



Avaliação da detecção persistente de *Aspergillus fumigatus* a partir de espécimes clínicos pulmonares de pacientes com Fibrose Cística atendidos no Hospital de Clínicas da UNICAMP

Guilherme Leite Pigolli, Caio Augusto Gualtieri Beraquet, Lais Pontes e Angelica Zaninelli Schreiber

Departamento de Patologia Clínica – Faculdade de Ciências Médicas - UNICAMP

Introdução

Fibrose cística (FC) é doença autossômica recessiva causada por mutações genéticas em um conjunto de proteínas na membrana citoplasmática. O acometimento pulmonar está presente em 90% dos pacientes e infecções crônicas, associadas à inflamação do parênquima pulmonar, estão relacionadas a perda progressiva da função pulmonar, que é a grande responsável pela morbimortalidade nestes pacientes. Para efeitos de terapia e prognóstico, é recomendada a avaliação da função pulmonar na rotina de cuidados do paciente portador. O teste de espirometria, que avalia a gravidade da doença, mede: CVC (capacidade vital forçada), VEF1 (Volume expiratório forçado no primeiro segundo), FEF máximo (fluxo expiratório máximo) e o FEF 25-75 (Fluxo expiratório forçado entre 25% e 75% da capacidade vital). O VEF1 é o dado mais importante na análise, pois mostrou-se o preditor mais forte no desfecho clínico.

Atualmente sabe-se que a colonização crônica por *Pseudomonas aeruginosa* é um dos principais fatores associados à perda da função pulmonar. Diversas práticas têm sido empregadas para inibir esta colonização, como o uso de tobramicina inalatória e azitromicina via oral. Embora seja frequente a presença, concomitante ou não à *P.aeruginosa*, de isolados de *Aspergillus fumigatus* na maioria dos pacientes, ainda não há consenso de que a colonização pelo fungo leve a dano pulmonar e declínio sobre a função ao longo do tempo.

Objetivos

- Avaliar o papel da colonização por *A. fumigatus* sensíveis ou resistentes aos antifúngicos, associados ou não a outras espécies de *Aspergillus* ou bactérias, na história natural da doença e de sua relação com a função pulmonar antes e após a colonização em pacientes portadores de fibrose cística.
- Correlacionar os dados obtidos com as respectivas condutas farmacológicas adotadas.

Materiais e métodos



Pacientes e microrganismos: foram avaliados 24 prontuários de pacientes portadores de fibrose cística atendidos pelo Hospital de Clínicas da UNICAMP (HC – UNICAMP), cujos 198 isolados sequenciais de *Aspergillus* spp estavam armazenados na Micoteca do Laboratório de Investigação em Fungos (LIF) do Departamento de Patologia Clínica da Faculdade de Ciências Médicas - FCM – UNICAMP.

Identificação dos microrganismos: a identificação foi realizada por meio de sequenciamento do DNA (Gene Beta-tubulina 2A/2B).

Testes de suscetibilidade aos antifúngicos: foi avaliada a concentração inibitória mínima (CIM) dos isolados frente a anfotericina B, itraconazol, voriconazol, posaconazol e concentração efetiva mínima (CEM) para caspofungina e micafungina, de acordo com o documento Documento CLSI M38-A2 (Clinical and Laboratory Standards Institute).

Análise de prontuários: as informações coletadas foram: idade, sexo, comorbidades (insuficiência pancreática, diabetes relacionada a fibrose cística, osteopenia, etc), colonização crônica por *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus*, colonização por *Aspergillus fumigatus*, exacerbações infecciosas, uso de antibióticos inalatórios, imunomoduladores (azitromicina), teste genético, número de exacerbações, hospitalizações, dados de espirometria, uso de antifúngicos e exames complementares. Um corte de, no mínimo, 5 anos foi realizado para a coleta de dados, portanto alguns pacientes tiveram seus dados levantados por 5 anos e outros por até 10 anos. Os dados foram analisados ano a ano, considerando o isolamento ou não de *A. fumigatus*, a diminuição da função pulmonar pelos valores de espirometria e possíveis vieses como um maior ou menor número de exacerbações infecciosas pulmonares, uso de medicações para tratamento da doença de base e número de hospitalizações

Resultados

Foi possível identificar as espécies: *A.fumigatus* (90,5%), *A.flavus* (6%), Complexo *A.terreus* (2%), e *A.alabamensis*, *A.lentulus* e *N.pseudofischeri* completando os restantes 1,5%.

Com relação aos testes de suscetibilidade, o resultado mais relevante, foi o do paciente 6 (isolado LIF 2444-6) único que se apresentou resistente a todos os azólicos avaliados com a presença de Mutação TR34/L98H/S297T/F495I no gene da CYP51A.

Do total de pacientes, 83% possuíam colonização crônica por *S. aureus*, 63% por *P. aeruginosa* e 67% por *A. fumigatus*. A relação entre colonização por *A.fumigatus* e medidas de função pulmonar encontra-se na Tabela 1.



Tabela 1: Relação entre colonização por *A.fumigatus* e medidas de função pulmonar

Colonizados cronicamente	Média Capacidade Vital Forçada	Média do Volume expiratório forçado do primeiro segundo
Sim	66%	58%
Não	58%	49%

As exacerbação infecciosas foram 2 vezes mais frequentes em pacientes colonizados por *A.fumigatus* do que em não colonizados. Também foi observado que 91,67% dos pacientes colonizados cronicamente por *A. fumigatus* usaram antibiótico inalatório (figura 1).

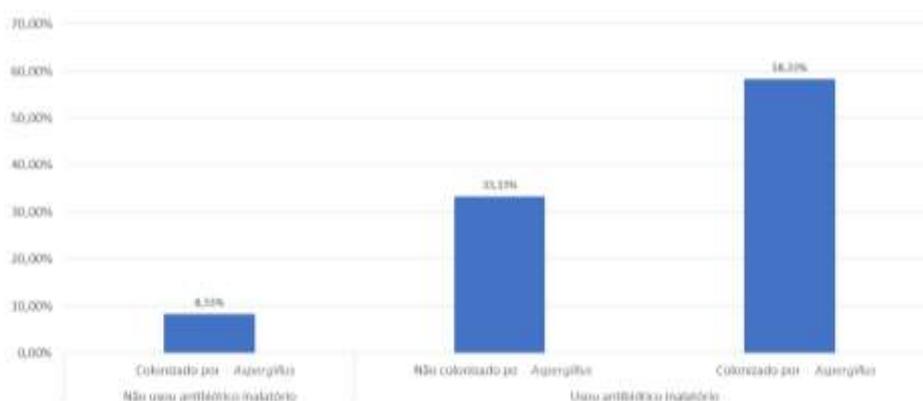


Figura 1: Relação entre total de pacientes estudados (n =24), uso de antibiótico inalatório e colonização crônica por *A.fumigatus*.

Cerca de 55% dos pacientes recebeu, em algum momento do acompanhamento, o antifúngico itraconazol. Também foi o grupo que apresentou maior número de exacerbações infecciosas.

Dentre as comorbidades que afetam o prognóstico: 33% possuíam Diabetes melittus secundária a fibrose cística; 50% eram homozigotos para a mutação Df508 e 100% apresentaram insuficiência pancreática.

A análise da função pulmonar ao longo do tempo foi realizada para cada paciente analisado (figura 2). Alguns pacientes não possuíam espirometrias suficientes para a montagem de gráfico. Há também discrepâncias quanto ao número de espirometrias realizadas e o total de anos de seguimento para cada paciente. Os pacientes colonizados cronicamente ao longo de todo o período analisados são os pacientes 9, 13, 14, 15, 16, 17, 18, e 21 e os pacientes não colonizados cronicamente são os pacientes 2, 5, 7, 8, 10, 19 e 23).



Figura 2: Pacientes para os quais foi possível recuperar dados de espirometria: A: Paciente 2; B: Paciente 3; C: Paciente 5; D: Paciente 6; E: Paciente 7; F: Paciente 8; G: Paciente 9; H: Paciente 10; I: Paciente 12; J: Paciente 13; K: Paciente 13; L: Paciente 15; M: Paciente 16; N: Paciente 17; O: Paciente 18; P: Paciente 19; Q: Paciente 21; R: Paciente 22 e S: Paciente 23.



Discussão

A pneumonia é a principal causa de mortalidade em pacientes com Fibrose Cística, sendo os principais responsáveis *S. aureus* e *P. aeruginosa* sendo que, neste estudo a taxa de colonização por *A. fumigatus* (67%) foi levemente mais elevada que a de *P. aeruginosa* (63%). Baseado em evidências, o uso de antibióticos inalatórios e orais afetam mortalidade, sendo que 91% dos pacientes fizeram uso. Foi possível visualizar outras relações neste estudo: o uso de antibióticos inalatórios aumentou a colonização por *Aspergillus spp.* (Figura 1); houve aumento no número de exacerbações infecciosas em pacientes colonizados pelo fungo; uso de antifúngicos foi relacionado a pacientes com piora do quadro respiratório. Não houve diferença entre a média simples da capacidade vital forçada e volume expiratório do grupo colonizado cronicamente e não colonizados (tabela 1). Entretanto, na análise da função pulmonar ao longo do tempo (figura 2) o paciente 2 teve >50% das culturas para *A. fumigatus* positivas em 2014 (linha vermelha), assim como o paciente 6, seguido de pequena perda da função pulmonar. O paciente 3, colonizado cronicamente até 2016, realizou descolonização com itraconazol (linha vermelha), e manteve a função pulmonar estável até 2019. O paciente 22, também teve >50% das culturas positivas em dois momentos distintos (linha vermelha), com aparente piora da função pulmonar. Dos pacientes colonizados cronicamente todos apresentaram piora da função pulmonar (exceto paciente 17). Comparando-se os pacientes não colonizados cronicamente com os colonizados, há uma aparente perda gradativa nos colonizados com alguns picos de piora da função pulmonar, característico de infecção bacteriana, enquanto nos pacientes colonizados cronicamente, há uma aparente perda gradual ano a ano, com picos de piora, provavelmente por infecção bacteriana.

Conclusão

Não foi possível encontrar associação entre a colonização crônica por *Aspergillus spp.* e queda da função pulmonar uma vez que a simples mensuração da função pulmonar ao longo do tempo, na presença ou ausência do fungo, não é suficiente para avaliar se a deterioração é devida a ele ou aos demais fatores. Há uma aparente relação entre a colonização crônica e uso de antibióticos inalatórios, assim como maiores taxas de exacerbações infecciosas. A análise de um número maior de pacientes poderia colaborar para um maior entendimento da relação entre os eventos.