



Titlul tezei de doctorat: Studiu privind contaminarea fungică a produselor alimentare și impactul lor asupra sănătății

Doctorand: Cighir Anca

Conducător de doctorat: Prof. Dr. Man Adrian

Context

Fungii filamentoși reprezintă o categorie largă de microorganisme eucariote, caracterizate prin prezența de filamente lungi, tubulare, numite hife, care formează miceliul. Aceștia sunt cunoscuți și sub denumirea de mucegaiuri și pot fi întâlniți ubicuitar în mediul înconjurător (sol, aer, apă), însă produc infecții numai la pacienții imunosupresați.

În patologie, fungii filamentoși sunt unele dintre cele mai de temut microorganisme, cauzând o varietate de infecții (localizate sau invazive) și fiind asociați cu o mortalitate ridicată.

În contextul actual în care fungii filamentoși reprezintă o temă de cercetare generoasă, mai puțin abordată în cercetări exhaustive, această teză de doctorat prezintă câteva aspecte importante legate de prezența lor în ierburile aromatice, epidemiologia acestor fungi în infecțiile umane și metode moderne de diagnostic.

Teza este constituită dintr-o parte introductivă care prezintă stadiul actual al cercetărilor în domeniu și trei studii majore, fiecare vizând să aducă informații noi și având propriul său impact asupra cunoașterii fungilor filamentoși.

Studiul I - Detectarea încărcăturii fungice și cu micotoxine a celor mai frecvent consumate ierburile aromatice cu frunze verzi din România: implicații asupra sănătății umane și a procesului de fabricare

Ierburile aromatice cu frunze verzi sunt predispuse la contaminare cu bacterii, levuri și fungi filamentoși. La pacienții sănătoși, expunerea prelungită la fungii filamentoși din mediu poate cauza reacții alergice. Un risc mai mare asupra sănătății umane, îl au în schimb produșii secundari de metabolism ai acestor fungi filamentoși, micotoxinele.

Scopul acestui studiu este de a detecta încărcătura fungică a celor mai frecvent folosite ierburile aromatice cu frunze verzi din România, precum și detectarea respectiv cuantificarea a trei dintre cele mai importante micotoxine (aflatoxina B1, ocratoxina A și zearalenona), toate cu potențial impact asupra sănătății umane. Studiul sintetizează de asemenea și influența unor factori de risc ambientali cum ar fi umiditatea, care pot afecta gradul de contaminare al acestor ierburile aromatice, precum și influența prețului acestor produse asupra contaminării cu fungi și micotoxine a lor.

Din totalul de 21 de probe studiate, șase (28,57%) au fost pozitive înregistrând diferite grade de contaminare fungică. Cel mai frecvent contaminant fungic au fost speciile din genul *Aspergillus* (*secțiunea Flavi* și *secțiunea Nigri*) urmate de specii din genurile *Rhizopus*, *Absidia* și *Penicillium*.

În medie, toate ierburile aromatice au suferit un grad de contaminare cu cel puțin una dintre cele trei micotoxine. Aflatoxina B1 a fost detectată peste limita admisă de 5 $\mu\text{g/kg}$ în 95,24% dintre ierburile aromatice, ocratoxina A a fost peste limita admisă de 15 $\mu\text{g/kg}$ în toate probele iar zearalenona a fost detectată peste limita admisă de 50 $\mu\text{g/kg}$ în 85,71% dintre produsele studiate. În ansamblu, umiditatea medie a ierburilor aromatice a fost 11,25%, cu un maxim de 14,99%.



Studiul al II-lea - Prevalența și impactul infecțiilor cu fungi filamentoși înaintea și în timpul pandemiei COVID-19

În trecut, majoritatea infecțiilor fungice erau cauzate de levuri, mai ales de specii din genul *Candida*, dar în ultima vreme, datorită creșterii duratei medii de viață a populației, și alături de aceasta și a factorilor de risc asociați au fost identificate noi microorganisme patogene.

Scopul acestui studiu este evaluarea prevalenței infecțiilor cu fungi filamentoși într-un spital terțiar din municipiul Târgu Mureș, România, precum și a corelației dintre vârstă, factori de risc (boli subiacente) și asocierea lor cu prezența acestor agenți patogeni fungici. De asemenea, s-a studiat influența pandemiei cu virusul SARS-CoV-2 asupra numărului de micoze cu fungi filamentoși.

Acest studiu retrospectiv observațional s-a desfășurat într-un singur centru universitar, cu colectarea datelor din cadrul Compartimentului de Bacteriologie al Laboratorului de Analize Medicale din Spitalul Clinic Județean Mureș și a evaluat peste 20.000 de probe biologice din care s-au efectuat examinări microbiologice în perioada 1 ianuarie 2012 - 1 noiembrie 2022.

Din totalul de 68 de probe pozitive în care am identificat fungi filamentoși, 41 au făcut parte din grupul secrețiilor purulente și 27 au fost secreții din tractul respirator. În cazul secrețiilor purulente, numărul cel mai mare a fost reprezentat de secrețiile otice (32,35%), în timp ce dintre secrețiile respiratorii, secrețiile traheale de pe canule orotraheale au fost infectate în 20,59% dintre cazuri. Cel mai întâlnit fung filamentos a fost *Aspergillus secțiunea Flavi*. Distribuția pe grupele de vârstă a arătat o creștere a numărului de cazuri de infecție cu fungi filamentoși proporțională cu înaintarea în vârstă.

În perioada anilor pandemici, numărul de probe pozitive pentru infecții cu fungi filamentoși a înregistrat o creștere, de la un număr de aproximativ 4,75 cazuri de infecție/an înaintea pandemiei la 10 cazuri/an în perioada pandemiei, cel mai frecvent întâlnit fung filamentos în cazul pacienților cu COVID-19 fiind tot *Aspergillus secțiunea Flavi*. S-a observat de asemenea, o corelație semnificativă între numărul de pacienți care au prezentat simultan infecția cu fungi filamentoși și virusul SARS-CoV-2 și creșterea ratei de mortalitate ($p < 0,0001$; $OR = 24,5$).

Studiul al III-lea - Implicarea speciilor din genul *Fusarium* în patologia umană: diferențierea dintre colonizare și infecție

Fusarium este un gen fungic extrem de răspândit, mai ales în zonele nordice temperate, ce prezintă o distribuție endemică globală, putând fi găsit ubicuitar în mediul înconjurător. La om, *Fusarium* spp. cauzează o varietate de infecții, manifestările acestora fiind dependente de locul de pătrundere în organism și de statusul imunitar al gazdei. La pacienții imunocompetenți este cel mai comun agent etiologic al infecțiilor superficiale cum ar fi keratitele sau onicomicozele, în timp ce la pacienții cu imunosupresie severă, sunt mai frecvente infecțiile invazive.

Diagnosticarea fusariozei poate fi o provocare, dar aceste infecții sunt de obicei suspionate după o examinare clinică atentă combinată cu investigațiile de laborator la un pacient care prezintă factori de risc.

Scopul acestui studiu este de a prezenta metodele comune și complementare de diagnostic ale infecțiilor cu *Fusarium* spp., metode care, prin asocierea cu examenul clinic pot aduce informații importante în diferențierea dintre colonizare și infecție atunci când se încearcă stabilirea unui diagnostic final.

Studiul prezintă două cazuri particulare de infecție, respectiv colonizare cu *Fusarium* spp. și metodele prin care tulpinile au fost identificate:

- examen macroscopic respectiv microscopic al culturii pentru identificare la nivel de gen;
- MALDI-TOF pentru identificare la nivel de specie;
- diagnostic molecular folosit atât ca alternativă la metodele clasice de identificare la nivel de gen (amplificarea genei *Tri13*) cât și pentru deosebirea tulpinilor izolate între ele (ERIC-PCR).