



Черновецкий М.А.✉, Кондаурова С.Л.

Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии, Минск, Беларусь

Этиологическая структура грибов, выделенных у детей с онкогематологическими заболеваниями из удаленных центральных венозных катетеров, и оценка роли грибковых патогенов в развитии катетер-ассоциированных инфекций кровотока

Конфликт интересов: не заявлен.

Вклад авторов: Черновецкий М.А. – обобщение и анализ данных лабораторных исследований, методология микробиологических исследований и библиография; Кондаурова С.Л. – подготовка макета статьи, дизайн.

Подана: 16.08.2022

Принята: 14.11.2022

Контакты: tchernovetski@mail.ru

Резюме

Введение. Грибковые инфекции кровотока представляют собой одну из форм данного вида заболеваний человека с диапазоном клинических проявлений – от бессимптомной фунгемии до глубоких системных микозов с летальным исходом. Наиболее часто они встречаются у пациентов с ослабленным иммунитетом на фоне онкогематологической патологии, у реципиентов трансплантатов внутренних органов и тканей, у лиц с различными формами иммунодефицитных состояний. Одним из путей инфицирования организма человека может быть использование в процессе осуществления лечебно-диагностической деятельности центральных венозных катетеров (ЦВК).

Цель. Выявление этиологической структуры грибов, выделенных у детей с онкогематологической патологией из удаленных центральных венозных катетеров, и оценка их роли в возникновении сопутствующих катетер-ассоциированных инфекций кровотока (КАИК).

Материалы и методы. В исследование были включены все штаммы грибов (микромикеты), выявленные при микробиологическом анализе удаленных ЦВК в период с 2002 по 2021 г. от пациентов с сопутствующими инфекционными осложнениями на фоне основной онкогематологической патологии, находящихся на лечении в Республиканском научно-практическом центре детской онкологии, гематологии и иммунологии. Выделенные при исследовании ЦВК грибковые микроорганизмы были идентифицированы методами фенотипирования микромикетов и оценки их биохимических свойств (при выявлении дрожжевых патогенов), с подтверждением родовой и видовой принадлежности (в сложных для диагностики случаях) методом масс-спектрометрического анализа с матрично-активированной лазерной десорбцией/ионизацией с задержкой во времени (MALDI-TOF MS).



Результаты. Число удаленных и микробиологически исследованных ЦВК составило 2053 единицы за анализируемый период времени. Выделено 43 штамма микромицетов (у 3 пациентов выявлено по несколько случаев выделения грибковой микрофлоры из последовательно установленных и удаленных катетеров), среди которых дрожжеподобные грибы (дрожжи) составляли 93,02% (40 культур микроорганизмов). Общий спектр дрожжеподобных микромицетов представлен грибами рода *Candida*, а также единичными штаммами *Saccharomyces cerevisiae* (вероятная контаминация) и *Malassezia furfur*. Среди дрожжей наиболее часто обнаруживались *Candida guilliermondii* (14 штаммов) и *Candida parapsilosis* (13 штаммов). Плесневая микрофлора представлена двумя культурами грибов рода *Fusarium* (включая один штамм *Fusarium solani*) и единичным штаммом *Epidermophyton* spp. Все микромицеты были выявлены в период с 2002 до 2015 г. включительно. В этот же период времени проведено большинство исследований удаленных ЦВК (1857 посевов из 2053). Частота ежегодной детекции микромицетов колебалась в диапазоне от 0 до 10 штаммов, а этиологический спектр выявленных грибковых патогенов коррелировал с результатами, полученными при предварительном исследовании венозной крови. Проанализированы посевы венозной крови у пациентов после удаления ЦВК, выполненные во временном диапазоне от 1 до 30 дней. На фоне существенного улучшения клинической картины, в 12 из 37 (32,43%) изученных случаев гемокультуры микромицетов не обнаруживались в венозной крови, забранной в интервалах времени от 1 до 2 суток включительно после экстракции катетера, тем самым можно предположить наличие причинной связи установки и использования ЦВК с возникновением и поддержанием грибковой инфекции без соответствующего микробиологического подтверждения. Лишь один из этих случаев подтвержден лабораторно в качестве КАИК при одновременном исследовании венозной крови и ЦВК.

Выводы. Основным видом грибковых патогенов, выделенных из удаленных ЦВК у детей с онкогематологической патологией, были дрожжевые микромицеты (93,02%). Среди дрожжей преобладали грибы non-albicans в виде *Candida guilliermondii* (32,55%) и *Candida parapsilosis* (30,23%). Возникновение около трети (32,43%) инфекций кровотока у детей с онкогематологическими заболеваниями предположительно могло иметь катетер-ассоциированный характер.

Ключевые слова: онкогематология, дети, центральные венозные катетеры, инфекция кровотока, катетер-ассоциированные инфекции

Tchernovetski M.✉, Kandaaurava S.

Belarusian Research Center for Pediatric Oncology, Hematology and Immunology,
Minsk, Belarus

Etiologic Structure of Fungi Isolated in Children with Oncohematological Diseases in Removed Central Venous Catheters and Assessment of the Role of Fungal Pathogens in the Development of Catheter-Associated Infections of Bloodstream

Conflict of interest: nothing to declare.

Authors' contribution: Tchernovetski M. – generalization and analysis of laboratory research data, methodology of microbiological research and bibliography; Kandaaurava S. – preparation of the article layout, design.

Submitted: 16.08.2022

Accepted: 14.11.2022

Contacts: tchernovetski@mail.ru

Abstract

Introduction. Bloodstream fungal infections represent one of the forms of this type of human diseases with wide range of clinical manifestations varying from asymptomatic fungemia to profound systemic mycosis leading to lethal outcome. Abovementioned pathology often occurs in immunocompromised patients against the backdrop of the main oncohematological diseases, in recipients of internal organs and tissues transplants, and in subjects with various forms of immunodeficiency conditions. Installation and use of central venous catheters during treatment and diagnostic activities are one of the routes of infection in humans.

Purpose. To reveal the etiologic structure of fungi isolated in children with oncohematological diseases in removed central venous catheters (CVCs) and assessment of the role of fungal pathogens in the development of catheter-associated infections of bloodstream (CRBSIs).

Materials and methods. The studies included all strains of fungi (micromycetes) identified during the microbiological analysis of removed central venous catheters in the period from 2002 to 2021 in patients with concomitant infectious complication against the background of the main oncohematological pathology treated at the Republican Scientific and Practical Center for Pediatric Oncology, Hematology and Immunology. The isolated fungal microorganisms were identified by phenotyping methods and by evaluation of their biochemical properties (in case of yeast pathogens). Confirmation of the genus and species affiliation of individual strain in diagnostically difficult cases was carried out using matrix-activated laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS).

Results. A total of 2053 removed central venous catheters were examined. As result, 43 strains of micromycetes were isolated, of which 40 cultures (93.02%) were represented by yeast, and the etiological spectrum of identified pathogens included various types of fungi of the genus *Candida*, as well as single strains of *Saccharomyces cerevisiae* and *Malassezia furfur*. Among the yeast, *Candida guilliermondii* (14 strains, 32.55%) and



Candida parapsilosis (13 strains, 30.23%) were found most frequently. The mold was represented by two cultures of *Fusarium* genus (including one strain of *Fusarium solani*) and single strain *Epidermophyton* spp. The majority of microbiological studies of removed catheters were carried out and all abovementioned micromycetes were detected in the period from 2002 to 2015. The frequency of annual detection of micromycetes ranged from 0 to 10 strains, and the etiological spectrum of identified fungal pathogens correlated with results of preliminary studies of venous blood. We also analyzed subsequent venous blood investigations in patients after removal of CVCs performed in the time range from 1 to 30 days. Against the background of a significant improvement of clinical picture, in 12 of 37 (32.43%) cases studied hemocultures of micromycetes were not detected in the venous blood sampled within 1 to 2 days after catheter extraction. Only one of these cases was laboratory confirmed as CRSBI. The data obtained allow as to suggest a causal relationship between the installation and use of CVC and the emergence and maintenance of fungal CRSBI without appropriate microbiological confirmation.

Conclusions. Yeast micromycetes (93.02%) were the main fungal pathogens isolated from removed CVC in children with oncohematological pathology. The prevailing types of yeast micromycetes were *Candida quilliermondii* (32.55%) и *Candida parapsilosis* (30.23%). The occurrence of about one-third (32.43%) of bloodstream infections in children with hematological malignancies presumably could be catheter-associated.

Keywords: oncohematology, children, central venous catheters, bloodstream infection, catheter-associated infections

■ ВВЕДЕНИЕ

Грибы представляют собой одну из наиболее многочисленных (свыше 1 500 000 видов) и наименее исследованную группу живых организмов на Земле. Их видовое разнообразие в 6 раз превосходит аналогичный показатель среди растений и в 50 раз – среди позвоночных существ. В то же время уровень изученности грибов едва превосходит 5%, притом что патогенными и условно-патогенными грибами (микромикетами) поражено от 20 до 30% населения планеты с ежегодным летальным исходом более чем в 1,5 млн случаев грибковых инфекций [1, 2]. Одной из причин роста числа грибковых поражений среди человеческой популяции является широкое применение антибиотиков, цитостатиков, кортикостероидов и иммуносупрессантов на фоне внедрения и интенсивного использования современных инвазивных медицинских технологий [3, 4]. Грибковые заболевания человеческого организма (микозы) имеют разнообразные клинические проявления – от банального поверхностного инфицирования кожи и слизистых оболочек до развития инвазивных глубоких микозов с поражением внутренних органов, с уровнем смертности в диапазоне от 10 до 64% [5–8]. При отдельных клинически тяжелых формах грибковых инфекций летальность может достигать 75% [9].

Среди пациентов, находящихся на лечении в условиях стационарных учреждений различного профиля, одним из существенных факторов риска развития грибковых инфекций кровотока является установка и продолжительное использование

центральных венозных катетеров (ЦВК) для введения лекарственных средств. Данный вид оказания медицинской помощи широко используется в отделениях реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ), а также в стационарах гематологического и онкологического профиля [10–12]. Группой особого риска развития гематогенных инвазивных микозов являются лица с иммуносупрессивным статусом на фоне основной патологии (онкогематологические заболевания, врожденные и приобретенные иммунодефицитные состояния), реципиенты трансплантатов органов и тканей [13–15]. В свою очередь, риск развития инфекций кровотока тесно связан с видом применяемых катетеров (имплантируемых, туннельных, нетуннельных и т. д.), а также соблюдением правил ухода за ними. Грибковые заболевания, причинно-следственно связанные с применением катетеризации венозной сети, могут проявляться в виде различных вариантов катетер-ассоциированных инфекций кровотока (КАИК) – от бессимптомных фунгемий до тяжелых поражений внутренних органов с летальным исходом [16].

Дрожжевые микроорганизмы рода *Candida* по-прежнему являются основным этиологическим агентом инвазивных микозов. Данный род включает в себя свыше 350 видов грибов, часть из которых (более 20 разновидностей) имеет клиническое значение в качестве патогенов для человека [17]. *Candida albicans* представляет собой наиболее широко известный и распространенный в окружающей среде грибковый патоген. Вместе с тем в последнее время растет этиологическая роль и других видов дрожжевых микромицетов – так называемых non-*albicans* (*Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Candida glabrata*, *Candida parapsilosis*) [18]. Появляются также сообщения о вспышках инвазивных микозов, вызываемых *Candida auris* и *Candida pelliculosa* – микромицетами, ранее редко ассоциировавшимися с патологией человека [19, 20].

Другой, не менее представительной, группой этиологических агентов инвазивных микозов являются плесневые (мицелиальные) грибы, среди которых доминируют грибы рода *Aspergillus*. Известно несколько десятков актуальных для заболевания человека аспергилл, среди которых наибольшую актуальность имеют *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger* и *Aspergillus terreus* [21, 22]. Возрастает этиологическое значение и других представителей мицелиальной микрофлоры, в частности *Mucor* spp., *Rhizopus* spp., *Rhizomucor* spp., *Fusarium* spp. [23–25].

Лабораторная диагностика грибковых поражений организма человека носит комплексный характер и включает в себя использование различных диагностических подходов [26]. В первую очередь производится микробиологический посев полученного из клинически значимых локусов биологического материала с последующей его инкубацией и проведением дальнейших исследований в случае роста грибковой флоры. При выявлении роста колоний грибов из исследуемых образцов биоматериала на чашках Петри с селективными питательными средами проводится их последующая идентификация с применением различных видов микроскопии мазка на стекле, с оценкой характера, скорости роста и морфологических особенностей колоний микромицетов, с изучением биохимических свойств дрожжевых микроорганизмов. Проводится также определение чувствительности выявленных грибковых патогенов к используемым антимикотическим лекарственным средствам. В последние годы активно применяется идентификация грибов при помощи масс-спектрометрии в варианте MALDI-TOF MS [27, 28]. В лабораторную практику



активно внедряются новые, так называемые некультуральные, диагностические подходы, включающие в себя определение специфических антигенов (маннана, галактоманнана и 1-3- β -D-глюкана) методами иммуноферментного и иммунохроматографического анализа, а также детекцию родо- и видоспецифичных участков генома возбудителей микозов при помощи амплификационного анализа в варианте ПЦР в режиме реального времени [29, 30].

■ ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Выявление этиологической структуры грибов, выделенных у детей с онкогематологической патологией из удаленных центральных венозных катетеров, и оценка их роли в возникновении сопутствующих КАИК.

■ МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Выделение и идентификация возбудителя из клинически значимых локусов (и в первую очередь из венозной крови) являются одним из базовых подходов в подтверждении клинического диагноза инвазивного микоза и служат «золотым стандартом» диагностики, несмотря на ограниченную чувствительность метода, обусловленную как количеством содержащихся в исследуемом образце микромицетов, так и степенью их повреждения применяемыми противогрибковыми препаратами. Принято считать, что эффективность выделения гемокультур не превышает 50% в большинстве микробиологических лабораторий [31].

Для выделения микрофлоры использовались дистальные (внутрисосудистые) концевые участки (длиной около 5 см) удаленных венозных катетеров преимущественно нетуннельного типа ЦВК. Клиническим показанием к удалению и последующему микробиологическому исследованию ЦВК были стойкая гипертермия и/или выраженные воспалительные явления в месте установки внутривенного устройства. Образцы диагностического материала забирались в асептических условиях в специальные закрывающиеся крышками стерильные емкости с последующей незамедлительной доставкой (не позднее 15 минут) в лабораторию и посевом на чашки Петри с различными твердыми питательными средами в виде кровяного агара, шоколадного агара, желточно-солевого агара, агара МакКонки, анаэробного агара, агара Сабуро (с добавлением хлорамфеникола и гентамицина сульфата), CHROMagar Candida, Brain Heart Infusion Agar, агара Чапека – Докса. В ходе посева каждый доставленный фрагмент катетера прокатывался четыре раза по поверхности питательной среды в чашке Петри при помощи стерильного пинцета с последующей термоинкубацией в условиях аэробного термостатирования при температуре в диапазонах $+30 \pm 2$ °C и $+35 \pm 2$ °C (в зависимости от используемой среды). Результат считался положительным при наличии роста 15 и более колоний микроорганизмов одного вида. Основной целью посева биологического материала на чашки Петри с селективными питательными средами являлось получение изолированных колоний так называемой чистой культуры потенциальных возбудителей инфекций кровотока.

В случае получения положительной гемокультуры грибов последующая первичная идентификация выросших микромицетов (как правило, на уровне родовой принадлежности, за исключением возможности определения отдельных видов кандид при использовании CHROMagar Candida) проводилась фенотипически путем оценки формы, консистенции и цвета грибковых колоний, температурного режима,

длительности термоинкубации и характера роста микроорганизмов. В свою очередь, для дальнейшего определения либо подтверждения видовой принадлежности выросших культур дрожжевых грибов использовались реагенты BBL Mycotube («Becton Dickinson», США), идентификационные планшеты Fongiscreen 4H («Sanofi Diagnostics Pasteur», Франция), диагностические планшеты API 20 Auxacolor и API ID32C для полуавтоматического оборудования miniAPI («bioMérieux», Франция) и идентификационные карты YST для автоматического микробиологического анализатора Vitek 2 Compact («bioMérieux», Франция). Для идентификации плесневой микрофлоры рутинно применялись способы фенотипической диагностики. В диагностически сложных случаях определения дрожжевых патогенов, а также в качестве дополнительного метода диагностики мицелиальных микромицетов использовался лабораторный анализ с применением технологии MALDI-TOF MS на автоматическом спектрофотометре Vitek MS.

■ РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В период с 2002 по 2021 г. были микробиологически исследованы на наличие патогенной и условно-патогенной микрофлоры 2053 дистальных внутрисосудистых концевых фрагмента ЦВК, удаленных по вышеуказанным клиническим показаниям. Анализ результатов выделения микромицетов из ЦВК с начала 2002 г. во многом был определен внедрением в этот период в рутинную практику работы микробиологической лаборатории Республиканского научно-практического центра детской онкологии, гематологии и иммунологии (Центр) алгоритма родовой и видовой идентификации микромицетов, включающего в себя использование комплекса питательных сред и диагностических реагентов в сочетании с оборудованием для автоматического культивирования, индикации и идентификации микрофлоры.

В общей сложности было выявлено 43 случая роста грибковой микрофлоры, идентифицированной в виде различных микромицетов дрожжевой (40 штаммов) и мицелиальной (3 штамма) этиологии. Были обнаружены 14 штаммов *Candida guilliermondii*, 13 штаммов *Candida parapsilosis*, по 4 штамма *Candida albicans* и *Candida pelliculosa*, 3 штамма *Candida krusei*, а также единичные штаммы *Malassezia furfur* и *Saccharomyces cerevisiae*. Плесневая микрофлора была представлена единичными культурами *Fusarium solani*, *Fusarium spp.* и *Epidermophyton spp.* (табл. 1, 2). С целью верификации выделения грибковой микрофлоры из ЦВК проведен дополнительный анализ результатов исследований по выделению гемокультур из образцов венозной крови, забранных в период от одного дня до двух недель до момента удаления катетера. В 40 изученных эпизодах выявлено полное этиологическое совпадение микромицетов, обнаруженных в крови и катетерах. В трех остальных случаях микробиологические исследования крови в указанный выше двухнедельный период не проводились. В одном из этих случаев обнаружение в ЦВК *Saccharomyces cerevisiae* впоследствии сопровождалось выявлением *Candida guilliermondii* при посеве крови, забранной через 6 дней, что позволяло рассматривать этот случай как вероятную контаминацию штаммом *Saccharomyces cerevisiae* ранее удаленного катетера. Проанализированы также посеvy венозной крови пациентов Центра, выполненные после экстракции ЦВК. При этом в 11 из 37 (29,73%) изученных случаев, наряду с отрицательными результатами высевов из крови микромицетов, отмечено клиническое улучшение состояния здоровья детей в течение 2 суток после удаления

Table 1
Etologic structure of fungal pathogens isolated in removed CVCs

Наименование грибовых патогенов		Количество выделенных дрожжевых культур в период с 2002 по 2021 год														Всего					
		2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015		2016	2017	2018	2019	2020
	<i>C. albicans</i>					1					1	2									4 (9,30%)
	<i>C. guilliermondii</i>		1	2				2		3	6										14 (32,55%)
	<i>C. parapsilosis</i>					4		2			1	4	1	1							13 (30,23%)
	<i>C. krusei</i>	1		2																	3 (6,97%)
	<i>C. pelliculosa</i>										1	1	2								4 (9,30%)
	<i>Malassezia furfur</i>											1									1 (2,33%)
	<i>Epidermophyt. spp</i>			1																	1 (2,33%)
	<i>Saccharomyc. cer.</i>							1													1 (2,33%)
	<i>Fusarium solani</i>											1									1 (2,33%)
	<i>Fusarium spp.</i>																				1 (2,33%)
0	ИТОГО	0	1	1	5	1	4	0	5	0	3	10	8	4	1	0	0	0	0	0	43 (100%)

Table 2
Prevalence of fungal pathogens isolated in removed CVCs

Количество	Годы																Всего			
	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017		2018	2019	2020
Грибковых патогенов	0	1	1	5	1	4	0	5	0	3	10	8	4	1	0	0	0	0	0	43
Посевов ЦВК	116	113	109	126	101	74	84	117	122	142	203	219	171	178	50	16	30	24	23	35
В процентах	0	0,88	0,92	3,97	0,99	5,41	0	4,27	0	2,11	4,93	3,65	2,34	0,56	0	0	0	0	0	2,09

из вены сосудистого устройства, тем самым это позволило предположить возможность наличия причинной связи установки и использования ЦВК с возникновением и поддержанием грибковой инфекции. Лишь в одном случае было получено лабораторное подтверждение КАИК благодаря одновременному выделению одноименного возбудителя из удаленного ЦВК и из периферической крови. На возможность классификации в виде КАИК случаев связанной с ЦВК генерализованной инфекции без высева гемокультуры из крови, но при наличии положительных результатов микробиологического посева удаленного ЦВК и улучшения клинической картины заболевания в течение 48 часов после удаления катетера указано в клинических рекомендациях Министерства здравоохранения Российской Федерации «Профилактика катетер-ассоциированных инфекций кровотока и уход за центральным венозным катетером (ЦВК)» (Москва, пересмотр 2021 г.).

Обращает также на себя внимание крайне неравномерная частота выявления грибковой микрофлоры – от полного отсутствия до 10 случаев в год. Максимальная эффективность обнаружения микромицетов в удаленных ЦВК не превышает 5,41%, составляя в целом 2,11% за 20-летний период времени. Одной из причин отсутствия положительных высевок грибов из ЦВК с 2016 г. является разработка и внедрение в Центре программы профилактического назначения противогрибковых лекарственных средств пациентам с высоким риском развития инвазивных микозов. С учетом низкой эффективности выделения микромицетов из удаленных катетеров, была также изменена тактика выявления КАИК, заключающаяся в максимальном сокращении трудоемких исследований экстрагированных ЦВК и применении параллельных посевов венозной крови из катетера и периферической вены с последующей фиксацией в автоматическом режиме времени появления роста гемокультур.

■ ВЫВОДЫ

1. Дрожжеподобные грибы являются основными грибковыми патогенами (93,02%), выделенными из удаленных ЦВК у детей с сопутствующими инфекционными осложнениями на фоне основной онкогематологической патологии.
2. Суммарная частота обнаружения микромицетов в удаленных ЦВК крайне низка (2,09%) и не превышает 5,41% в год.
3. Наиболее часто обнаруживаемыми в исследуемом биологическом материале дрожжевыми микромицетами являются *Candida guilliermondii* (32,55%) и *Candida parapsilosis* (30,23%). Удельный вес широко распространенной в окружающей среде *Candida albicans* составляет всего 9,30%.
4. Мицелиальные грибы, выделенные при микробиологических исследованиях ЦВК, представлены единичными культурами представителей родов *Fusarium* и *Epidermophyton*.
5. Грибковая КАИК, лабораторно подтвержденная путем одновременного микробиологического выявления одноименного патогена в удаленном ЦВК и в периферической венозной крови, обнаружена лишь в одном случае.
6. Несмотря на отсутствие необходимого лабораторного подтверждения, ряд случаев (11 из 36) выявленных инфекций кровотока были предположительно оценены в качестве ассоциированных с катетеризацией ЦВК венозной сети на основании констатации существенного улучшения клинической картины инфекционного



осложнения в течение 48 часов с момента экстракции катетера и дополнительного установления отсутствия выделения гемокультур грибов при исследовании венозной крови в этот период времени.

■ ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Leontiev D.V., Serbin A.G., Rosikhin V.V. *Medical Mycology with Fundamentals of Mycotoxicology*. Kharcov, Ukraine. 2010; 142 p. (in Russian)
2. Bongomin F., Gago S., Oladele R.A., Denning D.W. Global and Multi-National Prevalence of Fungal Diseases – Estimate Precision. *Journal of Fungi*. 2017;3(4):57. doi: 10.3390/jof3040057
3. Tomas-Rudell D.O., Schlattmann P., Pletz M. Risk Factors for Invasive Candida Infection in Critically Ill Patients: A Systematic Review and Meta-analysis. *Chest*. 2022;161(2):345–355. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.chest.2021.08.081>
4. Von Lilienfeld-Toal M., Wagener J., Einsele H. Invasive fungal infection. *Deutsches Arzteblatt International*. 2019;116(16):271–278. doi: 10.3238/arztebl.2019.0271
5. Palese E., Nudo M., Zino G. Cutaneous candidiasis caused by *Candida albicans* in a young non-immunosuppressed patient: an unusual presentation. *International Journal of Immunopathology and Pharmacology*. 2018;32:1–4. doi: 10.1177/2058738418781368
6. Gulhan B., Kanik-Yuksel S.A., Ozkaya-Parlakay A. Invasive fungal infection in children with hematologic malignancy. *The Turkish Journal of Pediatrics*. 2019;61:159–165. doi: 10.24953/turkijped.2019.02.002
7. Kazakou N., Vyzantiadis T.-A., Gambeta A. Invasive fungal infections in pediatric hematology-oncology department: A 16-year retrospective study. *Current Medical Mycology*. 2020;6(2):37–42. doi: 10.18502/CMM.6.2.2840
8. Khairat S.M., Sayed A.M., Nabich M. Prevalence of *Candida* blood stream infections among children in tertiary care hospital: detection of species and antifungal susceptibility. *Infection and Drug Resistance*. 2019;12:2409–2416. Available at: <http://doi.org/10.2147/IDR.S196972>
9. Supatharawanich S., Narkbunnam N., Vathana N. Invasive Fungal Diseases in Children with Acute and Severe Aplastic Anemia. *Mediterranean Journal of Hematology and Infectious Diseases*. 2021;13(1):e2021039. Available at: <http://dx.doi.org/10.4084/MJHD.2021.039>
10. Ostrosky-Zechner L., Al-Obaidi M. Invasive Fungal Infections in the Intensive Care Unit. *Infectious Diseases Clinics of North America*. 2017;475–487. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.idc.2017.05.005>
11. Xiao Z., Wang Q., Zhu F., An Y. Epidemiology, species distribution, antifungal susceptibility and mortality risk factors of candidemia among critically ill patients: a retrospective study from 2011 to 2017 in teaching hospital in China. *Journal of Antimicrobial Resistance and Infection Control*. 2019;8:89. Available at: <https://doi.org/10.1186/s13756-019-0534-2>
12. Yamin D.H., Husin A., Harun A. Risk Factors of *Candida parapsilosis* Catheter-Related Bloodstream Infection. *Frontiers in Public Health*. 2021;9:Article 631865. doi: 10.3389/fpubh.2021.631865
13. Styczynski J., Galazka P., Czyzewski K. High risk of invasive fungal diseases in children undergoing hematopoietic cell transplantation or complex anticancer therapy: adverse role of post-transplant CMV replication. *Acta Haematologica Polonica*. 2021;52(5):483–492. doi: 10.5603/AHPa.2021.0025
14. Rotte L.G.Y., Loeffen Y.G.T., Bierings M.B. Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation Is Feasible in Pediatric Patients with an Active or Recently Diagnosed Invasive Fungal Infection. *Transplantation and Cellular Therapy*. 2021;27:781.e1–781.e5. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.jtst.2021.06.015>
15. Monserenusorn C., Sritharaen T., Rujkijyanont P. Clinical Characteristics and Predictive Factors of Invasive Fungal Diseases in Pediatric Oncology Patients with Febrile Neutropenia in Country with Limited Resources. *Pediatric Health, Medicine and Therapeutics*. 2021;12:335–345. Available at: <https://doi.org/10.2147/PHMT.S299965>
16. Arslankouly A.E., Kuyucu N., Yilmaz B.S., Erdogan S. Symptomatic and asymptomatic candidiasis in a pediatric intensive care unit. *Italian Journal of Pediatrics*. 2011;37:56. Available at: <http://www.ijponline.net/content/37/1/56>
17. Surain P., Aggarwal N.K. *Candida*, a human pathogen and major types of candidiasis. *International Journal of Pharmaceutical Science and Research*. 2020;11(1):41–67. doi: 10.13040/IJPSR.0975-8232.10(1).41-67
18. Kotey F.C., Dayie N.T., Tetteh-Uarcoe P.B., Donkor E.S. *Candida* Bloodstream Infections: Changes in Epidemiology and Increase in Drug resistance. *Infectious Diseases: Research and Treatment*. 2021;14:1–5. doi: 10.1177/11786337211026927
19. Yang Y., Wu W., Ding L. Two different clones of *Candida pelliculosa* bloodstream in a tertiary neonatal intensive care unit. *The Journal of Infection in Developing Countries*. 2021;15(6):870–876. doi: 10.3855/jidc.12103
20. Berio I., Caceres D.H., Coronel R.W. Bloodstream Infections with *Candida auris* Among Children in Colombia: Clinical Characteristics and Outcome of 34 Cases. *Journal of Pediatric Infectious Diseases Society*. 2021;10(2):151–4. doi: 10.1093/jpids/piaa038
21. Goyeneche-Garcia A., Rodriguez-Oyuela J., Sanchez G., Firacative C. Clinical and Epidemiological Profile of Patients with Invasive Aspergillosis from a Fourth Level Hospital in Bogota, Colombia: A Retrospective Study. *Journal of Fungi*. 2021;7:1092. Available at: <https://doi.org/10.3390/jof7121092>
22. Rudramurthy S.M., Paul R.A., Chakrabarti A. Invasive Aspergillosis by *Aspergillus flavus*: Epidemiology, Diagnosis, Antifungal Resistance, and Management. *Journal of Fungi*. 2019;5(3):55. doi: 10.3390/jof5030055
23. Styczynski J., Czyzewski K., Frackiewicz J. Clinical spectrum and outcome mucormycosis in children and adults: Polish experience of decade 2010–2019. *Acta Haematologica Polonica*. 2020;51(3):157–163. doi: 10.2478/ahp-2020-0028
24. Jeong W., Keighley C., Wolfe R. The epidemiology and clinical manifestations of mucormycosis: a systematic review and meta-analysis of case reports. *Clinical Microbiology and Infection*. 2019;25(1):26–34. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2018.07.011>
25. Al-Hattai A.M.S., Sybren de Hoog G., Meis J.F. Multiresistant *Fusarium* Pathogens on Plants and Humans: solution in (from) the Antifungal Pipeline? *Infection and Drug Resistance*. 2019;12:3727–3737. Available at: <http://dx.doi.org/10.2147/IDR.S180912>
26. Cuenca-Estrella M., Kett D.H., Wauters J. Defining standards of CARE for invasive fungal diseases in the ICU. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2019;74(Suppl. 2):ii9–ii15. doi: 10.93/jac/dkz038
27. Honsig C., Seltsch B., Hollenstein M. Identification of Filamentous Fungi by MALDI-TOF Mass Spectrometry: Evaluation of Three Different Sample Preparation Methods and Validation of an In-House Species Cutoff. *Journal of Fungi*. 2022;8:383. Available at: <https://doi.org/10.3390/jof8040383>
28. Maenchantrath C., Nutralai D., Samosornuk W., Sakoonwatanyoo P. Identification of Yeast from Clinical Samples Using MALDI-TOF MS. *Vajira Medical Journal*. 2020;64(4):297–310. Available at: <http://dx.doi.org/10.4456/vmj.2020.29>
29. Lass-Flörl C., Samardzic E., Knoll M. Serology anno 2021 – fungal infections: from invasive to chronic. *Clinical Microbiology and Infection*. 2021;27:1230–1241. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2021.02.005>
30. Kord M., Salehi M., Khodavaisy S. Epidemiology of yeast species causing bloodstream infection in Tehran, Iran (2015–2017); superiority of 21-plex PCR over Vitek 2 system for yeast identification. *Journal of Medical Microbiology*. 2020;69:712–720. doi: 10.1099/jmm.0.001189
31. Clancy C.J., Nguyen M.H. Diagnosis Invasive Candidiasis. *Journal of Clinical Microbiology*. 2018;56:Issue 5. Available at: <https://doi.org/10.1128/JCM.01909-17>