

**UFPR – UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ**

**FERNANDA HORN RAZOUK**

**DOSAGEM DA GALACTOMANANA SÉRICA PARA O  
DIAGNÓSTICO DE ASPERGILOSE INVASIVA PULMONAR EM  
PACIENTES SUBMETIDOS AO TRANSPLANTE DE CÉLULAS  
TRONCO HEMATOPOIÉTICAS**

**CURITIBA  
2013**

**FERNANDA HORN RAZOUK**

**DOSAGEM DA GALACTOMANANA SÉRICA PARA O  
DIAGNÓSTICO DE ASPERGILOSE INVASIVA PULMONAR EM  
PACIENTES SUBMETIDOS AO TRANSPLANTE DE CÉLULAS  
TRONCO HEMATOPOIÉTICAS**

Dissertação apresentada como requisito parcial para a obtenção do título de mestre, ao Curso de Pós-Graduação em Medicina Interna e Ciências da Saúde da Universidade Federal do Paraná.

Orientador: Prof. Dr. José Zanis Neto

Co-orientador: Prof. Dr. Clóvis Arns da Cunha

**CURITIBA  
2013**

# TERMO DE APROVAÇÃO

FERNANDA HORN RAZOUK

DOSAGEM DA GALACTOMANANA SÉRICA PARA O DIAGNÓSTICO DE  
ASPERGILOSE INVASIVA PULMONAR EM PACIENTES SUBMETIDOS AO  
TRANSPLANTE DE CÉLULAS TRONCO HEMATOPOIÉTICAS

Dissertação apresentada como requisito parcial para a obtenção do título de mestre, ao Curso de Pós-Graduação em Medicina Interna e Ciências da Saúde da Universidade Federal do Paraná, pela seguinte banca examinadora:

---

José Zanis Neto

---

Flavio de Queiroz Telles

---

Edna Maria Vissoci Reiche

---

Marisol Dominguez Muro

(suplente)

Curitiba, \_\_\_\_\_, de \_\_\_\_\_, de 2013

Dedico este trabalho à memória do meu irmão Marco Antonio Razouk Filho e a todos os pacientes que acreditaram sempre nos avanços da ciência em busca da cura de doenças.

## AGRADECIMENTOS

À Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Medicina Interna e Ciências da Saúde da Universidade Federal do Paraná pela oportunidade concedida.

Ao Prof. Dr. José Koheler, pela indicação e confiança que me foram dadas para que se iniciasse essa pesquisa.

Ao Prof. Dr. José Zanis Neto, orientador desta dissertação, pelas sugestões apresentadas, fundamentais para a realização deste trabalho.

Ao Dr. Clóvis Arns da Cunha, co-orientador desta dissertação, pela importante participação nas diversas etapas deste estudo, pelas correções, pela disponibilidade no atendimento, pelo exemplo de dedicação e competência profissional e pelas palavras de estímulo que muito me incentivaram.

Ao Dr. Thiego Teixeira Cavalheiro pela importante contribuição no momento da organização da planilha de estudo dos diversos dados coletados.

Ao Dr. Bernardo Montesanti Machado de Almeida pela continuidade na análise da planilha de dados, focado nas manifestações clínicas dos pacientes deste estudo.

À minha colega farmacêutica bioquímica Maria Luiza Drechsel pelo companheirismo e amizade durante a realização deste estudo, bem como auxílio na obtenção dos dados de uso de antifúngicos da Farmácia do HC da UFPR.

À Prof<sup>a</sup>. Marisol Dominguez Muro, chefe do laboratório de Micologia do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná, e Dr<sup>a</sup> Rosângela e toda sua equipe pela realização das análises imunológicas.

Ao Laboratório Pfizer pelo fornecimento dos kits de diagnóstico utilizados neste estudo.

A minha colega de profissão e, principalmente, minha amiga de todos os momentos, Larissa Bail por me ouvir nas horas difíceis e por colaborar para a conclusão deste trabalho.

À Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup>. Edna Maria Vissoci Reiche, por mais uma vez participar tão efetivamente da minha vida, de forma tão dedicada, contribuindo fundamentalmente para a finalização desse trabalho.

À minha tia Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Cynthia Horn pelas incansáveis conversas e por me fazer acreditar que sempre haveria condições de terminar esta dissertação e seguir pelo caminho do estudo.

Aos meus pais Marco Antonio Razouk e Lucia Elena Horn Razouk pelo apoio, carinho, compreensão e pela base que sempre me deram desde o dia em que nasci.

Ao meu irmão Rafael Razouk pelo apoio numa das fases de maior mudança na minha vida.

Ao meu marido Rodrigo Rocha Paes por me amar tanto e tornar a minha vida cada dia mais significativa.

Ao meu filho amado que está por vir, pela inspiração que me fez terminar este trabalho.

A todas as pessoas da minha família e a todos os novos familiares que hoje fazem parte da minha vida, muito obrigada pelo apoio e compreensão.

A tantos outros que direta ou indiretamente colaboraram para realização deste estudo, aqui não citados, porém não esquecidos.

“A sabedoria é um paradoxo. O homem que mais sabe é aquele quem mais conhece a vastidão da sua ignorância.” (Friedrich Nietzsche)

Razouk, Fernanda Horn. **Avaliação da dosagem da galactomanana por método imunoenzimático para o diagnóstico de aspergilose invasiva pulmonar em pacientes submetidos ao transplante de células tronco hematopoiéticas do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná.** 2013. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2013.

## RESUMO

O fungo *Aspergillus*, agente causador da aspergilose invasiva pulmonar (AIP), representa um problema grave para área médica, particularmente quando acomete doentes imunocomprometidos, como pacientes com neutropenia prolongada e/ou receptores de transplante de células tronco hematopoiéticas (TCTH), por estar frequentemente associado a altas taxas de morbidade e mortalidade. Apesar da gravidade da AIP, frequentemente associada com disseminação sistêmica, os recursos de diagnóstico ainda são limitados. Os recentes avanços pelo diagnóstico por imagem, principalmente pela tomografia computadorizada, fornecem resultados apenas sugestivos da doença. Na maioria dos casos, o estudo histológico de amostras biopsiadas não é possível de ser realizado pelo risco de sangramento relacionado à plaquetopenia severa que tais pacientes apresentam. Os sistemas automatizados na área da microbiologia, como as hemoculturas, raramente são positivos. A pesquisa de antígenos, especificamente a galactomanana (GM), representa atualmente o melhor biomarcador para o diagnóstico de AIP. O objetivo do presente estudo foi avaliar a reação de enzima-imunoensaio (ELISA) para a dosagem da GM em 200 pacientes consecutivos internados na Unidade de Transplante de Medula Óssea do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná, todos submetidos ao TCTH, tanto na fase neutropênica pós-TCTH, como pacientes com complicações tardias. Foram realizadas coletas prospectivas de amostras de sangue e dosagem da GM com o emprego de reagentes comerciais (Bio-Rad, Platelia™ *Aspergillus* EIA) por ELISA sanduíche em microplaca. A detecção de GM apresentou sensibilidade de 100,0%, especificidade de 91,7%, valor preditivo positivo 36,8% e valor preditivo negativo 100,0%, para o diagnóstico e/ou monitoramento de AIP, quando associada ao diagnóstico de AIP provada, provável, possível ou negativa, ressaltando que nesta pesquisa não foi realizado o exame padrão-ouro para o diagnóstico de AIP, que seria a biópsia pulmonar. Apenas um paciente analisado apresentou diagnóstico confirmado de AIP, com a realização da biópsia pulmonar. Nos pacientes que foram a óbito, não foi possível a realização da necropsia na maioria dos casos. Apesar de não ter sido observada a relação da dosagem da GM acima do valor de corte estabelecido de 0,5 em, pelo menos, duas amostras consecutivas, com o diagnóstico de AIP, os pacientes tratados com voriconazol apresentaram melhora significativa do quadro clínico, sugerindo a disseminação deste fungo nos pacientes imunossuprimidos.

**Palavras-chave:** galactomanana, doença fúngica invasiva, aspergilose invasiva, voriconazol, *Aspergillus*.

Razouk, Fernanda Horn. **Evaluation of galactomannan using an enzyme immunoassay for the diagnosis of invasive aspergillosis in patients submitted to hematopoietic stem cell transplantation HSCT of the Unit of Bone Marrow Transplantation, Clinical Hospital, Federal University of Paraná.** Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2013.

## ABSTRACT

The fungus *Aspergillus*, causative agent of invasive pulmonary aspergillosis (IPA) represents a serious problem for the medical field, particularly when it affects immunocompromised patients, such as patients with prolonged neutropenia and / or receptors of stem cell transplantation (HSCT), to be often associated with high morbidity and mortality. Despite the severity of AIP, often associated with systemic spread, diagnostic approaches are limited. Recent advances by diagnostic imaging, especially computed tomography, provide only suggestive results of the disease. In most cases, histological examination of biopsy samples is not possible to be performed by the risk of severe bleeding associated with thrombocytopenia in these patients. Automated systems in microbiology, such as blood cultures are rarely positive. The study of antigens, specifically the galactomannan (GM) is currently the best biomarker for the diagnosis of AIP. The aim of this study was to evaluate the reaction of ELISA for the measurement of GM in 200 consecutive patients admitted to the Unit of Bone Marrow Transplantation, Hospital de Clínicas, Federal University of Paraná, all HSCT, both during neutropenic after HSCT, such as patients with late complications. Prospective blood samples were collected and was measured GM with the use of commercial reagents (Bio - Rad Platelia™ *Aspergillus* EIA) by sandwich ELISA microplates. Detection of GM had a sensitivity of 100%, specificity of 91.7%, positive predictive value of 36.8 % and negative predictive value of 100% for the diagnosis and / or monitoring of AIP, when associated with a diagnosis of AIP proven, probable, possible or negative, although this study was not included a gold standard test for the diagnosis of AIP, that is the biopsy pulmonar. Only one patient analyzed had a confirmed diagnosis of AIP, with lung biopsy. Among the patients who died, it was not possible to perform the autopsy in most cases. Despite not having been observed regarding the dosage of GM above the cutoff value of 0.5 in, at least, two consecutive samples, with the diagnosis of AIP, patients treated with voriconazole showed significant improvement of clinical symptoms, suggesting the spread of this fungus in immunosuppressed patients.

**Key-words:** galactomannan, invasive fungal disease, invasive aspergillosis, voriconazol, *Aspergillus*.

## LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 - Características demográficas e clínicas de 152 pacientes consecutivos submetidos ao transplante de células tronco hematopoiéticas (TCTH) .....37
- Tabela 2 - Definição dos grupos formados por 152 pacientes consecutivos submetidos ao transplante de células tronco-hematopoiéticas (TCTH), segundo membros do *Invasive Fungal Cooperative Group of the European Organization for Research and Treatment of Cancer (EORTC-IFICG)* e do *Mycoses Study Group of the National Institutes of Allergy and Infectious Diseases (NIAID-MSG)*38
- Tabela 3 - Classificação da aspergilose observada em 15 pacientes submetidos ao transplante de células tronco hematopoiéticas (TCTH), segundo os critérios dos membros do *Invasive Fungal Cooperative Group of the European Organization for Research and Treatment of Cancer (EORTC-IFICG)* e do *Mycoses Study Group of the National Institutes of Allergy and Infectious Diseases (NIAID-MSG)* .....39
- Tabela 4 - Incidência de doença fúngica invasiva (DFI) encontrada entre os 152 pacientes consecutivos submetidos ao transplante de células tronco hematopoiéticas (TCTH) no Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná ..... 40
- Tabela 5 - Relação obtida entre o teste de enzimaímunoensadio (ELISA) de sanduíche para detecção de galactomanana (GM) em 152 pacientes consecutivos submetidos ao transplante de células tronco hematopoiéticas (TCTH), e o resultado da tomografia computadorizada (TC) de tórax..... 41
- Tabela 6 - Características demográficas e clínicas dos 125 pacientes classificados como verdadeiros negativos para aspergilose invasiva pulmonar (AIP) .....44
- Tabela 7 - Características demográficas e clínicas dos pacientes classificados como possíveis falso negativos para aspergilose invasiva pulmonar (AIP) .....47

Tabela 8 – Dados clínicos e laboratoriais dos 8 pacientes classificados como possíveis falso negativos para aspergilose invasiva pulmonar (AIP).....	50
Tabela 9 - Características demográficas e clínicas dos pacientes classificados como falso-positivos para aspergilose invasiva pulmonar (AIP).....	51
Tabela 10 - Resultados de GM e uso de antifúngico anti-Aspergillus nos dias pós TMO do grupo de pacientes classificados como possíveis falso-positivos para aspergilose invasiva pulmonar (AIP).....	53
Tabela 11 - Características demográficas e clínicas dos pacientes classificados como verdadeiros positivos para aspergilose invasiva pulmonar (AIP).....	55
Tabela 12 - Positividade da detecção de galactomanana (GM) por ELISA em 152 pacientes consecutivos, de acordo com o diagnóstico de aspergilose invasiva pulmonar provada, provável, possível e negativa (AIP).....	58

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Estrutura geral de um fungo filamentoso .....	6
Figura 2 - Imagem de tomografia computadorizada de tórax demonstrando a presença do sinal do halo em paciente com pneumonia fúngica .....	18
Figura 3 - Valores de densidade óptica obtidos no teste de ELISA para detecção de galactomanana (GM) em amostras de soro seriadas obtidas de paciente submetido a TCTH com diagnóstico de aspergilose invasiva pulmonar (AIP) provada .....	58

## LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

AAS	Anemia aplástica grave
AF	Anemia de Fanconi
AIP	Aspergilose invasiva pulmonar
BG	(1-3)- $\beta$ -D-glucano
CI	Candidíase invasiva
CMV	Citomegalovírus
DECH	Doença do enxerto <i>versus</i> hospedeiro
DFI	Doença fúngica invasiva
DM	Diabete <i>mellitus</i>
DMSO	Dimetilsulfóxido
DPOC	Doença pulmonar obstrutiva crônica
EDTA	<i>Ethylenediamine tetraacetic acid</i>
ELISA	<i>Enzyme immunoassay</i>
EORTC	<i>European Organization for Research and Treatment of Cancer</i>
EORTC-IFICG	<i>Invasive Fungal Infections Cooperative Group of the European Organization for Research and Treatment of Cancer</i>
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
GM	Galactomanana
HC	Hospital de Clínicas
HIV	Vírus da imunodeficiência humana
HLA	<i>Human leukocyte antigen</i>
IDSA	<i>Infectious Diseases Society of America</i>
KOH	Hidróxido de potássio
LBA	Lavado bronco-alveolar
LLA	Leucemia linfóide aguda
LMA	Leucemia mielóide aguda
LSD	Lóbulo superior direito
LSE	Lóbulo superior esquerdo
MDS	Mielodisplasia
NIAID-MSG	<i>Mycoses Study Group of the National Institutes of Allergy and Infectious Diseases</i>

PCR	Reação em cadeia da polimerase
SCID	<i>Severe combined immunodeficiency</i>
SCV	Sistema cardiovascular
SMD	Síndrome mielodisplásica
SNC	Sistema nervoso central
TC	Tomografia computadorizada
TCTH	Transplante de células tronco hematopoiéticas
TMO	Transplante de medula óssea
UFPR	Universidade Federal do Paraná
UTI's	Unidades de terapia intensiva

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO .....	1
2. REVISÃO DA LITERATURA .....	5
2.1 Considerações Gerais .....	5
2.2 Aspergilose Invasiva Pulmonar: Apresentação Clínica, Fatores de Risco e Epidemiologia.....	7
2.3 Diagnóstico de AIP .....	11
2.3.1 Pesquisa de antígenos.....	13
2.3.1.1 Detecção de galactomanana (GM).....	13
2.3.2 Diagnóstico radiológico .....	17
2.4 Tratamento e Susceptibilidade aos Antifúngicos.....	19
3. OBJETIVOS .....	23
3.1 Objetivo Geral .....	23
3.2 Objetivos Específicos .....	23
4. MATERIAL E MÉTODOS .....	24
4.1 Amostra .....	24
4.2 Revisão da Literatura .....	26
4.3 Delineamento da Pesquisa.....	27
4.4 Análise Estatística .....	27
4.5 Ética .....	27
4.6 Redação.....	27
5. RESULTADOS .....	28
6. DISCUSSÃO .....	59
7. CONCLUSÕES .....	69
8. CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	71
REFERÊNCIAS.....	72
APÊNDICES E ANEXOS .....	81

## 1 INTRODUÇÃO

As doenças fúngicas invasivas (DFI) estão associadas a consideráveis taxas de morbidade e mortalidade após o transplante de células tronco hematopoiéticas (TCTH). Apesar da mudança da epidemiologia destas infecções, notadamente pela evolução nos procedimentos de transplante, bem como pelas estratégias preventivas de contenção da doença, sua incidência permanece alta, principalmente pelo atraso no início do tratamento, devido à dificuldade do diagnóstico (MORI, 2010b). As DFI são as mais frequentes entre os pacientes imunossuprimidos neutropênicos. O aumento progressivo no número de casos tem chegado a 10-15% dos pacientes submetidos ao TCTH (SILVA, 2010).

Em um estudo realizado no Hospital das Clínicas da Universidade Federal do Paraná (UFPR), de janeiro de 1996 a outubro de 2006, aproximadamente 83% dos pacientes morreram devido à infecção fúngica invasiva, dentro de 60 dias de acompanhamento (CARVALHO-DIAS *et al.*, 2008).

A aspergilose invasiva pulmonar (AIP) é a causa mais comum de DFI em corrente circulatória de pacientes com fatores de predisposição, tais como leucemia, TCTH ou de outros órgãos e infecção pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV). Os sítios mais comuns de infecção são: pulmão, seios nasais e sistema nervoso central (SNC). As espécies de *Cândida* spp. e *Aspergillus* spp. são a causa mais comum de DFI em pacientes com doença hematológica maligna (MICHALLET e ITO, 2009). Mais de 90% destas infecções em pacientes imunossuprimidos podem ser atribuídas a estas duas espécies de fungos (NOVARETTI, 2008).

Segundo Maertens *et al.* (2007a), em pacientes com câncer, especialmente doentes hemato-oncológicos com AIP, a mortalidade varia entre 30 e 50%. Em doentes transplantados, verificam-se taxas de mortalidade extremamente elevadas, de 74,0 a 92,0%, dependendo do tipo de transplante, com mortalidade mais elevada em pacientes submetidos a transplantes de medula óssea (TMO), fígado e, principalmente, pâncreas. Cerca de 9,3 a 16,9% das mortes em doentes transplantados no primeiro ano são atribuídas à AIP (SINGH e PATERSON, 2005).

O gênero *Aspergillus* spp. engloba mais de uma centena de fungos filamentosos saprofiticos com distintas características morfológicas macroscópicas e microscópicas que se encontram amplamente distribuídos na natureza. Destas, aproximadamente uma dezena é capaz de provocar infecções no homem e outros animais, destacando-se o *Aspergillus fumigatus* (*A. fumigatus*) como espécie mais frequentemente patogênica, sendo responsável por cerca de 90,0% das infecções em humanos. A distribuição do *Aspergillus* spp. em hospitais é usualmente semelhante a outros micro-organismos resistentes, sendo prevalente em alas hospitalares nas quais são hospitalizados pacientes que apresentam numerosos fatores de risco à infecção, tais como unidades de terapia intensiva (UTI's), centros cirúrgicos, alas pediátricas e neonatais, unidades oncológicas, unidades de restabelecimento e serviços de cuidados crônicos.

Algumas questões norteiam a investigação de *A. fumigatus* como causador de AIP: i) neutropenia prolongada ou grave, como por exemplo, uso de intensa quimioterapia na indução da remissão da doença em leucemia mielóide aguda (LMA); ii) TMO de pacientes com antígenos leucocitários humanos (HLA) compatíveis ou parcialmente compatíveis, transplante de células do sangue periférico, de células de cordão umbilical, múltiplos transplantes e transplante com célula T depletada; iii) uso de corticosteróide em altas doses e por tempo prolongado; iv) realização de obras no ambiente hospitalar ou nas suas redondezas e v) utilização de filtro de partículas aéreas de alta eficiência (HEPA, *High Efficiency Particulate Air*). Embora vários novos agentes antifúngicos estejam disponíveis, o tratamento para estabilizar a AIP é clinicamente desafiador e o diagnóstico torna-se difícil. A avaliação de dados clínicos é realizada precocemente e a terapia não deveria ser estabelecida até o diagnóstico histológico ou obtenção de cultura positiva. O manejo estratégico rápido envolve o tratamento específico e direto em pacientes com risco elevado de AIP. Recentemente, uma abordagem preventiva, baseada nos critérios radiológico e sorológico, vem sendo proposta para pacientes com maior propensão à AIP (MICHALLET e ITO, 2009).

O diagnóstico precoce e a reversão do quadro de imunossupressão são essenciais. Culturas de amostras de sangue têm positividade muito baixa. A

detecção da galactomanana (GM) pelo método sorológico de enzima imunoensaio (ELISA) tem sido utilizada para o diagnóstico precoce de AIP, embora devam ser realizadas múltiplas determinações ou determinações seriadas. Segundo Mikolajewska, Schwartz e Ruhnke (2012), a terapia empírica é considerada o padrão de atendimento em pacientes neutropênicos que permanecem em estado febril, na vigência de antibioticoterapia de amplo espectro. Atualmente, esta terapia está sendo cada vez mais utilizada para preencher a lacuna de tempo entre início tardio de tratamento no caso de doença provada e tratamento em pacientes sem dados de laboratório ou evidência radiológica de AIP. No entanto, esta prática pode induzir toxicidade ao paciente e custos de tratamento desnecessários.

Para que se estabelecesse um consenso em relação aos critérios diagnósticos de AIP, membros do *Invasive Fungal Cooperative Group of the European Organization for Research and Treatment of Cancer (EORTC-IFICG)* e do *Mycoses Study Group of the National Institutes of Allergy and Infectious Diseases (NIAID-MSG)* definiram as primeiras padronizações para AIP, em doentes onco-hematológicos e receptores de TCTH. Atualmente, a AIP é classificada em três níveis de probabilidade: possível, provável e provada.

O tratamento de AIP torna-se complicado devido ao número limitado e à natureza tóxica dos agentes antifúngicos ativos contra o *Aspergillus* spp. e à ausência de defesas funcionais do hospedeiro. Várias classes de antimicrobianos, em especial antifúngicos, estão disponíveis atualmente, cada uma delas agindo sobre determinados grupos de fungos. Antifúngicos são classificados como drogas antibióticas com ação sobre uma gama de fungos. Infelizmente, para a grande parte destas drogas, os micro-organismos já desenvolveram seus mecanismos de resistência, restringindo, desse modo, seu emprego. Entre as várias classes de antifúngicos desenvolvidos e de uso corrente, os azóis representam a mais variada e mais amplamente utilizada. Este grupo de antifúngicos que inclui fluconazol, posaconazol e voriconazol, é responsável por aproximadamente 50,0% dos antimicrobianos utilizados de forma sistêmica, devido principalmente à baixa toxicidade e a grande variedade de compostos disponíveis. Novos azólicos, incluindo isavuconazol e rovuconazol

poderão potencialmente oferecer mais opções de tratamento no futuro, diminuindo o uso da anfotericina B (PAPPAS, 2010).

Vários novos testes diagnósticos não baseados em cultura, incluindo testes sorológicos para detecção de antígeno GM, (1-3)- $\beta$ -D-glucano (BDG) e métodos de detecção de ácido nucléico como a reação em cadeia da polimerase (PCR) devem emergir como ferramentas importantes, facilitando a intervenção precoce e instituição da terapia antifúngica efetiva.

## 2 REVISÃO DA LITERATURA

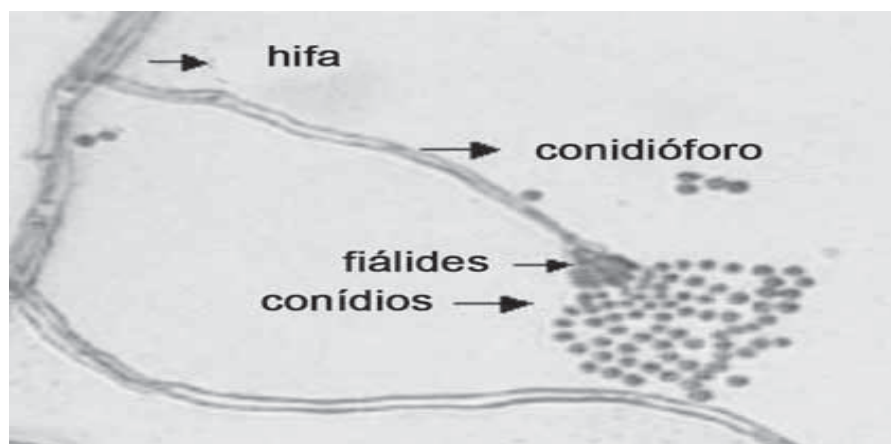
### 2.1 Considerações Gerais

De acordo com dados publicados na literatura científica internacional, *Candida* spp. e *Aspergillus* spp., são responsáveis por 80,0 a 90,0% das DFI observadas em pacientes submetidos ao TCTH, e 10,0 a 20,0% são descritos como DFI causadas por *Fusarium* spp. e *Scedosporium* spp., que constituem um grupo de fungos emergentes, uma vez que sua identificação tem aumentado nos últimos anos (RABAGLIATI *et al.*, 2009). O *A. fumigatus* é a espécie mais frequentemente associada à doença, embora outras espécies de fungos também já tenham sido isoladas de pacientes com infecção invasiva (ALANGADEN, 2011).

O género *Aspergillus* foi catalogado em 1729 pelo padre italiano e biólogo Pier Antonio Micheli qua ao observar o fungo ao microscópio, se lembrou da forma de um *aspergillum* (um borrifador de água benta) e nomeou o género de acordo com o objeto. A classificação taxonômica do género *Aspergillus* spp. se apresenta da seguinte forma: Reino: Fungi; Filo: Ascomycota; Classe: Eurotiomycetes; Ordem: Eurotiales e Família: Trichocomaceae (HUBKA *et al.*, 2013).

O género *Aspergillus* engloba mais de uma centena de fungos filamentosos saprofíticos, com diferentes características morfológicas macro e microscópicas, que se encontram amplamente distribuídos na natureza. Destas, apenas cerca de uma dezena é capaz de provocar infecção no homem e outros animais, destacando-se o *A. fumigatus* Fresen (1863) como a espécie mais frequentemente patogênica, sendo responsável por cerca de 90,0% das infecções em humanos. Outras espécies, tais como *Aspergillus flavus* Link (1809), *Aspergillus nidulans* (Eidam) G. Winter (1884), *Aspergillus terreus* Thom (1918) e *Aspergillus niger* Tiegh (1867), são ainda agentes de infecção relativamente frequentes. *Aspergillus glaucus* Link (1809), *Aspergillus clavatus* Desm (1834), *Aspergillus ustus* (Bainier) Tom e Church (1926) e *Aspergillus*

*ochraceus* G. Wilh (1877) apenas causam infecções esporadicamente (LATGÉ, 1999; ABARCA, 2000; KLICH, 2002).



**Figura 1** - Estrutura geral de um fungo filamentososo

Fonte: Raven (2001)

Os membros do gênero *Aspergillus* podem ser isolados a partir de uma grande variedade de substratos, especialmente provenientes de zonas úmidas ou com matéria orgânica em decomposição (LATGÉ, 1999). São responsáveis pela produção de uma grande variedade de metabólitos, enzimas e ácidos, alguns dos quais explorados a nível industrial (KLICH, 2002).

Os conídios de *Aspergillus* são ubíquos e, dada sua facilidade de dispersão e o seu pequeno tamanho (2,5 a 3,0  $\mu\text{m}$  de diâmetro), podem permanecer em suspensão no ar, o que facilita sua disseminação; sobrevivem no meio ambiente durante longos períodos de tempo, aguardando as condições ideais para a germinação e desenvolvimento de micélio, contaminando qualquer superfície em contato com o ar (LATGÉ, 1999). Portanto, o homem encontra-se constantemente exposto à sua inalação, podendo o *Aspergillus* spp. causar um grupo de doenças conhecido como aspergilose (LATGÉ, 1999; BARNES e MARR, 2006).

Em especial, a espécie *A. fumigatus* tem algumas características que contribuem para AIP, tais como o tamanho muito pequeno dos conídios (Figura 1) conforme já citado, que permite aos mesmos penetrar profundamente nos pulmões.

## 2.2 Aspergilose Invasiva Pulmonar (AIP): Apresentação Clínica, Fatores De Risco e Epidemiologia

A variedade de manifestações clínicas provocadas pelos membros do gênero *Aspergillus* é bastante heterogênea, estando a maioria, sobretudo dependente do estado imunológico do paciente, tanto a nível local como sistêmico, mais do que com a virulência intrínseca do fungo ou ainda da forma de exposição (HOPE, WALSH & DENNING, 2005) Deste modo, os casos clínicos de aspergilose desenvolvem-se em situações clínicas específicas, sendo atualmente a AIP a forma mais frequente de manifestação (LATGÉ, 1999; STEVENS *et al.*, 2003; HOPE, WALSH & DENNING, 2005; BARNES & MARR, 2006; WALSH *et al.*, 2008).

Devido às características do *Aspergillus*, conforme citadas anteriormente, o homem encontra-se constantemente exposto à sua inalação, podendo causar um grupo de doenças conhecidas como aspergilose (LATGÉ, 1999; BARNES & MARR, 2006). Estas podem ser classificadas como invasivas crônicas ou alérgicas (BARNES & MARR, 2006; STEPHEN, MAXINE & HILL, 2010).

As DFI incluem essencialmente infecções do trato respiratório inferior. Se o sistema imunológico do paciente alvo estiver deficitário, os conídios inalados germinarão e serão produzidas hifas as quais irão invadir os tecidos circulantes, levando ao desenvolvimento da doença. Eventualmente, o SNC, o sistema cardiovascular (SCV) e outros tecidos podem ser infectados como resultado da disseminação hematológica (HOPE, WALSH & DENNING, 2005; BARNES & MARR, 2006).

As infecções crônicas, que incluem otomicoses e aspergiloma pulmonar, caracterizam-se pelo crescimento crônico do *Aspergillus* em espaços pré-formados e mal irrigados e não são invasivas (HOPE, WALSH & DENNING, 2005; BARNES & MARR, 2006).

A aspergilose broncopulmonar alérgica e a sinusite alérgica por *Aspergillus* têm por base a imunopatologia alérgica (STEVENS *et al.*, 2003).

Dentre os principais fatores de risco associados à AIP estão os hospedeiros imunocomprometidos, que são pessoas que têm um ou mais defeitos nas defesas naturais contra invasores microbianos. Conseqüentemente,

estas pessoas são muito mais passíveis de apresentar infecções graves e ameaçadoras para a vida.

A medicina moderna domina métodos eficazes para tratar, pelo menos, a metade de todas as neoplasias graves e aperfeiçoou técnicas para o transplante de órgãos e tecidos. Uma consequência de tais conquistas, contudo, é um número crescente de pessoas imunocomprometidas suscetíveis às infecções. Soma-se a este fato uma população crescente de indivíduos com infecção pelo HIV (MIMS *et al.*, 2005). Sendo assim, os pacientes com maior risco de desenvolver AIP são: i) doentes neutropênicos, estando o grau de contagem absoluta de neutrófilos  $<100/uL$  e a duração da neutropenia  $> 10$  dias, diretamente relacionados com o risco de AIP; ii) receptores de transplante alogênico de medula óssea; iii) receptores de transplante de órgãos sólidos; iv) receptores de transplante autólogo de medula óssea; v) doentes onco-hematológicos; vi) doentes com doença granulomatosa crônica; vii) doentes em estado avançado de infecção pelo HIV; viii) doentes sujeitos a tratamentos prolongados com doses elevadas de corticóides ou com outros agentes imunossupressores ou citotóxicos; ix) doentes críticos não neutropênicos admitidos em UTI's, sem fatores de riscos clássicos, porém com exacerbações de doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC) ou doença pulmonar crônica, diabetes *mellitus* (DM), insuficiência hepática aguda ou cirrose avançada e doença renal crônica (LATGÉ, 1999; HOLDING *et al.*, 2000; WINKILSTEIN *et al.* 2000; KONTOYIANNIS & BODEY, 2002; LIBANORE *et al.* 2002; MARR *et al.*, 2002; SINGH & PATERSON, 2005; CHAMILOS *et al.*, 2006; SEGAL & WALSH, 2006; MEERSSEMAN *et al.*, 2007; TROF *et al.*, 2007; GIL *et al.*, 2008; LEWIS & KONTOYIANNIS, 2008; JIRÍ PAVLU *et al.*, 2011).

Em se tratando do TCTH, este pode ser classificado de acordo com o doador em alogênico e autólogo. No primeiro, as células progenitoras imunologicamente competentes são infundidas de um doador compatível ou parcialmente compatível. No transplante tipo autólogo, as células transplantadas são do próprio paciente carregando a imunossupressão da doença de base (BHATTI *et al.*, 2006). Estes transplantes, tanto alogênico como autólogo, representam uma parcela significativa de pacientes que podem desenvolver infecções fúngicas, principalmente durante o período de neutropenia (NUCCI e

MAIOLINO, 2000; JIRÍ PAVLU *et al*, 2011). Há fortes evidências de que os transplantados alogênicos desenvolvem infecções fúngicas com maior facilidade do que os autólogos, pois, os alogênicos, para não desenvolverem rejeição ao enxerto passam por um longo período de neutropenia, associada ao uso de corticosteróides (PAGANO *et al*, 2011). Em pacientes submetidos ao TCTH alogênico, a AIP pode ocorrer de forma bimodal. A primeira incidência ocorre durante ou logo após o período de neutropenia (logo após o transplante) e a segunda fase de incidência ocorre, aproximadamente, 100 dias após o transplante quando o paciente pode desenvolver a doença do enxerto contra o hospedeiro (DECH), necessitando do uso de corticóides e reduzindo assim as células de defesa (MIKULSKA *et al*, 2009; MARTINO *et al*, 2009).

Nos pacientes submetidos ao TMO, por exemplo, as infecções pulmonares causadas pelos diversos agentes constituem-se na complicação isolada mais comum (KROWKA, ROSENOW, HOAGLAND, 1985). Segundo Silva (2010), as infecções pulmonares estão relacionadas ao estado imunológico do receptor, de modo que a maioria das pneumonias bacterianas e fúngicas são diagnosticadas no período neutropênico, antes da pega do transplante. Atribue-se também nos casos desses pacientes uma condição importante que se trata da ocorrência de DECH; nestes casos, são mais comuns pneumonia por citomegalovírus (CMV) e as infecções fúngicas, especialmente as causadas por fungos do gênero *Aspergillus*.

Estas complicações pulmonares também se constituem na maior causa de morbidade e mortalidade nos hospedeiros imunocomprometidos. Esses pacientes estão sujeitos a um risco maior para desenvolver infecção devido à deficiência dos mecanismos básicos de defesa. A granulocitopenia, a disfunção celular (principalmente de linfócito T), a deficiência humoral congênita ou adquirida, a esplenectomia e a deficiência mecânica (especialmente pela presença de cateteres) são os principais fatores que interferem na defesa orgânica desses pacientes. A DECH é uma complicação que ocorre pela ativação de células T em resposta a moléculas do complexo de genes de histocompatibilidade principal (MHC) ou HLA alogênico subsequente a um TCTH histocompatível. As células T do doador reconhecem os antígenos do hospedeiro como estranhas. A incidência e gravidade de DECH têm correlação

direta com disparidades no sistema HLA. Mesmo com intensa profilaxia imunossupressora, 10,0 a 50,0% dos enxertos HLA-idênticos, ideais para o TCTH entre doador e hospedeiro, complicam-se clinicamente por uma significativa DECH, resultando diretamente em morte de 5,0 a 15,0% dos pacientes transplantados (SANTOS; LIMA; MAGALHÃES, 2005). Segundo Mims *et al* (2005), as infecções fúngicas são muito mais comuns em pacientes que permanecem neutropênicos por mais de 21 dias.

Em crianças, os defeitos imunológicos representam um grande fator de risco para o comprometimento pulmonar. As síndromes, tais como a imunodeficiência combinada grave (SCID) e a síndrome de Wiskott-Aldrich causam alta mortalidade quando essas crianças desenvolvem infecção pulmonar (RODNEY, 2010). Entre os adultos, a imunossupressão é mais comumente vista em pacientes com leucemia, linfoma e aids, assim como em pacientes submetidos à terapia imunossupressora relacionada ou não a transplantes de órgãos ou TMO.

Em doentes hemato-oncológicos com AIP, a mortalidade varia entre 30,0 e 50,0% (MAERTENS *et al*, 2007b). Em doentes transplantados, verificam-se taxas de mortalidade extremamente altas, de 74,0 a 92,0%, dependendo do tipo de transplante, com taxas mais elevadas em TMO, fígado e, principalmente, pâncreas. Cerca de 9,3 a 16,9% das mortes em doentes transplantados no primeiro ano são atribuídas à AIP (SINGH & PATERSON, 2005).

Entre as infecções fúngicas oportunistas que principalmente atingem os pulmões, está a aspergilose, cuja incidência é de, respectivamente, 1,0%, 2,0%, 7,0% e 9,0% em receptores de transplante renal, de fígado, de medula óssea e de pulmão, respectivamente. Essa população tem uma mortalidade média de 55,0 a 92,0%, que representa 10,0 a 15,0% das mortes em todos os transplantados. (MAYAUD e CADRANEL, 2000).

Segundo Nivoix *et al* (2008), os fatores associados à mortalidade global e atribuível à AIP foram recentemente identificados em um estudo envolvendo 289 casos de AIP provada, possível ou provável. Segundo estes autores, os fatores de prognóstico identificados que se correlacionaram com mortalidade global foram: i) receptores de células tronco hematopoiéticas ou de órgãos sólidos; ii) progressão de doença maligna; iii) doença respiratória prévia; iv) terapia

corticóide; v) insuficiência renal; vi) baixa contagem de monócitos; vii) aspergilose disseminada; viii) lesões pulmonares difusas; ix) derrame pleural; e x) aspergilose provada ou provável.

Em um estudo de Nucci *et al* (2013), a DFI apresenta-se com distintos padrões de incidência, dependendo das características epidemiológicas de cada região. Nesse estudo, foram avaliados oito centros no Brasil, de maio de 2007 a julho de 2009, entre pacientes que se submeteram ao TCTH e pacientes com LMA e mielodisplasia (MDS). Foi calculada a incidência de DFI provada ou provável em um período de doze meses, em 237 pacientes com LMA ou MDS e em 700 pacientes receptores de TCTH (378 alogênicos e 322 autólogos). A incidência no período de 1 ano de DFI em LMA/MDS, TCTH alogênico e TCTH autólogo foi 18,7%, 11,3% e 1,9%, respectivamente. Fusariose (23 episódios), aspergilose (20 episódios) e candidíase (11 episódios), foram as DFI mais frequentes. A incidência de aspergilose e fusariose em LMA/MDS, TCTH alogênico e TCTH autólogo foi de 13,4%, 2,3% e 0,0% e de 5,2%, 3,8% e 0,6%, respectivamente. Observou-se nesse estudo uma elevada taxa de DFI e uma alta taxa de mortalidade por fusariose.

### **2.3 Diagnóstico de AIP**

Em termos diagnósticos, vários aspectos devem ser considerados, que se referem ao hospedeiro imunossuprimido de uma forma geral: primeiro, é necessário um protocolo agressivo de investigação etiológica, uma vez que a demora no diagnóstico aumenta o risco de morte; segundo, uma vez identificado um infiltrado pulmonar precocemente, deve-se recorrer à fibrobroncoscopia, que permite a identificação da etiologia infecciosa ou a sua exclusão; e terceiro, o uso precoce da tomografia computadorizada (TC) de tórax que habitualmente demonstra lesões não vistas em radiografia simples do tórax (SHORR *et al*, 2004).

O diagnóstico definitivo de AIP, particularmente na sua fase inicial, permanece ainda muito complicado de se estabelecer, remanescendo essencialmente a suspeita em doentes com fatores de risco. Os sinais e os sintomas clínicos são inespecíficos, muito variáveis, de aparecimento tardio no

decurso da doença; muito doentes são assintomáticos devido à imunossupressão e um número elevado de casos de AIP é diagnosticado no *pós-mortem*. Cerca de 75,0% dos casos de AIP não são diagnosticados *ante-mortem* (KONTOYIANNIS & BODEY, 2002; VAIDEESWAR *et al.*, 2004; CHAMILOS *et al.*, 2006; TUON, 2007). Quando aparecem, os sintomas mais frequentes são tosse e dispnéia, podendo também ocorrer dor pleurítica e hemoptise (RODNEY, 2010 e MORI, 2010b).

A estratégia de controle primário da infecção consiste em minimizar a exposição ao ar ambiente rico em esporos do fungo dentro das unidades de saúde durante o período de alto risco (WALSH *et al.*, 2008; GEORGE & ALANGADEN, 2011).

Atendendo à substancial controvérsia relativa aos critérios diagnósticos de AIP, membros do EORTC-IFICG e do NIAID-MSG estabeleceram, por consenso, as primeiras definições padronizadas para DFI em doentes hematológicos e receptores de TMO (ASCIOGLU *et al.*, 2002). Atualmente, a AIP é classificada segundo três níveis de probabilidade em AIP possível, provável e provada, dependendo do acúmulo de fatores predisponentes do hospedeiro juntamente com manifestações clínicas e evidências micológicas (DE PAUW *et al.*, 2008). A categoria de AIP possível apenas implica a presença de um fator do hospedeiro e de uma evidência clínica consistente com AIP. Na AIP provável, deve-se cumprir um critério de fator do hospedeiro, uma evidência clínica e uma evidência micológica, compatíveis com a infecção. Casos de AIP provada requerem a presença histopatológica de elementos fúngicos ou da sua observação microscópica direta em amostras obtidas por procedimentos invasivos, acompanhadas de evidências de danos em tecidos, e uma cultura fúngica positiva a partir de localizações habitualmente estéreis, juntamente com dados clínicos ou radiológicos compatíveis com infecção, excluindo amostras de líquido bronco-alveolar (LBA), de cavidade craniana e de urina (DE PAUW *et al.*, 2008; BOUTBOUL *et al.*, 2002). Assim, de acordo com estas definições, o termo “aspergilose invasiva pulmonar” pode então assumir um perfil diagnóstico de AIP possível, provável e provada.

Em um estudo de Cruz *et al.* (2011) realizado em um período de cinco anos, de 2004 a 2009, na região de Valparaíso no Chile, casos de AIP

diagnosticados foram caracterizados por sua heterogeneidade. A maioria dos episódios ocorreu em pacientes onco-hematológicos, especialmente causados por fungos filamentosos, e a maioria dos episódios ocorreu nos pacientes com LMA. O diagnóstico de AIP por leveduras foi demonstrado com isolamento do fungo no sangue, portanto, foi classificada como diagnóstico de certeza. No entanto, no caso de AIP por fungos filamentosos, predominaram culturas de LBA, assim, muitos casos foram classificados como prováveis, de acordo com os critérios da EORTC/MSG, pois se trata de um sítio não estéril.

Embora a cultura da biópsia pulmonar ou o exame anátomo-patológico da biópsia pulmonar sejam considerados o padrão-ouro para o diagnóstico de AIP, este procedimento é invasivo e nem sempre possível como meio de diagnóstico (PFEIFFER, FINE, SAFDAR, 2006). A hemocultura com isolamento do *Aspergillus* também pode ser considerada como padrão-ouro para AIP; porém, sua positividade em casos de aspergilemia é baixa (MCCLENNY, 2005).

Dentre os exames realizados relacionados à DFI estão: exame micológico convencional e cultura, diagnóstico indireto, pesquisa de antígenos (GM e BDG), diagnóstico molecular e diagnóstico radiológico (MENDES-GIANNINI; MELHEM; ALMEIDA, 2013). Dentre estes exames, a pesquisa do antígeno GM é descrita com mais detalhes por ser o objeto principal deste estudo.

### **2.3.1 Pesquisa de antígenos**

O *A. fumigatus* apresenta mais de 100 componentes antigênicos, sendo este exame de maior utilidade diagnóstica em pacientes com fatores de risco para AIP. Dentre estes componentes antigênicos, destacam-se a galactomanana (GM) e o (1-3)- $\beta$ -D-glucano (BG) (LATGÉ, 1999).

#### **2.3.1.1 Detecção da GM**

A GM é um polissacarídeo termoestável *Aspergillus*-específico composto por uma estrutura ramificada com uma cadeia linear de alfa-manana e cadeias curtas de  $\beta$  (1,5) galactofuranose, liberado durante a aspergilose e detectado pelo teste do índice quantitativo no soro dos pacientes, por meio da metodologia

ELISA (WOODS *et al.*, 2007). Encontra-se na parede celular do fungo do gênero *Aspergillus* spp, sendo o principal antígeno solúvel liberado durante a invasão tecidual (LATGÉ, 1999). Pode ser detectada em fluidos corporais como soro, urina, líquido cefalorraquidiano e LBA (SEONG *et al.*, 2010), sendo considerada uma evidência micológica segundo as definições da EORTC/MSG para AIP (ASCIOGLU *et al.*, 2002; DE PAUW *et al.*, 2008).

A GM é um marcador da parede da célula do *Aspergillus* que é liberado na circulação sanguínea durante a doença e detectado por testes comercialmente disponíveis. O limiar para a detecção do antígeno GM em amostras clínicas depende do método utilizado. Entre os métodos disponíveis, destacam-se: aglutinação em látex, radioimunoensaio, ELISA por inibição de absorvância e ELISA sanduíche. Entre estes métodos, o ELISA sanduíche é o mais promissor, por ser o mais sensível, detectando baixas concentrações de GM (0,5 a 1,0ng/mL) em amostras clínicas (BLANCO *et al.* 1998 e SINGH e PATERSON, 2005). A detecção de GM por ELISA serve como um marcador para diagnóstico e avaliação de resultados de pacientes com aspergilose, por ser um teste simples, objetivo e específico (MICELI, *et al.*, 2008). O resultado é considerado positivo quando duas amostras provenientes de um mesmo paciente e coletadas consecutivamente apresentarem um índice maior ou igual a 0,5.

Atualmente utiliza-se amplamente o método comercial Platelia™ *Aspergillus* (Bio-Rad, Marnes-la-Coquette, França), uma técnica de ELISA em sanduíche que foi introduzida na Europa nos anos noventa e aprovada pela *Food and Drug Administration* (FDA), nos Estados Unidos (EUA), em 2003 (AQUINO *et al.*, 2007; MAERTENS *et al.*, 2007a; 2007b). Este método utiliza um anticorpo monoclonal de rato (uma imunoglobulina M) específico, EB-A2, que reconhece as cadeias laterais (1-5)- $\beta$ -D-galactofuranose da molécula de GM (AQUINO *et al.*, 2007; MAERTENS *et al.*, 2007b) e apresenta uma boa reprodutibilidade entre laboratórios (UPTON *et al.*, 2005). Este teste foi aprovado pelo FDA para uso nos EUA em 2003 (WHEAT, 2005) e pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária em 2007 (ANVISA, 2007) para uso no Brasil.

Quando monitorada de forma seriada, a GM antecipa o diagnóstico de AIP em um intervalo de 6 a 14 dias em indivíduos neutropênicos (SINGH e

PATERSON, 2005). Devido à provável liberação intermitente do antígeno, o teste deve ser realizado duas vezes por semana e confirma o diagnóstico ao apresentar resultados positivos em, pelo menos, duas amostras consecutivas. O ponto crítico está no tratamento do soro com calor em presença de EDTA, o que permite dissociar os imunocomplexos e precipitar as proteínas séricas que poderiam interferir no teste. Outra dificuldade relaciona-se ao ponto de corte ou *cut-off* utilizado (AQUINO *et al*, 2007). Enquanto a escolha de um ponto de corte mais elevado resulta em maior especificidade, perde-se em sensibilidade; ao contrário, um menor ponto de corte se associa a maior sensibilidade, com perda de especificidade. Estudos prévios registram que o ponto de corte utilizado na Europa era de 1,5 enquanto nos EUA, o valor aceitável era de 0,5 (MAERTENS *et al*, 2007a). Porém, em 2005, Verweij *et al* confirmaram os benefícios na redução do ponto de corte na Europa para 0,5, que resultou em um aumento do intervalo da mediana de 1 para 10 dias entre a positividade do teste e o diagnóstico de AIP. No momento, 0,5 é o valor aceito na Europa e EUA (AQUINO *et al*, 2007). Embora a GM possa ser testada no LBA, o limiar para positividade neste material biológico é menos estudado que no soro (AQUINO *et al*, 2007). Utilizando-se um ponto de corte de 1,0 a 1,5, a maioria dos estudos encontrou uma sensibilidade da GM entre 85,0 a 100,0% no LBA (BECKER *et al*, 2003).

A maior parte dos estudos com GM tem sido realizada em pacientes neutropênicos, sobretudo aqueles submetidos ao TCTH. Em contrapartida, estudos em transplantados de pulmão ainda são escassos. (HUSAIN *et al*, 2007; NGUYEN *et al*, 2007). Da mesma forma, são poucos os estudos com detecção de GM em medicina veterinária. Apesar de ter sido realizado em distintas espécies, até o momento, os resultados não se mostraram promissores (GARCIA *et al*, 2001).

Alguns fatores prejudicam o desempenho do teste de detecção da GM. A taxa de resultados falso-negativos oscila entre 8,0 e 10,0% e está relacionada a casos de encapsulação da infecção, presença de anticorpos anti-*Aspergillus* que formam imunocomplexos e impedem a ligação do antígeno no EB-A2 que sensibiliza a microplaca de ELISA, ou exposição a agentes antifúngicos nos

casos de profilaxia. No entanto, ao utilizar-se o *cut-off* de 0,5, a taxa de falso-negativos é baixa (MAERTENS *et al.*, 2007a).

A frequência de resultados falso-positivos varia entre 8,0 e 14,0% e as principais causas são: o uso de agentes quimioterápicos citotóxicos que promovem danos à mucosa intestinal, DECH, anticorpos autorreativos, infecção por outros fungos como *Penicillium* e *Paecilomyces*, bacteremias por *Pseudomonas* spp ou *Escherichia coli*, antibióticos de origem fúngica como a piperacilina-tazobactam ou amoxicilina com ácido clavulânico, contaminação no laboratório, entre outros fatores (KONTOYIANNIS *et al*, 2000; BLANCO *et al*, 1998; SINGH E PATERSON, 2005; HUSAIN *et al*, 2007; AQUINO *et al*, 2007; WHEAT, 2005; TANRIOVER *et al*, 2005).

Na população pediátrica, a incidência de resultados falso-positivos pode atingir até 83,0% (SULAHIAN; TAURATIER; RIBOUD, 2003; HERBRECHT *et al*, 2002). Estes resultados têm sido observados principalmente na colonização gastrintestinal frequente em neonatos por *Bifidobacterium* spp, em doentes neutropênicos com mucosite intensa devido à quimioterapia, especialmente com ingestão de cereais e leite materno, ou com bacteremia (MAERTENS *et al.*, 2007a), em receptores alogênicos de medula óssea ou com DECH (ASANOMORI, *et al.*, 2008). Foram ainda descritas reações cruzadas com outros fungos, tais como *Geotrichum capitatum*, *Blastomyces dermatitidis*, *Histoplasma capsulatum*, *Nigrospora oryzae*, *Paecilomyces lilacinus*, *Penicillium chrysogenum* ou *Trichothecium roseum* (CUMMINGS *et al.*, 2007).

Numa meta-análise baseada em dados de 27 publicações, a detecção de GM em casos de AIP provada ou provável, demonstrou uma sensibilidade média de 61,0 a 71,0%, com uma especificidade de 89,0 a 93,0%, um valor preditivo positivo de 26,0 a 53,0% e um valor preditivo negativo de 95,0 a 98,0% (PFEIFFER; FINE; SAFDAR, 2006). A GM demonstrou ser muito mais sensível em pacientes onco-hematológicos e em receptores de transplante alogênico de medula óssea, comparativamente aos receptores de órgãos sólidos. Por outro lado, o valor de *cut-off* para positividade é outra importante variável que influencia muito na sensibilidade do método. Assim, apesar de ter sido originalmente recomendado um *cut-off* de 1,5 quando o Platelia™ *Aspergillus* (Bio-Rad, Marnes-la-Coquette, França) foi introduzido na Europa, o mesmo

fabricante aconselhou um *cut-off* inferior, no valor de 0,5, quando foi comercializado nos EUA, sendo este o valor atualmente utilizado na Europa (MAERTENS *et al.*, 2007b). Ao aumentar-se o número de casos positivos como resultado da diminuição do *cut-off* de 1,5 para 0,5, a sensibilidade diagnóstica aumenta significativamente 21,1% (passando de 76,3% para 97,4%), com um conseqüente decréscimo da especificidade de 7,0% (passando de 97,5% para 90,5%) (MAERTENS *et al.*, 2007b). Assim, verificou-se uma sensibilidade de 92,1%, uma especificidade de 97,5%, um valor preditivo positivo de 87,5% e um valor preditivo negativo de 98,5% na análise retrospectiva dos valores de GM em 239 episódios de pacientes adultos neutropênicos e receptores de transplante alogênico de medula óssea, obtidos em duas amostras consecutivas com um valor de índice de 0,5. Além disso, verificou-se nesse estudo, que em 65,0% dos pacientes com AIP, a GM era detectada uma semana antes de se estabelecer o diagnóstico e, na mesma semana, em 79,5% dos casos. Um estudo prospectivo demonstrou que a detecção da GM por ELISA no LBA tinha uma sensibilidade acrescida em relação à sua detecção no soro, elevando-se de 71,0% para 100,0% (PENACK *et al.*, 2008).

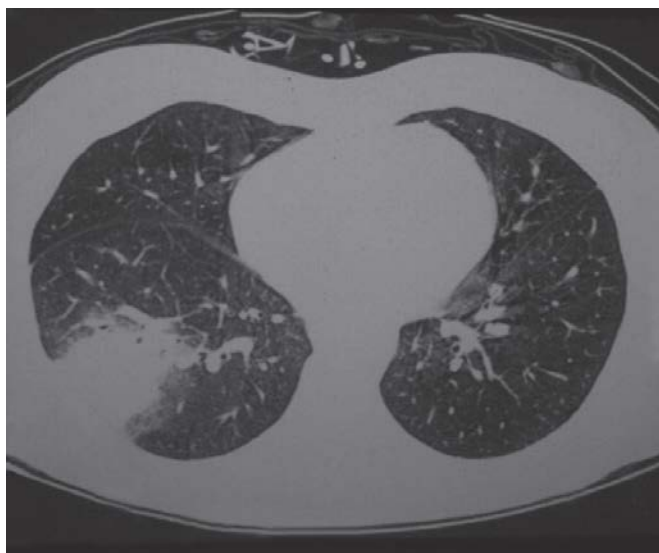
A GM também demonstrou ser um teste bastante útil na implementação de uma estratégia terapêutica precoce em pacientes com AIP (MAERTENS *et al.*, 2007b). Além disso, a detecção de índices quantitativos de GM correlaciona-se com a resposta terapêutica antifúngica, baixando com rapidez quando o tratamento é eficaz e o prognóstico melhora (WOODS *et al.*, 2007). No entanto, mostram-se necessários estudos adicionais para validar clinicamente o uso da GM (DEL BONO; MIKULSKA; VISCOLI, 2008).

Embora novos estudos sejam necessários para definir sua utilidade clínica, existem relatos de que a positividade do teste sorológico para detecção de GM antecede o diagnóstico definitivo de aspergilose em até 17 dias (SILVA, 2010).

### **2.3.2 Diagnóstico radiológico**

As lesões observadas na radiografia simples de tórax podem incluir nódulos únicos ou múltiplos, cavidades ou consolidações segmentares ou

subsegmentares. No paciente neutropênico, porém, muitas vezes o raio X de tórax é falsamente normal, só sendo possível observar as lesões pulmonares na TC. A imagem mais característica, na fase inicial, vista em TC de tórax é o macronódulo com sinal do halo, que é uma área de baixa atenuação em volta do nódulo e que representa edema ou hemorragia (GASPARETTO; SOUZA; TAZONIERO, 2007) (Figura 2). O início da terapia antifúngica sistêmica antes de se estabelecer o diagnóstico de uma infecção fúngica pode contribuir para um melhor resultado terapêutico em pacientes de alto risco (MIKOLAJEWSKA *et al*, 2012).



**Figura 2** - Imagem de tomografia computadorizada de tórax demonstrando a presença do sinal do halo em paciente com pneumonia fúngica – \*\*Gentilmente cedida pelo serviço de Transplante de Medula Óssea do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná e aprovado pelo comitê de ética em pesquisa da instituição

**Fonte:** Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná

Este sinal do halo foi descrito em mais de 90,0% dos pacientes neutropênicos graves com AIP quando o exame foi realizado na fase inicial da doença. Em estados mais tardios, a TC pode mostrar áreas de sequestro necrótico do tecido pulmonar, que se separa do parênquima que o rodeia,

resultando no sinal do crescente aéreo. Lamentavelmente, a identificação do fungo não costuma passar de 30,0% dos casos (SILVA, 2010).

Em um estudo de Aquino *et al.* (2010), uma descoberta notável foi a proporção elevada de casos provados de DFI (69,0%) em comparação com casos prováveis. Isso ocorreu devido a uma política agressiva de imagem de TC de seios nasais em pacientes com neutropenia febril, o que frequentemente exige a realização de biópsias de seios paranasais. Então, cerca de 50,0% dos pacientes neste estudo tinham rinossinusite fúngica invasiva. O diagnóstico dessas condições é realmente dependente da demonstração de invasão de tecido por fungos e os seios paranasais são mais facilmente alcançados para procedimentos invasivos do que os pulmões.

Gasparetto; Souza e Tazoniero (2007), em uma revisão de 12 casos, identificaram o sinal do halo em cinco (41,0%) desses pacientes e a distribuição bilateral e assimétrica de lesões foi o padrão dominante (66,0%). A espécie *A. fumigatus* foi a mais comum identificada e este fato está relacionado principalmente com o local mais comumente afetado, o trato respiratório.

## **2.4 Tratamento e Susceptibilidade aos Antifúngicos**

O entusiasmo gerado pelo descobrimento de novos antifúngicos levou a crer que doenças causadas por fungos seriam esquecidas. No entanto, estes patógenos adquiriram resistência a vários antibióticos. O aumento na resistência obrigou o desenvolvimento de novos e mais potentes medicamentos e maiores pesquisas na área de mecanismos de resistência a antimicrobianos, pois o melhor entendimento da disseminação da resistência é necessário para controlar o problema (SADER *et al.*, 2001).

Nos últimos anos houve uma considerável expansão na investigação farmacológica antifúngica e desenvolvimento de vários compostos, bem como no estabelecimento de novas estratégias para o tratamento de DFI. O polieno anfotericina B deoxicolato e suas formulações lipídicas (complexo lipídico, lipossômica e dispersão coloidal), os triazóis itraconazol, voriconazol e posaconazol e as equinocandinas, mais especificamente a caspofungina, são compostos que foram licenciados para o tratamento de DFI, tendo atividade *in*

*vitro* e *in vivo* devidamente comprovada sobre as distintas espécies do gênero *Aspergillus* spp. (WALSH *et al.*, 2008).

Segundo os *guidelines* publicados pela *Infectious Diseases Society of America* (IDSA), o início precoce da terapia antifúngica em doentes com forte suspeita de DFI se justifica enquanto se encaminha a avaliação diagnóstica. Assim, para o tratamento primário de AIP recomenda-se o voriconazol, via oral ou intravenosa para os doentes mais graves. Em alguns doentes, a anfotericina B lipossômica pode ser considerada como alternativa do tratamento primário. Num último recurso de tratamento poderiam ser utilizadas formulações lipídicas de anfotericina B, posaconazol, itraconazol e a caspofungina. Na AIP resistente ao voriconazol, dispõem-se como opções terapêuticas uma das formulações da anfotericina B ou de uma equinocandina, como a caspofungina; a maior utilização de azólicos deve ter em consideração o tratamento prévio com essa classe de fármacos, fatores relacionados ao doente e aspectos farmacocinéticos. Em relação à duração do tratamento antifúngico, ainda não se encontra bem definida, sendo, contudo, recomendado que se prolongue durante um mínimo de 6 a 12 semanas. Nos casos de doentes tratados com sucesso que necessitem subsequente imunossupressão, o reinício do tratamento antifúngico pode prevenir uma infecção recorrente.

O posaconazol é recomendado como profilaxia antifúngica em pacientes com fatores de risco de DFI, receptores de TMO com DECH ou pacientes com LMA ou síndrome mielodisplásica (SMD). Segundo um estudo de WINGARD *et al.* (2008), a maioria das mortes devido a DFI ocorreu durante as primeiras seis semanas do início da terapia, devendo este ser o melhor intervalo para avaliar a eficácia do tratamento antifúngico. Neste contexto, a investigação farmacológica antifúngica continua, com o desenvolvimento de novos fármacos, tais como isavuconazol, albaconazol, micafungina, anidulafungina e aminocandina (PASQUALOTTO & DENNING, 2008; SABOL & GUMBO, 2008; WALSH *et al.*, 2008).

As principais razões apontadas para o fracasso do tratamento da AIP incluem o sistema imunológico deficiente dos pacientes, a baixa disponibilidade dos fármacos, as reações adversas e as interações medicamentosas e a resistência de algumas espécies de *Aspergillus* aos antifúngicos, que tem se

mostrado uma importância crescente (PASQUALOTTO & DENNING, 2008; QIAO; LIU; LI, 2008). De fato, desde a primeira notificação (DENNING *et al.*, 1997) de estirpes de *A. fumigatus* resistentes ao itraconazol, o número de estirpes clínicas deste fungo resistentes aos triazoles tem aumentado consideravelmente (QIAO; LIU; LI, 2008; WALSH *et al.*, 2008). Diante deste contexto, a avaliação da susceptibilidade *in vitro* aos antifúngicos tem-se tornado uma prática comum e com valor reconhecido.

A utilização de anfotericina B era tida como padrão de tratamento, mas com sucesso terapêutico baixo, pois a mortalidade chegava a 70-90%. Na presença de nefrotoxicidade, o uso da formulação lipossomal tem sido proposto (QIAO; LIU; LI, 2008)

A utilidade dos estudos de epidemiologia de AIP em cada unidade hospitalar permite conhecer a situação local e ter base para traçar estratégias de prevenção. De modo complementar, devem ser considerados os fatores de risco para AIP, cuja análise pode decidir a estratégia mais adequada de enfrentamento do problema. Basicamente, a estratégia é o uso de profilaxia antifúngica mais dirigida. A mais recente descoberta foi a utilização do posaconazol profilático em pacientes onco-hematológicos que se submeteram a quimioterapia e pacientes submetidos ao TCTH com DECH, demonstrando uma diminuição estatisticamente significativa de AIP, ambos por leveduras ou fungos filamentosos. No entanto, seu efeito, a médio e a longo prazo, nesta população em relação ao surgimento de outros fungos ou surgimento de resistência a outras drogas antifúngicas é desconhecido (RABAGLIATI *et al.*, 2009).

Segundo Nucci e Colombo (2012), a terapia empírica refere-se à prática de iniciar o tratamento antimicrobiano antes da confirmação do agente etiológico envolvido, tendo como base para o direcionamento da terapêutica apenas e epidemiológicas supostamente relacionadas ao patógeno em questão. A terapia antifúngica empírica justifica-se em um cenário clínico de grande risco para DFI, onde haja dificuldade para confirmação do diagnóstico microbiológico, e mediante suspeita de infecção associada com alta mortalidade, sendo considerada prática consagrada no manejo de neutropenia febril em pacientes com câncer, embora um grande esforço tem sido feito no sentido de mudar o critério que desencadeia o início do antifúngico, deixando de ser apenas febre

persistente e incorporando variáveis preditoras de DFI que sejam mais específicas.

Vale ressaltar que o risco de se adquirir candidíase invasiva (CI) também é elevado durante o período pós-transplante devido a neutropenia, infecções na mucosa e ainda devido a presença de cateter venoso central bastante comum nestes pacientes. O fluconazol é o fármaco de escolha para a profilaxia de CI e pode ser iniciado logo após o TCTH alogênico ou ainda quando houver longo período de neutropenia. Baixa dose de fluconazol possui eficácia variável e, portanto, doses inferiores a 200mg não são recomendadas. O período de uso do fluconazol como agente profilático não está definido, mas seu uso por 75 dias após o transplante está associado com proteção prolongada contra CI (MARR *et al*, 2009).

O determinante mais importante da sobrevida, no entanto, é a recuperação medular com resolução da neutropenia, que se constitui em um fator primordial no combate ao fungo, evitando-se as complicações mais graves (SILVA, 2010).

O estudo realizado justifica-se pela alta incidência de mortalidade por infecções oportunistas nos pacientes transplantados e, muitas vezes, o diagnóstico tardio dessas enfermidades.

### **3 OBJETIVOS**

#### **3.1 Objetivo Geral**

Avaliar a dosagem da GM por método enzimático para o diagnóstico de AIP em amostras clínicas de pacientes submetidos ao TCTH no HC da UFPR, no período de 2010 a 2012.

#### **3.2 Objetivos Específicos**

- Determinar a sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo, valor preditivo negativo e acurácia da detecção da GM pelo método ELISA (Platelia™ *Aspergillus* EIA), em amostras clínicas coletadas de forma prospectiva de todos os pacientes da Unidade de TMO do HC da UFPR;

- Relacionar os resultados da GM com os achados tomográficos e uso de antifúngicos nos pacientes submetidos ao TCTH do HC da UFPR;

- Descrever os tipos de TCTH, quadro clínico e evolução dos pacientes da Unidade de TMO do HC da UFPR;

- Validar o teste de ELISA para a detecção da GM como exame de valor diagnóstico e ou monitoramento da resposta clínica em pacientes com AIP;

- Estudar a possível presença de reação cruzada com outros fungos, tais como *Fusarium* spp. e *Acremonium* spp., na detecção da GM pelo mesmo teste.

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 Amostra

Para a realização do presente estudo, foram avaliados, retrospectivamente e consecutivamente, todos os pacientes submetidos ao TCTH e internados na Unidade de TMO do HC da UFPR, no período de julho de 2010 a abril de 2012, num total de 200 pacientes.

A coleta das amostras de sangue para a dosagem da GM foi realizada de forma prospectiva, todas as segundas e quintas-feiras, a partir do dia dois de julho de 2010 até trinta de abril de 2012. Para esta dosagem foi utilizado kit comercial (Bio-Rad: Platelia™ *Aspergillus* EIA, Laboratório Bio-Rad, Marnes, França), com o emprego de um teste em microplaca imunoenzimático (ELISA) tipo sanduíche para detecção do antígeno GM no soro dos pacientes, realizado no laboratório de Micologia do HC da UFPR.

A detecção de GM foi realizada segundo as instruções do fabricante, em amostras de soro tratadas com solução de EDTA 4%, aquecidos em banho-maria por 3 minutos a 100°C e centrifugados a 10.000 rotações por minuto (rpm), por 10 minutos. As amostras de soro são previamente tratadas termicamente em presença de EDTA, para dissociar os complexos imunes e precipitar as proteínas do soro que poderiam interferir no teste. O sobrenadante do soro (50 µL) foi colocado nos poços das microplacas (96 orifícios) previamente adicionadas de anticorpos monoclonais de antigalactomanana marcados com peroxidase. A placa foi vedada com parafilme e incubada a 37°C ( $\pm$  1°C) durante 90 minutos. Após este período, o conteúdo da placa foi aspirado e cada poço lavado com tampão Tris NaCl, Tween® 20 a 1%, timerosal 0,01% e água destilada, por cinco vezes, e secos. Em seguida foi adicionada a cada orifício a solução de tetrametilbenzidina, considerada como substrato cromógeno. O tampão é constituído de solução de ácido cítrico e acetato de sódio diluído em peróxido de hidrogênio a 0,009% e dimetilsulfóxido (DMSO) a 4%, enquanto a solução cromogênica é constituída de tetrametilbenzedina a 0,6% em DMSO a 90%. A placa foi então incubada a temperatura de 25°C por 30 minutos na ausência de luz. Solução de parada com ácido sulfúrico 1N (100 µL) foi adicionada e a base da

placa foi seca. A leitura foi realizada após 30 minutos da adição da solução de parada em espectrofotômetro leitor de microplaca em um comprimento de onda de 450nm e 620nm. Valores com índice  $\geq 0,5$  foram considerados como positivos.

Em todas as análises de detecção de GM, soro negativo (negativo para GM, anticorpos HIV-1, HIV-2 e HCV), soro positivo (contendo GM) e soro controle *cut-off* (soro humano que contém GM liofilizado) foram usados como controle.

Foram coletados os dados registrados em reuniões clínicas realizadas na Unidade de TMO, as segundas e quintas-feiras, referentes ao aspecto clínico dos pacientes, registro pessoal como número de registro no hospital, data de nascimento, idade e sexo, data da realização do transplante, medicações utilizadas (dose e período de uso), registros de alta ou óbito, tipo de doença, tipo de transplante realizado, presença de DECH, dados de TC de tórax, dados de culturas realizadas, bem como outros dados laboratoriais. Outro meio utilizado na pesquisa foi a consulta ao sistema do HC para acesso a medicações e laudos com resultados de TC de tórax, bem como dados referentes ao resumo de alta.

Cada paciente foi acompanhado pelo corpo clínico do HC da UFPR e avaliado de acordo com seus fatores de risco: fatores inerentes ao hospedeiro imunossuprimido (neutropenia prolongada, acima de 10 dias; TCTH; DECH e uso de altas doses de corticosteroides), evidência clínica consistente com DFI (TC de tórax com presença de nódulos de tamanho superior a 5 mm, com ou sem sinal do halo em vidro fosco,) evidência micológica (dosagens de GM com valor igual ou superior a 0,5 em pelo menos duas amostras consecutivas) e cultura positiva para *A. fumigatus*. A cultura foi realizada com amostras de sangue (hemocultura) incubada no Bact-Alert™ (bioMérieux), automatizada ou LBA através da semeadura em meio de cultura específico.

Os 152 pacientes foram classificados em 4 grupos de estudo: grupo I – controle negativo; grupo II – possível falso negativo; grupo III – possível falso positivo e grupo IV – controle positivo.

Os grupos classificados com a letra A são aqueles os quais os pacientes fizeram uso de alguma medicação anti-fúngica anti-*Aspergillus* e os grupos classificados com a letra B, aqueles pacientes que não fizeram uso de medicação anti-fúngica anti-*Aspergillus*, usaram apenas fluconazol profilático, bem como todos os outros pacientes deste estudo.

Os grupos I, II e III foram subdivididos em: IA com 18 pacientes (11,85%), IB com 107 pacientes (70,39%), IIA com 8 pacientes (5,26%), sendo este considerado o grupo de AIP possível; IIB (ausência de paciente), IIIA com 7 pacientes (4,60%) e IIIB com 5 pacientes (3,29%).

Foram avaliados no grupo IA os motivos pelos quais se realizou a administração profilática ou preventiva de antifúngicos e qual sua indicação clínica. O grupo IB é composto por pacientes tratados apenas com fluconazol profilático como antifúngico. O grupo IIA trata-se do grupo com AIP possível, com infecção de escape (*breakthrough infection*) ou falha na profilaxia. O grupo III é o grupo considerado possível falso positivo para AIP, sendo sua subdivisão A, os pacientes que usaram alguma medicação anti-*Aspergillus* e B aqueles que não utilizaram esse tipo de esquema terapêutico.

O grupo IV foi subdividido em IV1 (6 pacientes, 3,95%) classificados como pacientes com AIP provável e IV2 (1 paciente, 0,66%), classificado como AIP provada. O grupo IV1 são aqueles pacientes que não tinham dados de cultura ou biópsia positiva para *Aspergillus* ou com dados de cultura de LBA positiva para *Aspergillus* e trata-se do grupo de pacientes com AIP provável; e o grupo IV2, paciente com biópsia pulmonar positiva para *Aspergillus*. O grupo IV1 e o grupo IV2 evidenciam o paciente com diagnóstico de AIP provada. Estes grupos estão sumarizados na tabela 1.

## 4.2 Revisão de Literatura

A pesquisa bibliográfica foi realizada nos bancos de dados virtuais como PUBMED, MEDLINE (*Index Medicus*), OVID (Literatura Mundial) e LILACS (Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde). Como estratégia de busca nas referidas bases de dados foram utilizadas as seguintes palavras-chaves ou descritores de saúde: galactomanana, doença fúngica invasiva, *A. fumigatus*, voriconazol, aspergilose invasiva pulmonar do período de 1985 a 2013.

### **4.3 Delineamento da Pesquisa**

Estudo observacional, transversal e retrospectivo.

### **4.4 Análise Estatística**

Os dados obtidos foram digitados em um banco de dados do Programa Excel para análise estatística das medidas de frequência.

### **4.5 Ética**

Este projeto foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa da Universidade Federal do Paraná (anexo 1).

### **4.6 Redação**

Para normatização da dissertação foram utilizadas as prescrições de informação e documentação sob a responsabilidade da Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT) e sob a orientação de padronização sugerida por <http://www.abnt.org.br/>

## 5 RESULTADOS

Foram levantados os registros de 200 pacientes submetidos ao TCTH, internados na Unidade de TMO do HC da UFPR, no período de julho de 2010 a abril de 2012. Dos 200 pacientes inseridos, foi possível a realização da análise dos dados em 152 pacientes. Os demais não apresentavam os registros (ou as condições) que permitissem o estudo proposto. Entre eles, 35 pacientes apresentavam quadro clínico de neutropenia febril, com uso de antifúngico anti-*Aspergillus* sem TC de tórax disponível ou alterada, não permitindo sua correlação com a GM, objetivo principal deste estudo.

Dos 152 pacientes analisados, 15 (9,9%) apresentaram o diagnóstico de AIP e os mesmos foram classificados, de acordo com os critérios EORTC, em AIP possível (8 pacientes, 53,3%), provável (6 pacientes, 40,0%), ou provada (1 paciente, 6,7%). Estes dados estão apresentados na tabela 2.

A tabela 3 apresenta a incidência de DFI encontrada entre os 152 pacientes consecutivos submetidos ao TCTH no HC da UFPR.

No presente estudo, apenas um paciente realizou a cultura da biópsia pulmonar com isolamento do *A. fumigatus* e, portanto, ficou estabelecido neste estudo apenas uma relação entre o resultado da GM, analisando-se sua positividade ou negatividade e o resultado da TC de tórax, com a presença ou ausência de macronódulos e a presença ou não do sinal do halo em vidro fosco, conforme demonstrado na tabela 4. No presente estudo, não houve positividade de hemocultura para *Aspergillus* em nenhum caso.

Conforme demonstrado na tabela 5, a população apresentou as seguintes características: 80 pacientes do sexo masculino (52,6%) e 72 pacientes do sexo feminino (47,4%), com prevalência da população adulta (78 pacientes, 51,3%) e 74 crianças (48,7%). A idade variou de 1 a 61 anos, com uma mediana de 33 anos. A doença de base prevalente foi anemia aplástica severa (AAS) (33 casos, 21,7%), seguida de anemia de Fanconi (AF) (23 casos, 15,1%), leucemia linfóide aguda (LLA) (22 casos, 14,5%) e LMA (18 casos, 11,8%). Em relação ao tipo transplante, predominaram os transplantes do tipo alogênico (129 casos, 84,8%),

TMO (96 casos, 63,2%) e aparentado (73 casos, 56,6%). Dentre os TMO, a modalidade que prevaleceu foi o TMO alogênico aparentado compatível (30 casos, 19,7%). Oitenta e oito pacientes (57,9%) não fizeram uso de medicação antifúngica anti-*Aspergillus*, enquanto 64 pacientes (42,1%) usaram medicação anti-*Aspergillus*. Destes, o antifúngico administrado com maior frequência foi o voriconazol (34 casos, 53,1%), seguido da micafungina (18 casos, 28,1%), associação de voriconazol + micafungina (10 casos, 15,6%) e anfotericina B (9 casos, 14,1%). A maioria dos pacientes (144/94,7%) não utilizou piperacilina-tazobactam. Da mesma forma, a maioria dos pacientes não desenvolveu DECH (74,3%), 18 pacientes (11,84%) tiveram DECH moderada, 15 pacientes (9,87%) DECH leve e apenas 6 pacientes (3,95%) desenvolveram DECH de forma grave; 143 pacientes (94,1%) fizeram uso de corticosteroides. Em relação à TC de tórax, 89 pacientes (58,6%) não a realizaram, 48 pacientes (31,6%) realizaram e apresentaram resultado normal e 15 pacientes (9,87%) apresentaram resultado alterado que sugeriram o diagnóstico de aspergilose. O resultado da dosagem de GM foi negativo para a maioria dos pacientes (133/87,5%) e positivo em 19 casos (12,5%). Em relação à cultura, 150 pacientes (98,7%) apresentaram resultado negativo de cultura de sítio não estéril e 147 pacientes (96,7%) apresentaram resultado negativo de cultura de sítio estéril. Em relação à evolução clínica deste grupo de pacientes, 106 (69,7%) apresentaram melhora (alta hospitalar) e 46 pacientes (30,3%) foram a óbito.

De acordo com a tabela 6, constatou-se a diversidade de manifestações clínicas que levaram à prescrição de antifúngico anti-*Aspergillus*, refletindo a preocupação com o tratamento profilático em pacientes com imunidade comprometida e conseqüente risco de morte e as diferentes situações clínicas atendidas pela Unidade de TMO do HC da UFPR. As situações clínicas mais frequentes foram: profilaxia secundária (6 casos, 33,3%), paciente em que o fluconazol foi suspenso por hepatotoxicidade (2 casos, 11,1%), paciente submetido a um segundo transplante (1 caso, 5,55%), paciente que apresentou choque séptico (1 caso, 5,55%), criança com diagnóstico de leucemia linfóide aguda em ciclo de remissão 1 (LLA-CR1) com citogenética desfavorável (1 caso, 5,55%), criança com diagnóstico desfavorável (1 caso, 5,55%), paciente com piora no padrão respiratório e resistente à antibioticoterapia (1 caso, 5,55%),

paciente com hemocultura positiva para leveduras sugestivas de *Candida* (1 caso, 5,55%), paciente com o diagnóstico de Síndrome de Wiskott Aldrich (1 caso, 5,55%), SCID (1 caso, 5,55%), pacientes em reinternação com DECH apresentando lesões bolhosas na pele (1 caso, 5,55%, com hemocultura positiva para *Candida parapsilosis*) e 1 caso (5,55%) com cultura de líquido sinovial positiva para *Fusarium* e hemocultura positiva para *Acremonium*, ou seja, duas hialohifomicoses.

Neste último caso, o transplante ocorreu no dia 27/10/2011 e a paciente esteve em uso de voriconazol desde o dia 19/10/2011 até dia 05/12/2011 (46 dias), 200mg 12/12hrs associado à anfotericina B no dia 10/11/2011 até o dia 05/12/2011, iniciando-se com 50mg/24hrs e depois 20mg/24hrs. Esta paciente tinha como doença de base AAS e foi submetida a um TMO não aparentado compatível. Trata-se de uma criança do sexo feminino e recebeu alta hospitalar no dia 06/03/2012 apresentando, portanto, melhora do quadro clínico. Neste grupo, da mesma forma prevaleceu o sexo masculino (67/53,6%) e a população adulta (66/52,8%).

A variação de idade foi de 1 a 61 anos com uma mediana de 33 anos. A doença de base prevalente foi AAS em 29 casos (23,2%). O tipo de transplante que prevaleceu foi o alogênico (81,6%), TMO (64%) e aparentado (61,7%). Ainda nessa classificação, os TMO alogênicos aparentados compatíveis e os TCTSP autólogos apresentaram 23 casos cada um (18,4%). Todos os pacientes submetidos a transplantes autólogos inseridos nesta pesquisa foram incluídos nesse grupo; (85,6%) dos pacientes não utilizaram antifúngico anti-*Aspergillus*, e dos que utilizaram, o antifúngico prevalente foi o voriconazol, em 12 casos (66,7%). Apenas 6 pacientes (4,8%) fizeram uso de piperacilina-tazobactam, (77,6%) pacientes não desenvolveram DECH e 118 pacientes (94,4%) fizeram uso de corticosteroides. Nenhum paciente apresentou TC de tórax alterada para aspergilose, 68% não realizaram TC de tórax e 32% apresentaram resultado normal na TC. Os 125 pacientes (100%) desse grupo apresentaram dosagens negativas na pesquisa de GM. Em relação à cultura, apenas 2 pacientes apresentaram resultado positivo: 1 para *Acremonium* no sangue (0,8%) e outro para *Candida krusei* também em amostra de sangue (0,8%). Todos os pacientes não apresentaram qualquer classificação para aspergilose e 96 (76,8%) pacientes

apresentaram melhora clínica e alta hospitalar. O grupo IB no presente trabalho demonstrou o teste da GM com alto valor preditivo negativo (92%), pois os pacientes apresentavam-se com todas as dosagens de GM negativas, sem evidências clínicas de API e com TC de tórax normal para aspergilose em 31 pacientes e não realizada em 76 pacientes, pois não apresentavam sintomas pulmonares. Todos os pacientes desse grupo não utilizaram terapia antifúngica anti-*Aspergillus*. Dos 107 pacientes desse grupo, apenas dois fizeram uso de piperacilina-tazobactam e a profilaxia realizada nestes pacientes foi com fluconazol.

A tabela 7 apresenta os resultados obtidos dos pacientes considerados possíveis falso-negativos para AIP. Sete pacientes (87,5%) são adultos e apenas uma criança (12,5%); apenas um paciente do sexo masculino (12,5%) e 10 do sexo feminino (87,5%). A variação de idade foi de 16 a 59 anos com uma mediana de 37,5 anos. Em relação ao quadro clínico 5 (62,5%) pacientes apresentaram neutropenia febril, sendo um caso (12,5%) de paciente assintomático com DECH, um caso (12,5%) de paciente com sintoma pulmonar relatado como tosse e um (12,5%), com sintoma pulmonar relatado como hemoptise. Todos os pacientes desse grupo apresentaram TC de tórax possível para aspergilose. A doença de base prevalente foi LMA (3 casos, 37,5%), seguida de LMC (2 casos, 25,0%), AAS (1 caso, 12,5%), LLA (1 caso, 12,5%) e mielodisplasia (MDS) (1 caso, 12,5%). Em relação ao tipo de transplante, os 8 pacientes (100,0%) realizaram o transplante alogênico, 5 pacientes (62,5%) realizaram o TCTSP e 3 pacientes (37,5%) realizaram TMO. A maioria dos pacientes (6/75,0%) realizou transplante não aparentado e apenas 2 (25,0%) realizaram transplante aparentado. Os tipos de transplante prevalentes foram: TMO alogênico não aparentado compatível 9/10 e TCTSP alogênico não aparentado compatível 9/10.

A totalidade dos pacientes neste grupo usou como terapia antifúngica anti-*Aspergillus*, sendo o voriconazol (6 casos, 75,0%) o único anti-fúngico de escolha. Em 1 caso (12,5%), o paciente fez uso de anfotericina B (no período de 01/12/2011 a 30/12/2011) num primeiro momento e em seguida usou voriconazol (de 31/12/2011 a 08/01/2012); em um caso (12,5%) o paciente fez uso de voriconazol (de 16/01/2012 a 17/05/2012) e posteriormente micafungina (de

18/05/2012 a 22/05/2012). Em apenas 2 pacientes (25,0%) foram utilizados os medicamentos piperacilina e tazobactam. A maioria dos pacientes (5/62,5%) não desenvolveu DECH, 2 (25,0%) desenvolveram DECH grave e 1 (12,5%) desenvolveu DECH moderada. Apenas um paciente (12,5%), no momento da análise, apresentava-se com DECH e os demais 7 pacientes (87,5%) estavam neutropênicos e 6 (75,0%) pacientes fizeram uso de corticosteróides. A TC de tórax foi realizada, em média, 14,5 dias após o transplante e todos os pacientes deste grupo apresentaram resultados alterados para infecção fúngica. Os achados tomográficos mais frequentes com evidências de AIP foram macronódulos com sinal do halo em vidro fosco (6 casos, 75,0%). Os outros 2 pacientes (25,0%) apresentaram apenas macronódulos. A maioria dos pacientes estava febril no momento da análise (7 casos, 87,5%) e a pesquisa da GM mostrou-se negativa em 100,0% dos casos. Em relação às culturas, tanto de sítio estéril, quanto de sítio não estéril, todos os pacientes (100,0%) estavam com hemocultura negativa. Também, a totalidade dos pacientes foi classificada com o diagnóstico de AIP, uma vez que apresentaram um fator no hospedeiro e uma evidência radiológica. Em relação ao quadro de evolução, 2 pacientes (25,0%) apresentaram melhora clínica e 6 pacientes (75,0%) foram a óbito. Em 2 pacientes (33,3%), a causa do óbito foi DECH, em outros 2 (33,3%), a causa atribuída foi choque séptico com foco em AIP, em 1 paciente (16,7%), choque cardiogênico e em 1 paciente (16,7%), adenovirose disseminada.

O grupo IIB, grupo de pacientes falso-negativos sem uso de anti-fúngicos anti-*Aspergillus* não foi representado por nenhum paciente.

Os dados laboratoriais e tomográficos dos oito pacientes classificados como possíveis falso negativos para AIP, bem como idade, sexo, doença de base, tipo de transplante realizado, quadro clínico, antifúngicos utilizados, evolução clínica e causa do óbito, estão discriminados na tabela 8.

A tabela 9 está representada por 12 pacientes considerados nesse estudo falso-positivos para AI. Destes, 8 (66,7%) são do sexo masculino e 4 (33,3%) do sexo feminino. A idade dos pacientes variou entre 1 e 55 anos, com uma mediana de 30 anos. Nove pacientes (75%) são adultos e 3 (25%) são crianças. As doenças de base que prevaleceram nesse grupo são: LLA (3, 25%) e LMA (3,25%). Em relação ao quadro clínico, 7 (58,3%) pacientes apresentaram

neutropenia febril, 2 pacientes (16,7%) assintomáticos, 1 paciente (8,33%) com hemocultura positiva para *Fusarium* spp., 1 paciente (8,33%) com meningite por *Candida tropicalis* e 1 paciente (8,33%) com sepse pelo fungo *Acremonium*. Em relação ao tipo de transplante, a totalidade dos pacientes foi submetida ao transplante alogênico, sendo a maioria TMO (8/66,7%), em 6 pacientes (50,0%), o transplante foi aparentado e nos outros 6 (50,0%), foi não aparentado. A modalidade de transplante que prevaleceu neste grupo foi o TMO alogênico aparentado compatível (4/33,3%), 7 pacientes (58,3%) foram submetidos à terapia anti-fúngica e os anti-fúngicos que prevaleceram foram: micafungina (2 pacientes, 28,6%), voriconazol (1 paciente, 14,29%), associação de voriconazol + anfotericina B (1 paciente, 14,29%, no período de 18/08/2010 a 25/09/2010 e de 22/09/2010 a 25/09/2010), voriconazol + micafungina (1 paciente, 14,29% no período de 23/05/2011 a 03/06/2011 e de 04/06/2011 a 09/06/2011), micafungina + anfotericina B + voriconazol (1 paciente, 14,29%, no período de 23/09/2011 a 25/09/2011; de 26/09/2011 a 10/10/2011 e de 10/11/2011 a 06/12/2011) e micafungina + voriconazol + anfotericina lipídica (1 paciente, 14,29% no período de 06/03/2012 a 02/04/2012; de 01/04/2012 a 18/04/2012 e de 19/04/2012 a 27/05/2012).

Nenhum paciente deste grupo fez uso de piperacilina + tazobactam e todos os pacientes (100%) utilizaram corticosteróides. Em relação a DECH, 8 pacientes (66,7%) não desenvolveram DECH e 2 pacientes (16,7%) apresentaram DECH moderada. Oito pacientes (66,7%) apresentaram TC de tórax normal para aspergilose e em 4 pacientes (33,3%), a TC de tórax não foi realizada pela ausência de suspeita clínica. A pesquisa de GM apresentou-se positiva em todos os casos (100%), com uma mediana de 10 dosagens por paciente e com valor médio positivo de índice de 1,388. Sete pacientes (58,3%) apresentaram 2 dosagens de GM positivas consecutivas, 2 pacientes (16,7%) com 2 e 3 dosagens de GM positivas consecutivas, 1 paciente (8,33%) com 3 e 2 dosagens positivas consecutivas, 1 paciente (8,33%) com 5 dosagens positivas consecutivas e 1 paciente (8,33%) com 10 dosagens positivas consecutivas, tendo esse último paciente desenvolvido fusariose.

Em relação às culturas de sítio não estéril deste grupo, apenas 1 paciente (8,33%) apresentou crescimento de *Acremonium* sp em secreção nasal. Oito

pacientes (66,7%) apresentaram hemocultura negativa de sítios estéreis, 1 paciente (8,33%) desenvolveu *Enterobacter cloacae* e *Acremonium* no sangue, 1 paciente (8,33%) apresentou hemocultura positiva para *Candida* sp, 1 paciente (8,33%) com hemocultura positiva para *Fusarium dimerum* e 1 paciente (8,33%) com hemocultura positiva para estafilococo coagulase positiva. Todos os pacientes (100%) estavam neutropênicos no momento desta análise, 7 (58,3%) estavam febris e 5 (41,7%) afebris. Os 12 pacientes deste grupo não apresentaram quadro de AIP, portanto não puderam ser classificados entre AIP possível, provável ou provada. Em relação à evolução clínica, 5 pacientes (41,7%) foram a óbito e 7 (58,3%) apresentaram melhora clínica. As causas do óbito foram: DECH com parada cardiorespiratória, choque refratário, desnaturação e hipotensão arterial (fusariose disseminada), reativação de meningite por *Candida* spp. e sepse pelo fungo *Acremonium* spp.

Os dados laboratoriais e tomográficos dos 12 pacientes classificados como possíveis falso positivos para aspergilose AIP, bem como idade, sexo, doença de base, tipo de transplante realizado, quadro clínico, antifúngicos utilizados, evolução clínica e causa do óbito, estão discriminados na tabela 10.

A tabela 11 apresenta os pacientes com a maioria das características de API. Num total de 7 pacientes, 2 (28,6%) são adultos e 5 (71,4%) crianças, 4 (57,1%) do sexo masculino e 3 (42,9%) do sexo feminino. A variação de idade foi de 6 a 55 anos, com uma mediana de 30,5 anos. As doenças de base mais prevalentes foram AF (2/28,6%) e LLA (2/28,6%), LMA (1/14,3%), AAS (1/14,3%) e MDS (1/14,3%). Em relação ao tipo de transplante, todos os pacientes foram receptores de transplante alogênico, 5 (71,4%) de TMO e 2 (28,6%) de transplantes de célula tronco-periférica, sendo 5 (71,4%) dos transplantes foram não aparentados e 2 (28,6%) foram aparentados. A prevalência foi a modalidade de TMO alogênico não aparentado compatível 9/10 em 3 pacientes (42,9%). Todos os pacientes deste grupo foram submetidos à terapia antifúngica anti-*Aspergillus*. O antifúngico anti-*Aspergillus* mais utilizado foi o voriconazol, isoladamente (4/57,1%). Em 1 caso (14,2%) o paciente usou micafungina + anidulafungina (de 02/09/2011 a 21/09/2011 e de 22/09/2011 a 26/09/2011), outro paciente (14,2%) foi tratado com anfotericina B + anidulafungina + voriconazol (de 02/07/2010 a 05/07/2010; de 05/07/2010 a 16/08/2010 e de 15/07/2010 a

16/08/2010) e 1 paciente (14,2%) foi tratado com voriconazol + anfotericina B + micafungina (de 11/04/2011 a 28/04/2011; de 28/04/2011 a 15/05/2011 e de 12/05/2011 a 20/05/2011). Nenhum paciente foi tratado com piperacilina e tazobactam. Todos os pacientes fizeram uso de corticosteroide. Em relação à DECH, 3 pacientes (42,9%) não desenvolveram a complicação, 2 pacientes (28,6%) desenvolveram DECH de forma grave, 1 paciente (14,2%) de forma moderada e um paciente (14,2%) de forma leve.

Todos os pacientes deste grupo (100%) apresentaram TC de tórax alterada para AIP e, da mesma forma, todos (100%) apresentaram macronódulos e a presença de halo em vidro fosco. Estas tomografias apresentaram resultado positivo em um paciente, 5 dias após o TMO, em 1 paciente 123 dias após o TMO, em 1 paciente 24 dias antes do TMO e nos outros 4 pacientes, em média 35 dias após o TMO. Todos os pacientes apresentaram positividade na pesquisa de GM. Os pacientes realizaram, em média, 11 dosagens de GM, sendo 2 pacientes (28,6%) apresentaram 3 dosagens positivas consecutivas, 3 pacientes (42,9%) apresentaram 2 dosagens positivas consecutivas, 1 paciente (14,2%) com 4 dosagens positivas e consecutivas e 1 paciente (14,2%) com 8 dosagens positivas e consecutivas. O valor médio de índice obtido na pesquisa de GM foi de 1,229. Seis pacientes (85,7%) apresentaram hemocultura negativa, 1 paciente (14,3%) apresentou cultura positiva de lavado bronco-alveolar para *A. fumigatus* e hemocultura positiva para estafilococo coagulase negativa. Em relação à biópsia pulmonar, este exame foi realizado em apenas 1 paciente (14,3%) e o resultado foi positivo para *Aspergillus* sp.

O quadro clínico destes pacientes foi heterogêneo, sendo 3 pacientes (42,9%) com neutropenia febril, 1 paciente (14,3%) com DECH e sintomas clínicos eupneico e dor pleurítica, 1 paciente (14,3%) com DECH agudo em uso de corticosteroide, 1 paciente (14,3%) com neutropenia febril e pneumonia fúngica em tratamento antes do TMO e outro paciente (14,3%) com neutropenia febril e lesões petequiais nas polpas digitais, com suspeita de embolia séptica e tosse. A maioria dos pacientes (6/85,7%) estava neutropênica e 6 (85,7%) em estado febril. Os pacientes desse grupo desenvolveram AIP, sendo 6 deles (85,7%) do tipo provável e 1 (14,3%) de AIP provada. Quatro pacientes (57,1%) foram a óbito e 3 pacientes (42,9%) apresentaram melhora clínica. O paciente com AIP provada

que apresentou biópsia pulmonar positiva para *Aspergillus* era uma criança do sexo feminino com quadro clínico de DECH, eupneica e com dor pleurítica; a TC de tórax com presença de massa sólida de 4,7 x 3,5 cm em lóbulo superior esquerdo (LSE) e nódulo em vidro fosco de 1,0 cm em lóbulo superior direito (LSD), e esta TC apresentou-se alterada 123 dias após o TMO, ou seja, em reinternamento por DECH, sem febre e não neutropênica. Esta criança apresentou hemocultura negativa, fez uso apenas de voriconazol como terapia antifúngica anti-*Aspergillus*, apresentando melhora clínica. Realizou 16 dosagens de GM, sendo 8 dosagens positivas consecutivas. Teve como doença de base AF e realizou TMO não aparentado compatível 9/10.

De acordo com a tabela 12, quando comparamos o teste de ELISA para GM e a classificação de AIP em possível, provável ou provada, obtemos os resultados de sensibilidade: 100%, especificidade: 91,7%; valor preditivo positivo: 36,8% e valor preditivo negativo: 100%.

A figura 3 representa a evolução do paciente com AIP provada, neste caso, na fase de reinternação com DECH: o paciente apresentou oito dosagens seriadas e consecutivas de GM positiva, a partir do D+117. No D+124 apresentou TC de tórax alterada compatível com AI, presença de massa sólida de 4,7 x 3,5cm em LSE e nódulo em vidro fosco de 1,0cm em LSD. Neste mesmo dia foi iniciada a terapia antifúngica com voriconazol 200mg 12/12hrs. O paciente apresentou biópsia pulmonar positiva para *A. fumigatus* nos dias D+132 e D+143.

**Tabela 1** Definição dos grupos de 152 pacientes consecutivos submetidos ao transplante de células tronco-hematopoiéticas (TCTH), segundo a classificação internacional do *Invasive Fungal Cooperative Group of the European Organization for Research and Treatment of Cancer (EORTC-IFICG)* e do *Mycoses Study Group of the National Institutes of Allergy and Infectious Diseases (NIAID-MSG)*

	<b>Definição</b>	<b>Descrição</b>	<b>Pacientes n (%)</b>
Grupo 1A	Controle negativo	Pacientes com dosagem de GM negativa, sem evidências de AI e com profilaxia anti- <i>Aspergillus</i>	18 (11,8)
Grupo 1B	Controle negativo	Pacientes com dosagem de GM negativa, sem evidências de AI e sem profilaxia anti- <i>Aspergillus</i>	107 (70,3)
Grupo 2A	Falso negativo	Pacientes com dosagem de GM negativa, com evidências de AIP possível e com profilaxia anti- <i>Aspergillus</i>	8 (5,2)
Grupo 2B	Falso negativo	Pacientes com dosagem de GM negativa, com evidências de AI e sem profilaxia anti- <i>Aspergillus</i>	0 (0,0)
Grupo 3A	Falso positivo	Pacientes com dosagem de GM positiva, sem evidências de AI e com profilaxia anti- <i>Aspergillus</i>	7 (4,6)
Grupo 3B	Falso positivo	Pacientes com dosagem de GM positiva, sem evidências de AI e sem profilaxia anti- <i>Aspergillus</i>	5 (3,2)
Grupo 4.1	Controle positivo	Pacientes com dosagem de GM positiva, com evidências de AIP provável, em uso de medicação anti- <i>Aspergillus</i> e sem dados de cultura ou biópsia para <i>Aspergillus</i> ou com cultura de LBA positiva para <i>Aspergillus</i>	6 (3,9)
Grupo 4.2	Controle positivo	Pacientes com dosagem de GM positiva, com evidências de AIP provada, em uso de medicação anti- <i>Aspergillus</i> e biópsia pulmonar positiva para <i>Aspergillus</i>	1(0,6)

**Fonte:** pesquisa realizada no HC UFPR entre 2010 e 2012.

**Tabela 2** Classificação da aspergilose invasiva pulmonar observada em 15 pacientes submetidos ao transplante de células tronco hematopoiéticas (TCTH), segundo os critérios da classificação internacional do *Invasive Fungal Cooperative Group of the European Organization for Research and Treatment of Cancer (EORTC-IFICG)* e do *Mycoses Study Group of the National Institutes of Allergy and Infectious Diseases (NIAID-MSG)*

<b>Aspergilose</b>	<b>Definição</b>	<b>Pacientes n (%)</b>
Possível	1 fator no hospedeiro + 1 evidência clínica consistente	8 (53,3)
Provável	1 fator no hospedeiro + 1 evidência clínica consistente + 1 evidência micológica (GMN)	6 (40,0)
Provada	1 fator no hospedeiro + 1 evidência clínica consistente + 1 evidência micológica (GMN) + biópsia com cultura positiva para <i>Aspergillus</i> ou anátomo-patológico positivo	1 (6,7)
<b>Total</b>		<b>15 (100,0)</b>

**Fonte:** pesquisa realizada no HC UFPR entre 2010 e 2012.

**Tabela 3** Incidência de doença fúngica invasiva (DFI) encontrada entre os 152 pacientes consecutivos submetidos ao transplante de células tronco hematopoiéticas (TCTH) no Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná

Incidência de DFI	Pacientes n (%)	
Aspergilose invasiva pulmonar possível	8	5,26
Aspergilose invasiva pulmonar provável	6	3,95
Aspergilose invasiva pulmonar provada	1	0,66
Fusariose	1	0,66
Acremoniose	2	1,32
Tricosporonose ou Geotricose	1	0,66
Candidemia	4	2,63
Total (n=152)	23	15,13

DFI: doença fúngica invasiva

**Tabela 4** Resultados obtidos no teste de enzimaímunoensadio (ELISA) de sanduíche para detecção de galactomanana (GM) em 152 pacientes consecutivos submetidos ao transplante de células tronco hematopoiéticas (TCTH), distribuídos segundo o resultado da tomografia computadorizada de tórax (TCT)

	Pacientes n (%)		Total n (%)
	TCT positiva	TCT negativa	
Teste ELISA reagente (índice $\geq 0,5$ em 2 amostras consecutivas)	7 (4,60)	12 (7,89)	19 (12,5)
Teste ELISA não Reagente (índice $\leq 0,5$ em 2 amostras consecutivas)	8 (5,26)	125 (82,2)	133 (87,5)
Total	15 (9,86)	137 (90,1)	152 (100)

TCT: tomografia computadorizada de tórax; ELISA: enzimaímunoensaio

**Tabela 5** Características demográficas e clínicas de 152 pacientes consecutivos submetidos ao transplante de células tronco hematopoiéticas (TCTH)

	Pacientes	
<b>Sexo n (%)</b>		
Masculino	80	52,6
Feminino	72	47,3
<b>Idade (anos)</b>		
Variação	1 a 61	
Mediana	33	
Crianças n (%)	74	48,6
Adultos n (%)	78	51,3
<b>Doença n (%)</b>		
Anemia aplástica severa	33	21,7
Anemia de Fanconi	23	15,1
Leucemia linfocítica aguda	22	14,4
Leucemia mielóide aguda	18	11,8
Outras	12	7,8
Linfoma não Hodgkin	7	4,6
Leucemia mielóide crônica	7	4,6
Mielodisplasia	6	3,9
Mieloma múltiplo	6	3,9
Esclerose múltipla	5	3,2
Linfoma Hodgkin	5	3,2
Síndrome de Wiskott Aldrich (SWA)	4	2,6
Imunodeficiência combinada grave (SCID)	3	1,9
<b>Tipo de Transplante n (%)</b>		
Alogênico	129	84,8
Transplante de medula óssea (TMO)	96	63,1
Transplante de células tronco de sangue periférico (TCTSP)	41	26,9
Transplante de sangue de cordão umbilical (TSCU)	15	9,8
Alogênico Aparentado	73	56,5
Alogênico Não aparentado	56	43,4
TMO alogênico aparentado compatível	30	19,7
TCTSP autólogo	23	15,1
TMO alogênico aparentado compatível 10/10	22	14,4
TMO alogênico não aparentado compatível 10/10	13	8,5
TMO alogênico não aparentado compatível 9/10	12	7,8
TMO alogênico não aparentado compatível	11	7,2
TCTSP alogênico aparentado compatível	11	6,5
TMO alogênico aparentado compatível 9/10	10	2,6
TSCU não aparentado compatível 5/6	4	2,6
TCTSP alogênico aparentado compatível 10/10	4	1,9
TSCU não aparentado compatível 6/6	3	1,9
2º TMO alogênico aparentado compatível	3	1,3
TCTSP alogênico não aparentado compatível 9/10	2	1,3

TSCU aparentado compatível 6/6	2	1,3
TSCU não aparentado compatível	2	1,3
TSCU duplo não aparentado compatível	2	0,6
2º TMO alogênico não aparentado compatível 9/10	1	0,6
2º TMO alogênico não aparentado compatível 10/10	1	0,6
TCTSP alogênico não aparentado compatível	1	0,6
TCTSP alogênico não aparentado compatível 10/10	1	0,6
TCTSP alogênico não aparentado compatível 8/10	1	0,6
TSCU não aparentado compatível 4/6	1	0,6
TSCU duplo não aparentado compatível 5/6	1	15,1
Autólogo	23	
<b>Uso de antifúngico anti-<i>Aspergillus</i> n (%)</b>		
Sim		42,1
Profilático	64	51,6
Terapêutico	33	48,4
Não	31	57,8
	88	
Voriconazol		53,1
Micafungina	34	28,1
Anfotericina B	18	14,0
Anidulafungina	9	3,1
Anfotericina lipídica	2	1,5
Caspofungina	1	0,0
Voriconazol + Micafungina	0	15,6
Voriconazol + Anfotericina B	10	9,3
Voriconazol + Anfotericina B + Micafungina	6	3,1
Voriconazol + Anfotericina lipídica + Micafungina	2	1,5
Voriconazol + Anfotericina B + Anidulafungina	1	1,5
Micafungina + Anidulafungina	1	1,5
	1	
<b>Pireracilina + Tazobactam n (%)</b>		
Sim	8	5,2
Não	144	94,7
<b>Doença do enxerto <i>versus</i> hospedeiro (DECH) n (%)</b>		
Não desenvolveram	113	74,3
Leve	15	9,8
Moderada	18	11,8
Severa	6	3,9
<b>Uso de corticosteroide n (%)</b>		
Sim	143	94,1
Não	9	5,9
<b>Tomografia Computadorizada (TC) de Tórax n (%)</b>		
Não realizaram	89	58,5
Normal	48	31,5
Alterada	15	9,8

---

<b>Galactomanana (GM) n (%)</b>		
Negativa	133	87,5
Positiva	19	12,5
<b>Cultura de sítio não estéril n (%)</b>		
Não realizaram	146	96,1
<i>Acremonium</i> spp-secreção nasal	1	0,6
<i>Aspergillus fumigatus</i> -LBA	1	0,6
<i>Candida albicans</i> -LBA	1	0,6
<i>Candida</i> spp-LBA	1	0,6
<i>Fusarium</i> spp-biópsia de pele	1	0,6
<i>Acremonium curvulum</i> -biópsia de lesão	1	0,6
<b>Cultura de sítio estéril n (%)</b>		
Não realizaram	142	93,4
<i>Candida parapsilosis</i> -sangue	2	1,32
<i>Aspergillus</i> spp-biópsia de pulmão	1	0,6
<i>Acremonium</i> spp-sangue + <i>Fusarium</i> spp-líquido sinovial	1	0,6
<i>Fusarium dimerum</i> -sangue	1	0,6
<i>Candida Krusei</i> -sangue	1	0,6
<i>Candida guilhermondii</i> -sangue	1	0,6
<i>Candida tropicalis</i> -líquor	1	0,6
<i>Acremonium curvulum</i> -sangue	1	0,6
<i>Trichosporon asahii</i> ou <i>Geotrichum candidum</i> -sangue	1	0,6
<b>Aspergilose Invasiva (AI) n (%)</b>		
Não desenvolveram	137	90,1
Possível	8	5,2
Provável	6	3,9
Provada	1	0,6
<b>Evolução n (%)</b>		
Melhora clínica-alta	106	69,7
Piora clínica-óbito	46	30,2

---

**Tabela 6** Características demográficas e clínicas dos 125 pacientes classificados como verdadeiros negativos para aspergilose invasiva pulmonar (AIP)

	<b>Pacientes</b>	
<b>Sexo n (%)</b>		
Masculino	67	53,6
Feminino	58	46,4
<b>Idade (anos)</b>		
Variação	1 a 61 anos	
Mediana	33	
Crianças n (%)	59	47,2
Adultos n(%)	66	52,8
<b>Doença n (%)</b>		
Anemia aplástica severa	29	23,2
Anemia de Fanconi	19	15,2
Leucemia linfóide aguda	16	12,8
Leucemia mieloide aguda	11	8,8
Outra	11	8,8
Linfoma não Hodgkin	7	5,6
Mieloma múltiplo	6	4,8
Esclerose múltipla	5	4,0
Linfoma de Hodgkin	5	4,0
Leucemia mieloide crônica	5	4,0
Mielodisplasia	4	3,2
Síndrome de Wiskott Aldrich	4	3,2
Imunodeficiência combinada grave	2	1,6
Leucemia linfóide crônica	1	0,8
<b>Tipo de Transplante n (%)</b>		
Alogênico	102	81,6
Transplante de medula óssea (TMO)	80	64,0
Transplante de células tronco de sangue periférico (TCTSP)	35	28,0
Transplante de sangue de cordão umbilical (TSCU)	10	8,0
Alogênico Aparentado	63	61,7
Alogênico Não aparentado	39	38,2
TMO alogênico aparentado compatível	23	18,4
TCTSP autólogo	23	18,4
TMO alogênico aparentado compatível 10/10	21	16,8
TMO alogênico não aparentado compatível 10/10	12	9,6
TMO alogênico não aparentado compatível	10	8,0
TCTSP alogênico aparentado compatível	8	6,4
TMO alogênico não aparentado compatível 9/10	6	4,8
TMO alogênico aparentado compatível 9/10	4	3,2
TCTSP alogênico aparentado compatível 10/10	3	2,4
TSCU não aparentado compatível 6/6	3	2,4
	2	1,6

2º TMO alogênico aparentado compatível	2	1,6
TSCU aparentado compatível 6/6	2	1,6
TSCU duplo não aparentado compatível	1	0,8
TSCU não aparentado compatível	1	0,8
2º TMO alogênico não aparentado compatível 9/10	1	0,8
2º TMO alogênico não aparentado compatível 10/10	1	0,8
TCTSP alogênico não aparentado compatível 10/10	1	0,8
TSCU duplo não aparentado compatível 5/6	1	0,8
TSCU não aparentado compatível 5/6	23	18,4
Autólogo		
<b>Uso de antifúngico anti-aspergillus n (%)</b>	18	14,4
Sim	107	85,6
Não		
	12	66,6
Voriconazol	4	22,2
Micafungina	2	11,1
Anfotericina B		
<b>Pireracilina + Tazobactam n (%)</b>	6	4,8
Sim	119	95,2
Não		
<b>Doença do enxerto versus hospedeiro (DEH) n (%)</b>		
Não desenvolveram	97	77,6
Moderada	14	11,2
Leve	13	10,4
Grave	1	0,8
<b>Uso de corticosteroide n (%)</b>		
Sim	118	94,4
Não	7	5,60
<b>Tomografia Computadorizada de Tórax (TCT) n (%)</b>		
Não realizaram	85	68,0
Normal	40	32,0
<b>Galactomanana (GM) n (%)</b>		
Negativa	125	100,0
Positiva	0	0,0
<b>Cultura de sítio não estéril n (%)</b>		
Negativa	123	98,4
<i>Candida albicans</i> – líquido bronco-alveolar (LBA)	1	0,8
<i>Candida</i> spp - LBA	1	0,8
<b>Cultura de sítio estéril n (%)</b>		
Negativa	121	96,0

<i>Acremonium</i> spp-sangue + <i>Fusarium</i> spp-líquido sinovial	1	0,8
<i>Candida Krusei</i> -sangue	1	0,8
<i>Trichosporon asahii</i> ou <i>Geotrichum candidum</i> - sangue	1	0,8
<i>Candida parapsilosis</i> – sangue	1	0,8
<i>Candida guilhermondii</i> - sangue		
<b>Aspergilose Invasiva (AI) n (%)</b>		
Não desenvolveram	125	100,0
Possível	0	0,0
Provável	0	0,0
Provada	0	0,0
<b>Evolução n (%)</b>		
Melhora clínica-alta	96	76,8
Piora clínica-óbito	29	23,2
<b>Motivo de uso de antifúngico anti-<i>Aspergillus</i> n (%)</b>		
Profilaxia secundária	6	33,3
Hepatotoxicidade pelo fluconazol	2	11,1
HC positiva para <i>Candida parapsilosis</i>	1	5,55
Criança	1	5,55
Diagnóstico de SCID	1	5,55
LLA-CR1 com citogenética desfavorável	1	5,55
Cultura de articulações positiva para <i>Fusarium</i>	1	5,55
HC positiva para leveduras sugestivas de <i>Candida</i>	1	5,55
Diagnóstico de Síndrome de Wiskott Aldrich	1	5,55
2º transplante	1	5,55
Piora do padrão respiratório	1	5,55
Episódios de choque séptico consecutivos	1	5,55
<b>Total</b>	<b>125</b>	<b>100,0</b>

**Tabela 7** Características demográficas e clínicas dos pacientes classificados como possíveis falso negativos para aspergilose invasiva pulmonar (AIP)

	Pacientes	
<b>Sexo n (%)</b>		
Masculino	1	12,5
Feminino	7	87,5
<b>Idade (anos)</b>		
Varição	16 a 59	
Mediana	37,5	
Adulto n (%)	7	87,5
Criança n (%)	1	12,5
<b>Doença n (%)</b>		
Leucemia mieloide aguda	3	37,5
Leucemia mieloide crônica	2	25,0
Anemia aplástica severa	1	12,5
Leucemia linfóide aguda	1	12,5
Mielodisplasia	1	12,5
<b>Tipo de transplante n (%)</b>		
Alogênico	8	100,0
Transplante de medula óssea (TMO)	3	37,5
Transplante de células tronco de sangue periférico (TCTSP)	5	62,5
Transplante de sangue de cordão umbilical (TSCU)	0	0,0
Alogênico aparentado	2	25,0
Alogênico não aparentado	6	75,0
TMO alogênico não aparentado compatível 9/10	2	25,0
TCTSP alogênico não aparentado compatível 9/10	2	25,0
TMO alogênico aparentado compatível	1	12,5
TCTSP alogênico não aparentado compatível	1	12,5
TCTSP alogênico não aparentado compatível 8/10	1	12,5
TCTSP alogênico aparentado compatível	1	12,5
Autólogo	0	0,0
<b>Uso de antifúngico anti-<i>Aspergillus</i> n (%)</b>		
Sim	8	100,0
Não	0	0,0
Voriconazol	8	100,0
Micafungina	0	0,0
Anfotericina B	0	0,0
Anidulafungina	0	0,0
Anfotericina lipídica	0	0,0
Caspofungina	0	0,0
Voriconazol + Anfotericina B	1	12,5
Voriconazol + Micafungina	1	12,5

<b>Piperacilina + Tazobactam n (%)</b>		
Sim	2	25,0
Não	6	75,0
<b>Doença do enxerto versus hospedeiro (DECH) n (%)</b>		
Não desenvolveram	5	62,5
Severa	2	25,0
Moderada	1	12,5
Leve	0	0,00
<b>Uso de corticosteróides n (%)</b>		
Sim	6	75,0
Não	2	25,0
<b>Tomografia Computadorizada de Tórax (TCT) n (%)</b>		
Alterada	8	100,0
Normal	0	0,00
Não realizaram	0	0,00
Alterada com macronódulo	2	25,0
Alterada com macronódulo e halo em vidro fosco	6	75,0
<b>Galactomanana (GM) n (%)</b>		
Negativa	8	100,0
Positiva	0	0,00
<b>Cultura de sítio não estéril n (%)</b>		
Não realizaram	7	87,5
<i>Fusarium sp</i> – biópsia de pele	1	12,5
<b>Cultura de sítio estéril n (%)</b>		
Não realizaram	8	100,0
<b>Quadro clínico n (%)</b>		
Neutropenia febril	5	62,5
Sintomas pulmonares (tosse)	1	12,5
Sintomas pulmonares (hemoptise)	1	12,5
Assintomático (DECH)	1	12,5
<b>Neutropenia n (%)</b>		
Sim	7	87,5
Não	1	12,5
<b>Febre n (%)</b>		
Sim	7	87,5
Não	1	12,5
<b>Aspergilose Invasiva (AI) n (%)</b>		
Possível	8	100,0
Provável	0	0,0

Provada	0	0,0
Não desenvolveram	0	0,0
<b>Evolução n (%)</b>		
Melhora clínica - alta	2	25,0
Piora clínica - óbito	6	75,0
<b>Causada do óbito n (%)</b>		
DECH	2	33,3
Choque cardiogênico	1	16,6
Adenovirose disseminada	1	16,6
Choque séptico com foco em aspergilose pulmonar	1	16,6
Aspergilose pulmonar provável	1	16,6
<b>Total</b>	<b>8</b>	<b>100,0</b>

\*\*Os pacientes classificados como falso-negativos sem uso de antifúngico anti-*Aspergillus* não foram tabulados, pois seu n=zero.

**Tabela 8** Dados clínicos e laboratoriais dos 8 pacientes classificados como possíveis falso negativos para aspergilose invasiva pulmonar (AIP)

ID	1	2	3	4	5	6	7	8
<b>Adulto/ Criança</b>	Criança	Adulto	Adulto	Adulto	Adulto	Adulto	Adulto	Adulto
<b>Sexo</b>	Fem.	Fem.	Fem.	Fem.	Fem.	Fem.	Masc.	Fem.
<b>Doença de base</b>	AAS	LMC	LMA	LMC	LMA	MDS	LMA	LLA
<b>Tipo de TMO</b>	TMO aparentado compatível	TCTSP não aparentado compatível	TCTSP não aparentado compatível 9/10	TCTSP não aparentado compatível 8/10	TCTSP não aparentado compatível 9/10	TCTSP aparentado compatível	TMO não aparentado compatível 9/10	TMO não aparentado compatível 9/10
<b>Quadro clínico</b>	Neutropenia febril	Neutropenia febril	Sintomas pulmonares: tosse produtiva	Assintomática, DECH	Neutropenia febril	Neutropenia febril	Sintomas pulmonares: hemoptise	Neutropenia febril
<b>GM * N1</b>	7	9	7	18	8	11	12	13
<b>GM * N2</b>	0	0	0	0	0	0	0	0
<b>N1 + N2</b>	7	9	7	18	8	11	12	13
<b>Hemocultura</b>	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa
<b>Tomografia de Tórax</b>	Alterada 04.10.10: TC tórax com 2 nódulos maiores que 2 cm de diâmetro em LID	Alterada 14.10.11: TC tórax com nódulo de 2cm em LSE sem halo em vidro fosco	Alterada 30.12.11: múltiplos nódulos centro-lobulares de 2,1cm com halo em vidro fosco	Alterada 14.03.12: nódulo 1x2cm com halo em vidro fosco em LS direito	Alterada 20.03.12: 2 nódulos 2x2cm em base do pulmão direito com halo em vidro fosco	Alterada 16.11.10: 3 nódulos com halo em vidro fosco em LIE 0,8cm, LMD 1,5cm e LSD 1,7cm	Alterada 02.12.10: nódulos com halo em vidro fosco em LID e LIE, o maior com 3,1x2,9cm	Alterada 06.11.11: nódulo com halo em vidro fosco em LSE com 1,8x1,7cm
<b>D pós TMO com tomo alterada</b>	D+3	D+14	D+16	D+60	D+15	D+12	D+26	D+10
<b>Antifúngico terapêutico</b>	Voriconazol	Voriconazol	Voriconazol e Anfotericina B	Voriconazol e Micafungina (Posaconazol)	Voriconazol	Voriconazol	Voriconazol	Voriconazol
<b>D pós TMO que iniciou uso de AF anti-Aspergillus</b>	D+3	D+17	D+16 e D+18	D+62 e D+176	D+15	D+13	D+26	D+13
<b>Evolução</b>	Melhora clínica: alta em 22.10.10	Melhora clínica: alta em 27.10.11	Piora clínica: óbito em 08.01.12	Piora clínica: óbito em 24.05.12	Piora clínica: óbito em 24.05.12	Piora clínica: óbito em 02.01.11	Piora clínica: óbito em 17.01.11	Piora clínica: óbito em 11.12.11
<b>Causa do óbito</b>	no	no	Choque cardiogênico	DECH: enterorragia em grande volume além de múltiplas infecções: CMV, fungo ou bacteriana?	Adenovirose disseminada e TC de crânio do AVC extenso	DECH pele e diarreia? Infecção? Hipotermia e hipotensão	Rejeição do enxerto ou falha, sepse, pneumonia não específica, agente infeccioso não identificado	Falha de pega primária, aspergilose pulmonar provável, hipertensão intracraniana, crises convulsivas, família não autorizou necrópsia
<b>Outras infecções</b>	CMV 8.11.10	Fusarium bx pele, CMV 7.11.11	Enterococo faecium HC 02.01.12, aspergilose?	Klebsiela pneumoniae UC 18.02.12 e CMV 23.02.12	Escherichia coli UC 13.04.12 e CMV 09.04.12	Estafilococo coagulase - em sec.catéter 26.11.10; Klebsiela pneumoniae - ESBL sec.retal 22.11.10; Acinetobacter baumannii 22.12.10; CMV 22.12.10; provável aspergilose pulmonar	no	no

**Tabela 9** Características demográficas e clínicas dos pacientes classificados como possíveis falso-positivos para aspergilose invasiva pulmonar (AIP)

	<b>Pacientes</b>	
<b>Sexo n (%)</b>		
Masculino / Feminino	8/4	66,7/33,3
<b>Idade (anos)</b>	1 a 55	
Variação	30	
Mediana		
Adulto n (%)	9	75,0
Criança n (%)	3	25,0
<b>Doença n (%)</b>		
Leucemia linfóide aguda	3	25,0
Leucemia mielóide aguda	3	25,0
Anemia aplástica severa	2	16,6
Anemia de Fanconi	2	16,6
Síndrome combinada de imunodeficiência	1	8,33
Outra	1	8,33
<b>Tipo de transplante n (%)</b>		
Alogênico	12	100,0
Transplante de medula óssea (TMO)	8	66,7
Transplante de sangue de cordão umbilical (TSCU)	3	25,0
Transplante de célula tronco de sangue periférico (TCTSP)	1	8,3
Alogênico aparentado	6	50,0
Alogênico não aparentado	6	50,0
TMO alogênico aparentado compatível	4	33,3
TSCU não aparentado compatível 5/6	2	16,7
TCTSP alogênico aparentado compatível	1	8,3
TMO alogênico não aparentado compatível	1	8,3
TMO alogênico aparentado compatível 10/10	1	8,3
TMO alogênico não aparentado compatível 10/10	1	8,3
TMO alogênico não aparentado compatível 9/10	1	8,3
Autólogo	0	0,0
<b>Uso de antifúngico anti-aspergillus n (%)</b>		
Sim / Não	7 / 5	58,3/41,7
Micafungina	2	28,7
Voriconazol	1	14,3
Anfotericina B	0	0,0
Anidulafungina	0	0,0
Anfotericina lipídica	0	0,0
Caspofungina	0	0,0
Voriconazol + Anfotericina B	1	14,3
Voriconazol + Micafungina	1	14,3
Voriconazol + Anfotericina B + Micafungina	1	14,3

Voriconazol + Anfotericina Lipídica + Micafungina	1	14,3
<b>Piperacilina + Tazobactam n (%)</b>		
Sim / Não	0 / 12	0,0 / 100,0
<b>Reação enxerto versus hospedeiro n (%)</b>		
Não desenvolveram	8	66,7
Moderada	2	16,7
Leve	1	8,3
<b>Uso de corticosteróides n (%)</b>		
Sim / Não	12 / 0	100,0 / 0,0
<b>Tomografia Computadorizada de Tórax n (%)</b>		
Normal	8	66,7
Não realizaram	4	33,3
Alterada	0	0,0
<b>Galactomanana n (%)</b>		
Positiva	12	100,0
Negativa	0	0,0
Mediana da quantidade de GMN dosada por paciente	10	
Valor médio positivo dosado (DO)	1,388	
<b>Cultura de sítio não estéril n (%)</b>		
Não realizaram	10	83,3
<i>Acromonium</i> spp– secreção nasal	1	8,3
<i>Acromonium curvulum</i> – biópsia de lesão de pele	1	8,3
<b>Cultura de sítio estéril n (%)</b>		
Não realizaram	8	66,7
<i>Acromonium curvulum</i> – sangue	1	8,3
<i>Candida tropicalis</i> – líquido	1	8,3
<i>Fusarium dimerum</i> – sangue	1	8,3
<i>Candida parapsilosis</i> – sangue	1	8,3

**Tabela 10** Dados clínicos e laboratoriais dos 12 pacientes classificados como possíveis falso positivos para aspergilose invasiva pulmonar (AIP)

ID	1	2	3	4	5	6
<b>Adulto/ Criança</b>	Adulto	Criança	Criança	Criança	Adulto	Criança
<b>Sexo</b>	Masc.	Masc.	Fem.	Fem.	Masc.	Masc.
<b>Doença de base</b>	LMA	LLA	LLA	SCID	LMA	outra
<b>Tipo de TMO</b>	TCTSP alogênico aparentado compatível	TSCU não aparentado compatível 5/6	TSCU não aparentado compatível 5/6	TMO não aparentado compatível 10/10	TMO alogênico aparentado compatível	TSCU não aparentado compatível
<b>Quadro clínico</b>	D+33 com quadro de infecção fúngica disseminada (sepse pelo fungo <i>Acremonium curvulum</i> )	Meningite por <i>Candida tropicalis</i> em 08.11.11	Neutropenia febril	Neutropenia febril e HCs positivas para <i>Fusarium</i>	Neutropenia febril	Neutropenia febril
<b>GM* N1</b>	6	14	16	0	8	8
<b>GM* N2</b>	2 e 3	3 e 2	2 e 3	10	2	5
<b>D pós TMO com GM*</b>	D+19 e D+21; D+28, D+33 e D+35	D+34, D+35 e D+40; D+60 e D+62	D+8 e D+10; D+57, D+59 e D+64	D-31 ao D+13	D+14 e D+15	D+33 ao D+44
<b>N1 + N2</b>	11	19	21	10	10	13
<b>Hemocultura</b>	<i>Enterobacter cloacae</i>	Negativa	HC <i>Candida</i> 20,22, 26 e 28/06/11	18.08.10 e 16.09.10 <i>Fusarium</i>	Negativa	Negativa
<b>Tomografia de Tórax</b>	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal
<b>Antifúngico Terapêutico</b>	Voriconazol	Micafungina, Anfotericina B e Voriconazol	Micafungina	Voriconazol e Anfotericina B	Voriconazol e Micafungina	Micafungina, Voriconazol, Anfotericina Lipídica
<b>D pós TMO que iniciou uso de AF anti-Aspergillus</b>	D-15	D-7, D-4 e D+11	D-6	D-23 e D+11	D+5 e D+17	D-17, D+9 e D+27
<b>Evolução</b>	Piora clínica: óbito em 04.09.11	Piora clínica: óbito em 13.02.12	Piora clínica: óbito em 07.08.11	Piora clínica: óbito em 25.09.10	Melhora clínica: alta em 04.07.11	Melhora clínica: alta em 03.05.12
<b>Causa do óbito</b>	Sepse por fungo causando disfunção múltipla de órgãos e choque séptico refratário	Reativação de meningite por <i>Candida</i> , septicemia fúngica com possível infiltração em SNC	DECH, parada cardiorespiratória	Desnaturação e hipotensão arterial	no	no

ID	7	8	9	10	11	12
<b>Adulto/ Criança</b>	Criança	Adulto	Criança	Criança	Criança	Criança
<b>Sexo</b>	Masc.	Masc.	Masc.	Fem.	Masc.	Fem.
<b>Doença de base</b>	AF	LMA	AAS	AAS	AF	LLA
<b>Tipo de TMO</b>	TMO não aparentado compatível	TMO alogênico aparentado compatível	TMO aparentado compatível 10/10	TMO não aparentado compatível 9/10	TMO alogênico aparentado compatível	TMO alogênico aparentado compatível
<b>Quadro clínico</b>	Neutropenia febril	Neutropenia febril	Assintomático	Assintomático	Neutropenia febril	Neutropenia febril
<b>GM<sup>-</sup> N1</b>	5	8	7	6	4	4
<b>GM<sup>+</sup> N2</b>	2	2	2	2	2	2
<b>D pós TMO com GM<sup>+</sup></b>	D+17 e D+27	D+4 e D+9	D+4 e D+9	D+6 e D+12	D zero e D+2	D+19 e D+21
<b>N1 + N2</b>	7	10	9	8	6	6
<b>Hemocultura</b>	Negativa	Stafilococo coagulase positiva	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa
<b>Tomografia de Tórax</b>	Não realizou	Não realizou	Não realizou	Não realizou	Normal	Normal
<b>Antifúngico Terapêutico</b>	Micafungina	Não utilizou	Não utilizou	Não utilizou	Não utilizou	Não utilizou
<b>D pós TMO que iniciou uso de AF anti-Aspergillus</b>	D+2	Não utilizou	Não utilizou	Não utilizou	Não utilizou	Não utilizou
<b>Evolução</b>	Melhora clínica: alta em 07.10.11	Piora clínica: óbito em 06.05.11	Melhora clínica: alta em 22.06.11	Melhora clínica: alta em 29.08.10	Melhora clínica: alta em 12.10.10	Melhora clínica: alta em 08.01.11
<b>Causa do óbito</b>	no	Choque refratário	no	no	no	no

**Legenda:** \*\* GM<sup>-</sup> (negativo), GM<sup>+</sup> (positivo)

**Tabela 11** Características demográficas e clínicas dos pacientes classificados como verdadeiros positivos para aspergilose invasiva pulmonar (AIP)

	<b>Pacientes</b>	
<b>Sexo ( %)</b>		
Masculino/Feminino	4/3	57,1/42,9
<b>Idade (anos)</b>		
Variação	6 a 55	
Mediana	30,5	
Adulto n (%)	5	71,4
Criança n (%)	2	28,6
<b>Doença n (%)</b>		
Anemia de Fanconi	2	28,6
Leucemia linfóide aguda	2	28,6
Leucemia mielóide aguda	1	14,3
Anemia aplástica severa	1	14,3
Mielodisplasia	1	14,3
<b>Tipo de transplante n (%)</b>		
Alogênico	7	100,0
Transplante de medula óssea (TMO)	5	71,4
Transplante de sangue de cordão umbilical (TSCU)	2	28,6
Transplante de célula tronco de sangue periférico (TCTSP)	0	0,0
Alogênico não aparentado	5	71,4
Alogênico aparentado	2	28,6
TMO alogênico não aparentado compatível 9/10	3	42,9
TMO alogênico aparentado compatível	2	28,6
TSCU não aparentado compatível 4/6	1	14,3
TSCU não aparentado compatível 5/6	1	14,3
Autólogo	0	0,0
<b>Uso de antifúngico anti-<i>Aspergillus</i> n (%)</b>		
Sim / Não	7 / 0	100,0 / 0,0
Voriconazol	4	57,1
Micafungina	0	0,0
Anfotericina B	0	0,0
Anidulafungina	0	0,0
Anfotericina lipídica	0	0,0
Caspofungina	0	0,0
Micafungina + Anidulafungina	1	14,2
Voriconazol + Anfotericina B + Anidulafungina	1	14,2
Vriconazol + Anfotericina B + Micafungina	1	14,2
<b>Piperacilina + Tazobactam n (%)</b>		
Sim / Não	7 / 0	100,0 / 0,0

<b>Reação enxerto versus hospedeiro n (%)</b>		
Não desenvolveram	3	42,9
Severa	2	28,6
Moderada	1	14,2
Leve	1	14,2
<b>Uso de corticosteróides n (%)</b>		
Sim / Não	7 / 0	100,0 / 0,0
<b>Tomografia Computadorizada de Tórax n (%)</b>		
Alterada	7	100,0
Normal	0	0,0
Não realizaram	0	0,0
Alterada com macronódulo e halo em vidro fosco	7	100,0
Alterada com macronódulo	0	0,0
<b>Galactomanana n (%)</b>		
Positiva	7	100,0
Negativa	0	0,0
Mediana da quantidade de galactomanana dosada por paciente	11	
Valor médio positivo dosado (densidade óptica)	1,229	
<b>Cultura de sítio não estéril n (%)</b>		
Negativa	6	85,7
<i>Aspergillus fumigatus</i> – lavado bronco-alveolar	1	14,3
<b>Cultura de sítio estéril n (%)</b>		
Negativa	6	85,7
<i>Aspergillus</i> spp– biópsia pulmonar	1	14,3
<b>Quadro clínico n (%)</b>		
Neutropenia febril	3	42,9
DECH, eupneica e dor pleurítica	1	14,3
DECH agudo em uso de corticosteróide	1	14,3
Pneumonia fúngica em tratamento antes do TMO	1	14,3
Lesões petequiais em polpas digitais, tosse e embolia séptica	1	14,3
<b>Neutropenia n (%)</b>		
Sim / Não	6 / 1	85,7 / 14,3
<b>Febre n (%)</b>		
Sim / Não	6 / 1	85,7 / 14,3
<b>Aspergilose Invasiva n (%)</b>		
Provável	6	85,7
Provada	1	14,3

Possível	0	0,00
Não desenvolveram	0	0,00

**Evolução n (%)**

Piora clínica - óbito	4	57,1
Melhora clínica - alta	3	42,9

**Causada do óbito n (%)**

Sepse multifatorial fúngica e viral disseminada	1	14,3
Hemorragia pulmonar + infecção viral + DECH intestino e fígado	1	14,3
Pneumonia fúngica + bacteriana, falência pulmonar	1	14,3
Insuficiência respiratória, infecção fúngica e trombose de veia porta	1	14,3

---

<b>Total</b>	<b>7</b>	<b>100,0</b>
--------------	----------	--------------

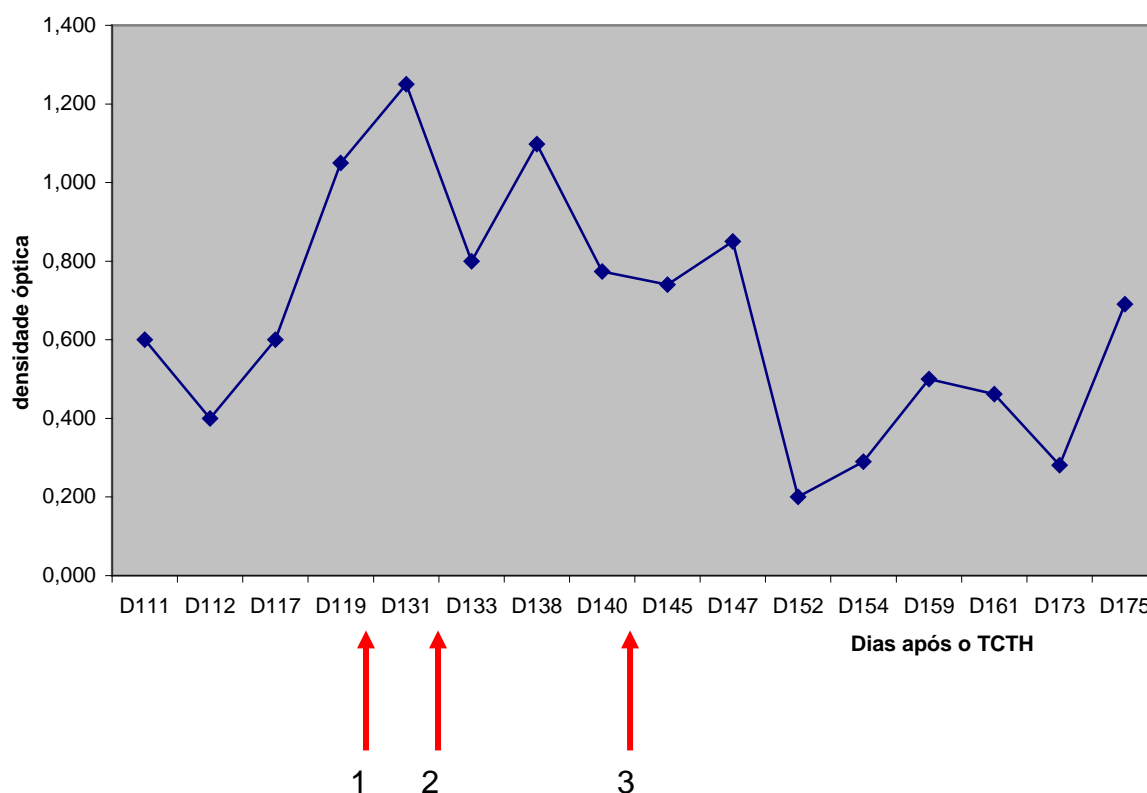
---

DECH: doença do enxerto contra o hospedeiro

**Tabela 12** Positividade da detecção de galactomanana (GM) por ELISA em 152 pacientes, de acordo com o diagnóstico de aspergilose invasiva pulmonar (AIP) provada, provável, possível e negativa

	AI provada e provável n (%)	AI possível ou negativa n (%)	Total n (%)
Teste ELISA positivo	7 (36,8)	12 (63,2)	19 (12,5)
Teste ELISA negativo	0 (0,00)	133 (100,0)	133 (100,0)
<b>Total</b>	<b>7 (4,60)</b>	<b>145 (95,4)</b>	<b>152 (100,0)</b>

AI: Aspergilose invasiva; ELISA: Enzima-imunoenensaio tipo sanduíche para detecção de antígeno galactomanana; Sensibilidade: 100,0%; Especificidade: 91,7%; Valor preditivo positivo: 36,8%; valor preditivo negativo: 100,0%



**Figura 3** - Valores de densidade óptica obtidos no teste de ELISA para detecção de galactomanana (GM) em amostras de soro seriadas obtidas de um paciente submetido a TCTH com diagnóstico de aspergilose invasiva pulmonar (AIP) provada.

1: D+124: Tomografia computadorizada de tórax compatível com AI e início da terapia com voriconazol 200mg 12/12 hrs;

2: D+132: Biópsia pulmonar positiva para *Aspergillus* spp;

3: D+143: Biópsia pulmonar positiva para *Aspergillus* spp.

**Fonte:** pesquisa realizada no HC UFPR entre 2010 e 2012.

## 6 DISCUSSÃO

Os resultados obtidos nesta pesquisa demonstram que dos 200 pacientes avaliados, no período deste estudo, 48 (24,0%) foram excluídos devido a falta de registros ou condições de análise; destes 48 pacientes, 35 apresentavam quadro de neutropenia febril, com uso de antifúngico anti-*Aspergillus* e sem TC de tórax disponível ou alterada, não permitindo sua correlação com a GM, objetivo principal deste estudo. Os outros critérios utilizados para exclusão foram: pacientes que foram a óbito antes do transplante, pacientes cujas TC de tórax evolutivas foram sugestivas de outro diagnóstico que não doença fúngica, pacientes que não tiveram a definição do diagnóstico clínico e por problemas técnicos.

Dos 152 pacientes incluídos no estudo, o sexo masculino foi mais frequente em relação ao sexo feminino e a idade variou de 1 a 61 anos (mediana de 33 anos), dados semelhantes aos obtidos em estudo prévio (BHAYAT; DAS-GUPTA; HUBBARD, 2010).

Ao analisarmos a positividade da GM em cada grupo de pacientes inseridos no estudo, os resultados da GM ficam mais significativos, como a elevada sensibilidade entre os pacientes com AIP provada e provável e o elevado VPN nos pacientes com AIP negativa. Segundo os resultados obtidos, 125 pacientes (81,2%) dos 152 analisados na íntegra, foram considerados como verdadeiros negativos para AIP, ou seja, apresentaram valores seriados de GM negativas e sem indícios de AIP. Este resultado pode ser considerado significativo para este estudo devido ao alto VPN mostrando-se um excelente teste para excluir o diagnóstico de AIP, estando de acordo com dados descritos previamente (NOUER *et al*, 2011).

Entre os sete pacientes considerados como verdadeiros positivos para AIP (AIP provada ou provável), apenas um paciente (14,3%) foi diagnosticado com AIP provada, ou seja, apresentou a biópsia pulmonar positiva para *Aspergillus* spp. sendo habitualmente este exame considerado padrão-ouro para o diagnóstico de AIP. Porém, neste estudo, a grande maioria não foi submetida à biópsia da lesão pulmonar suspeita devido às justificativas já citadas. Outros seis

pacientes (85,7%) apresentaram o diagnóstico de AIP provável, e um deles apresentou resultado de cultura de LBA positiva para *A. fumigatus*, estando classificado como AIP provável, pois LBA trata-se de um líquido biológico não estéril. A elevada sensibilidade da detecção da GM no soro dos pacientes com AIP provada e provável proporciona uma avaliação precoce do diagnóstico de AIP com uma resposta terapêutica mais objetiva, uma vez que os critérios atuais para avaliar a resposta ao tratamento de AIP dependem de parâmetros subjetivos.

Segundo um estudo de Jarque *et al* (2003), a detecção de GM é considerada útil para o diagnóstico precoce e seguimento de AIP. No período de fevereiro a setembro de 2002, estes autores analisaram 760 amostras obtidas de 100 pacientes. Destes, 11 pacientes (11%) obtiveram resultado positivo (índice > 1,5) em dois testes consecutivos e foram considerados como GM positiva. Por outro lado, 12 pacientes (12%) foram diagnosticados com AIP provada ou provável, demonstrando uma sensibilidade de 66,6%, especificidade de 95,5%, VPP de 72,7% e VPN de 96,7%. Outros dois grupos de autores (PAZOS e DEL PALACIO, 2003; PAZOS; PONTÓN; DEL PALACIO, 2005) relataram, respectivamente, sensibilidade de 73% e 66,7% especificidade de 96% e 98%, VPP de 73% e 98% e VPN de 66,7% e 98%.

Em um estudo (PAZOS e DEL PALACIO, 2003), o diagnóstico de AIP em doentes neutropênicos mostrou-se difícil e tardio, já que os procedimentos não invasivos carecem de sensibilidade e especificidade. De acordo com este estudo, 154 pacientes neutropênicos graves obtiveram dosagens seriadas de GM no soro para o diagnóstico de AIP. A sensibilidade global da detecção da GM no soro observada foi de 73%. A detecção de GM foi sempre positiva em pacientes com diagnóstico de AIP provada, sendo a sensibilidade deste grupo de 100%. Mas é importante citar que nos grupos de AIP provável e possível, as cifras oscilaram entre 67% e 33%, respectivamente. Este mesmo autor cita a possibilidade de em 36% dos pacientes com AIP obterem anticorpos anti-*Aspergillus*, que diminuem a sensibilidade da técnica imunoenzimática, impedindo que a dosagem de GM seja positiva. Isto é mais frequente, claro, em pacientes com um grau de imunossupressão menor que outros. A especificidade da detecção da GM neste caso foi de 96%, pois apenas três pacientes apresentaram resultado falso-positivo. A natureza destes resultados falso-positivos não pode ser claramente

estabelecida, já que são múltiplas as causas que podem interferir em sua determinação, como: uso de hemoderivados, colonização fúngica intestinal, administração de ciclofosfamida, presença de exoantígenos bacterianos em episódios de bacteremia, ingestão de alimentos que contêm cereais e administração de tratamento antifúngico que pode haver inibido a infecção.

O teste para detecção da GM (Platelia™ *Aspergillus* EIA – Bio Rad) permite a detecção precoce desse antígeno liberado da parede da hifa do *Aspergillus* spp. em crescimento nos tecidos. É aprovado para uso no soro de pacientes neutropênicos sendo também utilizado em outras situações clínicas como usuários de corticoide, neste caso com menor sensibilidade, e em outros fluídos biológicos como LBA, incrementando-se a sensibilidade. O VPN apresenta-se maior que 90% no diagnóstico de AIP, enquanto o VPP costuma ser baixo a moderado. Existem diversas causas de resultados falso-positivos, tais como pelo uso de antibióticos a base de fungos (*beta* lactâmicos), mucosite, diálise, hemólise e por infecção por outros fungos que também produzem a GM (XAVIER, et al, 2009). Entre os testes que envolvem técnicas sorológicas, o de ELISA tipo sanduíche duplo (Platelia™ *Aspergillus* EIA – Bio Rad) que é capaz de detectar a GM como principal constituinte da parede celular do fungo, é considerado de alta especificidade (CASTAGNOLA et al, 2010).

A avaliação do teste ELISA para GM em pacientes imunossuprimidos e submetidos ao TCTH pode melhorar a eficiência e a rapidez no diagnóstico de AIP, diminuindo a taxa de morbidade de mortalidade destes pacientes, sendo a segunda infecção fúngica mais comum em pacientes neutropênicos e a principal causa de óbito por infecção em pacientes submetidos ao TCTH. Segundo Nucci et al (2012), estes pacientes são vulneráveis a infecções fúngicas, especialmente por *Aspergillus sp*, pela simples contaminação do ar do ambiente (sistemas de refrigeração, obras e reformas próximas ao hospital). Segundo estes autores ainda, o paciente neutropênico tem particularidades na abordagem diagnóstica e terapêutica por dois motivos: os sinais e sintomas de infecção são discretos ou muitas vezes inexistentes e as infecções podem ser fatais. Sendo assim, uma prática frequente nestes pacientes é a instituição da terapia empírica. A detecção da GM representa um importante teste diagnóstico para a triagem de pacientes com suspeita de AIP, uma vez que quando monitorada de forma seriada, antecipa

o diagnóstico da AIP em um intervalo de 6 a 14 dias em pacientes neutropênicos (SINGH e PATERSON, 2005).

O TCTH é um tratamento que beneficia um grande número de pacientes com câncer ou outras doenças. Da população estudada neste trabalho, um número significativo (21,7%) apresentou diagnóstico de doenças não-malignas, destacando-se AAS, seguida de AF (15,1%). A população representada neste estudo é de pacientes submetidos, a maioria, 84,9%, ao TMO do tipo alogênico, sendo, 15,1% representados pelos pacientes que foram submetidos à modalidade de TMO autólogo. Os receptores de TCTH tanto autólogo como os alogênicos apresentam riscos para desenvolver AIP, mas a população alogênica possui maior risco, pois está associada com a DECH (HERBRECHT *et al*, 2002). De acordo com Singh e Paterson (2005), a AIP ocorre em 8-15% dos pacientes submetidos ao TCTH alogênico. No presente estudo, a AIP ocorreu em 9,9% dos pacientes, corroborando com os dados já descritos na literatura, sendo 5,3% diagnosticados como AIP possível, 3,9% como AIP provável e apenas um caso (0,7%) como AIP provada, ou seja, sete pacientes (4,6%) foram considerados verdadeiros positivos. Considerando-se que, à luz dos conceitos aceitos internacionalmente, somente AIP provável e provada são considerados como AIP, podemos dizer que a incidência desta doença fúngica no nosso estudo foi de 4,6%.

Um estudo (FREITAS *et al*, 2009) descreve os achados mais frequentes em TC de tórax observados em seis pacientes neutropênicos ou imunossuprimidos internados em uma enfermaria TMO no Hospital São Paulo-SP entre abril e outubro de 2007 e diagnosticados com AIP durante um surto intra-hospitalar. Estes autores comprovaram o diagnóstico de AIP por exames anatomopatológicos em dois pacientes (33,3%), por cultura em três pacientes (50,0%) ou por resposta terapêutica adequada em um paciente (16,7%). Foram avaliadas imagens tomográficas de três homens e três mulheres com idade variando de 22 a 58 anos. A presença de nódulos (5 pacientes) e áreas de consolidação (2 pacientes) foram os achados tomográficos mais comuns. Os nódulos eram mais frequentemente múltiplos (3 pacientes), de contornos irregulares (3 pacientes) e com sinal do halo (3 pacientes). Os autores concluíram que consolidação, nódulos, opacidade em vidro fosco, derrame pleural e

espessamentos septais foram os principais achados tomográficos. O sinal do halo, classicamente descrito na literatura para esta condição, foi um achado frequente quando associado a nódulos (67,0%).

No presente estudo, nos pacientes considerados possíveis falso-negativos para AIP, a presença de macronódulo ocorreu em dois pacientes (25,0%) enquanto que a presença de macronódulos com sinal do halo em vidro fosco ocorreu em seis pacientes (75,0%). Importante destacar que como estes pacientes não foram submetidos à biopsia da lesão pulmonar, nem diagnóstico de outra infecção não-fúngica foi estabelecido, é possível que a causa desses nódulos pulmonares seja AIP ou não. Por isso, chamamos de “possíveis falso-negativos”. Nos pacientes considerados verdadeiros positivos para AIP, a presença de macronódulos associada ao sinal do halo em vidro fosco ocorreu em sete pacientes (100,0%).

Oito pacientes (5,3%) do presente estudo foram considerados como possíveis falso-negativos para GM, pois apresentaram alguma evidência clínica da doença e TC de tórax positivo para AIP, porém, as dosagens seriadas de GM foram negativas. Estes possíveis resultados falso-negativos podem ser atribuídos, além dos fatores citados anteriormente, ao fato da GM estar presente em pequenas quantidades na corrente sanguínea e ser rapidamente eliminada pelo organismo, por isso a necessidade de testes com maior sensibilidade e análise de amostras seriadas (MENDES-GIANNINI; MELHEM; ALMEIDA, 2013).

Segundo Xavier *et al* (2009), a taxa de resultados falso-negativos no teste de ELISA para detecção de GM oscila entre 8,0 e 10,0% e está relacionada a quadros de encapsulação da infecção, formação de imunocomplexos por anticorpos anti-*Aspergillus* (em pacientes com menor imunossupressão), ou exposição a agentes antifúngicos (como profilaxia). A formação de anticorpos anti-*Aspergillus* pode ocorrer antes do estado de imunossupressão, contribuindo para o resultado falso negativo.

Já a frequência de possíveis resultados falso-positivos usualmente varia entre 8,0 a 14,0%, sendo as principais causas o uso de agentes quimioterápicos citotóxicos (promovendo danos às mucosas intestinais), DECH, anticorpos autorreativos, infecção por outros fungos como os do gênero *Penicillium* e *Paecilomyces*, transfusões prévias de hemoderivados, antibióticos de origem

fúngica (piperacilina-tazobactam, amoxicilina com ácido clavulânico) e à contaminação no laboratório. Apesar de ser um teste extremamente específico, possui uma sensibilidade muito variada, com taxas entre 1,0 e 100,0% (BARNES e MARR, 2006). A maior razão para essa variabilidade está atribuída ao valor de corte utilizado no teste, o qual determina a positividade das amostras. Utilizando-se um valor de corte entre 1,0 e 1,5, a sensibilidade da GM no LBA variou entre 85 e 100% na maioria dos estudos (VERWEIJ, 1995; BECKER *et al.*, 2003). Outro fator de extrema importância na eficácia dessa técnica é a prevalência da doença em uma determinada população, o que interfere no VPP encontrado. Conseqüentemente, o teste para a detecção de antígeno aspergilar deve ser reservado para pacientes de alto risco, nos quais o custo-benefício é compensador (BARNES e MARR, 2006).

Vale ressaltar como mais importante neste estudo, os casos de pacientes considerados possíveis falso-positivos para a GM que representam 7,9% (12/152) dos pacientes analisados. Foram considerados possíveis falso-positivos porque apresentaram duas ou mais dosagens consecutivas de GM positiva sem qualquer evidência de AIP. Além dos fatores citados anteriormente, segundo Machetti e Viscoli (2006), resultados falso-positivos podem ser atribuídos a outros micro-organismos, alimentação, antibióticos, DECH e condições fisiológicas particulares de prematuros. Mostra-se, portanto, obrigatório saber exatamente todas essas possibilidades de interação, a fim de avaliar adequadamente os resultados da GM e aplicá-la corretamente no diagnóstico e prática clínica de AIP. Neste estudo, a maioria dos pacientes considerados possíveis falso-positivos é criança (75,0%). Segundo Guigue, Menotti e Ribaud (2013), uma mulher de 42 anos que recebia um TMO não aparentado compatível para síndrome mieloproliferativa, realizou a dosagem de GM duas vezes na semana a partir da data do transplante e manteve resultados negativos ( $DO < 0,5$ ) durante os 30 dias após o transplante e os valores aumentaram para 2,22 e 3,01, nos dias 32 e 34, respectivamente. Naquele momento, a paciente estava afebril, sem sintomas pulmonares e apresentou grave DECH gastrointestinal. A TC de tórax apresentou-se normal. Culturas de amostras de escarro e PCR no sangue para detecção de *Aspergillus* spp. foram negativas. O antifúngico voriconazol foi iniciado no dia 35, pois não se conheciam as causas de falsa positividade para GM. Entretanto, a paciente

começou a consumir três ou quatro tipos de sorvetes por dia a partir do dia 29 após o transplante. Quatro sorvetes do mesmo lote foram testados para GM e todos foram positivos em várias diluições (índice de diluição 1:4). A paciente descontinuou o consumo dos sorvetes no dia 37 e o índice da GM retornou ao negativo em sete dias. A terapia com voriconazol foi descontinuada no dia 53 e a paciente foi a óbito pela DECH e infecção por CMV no dia 141, sem evidências de aspergilose. No presente estudo a avaliação da parte alimentar e nutricional dos pacientes não foi avaliada.

Em relação às culturas avaliadas no presente estudo, cinco pacientes (4,0%) do grupo verdadeiro negativo desenvolveram positividade para diferentes fungos. Destes, três pacientes (60,0%) apresentaram candidemia, sendo uma hemocultura positiva para *Candida parapsilosis*, uma hemocultura positiva para *Candida krusei* e outra hemocultura positiva para *Candida guilhermondii*. Outro paciente desenvolveu uma hemocultura positiva para *Acremonium* spp. e o outro, uma hemocultura positiva para *Trichosporon* spp. ou *Geotrichum* spp.. Este grupo de pacientes não obteve dosagens de GM positivas e apesar do relato de possíveis reações cruzadas com espécies de *Geotrichum* spp., segundo dados do fabricante do kit de ELISA, neste estudo isso não foi demonstrado.

No grupo de pacientes considerados possíveis falso-positivos para AIP, quatro pacientes de um total de 12, (33,3%), apresentaram culturas positivas para outros fungos em diferentes amostras biológicas estéreis. Neste grupo de pacientes, discute-se a reação cruzada da GM com outros fungos filamentosos, como o *Fusarium dimerum* e o *Acremonium curvulum*. Segundo um estudo de Varon *et al*, (2001), reação cruzada do teste da GM sérica com espécies de *Fusarium* spp. tem sido relatada.

Foi avaliada a utilidade da GM no diagnóstico precoce e monitoramento da resposta terapêutica de fusariose invasiva. Prontuários médicos e os resultados das GM séricas de todos os pacientes que apresentaram fusariose invasiva entre 2008 e 2011 foram revisados. Foi relacionada a GM positiva com dois momentos: data da primeira manifestação clínica e data do diagnóstico da fusariose invasiva. Onze pacientes foram diagnosticados com fusariose invasiva neste período. Cerca de 6 testes de GM foram realizados por paciente (mediana, variação de 2 – 17). Dois pacientes não tiveram GM positiva: um fez apenas uma dosagem 3 dias

antes da primeira manifestação clínica e o outro apresentou infecção localizada (artrite) com múltiplas dosagens de GM negativas. Nove pacientes (82%) tiveram ao menos uma GM positiva (mediana=2, variação 1 – 15). O valor dos primeiros resultados positivos e dos picos de GM foram 0,640 e 0,910, respectivamente. Em 5 pacientes, GM positivou antes da primeira manifestação clínica de fusariose, e em 4, as manifestações clínicas precederam a positivação da GM. Com relação ao diagnóstico definitivo da DFI, em 6 pacientes, GM antecedeu o diagnóstico; em um paciente, GM e o diagnóstico foram concomitantes; em 2 pacientes, o diagnóstico antecedeu o teste positivo (6 e 13 dias). Todos os pacientes receberam tratamento antifúngico (voriconazol=5, posaconazol=1, voriconazol+anfotericina B=3). A fusariose invasiva evoluiu para cura em 44%. GM negativou durante o tratamento em 2 pacientes que curaram e em 2 entre aqueles que morreram (5). GM sérica é frequentemente positiva na fusariose invasiva e pode ser detectada antes do diagnóstico na maioria dos pacientes. Estes achados podem ter implicações importantes na escolha da terapia antifúngica nos locais onde a prevalência de fusariose e de GM positiva é alta.

No caso dos pacientes considerados verdadeiros positivos, um paciente desenvolveu hemocultura positiva para *A. fumigatus* em amostra de biópsia de pulmão, sendo considerado o único caso neste estudo de AIP provada, e outro paciente desenvolveu *Aspergillus* spp. em LBA, sendo classificado com o diagnóstico de AIP provável.

Ainda segundo Mori (2010a), o teste da GM tem uma sensibilidade de 67% a 100% e uma especificidade de 81% a 99% em pacientes neutropênicos e receptores de transplante alogênico. Embora este exame tenha sido amplamente usado como critério de diagnóstico para AIP, uma das suas maiores limitações é a presença de resultados falso-positivos, particularmente em pacientes pediátricos, com DECH e aqueles que usam alguma dieta que contenha alimentos com GM ou antibióticos derivados de fungos, como a piperacilina-tazobactam. No presente estudo, a população pediátrica representou 48,8% do total de pacientes estudados, 39 pacientes (25,7%) apresentaram DECH e oito pacientes (5,26%) usaram piperacilina+tazobactam. Além disso, as amostras de soro congeladas ou armazenadas em condições não controladas podem apresentar resultados falso-positivos por contaminação micótica ou bacteriana. As amostras não devem estar

contaminadas com esporos de fungos ou com bactérias; portanto, devem ser transportadas e armazenadas em tubos fechados, sem exposição ao ar. As amostras não manejadas podem ser armazenadas a 2° a 8°C até cinco dias antes do ensaio. Depois da primeira utilização, as amostras podem ser conservadas a 2° a 8°C durante no máximo 48 horas antes do teste. Para um armazenamento mais prolongado, este soro deve ser conservado a -70°C. As amostras de soro podem submeter-se a um máximo de quatro ciclos de descongelamento e quando descongeladas, devem ser homogeneizadas cuidadosamente antes do teste. Os resultados não sofrem interferência quando as amostras apresentam elevada dosagem de bilirrubina, lipemia ou hemólise. Não há estudos em relação a interferências de amostras com excesso de albumina.

Amostras de soro com índice menor que 0,5 são consideradas negativas para o antígeno GM. No entanto, este resultado negativo não exclui o diagnóstico de AIP. Recomenda-se repetir o teste se o resultado for negativo, mas suspeita-se da enfermidade. A não observação das instruções do fabricante do kit comercial pode resultar em resultado falso-negativo.

Amostras de soro com índice maior que 0,5 são consideradas positivas para o antígeno GM e nestes casos, se recomenda a repetição do teste com uma nova alíquota da mesma amostra, assim como com uma nova amostra do paciente para a realização de prova de seguimento. Recomenda-se a realização regular (duas vezes) na semana para pacientes de alto risco, para aumentar a sensibilidade do teste e obter reações positivas o mais breve possível. O teste de ELISA (Platelia™ *Aspergillus* EIA – Bio Rad) foi desenvolvido para ser utilizado no auxílio de diagnóstico de AIP. No entanto, os resultados positivos obtidos com este teste devem ser considerados concomitantemente com outros procedimentos diagnósticos, tais como cultivo microbiológico, análise histológica de amostras obtidas mediante biópsia e provas radiológicas. Algumas limitações do teste devem ser consideradas: 1) não é validado seu rendimento em amostras de pacientes neonatos ou pediátricos; 2) a positividade na detecção de GM em pacientes com doenças granulomatosa crônica ou síndrome de Job pode ser menor neste ensaio; 3) o uso concomitante de tratamento antifúngico em pacientes com AI diminui a sensibilidade do teste; 4) outros gêneros de fungos como *Penicillium* spp., *Alternaria* spp., *Paecilomyces* spp., *Geotrichum* spp. e

*Histoplasma* spp., têm mostrado reatividade com os anticorpos monoclonais de rato usados neste ensaio; 5) reações positivas sem sinais clínicos, uma vez que a detecção do antígeno GM no soro, pode ocorrer antes do aparecimento das características clínicas e/ou radiológicas; nestes casos, esta análise corresponde a verdadeiros positivos em pacientes nos quais o diagnóstico de AIP se estabelecerá mais adiante. Em pacientes com sinal do halo e GM negativa apenas 20% tem chance de desenvolver AIP.

## 7 CONCLUSÕES

O presente estudo avaliou 152 pacientes, 52,6% do sexo masculino e 47,4% do sexo feminino, com prevalência da população adulta (51,3%). A idade variou de 1 a 61 anos, com uma mediana de 33 anos. As doenças de base prevalentes foram AAS, AF, LLA e LMA. Predominaram os transplantes do tipo alogênico (84,8%), TMO (63,2%) e aparentado (56,6%). Dentre os TMO, a modalidade que prevaleceu foi o TMO alogênico aparentado compatível (19,7%). A maioria dos pacientes não desenvolveu DECH (74,3%). Em relação à TC de tórax, somente 9,87% dos pacientes apresentaram resultado alterado para o diagnóstico de aspergilose. O resultado da dosagem de GM foi negativo para a maioria dos pacientes (133/87,5%) e positiva em 19 pacientes (12,5%). Em relação à evolução clínica 69,7% apresentaram melhora (alta hospitalar) e 30,3% foram a óbito.

De forma preliminar e sempre com cautela, pois dispomos de um grupo de pacientes em que a grande maioria não realizou o teste padrão-ouro para o diagnóstico de AIP, este estudo prospectivo demonstrou que o método de ELISA para detecção da GM no soro de pacientes com suspeita de AIP pode ser considerado como:

a) um recurso laboratorial útil para o diagnóstico e realização do seguimento terapêutico antifúngico em pacientes com AIP;

b) um recurso laboratorial de diagnóstico para AIP provada uma vez que um resultado positivo foi confirmado em paciente com biópsia pulmonar positiva para *Aspergillus* spp, assim como nos casos de AIP provável. Nestes casos, apresentou um valor diagnóstico de AIP com sensibilidade de 100,0% e VPP de 36,8% e, sobre tudo, um resultado negativo repetido é fortemente indicativo da não existência de AIP, mostrando uma especificidade de 91,7% e um VPN de 100,0%;

c) um recurso laboratorial de diagnóstico para AIP, da mesma forma, em pacientes de um modo geral, quando comparado o resultado da detecção de GM com o resultado da TC de tórax, pois apresentou um valor diagnóstico de AIP, sobre tudo, nos casos em que um resultado negativo repetido é fortemente indicativo da não existência de AIP;

d) infecções fúngicas como as causadas pelos fungos *Acremonium* sp e *Fusarium* sp são responsáveis por resultados falso-positivos no diagnóstico de AIP a partir do teste de ELISA para detecção da GM sérica;

e) o antibiótico piperacilina-tazobactam administrado nos pacientes deste estudo não foi relacionado a resultados falso-positivos no teste de ELISA para detecção da GM sérica.

## 8 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Para que estas premissas de ferramenta de diagnóstico eficaz e precoce se cumpram, devem estar bem definidas as condições para o uso desta técnica, tais como: a) os pacientes devem estar estratificados dentro de um grupo de alto risco para o desenvolvimento de AIP, pois não há experiência suficiente em outro grupo de pacientes; b) por não se conhecer bem o perfil cinético, as determinações de GM no soro devem ser realizadas, no mínimo, de forma bisemanal para o diagnóstico precoce de AIP e para realizar, posteriormente, o seguimento destes pacientes mediante o monitoramento terapêutico dos antifúngicos administrados, que incida de forma favorável na evolução dos nossos pacientes.

Devemos ainda salientar que os pacientes que apresentam neutropenia e/ou imunossupressão, independente das causas que as originam, são pacientes de elevado risco para AIP. Nestes casos, a avaliação destes pacientes torna-se pertinente em relação a antigenemia para *Aspergillus* sp. Esta avaliação da GM pela técnica de ELISA (PLATELIA™ *Aspergillus* EIA – Bio-Rad) com um valor de *cut-off*  $\geq 0,5\text{ng/mL}$ , além de ocorrer duas vezes na semana, com o objetivo de aumentar a detecção precoce do antígeno GM nestes pacientes de alto risco, deve ser realizada em associação com outro método diagnóstico, como, por exemplo, a PCR.

## REFERÊNCIAS

ABARCA, M.L. Taxonomy and identification of the species involved in nosocomial aspergillosis. *Rev Iberoam Micology*, v. 17, n.3, p. S79-84, 2000.

ALANGADEN, G. J. Nosocomial fungal infections: epidemiology, infection control, and prevention. *Clinical Infection Disease*, v.25, p. 201–225, 2011.

ANVISA. Resolução nº 3.288, de 19 de outubro de 2007. Disponível em [http://www.anvisa.gov.br/legis/suplemento/221007\\_suplemento\\_1.pdf](http://www.anvisa.gov.br/legis/suplemento/221007_suplemento_1.pdf). Acesso em 16 de julho de 2013.

AQUINO VR, GOLDANI LZ, PASQUALOTTO AC. Update on the contribution of galactomannan for the diagnosis of invasive aspergillosis. *Mycopathologia*, v. 163, p. 191-202, 2007.

AQUINO V R, et al. Distribution of filamentous fungi causing invasive fungal disease at the haematological unit. *Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Brasil. Braz J Infect Dis*, v.14, n 3, June 2010.

ASANO-MORI Y, KANDA Y, OSHIMA K, et al False-Positive Aspergillus Galactomannan Antigenemia After Hematopoietic Stem Cell Transplantation *Journal Antimicrobiology Chemother*, vol. 61, p. 411-416, 2008.

ASCIIOGLU S, REX JH, DE PAUW B, BENNETT JE, BILLE J, CROKAERT F, DENNING DW, DONNELLY JP, EDWARDS JE, ERJAVEC Z, FIERE D, LORTHOLARY O, MAERTENS J, MEIS JF, PATTERSON TF, RITTER J, SELLESLAG D, SHAH PM, STEVENS DA, WALSH TJ. Invasive Fungal Infections Cooperative Group of the European Organization for Research and Treatment of Cancer; Mycoses Study Group of the National Institute of Allergy and Infectious Diseases: Defining opportunistic invasive fungal infections in immunocompromised patients with cancer and hematopoietic stem cell transplants: na international consensus. *Clin Infect Dis*, v. 34, p. 7-14, 2002.

BARNES PD, MARR KA. Aspergillosis spectrum of disease, diagnosis and treatment. *Infectology Disease Clinical North American*, v. 20, p. 545-561, 2006.

BECKER MJ, et al. Galactomannan detection in computerized tomography-based bronchoalveolar lavage fluid and serum in haematological patients at risk of invasive pulmonary aspergillosis. *Br J Haematol*, v.121, p 448-457, 2003.

BHATTI Z, SHAUKAT A, ALMYROUDIS NG, SEGAL BH. Review of epidemiology, diagnosis, and treatment of invasive mould infections in allogeneic hematopoietic stem cell transplant recipients. *Mycopathologia*, v. 162, p. 1-15, 2006.

BHAYAT F, DAS-GUPTA E, HUBBARD R. Bone marrow transplantation in AML, and socioeconomic class: a UK population-based cohort study. *BMC Cancer*, v. 10, p. 514, 2010.

BLANCO JL, et al. Aspergilosis: mecanismos de patogenicidad implicados y aproximación al diagnóstico de laboratorio. Rev. Iberoam Micol., v.15, p.10-15, 1998

BOUTBOUL F, et al Invasive Aspergillosis in Allogenic Stem Cell Transplant Recipients: Increasing Antigenemia is Associated with Progressive Disease. Clinical Infectious Diseases, vol. 34, p. 939-943, 2002.

CARVALHO-DIAS VMH., SOLA CBS., CUNHA CA., SHIMAKURA SE., PASQUINI R., TELLES FQ. Aspergilose invasiva em receptores de transplante de células-tronco hematopoiéticas: uma análise retrospectiva. Jornal Brasileiro de Doenças Infecciosas, v. 12, p. 33-36, 2008.

CASTAGNOLA E., FURFARO E., CAVIGLIA I., LICCIARDELLO M., FARACI M., FIOREDDA F., TOMÀ P., BANDETTINI R., MACHETTI M., VISCOLI C. Performance of the galactomannan antigen detection test in the diagnosis of invasive aspergillosis in children with cancer or undergoing haematopoietic stem cell transplantation. Clinical Microbiology Infection, v. 16 (8), p. 1197-203, 2010.

CHAMILOS G, LUNA M, LEWIS RE, BODEY GP, CHEMALY R, TARRAND JJ, SAFDAR A, RAAD II, KONTOYIANNIS DP. Invasive fungal infections in patients with hematologic malignancies in a tertiary care cancer center: an autopsy study over a 15-year period (1989-2003). Haematologica, v. 91, p. 986-9, 2006.

CRUZ CH, RODRIGO, PIONTELLI L, EDUARDO. Enfermedad fúngica invasora em pacientes de cinco hospitales de La Región de Valparaíso, Chile: 2004 a 2009. Rev. Chil. Infectol, Santiago, v. 28, n.2, 2011.

CUMMINGS JR, JAMISON GR, BOUDREAUX JW, HOWLES MJ, WALSH TJ, HAYDEN RT. Cross-reactivity of non-Aspergillus fungal species in thr Aspergillus galactomannan enzyme immunoassay. Diagnosis Microbiology Infection Disease, v. 59, p. 113-115, 2007.

DE PAUW B, WALSH TJ, DONNELLY JP, et al. Revised Definitions of Invasive Fungal Disease from the European Organization for Research and Treatment of Cancer/Invasive Fungal Infections Cooperative Group and the National Institute of Allergy and Infections Diseases Mycoses Study Group (EORTC/MSG). Clinical Infection Diseases, vol. 46, p. 1813-1821, 2008.

DEL BONO V, MIKULSKA M, VISCOLI C. Invasive aspergillosis: diagnosis, prophylaxis and treatment. Current Opinion of Hematology, vol. 15, p. 586-593,2008.

DENNING DW, VENKATESWARLU K, OAKLEY KL, ANDERSON MJ, MANNING NJ, STEVENS DA, WARNOCK DW, KELLY SL. Itraconazole resistance in Aspergillus fumigatus. Antimicrob Agents Chemother, v. 41, p. 1364-1368, 1997.

FREITAS DB, PIOVESAN AC, SZARF G, JASINOWODOLINSKI D, MEIRELLES G S. Outbreak of invasive pulmonary aspergillosis among patients hospitalized in a bone marrow transplant ward: tomographic findings. *Journal Brazilian of Pneumology*, v. 35 (9), p. 931-6, 2009.

GARCIA ME, et al. The value of the determination of anti-*Aspergillus* IgG in the serodiagnosis of canine aspergillosis: comparison with galactomannan detection. *J. Vet. Med., Series B*, v.48, n.10, p.743-750, 2001

GASPARETTO EL, SOUZA CA, TAZONIERO PT. Aspergilose invasiva pulmonar após transplante de medula óssea alogênico: achados de tomografia computadorizada de alta resolução e clínicos em 12 casos. *Braz J Infect Dis*, v. 11, p. 110-113, 2007.

GEORGE J, ALANGADEN MD. Nosocomial Fungal Infections: Epidemiology. Infection Control, and Prevention. *Infect Dis Clin N Am*, v. 25, p. 201–225. 2011.

GIL L, KOZLOWSKA-SKRZYPCZAK M, MOL A, POPLAWSKI D, STYCZYNSKI J, KOMARNICKI M. Increased risk for invasive aspergillosis in patients with lymphoproliferative diseases after autologous hematopoietic SCT. *Bone Marrow Transplant*, doi:10.1038/bmt.2008.303, 2008.

GUIGUE N, MENOTTI J, RIBAUD P. False positive galactomannan tyeast after ice-pop ingestion. *N Engl J Med*, v. 369, n. 1, p. 97-98, 2013.

HERBRECHT R, LETSCHER-BRU U, OPREA C, et al. *Aspergillus* Galactomannan Detection in the Diagnosis of Invasive Aspergillosis in Cancer Patients. *Journal Clinical of the Oncology*, vol. 20, p. 1898-1906, 2002.

HOLDING KJ, Dworkin MS, Wan PC, Hanson DL, Klevens RM, Jones JL, Sullivan PS. Aspergillosis among people infected with human immunodeficiency virus: incidence and survival. Adult and Adolescent Spectrum of HIV Disease Project. *Clin.Infect Dis*, v. 31, p. 1253-1257, 2000.

HOPE WW, WALSH TJ, DENNING DW. The invasive and saprophytic syndromes due to *Aspergillus* spp. *Medical Mycology*, v. 43, p. 207-238, 2005.

HUBKA V, KOLARÍK M, KUBÁTOVÁ A, PETERSON SW. Taxonomic revision of *eurotium* and transfer of species to *Aspergillus*. *Mycologia*, v. 105, p. 912-33, 2013.

HUSAIN S. et al. *Aspergillus* galactomannan antigen in the bronchoalveolar lavage fluid for the diagnosis os invasive aspergillosis in lung transplant recipients. *Transplantation*, v.83, p. 1330-1336, 2007

JARQUE I, ANDREU R, SALAVERT M, GÓMEZ D, PEMÁN J, GOBERNADO M, SANZ MA. Value of *Aspergillus* galactomannan antigen detection in the diagnosis

and follow-up of invasive aspergillosis in hematological patients. *Reviem Iberoam Micology*, v. 20 (3), p. 116-8, 2003.

JIRÍ PAVLU, RICHARD M. SZYDLO, JOHN M. GOLDMAN AND JANE F. APPERLEY. Three decades of transplantation for chronic myeloid leukemia: what have we learned? *Blood*, v. 117, p. 755-763, 2011.

KLICH MA. Identification of common *Aspergillus* species. *Centraal Bureau Vooc Schimmel Cultures*, v. 1, p. 55-78, 2002.

KONTOYIANNIS DP, BODEY GP. Invasive aspergillosis in 2002: an update. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, v. 21, p. 161-172, 2002.

KONTOYIANNIS DP, SUMOZA D, TARRAND J, BODEY GP, STOREY R, RAAD II. Significance of aspergillemia in patients with cancer: a 10-year study. *Clin Infect Dis*, v. 31, p. 188-189, 2000.

KROWKA MJ, ROSENOW EC 3rd, Hoagland HC. Pulmonary complications of bone marrow transplantation. *Chest*, v. 87, n. 2, p. 237-246, 1985.

LATGÉ JP. *Aspergillus fumigatus* and aspergillosis. *Clinical Microbiology Review*, v. 12, p. 310-350, 1999.

LEWIS RE, KONTOYIANNIS DP. Invasive aspergillosis in glucocorticoid-treated patients. *Med Mycol* v. 25, p. 1-11, 2008.

LIBANORE M, PRINI E, MAZZETTI M, BARCHI E, RAISE E, GRITTI FM, BONAZZI L, GHINELLI F. Invasive Aspergillosis in Italian AIDS patients. *Infection*, v. 30, p. 341-345, 2002.

MACHETTI M., VISCOLI C. Interactions and false positive results of galactomannan antigen detection for diagnosis of invasive aspergillosis. *Infez Medicine*, v. 14 (4), p. 197-207, 2006.

MAERTENS JA, KLONT R, MASSON C, THEUNISSEN K, MEERSSEMAN W, LAGROU K, HEINEN C, CREPIN B, VAN ELDERE J, TABOURET M, DONNELLY JP, VERWEIJ PE. Optimization of the cutoff value for the *Aspergillus* double-sandwich enzyme immunoassay. *Clinical Infection Disease*, v. 44, p. 1329-36, 2007a.

MAERTENS J, et al. Advances in the Sorological Diagnosis of Invasive *Aspergillus* Infections in Patients with Hematological Disorders. *Mycoses*, v. 50, p. 2-17, 2007b.

MARR KA, CARTER RA, BOECKH M, MARTIN P, COREY L. Invasive aspergillosis in allogeneic stem cell transplant recipients: changes in epidemiology and risk factors. *Blood*, v. 100, p. 4358-4366, 2002.

MARR KA, BOW E, CHILLER T, MASCHMEYER G, P RIBAUD, SEGA B, STEINBACH W, WINGARD JR, NUCCI M. Fungal infection prevention after hematopoietic cell transplantation. *Bone Marrow Transplantation*, v. 44, p. 483–487, 2009.

MARTINO R, PIÑANA JL, PARODY R, VALCARCEL D, SUREDA A, BRUNET S, BRIONES J, DELGADO J, SÁNCHEZ F, RABELLA N, SIERRA J. Lower respiratory tract respiratory virus infections increase the risk of invasive aspergillosis after a reduced-intensity allogeneic hematopoietic SCT. *Bone Marrow Transplant*, v. 44, p. 749–756, 2009.

MAYAUD C, CADRANEL J. A persistent challenge: the diagnosis of respiratory disease in the non-AIDS immunocompromised host. *Thorax*, v. 55, n. 6, p. 511-517, 2000.

MCCLENNY N. Laboratory detection and identification of *Aspergillus* species by microscopic observation and culture: the traditional approach. *Med Mycol*, v. 43, p. S125-128, 2005

MEERSSEMAN W, LAGROU K, MAERTENS J, VAN WIJNGAERDEN E. Invasive aspergillosis in the intensive care unit. *Clin Infect Dis*, v. 45, p. 205-216, 2007.

MENDES-GIANNINI MJS, MELHEM MSC, ALMEIDA AMF. Infecções Fúngicas. In: Ferreira AW, Moraes SL. *Diagnóstico Laboratorial das principais doenças infecciosas e autoimunes*. 3ª ed. Guanabara Koogan: Rio de Janeiro, 2013, pp. 426-429.

MICELI MH, et al. Strong Correlation between Serum *Aspergillus* Galactomannan Index and Outcome of Aspergillosis in Patients with Hematological Cancer: Clinical and Research Implications. *Clinical Infectious Diseases*, v. 46, p. 1412-1422, 2008.

MICHALLET M, ITO JI. Approaches to the management of invasive fungal infections in hematologic malignancy and hematopoietic cell transplantation. *Journal of Clinical Oncology*, v.27, p. 3398-3409, 2009.

MIKOLAJEWSKA A, SCHWARTZ S, RUHNKE M. Antifungal treatment strategies in patients with haematological diseases or cancer: from prophylaxis to empirical, pre-emptive and targeted therapy. *Department of Internal Medicine, Charite University*, v. 55 (1), p. 2-16, 2012.

MIKULSKA M, RAIOLA AM, BRUNO B, FURFARO E, VAN LINT MT, BREGANTE S, IBATICI A, DEL BONO V, BACIGALUPO A, VISCOLI C. Risk factors for invasive aspergillosis and related mortality in recipients of allogeneic SCT from alternative donors: an analysis of 306 patients. *Bone Marrow Transplant*, v. 44, p. 361–370, 2009

MIMS C, DOCKRELL MH, GOERING VR, ROITT I. *Microbiologia Médica*. 3ª ed. Elsevier, 2005.

MORI Y. High incidence of false-positive aspergillus galactomannan in multiple myeloma. *American Journal of Hematology*, v.85, p.449-452, 2010a.

MORI YA Fungal Infections after Hematopoietic Stem Cell Transplantation *International Journal of Hematology*, v. 91, p. p. 576-587, 2010b.

NGUYEN MH, et al. Use of bronchoalveolar lavage to detect galactomannan for diagnosis of pulmonary aspergillosis among nonimmunocompromised hosts. *J.Clin.Microbiol.*, v.45, p.2787-2792, 2007.

NIVOX Y, et al. Factors Associated with Overall and Attributable Mortality in Invasive Aspergillosis. *Clinical Infect Diseases*, vol. 47, p. 1176-1184, 2008.

NOVARETTI M.C.Z. Detecção de aspergillus sp pela técnica de pcr-nested em pacientes submetidos a transplante de medula óssea. *Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia*, v. 30, p 2-5, 2008.

NOUER AS, NUCCI M, KUMAR NS, GRAZZIUTTI M, BARLOGIE B, ANAISSIE E. Earlier response assessment in invasive aspergillosis based on the kinetics of serum *Aspergillus galactomannan*: proposal for a new definition. *Clinical Infection Disease*. 53 (7): 671-6, 2011.

NUCCI M, MAIOLINO A. Infecções em transplante de medula óssea. *Medicina, Ribeirão Preto*, v. 33, p. 278-293, 2000.

NUCCI M, *et al.* Invasive fungal diseases in haematopoietic cell transplant recipients and in patients with acute myeloid leukaemia or myelodysplasia in Brazil. *Clinical Microbiology and Infection*, v. 19, n. 8, p. 745-751, 2013.

NUCCI M, COLOMBO A. Quando utilizar terapia empírica em doenças fúngicas invasivas? *Rev Panam Infectol*, v. 14, n. 1, p. 32-44, 2012.

PAGANO L, AKOVA M, DIMOPOULOS G, HERBRECHT R, DRGONA L, BLIJLEVENS N. Risk assessment and prognostic factors for mould-related diseases in immunocompromised patients. *J Antimicrob Chemother*, v. 66, p. 5-14, 2011

PAPPAS PG. Opportunistic Fungi: A View to the Future. *American Journal of the Medical Sciences*, v. 340, p. 253-257, 2010.

PASQUALOTTO AC, DENNING DW. New and emerging treatments for fungal infections. *Antimicrob Chemother*, v. 61, p. i19-30, 2008.

PAZOS C, DEL PALACIO A. Early diagnosis of invasive aspergillosis in neutropenic patients with bi-weekly serial screening of circulating galactomannan by Platelia Aspergillus. *Review Iberoam Micology*, v. 20 (3), p. 99-102, 2003.

PAZOS C, PONTON J, DEL PALACIO. A. Contribution of (1→3)-β-D-glucan chromogenic assay to diagnosis and therapeutic monitoring of invasive aspergillosis in neutropenic adult patients: a comparison with serial screening for circulating galactomannan. *J Clin Microbiol*, v. 43, p. 299-305, 2005.

PENACK O, *et al.* Aspergillus galactomannan testing in patients with long-term neutropenia: implications for clinical management. *Ann Oncology*, v. 19, p. 984-989, 2008.

PFEIFFER CJ, FINE JP, SAFDAR N. Diagnosis of Invasive Aspergillosis Using a Galactomannan Assay: A Meta-Analysis. *Clinical Infect Diseases*, vol. 42, p. 1417-1427, 2006.

QIAO J, LIU W, LI R. Antifungal resistance mechanisms of Aspergillus. *Nippon Ishinkin Gakkai Zasshi*, v. 49, p. 157-163, 2008.

RABAGLIATI RB, FUENTES LG, GUZMÁN D AM, ORELLANA UE, OPORTO CJ, GARRIDO SM, NERVI NB. Enfermedad fúngica invasora em pacientes hematológicos y receptores de transplante de precursores hematopoyéticos bajo la perspectiva de los criterios diagnósticos EORTC/MSG. *Revista Chilena de Infectología*, v.26 (3), p. 212-219, 2009.

RAVEN, P. *Biologia Vegetal*. 6.ed. Guanabara Koogan: Rio de Janeiro, 2001

RODNEY FS. Capítulo 8 – Infecções Fúngicas em Imunocomprometidos. *Jornal Brasileiro de Pneumologia*, v. 36, p. 142-147, 2010.

SABOL K, GUMBO T. Anidulafungin in the treatment of invasive fungal infections. *Ther Clin Risk Manag*, v. 4, p. 71-78, 2008.

SADER HS, *et al.* Pathogen Frequency and Resistance Patterns in Brazilian Hospitals: Summary of Results from Three Years of the Sency Antimicrobial Surveillance Program. *The Brazilian Journal of the Infection Diseases*, vol. 5, p. 200-214, 2001.

SANTOS PSS, LIMA RB, MAGALHÃES MHCG. Doença do Enxerto-Contra-Hospedeiro (DECH) em Pacientes Transplantados de Medula Óssea-Relato de Caso. *RPG-Revisão Pós-Graduação*, v. 12, p. 506-511, 2005.

SEGAL BH, WALSH TJ. Current approaches to diagnosis and treatment of invasive aspergillosis. *Am J Respir Crit Care Med*, v. 173, p. 707-717, 2006.

PARK SY, LEE SO, CHOI SH, SUNG H, KIM MN, CHOI CM, HONG SB, OH YM, SHIM TS, KOH Y, KIM YS, WOO JH, KIM SH. *Aspergillus* galactomannan antigen

assay in bronchoalveolar lavage fluid for diagnosis of invasive pulmonary aspergillosis. *J Infect*, v. 61, n. 6, p. 492-498, 2010

SILVA RF. Infecções fúngicas em imunocomprometidos. *Journal Brazilian Pneumology*, v. 36 (1), p. 142-147, 2010.

SINGH N, PATERSON DL. Aspergillus infections in transplant recipients. *Clinical Microbiology Review*, v. 18, p. 44-69, 2005.

SHORR AF, SUSLA GM, O'GRADY NP. Pulmonary infiltrates in the non-HIV-infected immunocompromised patient: etiologies, diagnostic strategies, and outcomes. *Chest*, v. 125, n. 1, p. 260-271, 2004.

STEPHEN JP, MAXINE AP, HILL G. The *Aspergillus fumigatus*. *Medical Diagnosis and Treatment*, v. 49, p. 1397-1398, 2010.

STEVENS DA, MOSS RB, KURUP VP, KNUTSEN AP, GREENBERGER P, JUDSON MA, DENNING DW, CRAMERI R, BRODY AS, LIGHT M, SKOV M, MAISH W, MASTELLA G. Allergic bronchopulmonary aspergillosis in cystic fibrosis-state of the art. *Clinical Infect Disease*, v. 37, p. 225-264, 2003.

SULAHIAN A, TOURATIER S, RIBAUD P. False-Positive Test for *Aspergillus* Antigenemia Related to Concomitant Administration of Piperacillin and Tazobactam. *N Engl J Med*, v. 349, p. 2366-2367, 2003.

TANRIOVER MD, et al. False positivity for *Aspergillus* antigenemia related to the administration of piperacillin/tazobactam. *Eur.J.Int.Med.*, v.16, p.489-491, 2005.

TROF RJ, BEISHUIZEN A, DEBETS-OSSenkOPP YJ, GIRBES AR, GROENEVELD AB. Management of invasive pulmonary aspergillosis in non-neutropenic critically ill patients. *Intensive Care Med*, v 33, p. 1694-1703, 2007.

TUON FF. A systematic literature review on the diagnosis of invasive aspergillosis using polymerase chain reaction (PCR) from bronchoalveolar lavage clinical samples. *Rev Iberoam Micol*, v. 24, p. 89-94, 2007.

UPTON A, GUGEL A, LEISENRING W, LIMAYE A, ALEXANDER B, HAYDEN R, MARR KA. Reproducibility of low galactomannan enzyme immunoassay index values tested in multiple laboratories. *J Clin Microbiol*, v. 43, p.4796-4800, 2005.

VARON R, REIS A, HENZE G, EINSIEDEL HGV, SPERLING K, SEEGER K. Mutations in the Nijmegen breakage syndrome gene (NBS1) in childhood acute lymphoblastic leukemia (ALL). *Cancer Res.*, v. 61, p. 3570-3572, 2001.

VERWEIJ PE. Advances in diagnostic testing. *Med. Mycol.*, v.43, p.121-124, 2005.

VAIDEESWAR P, PRASAD S, DESHPANDE JR, PANDIT SP. Invasive pulmonary aspergillosis: A study of 39 cases at autopsy. *J Postgrad Med*, v. 50, p. 21-26, 2004.

XAVIER MO, PASQUALOTTO AC, AQUINO VR, SUKIENNIK TC, SEVERO LC. Galactomannan Detection from piperacillin-tazobactam brands available in the Brazilian market. *Brazilian Journal Infection Disease*, v.13 (5), p.353-5, 2009.

WALSH TJ, et al. Treatment of Aspergillosis: Clinical Practice Guidelines of the Infectious Diseases Society of America . *Clinical Infect Diseases*, v. 46, p. 327-360, 2008.

WHEAT LJ. Galactomannan antigenemia detection for diagnosis of invasive aspergillosis, part I. *Clin. Microbiol. News*, v.27, p.51-57, 2005.

WINKELSTEIN JA, MARINO MC, JOHNSTON RB JR, BOYLE J, CURNUTTE J, GALLIN JI, MALECH HL, Holland SM, Ochs H, Quie P, Buckley RH, Foster CB, Chanock SJ, Dickler H. Chronic granulomatous disease. Report on a national registry of 368 patients. *Medicine (Baltimore)*, v. 79, p. 155-169, 2000.

WINGARD JR, et al. Changes in causes of death over time after treatment of invasive aspergillosis. *Cancer*, v. 112, n. 10, p. 2309-2312, 2008.

WOODS G, et al. Serum Aspergillus Galactomannan Antigen Values Strongly Correlate with Outcome of Invasive Aspergillosis. *American Cancer Society*, v. 110, n.4, p. 830-834, 2007.

## APÊNDICES E ANEXOS

### APÊNDICE 1 – Ficha para colheita de dados dos pacientes submetidos ao TCTH incluídos no estudo

#### Dados de identificação

Nome:

Nº registro:

Idade:

Sexo: ( ) M ( ) F

#### Transplante

Data:

Tipo: ( ) autólogo ( ) alogênico

Descrição:

#### Doença de base

- |                             |                               |
|-----------------------------|-------------------------------|
| ( ) Anemia aplástica severa | ( ) Mieloma múltiplo          |
| ( ) Anemia de Fanconi       | ( ) Leucemia mielóide aguda   |
| ( ) Leucemia linfóide aguda | ( ) Esclerose múltipla        |
| ( ) SCID                    | ( ) SWA                       |
| ( ) Mielodisplasia          | ( ) Linfoma Hodgkin           |
| ( ) Linfoma não Hodgkin     | ( ) Leucemia mieloide crônica |
| ( ) Outra                   |                               |

**Doença do enxerto *versus* hospedeiro (DECH):** ( ) sim ( ) não

**Grau:** ( ) leve ( ) moderada ( ) severa

**Órgão comprometido:**

**Corticoterapia:** ( ) sim ( ) não

#### Terapia antifúngica

- |                           |                    |
|---------------------------|--------------------|
| ( ) voriconazol           | ( ) anfotericina B |
| ( ) anfotericina lipídica | ( ) micafungina    |
| ( ) caspofungina          | ( ) anidulafungina |

**Dose:**

**Tempo de uso:****Uso de piperacilina-tazobactam:** ( ) sim ( ) não**Avaliação da TC de tórax:**

- ( ) não realizada
- ( ) normal para aspergilose
- ( ) alterada para aspergilose

**Qual alteração:****Resultado da galactomanana (GM) Platelia *Aspergillus* EIA:**

Data.....	Valor.....	Data.....	Valor.....
Data.....	Valor.....	Data.....	Valor.....
Data.....	Valor.....	Data.....	Valor.....
Data.....	Valor.....	Data.....	Valor.....

**Cultura de líquido estéril:****Cultura de líquido não estéril:****Aspergilose Invasiva:**

- ( ) provada
- ( ) provável
- ( ) possível

**Evolução Clínica:**

- ( ) alta hospitalar Data:.....
- ( ) óbito Data:.....

**ANEXO 1**