

Perbandingan Hasil Biakan Spesimen Respirasi pada Agar Miring dan Cawan Petri (*Plate*) di Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia

Jason Theola,* Mulyati,** Anna Rozaliyani,**
Ridhawati,** Robiatul Adawiyah**

*Fakultas Kedokteran, Universitas Indonesia, Salemba, Jakarta, Indonesia

**Departemen Parasitologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Indonesia, Salemba, Jakarta, Indonesia

Abstrak

Pendahuluan: Salah satu permasalahan kesehatan utama di Indonesia merupakan penyakit infeksi saluran pernapasan. Penyakit saluran pernapasan dapat diakibatkan oleh jamur, sehingga disebut mikosis paru. Jamur-jamur penyebab infeksi saluran pernapasan pada manusia terdiri atas banyak spesies mulai dari spesies-spesies *Candida sp.* hingga spesies jamur penyebab mikosis yang lebih patogen, yaitu *Aspergillus fumigatus*. Metode biakan spesimen respirasi berupa sputum dapat digunakan untuk mengidentifikasi spesies jamur penyebab mikosis paru. Tujuan penelitian ini dilakukan untuk mengetahui perbandingan hasil kultur yang dapat tumbuh pada media agar saboraud dekstroza dengan metode biakan konvensional menggunakan agar miring dan metode biakan High Volume Culture pada cawan petri (*plate*).

Metode: Penelitian ini menggunakan desain potong lintang di mana hasil kultur diidentifikasi dari sputum yang dibiakan pada metode yang berbeda.

Hasil: Metode High Volume Culture dapat menumbuhkan lebih banyak koloni jamur termasuk *Aspergillus fumigatus* dibandingkan dengan metode konvensional yang tidak menumbuhkan *Aspergillus fumigatus*. Data hasil kultur pada dua metode berbeda tersebut kemudian dianalisis korelasinya dengan uji McNemar dan didapatkan nilai kemaknaan $p=0.000$.

Kesimpulan: Hubungan antara metode biakan dengan hasil kultur mempunyai korelasi yang signifikan ($p<0.05$). Metode High Volume Culture merupakan metode yang lebih baik untuk menumbuhkan lebih banyak koloni jamur termasuk *Aspergillus fumigatus* dibandingkan dengan metode kultur konvensional.

Kata kunci : Biakan, Spesimen respirasi, Agar miring, Cawan petri

Comparison of Respiratory Specimen Culture Results on Sloped Agar and Plate in the Parasitology Laboratory, Faculty of Medicine, Universitas Indonesia

Jason Theola, * Mulyati, ** Anna Rozaliyani, **
Ridhawati, ** Robiatul Adawiyah **

* Faculty of Medicine, Universitas Indonesia, Salemba, Jakarta, Indonesia

** Parasitology Department, Faculty of Medicine,
Universitas Indonesia, Salemba, Jakarta, Indonesia

Abstract

Introduction: One of the main health problems in Indonesia is respiratory disease. Respiratory disease can be caused by fungus, so-called lung mycosis. The fungi species that cause respiratory infections in humans range from *Candida sp.* to more dangerous species such as *Aspergillus fumigatus*. Culture methods using respiratory specimens, especially sputum, can be used to identify species of fungi that cause pulmonary mycosis. Aim this study was conducted to compare the culture results between conventional culture methods on sloped agar and high volume culture method on plate.

Method: This study used a cross-sectional design in which the data of culture results were obtained from different culture methods.

Result: High volume culture method grew more colonies including *Aspergillus fumigatus* than conventional culture method which grew no *Aspergillus fumigatus*. The correlation of data between culture methods and culture results were analyzed with McNemar test and it showed $p=0.000$.

Conclusion: The relationship between the culture method and culture results has a significant correlation ($p<0.05$). Therefore, high volume culture was a better method to grow more fungal colonies including *Aspergillus fumigatus* than conventional culture methods.

Keywords: Culture, Respiratory specimen, Sloped agar, Plate

Pendahuluan

Penyakit infeksi telah menjadi salah satu permasalahan kesehatan utama di Indonesia. Salah satu penyakit infeksi adalah infeksi saluran pernapasan yang diakibatkan oleh jamur atau biasa disebut mikosis paru. Mikosis paru merupakan penyakit yang jarang dibicarakan, namun pernah mendapat perhatian karena frekuensinya yang semakin meningkat dalam beberapa tahun terakhir. Hal ini pernah dinyatakan oleh Enoch dkk, bahwa frekuensi kejadian mikosis paru meningkat bersamaan dengan bertambahnya jumlah pasien dengan gangguan sistem imun.¹ Hal ini dapat terjadi karena peningkatan faktor-faktor risiko penyebab mikosis paru seperti penggunaan antibiotik spektrum luas, penggunaan kortikosteroid atau obat immunosupresan lainnya, serta peningkatan angka harapan hidup yang didukung oleh mobilitas manusia yang tinggi, sehingga memungkinkan patogen

jamur untuk masuk ke wilayah endemis.^{2,3} Selain itu, faktor lain yang dapat meningkatkan insidensi mikosis paru adalah infeksi oportunistik karena menurunnya sistem kekebalan tubuh manusia, seperti pada pasien penderita AIDS.⁴

Sputum merupakan spesimen respirasi yang baik untuk mengidentifikasi spesies jamur penginfeksi paru. Hal ini didukung oleh guideline mikosis paru yang diterbitkan oleh PIPKRA 2010, yang menyatakan bahwa kultur sputum merupakan metode terbaik untuk mengidentifikasi beberapa jenis jamur, seperti *Aspergillus sp.*, *Cryptococcus sp.*, dan *Histoplasma sp.*⁵

Kultur sputum dapat dilakukan pada medium agar miring atau cawan petri. Perbedaan dari keduanya adalah volume kultur pada cawan petri yang lebih besar dibandingkan pada agar miring (*high volume culture*); sehingga, spesies jamur yang dapat diidentifikasi diduga akan lebih banyak. Oleh karena itu,

melalui penelitian ini, penulis ingin membuktikan medium kultur yang paling baik untuk melakukan identifikasi spesies jamur penyebab mikosis paru di Laboratorium Parasitologi Klinik Departemen Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.

Metode

Penelitian ini menggunakan desain penelitian potong lintang serta dilaksanakan di Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia Salemba mulai dari Januari 2019 hingga Desember 2019. Subjek merupakan pasien yang dicurigai terkena mikosis paru sebanyak 110 pasien dan dilakukan kultur sputum. Sputum tersebut dikultur dengan metode konvensional dan *High Volume Culture*. Metode konvensional dilakukan dengan menggunakan satu tabung agar miring. Sputum yang terdapat pada kontainer steril diambil menggunakan ose dan dipulas hingga merata ke seluruh permukaan agar. Tabung kemudian diinkubasi pada suhu ruang selama dua hingga tujuh hari. Teknik *high volume culture* dilakukan dengan menggunakan satu cawan petri. Sputum yang tersisa dari metode konvensional dituangkan secara langsung pada cawan petri hingga habis. Cawan tersebut diinkubasi pada suhu ruang selama dua hingga tujuh hari.

Identifikasi jamur dilakukan dengan dua tahap pemeriksaan, yaitu makroskopis dan mikroskopis. Identifikasi diawali secara makroskopis dengan melihat langsung koloni jamur mulai dari kelompok ragi atau kapang, karakteristik permukaan, dan warna koloni. Setelah itu, pemeriksaan dilanjutkan dengan pengamatan morfosporulasi jamur melalui mikroskop dengan penambahan reagen *Lactophenol Cotton Blue* (LPCB).⁶

Data yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan *software Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS) 20.0 dengan interval kepercayaan 95%. Variabel yang dianalisis terdiri atas satu variabel independen (teknik kultur) dan dua variabel dependen (hasil kultur dan kultur *Aspergillus sp.*), sehingga analisis yang digunakan bersifat bivariat. Uji hipotesis dengan variabel bebas kategorik dan variabel terikat kategorik untuk mengidentifikasi hubungan antara teknik kultur dan hasil kultur serta hubungan antara teknik kultur dan kultur *Aspergillus sp.* Keduanya dilakukan dengan menggunakan uji McNemar karena data yang digunakan termasuk data berpasangan.

Hasil

Kultur sputum pada metode HVC menggunakan 110 cawan petri menumbuhkan 127 koloni jamur. Jamur yang tumbuh pada cawan petri tersebut kemudian diidentifikasi dengan cara melihat secara langsung morfologinya pada agar dan dikonfirmasi menggunakan pemeriksaan mikroskopik. Data yang diperoleh kemudian disajikan dalam Tabel 1.

Tabel 1. Sebaran Spesies yang Tumbuh pada 110 Sampel Sputum Menggunakan Metode *High Volume Culture*

Jenis Spesies	Jumlah Koloni	Persentase
<i>Candida albicans</i>	83	65.4 %
<i>Candida krusei</i>	1	0.7 %
<i>Candida tropicalis</i>	0	0
<i>Candida glabrata</i>	0	0
<i>Candida parapsilosis</i>	0	0
<i>Candida famata</i>	0	0
<i>Candida dubliniensis</i>	0	0
<i>Candida sp. lain</i>	1	0.7
<i>Aspergillus fumigatus</i>	5	4
<i>Aspergillus flavus</i>	6	4.7
<i>Aspergillus niger</i>	12	9.4
<i>Aspergillus sp. lain</i>	7	5.5 %
<i>Rhodotorula sp.</i>	2	1.6 %
<i>Penicillium sp.</i>	7	5.5 %
Filamen	3	2.5 %
Total	127	100 %

Kultur sputum pada metode konvensional menggunakan 110 tabung menumbuhkan 96 koloni jamur. Jamur yang tumbuh pada agar miring tersebut kemudian diidentifikasi dengan cara melihat secara langsung morfologinya pada agar dan dikonfirmasi menggunakan pemeriksaan mikroskopik. Data yang diperoleh kemudian disajikan dalam Tabel 2.

Studi ini juga mengamati terkait hubungan metode kultur dengan kultur *Aspergillus*. Data terkait hubungan antara teknik kultur dan kultur *Aspergillus sp.* disajikan pada tabel 3.

Variabel kultur *aspergillus* dikelompokkan menjadi kultur positif untuk sampel yang menumbuhkan jamur *Aspergillus sp.* dan kultur negatif untuk sampel yang tidak menumbuhkan jamur *Aspergillus sp.* Analisis statistik menggunakan uji McNemar menunjukkan hubungan yang bermakna, yaitu $P=0.000 (<0.05)$.

Tabel 2. Sebaran Spesies yang Tumbuh pada 110 Sampel Sputum Menggunakan Metode Konvensional

Jenis Spesies	Jumlah Koloni	Persentase
<i>Candida albicans</i>	62	64.6 %
<i>Candida krusei</i>	2	2.1 %
<i>Candida tropicalis</i>	9	9.4 %
<i>Candida glabrata</i>	5	5.3 %
<i>Candida parapsilosis</i>	11	11.5 %
<i>Candida famata</i>	1	1 %
<i>Candida dubliniensis</i>	1	1 %
<i>Candida sp. lain</i>	3	3.1 %
<i>Aspergillus fumigatus</i>	0	0
<i>Aspergillus flavus</i>	0	0
<i>Aspergillus niger</i>	0	0
<i>Aspergillus sp. lain</i>	0	0
<i>Rhodotorula sp.</i>	1	1 %
<i>Penicillium sp.</i>	1	1 %
<i>Filamen</i>	0	0
Total	96	100 %

didapatkan hasil 81 (73.6%) kultur positif dan 23 (26.4%) kultur negatif pada metode konvensional, sedangkan pada metode *High Volume Culture* didapatkan sebanyak 105 (95.4%) kultur positif dan 5 (4.6%) kultur negatif. Hasil analisa dengan menggunakan uji McNemar menunjukkan adanya perbedaan proporsi positif dan negatif yang signifikan antara kedua metode tersebut dan didapatkan nilai p sebesar 0.000 ($p < 0.05$).

Diskusi

Jamur merupakan makhluk hidup yang tidak dapat membuat makanannya sendiri (*heterotrof*). Jamur yang hidup secara komensal di tubuh manusia berperan sebagai flora normal. Akan tetapi, jamur juga dapat berubah peran menjadi parasit apabila dipengaruhi oleh faktor lain seperti imunitas tubuh manusia. Proses ini disebut sebagai mikosis oportunistik. Mikosis oportunistik umumnya disebabkan oleh flora normal seperti spesies *Candida* dan jamur kontaminan patogen seperti spesies *Aspergillus*.⁷

Tabel 3. Hubungan Teknik Kultur dan Pertumbuhan Koloni *Aspergillus sp.*

Variabel	<i>Aspergillus sp.</i> dalam Metode Konvensional		Total	P
	Kultur Positif	Kultur Negatif		
<i>Aspergillus sp.</i> dalam Metode HVC				
Kultur Positif	0	23	23	
Kultur Negatif	0	87	87	0.0
Total	0	110	110	

HVC: *high volume culture*
 Nilai $p < 0.05$ bermakna signifikan

Hubungan antara jumlah spesies dan metode kultur juga diamati perbandingan proporsinya secara statistik. Data hasil analisis disajikan dalam tabel 4.

Dari keseluruhan hasil tertera bahwa dari seluruh 110 spesimen (total specimen)

Mikosis paru umumnya disebabkan oleh infeksi jamur oportunistik pada saluran pernapasan. Oleh karena itu, kondisi imunitas inang merupakan faktor yang memegang peranan penting dalam infeksi jamur oportunistik. Etiologi tersering pada mikosis paru ada-

Tabel 4. Hubungan Teknik Kultur dan Hasil Kultur

Variabel	Metode Konvensional		Total	P
	Kultur Positif	Kultur Negatif		
Metode HVC				
Kultur Positif	76	29	105	
Kultur Negatif	5	0	5	0.0
Total	81	29	110	

HVC: *high volume culture*
 Nilai $p < 0.05$ bermakna signifikan

lah *Candida spp.*, *Cryptococcus neoformans*, dan *Aspergillus spp.*⁷⁻⁹ Infeksi jamur dipengaruhi oleh berbagai faktor risiko baik intrinsik (pejamu) maupun ekstrinsik (lingkungan sekitar). Faktor intrinsik yang paling berpengaruh terhadap timbulnya infeksi jamur adalah kondisi imunitas pejamu. Faktor ekstrinsik yang berpengaruh terhadap mikosis paru di antaranya transplantasi organ dan nosokomial.¹⁰

Tahapan terbaik yang dapat dilakukan untuk mendiagnosis mikosis paru adalah identifikasi bukti klinis, perubahan radiologis, isolasi dan kultur jamur, serta identifikasi jamur yang sesuai. Bukti klinis yang dapat ditemukan meliputi demam dan ronki. Pemeriksaan laboratorium berperan penting dalam penegakkan diagnosis infeksi jamur. Pengumpulan, transport, penyimpanan, dan pemrosesan sampel juga memegang peranan penting dalam identifikasi jamur penyebab infeksi. Elemen khusus yang dimiliki oleh jamur yang terlihat dalam pemeriksaan langsung dapat menjadi dasar dalam pengenalan infeksi jamur.¹¹ Metode kultur juga memengaruhi jumlah spesies koloni yang tumbuh. Aspek tersebut menjadi tujuan dari studi ini, yaitu membandingkan jumlah spesies koloni yang tumbuh pada metode HVC dengan metode konvensional.

Pada studi ini, spesies terbanyak yang tumbuh pada metode *High Volume Culture* adalah *Candida albicans* (65.4%). Spesies *Candida* lain yang ditemukan pada metode ini adalah *Candida krusei* (0.7%) dan *Candida* yang spesiesnya masih belum dapat teridentifikasi (0.7%). Selain itu, berbagai spesies *Aspergillus* dapat ditemukan pada metode *High Volume Culture*, meliputi *Aspergillus fumigatus* (4%), *Aspergillus flavus* (4.7%), *Aspergillus niger* (9.4%), dan *Aspergillus* lain yang belum diketahui spesiesnya (5.5%). Spesies jamur lain yang ditemukan adalah *Rhodotorula sp.* (1.6%), *Penicillium sp.* (5.5%), dan jamur berbentuk filamen (2.5%). Hasil tersebut diperkirakan karena *Candida albicans* merupakan flora normal yang terdapat pada orofaring dan saluran pernapasan atas.¹² Selain itu, apabila terdapat *Candida albicans* pada sampel yang diambil dari pasien infeksi paru, kemungkinan besar *Candida albicans* tersebut merupakan kontaminan.¹³ Oleh karena itu, hasil pada penelitian ini sejalan dengan teori bahwa *Candida albicans* merupakan flora normal yang sering ditemukan pada saluran pernapasan atas.

Sama halnya dengan metode *High Volume Culture*, *Candida albicans* (64.6%) merupakan spesies terbanyak yang tumbuh

pada metode konvensional. Namun, terdapat beberapa spesies *Candida* lain yang dapat diidentifikasi pada metode ini, yaitu *Candida krusei* (2.1%), *Candida tropicalis* (9.4%), *Candida glabrata* (5.3%), *Candida parapsilosis* (11.5%), *Candida famata* (1%), *Candida dubliniensis* (1%), dan *Candida* lain yang belum diketahui spesiesnya (3.1%). Dari semua hasil kultur pada metode konvensional, tidak ditemukan adanya spesies *Aspergillus* yang tumbuh. Spesies lain yang tumbuh pada metode konvensional adalah *Rhodotorula sp.* (1%) dan *Penicillium sp.* (1%).

Jika dibandingkan berdasarkan jumlah koloni jamur yang tumbuh, metode *High Volume Culture* dapat menumbuhkan lebih banyak koloni daripada metode konvensional. Hal ini berkaitan dengan luas permukaan medium dan volume sputum yang digunakan. Metode *High Volume Culture* menggunakan cawan petri yang luas permukaannya lebih luas daripada metode konvensional. Volume sputum yang digunakan pada metode *High Volume Culture* lebih banyak, yaitu 1 – 2 mL dibandingkan dengan metode konvensional yang hanya menggunakan empat pulasan ose.

Apabila dibandingkan berdasarkan spesies yang tumbuh, proporsi spesies yang tumbuh berbeda antara metode *High Volume Culture* dan konvensional. Berbagai spesies *Aspergillus* dapat ditemukan tumbuh pada metode *High Volume Culture*, sedangkan pada metode konvensional tidak ada spesies *Aspergillus* yang tumbuh. Namun, pada metode konvensional dapat ditemukan berbagai spesies jamur *Candida*. Jamur-jamur *Aspergillus* merupakan jamur patogen oportunistik yang dapat menimbulkan mikosis paru pada pasien dengan sistem imun yang melemah. Berdasarkan data yang diperoleh, metode *High Volume Culture* dapat mengidentifikasi jamur *Aspergillus* lebih baik dibandingkan dengan metode konvensional. Dikatakan pada beberapa studi bahwa kultur positif *Aspergillus sp.* dari sampel sputum tergolong rendah dan hal ini cenderung merupakan hasil yang bias.¹⁴⁻¹⁹ Salah satu alasan dari rendahnya sensitivitas kultur ini adalah karena volume sputum yang digunakan tergolong rendah.^{17,20} Kultur negatif dapat menunjukkan ketidakmampuan jamur untuk dapat beradaptasi pada kondisi *in vitro*.²¹

Temuan pada studi ini sejalan dengan target studi Vergidis, dkk, yaitu dapat mengisolasi *Aspergillus fumigatus* yang merupakan penyebab aspergillosis dan terbukti pada penelitian ini ditemukan *Aspergillus fumigatus* pada metode *High Volume Culture* dan nega-

tif pada metode konvensional.²² Literatur-literatur tentang mikosis paru sangat minim dan tanggal publikasi literturnya sudah terlalu lama, sehingga sulit untuk mengetahui perkembangan tentang topik mikosis paru. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai mikosis paru itu sendiri. Pemeriksaan mikroskopik yang dilakukan hanya menggunakan reagen *Lactophenol Cotton Blue*, sehingga tidak mampu mengidentifikasi spesies lain seperti *Cryptococcus*, oleh karena itu disarankan untuk dilakukan penelitian dengan penambahan metode identifikasi lain seperti tinta india. Untuk kepentingan diagnosis, tetap disarankan untuk melakukan dua metode kultur, yaitu *High Volume Culture* dan konvensional agar dapat membandingkan spesies yang tumbuh, sehingga dapat membantu dalam pengambilan keputusan untuk tata laksana pasien.

Kesimpulan

Terdapat hubungan yang signifikan antara teknik kultur dan kultur *Aspergillus sp.* Pada metode *High Volume Culture* tumbuh berbagai spesies jamur *Aspergillus*, salah satunya adalah *Aspergillus fumigatus*, sedangkan pada metode konvensional tidak ditemukan jamur *Aspergillus* yang tumbuh. Variabel independen berupa teknik kultur menunjukkan hubungan bermakna pada hasil kultur *Aspergillus sp.* Metode kultur *High Volume Culture* lebih baik untuk mengisolasi dan mengidentifikasi jamur penyebab mikosis paru dibandingkan metode konvensional karena mampu menumbuhkan spesies yang lebih banyak.

Conflicts of Interest

Penulis menyatakan tidak ada *conflict of interest*.

Daftar Pustaka

1. Enoch DA, Yang H, Aliyu SH, Micallef C. The changing epidemiology of invasive fungal infections. *Methods Mol Biol.* 2017;1508:17-48.
2. Sukamto. Pemeriksaan jamur bilasan bronkus pada penderita bekas tuberkulosa paru. Medan: Universitas Sumatera Utara; 2004.
3. Anissa GH. Karakteristik klinis dan laboratorium mikologi pada pasien tersangka mikosis paru di Rumah Sakit Persahabatan [skripsi]. Jakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia; 2012 Mei.
4. Agustriadi, Sutha IB. Aspek pulmonologis infeksi oportunistik pada infeksi HIV/AIDS. *Jurnal Penyakit Dalam.* 2008;9(3):233-44.
5. Rozaliyani A. Lung mycosis: classification, sampling, and handling of specimen in clinical setting. Jakarta: Departemen Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia; 2010.
6. Kidd S, Halliday C, Alexiou H, Ellis D. Description of medical fungi. 3rd ed. Adelaide: Pfizer; 2016.
7. Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. Medical microbiology. 8th ed. Philadelphia: Elsevier; 2016.
8. Brooks GF, Carroll KC, Butel JS, Morse SA, Mietzner TA. Jawetz, Melnick & Adelbergs medical microbiology. 26th ed. New York: McGraw-Hill Medical; 2013.
9. Kayser FH, Bienz KA, Eckert J. Medical microbiology. 1st ed. New York: Thieme; 2011.
10. Hospenthal DR. Approach to patients with suspected fungal infections. In: Rinaldi MG, Hospenthal DR, editors. Diagnosis and treatment of human mycoses. 1st ed. New Jersey: Humana Press; 2007 Nov.
11. Xavier MO, Oliveira FM, Severo LC. Chapter 1: laboratory diagnosis of pulmonary mycoses. *J Bras Pneumol.* 2009;35(9):907-19.
12. Shweihat Y, Perry J, Shah D. Isolated candida infection of the lung. *Respir Med Case Rep.* 2015;16:18-9.
13. Pendleton KM, Huffnagle GB, Dickson RP. The significance of candida in the human respiratory tract: our evolving understanding. *Pathogens and Disease.* 2017;75(3):1-6.
14. Denning DW, Riniotis K, Dobrashian R, Sambatakou H. Chronic cavitary and fibrosing pulmonary and pleural aspergillosis: case series, proposed nomenclature change, and review. *Clin Infect Dis.* 2003;37(Suppl 3):S265-80.
15. Kohno S, Izumikawa K, Ogawa K, Kurashima A, Okimoto N, Amitani R, et al. Intravenous micafungin versus voriconazole for chronic pulmonary aspergillosis: a multicenter trial in Japan. *J Infect.* 2010;61(5):410-8.
16. Nam HS, Jeon K, Um SW, Suh GY, Chung MP, Kim H, et al. Clinical characteristics and treatment outcomes of chronic necrotizing pulmonary aspergillosis: a review of 43 cases. *Int J Infect Dis.* 2010 Jun;14(6):e479-82.
17. Fraczek MG, Kirwan MB, Moore CB, Morris J, Denning DW, Richardson MD. Volume dependency for culture of fungi from respiratory secretions and increased sensitivity of aspergillus quantitative PCR. *Mycoses.* 2014;57(2):69-78.
18. Camuset J, Nunes H, Dombret MC,

- Bergeron A, Henno P, Philippe B, et al. Treatment of chronic pulmonary aspergillosis by voriconazole in nonimmunocompromised patients. *Chest*. 2007;131(5):1435–41.
19. Cucchetto G, Cazzadori A, Conti M, Cascio GL, Braggio P, Concia E. Treatment of chronic pulmonary aspergillosis with voriconazole: review of a case series. *Infection*. 2015 Jun;43(3):277–86.
20. Pashley CH, Fairs A, Morley JP, Tailor S, Agbetile J, Bafadhel M, et al. Routine processing procedures for isolating filamentous fungi from respiratory sputum samples may underestimate fungal prevalence. *Med Mycol*. 2012 May;50(4):433–8.
21. Denning DW, Page ID, Chakaya J, Jabeen K, Jude CM, Cornet M, et al. Case definition of chronic pulmonary aspergillosis in resource-constrained settings. *Emerging Infectious Diseases*. 2018;24(8):e1-e13.
22. Vergidis P, Moore C, Richardson RR, Richardson M. High-volume sputum culture for the diagnosis of pulmonary aspergillosis. *OFID*. 2017;4(1):S609. 