

UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE
„IULIU HAȚIEGANU”
CLUJ - NAPOCA

**DIAGNOSTIC ȘI TRATAMENT
ÎN PATOLOGIA MICOTICĂ RESPIRATORIE
ACTUALĂ
REZUMAT**

TEZĂ DE DOCTORAT PENTRU OBȚINEREA TITLULUI
ȘTIINȚIFIC DE DOCTOR ÎN MEDICINĂ SPECIALITATEA
BOLI INFECȚIOASE

Doctorand: ADRIANA PĂRĂU

Conducător științific: Prof. Dr. DUMITRU CÂRSTINA

2011

CUPRINS

	Pag.
Cuprins.....	I
Cuvânt înainte.....	IV
Partea I - CONSIDERAȚII GENERALE	
Capitolul 1. Introducere în problematica micozelor respiratorii	1
1.1. Epidemiologia generală a infecțiilor fungice.....	1
Capitolul 2. Diagnosticul micozelor respiratorii.....	3
2.1. Diagnosticul de laborator al micozelor respiratorii.....	3
2.2. Diagnosticul histopatologic al micozelor respiratorii.....	5
2.3. Micoze respiratorii cu fungi oportuniști.....	6
2.3.1. Aspergilozele pulmonare.....	6
2.3.2. Candidozele respiratorii.....	16
2.3.3. Mucormicoze.....	22
2.3.4. Pneumocistoza.....	24
Capitolul 3. Tratamentul micozelor respiratorii.....	26
3.1. Tratamentul antimicotic în aspergilozele pulmonare.....	26
3.2. Tratamentul antimicotic candidozele respiratorii.....	27
Partea a II-a – CONTRIBUȚII PERSONALE	
Capitolul 4. Micoze asociate patologiei bronhopulmonare cronice.....	29
4.1. Premisele cercetării.....	29
4.2. Examenul micologic în diagnosticul micozelor respiratorii asociate patologiei bronhopulmonare cronice.....	30
4.2.1. Premisele studiului.....	30
4.2.2. Material și metodă.....	30
4.2.3. Rezultate	31
4.2.4. Discuții.....	37
4.2.5. Concluzii.....	38
Capitolul 5. Manifestări respiratorii determinate de <i>Aspergillus specia</i> e.....	39
5.1. Premisele studiului.....	39
5.2. Material și metodă.....	39

5.3. Rezultate.....	40
5.4. Observații asupra formelor clinice de aspergiloză pulmonară	49
5.4.1 Bronșita cronică purulentă cu <i>Aspergillus</i> și colonizarea bronșică.....	49
5.4.2. Aspergilomul pulmonar.....	49
5.4.3. Aspergiloza cavitară cronică.....	50
5.4.4. Formele invazive de Aspergiloza pulmonară.....	52
5.4.5. Forme intricate de aspergiloză bronhopulmonară (overlap).....	59
5.4.6. Asocierea aspergilozei cu tuberculoza pulmonară activă.....	60
5.5. Discuții.....	62
5.5.1. Considerații epidemiologice.....	62
5.5.2. Considerații patogenetice importante în practică.....	63
5.5.3. Considerații asupra formelor clinice de aspergiloza pulmonară.....	64
5.5.4. Diagnosticul micozelor invazive cu fungi oportunisti.....	66
5.5.5. Considerații terapeutice.....	70
5.6. Concluzii.....	71
Capitolul 6. Aspergiloza alergică bronhopulmonară	72
6.1. Premisele studiului.....	72
6.2. Material și metodă.....	72
6.3. Rezultate	74
6.4. Discuții.....	80
6.4.1. Considerații asupra criteriilor de diagnostic în ABPA.....	82
6.4.2. Algoritm de diagnostic minimal în ABPA.....	86
6.4.3. Considerații terapeutice	88
6.5. Concluzii.....	89
Capitolul 7. Semnificația izolării <i>Candida speciae</i> din secrețiile traheobronșice la pacienți cu afecțiuni cronice respiratorii.....	89
7.1. Premisele studiului.....	89
7.2. Material și metodă.....	89
7.3. Rezultate.....	92
7.4. Discuții.....	98
7.5. Concluzii.....	103
Capitolul 8. Concluzii generale.....	105
Referințe.....	107
Anexe A1. Lista figurilor.....	V
A2. Lista tabelelor.....	VI

A3. Aspergiloza pulmonară invazivă - un diagnostic posibil subestimat (cazuistica 1999-2001).....	VII
--	-----

Cuvinte cheie: afecțiuni bronhopulmonare cronice, micoze respiratorii, aspergilus, aspergiloze pulmonare, ABPA, algoritm, candida, infecție, colonizare

Partea a II-a – CONTRIBUȚII PERSONALE

Capitolul 4. Micoze asociate patologiei bronhopulmonare cronice

4.1. Premisele cercetării

Afecțiunile determinate de fungi, devin tot mai frecvente în patologia pulmonară, pe măsură ce sporesc factorii de risc ai acestora: tratamente mai eficiente, dar agresive, care cresc speranța de viață, dar totodată prelungesc, sau induc imunosupresia în diferite boli pulmonare sau de sistem, neoplazii și posttransplant, infecția HIV, la care se adaugă insuficiențele cronice de organ. În condițiile țării noastre, infecțiile sunt determinate cel mai frecvent, de fungi ubiquitari, oportuniști (condiționat patogeni) din genul *Candida*, *Aspergillus*, *Mucor*, *Penicillium*, *Criptococcus*, *Pneumocystis jiroveci* și doar foarte rar se întâlnesc infecții cu fungi endemici *Histoplasma*, *Coccidioides* sau *Blastomices*, de obicei ca infecții “de import”. La fel ca și în cazul microbilor oportuniști, prezenței fungilor în produsele patologice i se poate atribui valoare etiologică doar în coroborare cu alte date clinico-paraclinice, în cadrul unui protocol de diagnostic. Scopul acestei cercetări a fost de a evalua impactul afecțiunilor induse de fungi în practica pneumologică din ultimii ani, în condițiile în care nu am găsit în literatură o astfel de evaluare efectuată în România. Cercetarea am efectuat-o pe pacienții întâlniți în mod curent, în condițiile unui spital clinic care nu include secție de terapie intensivă medicală, deci pe pacienți în stare aparent “necritică”.

4.2. Examenul micologic în diagnosticul micozelor respiratorii asociate patologiei bronhopulmonare cronice

4.2.2. Material și metodă

Am analizat retrospectiv 7 loturi anuale, în perioada 2002-2008, care au inclus toate examinările bacteriologice și micologice solicitate din produse patologice provenite de la nivelul aparatului respirator, care intră în competența pneumologului: spută, prelevate bronhoscopice (prin lavaj bronșic sau bioptic), lichid pleural și prelevate de chirurgie toracică (conținut cavitărilor, material bioptic), efectuate în Clinica de Pneumoftiziologie Cluj-Napoca.

Datele au fost prelucrate folosindu-se Microsoft Office Excel. Analiza relației dintre variabilele calitative s-a făcut cu ajutorul tabelelor de contingență și a graficelor de tip coloană și a histogramelor

4.2.3. Rezultate:

Solicitarea examenului micologic s-a făcut între 37% și 61% dintre examinările bacteriologice. Examenul micologic a fost efectuat din spută între 61 și 82%, din lavaje bronșice între 14 și 32%, din lichid pleural între 4 și 8%, iar din alte prelevate maximum 1% din totalul examinărilor micologice efectuate în anul respectiv. Culturile “pozitive”, pentru funghi în general, au variat între 33 și 55 % în spută, între 9 și 25 % în lavajul bronșic, între 0 și 5% în lichidul pleural și între 0 și 33 % în alte prelevate.

Am grupat funghi izolați și identificați în 4 categorii: *Candida albicans*, *Candida speciae*, *Aspergillus speciae* și Alți funghi (*Zigomicete*, *Penicillium spp*, *Pneumocystis*). Categoria *C spp* include atât specii *nonalbicans*- cu rezultat negativ la testul de filamentare în ser, cât și culturile la care nu s-a efectuat testul. *Candida* a fost izolată în 96-98% dintre culturi, *A spp* între 2 și 3 %, alți funghi între 0 și 1%. Analiza statistică pentru aceste specii de funghi (altele decât *Candida* și *Aspergillus*) nu s-a realizat datorită eșantionului nereprezentativ.

Capitolul 5. Manifestări respiratorii determinate de *Aspergillus speciae*

5.2. Material și metodă

Am analizat retrospectiv și prospectiv, în perioada 2002-2009, afecțiunile induse de *Aspergillus* la pacienții internați în Clinica de Pneumoftiziologie Cluj-Napoca.

Diagnosticul a fost stabilit retrospectiv pe baza următoarelor criterii:

- Examenul micologic cu identificarea *Aspergillus speciae* (*A spp*) din diverse prelevate de la nivelul aparatului respirator,
- confirmări histopatologice, sau imunologice
- Aspecte clinice și imagistice sugestive

5.3. Rezultate

Au fost identificați 83 de pacienți cu afecțiuni respiratorii induse de *A spp*. Vârsta pacienților a variat între 20 și 81 ani. 49 (59%) dintre pacienți erau încadrabili în categoria activă din punct de vedere socioeconomic, respectiv 20-59 ani. În ceea ce privește sexul raportul masculin/feminin (M/F) a fost 66/17, iar în privința domiciliului raportul rural/ urban a fost 48/35.

Riscul de expunere masivă la spori aspergilari prin activități profesionale sau casnice a fost evident în 48% dintre cazuri. În ceea ce privește istoricul, 73 prezentau boli cronice respiratorii; 3 prezentau afecțiuni extra-respiratorii; într-un caz - fără antecedente patologice semnificative- s-a incriminat o expunere masivă la praf și mușchi; iar în 6 situații nu au existat consemnate date privind antecedentele patologice ale pacienților.

Diagnosticul de afecțiune indusă de *Aspergillus*, a fost sugerat de izolarea *A spp* în cultură din secrețiile și prelevatele rino-bronho-pulmonare la 73 de pacienți, sau de examenul histopatologic, prin identificarea filamentelor miceliene cu caractere sugestive pentru *A spp* în 8 cazuri (din prelevate chirurgicale și bronhoscopice). 2 cazuri, cu afecțiuni de tip alergic, fără culturi pozitive, au avut confirmări indirecte prin imunologice specifică *A spp* (Ig E specific- FEIA *A f* în titru >0,35 U/L).

Formele clinice identificate au fost: traheobronșita cronică purulentă cu *A spp*: 22 cazuri, AAA: 13 cazuri, ACC: 32 cazuri, ACN: 13 cazuri, API: 3 cazuri.

În aspergiloza cavitară cronică (ACC) 27 din cele 32 de cazuri au avut documentație completă privind antecedentele personale patologice. Intervalul de timp dintre diagnosticarea afecțiunii de fond - generatoare de cavități pulmonare- și diagnosticarea ACC a variat între 1 și 44 ani, cu o medie de 10,5 ani și mediana de 5,5 ani. Extremele s-au observat în cazul antecedentelor de tuberculoză, cu o medie de 9,2 ani. Valoarea indicelui de corelație Pearson (0,0723375) indică o corelație pozitivă moderată spre bună între vârsta pacienților la momentul diagnosticării TB și vârsta la momentul diagnosticului ACC.

În ceea ce privește tratamentul, acesta a fost aplicat la 60 din cei 83 de pacienți (72% cazuri). Am încadrat terapia acestora în 3 categorii: tratament medicamentos, tratament chirurgical și tratament mixt (asocierea chirurgiei cu tratamentul antifungic).

Doar la 33 dintre cei 60 de pacienți tratați s-a putut aprecia evoluția, 27 pacienți neavând nici o reevaluare în clinică după tratamentul medical sau chirurgical. Reevaluări la 1 până la 6 luni s-au făcut în 5 cazuri, până la 7-24 luni în 18 cazuri, iar 11 pacienți au fost supravegheați peste 3 ani (7 ani- 3, 13 ani-1, 18 ani-1).

Capitolul 6. Aspergiloza alergică bronhopulmonară

6.2. Material și metodă

Dintre cele 83 de cazuri identificate cu afecțiuni induse de *A spp*, 13 au fost considerate afecțiuni aspergilare de tip alergic (AAA). Criteriile de includere au fost criteriile de diagnostic acceptate în ghidurile internaționale pentru ABPA

Pornind de la observația că între criteriile și elementele de diagnostic ale ABPA propuse în consensuri există o complementaritate, am efectuat o sinteză a acestora în 7 criterii cumulative”, grupând în același criteriu examinările paraclinice care reflectă același proces patogenetic

6.3. Rezultate

Pornind de la criteriile de diagnostic ale ABPA, diagnosticele finale au fost: 13 AAA din care 11 cazuri ABPA, 1 caz granulomatoză bronhocentrică și 1 caz astm cu sensibilizare la *Af*.

Cazul de granulomatoză bronhocentrică a fost susținut pe baza examenului histopatologic și IgE specifice *Af* în titru semnificativ, iar cazul cu astm aspergilar de prezența imunologiei sugestive pentru alergia la *Af*, dar fără alte elemente clinico-imagistice care să susțină ABPA.

Vârsta pacienților a variat între 35 și 76 ani, cu media de 59 ani și mediana de 65 ani, 10 pacienți (77 %) fiind în decada 6 și 7 de viață, a predominat ușor sexul masculin (M) (62%) față de feminin (F) și mediul rural (R) de domiciliu (62%) față de urban (U): M/F = R/U= 8/5. Din punctul de vedere al profesiei, în 8 dintre cazuri (62%) a existat un risc de expunere recunoscut la surse probabile de spori aspergilari.

Tratamentul cu Itraconazol a fost aplicat în 9 din cele 11 cazuri de ABPA în doză medie de 300 mg/zi, pe o durată medie de 4,54 săptămâni. Perioada de supraveghere a variat între 3 și 72 luni (media de 24 luni), cu excepția a 2 cazuri pierdute din observație). În acest interval nu am decelat nici o recurență după stabilizarea inițială.

6.4.2. Algoritm de diagnostic minimal în ABPA

Abordarea diagnosticului diferă în funcție de specialistul care ridică suspiciunea ABPA : pneumologul sau alergologul. În pneumologie aspectele clinico-radiologice și examenul de laborator al sputei sunt cele mai frecvente elemente de orientare inițială în diagnostic. Alergologul preia un pacient cu suspiciune inițială de atopie și diagnosticul său vizează direct testele alergo-imunologice. Din acest motiv propunem un algoritm de diagnostic pentru ABPA din punctul de vedere al practicii pneumologice.

Capitolul 7. Semnificația izolării *Candida speciae* din secrețiile traheobronșice la pacienți cu afecțiuni cronice respiratorii

7.2. Material si metoda

Studiul s-a derulat în 2 etape:

In prima etapă am analizat cele 7 loturi anuale, 2002-2008, care au inclus examinările micologice solicitate din diverse produse patologice prelevate de la nivelul aparatului respirator. Am evaluat intensitatea creșterii pe mediul Sabouraud a *Candida* cultivată din speciile de spută și de lichid de lavaj bronșic simplu (aspirat bronșic), în coroborare cu gradul lor de purulență ca indicator de calitate a prelevării. Deoarece, așa cum am menționat în capitolul 4.2.3, categoria *C spp* nu include doar speciile *nonalbicans*, ci și cazurile fără test de identificare rapidă în ser, pentru atingerea obiectivelor acestui studiu cele două categorii au fost analizate împreună. În acest scop am utilizat exprimarea semicantitativă, dată de laboratorul clinicii, în unități formatoare de colonii (UFC) pe placă sau tub de cultură, care a fost echivalată prin calcul matematic simplu, cu exprimarea semicantitativă în UFC/ml.

În practica laboratorului nostru exprimarea s-a făcut în 4 grade de purulență, între 0 și 3+, prin aplicarea scorului de calitate Bartlett (Q).

In concordanță cu aceasta am considerat 2 categorii de prelevate bronșice:

- prelevate de bună calitate (P+) , cu scor Q de minimum 1, și
- prelevate de slabă calitate (P -), cu scor $Q \leq 0$,

Intensitatea creșterii *Candida* în cultură pe placă (sau tub) am apreciat-o în 3 grade:

- Gradul I (redușă): $3 \leq 10$ UFC /placă ($\leq 1 \times 10^3$ UFC/ml) ;
- Gradul II (medie): $>10 \leq 30$ UFC ($>1 \times 10^3 \leq 3 \times 10^3$ UFC/ml); și
- Gradul III (abundentă): >30 UFC ($> 3 \times 10^3$ UFC/ml)- până la creștere confluentă (>100 UFC/placă, respectiv 10^4 UFC/ml).

În a doua etapă am analizat lotul de 64 pacienți, din ultimii doi ani ai studiului, 2007 și 2008, la care s-a înregistrat creștere abundentă a *Candida*, urmărind 6 factori de risc (sau favorizanți) ai suprapopulării căilor respiratorii cu *Candida*.

1. vârsta peste 70 ani,
2. boli respiratorii cronice cu tratamente cortizonice topice (\pm sistemic intermitent)
3. asocierea unor condiții dismetabolice favorizante ca: diabet zaharat / etilism cronic
4. neoplasmul bronhopulmonar
5. antibioterapie prelungită, (peste 7 zile anterior internării, sau repetată în ultimele 6 luni)
6. sindromul de reflux gastroesofagian (menționat ca diagnostic).

Datele au fost prelucrate folosind programul Microsoft Office Excel. Am utilizat tabele de contingență și grafice de tip XY.

7.3. Rezultate

Etapa 1:

Procentul prelevatelor de calitate bună (P+) a variat pe parcursul celor 7 ani între 64% și 88% dintre prelevate.

Gradul I de intensitate a creșterii în cultură a variat între 27% și 66%, cu o medie de 50%, Gradul II a variat între 32% și 53%, cu o medie de 40%, iar Gradul III a variat între 2% și 20% cu o medie de 10 %.

Analizând corelația între categoriile de calitate ale prelevatelor (P+ și P-), diagrama de dispersie are tendință crescătoare atât în cazul prelevatelor de calitate bună (P+), cât și celor de calitate slabă (P-). În ceea ce privește corelația între cele trei grade de intensitate a creșterii *Candida* în cultură în cazul prelevatelor de bună calitate (P+) diagrama de dispersie are tendință crescătoare pentru Gr I de intensitate a creșterii, tendință aproximativ liniară pentru Gr II și descrescătoare pentru Gr III de creștere a *Candida* în cultură. În cazul prelevatelor de slabă calitate (P-)

diagrama de dispersie are tendință crescătoare pentru Gr I și Gr II de intensitate a creșterii și tendință aproximativ liniară pentru Gr III de creștere a *Candida* în cultură.

Pentru Gr I de creștere (redușă) coeficientul de corelație (Pearson) și regresia liniară indică o corelație bună atât cu P+ ($r = 0,5833$), cât și cu P- ($r = 0,7341$).

Pentru Gr II de creștere (moderată), coeficientul de corelație și regresia liniară indică o corelație foarte bună cu P+ ($r = 0,9234$) și slabă cu P- ($r = -0,16033$).

Pentru Gr III de creștere (abundentă) coeficientul de corelație și regresia liniară indică o corelație acceptabilă cu P+ ($r = 0,3783$) și bună, negativă, cu P- ($r = -0,5678$).

Etapa a doua:

54 (84,4%) dintre pacienți prezentau între 2 și 4 factori de risc asociați, în timp ce la 10 pacienți (15,6%) am identificat un singur factor de risc: neoplasmul cu tratament oncologic- 1 caz (1,6%), respectiv antibioterapie prelungită- 9 cazuri (14%).

Momentul izolării *Candida* a fost: la internarea în spital în 53 cazuri (82,8 %) și după ≥ 7 zile de la internare în 11 cazuri (17,2 %). În acest interval pacienții au primit antibioterapie.

Asocierea *Candida* cu alți germeni patogeni s-a observat în 34 cazuri (53%).

Capitolul 8. CONCLUZII GENERALE

1. Solicitarea examenului micologic se face foarte frecvent în practica pneumologică, dar nu întotdeauna bazat pe argumente clinice, aspect sugerat de ponderea rezultatelor negative.
2. *Candida* este fungul cel mai frecvent izolat, urmat de *Aspergillus* și foarte rar alte specii de fungi.
3. Aspergilozele apar în cadrul practicii pneumologice ca afecțiuni relativ rare, dar pacientul pulmonar cronic trebuie considerat ca un pacient cu risc permanent pentru infecția cu *Aspergillus*.
4. Riscul de apariție a formelor invazive este în creștere și în zona noastră geografică în concordanță cu utilizarea tot mai frecventă a terapiilor agresive: citostatică, cortizonică, imunosupresivă, sau biologică.
5. ABPA este o manifestare foarte probabil subdiagnosticată, de aceea apreciem ca instrument deosebit de util în practică algoritmul de diagnostic în această afecțiune.
6. Formele cavitare cronice de aspergiloză pulmonară au reprezentat categoria cea mai frecvent întâlnită, având ca și principal factor de risc tuberculoza pulmonară și sechelele acesteia.
7. Din observația noastră reiese necesitatea ca pacienții diagnosticați, sau suspecți, cu aspergiloză bronhopulmonară să fie urmăriți, în mod coordonat, de către specialiști avizați, organizați în grupuri de lucru care să includă: pneumolog, radiolog, micolog, infecționist, imunolog, chirurg și anatomopatolog, în vederea obținerii unui diagnostic precoce, încadrare cât mai corectă în forma clinică, indicație și supraveghere optimă a terapiei.

8. În cazul obținerii unui rezultat pozitiv pentru *Candida*, în cultura din prelevatele bronșice, clinicianul trebuie să cunoască metoda de lucru a laboratorului, să aprecieze intensitatea creșterii pe mediul de cultură ca posibil marker al colonizării bronșice și să o interpreteze în contextul simptomatologiei respiratorii și generale a pacientului.
9. Deși nu se poate stabili o relație directă între intensitatea colonizării și infecție există dovezi clinice că riscul trecerii de la colonizare la infecție este semnificativ mai mare în cazul unei colonizări bronșice abundente cu *Candida*. În exprimarea semicantitativă aplicată de noi, la pacientul bronhopulmonar cronic, am considerat-o semnificativă pentru o izolare de $\geq 3 \times 10^3$ UFC/placă/tub, din spută și lavaj bronșic simplu.
10. La pacientul non-neutropenic, aparent imunocompetent, prezența *Candida* în secrețiile bronșice nu trebuie urmată de tratament antimicotic sistemic. Se impune însă, un tratament cu acțiune locală de reducere a colonizării cu *Candida* a mucoaselor digestivă și respiratorie.
11. Antibioterapia prelungită rămâne factorul de risc principal în colonizarea abundentă cu *Candida* a mucoaselor, inclusiv cea respiratorie.
12. În cazul suspectării unei micoze pulmonare invazive, clinicianul trebuie să ia în considerare în primul rând o aspergiloză invazivă, candidozele pulmonare fiind rar întâlnite.
13. *Pneumocystis j* ar putea fi incriminat, mai frecvent decât s-a apreciat până în prezent, în patologia pulmonară interstițială și obstructivă, subiect pentru noi studii prospective.

CURRICULUM VITAE

Date personale:

PĂRĂU ADRIANA

- Nascuta la 15. 01. 1963
- Sunt casatorita si am doi fii gemeni
- Domiciliul: Cluj-Napoca
- Locul de munca: Spitalul Clinic de Pneumoftiziologie Cluj-Napoca

Date profesionale:

- 1981 - Absolvirea Liceului Sanitar Cluj
- 1986 - Absolvirea Facultatii de Medicina Generala Cluj - Napoca, cu lucrarea de diploma “ Cauze de deces intr-o clinica dermatologica”, indrumator Conf. dr. Tataru Alexandru
- 1986-1989 - Stagiul postuniversitar in Sp. Municipal Zalau
- 1990 - Examen de rezidentiat cu ocuparea postului de medic rezident pneumoftiziolog in Sp. Clinic de Pneumoftiziologie “Leon Daniello” Cluj - Napoca
- 1991-1994 - rezidentiat in Clinica de Pneumoftiziologie Cluj, cu o detasare, la cerere, de trei luni, in Institutul de Pneumoftiziologie Bucuresti
- 1994- obtinerea gradului de medic specialist pneumoftiziolog, continuarea activitatii profesionale in Sp. Clinic de Pneumoftiziologie Cluj - Napoca
- 1999 - obtinerea gradului de medic primar pneumolog, functie in care activez si in prezent in cadrul aceleiasi clinici
- Intre 1994-1999 am urmat cursuri si stagii de pregatire in domeniul bronhologiei in cadrul clinicii ORL Cluj si Institutului de Pneumoftiziologie “Marius Nasta” Bucuresti
- 1999 - am obtinut competenta in bronhologie si practic fibrobronhoscopia in cadrul Clinicii de Pneumofiziologie Cluj

Membra in Asociatiile profesionale:

- Societatea Romană de Pneumologie (SRP) si Secțiunea de Bronhologie,
- European Respiratory Society
- Societatea Romană de Micologie Medicala si Micotoxicologie

Limbi straine cunoscute: - engleza

- franceza

Memoriu de activitate științifică

- ◆ 10 Cursuri postuniversitare organizate de Catedra de Pneumoftiziologie Cluj, participare ca lector, in perioada 2002-2010

Lucrari publicate în rezumat:

1. **Parau A**, Todea D, Muresan V. Allergic bronchopulmonary aspergillosis - therapeutical role of bronchoalveolar lavage, 2005, ERS Congress, Copenhaga (abstracts vol.)
2. **Parau A.**, Todea D, Homorodean D, Filip L, Muresan V, Simon M. "Pulmonary mycosis – an important differential diagnosis in tuberculosis endemic areas".2004. ERS Congress, Glasgow (abstracts vol)
3. Todea D, **Parau A**, Nicolau D, Popovici B, Rosca L, Neagoe N, Herescu A. Aspergiloza pulmonară cronică necrotizantă. Presentare de caz. Pneumologia 2008;57(1):137

Lucrări publicate in extenso:

1. **Părău A**. Aspergiloza pulmonară invazivă.Pneumologia. 2001;L(3):171-176
2. Todea D A, Neagoe N, **Părău A**, Roșca L E, Herescu A: Aspergiloza pulmonară semiinvazivă cu evoluție trenantă. Clujul Medical 2008;81(4):536-540
3. **Părău A**, Homorodean D, Jodal A, Cârștina D. Manifestări respiratorii ale infecției cu Aspergillus întâlnite în 8 ani de practică pneumologică.Pneumologia.2010;59(4):204-210
4. **Părău A**, Homorodean D, Cârștina D. Aspergiloza alergică bronhopulmonară probleme de diagnostic și tratament: observație a 13 cazuri. Clujul Medical 2011;84(2):194-200.

UNIVERSITY OF MEDICINE AND PHARMACY
„IULIU HAȚIEGANU”
CLUJ – NAPOCA

PHD THESIS

DIAGNOSIS AND TREATMENT IN ACTUAL FUNGAL
RESPIRATORY PATHOLOGY

abstract

Scientific coordinator: Dumitru Cârstina, MD, PhD

Ph student: Adriana Părau, MD

2011

Contents

Contents	I
Foreword	IV
Part I - GENERAL CONSIDERATIONS	
Chapter 1. Introduction to respiratory mycosis.....	1

1.1. General epidemiology of fungal infections	1
Chapter 2. Diagnosis of respiratory mycoses	3
2.1. Laboratory diagnosis of respiratory mycoses	3
2.2. Pathological diagnosis of respiratory mycoses	5
2.3. Respiratory mycosis with opportunistic fungi	6
2.3.5. Pulmonary Aspergillosis.....	6
2.3.6. Respiratory Candidiasis.....	16
2.3.7. Mucormycosis.....	22
2.3.8. Pneumocystosis.....	24
Chapter 3. Treatment of respiratory mycoses	26
3.1. Antifungal treatment of pulmonary aspergillosis	26
3.2. Antifungal treatment of respiratory candidiasis.....	27

Part II – PERSONAL CONTRIBUTIONS

Chapter 4. Chronic bronchopulmonary mycosis associated pathology	29
4.1. For research.....	29
4.2. Mycological diagnosis of chronic bronchopulmonary pathology associated respiratory mycoses.....	30
4.2.1. Aims of research.....	30
4.2.2. Materials and methods.....	30
4.2.3. Results.....	31
4.2.4. Discussion.....	37
4.2.5. Conclusions.....	38
Chapter 5. Respiratory events caused by <i>Aspergillus speciae</i>	39
5.1. Aims of research.....	39
5.2. Materials and methods.....	39
5.3. Results.....	40
5.4. Observations regarding the clinical forms of pulmonary aspergillosis.....	49
5.4.1 Chronic purulent bronchitis and <i>Aspergillus</i> colonization.....	49
5.4.2. Pulmonary aspergiloma.....	49
5.4.3. Chronic pulmonary aspergillosis.....	50
5.4.4. Invasive forms of pulmonary aspergillosis.....	52
5.4.5. Overlap forms of pulmonary aspergillosis.....	59
5.4.6. Association between pulmonary aspergillosis and active tuberculosis....	60

5.5. Discussion.....	62
5.5.1. Epidemiological aspects.....	62
5.5.2. Pathogenetic aspects useful in practice.....	63
5.5.3. Considerations on the clinical forms of pulmonary aspergillosis.....	64
5.5.4. Diagnosis of invasive fungal infections with opportunistic fungi	66
5.5.5. Therapeutical aspects.....	70
5.6. Conclusions.....	71
Chapter 6. Allergic bronchopulmonary aspergillosis	72
6.1. Aims of research.....	72
6.2. Materials and methods.....	72
6.3. Results.....	74
6.4. Discussion.....	80
6.4.1. Considerations on diagnosis criteria in ABPA.....	82
6.4.2. Algorithm for minimal diagnosis in ABPA.....	86
6.4.3. Therapeutical considerations.....	88
6.5. Conclusions.....	89
Chapter 7. Significance of <i>Candida speciae</i> identification in traheobronchial secretions in chronic respiratory patients.....	89
7.1. Aims of research.....	89
7.2. Materials and methods.....	89
7.3. Results.....	93
7.4. Discussion.....	98
7.5. Conclusions.....	103
Chapter 8. General conclusions.....	105
References.....	107
Attachments	
A1. List of figures.....	V
A2. List of tables.....	VI
A3. API cases diagnosed between 1999-2001.....	VII

Keywords: chronic lung diseases, respiratory mycosis, *Aspergillus*, pulmonary aspergillosis, ABPA, algorithm, *Candida*, infection, colonization

Part II – PERSONAL CONTRIBUTIONS

Chapter 4. Chronic bronchopulmonary mycosis associated pathology

4.1. Aims of research

Fungal- related diseases are becoming more frequent in respiratory pathology, as increasing their risk factors: more effective treatments, but aggressive, that increase life expectancy, but also prolong or induce immunosuppression in various pulmonary or systemic diseases, transplanted, malignant or HIV infected patients, and chronic organ failure too.

In our country, infections are most commonly caused by ubiquitous, opportunistic fungi, (conditioning pathogens) of genus *Candida*, *Aspergillus*, *Mucor*, *Penicillium*, *Cryptococcus*, *Pneumocystis jiroveci*, and only very rarely meet infection with endemic fungi like *Histoplasma*, *Coccidioides* or *Blastomices*, usually as “import” infections.

Just as with opportunistic microbes, the etiological value for presence of fungi in pathological products can be assigned only in conjunction with other clinical and laboratory data, in a diagnostic protocol. The aim of this research was to assess the impact of diseases caused by fungi in respiratory practice in recent years, given that we don't found in literature such an assessment carried out in Romania. I conducted a survey of patients currently meet the conditions of a clinical hospital that does not include medical intensive care unit, so the apparently “uncritical” ill patients.

4.2. Mycological diagnosis of chronic bronchopulmonary pathology associated respiratory mycoses

4.2.2. Materials and methods

We retrospectively analyzed seven annual plots, during 2002-2008, which included all required bacteriological and mycological examinations of pathological products from the respiratory tract, which fall within pneumologists: sputum, bronchoscopic samples (bronchial lavage or biopsy), pleural fluid and thoracic surgery collected (cavitary content, biopsy material), performed in Clinical Hospital of Pneumology Cluj-Napoca.

Data were processed using Microsoft Office Excel. Relationship between qualitative variables was made using contingency tables, column graphs and histograms type.

4.2.3. Results

Mycological examination was between 37% and 61% of the bacteriological examinations. Mycological examination of sputum was performed between 61 and 82%, between 14 and 32% of bronchial lavage, between 4 and 8% of pleural fluid, and no more than 1% of all mycological examinations performed in that year, for the other samples.

“Positive” cultures for fungi in general, ranged between 33 and 55% in sputum, between 9 and 25% in bronchial lavage, between 0 and 5% in pleural fluid and between 0 and 33% in other samples.

We grouped the fungi isolated and identified in four categories: *Candida albicans*, *Candida Speciae*, *Aspergillus Speciae* and *other fungi* (*Zigomicete*, *Penicillium spp*, *Pneumocystis*). Category *C spp* includes both *nonalbicans* species with negative result in serum filamentation-test and cultures to which no test was performed. *Candida* was isolated in 96-98% of cultures, *A spp* between 2 and 3%, other fungi between 0 and 1%. Statistical analysis for these species of fungi (other than *Candida* and *Aspergillus*) not achieved due to unrepresentative sample.

Chapter 5. Respiratory events caused by *Aspergillus speciae*

5.2. Materials and methods

We analyzed retrospectively and prospectively between 2002-2009, *Aspergillus*-related diseases in patients hospitalized in the Clinical Hospital of Pulmonology Cluj-Napoca. Diagnoses were retrospectively determined based on the following criteria:

- *Aspergillus Speciae* (*A Spp*) identification, by mycological examination of various samples from respiratory system
- histopathological or Immunological arguments,
- suggestive Clinical and imagistic aspects

5.3. Results

Were identified 83 patients with respiratory diseases induced by *A spp* Age of the patients ranged between 20 and 81 years. 49 patients (59%) were classified as active category of socio-economic terms, ie 20-59 years. Male / female sex ratio (M / F) was 66/17, and in the home report rural / urban was 48/35.

The risk of massive exposure to *A spp* spores, through professional activities or household, was evident in 48% of cases. In terms of history, 73 had chronic respiratory disease, three had extra-breathing, in a case - had no significant pathological history, a massive exposure to dust and mold was incriminated, and in 6 cases there were no recorded data for medical history.

The diagnosis of *Aspergillus*-related disease, was suggested by *A spp* isolation in culture from nasal, bronchial or lung secretions samples in 73 patients and by histopathological identification of mycelia with suggestive characters in 8 cases (in surgical and bronchoscopic samples). 2 cases of allergic-type diseases, without *A spp* positive cultures, had indirect confirmation by specific immunological tests (Ig E specific *Af* -FEIA > 0.35 U/L).

The clinical forms we identified were: chronic purulent tracheobronchitis with *A spp*: 22 cases, allergic aspergillus disorders (AAD): 13 cases, chronic cavitary aspergillosis (CCA): 32 cases,

chronic necrotising aspergillosis (CNA): 13 cases, invasive pulmonary aspergillosis (API): 3 cases.

In CCA, 27 of the 32 cases had pathological complete documentation of medical history. The time interval between diagnosis of underlying disorder lung cavities-generating, and diagnosis of CCA ranged between 1 and 44 years, with an average of 10.5 years and median of 5.5 years.

Extremes were observed in tuberculosis, with an average of 9.2 years. Pearson correlation index value (0.0723375) indicates a moderate to good positive correlation between patients-age at the moment of TB diagnosis and age at the moment of CCA diagnosis.

Regarding treatment, it was applied to 60 of the 83 patients (72% cases). We classified them into three therapy categories: medical treatment, surgical treatment and combined treatment (surgery with antifungal therapy). Only 33 of the 60 patients could assess progress, 27 patients having no clinical reassessment after medical or surgical treatment. Reassessment after 1 to 6 months were made in 5 cases, up to 7-24 months in 18 cases, and 11 patients were observed over 3 years (3 for 7 years, 1 for 13 years, 1 for 18 years).

Chapter 6. Allergic bronchopulmonary aspergillosis (ABPA)

6.2. Materials and methods

13 of the 83 cases identified by *A spp*-related diseases, were allergic aspergillus disorders aspergilare (AAD). Inclusion criteria were diagnostic criteria for ABPA accepted by international guidelines.

Starting from the observation that between diagnostic criteria and elements of the proposed ABPA consensus there is complementarity, we conducted a synthesis of their, in 7 „cumulative” criteria, grouping in the same criteria those laboratory examinations that reflect the same pathogenetic process.

6.3. Results

Based on diagnostic criteria of ABPA, final diagnoses were: 13 cases AAD, 11 of which ABPA, 1 case bronchocentric granulomatosis and 1 case asthma with *Af* sensitization.

Bronchocentric granulomatosis was held on histopathological findings and significantly titre of specific IgE *Af*, and aspergilar asthma on the the presence of *Af* sensitization, but without other clinical and imaging features to support the ABPA diagnosis.

Age of patients ranged between 35 and 76 years, with an average of 59 years and median of 65 years, 10 patients (77%) being the 6 and 7 decade of life, easily prevailed males (M) (62%) than female (F) and rural (R) home (62%) than urban (U): $M / F = R / U = 8 / 5$. In terms of profession, in 8 cases (62%) there was a recognized increase risk of exposure to likely sources of aspergillus spores.

Itraconazole treatment was applied in 9 of the 11 cases of ABPA in mean dose of 300 mg / day, an average of 4.54 weeks. Monitoring period ranged between 3 and 72 months (average 24 months), except for two cases lost from observation. In this period we detected no recurrence after initial stabilization..

6.4.2. Algorithm for minimal diagnosis in ABPA

The diagnostic approach on ABPA differs depending on specialist: pulmonologist or allergologist. In pulmonary medicine, the clinical and radiological aspects and laboratory examination of sputum are the most common elements for initial diagnostic orientation. Allergology take a patient with initial diagnosis of suspected atopy and its concerns directly alergo-immunological tests. For this reason we propose an algorithm for ABPA diagnosis in terms of pulmonology practice.

Chapter 7. Significance of *Candida speciae* identification in traheobronchial secretions in chronic respiratory patients

7.2. Materials and methods

The study was conducted in **two steps**:

In a first step: we analyzed the 7 annual plots, 2002-2008, which included mycological examinations required for various pathological products taken from the respiratory system. We assessed the intensity of *Candida* growth on Sabouraud medium, from sputum and simple bronchial lavage fluid specimens (bronchial aspirate), in conjunction with their degree of purulence as an indicator of quality of sampling. Because, as I mentioned in Chapter 4.2.3, Category C spp includes not only nonalbicans species, but cases without rapid identification test serum, to achieve the objectives of this study the two categories were analyzed together. For this purpose we used semi-quantitative expression used by our clinic laboratory, the colony forming units (CFU) per plate or tube culture, which was equated by simple mathematical calculation, with semi-quantitative expression in CFU / ml.

Our laboratory practical expression was in 4 purulence degrees, between 0 and 3 +, by applying Bartlett quality score (Q).

From this we considered two types of bronchial samples:

- good quality samples (P +), with Q score ≥ 1 , and
- poor quality samples (P -), the Q score ≤ 0

The intensity of *Candida* growth in plate (or tube) culture we appreciated in three degrees:

- Grade I (light): $3 \leq 10$ CFU / plate ($\leq 1 \times 10^3$ CFU / ml)
- Grade II (moderate): $>10 \leq 30$ CFU ($> 1 \times 10^3 \leq 3 \times 10^3$ CFU / ml), and

- Grade III (heavy): > 30 CFU ($> 3 \times 10^3$ CFU / ml) - to confluent increase (> 100 CFU / plate to 10^4 CFU / ml).

In a **second step** we analyzed the group of 64 patients, the last two years of study, 2007 and 2008, who had heavy growth of *Candida* cultures, following six risk (or bias) factors for overpopulation of airways with *Candida*.

1. age over 70 years,
2. chronic respiratory disease with topical cortisone treatments (\pm systemic)
3. dysmetabolic predisposing conditions : diabetes / chronic alcoholism
4. lung cancer
5. prolonged antibiotic therapy (more than 7 days prior to admission, or repeat the last 6 months)
6. gastroesophageal reflux syndrome (referred to as diagnosis).

Data were processed using Microsoft Office Excel. We used contingency tables and graphs of type XY.

7.3. Results

Step 1:

Percentage of good quality samples (P +) varied over the seven years between 64% and 88% of samples. Degree of intensity of growth in culture ranged between 27% and 66%, with an average of 50%, grade II ranged between 32% and 53%, with an average of 40% and Grade III ranged between 2% and 20% with an average of 10%.

Analyzing the correlation between quality of samples categories (P + and P-) dispersion diagram has upward trend in both high quality (P +) and of poor quality (P-). Regarding the correlation between the three degrees of *Candida* growth in culture for good quality samples (P +) dispersion diagram has a upward trend for Gr I, trend approximately linear for Gr II, and declining trend for Gr III of increasing intensity,.

For poor quality samples (P-) dispersion diagram has upward trend for Gr I and Gr II and approximately linear trend for Gr III of intensity *Candida* growth in culture. For Gr I (low) correlation coefficient (Pearson) and linear regression indicates a good correlation both with P + ($r = 0.5833$) and with P- ($r = 0.7341$). For Gr II (moderate), the correlation coefficient and linear regression indicates a very good correlation with P + ($r = 0.9234$) and low with P- ($r = -0.16033$). For Gr III (heavy) the correlation coefficient and linear regression indicates acceptable correlation with P + ($r = 0, 3783$) and good- negative correlation with P- ($r = - 0,5678$).

Step 2:

54 (84.4%) patients had between 2 and 4 risk factors, while 10 patients (15.6%) have identified a single risk factor: a case of lung cancer with oncologic treatment (1.6 %) and 9 cases with

prolonged antibiotic therapy (14%). *Candida* isolation time was: at hospital admission in 53 cases (82.8%) and ≥ 7 days after admission in 11 cases (17.2%). During this time patients received antibiotics. *Candida* association with other pathogens was observed in 34 cases (53%).

Chapter 8. GENERAL CONCLUSIONS

1. Mycological examination request is very common in pulmonology practice, but not always based on clinical arguments, something suggested by the percentage of negative results.
2. *Candida* is the fungus most frequently isolated, followed by *Aspergillus* and other species of fungi rarely.
3. Aspergillosis occur in practice as a relatively rare respiratory diseases, but chronic lung patient should be considered as a permanent patient at risk for *Aspergillus* infection.
4. The risk of invasive forms is increasing in our geographical area according with the increasing use of aggressive therapies: cytostatics, cortisone, immunosuppressive, or biological
5. ABPA is very likely underdiagnosed, so we appreciate that the diagnostic algorithm is an very useful tool in practice.
6. Chronic cavitary pulmonary aspergillosis were the most frequent forms we identified, having as main risk factor for pulmonary tuberculosis and its sequelae
7. From our observation shows the need for patients diagnosed or suspected with bronchopulmonary aspergillosis, to be followed in a coordinated manner by knowledgeable specialists, include: pulmonary medicine, radiology, mycology, infectious disease, immunology, thoracic surgery and pathology, organized into working groups to obtain an early diagnosis, accurate classification in the clinical form, with optimal indication and monitoring of therapy.
8. If obtaining a positive result for *Candida* culture from bronchial prelevatele, the clinician should be aware of the laboratory method, to assess the intensity of growth on culture medium as a possible marker of bronchial colonization, in the context of respiratory and general patient status.
9. Although you can not establish a direct relationship between colonization and infection intensity of clinical evidence that the transition from colonization to the risk of infection is significantly higher in case of heavy bronchial colonization with *Candida*. For sputum and simple bronchial lavage in the semiquantitative expression applied to us, $\geq 3 \times 10^3$ CFU / plate / tube we apreciated as a significant isolation in chronic bronchopulmonary patients,.
10. In non-neutropenic patients, apparently immunocompetent, the presence of *Candida* in bronchial secretions should not be followed by systemic antifungal therapy. However it must be considered, treatment with local action to reduce *Candida* colonization of digestive and respiratory mucosa.

11. Prolonged antibiotic therapy remains the main risk factor in increased mucosal colonization with *Candida*, including respiratory mucosa.

12. If the clinician suspects an invasive pulmonary mycosis, invasive pulmonary aspergillosis should be considered at first, due to rarity of invasive pulmonary candidiasis.

13. *Pneumocystis J* could be incriminated, more frequently than appreciated, in interstitial and obstructive lung pathology, topic for new prospective studies.

CURRICULUM VITAE

Personal data:

PĂRĂU ADRIANA

- born on 15. 01. 1963
- I am married and two sons, twins
- Address: Cluj-Napoca
- Workplace: Clinical Hospital of Pneumology Cluj-Napoca

Professional Data:

- 1981 - graduated from High Health School Cluj
- 1986 - graduated from the Faculty of Medicine Cluj - Napoca, with the thesis „The cause of death in a dermatological clinic”, supervisor Prof. Alexandru Tataru
- 1986-1989 - Postgraduate training in Municipal Hospital Zalau
- 1990 - Exam for residency in Pneumology
- 1991-1994 - residency in Clinical of Pneumology Cluj, with a detachment at the request of three months, Institute of Pneumology Bucharest
- 1994 - obtaining specialist degree in Pneumology, continuing professional activity in Clinical Hospital of. Pneumology Cluj – Napoca
- 1999 - obtaining the degree of consulting physician in Pneumology, being currently active at the same clinic
- Between 1994-1999 I took courses and training in bronhology in the ENT Clinic Cluj and Institute of Pneumology „Marius Nasta” Bucharest
- 1999 - I got bronhology competence and I perform fibrobronhoscropy in Clinical Hospital of. Pneumology Cluj

Membership in professional associations:

- Romanian Society of Pneumology (SRP) and section Bronhology,
- European Respiratory Society
- Romanian Society of Medical Mycology and Mycotoxicology

Foreign Languages:

- English
- French

Scientific activity

- 10 Postgraduate courses organized by the Department of Pneumology Cluj, participation as a presenter in the period 2002-2010

Papers published in abstract:

1. **Parau A**, Todea D, Muresan V. Allergic bronchopulmonary aspergillosis - therapeutical role of bronchoalveolar lavage 2005, ERS Congress, Copenhaga (abstracts vol.)
2. **Parau A.**, Todea D, Homorodean D, Filip L. Muresan V, Simon M. "Pulmonary mycosis – an important differential diagnosis in tuberculosis endemic areas". 2004, ERS Congress, Glasgow (abstracts vol)
3. Todea D, **Parau A**, Nicolau D, Popovici B, Rosca L, Neagoe N, Herescu A. Chronic necrotising aspergillosis. Case report. *Pneumologia* 2008;57(1):137

Papers published in extenso:

1. **Părău A**. Invasive pulmonary aspergillosis. *Pneumologia*. 2001;L(3):171-176
2. Todea D A, Neagoe N, A **Părău**, Roșca L E, Herescu A. Semiinvazive pulmonary aspergilossis with slow evolution. *Clujul Medical* 2008;81(4): 536-540
3. **Părău A**, Homorodean D, Jodal A, Cârștina D. Respiratory features of Aspergillus infection in eight years of pulmonology practice. *Pneumologia* 2010;59(4):204-210
4. **Părău A**, Homorodean D, Cârștina D. Allergic Bronchopulmonary Aspergillosis - diagnosis and treatment concerning the observation of 13 cases. *Clujul Medical* 2011;84(2):194-200.