

Luísa Isabel Correia Carvalho

*ASPERGILLUS* E ASPERGILOSE – DESAFIOS NO COMBATE DA  
DOENÇA

Universidade Fernando Pessoa

Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

Porto, 2013



Luísa Isabel Correia Carvalho

*ASPERGILLUS* E ASPERGILOSE – DESAFIOS NO COMBATE DA  
DOENÇA

Universidade Fernando Pessoa

Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

Porto, 2013

Luísa Isabel Correia Carvalho

*ASPERGILLUS* E ASPERGILOSE – DESAFIOS NO COMBATE DA  
DOENÇA

Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

Declaro que o presente trabalho foi realizado na íntegra por mim e que todo o material bibliográfico necessário se encontra devidamente referenciado.

Aluna: \_\_\_\_\_

(Luísa Isabel Correia Carvalho)

Trabalho apresentado à Universidade Fernando Pessoa como parte dos requisitos para obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas, sob a orientação da Professora Doutora Fátima Cerqueira.

Porto, 2013

## Resumo

*Aspergillus* spp são onipresentes no ar, no solo e em material em decomposição. Como resultado estão constantemente a ser inalados, sendo assim, o trato respiratório o portal de entrada. Várias espécies de *Aspergillus* podem causar doenças em humanos sendo os mais frequentemente isolados: *Aspergillus niger*, *Aspergillus nidulans*, *Aspergillus terreus*, *Aspergillus flavus* e, com maior predomínio a espécie *Aspergillus fumigatus*.

A exposição a este fungo no meio ambiente pode provocar reações alérgicas em doentes hipersensíveis ou então aspergilose invasiva e doença disseminada em doentes com graves problemas de imunodepressão. A aspergilose invasiva ocorre numa ampla variedade de cenários clínicos, é variável nas suas manifestações, e ainda está associado com uma taxa de mortalidade muito elevada. A prevenção da aspergilose em doentes de alto risco é fundamental. Os doentes neutropénicos e outros de alto risco são, em geral, instalados em locais de ar filtrados, de modo a minimizar a exposição aos conídios de *Aspergillus*. Contudo a dificuldade no diagnóstico do fungo causador da infeção, devido à falta de um método eficaz, leva a que muitas vezes o diagnóstico ainda seja apenas confirmado na autópsia.

**Palavras-chave:** Infeção fúngica; Aspergilose; *Aspergillus fumigatus*; imunosuprimidos; neutropénicos; diagnóstico; terapêutica antifúngica; prevenção.

## Abstrat

*Aspergillus* spp are all around us, in the soil and in material decomposing. This means that we're constantly inhaling it, making the respiratory system the way this fungus gets into our bodies. Several *Aspergillus* variants can cause disease in humans, the most frequent being: *Aspergillus niger*, *Aspergillus nidulans*, *Aspergillus terreus*, *Aspergillus flavus* and finally the *Aspergillus fumigatus* variant with a higher dominion.

Being exposed to this fungus can either cause allergic reactions to hypersensitive patients, or cause an invasive aspergillosis and widespread disease in patients with severe immunosuppression problems. Invasive aspergillosis occurs in a wide variety of clinical scenarios, it doesn't always manifest the same symptoms, and it is also associate to a high mortality rate. Prevention of aspergillosis in high risk patients is a key milestone. Neutropenic and high risk patients are usually accommodated in areas with filtered air, to prevent or at least minimize the exposure to *Aspergillus conidium*. Unfortunately, the absence of an effective method for aspergillosis diagnosis means that the disease is only confirmed at the time of the autopsy.

**Keywords:** Fungal infections Aspergillosis; *Aspergillus fumigatus*; immunosuppression; neutropenic; diagnosis; antifungal therapy; prevention.

## **Agradecimentos**

Aproveito esta oportunidade para agradecer, de uma forma muito especial, a todos aqueles que contribuíram para a minha formação, pelo apoio, disponibilidade, orientação, compreensão e simpatia demonstrada.

O meu muito obrigado.

“ O que sabemos é uma gota de água, o que ignoramos é um oceano.”

Isaac Newton

# Índice

Introdução.....	1
Desenvolvimento .....	3
I - Classificação e Morfologia das espécies.....	3
1.1. Taxonomia.....	3
1.2. Morfologia.....	3
1.2.1. <i>Aspergillus fumigatus</i> .....	4
1.2.2. <i>Aspergillus flavus</i> .....	6
1.2.3. <i>Aspergillus niger</i> .....	9
1.2.4. <i>Aspergillus terreus</i> .....	11
1.2.5. <i>Aspergillus nidulans</i> .....	13
II – Distribuição Geográfica.....	15
III - Epidemiologia e modos de transmissão .....	15
IV – Patogénese e Imunidade .....	15
4.1. Doentes Neutropénicos.....	16
V- Manifestações clínicas.....	17
5.1. Aspergiloma .....	17
5.2- Aspergilose pulmonar invasiva .....	18
5.3- Osteomielite .....	19
5.4- Bronquite Aspergilar/ Traqueobronquite .....	20
5.5- Aspergilose alérgica .....	20
5.6- Aspergilose cutânea.....	21
5.7- Otomicose .....	22
5.8- Aspergilose sinusal.....	23
5.9- Endocardite.....	23
5.10- Aspergilose cerebral.....	23
VI- Diagnóstico laboratorial.....	25

6.1. Microscopia .....	25
6.2. Cultura .....	26
6.3. Marcadores imunológicos, moleculares e bioquímicos.....	26
VII- Tratamento.....	28
7.1. Polienos: Anfotericina B .....	29
7.1.1. Espectro de Ação.....	29
7.1.2. Mecanismo de ação .....	29
7.1.3. Farmacocinética.....	30
7.1.4. Reações adversas .....	30
7.1.5. Formulações lipídicas de anfotericina B .....	31
7.2. Derivados azóis .....	31
7.2.1. Espectro de Ação.....	32
7.2.2. Mecanismo de ação .....	32
7.2.3. Reações adversas .....	32
7.2.4. Itraconazol .....	32
7.2.5. Voriconazol .....	33
7.2.6. Posaconazol .....	34
7.3. Equinocandinas.....	35
7.3.1. Espectro de Ação.....	35
7.3.2. Mecanismo de ação .....	36
7.3.3. Farmacocinética.....	36
7.3.4. Reações adversas .....	36
VIII – Prevenção.....	37
Conclusão .....	38
Bibliografia.....	39

## Índice de Figuras

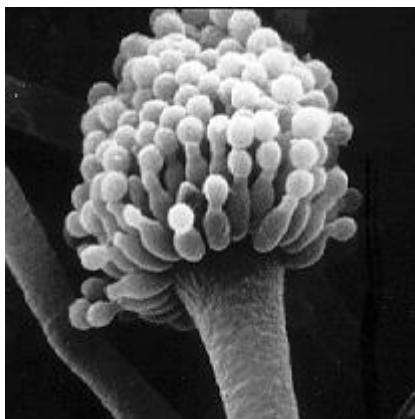
Figura 1 - Imagem de <i>Aspergillus fumigatus</i> em microscopia eletrônica Retirada do site: <a href="http://www.niaid.nih.gov/dir/labs/lci/aspergillus.gif">http://www.niaid.nih.gov/dir/labs/lci/aspergillus.gif</a> (11-10-13). .....	1
Figura 2 - Aspeto microscópico: Cabeças aspergiliares de <i>Aspergillus fumigatus</i> . Retirada do atlas de micologia médica. ....	4
Figura 3 - Esquema do conidióforo de <i>Aspergillus fumigatus</i> . Retirada do site: <a href="http://www.mold.ph/aspergillus.htm">http://www.mold.ph/aspergillus.htm</a> (11-10-13). ....	5
Figura 4 - Aspeto macroscópico das colônias de <i>Aspergillus fumigatus</i> em meio de Sabouraud Dextrose Agar, incubadas 5 dias a 25°C. Retirada do atlas de micologia médica. ....	5
Figura 5 - Aspeto microscópico: Cabeça aspergilar de <i>Aspergillus flavus</i> . Retirada do site: <a href="http://milksci.unizar.es/bioquimica/temas/toxico/micotoxinas.html">http://milksci.unizar.es/bioquimica/temas/toxico/micotoxinas.html</a> (11-10-13). ....	6
Figura 6 - Esquema do conidióforo de <i>Aspergillus flavus</i> . Retirada do site: <a href="http://www.plantasyhongos.es/hongos/Aspergillus.htm">http://www.plantasyhongos.es/hongos/Aspergillus.htm</a> (11-10-13). ....	7
Figura 7 - Colônia de <i>Aspergillus flavus</i> . Retirada do site: <a href="http://milksci.unizar.es/bioquimica/temas/toxico/micotoxinas.html">http://milksci.unizar.es/bioquimica/temas/toxico/micotoxinas.html</a> (11-10-13). ....	7
Figura 8 - Exemplo de contaminação do milho por <i>Aspergillus flavus</i> . Retirada do site: <a href="http://www.aspergillusflavus.org/aflavus/">http://www.aspergillusflavus.org/aflavus/</a> (11-10-13). ....	8
Figura 9 - Colônia de <i>Aspergillus niger</i> . Retirada do site: <a href="http://www.life-worldwide.org/fungal-diseases/aspergillus-niger/">http://www.life-worldwide.org/fungal-diseases/aspergillus-niger/</a> (11-10-13). ....	9
Figura 10 - Aspeto microscópico: Cabeça aspergilar de <i>Aspergillus niger</i> . Retirada do site: <a href="http://www.pfdb.net/html/species/s12.htm">http://www.pfdb.net/html/species/s12.htm</a> (11-10-13). ....	9
Figura 11 - Esquema do conidióforo de <i>Aspergillus niger</i> . Retirada do site: <a href="http://www.bcrc.firdi.org.tw/fungi/fungal_detail.jsp?id=FU200802220004">http://www.bcrc.firdi.org.tw/fungi/fungal_detail.jsp?id=FU200802220004</a> (11-10-13). ....	10
Figura 12 - Exemplo de contaminação de uma cebola por <i>Aspergillus niger</i> . Retirada do site: <a href="http://www.123rf.com/photo_832375_an-onion-with-a-severe-infestation-of-black-mold-aspergillus-niger-a-fungal-disease-most-commonly-th.html">http://www.123rf.com/photo_832375_an-onion-with-a-severe-infestation-of-black-mold-aspergillus-niger-a-fungal-disease-most-commonly-th.html</a> (11-10-13). ....	10

Figura 13 - Colônia de <i>Aspergillus terreus</i> . Retirada do site: <a href="http://mycotacrc.mnhn.fr/site/specie.php?idE=96#ancre10">http://mycotacrc.mnhn.fr/site/specie.php?idE=96#ancre10</a> (11-10-13). .....	11
Figura 14 - Aspeto microscópico: Cabeça aspergilar de <i>Aspergillus terreus</i> . Retirada do site: <a href="http://www.mycology.adelaide.edu.au/Fungal_Descriptions/Hyphomycetes_(hyaline)/Aspergillus/terreus.html">http://www.mycology.adelaide.edu.au/Fungal_Descriptions/Hyphomycetes_(hyaline)/Aspergillus/terreus.html</a> (11-10-13). .....	12
Figura 15 - Esquema do conidióforo de <i>Aspergillus terreus</i> . Retirada do site: <a href="http://www.bcrc.firdi.org.tw/fungi/fungal_detail.jsp?id=FU200802220017">http://www.bcrc.firdi.org.tw/fungi/fungal_detail.jsp?id=FU200802220017</a> (11-10-13). .....	12
Figura 16 - Colônia de <i>Aspergillus nidulans</i> . Retirada do site: <a href="http://www.mycology.adelaide.edu.au/Fungal_Descriptions/Hyphomycetes_(hyaline)/Aspergillus/nidulans.html">http://www.mycology.adelaide.edu.au/Fungal_Descriptions/Hyphomycetes_(hyaline)/Aspergillus/nidulans.html</a> (11-10-13). .....	13
Figura 17 - Aspeto microscópico: Cabeça aspergilar de <i>Aspergillus nidulans</i> . Retirada do site: <a href="http://www.mycology.adelaide.edu.au/Fungal_Descriptions/Hyphomycetes_(hyaline)/Aspergillus/nidulans.html">http://www.mycology.adelaide.edu.au/Fungal_Descriptions/Hyphomycetes_(hyaline)/Aspergillus/nidulans.html</a> (11-10-13). .....	14
Figura 18 - Esquema do conidióforo de <i>Aspergillus nidulans</i> . Retirada do site: <a href="http://www.plantasyhongos.es/hongos/Aspergillus.htm">http://www.plantasyhongos.es/hongos/Aspergillus.htm</a> (11-10-13). .....	14
Figura 19 - Aspergiloma móvel dentro de uma cavidade pulmonar cística Retirada do site: <a href="http://www.fmc.br/aspectos_radiologicos.htm">http://www.fmc.br/aspectos_radiologicos.htm</a> (11-10-13). .....	17
Figura 20 - Imagem de aspergilose pulmonar Retirada do site: <a href="http://www.spenzieri.com.br/aspergilose-pulmonar/">http://www.spenzieri.com.br/aspergilose-pulmonar/</a> (11-10-13). .....	18
Figura 21 - Ressonância magnética da coluna cervical com osteomielite de uma doente que se apresentou com dores nas costas, dormência e fraqueza de ambos os membros inferiores (Jiang et al, 2013). .....	19
Figura 22 - Imagem de tomografia computadorizada mostrando bronquiectasias centrais em um paciente com aspergilose broncopulmonar alérgica (kousha et al, 2011). .....	21
Figura 23 - Exemplo de infecção cutânea causada por <i>Aspergillus</i> spp. Retirado do site: <a href="http://bioweb.uwlax.edu/bio203/s2008/miller_melo/Disease.htm">http://bioweb.uwlax.edu/bio203/s2008/miller_melo/Disease.htm</a> (11-10-13). .....	21

Figura 24 - Otite externa micótica causada por <i>Aspergillus niger</i> . Retirado do site: <a href="http://dc111.4shared.com/doc/Bj29-wPU/preview.html">http://dc111.4shared.com/doc/Bj29-wPU/preview.html</a> (11-10- 13).....	22
Figura 25 - Lâmina histológica mostrando o fungo <i>Aspergillus</i> spp. Retirado do site: <a href="http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&amp;pid=S0004-282X2005000600033">http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&amp;pid=S0004-282X2005000600033</a> (11-10- 13).....	24
Figura 26 - Estrutura da célula fúngica. Retirada do site: <a href="http://gsdl.bvs.sld.cu/greenstone/collect/enfermeria/index/assoc/HASHc011.dir/fig01a09.png">http://gsdl.bvs.sld.cu/greenstone/collect/enfermeria/index/assoc/HASHc011.dir/fig01a09.png</a> (11-10-13). ....	28
Figura 27 - Estrutura química da molécula de anfotericina B. Retirada do site: <a href="http://www.ff.up.pt/toxicologia/monografias/ano0809/anfotericina/caracteristicas.html">http://www.ff.up.pt/toxicologia/monografias/ano0809/anfotericina/caracteristicas.html</a> (27-10-12).....	29
Figura 28 – Estrutura das formulações lipídicas da anfotericina B. Retirado do site: <a href="http://www.aspergillus.org.uk/indexhome.htm?education/slides.htm~main">http://www.aspergillus.org.uk/indexhome.htm?education/slides.htm~main</a> (27-10-12). .....	31
Figura 29 - Estrutura química da molécula de itraconazol. Retirada do site: <a href="http://www.visaoacademica.ufpr.br/v5n2/ana_m.htm">http://www.visaoacademica.ufpr.br/v5n2/ana_m.htm</a> (27-10-12). ....	33
Figura 30 - Estrutura química da molécula de voriconazol. Retirada do site: <a href="http://www.visaoacademica.ufpr.br/v5n2/ana_m.htm">http://www.visaoacademica.ufpr.br/v5n2/ana_m.htm</a> (27-10-12). ....	34
Figura 31 - Estrutura química da molécula de posaconazol. Retirada do site: <a href="http://www.visaoacademica.ufpr.br/v5n2/ana_m.htm">http://www.visaoacademica.ufpr.br/v5n2/ana_m.htm</a> (27-10-12). ....	34
Figura 32 - Estrutura química das equinocandinas. Retirada do site: <a href="http://www.visaoacademica.ufpr.br/v5n2/ana_m.htm">http://www.visaoacademica.ufpr.br/v5n2/ana_m.htm</a> (27-10-12). ....	35

## Introdução

*Aspergillus* foi catalogado pela primeira vez pelo biólogo italiano, Pietro Micheli em 1729. O nome *Aspergillus* foi dado devido a sua forma quando observado ao microscópio, parecendo-se com um *aspergillum* (figura 1).



**Figura 1** - Imagem de *Aspergillus fumigatus* em microscopia eletrônica Retirada do site: <http://www.niaid.nih.gov/dir/labs/lci/aspergillus.gif> (11-10-13).

A aspergilose é uma infecção fúngica oportunista das mais comuns em todo o mundo, provocada por algumas das espécies do género *Aspergillus*. A maioria das infecções em humanos é causada por *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus nidulans*, *Aspergillus terreus* e como principal responsável temos o *Aspergillus fumigatus*. Estes fungos então distribuídos na natureza, encontram-se no solo, no material orgânico em decomposição e podem originar vários quadros clínicos (Jiang et al, 2013; Martins *et al*, 2005).

A inalação de esporos de fungos podem causar doenças pulmonares que vão desde a inflamação local das vias aéreas para infecções graves e com risco de vida do pulmão, tais como aspergilose broncopulmonar alérgica, aspergilose invasiva (Beisswenger et al, 2012). A doença tem sido relatada por ocorrer principalmente como uma complicação em doentes com asma e fibrose cística (Martins *et al*, 2005; Murray *et al*, 2006).

A aspergilose invasiva é uma infecção de prognóstico reservado, ocorrendo principalmente em doentes imunodeprimidos, particularmente nos doentes com leucemia, aplasia medular, submetidos a transplantação e nos com tratamentos prolongados de quimioterapia ou à base de corticosteróides (Richardson & Warnock, 2003).

A inalação de esporos de *Aspergillus* é o modo habitual do desenvolvimento de infecções nos humanos, sendo o período de incubação desconhecido (Richardson & Warnock, 2003). Os esporos inalados entram e germinam, originando hifas nos pulmões e que tendem a invadir também outros tecidos ou órgãos (Raja & Singh, 2006).

Na maioria dos casos de aspergilose invasiva é difícil determinar se a infecção foi adquirida dentro ou fora do estabelecimento hospitalar, sendo esporádicos os casos descritos como associados a ambientes exteriores ao ambiente hospitalar (Herbrecht *et al.*, 2004). No entanto, parece provável que alguns doentes sejam colonizados antes da sua admissão no hospital e venham a desenvolver doença invasiva quando ficam neutropénicos (Richardson & Warnock, 2003). Sendo assim, a capacidade de invasão dos esporos depende da virulência do fungo, das defesas do hospedeiro e ainda das circunstâncias da exposição, em especial da quantidade de esporos inalados (Richardson & Warnock, 2003).

A incidência de infecções fúngicas graves tem aumentado na última década, principalmente devido ao aumento do número de doentes imunodeprimidos, representando uma séria causa de morbidade e mortalidade nesta população de doentes (Baddley *et al.*, 2013; Jacobs *et al.*, 2011; Murray *et al.*, 2006 ). É assim essencial que os médicos se familiarizem com a apresentação clínica, métodos de diagnóstico e tratamento da doença (Raja & Singh, 2006).

## **Desenvolvimento**

### **I - Classificação e Morfologia das espécies**

#### **1.1. Taxonomia**

Os fungos do género *Aspergillus* pertencem à família das *Aspergillaceae*, à classe *Ascomycetos* e à subclasse *Euascoyceatae*. Existem mais de 200 espécies dentro deste género, mas apenas cerca de 20 têm sido encontradas como causa de doença (Richardson & Warnock, 2003). *Aspergillus fumigatus* é o agente etiológico responsável por aproximadamente 90% das aspergiloses invasivas diagnosticadas (Araujo *et al.*, 2005a). Porém, outras espécies, incluindo *Aspergillus flavus*, *Aspergillus nidulans*, *Aspergillus niger* e *Aspergillus terreus* são as principais responsáveis pelas restantes infeções (Jiang *et al.*, 2013, Martins *et al.*, 2005; Murray *et al.*, 2006).

#### **1.2. Morfologia**

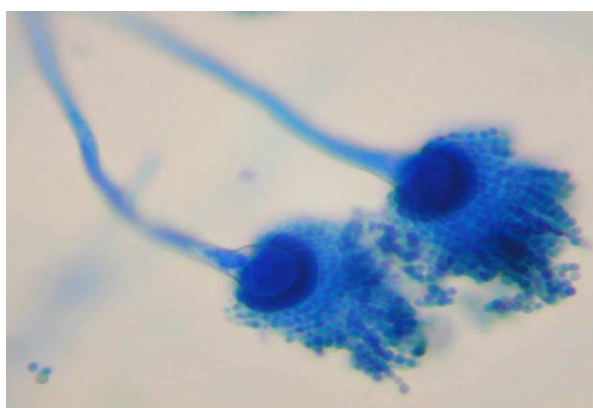
Os fungos do género *Aspergillus* apresentam um talo filamentosos constituído por hifas septadas, com ramificações dicotómicas fazendo ângulos de 45°, mostrando estruturas de reprodução assexuada situadas no cimo de uma vesícula terminal com forma variável e que é o prolongamento do conidióforo. A forma da vesícula (esférica, hemisférica, alongada ou elíptica) constitui uma característica de identificação da respetiva espécie. Quanto à cor, esta estrutura apresenta-se igual ao conidióforo ou incolor. O conjunto da vesícula, das células conidiogéneas também denominadas por fiálides, e, das cadeias de conídios, é designado por cabeça aspergilar. Esta é suportada por um conidióforo que é em regra perpendicular à célula pé. As fiálides, que formam cadeias basípetas de esporos, designados de fialoconídios, inserem-se na vesícula e podem constituir uma ou mais séries (Minami, 2003; Murray *et al.*, 2006).

Relativamente ao aspeto macroscópico, as colónias apresentam uma superfície de cor branca, na fase inicial de maturação. Dependendo das espécies, a sua cor pode evoluir para verde, amarelo, castanho ou preto. A textura da colónia surge algodoada, tornando-se pulverulenta com a produção de esporos, os quais, podem apresentar rugosidade da parede, característica igualmente importante na identificação de espécie (Murray *et al.*, 2006).

Para se proceder à identificação da espécie a aparência da colónia pode fornecer uma boa sugestão, mas a identificação definitiva exige um exame microscópico das hifas e da estrutura da cabeça conidial (Murray *et al*, 2006).

### 1.2.1. *Aspergillus fumigatus*

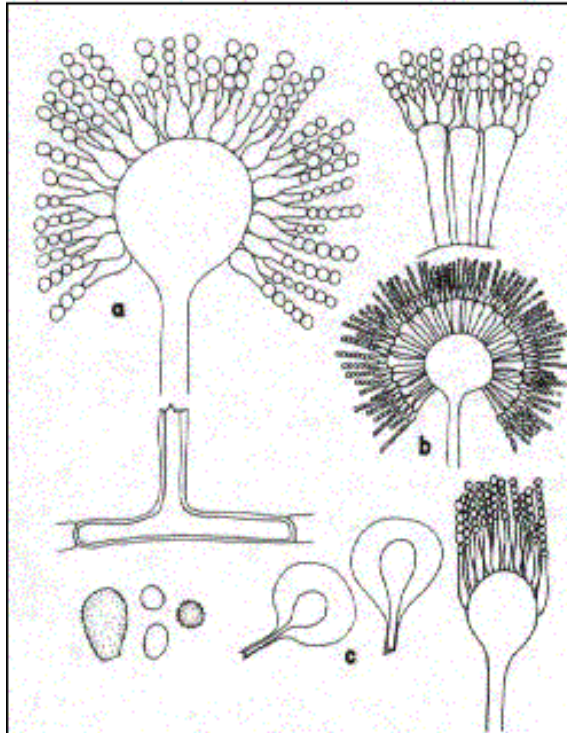
Em 1863, a espécie *Aspergillus fumigatus* foi descrita pela primeira vez pelo médico Georg W. Fresenius. O nome *Fumigatus* é derivado do latim "fumigave", que significa fumaça referindo-se ao micélio azul-cinza esfumado (figura 2).



**Figura 2** - Aspeto microscópico: Cabeças aspergilares de *Aspergillus fumigatus*. Retirada do atlas de micologia médica.

Os conidióforos de *Aspergillus fumigatus* são hialinos, de parede lisa, com vesícula em forma de balão (figura 3). As cabeças conidiais são colunares, unisseriadas, apresentando uma fila única de fiálides (Martins *et al*, 2005). Os esporos de *Aspergillus fumigatus* são produzidos em conidióforos especializadas que variam de 1,0 µm a 3,0 µm micrómetros de diâmetro e depositados no trato respiratório inferior.

Relativamente ao aspeto macroscópico das colónias de *Aspergillus fumigatus*, geralmente tem um aspeto aveludado, de coloração cinza-esverdeado ou cinza-azulada (figura 4). Pode ocorrer produção de pigmento em algumas amostras (Martins *et al*, 2005).



**Figura 3** - Esquema do conidióforo de *Aspergillus fumigatus*. Retirada do site: <http://www.mold.ph/aspergillus.htm> (11-10-13).



**Figura 4** - Aspetto macroscópico das colônias de *Aspergillus fumigatus* em meio de Sabouraud Dextrose Agar, incubadas 5 dias a 25°C. Retirada do atlas de micologia médica.

*Aspergillus fumigatus* é termotolerante e cresce a temperaturas variando entre 15°C a 53°C (Bhabhra & Askew, 2005; Martins *et al*, 2005). Esta característica sugere que estes organismos apresentam mecanismos únicos de resistência ao stress, podendo justificar a sua capacidade de adaptação ao crescimento no hospedeiro (Bhabhra & Askew, 2005).

*Aspergillus fumigatus* é o agente causal de vários tipos de infecções, tanto em humanos como em animais, que ocorrem nos pulmões, ossos, olhos, aparelho cardiovascular e no sistema nervoso central (Dagenais e Keller, 2009; Martins *et al*, 2005).

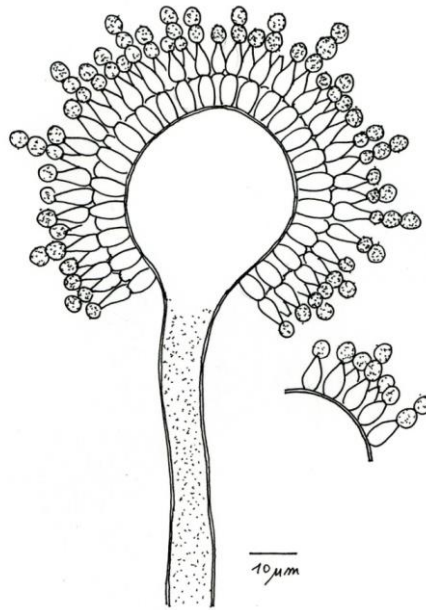
*Aspergillus fumigatus* é um importante patógeno de fungos filamentosos que causa infecção invasiva grave e pneumonia em hospedeiros imunocomprometidos, resultando em altas taxas de mortalidade (Paul *et al*, 2012).

### 1.2.2. *Aspergillus flavus*

*Aspergillus flavus* foi descrito pela primeira vez por Link em 1809 e caracteriza-se por ter o conidióforo com haste longa, grossa, vesícula globosa coberta com uma camada de fiálides seguida de conídios em cadeia que formam cabeças conidiais radiadas, com 300 µm a 400 µm de diâmetro e as fiálides são unisseriadas ou bisseriadas (figura 5 e 6). Os conídios são globosos e equinulados (Martins *et al*, 2005).



**Figura 5** - Aspetto microscópico: Cabeça aspergilar de *Aspergillus flavus*. Retirada do site: <http://milksci.unizar.es/bioquimica/temas/toxico/micotoxinas.html> (11-10-13).



**Figura 6** - Esquema do conidióforo de *Aspergillus flavus*. Retirada do site: <http://www.plantasyhongos.es/hongos/Aspergillus.htm> (11-10-13).

As colónias de *Aspergillus flavus* em Sabouraud dextrose agar por 7 dias à temperatura, tem textura cotonosa a lanosa, plana com sulcos radicais e coloração amarelo-esverdeada (figura 7) (Martins *et al*, 2005).



**Figura 7** - Colónia de *Aspergillus flavus*. Retirada do site: <http://milksci.unizar.es/bioquimica/temas/toxico/micotoxinas.html> (11-10-13).

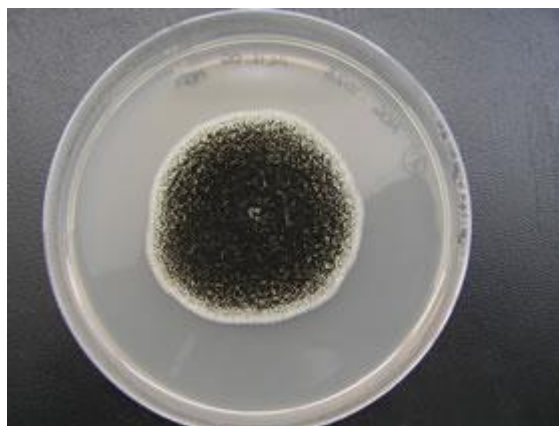
Embora *Aspergillus flavus* tenha a capacidade de infetar os seres humanos, a sua maior ameaça para a saúde humana é através da produção de aflatoxinas que contaminam as culturas alimentares, incluindo o milho, amendoim e nozes (figura 8). O consumo de alimentos contaminados com essas micotoxinas potentes pode levar à aflatoxicose aguda que resulta em morte ou à aflatoxicose crônica que resulta em situações patológicas mais prolongadas, incluindo cancro e imunossupressão (Mehl & Cotty, 2013). O fígado é o principal órgão alvo, e os danos hepáticos têm sido documentados em roedores, aves domésticas, após a ingestão da aflatoxina (Murray *et al.*, 2006).



**Figura 8** - Exemplo de contaminação do milho por *Aspergillus flavus*. Retirada do site: <http://www.aspergillusflavus.org/aflavus/> (11-10-13).

### 1.2.3. *Aspergillus niger*

Descrito por Van Tieghen em 1867, *Aspergillus niger* caracteriza-se por desenvolver colónias em menos de sete dias, apresentando no início aspeto de camurça branca ou amarelada mas que rapidamente fica coberta por uma densa camada de cabeças conidiais negras (figura 9) (Martins *et al*, 2005).

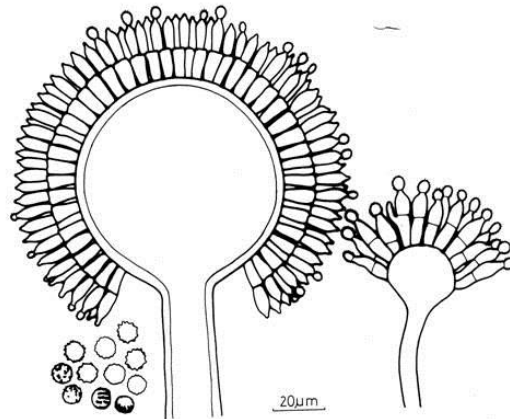


**Figura 9** - Colónia de *Aspergillus niger*. Retirada do site: <http://www.life-worldwide.org/fungal-diseases/aspergillus-niger/> (11-10-13).

Os conidióforos são longos, de paredes lisas e hialinas, mas apresentam uma coloração escura na região próxima à vesícula (figura 10). As cabeças conidiais são globosas, radiadas, de coloração negra, com fiálides bisseriadas (figura 11) (Bleichrodt *et al*, 2012; Martins *et al*, 2005).



**Figura 10** - Aspeto microscópico: Cabeça aspergilar de *Aspergillus niger*. Retirada do site: <http://www.pfdb.net/html/species/s12.htm> (11-10-13).



**Figura 11** - Esquema do conidióforo de *Aspergillus niger*. Retirada do site: [http://www.bcrc.firdi.org.tw/fungi/fungal\\_detail.jsp?id=FU200802220004](http://www.bcrc.firdi.org.tw/fungi/fungal_detail.jsp?id=FU200802220004) (11-10-13).

*Aspergillus niger* é um agente etiológico secundário em otites bacterianas e é causa comum de doenças pulmonares em pacientes imunossuprimidos. O achado de cristais de oxalato de cálcio em amostras microscópicas é clássico para infecção por *Aspergillus niger* e pode ser útil para fazer um diagnóstico, mesmo na ausência de conídios (Person *et al*, 2010).



**Figura 12** - Exemplo de contaminação de uma cebola por *Aspergillus niger*. Retirada do site: [http://www.123rf.com/photo\\_832375\\_an-onion-with-a-severe-infestation-of-black-mold-aspergillus-niger-a-fungal-disease-most-commonly-th.html](http://www.123rf.com/photo_832375_an-onion-with-a-severe-infestation-of-black-mold-aspergillus-niger-a-fungal-disease-most-commonly-th.html) (11-10-13).

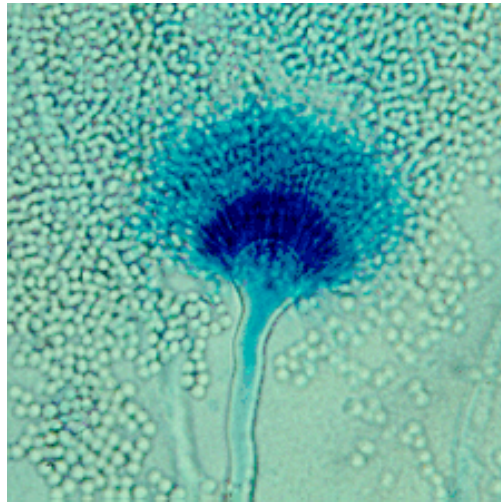
#### 1.2.4. *Aspergillus terreus*

*Aspergillus terreus* identificado em 1918 por Thom caracteriza-se por desenvolver colônias com um aspeto de camurça, cor de canela, o reverso tem uma tonalidade marron, com um período de incubação entre 7 a 14 dias (figura 13). Os conidióforos são hialinos, de parede lisa e apresentam uma tonalidade amarelada. As cabeças conidiais são compactas, colunares e bisseriadas (figura 14). Os conídios são globosos ou elipsoides, de parede lisa com coloração amarelada (figura 15) (Martins *et al*, 2005).

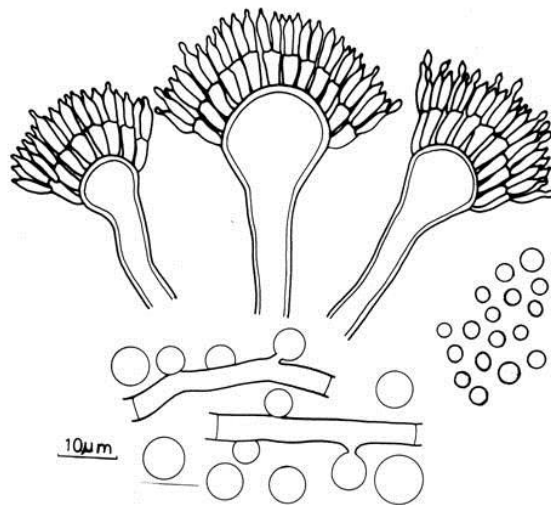
*Aspergillus terreus* um saprófita do solo e produtor de vários metabólitos secundário, é uma causa comum de infeções como aspergilose bronco-pulmonar invasiva ou alérgica, cutânea, oftálmica, onicomicose e de micoses disseminadas. *Aspergillus terreus* parece ter aumentado como uma causa de infeções oportunistas e é de grande preocupação por causa da sua resistência à anfotericina B (Blum *et al*, 2013; Lass-Florl *et al*, 2009; Mokaddas *et al*, 2010). Alguns estudos demonstraram que as infeções de *Aspergillus terreus* resultam em uma taxa mais elevada de mortalidade em comparação com infeções por outros *Aspergillus* spp. (Lass-Florl, 2012).



**Figura 13** - Colónia de *Aspergillus terreus*. Retirada do site: <http://mycotacrcc.mnhn.fr/site/specie.php?idE=96#ancre10> (11-10-13).



**Figura 14** - Aspeto microscópico: Cabeça aspergilar de *Aspergillus terreus*. Retirada do site: [http://www.mycology.adelaide.edu.au/Fungal\\_Descriptions/Hyphomycetes\\_\(hyaline\)/Aspergillus/terreus.html](http://www.mycology.adelaide.edu.au/Fungal_Descriptions/Hyphomycetes_(hyaline)/Aspergillus/terreus.html) (11-10-13).

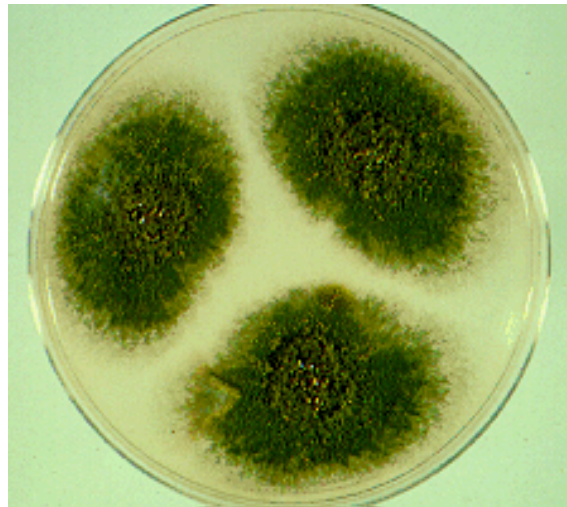


**Figura 15** - Esquema do conidióforo de *Aspergillus terreus*. Retirada do site: [http://www.bcrc.firdi.org.tw/fungi/fungal\\_detail.jsp?id=FU200802220017](http://www.bcrc.firdi.org.tw/fungi/fungal_detail.jsp?id=FU200802220017) (11-10-13).

### 1.2.5. *Aspergillus nidulans*

*Aspergillus nidulans* desenvolve colónias entre 7 a 14 dias, apresentam um aspeto plano, verde-escuro (figura 16). Os conidióforos são curtos, de parede lisa, com cabeças conidiais curtas, colunares e bisseriadas (figura 17). Os conídios são globosos de parede rugosa (figura 18) (Martins *et al*, 2005).

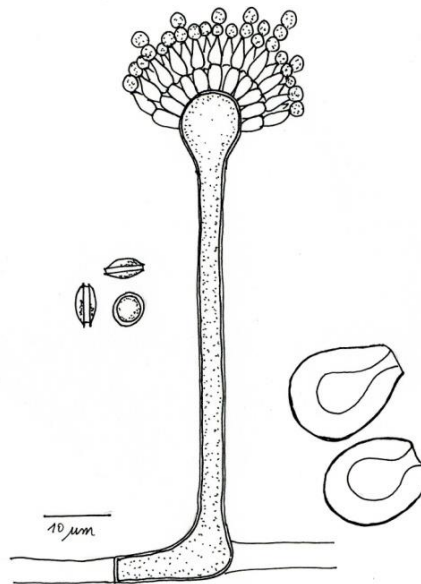
*Aspergillus nidulans* infeta seres humanos e animais e produz doença invasiva sistémica em doentes com alterações imunológicas crónicas, é incomum em ambientes internos, mas tem sido frequentemente encontrada no solo (Jiang *et al*, 2013).



**Figura 16** - Colónia de *Aspergillus nidulans*. Retirada do site: [http://www.mycology.adelaide.edu.au/Fungal\\_Descriptions/Hyphomycetes\\_\(hyaline\)/Aspergillus/nidulans.html](http://www.mycology.adelaide.edu.au/Fungal_Descriptions/Hyphomycetes_(hyaline)/Aspergillus/nidulans.html) (11-10-13).



**Figura 17** - Aspeto microscópico: Cabeça aspergilar de *Aspergillus nidulans*. Retirada do site: [http://www.mycology.adelaide.edu.au/Fungal\\_Descriptions/Hyphomycetes\\_\(hyaline\)/Aspergillus/nidulans.html](http://www.mycology.adelaide.edu.au/Fungal_Descriptions/Hyphomycetes_(hyaline)/Aspergillus/nidulans.html) (11-10-13).



**Figura 18** - Esquema do conidióforo de *Aspergillus nidulans*. Retirada do site: <http://www.plantasyhongos.es/hongos/Aspergillus.htm> (11-10-13).

## **II – Distribuição Geográfica**

*Aspergillus* spp tem uma distribuição mundial, com a particularidade de se reproduzirem por intermédio de grandes quantidades de pequenos esporos, os quais são encontrados na atmosfera durante todo o ano e considerados como contaminantes comuns do laboratório (del Palacio *et al.*, 2003a). Contudo a composição da atmosfera tem um grande impacto sobre o crescimento de fungos, fatores como a humidade e temperatura são variáveis importantes (Hedayati et al, 2007).

## **III - Epidemiologia e modos de transmissão**

O género *Aspergillus* é constituído por muitas espécies, dentro das patogénicas o principal responsável por causar doença é *Aspergillus fumigatus*. Este pode encontrar-se com relativa facilidade no solo, na água, nos alimentos ou na matéria orgânica em decomposição, no pó e no ar exterior e interior das casas, incluindo nos hospitais, o que justifica a fácil propagação dos seus conídios através das correntes de ar (Murray *et al*, 2006; Raja & Singh, 2006; Richardson & Warnock, 2003). No ambiente hospitalar, *Aspergillus* spp, Facilmente aerossolizados, pela sua pequena dimensão, os conídios podem atingir os alvéolos pulmonares (Raja & Singh, 2006). Assim, a principal via de penetração dos esporos fúngicos é a via aérea (Richardson & Warnock, 2003), sendo o aparelho broncopulmonar mais susceptível à aspergilose.

## **IV – Patogénese e Imunidade**

A Aspergilose é um exemplo de uma micose oportunista provocada por fungos filamentosos, ominipresentes e pertencentes ao género *Aspergillus*. Raramente é patogénico em hospedeiros saudáveis com pleno funcionamento do sistema imunológico. A taxa de incidência anual de infeção invasiva por *Aspergillus* spp. é de 12 por 1.000.000. Apenas 20 das espécies reconhecidas de *Aspergillus* foram identificados por provocar infeções em humanos e animais, sendo *Aspergillus fumigatus* o responsável por mais de 90 % das infeções humanas (Jiang *et al*, 2013).

A Aspergilose invasiva tem constituído um problema grave em diversos grupos de doentes imunossuprimidos. Como grupos de risco incluem-se doentes com neoplasia hematológica, em particular com leucemia aguda, recetores de “stem cells”, recetores de

órgãos sólidos, doentes tratados com altas doses de corticosteróides e indivíduos com deficiências de neutrófilos, ao nível do número ou da função (Richardson & Warnock, 2003). É comumente aceite que doentes que fazem terapêuticas com corticosteroides têm um risco aumentado de contrair aspergilose devido a um défice na função dos macrófagos e talvez células T. Foi também demonstrado que os corticosteroides estimulam o crescimento de *Aspergillus* spp em meios de cultura (Murray *et al*, 2006).

Adicionalmente, outras causas poderão predispor ao aparecimento da Aspergilose invasiva, tais como a diabetes, infeções por citomegalovírus, alcoolismo e a administração parenteral de antibióticos (Raja & Singh, 2006).

O aparecimento da infeção está assim facilitado por alguns fatores, nomeadamente, o número de esporos que são inalados e a diminuição dos mecanismos de defesa imunitária. A diminuição do número ou a alteração da função dos macrófagos alveolares e/ou dos neutrófilos polimorfonucleares constitui uma influência determinante nas formas invasivas (Bellocchio *et al.*, 2005).

#### **4.1. Doentes Neutropénicos**

Nos pulmões, os macrófagos alveolares e neutrófilos desempenham um papel fundamental na defesa do hospedeiro contra *Aspergillus* spp. Os macrófagos ingerem e destroem os conídios, enquanto os neutrófilos aderem e destroem as hifas que crescem após a germinação dos conídios (Beisswenger *et al*, 2012). As hifas que não são destruídas podem invadir o tecido pulmonar e a vasculatura, levando à trombose e necrose tecidual local, bem como à disseminação hematogénica para outros órgãos alvo (Murray *et al*, 2006). Assim a aspergilose invasiva está altamente associada a neutropenia, contagem de neutrófilos inferior a  $500/\text{mm}^3$ , e défices na função neutrófila (Murray *et al*, 2006).

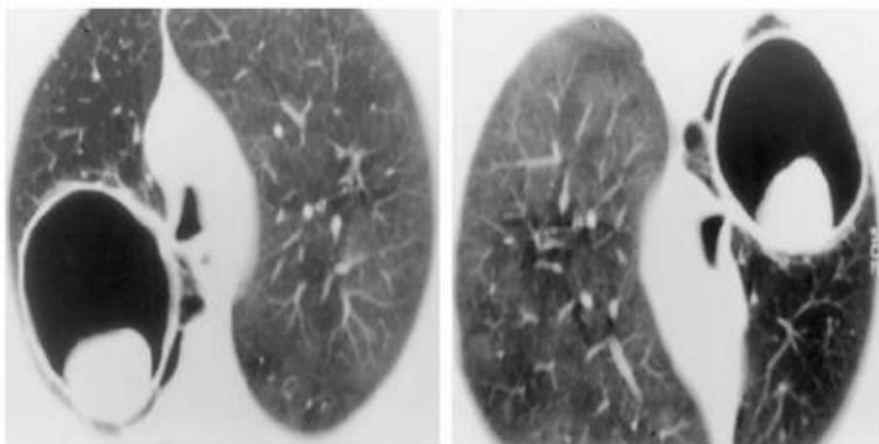
## V- Manifestações clínicas

A designação de aspergilose engloba um espectro de doenças consideradas como micoses provocadas por fungos do género *Aspergillus*.

Existem vários tipos de manifestações clínicas que podem ser devidas a infeções por fungos do género *Aspergillus*, podendo também ocorrer situações não infecciosas (Collee *et al*, 1993).

### 5.1. Aspergiloma

O aspergiloma é referido como o desenvolvimento do fungo *in situ* numa cavidade preexistente e em comunicação com a árvore respiratória superior, permitindo, por um lado, a chegada dos esporos, e, por outro, o arejamento da cavidade necessário ao crescimento fúngico, dando origem a quantidades abundantes de hifas e mesmo cabeças aspergiliares no espaço pulmonar anormal (Hope *et al.*, 2005<sup>a</sup>; Kousha *et al*, 2011; Richardson & Warnock, 2003). Um aspergiloma pode-se formar nos seios paranasais ou numa cavidade pulmonar pré-formada por uma tuberculose antiga ou uma doença pulmonar crónica (Murray *et al*, 2006). Geralmente os sintomas permanecem aqueles da doença subjacente e não é necessário tratamento, exceto se ocorrer uma hemorragia pulmonar. Nesse caso recomenda-se a remoção cirúrgica da cavidade e da bola fúngica (Murray *et al*, 2006). A maioria dos doentes apresenta episódios intermitentes de pequenas hemorragias sucessivas, mas, acima de 25% sofrem hemoptises graves e fatais (Richardson & Warnock, 2003). No raio x são detetados nódulos, cavidades invadidas pelo fungo e derrame pleural (figura 19) (Martins *et al*, 2005).



**Figura 19** - Aspergiloma móvel dentro de uma cavidade pulmonar cística Retirada do site: [http://www.fmc.br/aspectos\\_radiologicos.htm](http://www.fmc.br/aspectos_radiologicos.htm) (11-10-13).

## 5.2- Aspergilose pulmonar invasiva

A aspergilose pulmonar invasiva foi descrita pela primeira vez em 1953 (Koush *et al*, 2011). Na última década, a incidência de Aspergilose invasiva triplicou. Conseqüentemente, é agora considerada como uma das principais causas de morte em doentes imunocomprometidos (Kousha *et al*, 2011; Monteiro *et al*, 2012).

A aspergilose invasiva corresponde ao desenvolvimento de formas aspergílicas no parênquima pulmonar de doentes imunodeprimidos ou sujeitos a terapêuticas extremamente agressivas pelo uso de corticóides, antibióticos e drogas imunossupressoras, bem como nos casos de agranulocitose prolongada (Dagenais e Keller, 2009; Kousha *et al*, 2011; Raja & Singh, 2006). O microrganismo difunde-se a partir do local primário para os tecidos, sem considerar os planos tecidulares. As hifas invadem o lúmen e a parede dos vasos sanguíneos, sendo responsáveis por trombose, enfarte, necrose e hemorragias (figura 20) (Richardson & Warnock, 2003). Outro fator que também influencia o desenvolvimento da Aspergilose invasiva é a contagem de neutrófilos inferior a  $500/\text{mm}^3$  (Murray *et al*, 2006).



**Figura 20** - Imagem de aspergilose pulmonar Retirada do site: <http://www.spenzieri.com.br/aspergilose-pulmonar/> (11-10-13).

Como sintomas os doentes apresentam febre e infiltrados pulmonares acompanhados de dor torácica e hemoptise. Normalmente o diagnóstico definitivo é retardado, pois a cultura de sangue e expectoração dão negativas. Assim a mortalidade associada a esta infecção, apesar da terapia antifúngica específica, é bastante elevada, normalmente superando os 70% (Murray *et al*, 2006).

A Aspergilose invasiva apresenta-se como uma infecção progressiva, aguda e severa, de mau prognóstico, podendo ser fatal (Dagenais e Keller, 2009). E é possível ocorrer disseminação do fungo a partir dos pulmões para o trato gastrointestinal, os rins, o cérebro, o fígado, ou outros órgãos, originando abscessos e lesões necróticas (Person *et al*, 2010).

### 5.3- Osteomielite

A prevalência de *Aspergillus* spp. na osteomielite aumentou com o aumento da população de doentes imunocomprometidos, embora o diagnóstico e terapêutica sejam ainda um desafio, porque os sintomas são inespecíficos. A osteomielite vertebral é agora diagnosticada com mais frequência, como resultado dos avanços na tecnologia de imagem por ressonância magnética (figura 21). Contudo, é difícil distinguir entre uma infecção por *Aspergillus* spp. e infecções bacterianas, com base em estudos de imagem (Jiang *et al*, 2013).



**Figura 21** - Ressonância magnética da coluna cervical com osteomielite de uma doente que se apresentou com dores nas costas, dormência e fraqueza de ambos os membros inferiores (Jiang *et al*, 2013).

Segundo Jiang *et al*, 2013 a chave para um tratamento eficaz para osteomielite causada por *Aspergillus* não é a remoção cirúrgica do abscesso, mas a terapêutica antifúngica sistêmica. No entanto, a cirurgia de emergência é geralmente necessária em casos de compressão da espinal medula.

#### **5.4- Bronquite Aspergilar/ Traqueobronquite**

A bronquite aspergilar é uma infecção rara, sendo caracterizada pelo desenvolvimento do fungo sobre a parede dos brônquios espessados ou pela formação de membranas ou úlceras nas vias respiratórias. Doentes com broncopneumopatias crónicas, nomeadamente bronquite crónica, asma severa, muco viscoso e graves perturbações na eliminação das secreções, apresentam excelentes condições para contraírem infecção aspergilar. Nas secreções brônquicas destes doentes podem-se encontrar fungos do género *Aspergillus*, de uma forma intermitente e em quantidades variáveis. A evolução da doença é favorável, sendo acelerada por aerossóis mucolíticos, e, sobretudo, por manobras de aspiração endoscópica, permitindo assim a extração do “rolhão” de muco ou a sua expulsão pós-endoscópica (Richardson & Warnock, 2003).

#### **5.5- Aspergilose alérgica**

A aspergilose alérgica é definida como um conjunto de manifestações alérgicas provocadas pela inalação de esporos de *Aspergillus*, em que ocorre o desenvolvimento de anticorpos do tipo IgE, contra os antígenos de superfície dos conídios (Richardson & Warnock, 2003).

A aspergilose alérgica observada principalmente nos doentes afetados por asma brônquica ou por fibrose cística com colonização brônquica por *Aspergillus*, é caracterizada por asma com dispneia contínua, febre, infiltrados pulmonares duráveis resultando numa dilatação crónica das vias aéreas, hipereosinófilia tanto no sangue como na expetoração (Richardson & Warnock, 2003). Estima-se que 2% dos doentes asmáticos, 7 a 14% dos doentes com terapias com corticosteroides e 1 a 15% dos doentes com fibrose cística desenvolvem aspergilose invasiva (Kousha *et al*, 2011). Verifica-se uma evolução crónica, em que a destruição brônquica origina frequentemente obstrução prolongada, por rolhões de muco (doença pulmonar obstrutiva crónica). Esta forma de aspergilose apresenta um prognóstico reservado, dada a progressiva perturbação da função respiratória. O diagnóstico pode ser confirmado por raio x, em que se observa infiltração difusa (figura 22) (Martins,2005).



**Figura 22** - Imagem de tomografia computadorizada mostrando bronquiectasias centrais em um paciente com aspergilose broncopulmonar alérgica (kousha et al, 2011).

### **5.6- Aspergilose cutânea**

A aspergilose cutânea é definida como um conjunto de lesões cutâneas associadas a aspergilose invasiva ou sistêmica. Estas lesões são caracterizadas por placas dérmicas necrosantes, abscessos ou granulomas subcutâneos e máculas ou pápulas dérmicas apresentando erupção com tendência supurativa (figura 23) (Hope *et al.*, 2005<sup>a</sup>; Ozer, 2009; Richardson & Warnock, 2003).



**Figura 23** - Exemplo de infecção cutânea causada por *Aspergillus* spp. Retirado do site: [http://bioweb.uwlax.edu/bio203/s2008/miller\\_melo/Disease.htm](http://bioweb.uwlax.edu/bio203/s2008/miller_melo/Disease.htm) (11-10-13).

A infecção fúngica primária, na pele, resulta de uma inoculação direta do fungo, manifestando-se pelo aparecimento de lesões nas proximidades do local de inserção de cateteres intravenosos ou mesmo no próprio local ou ainda em zonas de fissuras (Hope *et al.*, 2005a). A aspergilose cutânea secundária verifica-se a partir da infecção cutânea, por invasão de tecidos profundos, originando formas disseminadas em hospedeiros neutropénicos (Richardson & Warnock, 2003; Hope *et al.*, 2005a).

Estas infeções têm sido descritas em crianças imunocomprometidos e em recém-nascidos após lesões traumáticas, com diferentes opções de tratamento (Ozer, 2009).

### **5.7- Otomicose**

A otomicose corresponde a uma infecção do pavilhão auditivo externo (del Palacio *et al.*, 2003a), sendo considerada uma infecção benigna que ocorre habitualmente como complicação de lesões cutâneas primárias (eczema, dermatite crónica irritativa) ou ainda por malformações anatómicas. Também a utilização de corticóides e a aplicação tópica de antibióticos de largo espectro por períodos prolongados, favorece o aparecimento da infecção. Clinicamente, a obstrução mecânica provoca alguns sintomas tais como prurido, surdez, dor localizada, zumbido e exsudado moderado

*Aspergillus niger* é a espécie predominantemente isolada em casos de otite externa (figura24) (Collee *et al.*, 1993).



**Figura 24** - Otite externa micótica causada por *Aspergillus niger*. Retirado do site: <http://dc111.4shared.com/doc/Bj29-wPU/preview.html> (11-10- 13).

### **5.8- Aspergilose sinusal**

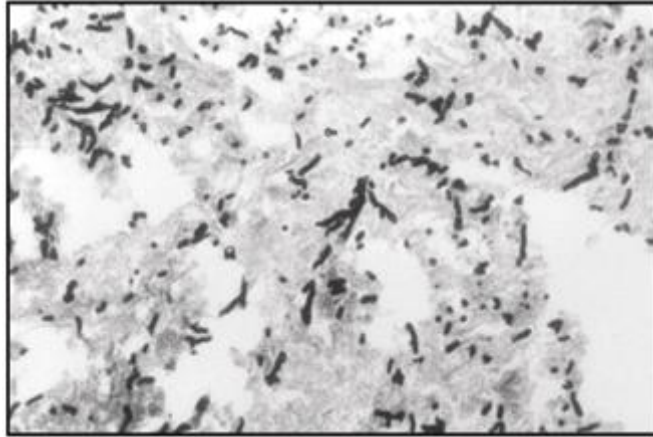
Os doentes, muitas vezes, apresentam uma polipose nasal unilateral, com muco espesso amarelo-esverdeado e sinusite (Richardson & Warnock, 2003). Manifesta-se por lesões granulomatosas crónicas, aspergilomas ou sinusite com invasão do palato, da órbita e da base do crânio, sendo devida a uma afetação dos seios perinasais por *Aspergillus* (Hope *et al.*, 2005a).

### **5.9- Endocardite**

A endocardite fúngica é por vezes verificada nos doentes submetidos a cirurgia cardíaca, ainda que também seja descrita como uma complicação do abuso de drogas parenterais. Os sinais clínicos, bem como os sintomas, são semelhantes aos da endocardite bacteriana. A doença pode ser abrupta ou insidiosa. Alguns dos sintomas como: febre, fadiga, perda de apetite e de peso, são comuns, contudo inespecíficos. Podem também ser observadas queixas cardíacas em 50 a 90% dos doentes, bem como aumento de mau humor em 30%. Embolia com obstrução das artérias principais, particularmente as do cérebro, ocorre em cerca de 80% dos casos (Richardson & Warnock, 2003).

### **5.10- Aspergilose cerebral**

O Sistema Nervoso Central é envolvido em 10 a 20% dos casos de aspergilose disseminada (Richardson & Warnock, 2003), mas a infeção cerebral raramente é diagnosticada ante-morte (figura 25). Esta forma de aspergilose apresenta elevada mortalidade nos doentes imunocomprometidos. Nos doentes submetidos a transplante de “stem cells”, a infeção por *Aspergillus* é uma causa comum de abscessos cerebrais (Richardson & Warnock, 2003), os quais, na maioria dos casos, também são devidos a disseminação hematogénea (Hope *et al.*, 2005a).



**Figura 25** - Lâmina histológica mostrando o fungo *Aspergillus* spp. Retirado do site: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0004-282X2005000600033](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-282X2005000600033) (11-10- 13).

Tem-se verificado que todos os órgãos do corpo podem ser invadidos por *Aspergillus* spp. e tem-se reconhecido um número crescente de casos de aspergilose disseminada, à medida que os progressos da medicina permitem a sobrevivência de maior número de doentes debilitados e imunodeprimidos (Collee *et al*, 1993).

## **VI- Diagnóstico laboratorial**

Como acontece com outros fungos onipresentes, o diagnóstico de aspergilose exige prudência ao avaliar-se o isolamento de uma espécie *Aspergillus* das amostras clínicas (Murray *et al*, 2006).

O diagnóstico preciso da aspergilose invasiva é complicado e pode ser difícil de obter, uma vez que os sintomas clínicos são, muitas vezes, semelhantes aos de outras infecções. O aparecimento de febre persistente, único sinal de infecção, e a existência de sintomas inespecíficos ou atenuados em resultado da medicação à base de corticosteróides, dificultam o diagnóstico. Assim devido à falta de um método de diagnóstico capaz de identificar o fungo responsável pela infecção, o tratamento não é feito atempadamente o que pode estar associado às elevadas taxas de mortalidade. E o diagnóstico acaba por ainda ser confirmado pela autópsia (Dimopoulos *et al*, 2010). O diagnóstico precoce é essencial mas continua a ser um desafio devido à falta de exames clínicos e radiológicos específicos (Hope *et al*, 2005; Mokadda *et al*, 2010).

Para o diagnóstico devem ser utilizadas várias técnicas em conjunto, nomeadamente de técnicas de imagiologia (tomografia computadorizada de alta resolução) e técnicas de laboratório, tais como a observação direta, o cultivo e a deteção de marcadores (antigénios de fungos, tais como *Aspergillus galactomanano* ou ADN) que podem ser encontrados no sangue numa fase precoce da infecção (del Palacio *et al.*, 2003a).

### **6.1. Microscopia**

Como com todos os tipos de processos infecciosos, o diagnóstico laboratorial da infecção fúngica é diretamente dependente da coleta adequada da amostra. O exame microscópico direto de seções teciduais e amostras clínicas é geralmente considerado como entre os meios mais rápidos para o diagnóstico das infecções fúngicas, mas podem acontecer resultados falso-positivo e falso-negativo. A microscopia é menos sensível que a cultura, assim um exame direto negativo não exclui uma infecção fúngica (Murray, 2006).

## **6.2. Cultura**

Um impedimento importante para o diagnóstico atempado é o baixo rendimento de culturas positivas de amostras respiratórias. Além disso, as culturas positivas podem nem sempre ser indicativa de infecção por *Aspergillus* spp. (Mokaddas *et al*, 2010).

As culturas de *Aspergillus fumigatus* são, muitas vezes, visíveis sob a forma de pequenas colônias filamentosas com alguma esporoação ao fim de um dia. Porém é essencial prolongar a incubação durante mais 24 horas para registar o número de colônias em placas e multiplicar pelo fator de diluição imunodeprimidos. Quanto maior o número de colônias de *Aspergillus* mais importante é o seu significado (Collee *et al*, 1993).

## **6.3. Marcadores imunológicos, moleculares e bioquímicos**

Os testes de diagnósticos rápidos, sensíveis e específicos para as sérias infecções fúngicas serão responsáveis por uma aplicação oportuna e focalizada das medidas terapêuticas específicas. Como tal, os testes para a deteção de anticorpos e antigénios, metabólitos e ácidos nucleicos específicos do fungo são muito importantes (Murray *et al*, 2006). Assim o diagnóstico rápido da aspergilose invasiva tem progredido com o desenvolvimento dos imunoensaios para a deteção do antigénio de *Aspergillus* spp, melhorando assim o prognóstico destes doentes e também fornece um meio de monitorização da doença (Murray *et al*, 2006).

O aumento da população de doentes imunocomprometidos, assim como um aumento na incidência de resistência ao tratamento entre isolados clínicos de *Aspergillus fumigatus* agravam o problema. Portanto, há uma necessidade urgente de identificar as moléculas e os mecanismos que contribuem para a patogénese e descobrir alvos de drogas que levem a um melhor regime de tratamento. A aplicação do PCR para detetar os ácidos nucleicos específicos dos fungos oferece uma grande esperança no diagnóstico rápido das infecções fúngicas (Murray *et al*, 2006). Uma variedade de sequências específicas tem sido investigadas, o sequenciamento e anotação do genoma de *Aspergillus fumigatus* facilitam o estudo dos seus genes e seu papel na patogénese (Paul *et al*, 2012).

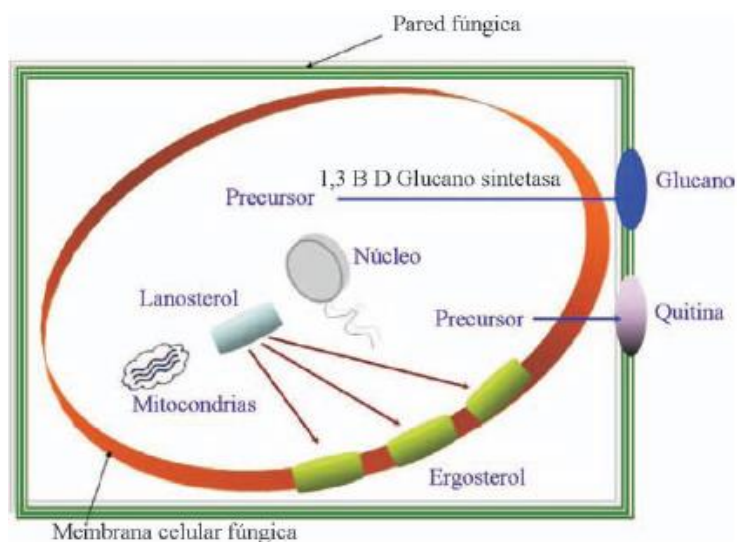
A deteção combinada com mais que um biomarcador é útil para melhorar a especificidade do diagnóstico por exclusão de resultados falso-positivos ou falso-negativos. No caso reportado por Mokaddas *et al* de aspergilose pulmonar invasiva causado por *Aspergillus terreus*, o diagnóstico foi apoiado pela deteção simultânea de

três marcadores de DNA, detecção do DNA específico de *Aspergillus terreus*, galactomanana e o complexo enzimático da parede fúngica,  $\beta$ -1,3-D-glucana. A monitorização destes marcadores também permite o acompanhamento da evolução do tratamento.

## VII- Tratamento

A terapêutica específica de aspergilose normalmente envolve a administração de anfotericina B ou um agente alternativo, como o voriconazol, de introdução mais recente e que fornece uma opção de tratamento mais eficaz e menos tóxica que a anfotericina B (Murray *et al*, 2006). O voriconazole mostrou ter melhor eficácia e tolerância em comparação com a anfotericina B, sendo assim recomendado como terapia de primeira linha (Baddley *et al*, 2013; Jacobs *et al*, 2011). Contudo algumas outras drogas utilizadas para o tratamento de tuberculose ou epilepsia reduzem os níveis sanguíneos do voriconazole. O voriconazole pode ser administrado oral ou intravenosamente. É melhor do que a anfotericina B mas pode necessitar de um ajuste da dose para maximizar o sucesso principalmente em crianças, doentes com problemas de fígado ou cirrose e possivelmente idosos.

As três principais classes de drogas antifúngicas estão disponíveis para o tratamento infecções fúngicas são: polienos, azóis, e equinocandinas (Baddley *et al*, 2013; Chandrasekar, 2010; Herbrecht *et al.*, 2004). Estas drogas antifúngicas têm diferentes mecanismos de ação e diferentes locais alvo na celular fúngica (figura) (Chandrasekar, 2010).

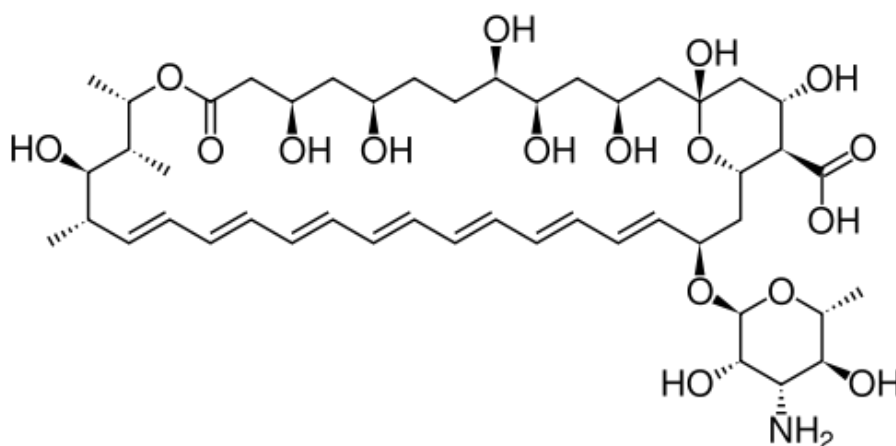


**Figura 26** - Estrutura da célula fúngica. Retirada do site: <http://gsdl.bvs.sld.cu/greenstone/collect/enfermeria/index/assoc/HASHc011.dir/fig01a09.png> (11-10-13).

### 7.1. Polienos: Anfotericina B

A anfotericina B foi descoberta, em 1955, por Gold e colaboradores, quando investigavam uma estirpe de *Streptomyces nodosus* (Filippin & Souza, 2006). O seu caráter anfotérico, que lhe dá o nome, depende da existência de um polo hidrofílico no anel macrólido e de um polo lipofílico na porção poliénica.

A estrutura anfotericina B consiste em um grande anel lactâmico, com um cadeia lipofílica rígida contendo sete ligações duplas conjugadas, e uma porção hidrofílica (figura 27).



**Figura 27** - Estrutura química da molécula de anfotericina B. Retirada do site: <http://www.ff.up.pt/toxicologia/monografias/ano0809/anfotericina/caracteristicas.html> (27-10-12).

#### 7.1.1. Espectro de Ação

A anfotericina B continua a ser o antifúngico com maior espectro de ação, com uma eficácia demonstrada no tratamento das principais micoses sistémicas (Murray *et al*, 2006). Este antifúngico é ainda muito usado e considerado como uma droga de eleição no tratamento dos doentes com aspergilose invasiva (Raja & Singh, 2006).

#### 7.1.2. Mecanismo de ação

A atividade fungicida da anfotericina B depende da sua ligação ao ergosterol, o principal esterol da membrana celular fúngica. Quando a anfotericina B se liga ao ergosterol, formam-se canais iónicos na membrana celular que destroem a integridade osmótica da membrana celular fúngica e levam à perda dos constituintes intracelulares e à morte celular (Chandrasekar, 2010; Murray *et al*, 2006).

*Aspergillus terreus* é resistente à anfotericina B mas o mecanismo dessa resistência que não é bem compreendido (Blum *et al*, 2013; Lass-Florl, 2012).

Este mecanismo é seletivo para os fungos porque o esterol predominante nas membranas celulares humanas é o colesterol.

### **7.1.3. Farmacocinética**

A anfotericina B é pouco solúvel em água e não é absorvida pela via de administração intramuscular ou oral. A forma convencional de ser administrada é por via intravenosa (Murray *et al*, 2006).

Após a sua administração por via intravenosa o fármaco é libertado na corrente sanguínea e mais de 90% da anfoterina B que permanece no plasma encontra-se ligada às proteínas plasmáticas, particularmente à lipoproteína- $\beta$ . Quando o doente faz tratamento diário, 2 a 5% de cada dose aparece na urina. A semivida plasmática é de, aproximadamente, 15 dias.

### **7.1.4. Reações adversas**

As reações agudas mais frequentes após a administração intravenosa de anfotericina B são febre, cefaleias, arrepios de frio e hipotensão (Murray *et al*, 2006).

A toxicidade renal depende da dose e pode observar-se em aproximadamente 80% dos doentes tratados com anfotericina B esta nefrotoxicidade tem um componente reversível associado a uma diminuição da perfusão renal e um componente irreversível resultante da lesão tubular renal, que é raro (Chandrasekar, 2010; Filippin & Souza, 2006; Murray *et al*, 2006).

Pode também surgir uma anemia hipocrômica normocítica, provavelmente relacionada com a diminuição da produção renal de eritropoietina (Murray *et al*, 2006).

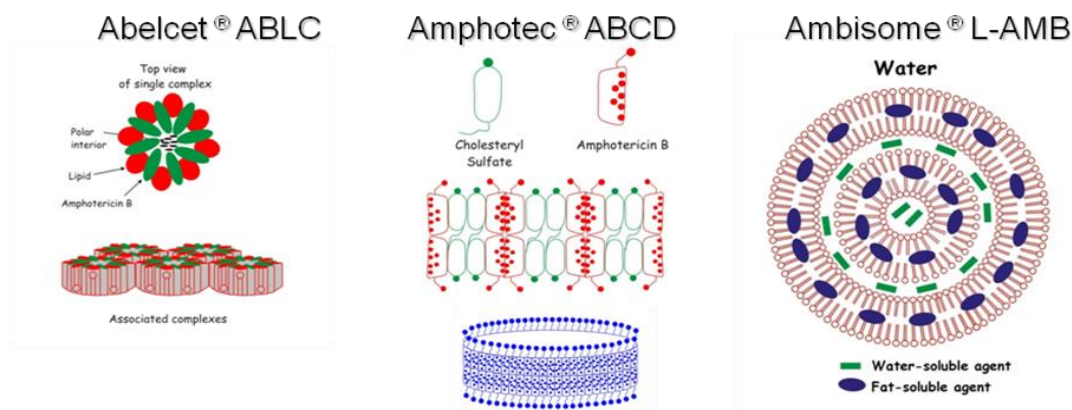
A terapêutica com anfotericina B é condicionada pela sua toxicidade, particularmente a nível renal. Esta limitação levou ao desenvolvimento de formulações lipídicas do fármaco, com o objetivo de reduzir a toxicidade.

### 7.1.5. Formulações lipídicas de anfotericina B

As formulações lipídicas da anfotericina B aumentam a eficácia e diminuem os efeitos colaterais, nomeadamente, a nefrotoxicidade. São principalmente recomendadas no tratamento de infeções fúngicas que não responderam à anfotericina B ou em pessoas com função renal deficiente (Murray *et al*, 2006).

Foram desenvolvidas três formulações lipídicas da anfotericina B:

- Ambisome uma preparação lipossômica de vesículas uni lamelares pequenas, o fármaco é encapsulado dentro dos lipossomas contendo fosfolípido (figura 28);
- Amphotec uma dispersão coloidal onde o fármaco é embalado em pequenos discos lipídicos contendo sulfato de colesterol (figura 28);
- Abelcet um complexo lipídico, a anfotericina B é complexada com fosfolípidios para produzir estruturas “ribbon-like” (figura 28) (Filippin & Souza, 2006).



**Figura 28** – Estrutura das formulações lipídicas da anfotericina B. Retirado do site: <http://www.aspergillus.org.uk/indexhome.htm?education/slides.htm~main> (27-10-12).

### 7.2. Derivados azóis

Os derivados azóis incluem dois grandes grupos: os imidazóis e os triazóis, que partilham o mesmo mecanismo de ação e têm um espectro antifúngico semelhante. Os triazóis distinguem-se dos imidazóis por terem três átomos de azoto no anel azol. Os triazóis são moléculas mais recentes, apenas para uso sistémico e incluem o itraconazol, o fluconazol, voriconazol e o posaconazol (Murray *et al*, 2006; Van der landen *et al*, 2013).

### **7.2.1. Espectro de Ação**

Da classe azol apenas o itraconazol, o voriconazol e o posaconazol manifestam atividade antifúngica contra *Aspergillus* spp (Murray *et al*, 2006).

### **7.2.2. Mecanismo de ação**

O seu principal mecanismo é a inibição da enzima 14- $\alpha$ -desmetilase do lanosterol, uma enzima ligada ao citocromo p450. Esta enzima está envolvida na conversão do lanosterol em ergosterol. Desta forma, estes fármacos inibem a síntese de ergosterol da membrana celular fúngica e levam à acumulação de 14- $\alpha$ -metilesteróis. A inibição da síntese de ergosterol resulta na inibição do crescimento da célula fúngica (fungistático) ou na morte celular (fungicida) (Murray *et al*, 2006). Este mecanismo é específico porque estes antifúngicos têm maior afinidade para as enzimas da célula fúngica do que para as enzimas do citocromo p450 humanas (Chandrasekar, 2010).

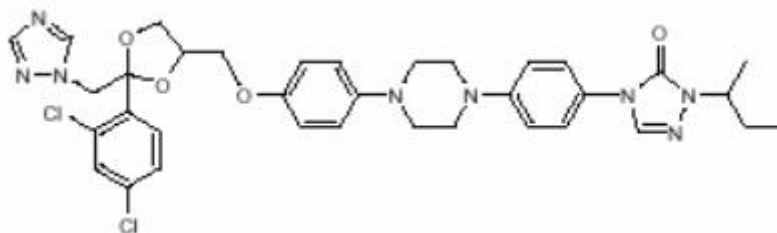
### **7.2.3. Reações adversas**

São fármacos geralmente bem tolerados. Os efeitos laterais mais frequentes são a nível gastrointestinal, como náuseas, vômitos, diarreia, dor abdominal e subida das enzimas hepáticas.

### **7.2.4. Itraconazol**

É um triazol lipofílico (figura 29) que pode ser usado por via oral ou intravenosa, geralmente na dose de 100 a 400 mg/dia. A absorção do itraconazol pela via de oral é irregular e necessita de um pH gástrico ácido. O itraconazol é biotransformado quase totalmente no fígado, formando como principal metabolito o hidroxitraconazol, o qual mantém atividade antifúngica. O itraconazol liga-se fortemente às proteínas plasmáticas e tem atividade fungicida contra *Aspergillus* spp, sendo considerado um agente de segunda linha no tratamento da aspergilose invasiva (Murray *et al*, 2006). As concentrações urinárias são baixas e tem uma semivida plasmática longa, cerca de 30 a 40 horas.

As interações medicamentosas são comuns com o itraconazol, os antiácidos, antagonistas H<sub>2</sub>, inibidores da bomba de prótons reduzem significativamente a absorção do itraconazol. O itraconazol potencia o efeito anticoagulante da varfarina e de outros cumarínicos bem como os efeitos de muitos outros fármacos que são metabolizados pelo citocromo p450, com potencial desenvolvimento de toxicidade (Murray *et al*, 2006).



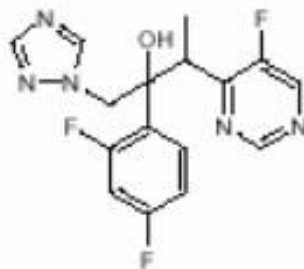
**Figura 29** - Estrutura química da molécula de itraconazol. Retirada do site: [http://www.visaoacademica.ufpr.br/v5n2/ana\\_m.htm](http://www.visaoacademica.ufpr.br/v5n2/ana_m.htm) (27-10-12).

### 7.2.5. Voriconazol

É dos mais recentes triazóis de amplo espectro (figura 30), encontra-se disponível para uso por via oral ou intravenosa e a dose recomendada é 400mg/dia. Apresenta uma boa absorção oral e sofre biotransformação predominantemente hepática (Murray *et al*, 2006). Tem uma semivida plasmática de, aproximadamente, 6 horas.

Para além das reações hepáticas e gastrointestinais comuns aos outros triazóis, o voriconazol pode provocar alterações visuais transitórias em 30% dos doentes e fotossensibilidade. As interações com outros medicamentos metabolizados pelo citocromo p450 são comuns (Murray *et al*, 2006).

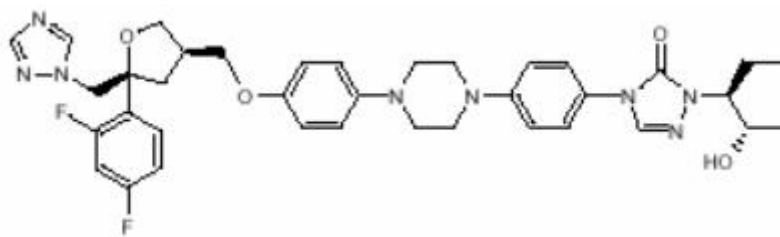
O voriconazol é um fungicida mais eficaz que o itraconazol contra *Aspergillus* spp (Murray *et al*, 2006). E mostrou ter melhor eficácia e tolerância em comparação com a anfotericina B, sendo assim recomendado como um agente de primeira linha no tratamento da aspergilose invasiva (Jacobs *et al*, 2011). Mesmo nos casos, em que o agente responsável é *Aspergillus terreus*, agente resistente à anfotericina B, o voriconazol parece ser altamente ativo contra esta espécie no ambiente clínico (Lass-Flörl *et al*, 2009).



**Figura 30** - Estrutura química da molécula de voriconazol. Retirada do site: [http://www.visaoacademica.ufpr.br/v5n2/ana\\_m.htm](http://www.visaoacademica.ufpr.br/v5n2/ana_m.htm) (27-10-12).

### 7.2.6. Posaconazol

È o mais recente triazol aprovado para o tratamento e profilaxia de infecções por fungos invasivos (figura 31). O posaconazol demonstra atividade fungistática contra *Aspergillus* spp resistentes a outros azóis e à anfotericina B. Os efeitos adversos relacionados mais comuns associados com o tratamento com posaconazol são náuseas, vômitos, diarreia, erupção cutânea, hipocalcemia, trombocitopenia e alteração da função hepática. O posaconazol é um agente anti-fúngico oral com um amplo espectro de ação e com eficácia clínica melhor do que os outros antifúngicos disponíveis. É menos nefrotóxico e provavelmente, menos propenso a interações medicamentosas (Howard *et al*, 2011; Zoller *et al*, 2011).

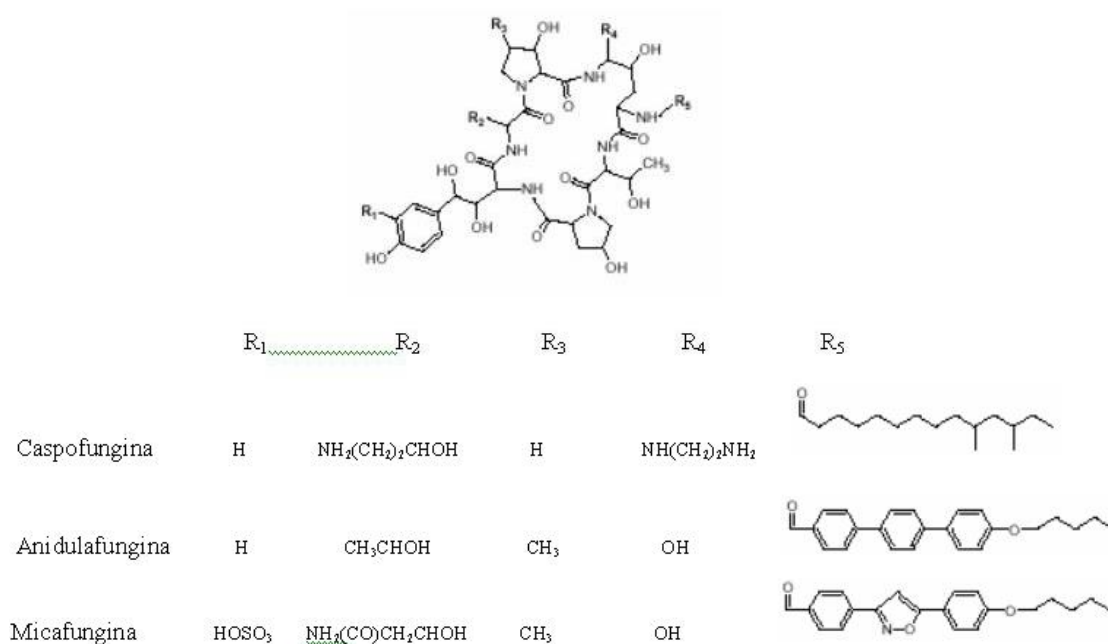


**Figura 31** - Estrutura química da molécula de posaconazol. Retirada do site: [http://www.visaoacademica.ufpr.br/v5n2/ana\\_m.htm](http://www.visaoacademica.ufpr.br/v5n2/ana_m.htm) (27-10-12).

Encontram-se em investigação outros derivados triazóis, como o surgimento de resistência de *Aspergillus fumigatus* a azóis é um problema emergente e complica o tratamento dos doentes. A resistência a azóis pode ocorrer através da exposição a fungicidas no ambiente (Van der Linden *et al*, 2013).

### 7.3. Equinocandinas

As equinocandinas são a classe de antifúngicos mais recente e constituem um importante avanço na terapêutica antifúngica. Pertencem a esta classe a caspofungina, a micafungina, a anidulafungina e outros análogos ainda em fase de investigação. A caspofungina e a micafungina são os únicos aprovados para uso clínico. Na Europa só a caspofungina é que está aprovada. São macromoléculas lipopeptídicas, constituídas por hexapeptídeos cíclicos com uma cadeia lateral lipídica que, no caso da caspofungina, corresponde a uma cadeia de ácidos gordos (figura 32) (Chandrasekar, 2010).



**Figura 32** - Estrutura química das equinocandinas. Retirada do site: [http://www.visaoacademica.ufpr.br/v5n2/ana\\_m.htm](http://www.visaoacademica.ufpr.br/v5n2/ana_m.htm) (27-10-12).

#### 7.3.1. Espectro de Ação

O espectro antifúngico das equinocandinas restringe-se basicamente às espécies *Candida* e *Aspergillus* spp (Murray *et al*, 2006). Atualmente, a caspofungina é usada nos casos graves de aspergilose invasiva resistentes à anfotericina B.

A ausência de antagonismo, quando usada em combinação com outros antifúngicos, sugere que poderá ser usada em combinação, particularmente na aspergilose invasiva.

### **7.3.2. Mecanismo de ação**

O alvo das equinocandinas é o complexo enzimático da parede fúngica,  $\beta$ -1,3-D-glicana. O  $\beta$ -1,3-D-glicana entra na composição da parede fúngica e as equinocandinas inibem a sua síntese danificando a parede celular e tendo, assim, uma ação fungicida por lise osmótica. Visto que o  $\beta$ -1,3-D-glicana é exclusivo da parede celular fúngica, esta classe de agentes é seletiva em sua toxicidade (Murray *et al*, 2006).

### **7.3.3. Farmacocinética**

As equinocandinas têm uma má absorção oral e, por isso, são utilizadas apenas por via intravenosa. Ligam-se fortemente às proteínas plasmáticas e têm uma má penetração no LCR. São eliminadas sobretudo por biotransformação hepática, sendo a sua concentração na urina muito baixa. O tempo de semivida plasmático da caspofungina é de aproximadamente 10 hora. Recomenda-se um ajuste de dose nos doentes com insuficiência hepática. Como são maus substratos para as enzimas do citocromo p450, as equinocandinas têm menos interações farmacológicas que os derivados azóis (Chandrasekar, 2010; Murray *et al*, 2006).

### **7.3.4. Reações adversas**

São fármacos geralmente bem tolerados, estando apenas descritas algumas reações adversas ligeiras, como flebite no local da injeção, hemólise ligeira, subida das enzimas hepáticas e irritação gastrointestinal.

## VIII – Prevenção

Doentes neutropénicos e outros de alto risco devem ser instalados em locais com ar filtrado para minimizar a exposição ao *Aspergillus* (Murray *et al*, 2006). É necessária a máxima precaução relativamente aos indivíduos que correm risco de desenvolver doença alérgica ou Aspergilose invasiva, no que se refere à exposição aos conídios das espécies de *Aspergillus* (Richardson & Warnock, 2003). As unidades de transplantação de medula óssea empregam, na sua maioria, sistemas de pressão positiva com filtração do ar por filtros HEPA (*High Efficiency Particulate Air*), e, inclusivamente, praticam “políticas” de isolamento dos doentes, minimizando assim o risco de exposição aos conídios de *Aspergillus* bem como a esporos de outros fungos (Richardson & Warnock, 2003).

A utilização de filtros HEPA e a limitação das visitas e o uso de roupas esterilizadas também podem influenciar significativamente a qualidade do ar das unidades de cuidados médicos. Assim, a monitorização da qualidade do ar das instalações hospitalares deve ser realizada frequentemente por razões preventivas (Araujo *et al.*, 2005a).

Estratégias terapêuticas ótimas incluem a prevenção da contaminação em pacientes de alto risco, o início precoce da terapia antifúngica, em alguns casos, a cirurgia, e, mais importante ainda, o tratamento da condição subjacente sempre que possível, para restaurar um certo grau de imunocompetência. Isto é, para o tratamento ser bem-sucedido é importante tentar diminuir a imunossupressão e/ou reconstruir as defesas imunes do hospedeiro (Baddley *et al*, 2013; Murray *et al*, 2006).

## Conclusão

A incidência e a gravidade das infecções fúngicas têm vindo a aumentar de forma alarmante e o seu tratamento é, por vezes, um grande desafio. Muitos são os fatores que têm contribuído para este aumento, nomeadamente o aumento da sobrevivência dos doentes em cuidados intensivos, aumento do uso de antibióticos e terapias imunossupressoras. Dada a complexidade dos doentes em risco de contrair infeção e a grande variedade de patógenos, o diagnóstico e a terapêutica representam um desafio considerável. O diagnóstico depende de uma suspeita clínica e da obtenção do material apropriado para a identificação (Murray *et al*, 2006).

Mas mesmo quando diagnosticada atempadamente a infeção e realizada a terapêutica antifúngica mais indicada, nem sempre os resultados são positivos. Estas infeções afetam doentes que se encontram em um estado imunitário debilitado e por vezes o organismo não consegue suportar a terapêutica, acabando por desenvolver um choque séptico. Segundo o caso reportado por Dimopoulos, em que retrata um pós-operatório de um doente imunocompetente que foi infetado por *Aspergillus*. Este tinha realizado uma profilaxia antifúngica antes da cirurgia, a infeção foi diagnosticada e recebeu o tratamento padrão mas doente acabou por morrer de choque séptico. Este é um exemplo que nos retrata a problemática do combate da doença, que é indispensável uma terapêutica de prevenção de forma a prevenir atempadamente a infeção (Mokadda *et al*, 2010).

## **Bibliografia**

Araujo, R., Pina-Vaz, C. e Rodrigues, A. G. (2005a). *Surveillance of airborne Aspergillus in a Portuguese University Hospital*, *Mycoses*, 48(2), pp. 45.

Baddley, J. W., Stephens, J. M., Gao, X. Ji, X., Schlamm, H. T. e Tarallo, M. (2013). *Aspergillosis in Intensive Care Unit (ICU) patients: epidemiology and economic outcomes*, *BMC Infectious Diseases*, 13(29).

Beisswenger, C., Hess, C. e Bals, R. (2012). *Aspergillus fumigatus conidia induce interferon- $\beta$  signalling in respiratory epithelial cells*, *European Respiratory Journal*, 39, pp. 411–418.

Bellocchio, S., Bozza, S., Montagnoli, C., Perruccio, K., Gaziano, R., Pitzurra, L. e Romani, L. (2005). *Immunity to Aspergillus fumigatus: the basis for immunotherapy and vaccination*, *Med Mycol*, 43(1), pp. 181-188.

Bhabhra, R. e Askew, D. S. (2005). *Thermotolerance and virulence of Aspergillus fumigatus: role of the fungal nucleolus*, *Med Mycol*, 43(1), pp. 87-93.

Bleichrodt, R., Vinck, A., Krijgsheld, P., van Leeuwen, M. R., Dijksterhuis, J. e Wösten, H. A. B. (2012). *Cytosolic streaming in vegetative mycelium and aerial structures of Aspergillus niger*, *Studies in Mycology*, 74, pp. 31–46.

Blum, G., Hörtnagl, C., Jukic, E., Erbeznik, T., Pümpel, T., Dietrich, H., Nagl, M., Speth, C., Rambach, G. e Lass-Flörl, C. (2013). *New Insight into Amphotericin B Resistance in Aspergillus terreus*, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 57(4), pp.1583–1588.

Chandrasekar, P. (2010). *Management of invasive fungal infections: a role for polyenes*, *Journal Antimicrobial Chemotherapy*, 66, pp. 457–465.

Collee, J. G., Duguid, J. P., Fraser, A. G. e Marmion, B. P. (1993). *Microbiologia Médica*, Fundação Calouste Gulbenkian/Lisboa, 6ª edição, pp. 1926-1931.

Dagenais, T. R. T. e Keller, N. P. (2009). *Pathogenesis of Aspergillus fumigatus in Invasive Aspergillosis*, *Clinical Microbiology Reviews*, pp. 447–465.

del Palacio, A., Cuetara, M. S. e Ponton, J. (2003a). *Laboratory diagnosis of invasive aspergillosis*, *Rev Iberoam Micol*, 20(3), pp. 90-98.

Dimopoulos, G., Tsangaris, I., Poulakou, G., Panayiotides, J., Tsaknis, G., Orfanos, S. e Armaganides, A. (2010). *Post-operative Aspergillus mediastinitis in a man who was immunocompetent: a case report*, *Journal of Medical Case Reports*, 4, pp. 312.

Filippin, F. B. e Souza, L. C. (2006). *Eficiência terapêutica das formulações lipídicas de anfotericina B*, *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 42 (2).

Hedayati, M. T., Pasqualotto, A. C., Warn, P. A., Bowyer, P. e Denning, D. W. (2007). *Aspergillus flavus: human pathogen, allergen and mycotoxin producer*, *Microbiology*, 153, pp. 1677–1692.

Herbrecht, R., Natarajan-Ame, S., Letscher-Bru, V. e Canuet, M. (2004). *Invasive pulmonary aspergillosis*, *Semin Respir Crit Care Med*, 25(2), pp.191-202.

Hope, W. W., Walsh, T. J. e Denning, D. W. (2005). *Laboratory diagnosis of invasive aspergillosis*, *Lancet Infect Dis*, 5, pp. 609–622.

Hope, W. W., Walsh, T. J. e Denning, D. W. (2005a). *The invasive and saprophytic syndromes due to Aspergillus spp*, *Med Mycol*, 43(1), pp.207-238.

Howard, S. J., Lestner, J. M. Sharp, A., Gregson, L., Goodwin, J., Slater, J., Majithiya, J. B., Wam, P. A. e Hope, W. W. (2011). *Pharmacokinetics and pharmacodynamics of posaconazole for invasive pulmonary aspergillosis: clinical*

*implications for antifungal therapy*, The Journal of Infectious Diseases, 203(9), pp. 1324-1332.

Jacobs, F., Selleslag, D., Aoun, M., Sonet, A. e Gadisseur, A. (2011). *An observational efficacy and safety analysis of the treatment of acute invasive aspergillosis using voriconazole*, Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 31, pp.1173–1179.

Jiang, Z., Wang, Y., Jiang, Y., Xu, Y. e Meng, B. (2013). *Vertebral osteomyelitis and epidural abscess due to Aspergillus nidulans resulting in spinal cord compression: Case report and literature review*, Journal of International Medical Research, 41(2), pp.502–510.

Kousha, M., Tadi, R. e Soubani, A. O. (2011). *Pulmonary aspergillosis: a clinical review*, European Respiratory Review, 20(121), pp. 156–174.

Lass-Florl, C. (2012). *Aspergillus terreus: How Inoculum Size and Host Characteristics Affect Its Virulence*, The Journal of Infectious Diseases, 205, pp. 1192–1194.

Lass-Florl, C., Alastruey-Izquierdo, A., Cuenca-Estrella, M., Perkhofer, S. e Rodriguez-Tudela, J. L. (2009). *In Vitro Activities of Various Antifungal Drugs against Aspergillus terreus: Global Assessment Using the Methodology of the European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing*, Antimicrobial Agents and Chemotherapy, pp. 794–795.

Martins, J. E. C., Melo, N. T. e Heins-Vaccari, E. M. (2005). *Atlas de Microbiologia Média*, Copyright, Editora Manole Ltda, pp. 39-45.

Mehl, H. L. e Cottya, P. J. (2013). *Nutrient Environments Influence Competition among Aspergillus flavus Genotypes*, Applied and Environmental Microbiology, 79(5), pp. 1473–1480.

Minami, P. S. (2003). *Micologia: Métodos Laboratoriais de Diagnóstico Das Micoses*, Copyright, Editora Manole Brasil, pp. 47-50.

Mokaddas, E., Burhamah, M. H., Ahmad, A. S. e Khan, Z. U. (2010). *Invasive pulmonary aspergillosis due to Aspergillus terreus: value of DNA, galactomannan and (1A3)-b-D glucan detection in serum samples as an adjunct to diagnosis*, Journal of Medical Microbiology, 59, pp. 1519–1523.

Monteiro, M. C., de la Cruz, M., Cantizani, J., Moreno, C., Tormo, J. R., Mellado, E., De Lucas, J. R., Asensio, F., Valiante, V., Brakhage, A. A., Latgé, J., Genilloud, O. e Vicente F. (2012). *A New Approach to Drug Discovery: High-Throughput Screening of Microbial Natural Extracts against Aspergillus fumigatus Using Resazurin*, Journal of Biomolecular Screening, 17(4), pp. 542–549.

Murray, P. R., Rossenthal, K. S. e Pfaller, M. A. (2006). *Microbiologia: Médica*, 5º edição, Elsevier Editora Ltda, pp. 770-773.

Ozer, B., Kalaci, A., Duran, N., Dogramaci, Y. e Yanat, A. N. (2009). *Cutaneous infection caused by Aspergillus terreus*, Journal of Medical Microbiology, 58, pp. 968–970.

Paul, S., Klutts J. S., e Moye-Rowley, W. S. (2012). *Analysis of Promoter Function in Aspergillus fumigatus*, Eukaryotic Cell, pp. 1167–1177.

Person, A. K., Chudgar, S. M., Norton, B. L., Tong, B. C. e Stout, J. E. (2010). *Aspergillus niger: an unusual cause of invasive pulmonary aspergillosis*, Journal of Medical Microbiology, 59, pp. 834–838.

Raja, N. S. e Singh, N. N. (2006). *Disseminated invasive aspergillosis in an apparently immunocompetent host*, Journal Microbiol Immunol Infect, 39(1), pp. 73-77.

Richardson, M. D. e Warnock, D. W. (2003). *Fungal Infection Diagnosis and Management*, 3th edition. Victoria, Blackwell Publishing Asia Pty Ltd.

Van der Linden, J. W. M., Camps, S. M. T., Kampinga, G. A., Arends, J. P. A., Debets-Ossenkopp, Y. J., Haas, P. J. A., Rijnders, B. J. A., Kuijper, E. J., Van Tiel, F. H., Varga, J., Karawajczyk, A., Zoll, J., Melchers, W. J. G. e Verweij, P. E. (2013). *Aspergillosis due to Voriconazole Highly Resistant Aspergillus fumigatus and Recovery of Genetically Related Resistant Isolates From Domiciles*, CID 57, pp. 513-520.

Zoller, Z., Valente, C., Baker, K. e Klepser, M. E. (2010). *Development, clinical utility, and place in therapy of posaconazole for prevention and treatment of invasive fungal infections*, Drug Design, Development and Therapy, 4, pp. 299–311.