

Rolul ecografiei transtoracice în diagnosticul infecțiilor fungice invazive la pacientul cu leucemie acută

The role of chest ultrasound in diagnosing invasive fungal infections in acute leukemia patients

Ana-Maria NEAGU, Ana-Maria VLĂDĂREANU, Horia BUMBEA, Diana CÎȘLEANU, Cristina CIUFU, Cristina MARINESCU, Minodora ONISĂI, Mihaela GĂMAN

Clinica de Hematologie, Spitalul Universitar de Urgență, București

REZUMAT

Pacienții cu leucemie acută, categoria cu riscul cel mai mare de a dezvolta infecții fungice invazive, prezintă rate înalte de morbiditate și mortalitate cauzate de aceste complicații. Diagnosticul acestor infecții trebuie să fie exact și cât mai precoce. În acest sens, metode non-invazive, rapide, disponibile permanent și cu cost redus sunt căutate. Diagnosticul imagistic are o importanță majoră, examenul computer tomograf fiind standardul de aur. Ecografia transtoracică întrunește multe dintre condițiile necesare, oferă informații valoroase și perfect superpozabile examenului computer tomograf toracic. Inițierea tratamentului antifungic are rezultate net superioare față de terapia empirică, ameliorând rata de supraviețuire a acestor pacienți.

Cuvinte cheie: infecție pulmonară invazivă, leucemie acută, ecografie transtoracică

ABSTRACT

Acute leukemia patients are the category of highest risk to develop invasive fungal infections, have high morbidity and mortality rates related to these complications. The diagnosis of these infections must be accurate and early. That is the main reason for searching non-invasive, fast, available and low cost diagnostic methods. Imagistic diagnosis is essential, computer tomography is the gold standard. Chest ultrasound has most of these characteristics, offers valuable informations and they are accurate when compared to the chest tomography results. The decision to initiate antifungal therapy is significantly better than the empirical therapy, having lower mortality rate among these patients.

Keywords: invasive fungal infections, acute leukemia, chest ultrasound

Adresa de corespondență:

Dr. Ana-Maria Neagu, Spitalul Universitar de Urgență, Splaiul Independenței nr. 169, sector 5, București
E-mail: dr.amneagu@gmail.com

INTRODUCERE

Din întreaga patologie onco-hematologică, pacienții cu leucemie acută reprezintă categoria cu cel mai înalt risc de apariție a infecțiilor fungice invazive, iar incidența maximă este în rândul pacienților cu leucemie acută mieloblastică. Infecțiile fungice invazive (IFI) sunt principala cauză de morbiditate și mortalitate în cazul acestor pacienți. Incidența în creștere din ultimii ani se datorează cel mai probabil ameliorării ratei de supraviețuire a pacientului cu leucemie acută, în paralel cu progresele în terapia suportivă, abordarea mai eficientă a infecțiilor bacteriene, protocoalele intensive de chimioterapie și accesibilitatea mai mare la transplantul de celule stem hematopoietice (1,2).

EPIDEMIOLOGIE

Rata probabilității de a dezvolta o IFI era în 2010 aproximată la 11,1% în primele 100 de zile după stabilirea diagnosticului de leucemie acută. (3)

Pacienții care efectuează tratament specific pentru neoplazii hematologice au o mortalitate de aproximativ 35% atribuită IFI. (4) Este cunoscut faptul că aceste infecții sunt subdiagnosticate. Se apreciază că numai 25% din IFI apărute la pacienții cu neoplazii hematologice sunt identificate antemortem, restul fiind diagnosticate postmortem prin efectuarea autopsiei. (5)

Scăderea mortalității secundare IFI pare a fi datorată diagnosticului mai precoce, utilizând biomarkerii serologici și biopsia ghidată prin intermediul examenului computer tomografic, profilaxiei antifungice, precum și tratamentul prompt cu antifungice cu spectru larg și cu toxicitate mai redusă. (6)

Majoritatea infecțiilor cu mucegaiuri, respectiv 90% dintre ele, sunt infecții cu specii de *Aspergillus*, precum *A. fumigatus* și *A. flavus*. Mucormicozele se situează pe locul trei ca frecvență între IFI la pacienții cu neoplazii hematologice și la primitorii de transplant de celule stem hematopoietice. Speciile de *Zycomycetes* și *Fusarium* sunt implicate fiecare în aproximativ 4% dintre cazuri, iar restul se datorează speciilor de *Scedosporium*, *Acremonium*, *Penicillium* și *Cladosporium*. În privința candidozelor, 50% dintre cazuri sunt infecții cu specii de *Candida non-albicans*. Restul infecțiilor au drept agenți etiologici specii de *Cryptococcus* 4%, *Trichosporon* 4%, *Rhodotorula* și *Hansenula* 1%. (7)

IFI pot fi localizate la nivelul unui organ sau diseminate. Cele mai frecvente sedii ale infec-

țiilor sunt pulmonar și la nivelul sinusurilor. Candidozele invazive sunt frecvent identificate în sânge prin hemoculturi pozitive, aspergiloza invazivă este adesea la nivel pulmonar sau sinusal, în timp ce mucormicozele sunt cerebrale, pulmonare, cutanate, gastrointestinale și diseminate. Mortalitatea cea mai ridicată este atribuită mucormicozelor cerebrale, gastrointestinale și diseminate, respectiv 80-100%, în timp ce aspergilozele și candidozele au o rată de 20-50%. (3,8)

DIAGNOSTIC

În funcție de gradul de certitudine al diagnosticului de IFI, aceste infecții sunt împărțite în: dovedite, probabile sau posibile. Această clasificare se bazează pe trei elemente – factorii de risc legați de gazdă, dovezile microbiologice și elementele de diagnostic imagistic. (9)

1. Factorii de risc

Printre factorii de risc legați de gazdă, cei mai frecvent implicați sunt: internarea în Unități de Terapie Intensivă, imobilizarea prelungită, malnutriția, antibioterapia prelungită, tratamentul imunosupresor intens, prezența mucozei, radioterapia, primitorii de transplant de celule stem hematopoietice. (10)

2. Diagnosticul microbiologic

Diagnosticul IFI presupune identificarea fungilor prin culturi pozitive, asociat cu semnele leziunii tisulare – clinice, imagistice, bioptice. Prezența fungilor la nivelul mucoaselor, sinusurilor sau urinei poate semnifica contaminare sau colonizare. Totuși, două uroculturi pozitive în absența unui cateter vezical reprezintă element de diagnostic pentru candidoză invazivă la nivelul tractului urinar. Dacă aceasta asociază prezența de semne clinice, ea este clasificată ca infecție dovedită, în timp ce absența acestora o clasifică drept infecție probabilă. (9)

Dovezile microbiologice sunt extrem de utile, însă acestea necesită proceduri invazive pentru obținerea de probe de la pacienți cu leucemie acută, care au multiple comorbidități sau coagulopatii asociate. (1) În plus, izolarea speciilor fungice necesită mult timp, apar frecvent erori legate de recoltarea probelor, apar interferențe cu antifungicele administrate profilactic sau empiric și culturile pot fi fals negative. (11)

Markerii serologici sunt reprezentați de 1,3-Beta-D-Glucan (BG) și Galactomanann.

Testul pentru 1,3-Beta-D-Glucan are pentru diagnosticul IFI o sensibilitate de 95% și o specificitate de 85% la o valoare de cut-off de 30 pg/ml. (12) Utilitatea acestui test este limitată de faptul că nu identifică o specie anume de fungi și de faptul că speciile de Zygomycetes produc nivele scăzute de BG. (13) Rezultate fals pozitive apar datorită tratamentului antibiotic concomitent cu cefalosporine, carbapenemi, Ampicilină-Sulbactam, dializă, infecția cu *Pseudomonas aeruginosa* sau terapie antifungică. (14,15)

Galactomanannul (GM) este o parte componentă a peretelui celular al *Aspergillus*. Detecția acestuia în serul pacienților imunocompromiși este folosit pe scară largă pentru diagnosticul precoce al aspergilozei invazive, cu aplicație practică în terapia antifungică preemptivă la pacientul cu neutropenie febrilă. (16) Sensibilitatea testului variază între 30-100%, iar specificitatea sa este de peste 75%. (17) Determinarea seriată este utilă pentru monitorizarea răspunsului la tratament, cu condiția ca infecția să fie dovedită. (18) Se cunosc reacții încrucișate cu specii de *Fusarium*, *Penicillium* și *Cladosporium*. (19)

3. Diagnosticul imagistic

Diagnosticul imagistic cuprinde elemente de ecografie (US), computer tomografie (CT) și rezonanță magnetică nucleară (RMN).

Examenul CT reprezintă standardul de aur în diagnosticul imagistic al afecțiunilor pulmonare. Principalele tipuri de leziuni sugestive pentru IFI sunt: semnul haloului, nodulii pulmonari, leziunile cavitare și semnul „air-crescent”. (20) Dezavantajele majore sunt disponibilitatea limitată și necesitatea transportului unui pacient care este adesea în stare critică și cu neutropenie severă. (21)

Ecografia transtoracică este utilizată tot mai des în diagnosticul patologiei pulmonare la pacientul în stare critică, date fiind disponibilitatea investigației, faptul că este noninvazivă, nu utilizează radiații X, timpul de examinare este redus, are cost scăzut și se poate efectua la patul pacientului. (22) Astfel, pot fi diagnosticate consolidări pulmonare, mase tumorale aflate în vecinătatea pleurei, revărsate pleurale și pneumotoraxul. (23)

ECOGRAFIA TRANSTORACICĂ

Examinarea ecografică transtoracică se bazează pe câteva principii simple. Fiind de regulă un pacient în stare critică, nu sunt necesare aparate sofisticate, cu rezoluție înaltă, care ar

putea să nu fie disponibile în orice moment. În torace, aerul și lichidul sunt în poziții opuse, iar în situații patologice ele se amestecă, generând artefacte. (22) Din punct de vedere anatomic, plămânii se află în spatele coastelor, omoplaților și vertebrelor. Parenchimul pulmonar conține aer, care reflectă ultrasunetele. Toracele are o suprafață destul de întinsă, astfel încât se examinează câteva zone de elecție standardizate. (24) De aceea, utilitatea metodei se limitează la leziuni aflate în fereastra ecografică, denumite leziuni-țintă. (25)

Astfel, leziunile care pot fi decelate ecografic sunt cele care aparțin peretelui toracic, pleurei sau se află în contact direct cu aceasta, diafragmului și cele ale parenchimului pulmonar accesibile prin fereastra ecografică. (25-27)

Examinarea se poate efectua cu orice ecograf, utilizând modul M și sondele convexă și lineară. (27) Pacientul este examinat în poziție declivă sau în șezut. Dacă pacientul este imobilizat la pat, poate fi examinat și în decubit lateral. Se efectuează un screening al întregului torace atât transversal, cât și longitudinal, de-a lungul spațiilor intercostale, pentru identificarea unor potențiale leziuni. Ele pot fi descrise din punct de vedere al localizării, ecogenității și vascularizației utilizând Dopplerul color. (28)

Aspectul ecografic normal al peretelui toracic este reprezentat de multiple straturi de țesut moale, format din mușchi și fascii. Stratul următor este linia pleurei, cu cele două foițe – parietală și viscerală, separate printr-un spațiu virtual de maximum 2 mm grosime. (22,29) În timpul mișcărilor respiratorii are loc o alunecare a celor două foițe denumită „lung-sliding”. (27,30) Toate semnele patologice pornesc de la nivelul liniei pleurale. Semnele statice sunt în principal artefacte. (31,32)

Ecografia transtoracică este standardizată prin protocolul BLUE, bazat pe 10 semne importante – semnul liliacului, liniile A, lung-sliding, semnul quad, semnul sinusoid, semnul tisular-like, semnul liniei întrerupte, liniile B, semnul stratosferei și punctul pulmonar. Acestea permit de regulă investigarea sindroamelor de insuficiență respiratorie acută în secțiile de Terapie Intensivă. (24)

Prezența semnului liliacului, care rezultă din linia pleurală și imaginea coastelor superioară și inferioară, este principalul reper vizibil permanent pe parcursul examinării. El reprezintă pleura parietală. Suprafața pulmonară normală asociază lung-sliding, iar artefactele ce apar pe orizontală dinspre linia pleurei prin prezența aerului se numesc liniile A. În modul M, linia

pleurală apare în două moduri diferite și demonstrează prezența semnului fiziologic lung-sliding. (24,33)

Semnul quad și semnul sinusoidei evidențiază întotdeauna prezența unui revărsat pleural și sunt utile pentru ghidarea puncției pleurale. (34) Consolidările pulmonare ating în 98% dintre cazuri peretele toracic. (35) Semnul care le evidențiază este semnul ticular-like, reprezentând faptul că țesutul examinat are aspectul unui țesut solid, precum cel hepatic sau splenic. De asemenea, apare semnul liniei întrerupte, care marchează granița între țesutul sănătos, plin cu aer, și cel patologic prin prezența consolidării. Aceste semne au o sensibilitate de 90% și o specificitate de 98% pentru diagnosticul pozitiv al pneumoniilor. (33,35)

Liniile B facilitează diagnosticul extrem de dificil al sindroamelor interstițiale. Ele sunt definite de șapte caracteristici – este un artifact sub forma unei cozi de cometă, încep întotdeauna din linia pleurală, sunt foarte bine definite, hiperecogene, lungi (nu pălesc pe lungime), nu respectă liniile A, se mișcă odată cu mișcările respiratorii evidențiate prin lung-sliding. (36) Prin compararea rezultatelor obținute ecografic cu cele ale examinării radiologice și examenul CT, prezența a minimum 3 linii B într-un spațiu intercostal relevă patologia interstițiului cu o precizie de 93% și sunt superpozabile cu liniile Kerley-B (37,38). Dacă sunt prezente 6-8 linii B, se suprapun perfect zonelor cu imagine de sticlă mată obținute la examenul CT. (37)

Diagnosticul de pneumotorax se bazează pe 3 elemente – absența lung-slidingului asociat cu prezența liniilor A și a punctului pulmonar. Absența lung-slidingului are o sensibilitate de 95% și 100% valoare predictivă negativă. (30) Punctul pulmonar este patognomic, absolut necesar pentru diagnosticul pozitiv și este util pentru aprecierea volumului pneumotoraxului. (39)

Protocolul BLUE efectuat pentru evaluarea rapidă, în doar 3 minute, a unui pacient dispneic, critic, care este internat într-un serviciu de Terapie intensivă permite identificarea principalelor cauze de insuficiență respiratorie acută cu o acuratețe a diagnosticului de 90,5%.

Astfel, pneumonia, edemul pulmonar, tromboembolismul pulmonar sau pneumotoraxul pot fi diferențiate printr-o metodă rapidă, disponibilă la patul pacientului, care nu aduce o doză de iradiere. (40)

Diagnosticul infecțiilor pulmonare la pacienții imunocompromiși, în special cel diferențial al infecțiilor invazive pulmonare – fungice sau bacteriene la pacienții cu neoplazii hematologice trebuie efectuat precoce și cât mai precis. De acuratețea acestui diagnostic depinde adesea evoluția pacientului. Schimbările efectuate în protocoalele din cadrul transplantului de celule stem hematopoietice (CSH), care au inclus profilaxie anti-Candida spp. și antivirală au indus modificările epidemiologice survenite la pacienți în perioada post transplant. Cea mai frecventă IFI la acești pacienți este aspergiloza invazivă. În Tabelul 1 sunt prezentate principalele elemente de diagnostic ale IFI pulmonare la pacientul cu neoplazie hematologică – fie neutropenic sau posttransplant CSH. În perioada de neutropenie, semnele clinice sugestive sunt febra, tusea, durerea toracică de tip pleuritic. Examenul CT relevă semnul haloului, încă din stadiile incipiente ale infecției, iar testul Galactomanann negativ exclude de regulă infecția, având sensibilitate 70% și specificitate 92%. Dacă pacientul se află în perioada posttransplant CSH, febra apare mai rar – în 30% dintre cazuri, aspectul CT apare în numai 40% dintre cazuri, iar testul Galactomanann are sensibilitate mai scăzută, fiind fals pozitiv în prezența bolii grefă-contragazdă la nivelul tubului digestiv – Tabelul 1. (41)

În acest diagnostic, ecografia transtoracică își găsește un rol crucial. Astfel, principalele elemente de diagnostic – clinic, serologic, imagistic pot fi corelate și integrate, determinând decizia terapeutică. În 2014 s-a ajuns la un consens european (EUROSON 2014) privind principalele semne ecografice ale pneumoniilor – bacteriene sau fungice. Dacă etiologia pneumoniei este fungică, există câteva indicii, precum marginile anfractuozitate, greu vizibile ale leziunii pulmonare, ecostructura neomogenă, diminuată față de cea a organelor solide precum

TABELUL 1. Diagnosticul infecției fungice invazive (IFI) pulmonare

IFI pulmonară	Pacient neutropenic	Pacient post transplant CSH
Tablou clinic	Febră, tuse, durere toracică pleuritică	Febră în aprox. 30% dintre cazuri, tuse, dispnee
Modificări imagistice	Angioinvazie, aspect de infecție pulmonară	Angioinvazie, aspect de bronhopneumonie
Semnul haloului	Prezent de regulă, apare precoce	Prezent în 40% dintre cazuri
Testul Galactomanann	Sensibilitate 70%, specificitate 92%	Fals pozitiv la pacienții cu boală-grefă-contragazdă la nivelul tubului digestiv

TABELUL 2. Modificările ecografice în cazul infecțiilor pulmonare bacteriene sau fungice

Modificări ecografice	Pneumonie bacteriană	Pneumonie fungică
Marginile leziunii	Clar vizibile, neregulate	Adesea greu vizibile
Ecostructură	Similară organelor solide, omogenă	Mai scăzută decât a organelor solide, neomogenă
Linia pleurală	Absentă	Absentă
Lung sliding la nivelul consolidării	Absent	Absent
Bronhogramă aerică	Rar prezentă	Frecvent prezentă
Revărsat pleural	Poate fi prezent	Frecvent prezent
Modificări în zonele adiacente consolidării	De regulă, nici una	Frecvent modificări ale interstițiului

ficatul, linia pleurală nu poate fi vizualizată, există adesea revărsat pleural, bronhogramă aerică și modificări ale interstițiului din jurul leziunii.

Acestea sunt rezumate în Tabelul 2.

TRATAMENTUL IFI INVAZIV

Terapia antifungică empirică se instituie la pacientul cu neutropenie febrilă după 3-5 zile de antibioterapie cu spectrul larg, dacă febra persistă. (42)

Terapia antifungică preemptivă este bazată pe rezultatul examenelor paraclinice – teste serologice, modificări imagistice tipice, spre exemplu semnul haloului. (43,44) Terapia antifungică este ținută împotriva principalelor specii de fungi implicate în etiologia IFI la pacientul cu neoplazie hematologică – *Aspergillus*, *Candida*, *Cryptococcus*, *Scedosporium*, *Fusarium*, *Zygomycetes* și *Trichosporon*. Tratamentul poate fi completat la nevoie cu tratament chirurgical (45), instilații cu antifungice (46), embolizări (47), factori de creștere granulocitari (48), imu-

noterapie cu limfocite T (49) sau transfuzia de concentrate leucocitare (50).

DISCUȚII

Ecografia transtoracică, utilizată în protocoalele referitoare la diagnosticul insuficienței respiratorii acute la pacientul internat în Clinica de Terapie Intensivă necesită implementare și în protocolul de diagnostic al IFI la pacientul hematologic aflat în categoria de risc înalt.

CONCLUZII

Un diagnostic rapid, prin metode noninvasive, repetabile, necostisitoare poate determina rate mai mari de răspuns complet la terapia antifungică, pot fi utile în monitorizarea, precum și în individualizarea terapiei, cu scopul final al unei rate de supraviețuire superioară a pacienților cu leucemii acute, atât pe perioada chimioterapiei, cât și în perioada efectuării transplantului de celule stem hematopoietice.

BIBLIOGRAFIE

- Leventakos K., Lewis R.E., Kontoyiannis D.P. Fungal infections in leukemia patients: how do we prevent and treat them? *Clin Infect Dis* 2010; 50:405-415.
- Bow, E.J. Considerations in the approach to invasive fungal infection in patients with haematological malignancies. *Br J Haematol* 2008;140:133-152.
- Hammond S.P., Marty F.M., Bryar J.M., DeAngelo D.J., Baden L.R. Invasive fungal disease in patients treated for newly diagnosed acute leukemia. *Am J Hematol* 2010; 85:695-699.
- Auberger J., Lass-Flörl C., Ulmer H., Nogler-Semenitz E., Clausen J., Gunsilius E. Significant alterations in the epidemiology and treatment outcome of invasive fungal infections in patients with hematological malignancies. *Int J Hematol* 2008; 88:508-515.
- Chamilos G., Luna M., Lewis R.E., Bodey G.P., Chemaly R., Tarrand J.J. et al. Invasive fungal infections in patients with hematologic malignancies in a tertiary care cancer center: an autopsy study over a 15-year period (1989-2003). *Haematologica* 2006; 91:986-989.
- Auberger J., Lass-Flörl C., Ulmer H., Nogler-Semenitz E., Clausen J., Gunsilius E. et al. Significant alterations in the epidemiology and treatment outcome of invasive fungal infections in patients with hematological malignancies. *Int J Hematol* 2008; 88:508-515.
- Pagano L., Caira M., Candoni A., Offidani M., Fianchi L., Martino B. et al. The epidemiology of fungal infections in patients with hematologic malignancies: the SEIFEM-2004 study. *Haematologica* 2006; 91:1068-1075.
- Betts R., Glasmacher A., Maertens J., Maschmeyer G., Vazquez A., Tepler H. et al. Efficacy of Caspofungin against invasive *Candida* or invasive *Aspergillus* infections in neutropenic patients. *Cancer* 2006; 106:466-473.
- Ascioglu S., Rex J.H., de Pauw B., Bennett J.E., Bille J., Crokaert F. et al. Defining opportunistic invasive fungal infections in immunocompromised patients with cancer and hematopoietic stem cell transplants: an international consensus. *Clin Infect Dis* 2002;34:7-14.
- Maschmeyer G. The changing epidemiology of invasive fungal infections: new threats. *International Journal of Antimicrobial Agents* 2006;S3-S6.
- Hayden R.T., Isotalo P.A., Parrett T., Wolk D.M., Qian X., Roberts G.D. et al. In situ hybridization for the differentiation of

- Aspergillus, Fusarium and Pseudallescheria species in tissue section. *Diagn Mol Pathol* 2003; 12:21-26.
12. **Obayashi T., Negishi K., Suzuki T., Funata N.** Reappraisal of the serum (1,3)-beta-D-glucan assay for the diagnosis of invasive fungal infections – a study based on autopsy cases from 6 years. *Clin Infect Dis* 2008;46:1864-1870.
 13. **Pickering J.W., Sant H.W., Bowles C.A., Roberts W.L., Woods G.L.,** Evaluation of a (1,3)-beta-D-glucan assay for diagnosis of invasive fungal infections. *J Clin Microbiol* 2005; 43: 5957-5962.
 14. **Mennink-Kersten M.A., Ruegebrink D., Verweij P.E.** Pseudomonas aeruginosa as a cause of 1,3-beta-D-glucan assay reactivity. *Clin Infect Dis* 2008; 46:1930-1931.
 15. **Senn L., Robinson J.O., Schmidt S., Knaup M., Asahi N., Satomura S. et al.** 1,3-Beta-Dglucan antigenemia for early diagnosis of invasive fungal infections in neutropenic patients with acute leukemia. *Clin Infect Dis* 2008; 46: 878-885.
 16. **Barnes R.A., White P.L., Bygrave C., Evans N., Healy B., Kell J.** Clinical impact of enhanced diagnosis of invasive fungal disease in high-risk haematology and stem cell transplant patients. *J Clin Pathol* 2009; 62:64-9.
 17. **Pfeiffer C.D., Fine J.P., Safdar N.** Diagnosis of invasive aspergillosis using galactomannan assay: a meta-analysis. *Clin Infect Dis* 2006; 42:1417-27.
 18. **Koo S., Bryar J.M., Baden L.R., Marty F.M.** Prognostic features of galactomannan antigenemia in galactomannan-positive invasive aspergillosis. *J Clin Microbiol* 2010; 48:1255.
 19. **Tortorano A.M., Esposito M.C., Prigitano A., Grancini A., Ossi C., Cavanna C., et al.,** Cross-reactivity of Fusarium spp. in the Aspergillus Galactomannan enzyme-linked immunosorbent assay. *J Clin Microbiol* 2012; 50(3):1051.
 20. **Xirouchaki N., Magkanas E., Vaporidi K., et al.** Lung ultrasound in critically ill patients: comparison with bedside chest radiography. *Intensive Care Med* 2011; 37(9):1488-93.
 21. **Peris A., Tutino L., Zagli G., et al.** The use of point-of-care bedside lung ultrasound significantly reduces the number of radiographs and computed tomography scans in critically ill patients. *Anesth Analg* 2010; 111(3):687-92.
 22. **Soldati G., Sher S.** Bedside lung ultrasound in critical care practice. *Minerva Anesthesiol* 2009; 75(9):509-17.
 23. **Koenig S.J., Narasimhan M., Mayo P.H.** Thoracic ultrasonography for the pulmonary specialist. *Chest* 2011; 140(5):1332-41.
 24. **Lichtenstein D., Mezière G.** The BLUE-points: three standardized points used in the BLUE-protocol for ultrasound assessment of the lung in acute respiratory failure. *Crit Ultrasound J* 2011, 3:109-110.
 25. **Yang P.C.** Ultrasound-guided transthoracic biopsy of the chest. *Radiol Clin North Am* 2000; 38:323-43.
 26. **Yang P.C., Kuo S.H., Luh K.T.** Ultrasonography and ultrasound-guided needle biopsy of chest diseases: indications, techniques, diagnostic yields and complications. *J Med Ultrasound* 1993; 2:53-63.
 27. **Tsai T.H., Yang P.C.** Ultrasound in the diagnosis and management of pleural disease. *Curr Opin Pulm Med* 2003; 9:282-90.
 28. **Yang P.C.** Applications of colour Doppler ultrasound in the diagnosis of chest diseases. *Respirology* 1997; 2:231-8.
 29. **Mathis G.** Thoraxsonography – Part I: Chest wall and pleura. *Ultrasound Med Biol* 1997; 23:1131-9.
 30. **Lichtenstein D.A., Menu Y.** A bedside ultrasound sign ruling out pneumothorax in the critically ill. Lung sliding. *Chest* 1995; 108:1345-8.
 31. **Lichtenstein D.** Whole body ultrasonography in the critically ill. 2010th edition. Heidelberg, Berlin, New York: Springer-Verlag.
 32. **Lichtenstein D.** Classification of artifacts. In Whole Body Ultrasonography in the Critically Ill. Edited by Heidelberg, Berlin, New York: Springer-Verlag; 2010:185-188.
 33. **Lichtenstein D.** Lung ultrasound in the critically ill. *Annals of Intensive Care* 2014, 4:1
 34. **Lichtenstein D., Goldstein I., Mourgeon E., Cluzel P., Grenier P., Rouby J.J.** Comparative diagnostic performances of auscultation, chest radiography and lung ultrasonography in ARDS. *Anesthesiology* 2004, 100:9-15.
 35. **Lichtenstein D., Lascols N., Mezière G., Gepner A.** Ultrasound diagnosis of alveolar consolidation in the critically ill. *Intensive Care Med* 2004, 30:276-281.
 36. **Lichtenstein D.** Diagnostic échographique de l'oedème pulmonaire. *Rev Im Med* 1994, 6:561-562.
 37. **Lichtenstein D., Mezière G., Biderman P., Gepner A., Barré O.** The comet-tail artifact: an ultrasound sign of alveolar-interstitial syndrome. *Am J Respir Crit Care Med* 1997, 156:1640-1646.
 38. **Kerley P.** Radiology in heart disease. *Br Med J* 1933, 2:594.
 39. **Lichtenstein D., Mezière G., Biderman P., Gepner A.** The lung point: an ultrasound sign specific to pneumothorax. *Intensive Care Med* 2000, 26:1434-1440.
 40. **Lichtenstein D.** BLUE-protocol. In Whole Body Ultrasonography in the Critically Ill. Edited by Heidelberg, Berlin, New York: Springer-Verlag; 2010:189–202.
 41. **Kauffman A.C., Nelson N.P.** Epidemiology of invasive pulmonary aspergillosis. In Aspergillosis: From diagnosis to prevention. *Internal Medicine – Infectious Diseases* 2010: 329-344.
 42. **Neagu A.M., Vlădăreanu A.M., Ciufu C.** Tratatamentul antifungic empiric al pacienților neutropenici cu febră persistentă, *Revista Oncolog-Hematolog.ro*, Anul IV, Nr. 12/3/2010: 60-65.
 43. **Hebart H., Klingspor L., Klingebiel T., Loeffler J., Tollemar J., Ljungman P., Wandt H., Schaefer-Eckart K., Dornbusch H.J., Meisner C., Engel C., Stenger N., Mayer T., Ringden O., Einsele H.** A prospective randomized controlled trial comparing PCR based and empirical treatment with liposomal amphotericin B in patients after allo-SCT. *Bone Marrow Transplant* 2009; 43:553-561.
 44. **Ullmann A.J., Akova M., Herbrecht R., Viscoli C., Arendrup M.C., Arikan-Akdagli S., Bassetti M., Bille J., Calandra T., et al.** ESCMID Guideline for the diagnosis and management of Candida diseases 2012: adults with haematological malignancies and after haematopoietic stem cell transplantation (HCT). *Clin Microbiol Infect Off Publ Eur Soc Clin Microbiol Infect Dis* 18(Suppl 7):53-67.
 45. **Walsh T.J., Anaissie E.J., Denning D.W., Herbrecht R., Kontoyiannis D.P., Marr K.A., Morrison V.A., et al.** Treatment of aspergillosis: clinical practice guidelines of the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis* 2008; 46:327-360.
 46. **Winkler J., Müller U., Nenoff P., Seyfarth H.J., Vogtmann M., Borte G., Pönisch W., Kahn T., Wirtz H. et al.** Treatment of invasive pulmonary aspergillosis in neutropenic patients by additional bronchoscopic amphotericin B instillation. *Respiration* 2007; 74:663-673.
 47. **Heussel C.P., Kauczor H.U., Heussel G., Mildenerberger P., Dueber C.** Aneurysms complicating inflammatory diseases in immunocompromised hosts: value of contrast-enhanced CT. *Eur Radiol* 1997; 7:316-319.
 48. **Aapro M.S., Bohlius J., Cameron D.A., Dal Lago L., Donnelly J.P., Kearney N., Lyman G.H. et al.** 2010 update of EORTC guidelines for the use of granulocyte-colony stimulating factor to reduce the incidence of chemotherapy-induced febrile neutropenia in adult patients with lymphoproliferative disorders and solid tumours. *Eur J Cancer* 2011; 47:8-32.
 49. **Perruccio K., Tosti A., Burchielli E., Topini F., Ruggeri L., Carotti A., Capanni M., Urbani E. et al.** Transferring functional immune responses to pathogens after haploidentical hematopoietic transplantation. *Blood* 2005; 106:4397-4406.
 50. **Moussat S., Hermann S., Klein S.A., Bialleck H., Duchscherer M., Bomke B., Wassmann B., Bohme A., Hoelzer D., Martin H.** Prophylactic and interventional granulocyte transfusions in patients with haematological malignancies and life-threatening infections during neutropenia. *Ann Hematol* 2005; 84:734-741.