. E-test<sup>®</sup>
  - 4.5.4. VITEK<sup>®</sup>
- 4.6. Scegliere quale risposta indica più precisamente le capacità diagnostiche massima per lieviti presso il vostro centro.
- 4.7.
- 4.7.1. Genere
  - 4.7.2. Genere / specie
  - 4.7.3. Genere / specie / complesso
  - 4.7.4. Genere / specie / complesso / specie criptica
- 4.8. Scegliere quale risposta indica più precisamente le capacità diagnostiche massima per muffe presso il vostro centro.
- 4.8.1. Genere
  - 4.8.2. Genere / specie

## **5. Sierologia**

- 5.1. Quali dei seguenti test per la diagnosi sierologica sono disponibili? *Rispondere con si, solo presso laboratorio esterno, no, non lo so.*
- 5.1.1. *Aspergillus* spp.
  - 5.1.2. *Candida* spp.
  - 5.1.3. *Histoplasma* spp.
  - 5.1.4. *Paracoccidioides* spp.

## **6. Diagnosi Antigenica**

6.1. Quali dei seguenti test per la diagnosi antigenica sono disponibili? *Rispondere con si, solo presso laboratorio esterno, no, non lo so.*

- 6.1.1. *Aspergillus* (LFD)
- 6.1.2. *Aspergillus galattomannano* (ELISA)
- 6.1.3. *Aspergillus galattomannano* (LFA)
- 6.1.4. Antigene *Candida*
- 6.1.5. *Cryptococcus* (LFA)
- 6.1.6. *Cryptococcus* (test agglutinazione al lattice)
- 6.1.7. *Histoplasma*
- 6.1.8. Beta-D-glucano

## **7. Test molecolari**

7.1. Quali dei seguenti test molecolari sono disponibili? *Rispondere con si, solo presso laboratorio esterno, no, non lo so.*

- 7.1.1. PCR *Aspergillus*
- 7.1.2. PCR *Candida*
- 7.1.3. PCR *Pneumocystis*
- 7.1.4. PCR *Mucorales*
- 7.1.5. PCR per altri funghi
- 7.1.6. Altri test molecolari

## **8. Dosaggio terapeutico sierico (TDM) farmaci antifungini**

8.1. Avete presso il vostro centro a disposizione il TDM per I farmaci antifungini? *Per piacere rispondere con si, solo presso laboratorio esterno, no, non lo so.*

- 8.1.1. 5-flucitosina
- 8.1.2. Itraconazolo
- 8.1.3. Posaconazolo
- 8.1.4. Voriconazolo

**Tabella supplementare 2.** Le regioni italiani divise in base al PIL pro capite.

<b>Region</b>	<b>PIL pro capite in euro.</b>	
Trentino-Alto Adige/Südtirol	43,379.9	>30.000€
Lombardia	39,694.2	
Val d'Aosta	38,768.2	
Emilia-Romagna	36,727.2	
Lazio	34,199.3	
Veneto	33,651.1	
Liguria	32,254.3	
Toscana	31,927.8	
Friuli-Venezia Giulia	31,923.1	
Piemonte	31,723.6	
<b>Italia</b>	<b>29,661.5</b>	
Marche	27,678.2	<30,000
Umbria	26,238.3	
Abruzzo	25,124.8	
Basilicata	23,051.4	
Sardegna	21,343.8	
Molise	21,071.6	
Puglia	18,924.9	
Campania	18,877.7	
Sicilia	17,854.6	
Calabria	17,289.0	

**PIL**, prodotto interno lordo.