



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE BIOCÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE MICOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA DE FUNGOS

LAUREANA DE VASCONCELOS SOBRAL

**FUNGOS ANEMÓFILOS DE AMBIENTE HOSPITALAR: PERFIL DE
SUSCETIBILIDADE ANTIFÚNGICA E ALERGENICIDADE**

RECIFE

2023

LAUREANA DE VASCONCELOS SOBRAL

**FUNGOS ANEMÓFILOS DE AMBIENTE HOSPITALAR: PERFIL DE
SUSCETIBILIDADE ANTIFÚNGICA E ALERGENICIDADE**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia de Fungos do Departamento de Micologia do Centro de Biociências da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para a obtenção do título de doutor em Biologia de Fungos. Área de concentração: Micologia Aplicada.

Orientadora: Prof^ª. Dra. Cristina Maria de Souza-Motta

Coorientador: Prof. Dr. Reginaldo Gonçalves de Lima Neto

Coorientador: Dr. Diogo Lima Xavier

RECIFE

2023

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) de acordo com ISBD

Sobral, Laureana de Vasconcelos

Fungos anemófilos de ambiente hospitalar: perfil de suscetibilidade antifúngica e alergenicidade / Laureana de Vasconcelos Sobral– 2023.

110 f. : il., fig., tab.

Orientadora: Cristina Maria de Souza-Mota

Coorientadores: Reginaldo Gonçalves de Lima Neto e Diogo Lima Xavier

Tese (doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro de Biociências. Programa de Pós-Graduação em Biologia de Fungos, Recife, 2023.

Inclui referências e apêndices.

1. Fungos patogênicos 2. Pacientes- medidas de segurança 3. Infecções I. Souza-Mota, Cristina Maria de (orient.) II. Lima Neto, Reginaldo Gonçalves de (coorient.) III. Xavier, Diogo Lima (coorient.) IV. Título

616.96901

CDD (22.ed.)

UFPE/CB – 2023 -176

LAUREANA DE VASCONCELOS SOBRAL

**FUNGOS ANEMÓFILOS DE AMBIENTE HOSPITALAR: PERFIL DE
SUSCETIBILIDADE ANTIFÚNGICA E ALERGENICIDADE**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia de Fungos do Departamento de Micologia do Centro de Biociências da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para a obtenção do título de doutor em Biologia de Fungos. Área de concentração: Micologia Aplicada.

Aprovada em: 28 / 06 / 2023.

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Cristina Maria de Souza-Motta (Orientadora)
Universidade Federal de Pernambuco

Dra. Bruna Rodrigues de Sousa (Examinadora Externa)
Universidade Federal de Pernambuco

Dr. Franz de Assis Graciano dos Santos (Examinador Externo)
Universidade Federal de Pernambuco

Profa. Dra. Neiva Tinti de Oliveira (Examinadora Interna)
Universidade Federal de Pernambuco

Dr. Renan do Nascimento Barbosa (Examinador Externo)
Universidade Federal de Pernambuco

*Dedico este trabalho a **Deus**, alicerce para minha existência, a **meus pais** José Hélio B. Sobral e Lení V. Sobral, **minhas irmãs** Analaura de V. Sobral e Helení de V. Sobral, **meus sobrinhos** Henrique S. Vian e Guilherme S. Vian - **minha família**, razão do meu amanhecer todos os dias e por quem sinto um amor infinito. A **amiga** Bruna Rodrigues de Sousa, luz, guerreira e “coori coorientadora” que segurou minha mão com firmeza e não largou por nenhum instante. A **todos** que não tiveram oportunidade de cursar uma acadêmica ou que foram subestimados da sua capacidade técnico-científica.*

AGRADECIMENTOS

A Deus por seu imenso amor e proteção, por escutar meu silêncio, ler meu coração e confortar minhas dores, por estar presente nas alegrias, não me abandonar na escuridão e me oportunizar dias de luz. Por me fazer capaz, por todas as oportunidades a mim confiadas e por teus instrumentos, anjos que colocas no meu caminho para me apoiar e segurar minha mão, sobretudo, por me amparar em família. Gratidão!

A minha família por todo amor, dedicação e compreensão, por não medirem esforços para me incentivar e comemorar cada pequena conquista. Por sonhar e lutar comigo, pelos ensinamentos de vida, por entenderem e respeitarem minha ausência, e por todas as orações – por tudo enfim – dou graças por tê-los. Em especial, meu agradecimento a minha irmã Helení Sobral que me acolheu em sua casa ao longo desses anos, com carinho, cuidado e escuta terapêutica. Pelos ensinamentos alcançados pelo convívio, risadas gratuitas, baladas e momentos de descontração. Vocês são meu porto seguro.

A Doutora Roberta Cruz pelo incentivo e confiança, por enxergar um potencial que por vezes questionei. Obrigado!

A minha orientadora, Doutora Cristina Maria de Souza Motta por me receber esta Enfermeira às cegas e acreditar que seria possível. Por prover todos os recursos requeridos ao doutoramento, pelo carinho, confiança e por me presentear com coorientadores maravilhosos.

Ao meu coorientador, Doutor Diogo Lima Xavier que apesar do pouco contato, contribuiu singularmente para o andamento da tese e artigos, particularmente para meu aprendizado. Meus sinceros agradecimentos pela atenção e trato sempre cortês, praticidade nas orientações, paciência nas correções e por se fazer sempre muito acessível.

Ao meu coorientador, Doutor Reginaldo Gonçalves de Lima Neto por me receber aos quarenta e cinco do segundo tempo e planejar com carinho um segundo e novo estudo para me socorrer. Agradeço toda sutileza, disponibilidade, presteza, objetividade e clareza nas orientações, em especial por colocar a minha disposição sua filha científica. Registro aqui minha satisfação de ter passado por seu crivo, ainda que mediante o pouco contato.

Ao meu colaborador, Doutor Renan Barbosa do Nascimento que esteve me apoiando e orientando em todas as etapas do processo de doutoramento. Foram contribuições preciosas para meu crescimento profissional. Obrigado pelas gentilezas de sempre, pela paciência e estímulo, por todo carinho e torcida, e especialmente pelas conversas e momentos de reflexão.

A amiga, Mestra Joenny Maria da Silveira de Lima Gaston pela cumplicidade, confiança, carinho, incentivo, orientação e escuta. Por sua parceria na labuta e nos cursos

ministrados, por me direcionar, esclarecer dúvidas e me resgatar todas as vezes que estive perdida em meio aos fungos. Pelos momentos de aprendizado, especialmente durante o desenvolvimento do primeiro projeto. Você é um grato presente que Deus colocou na minha vida e que não tenho como mensurar tamanha gratidão e apreço. Tens toda minha estima por seres quem és. Te guardarei no coração.

A amiga, Doutora Bruna Rodrigues de Souza não apenas por me receber, me acompanhar e me orientar durante todas as etapas do segundo projeto, mas sobretudo, por me adotar com carinho e paciência, mesmo vivenciando um momento igualmente complexo do doutorado. Ainda assim, se fez presente, amiga, companheira, orientadora, encorajadora. Não existem palavras que descrevam sua importância na minha trajetória pessoal e profissional. Todos os louros serão poucos para você. Mais que um presente, você entrou na minha vida como consagração do amor que Deus tem por mim. Te guardarei no coração enquanto vida tiver.

Aos colegas e amigos que a Universidade Federal de Pernambuco me permitiu conquistar e aos que compõem a turma de “fungados” 2018 do Programa de Pós-graduação em Biologia de Fungos, Departamento da Micologia, Laboratório de Taxonomia e Biotecnologia Utilizando Fungos da Micoteca URM/UFPE e demais laboratórios.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa que viabilizou a concretização deste trabalho.

A Doutora Laura Mesquita Paiva pela oportunidade concedida para cumprimento dos estágios à docência na disciplina de Biologia de Fungos e Líquens que me proporcionou uma rica experiência que culminou em laços educacionais e de amizade. Mais que um estágio de cunho obrigatório, uma atividade prazerosa.

Aos doutores Adriana Silva Dantas, Ana Maria Begotti, Edinaldo Brito dos Santos, Marcus Vinicius de Moraes Sousa e Valéria Vasconcelos que contribuíram para estabilidade da minha saúde mental nessa batalha hercúlea – confesso, mas que são processos evitáveis que a dinâmica dos perfis impostos não permitem que flua de maneira mais prazerosa que desestimulante. No entanto, os desafios estão para serem enfrentados com resiliência.

As amigas Mestra Cláudia Germania de Alencar de Castro e Doutora Mônica Patrícia da Silva Sales, anjos que Deus me concedeu, amigas de longa data, de encontros causais, mas verdadeiras e diferenciadas, para contar sempre nos melhores e nos mais difíceis momentos da vida. Guerreiras que me inspiram!

Aos colaboradores anônimos que contribuíram com sugestões valiosas ao longo dos anos.

***Não fui eu que ordenei a você? Seja forte e corajoso!
Não se apavore nem desanime, pois, o Senhor, o seu
Deus, estará com você por onde você andar.***

Josué 1:9

Se Deus disse que eu posso, então eu posso!

Irei e não temerei mal algum.

Filipenses 4:13

A cada passo, um agradecimento.

Lei da gratidão

RESUMO

Fungos anemófilos são os principais contaminantes dos ambientes climatizados artificialmente, constituindo um problema de saúde pública desafiador e preocupante em todo mundo. Além disso, são uma das principais causas de infecções relacionadas à assistência à saúde no Brasil. Nesse contexto, exposição e sensibilização fúngica em ambientes fechados podem exacerbar doenças alérgicas. O objetivo do estudo foi avaliar o perfil de suscetibilidade antifúngica e alergenicidade de fungos anemófilos de um hospital terciário de Caruaru, Pernambuco, Brasil. Amostras de ar atmosférico foram coletadas em quatro áreas críticas do hospital por técnica de sedimentação passiva. As colônias foram purificadas e identificadas por técnica morfológica e molecular. Espécies termofílicas foram selecionadas para determinar o perfil de suscetibilidade *in vitro* e para detecção *in vitro* de alérgenos utilizando o tampão CHAPS como reagente de extração e o kit de imunoenensaio. *Aspergillus*, *Penicillium* e *Cladosporium* foram os gêneros mais prevalentes entre os ambientes estudados. Espécies patogênicas de *Aspergillus*, *Purpureocillium* e *Rhizomucor* foram isoladas em maior parte do centro cirúrgico (64,7%; n=11/17). O itraconazol foi mais atuante contra espécies de *Aspergillus*. Anfotericina B foi o único fármaco capaz de combater *A. costaricensis* (CIM 0,25µg/mL) e *A. neoafricanus* (URM 8574) não foi responsivo a nenhum antifúngico avaliado, sendo considerado como potencialmente resistente. O isavuconazol foi mais eficaz frente a *P. lilacinum* (CIM 0,125µg/mL). E *R. pusillus* respondeu melhor a anfotericina B (CIM 0,25µg/mL). As cepas de *A. costaricensis* (URM 8569), *A. terreus* (URM 8578) e *P. lilacinum* apresentaram potencial elevado para alergenicidade enquanto *R. pusillus* revelou baixo potencial. Documentou-se a primeira ocorrência de *P. costaricense* para a América do Sul, seu primeiro relato como anemófilo e o segundo registro mundial. Este estudo contribui para o conhecimento da distribuição geográfica dos fungos anemófilos em ambiente hospitalar, bem como, para a conscientização da higiene ambiental em saúde. Além disso, alerta para o surgimento de espécies com perfis patogênicos ou alergênicos presentes nesses ambientes.

Palavras-chave: Bioaerossóis fúngicos; Hipersensibilidade fúngica; Infecções relacionadas à assistência à saúde; Resistência antifúngica; Segurança do paciente.

ABSTRACT

Airborne fungi are the main contaminants of artificially conditioned environments, constituting a challenging and worrying public health problem worldwide. In addition, they are one of the main causes of healthcare-associated infections in Brazil. In this context, indoor fungal exposure and sensitization can exacerbate allergic diseases. The aim of the study was to evaluate the antifungal susceptibility and allergenicity profile of airborne fungi from a tertiary hospital in Caruaru, Pernambuco, Brazil. Atmospheric air samples were collected in four critical areas of the hospital using the passive sedimentation technique. Colonies were purified and identified by morphological and molecular technique. Thermophilic species were selected to determine the in vitro susceptibility profile and for in vitro detection of allergens using CHAPS buffer as extraction reagent and the immunoassay kit. *Aspergillus*, *Penicillium* and *Cladosporium* were the most prevalent genera among the environments studied. Pathogenic species of *Aspergillus*, *Purpureocillium* and *Rhizomucor* were isolated in most of the operating room (64.7%; n=11/17). Itraconazole was more active against *Aspergillus* species. Amphotericin B was the only drug able to combat *A. costaricensis* (MIC 0.25µg/mL) and *A. neoafricanus* (URM 8574) was not responsive to any antifungal evaluated, being considered as potentially resistant. Isavuconazole was more effective against *P. lilacinum* (MIC 0.125µg/mL). And *R. pusillus* responded better to amphotericin B (MIC 0.25µg/mL). The strains of *A. costaricensis* (URM 8569), *A. terreus* (URM 8578) and *P. lilacinum* showed high potential for allergenicity while *R. pusillus* showed low potential. The first occurrence of *P. costaricense* for South America was documented, its first report as an anemophilous and the second worldwide record. This study contributes to the knowledge of the geographic distribution of airborne fungi in the hospital environment, as well as to the awareness of environmental hygiene in health. In addition, it warns of the emergence of species with pathogenic or allergenic profiles present in these environments.

Key words: Fungal bioaerosols; Fungal hypersensitivity; Healthcare-associated infections; Antifungal resistance; Patient safety.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Gráfico 1	Percentual de espécies de fungos anemófilos identificados em um hospital terciário de Caruaru, Pernambuco, Brasil.....	47
Gráfico 2	Frequência de similaridade dos fungos anemófilos isolados nas áreas do Centro Cirúrgico (CC), Corredor do Centro Cirúrgico (CCC), Unidade de Terapia Intensiva (UTI) e área externa da UTI (AE-UTI) do hospital terciário de Caruaru, Pernambuco, Brasil por meio de diagrama de Venn.....	52
Gráfico 3	Análise de similaridade de Bray-Cutis da composição de fungos anemófilos entre as áreas de Centro Cirúrgico (CC), corredor do Centro Cirúrgico (CCC), Unidade de Terapia Intensiva (UTI) e área externa da UTI (AE-UTI) do hospital terciário de Caruaru, Pernambuco, Brasil.....	55
Figura 1	Análise morfológica dos representantes das espécies fúngicas anemófilos com potencial patogênico isoladas de um hospital terciário de Caruaru, Pernambuco, Brasil	56
Figura 2	Filograma obtido por análise de verossimilhança a partir de sequências do gene <i>BenA</i> mostrando o posicionamento de 15 cepas do gênero <i>Aspergillus</i> isolado do ar atmosférico de CC e UTI de um hospital terciário de Caruaru, Pernambuco, Brasil. <i>Penicillium brasilianum</i> CBS 253.55 foi utilizado como grupo externo. Os valores de bootstrap acima de 70% são mostrados pertos dos nós. Os representantes destacados na cor azul foram obtidos nesse estudo.....	56
Figura 3	Filograma obtido por análise de verossimilhança a partir de sequências do gene <i>LSU</i> mostrando o posicionamento de uma cepa do gênero <i>Purpureocillium</i> isolado do ar atmosférico de CC e UTI de um hospital terciário de Caruaru, Pernambuco, Brasil. <i>Penicillium limosum</i> CBS 339.97 foi utilizado como grupo externo. Os valores de bootstrap acima de 70% são mostrados pertos dos nós. Os representantes destacados na cor azul foram obtidos nesse estudo.....	57
Figura 4	Filograma obtido por análise de verossimilhança a partir de sequências do gene <i>ITS</i> mostrando o posicionamento de uma cepa do gênero <i>Rhizomucor</i> isolado do ar atmosférico de CC e UTI de um hospital	

terciário de Caruaru, Pernambuco, Brasil. *Mucor irregularis* CBS 103.93 foi utilizado como grupo externo. Os valores de bootstrap acima de 70% são mostrados pertos dos nós. Os representantes destacados na cor azul foram obtidos nesse estudo..... 58

Gráfico 4 Perfil de suscetibilidade dos isolados ambientais de *Aspergillus* sp. frente a Anfotericina B (AmB), Itraconazol (ITR) e voriconazol (VRC)..... 59

Gráfico 5 Potencial alergênico de cepas fúngicas anemófilos obtidos de um hospital terciário de Caruaru, Pernambuco, Brasil..... 64

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	<i>Primers</i> utilizados para obtenção de sequência de genes específicos para identificação molecular dos fungos filamentosos anemófilos.....	43
Tabela 2	Fungos anemófilos isolados nas áreas do Centro Cirúrgico (CC), Corredor do Centro Cirúrgico (CCC), Unidade de Terapia Intensiva (UTI) e área externa da UTI (AE-UTI) do hospital terciário de Caruaru, Pernambuco, Brasil.....	53
Tabela 3	Perfil de suscetibilidade antifúngica in vitro de fungos anemófilos no Centro Cirúrgico (CC), corredor do Centro Cirúrgico (CCC), Unidade de Terapia Intensiva (UTI) e área externa da UTI (AE-UTI) no hospital terciário de Caruaru, Pernambuco, Brasil.....	63
Tabela 4	Imunodeteção in vitro de alérgenos fúngicos nas áreas do Centro Cirúrgico (CC), Corredor do Centro Cirúrgico (CCC), Unidade de Terapia Intensiva (UTI) e UTI externa (AE-UTI) do hospital terciário de Caruaru, Pernambuco, Brasil.....	65

LISTA DE ABREVIATURAS

AE-UTI	Área Externa da Unidade de Terapia Intensiva
AmB	Anfotericina B
API	Aspergilose Pulmonar Invasiva
CC	Centro Cirúrgico
CCC	Corredor do Centro Cirúrgico
CIM	Concentração Inibitória Mínima
CLSI	Clinical and Laboratory Standards Institute
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
ECV	Epidemiological Cutoff Value (Valor de Corte Epidemiológico)
EUCAST	European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing
IFIs	Infecções Fúngicas Invasivas
IRAS	Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde
ISA	Isavuconazol
ISCs	Infecções em Sítios Cirúrgicos
ITR	Itraconazol
IV	Intravenosa
LBA	Lavado Broncoalveolar
MEA	Malt Extract Ágar (Ágar Extrato de Malte)
PCR	Reação em Cadeia da Polimerase
POS	Posaconazol
SDA	Sabouraud Dextrose Ágar (Ágar Sabouraud Dextrose)
TSA	Teste de Suscetibilidade Antifúngica
UFC	Unidade Formadora de Colônia
UTI	Unidade de Terapia Intensiva
VO	Via Oral
VRC	Voriconazol

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	16
2	OBJETIVOS.....	17
2.1	OBJETIVO GERAL.....	17
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	17
3	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	18
3.1	FUNGOS ANEMÓFILOS.....	18
3.2	FUNGOS ANEMÓFILOS EM AMBIENTE HOSPITALAR.....	19
3.2.1	Gênero <i>Aspergillus</i>.....	21
3.2.2	Gênero <i>Purpureocillium</i>.....	23
3.2.3	Gênero <i>Rhizomucor</i>.....	25
3.2.4	Outros gêneros fúngicos.....	27
3.3	INTERVENÇÕES TERAPÊUTICAS ASSOCIADAS A INFECÇÕES POR FUNGOS ANEMÓFILOS.....	30
3.3.1	Tratamento antifúngico.....	30
3.3.1.1	Anfotericina B.....	31
3.3.1.2	Azólicos.....	33
3.3.1.2.1	Isavuconazol.....	33
3.3.1.2.2	Itraconazol.....	34
3.3.1.2.3	Posaconazol.....	35
3.3.1.2.4	Voriconazol.....	36
3.3.2	Demais intervenções.....	37
3.4	PERFIL DE SUSCETIBILIDADE DE FUNGOS ANEMÓFILOS.....	38
3.5	ALERGENICIDADE	40
4	MATERIAIS E MÉTODOS.....	42
4.1	LOCAL DO ESTUDO.....	42
4.2	COLETA E ISOLAMENTO DOS FUNGOS ANEMÓFILOS.....	42
4.3	IDENTIFICAÇÃO MORFOLÓGICA DOS FUNGOS.....	42
4.4	IDENTIFICAÇÃO MOLECULAR DOS FUNGOS.....	43
4.4.1	Extração de DNA, amplificação por PCR e sequenciamento.....	43
4.4.2	Análise filogenética.....	44
4.5	ELEGIBILIDADE DE ANEMÓFILOS TERMOTOLERANTES.....	45

4.6	ANÁLISE ECOLÓGICA.....	45
4.7	TESTE DE SUSCETIBILIDADE ANTIFÚNGICA <i>in vitro</i>	45
4.8	DETECÇÃO <i>in vitro</i> DE ALÉRGENOS POR IMUNOENSAIO.....	45
5	RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	47
5.1	FUNGOS ANEMÓFILOS DE AMBIENTES HOSPITALARES CRÍTICOS.....	47
5.2	ECOLOGIA DE FUNGOS ANEMÓFILOS.....	52
5.3	DETECÇÃO DE TERMOTOLERÂNCIA DE FUNGOS ANEMÓFILOS...	55
5.4	PERFIL DE SUSCETIBILIDADE ANTIFÚNGICA DE FUNGOS ANEMÓFILOS	59
5.5	ALERGENICIDADE.....	64
5.4	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	67
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	68
	APÊNDICE A: First report of <i>Penicillium costaricense</i> Visagie, M. Urb & Seifert (Eurotiales, Ascomycota) in South America and a second report for the world.....	92
	APÊNDICE B: Peritonitis by <i>Paecilomyces formosus</i>: first case report and literature review.....	99
	APÊNDICE C: First of <i>Aspergillus hongkongensis</i> C. C. Tsang <i>et al.</i> (Eurotiales, Ascomycota) in South America and the third report worldwide.....	103
	APÊNDICE D: Fungi in the hospital environment: profile of antifungal susceptibility and allergenicity.....	110

1 INTRODUÇÃO

Fungos anemófilos são considerados os principais contaminantes dos ambientes climatizados artificialmente, constituindo um grave problema de saúde pública e uma das principais causas de Infecções Relacionadas à Assistência À Saúde (IRAS) em ambientes hospitalares do Brasil (CALUMBY *et al.*, 2019).

Nos últimos anos, o grau de contaminação por esses microrganismos aumentou em demasia, por vezes, devido as gestões inadequadas de inspeção hospitalar (AGWARANZE *et al.*, 2020). Em geral, ambientes críticos como Unidade de Terapia Intensiva (UTI) e Centro Cirúrgico (CC) são as áreas mais vulneráveis para a presença destes microrganismos, pois assistem indivíduos com alto comprometimento do estado de saúde (RUIZ; PEREIRA, 2016; SANTOS *et al.*, 2016; BERRÍOS-TORRES *et al.*, 2017; SOLOMKIN *et al.*, 2017).

Em virtude da necessidade de prevenção e controle de infecções, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) do Brasil, através da Resolução da Diretoria Colegiada nº 9, de 16 de janeiro de 2003, determinou critérios técnicos para higienização e manutenção de equipamentos de climatização artificial, designando como inaceitável a existência de fungos patogênicos e toxigênicos nesses ambientes (BRASIL, 2003). Apesar disso, IRAS causadas por fungos ainda são comumente descritas em pacientes críticos e estão relacionadas a altas taxas de morbimortalidade (OLIVEIRA *et al.*, 2020).

Os fungos anemófilos são responsáveis por cerca de 10 a 20% das infecções hospitalares e a exposição aos esporos de *Alternaria* Ness., *Aspergillus* P. Micheli ex Haller, *Penicillium* Link e ordem Mucorales podem acarretar distúrbios respiratórios, pneumonite por hipersensibilidade e síndromes tóxicas a depender do grau de imunocompetência do hospedeiro (PFALLER *et al.*, 2018; WALTHER; WAGNER; KURZAI, 2019; AGWARANZE *et al.*, 2020; KIDD; ABDOLRASOULI; HANGER, 2023). Além disso, alguns destes patógenos especialmente os oportunistas também podem se comportar como aeroalérgenos e causar doenças alérgicas do tipo I ou sensibilizações motivando rinite alérgica mediada por Imunoglobulina E (IgE), asma e dermatite atópica.

O conhecimento acerca da presença e diversidade de fungos anemófilos de um ambiente crítico como o hospitalar, é de suma importância para o diagnóstico e tratamento das doenças respiratórias e alérgicas presentes neste ambiente. Além disso, determinar e monitorar o perfil de suscetibilidade antifúngica e mecanismos de resistência aos agentes comumente empregados na terapia destas infecções é fundamental (PFALLER *et al.*, 2018). Concomitantemente, torna-se urgente a necessidade de protocolos que estabeleçam pontos de cortes clínicos para espécies filamentosas (SOUSA *et al.*, 2022).

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar o perfil de suscetibilidade antifúngica e alergenicidade de fungos anemófilos de um hospital terciário de Caruaru, Pernambuco, Brasil.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Isolar e identificar ao táxon de espécie fungos anemófilos do CC e UTI de um hospital terciário de Caruaru por abordagem polifásica;
- Selecionar isolados ambientais com base no perfil termofílico de crescimento;
- Avaliar o perfil de suscetibilidade antifúngica de isolados termofílicos frente voriconazol, itraconazol, isavuconazol e anfotericina B;
- Avaliar o perfil de alergenicidade dos isolados termofílicos;
- Incorporar as espécies que apresentem resistência antifúngica e alergênica ao acervo da Coleção de Culturas – URM/UFPE (*University Recife Mycologia/Universidade Federal de Pernambuco*).
- Informar os resultados obtidos à Comissão de Controle de Infecção Hospitalar do hospital incluído no estudo;

3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1 FUNGOS ANEMÓFILOS

O microbioma do ar é composto por microrganismos suspensos na atmosfera ou transportados através de partículas de poeira com capacidade de causar doenças e afetar o clima (RAGHAV *et al.*, 2020). Essa microbiota pode ser encontrada livre ou como bioaerossóis, que são caracterizados como partículas de vírus, bactérias, fungos e outros fragmentos, como detritos de plantas, animais, micotoxinas e enzimas - produtos do metabolismo microbiano, que podem ser aerossolizados por diversos processos naturais ou humanos, e conduzidos por longas distâncias influenciando a diversidade, abundância e disposição da comunidade microbiana (MBARECHE; MORAWSKA; DUCHAINE, 2019; HU *et al.*, 2020).

As partículas biológicas presentes no ar estão envolvidas nos ciclos de carbono, nitrogênio, enxofre e fósforo, com expressivo papel nas alterações climáticas, a exemplo da condensação de nuvens ou núcleos de gelos (FRÖHLICH-NOWOISKY *et al.*, 2016). A capacidade microbiana de crescer e proliferar é determinada pela umidade, mas, a abundância de partículas, a identidade e diversidade dos bioaerossóis não estão claramente definidos (FRÖHLICH-NOWOISKY *et al.*, 2016; AGWARANZE *et al.*, 2020).

Neste contexto, determinar a correlação existente entre exposição a bioaerossóis e danos à saúde é algo desafiador para especialistas. De modo geral, monitorar adequadamente a exposição devido a fatores como patogenicidade ou potencial imunogênico intrínseco a cada organismo, bem como aspectos ambientais que motivam a sobrevivência microbiana e a atuação das partículas na atmosfera reflete a importância dessa temática (MBARECHE; MORAWSKA; DUCHAINE, 2019).

No que se refere a fungos, Schahawi (2019) relata que existem aproximadamente 300.000 espécies descritas, sendo cerca de 200 referidas como patógenos aptos a provocar infecções em humanos. Estes organismos são ubíquos, cosmopolitas, eucariontes, heterotróficos, uni ou pluricelulares e a grande maioria são filamentosos (SILVA *et al.*, 2016; ALENCAR *et al.*, 2019). Os fungos filamentosos são formados por micélio que consiste em um conjunto de hifas ramificadas com capacidade de aerossolizar ambientes diversificados e colonizar diversos substratos de maneira simples e eficiente. Constituindo um grupo bastante comum, os fungos filamentosos se reproduzem de forma sexuada e assexuada - e em sua maioria pela produção de esporos denominados conídios (EMYGDIO *et al.*, 2018; SON *et al.*, 2021). A dispersão mais comum é o ar atmosférico e quando dispersos por esta via são denominados fungos anemófilos (LIMA; LIMA; SILVA, 2019).

Os fungos anemófilos são caracterizados por uma gama de gêneros e espécies, considerados, em sua maioria, como os principais contaminantes de ambientes fechados e

climatizados artificialmente - a exemplo do ambiente hospitalar, e podem se comportar como alergênicos - se inalados, ou oportunistas (ALENCAR *et al.*, 2019; OLIVEIRA *et al.*, 2020). Em ambientes hospitalares, os estudos focados em bactérias excedem o número de estudos relacionados a fungos, no entanto, esta temática precisa de atenção devido a grande habilidade proliferativa, a qual é formada pela umidade e matéria orgânica acumulada em equipamentos e superfícies, que podem facilmente favorecer sua proliferação, tornando o ar circulante impróprio e conduzindo agravos à saúde (OLIVEIRA *et al.*, 2020; TIEW *et al.*, 2020).

O nível de contaminação por fungos anemófilos no ar do ambiente climatizado artificialmente está intrinsecamente relacionado aos seguintes fatores: substrato de crescimento, vazamento de água, acúmulo de umidade e poeira, manuseio inadequado ou defeito nos equipamentos de climatização artificiais, presença de plantas ou terrenos desabitados em áreas circunvizinhas, ventilação deficiente, atividade desenvolvida no ambiente, circulação elevada de indivíduos, reforma ou construção predial e descarte incorreto de alimentos (BOLOOKAT *et al.*, 2018; PRIYAMVADA *et al.*, 2018; AGWARANZE *et al.*, 2020).

3.2 FUNGOS ANEMÓFILOS EM AMBIENTE HOSPITALAR

Fungos são comuns ao ambiente hospitalar e tem alterado a epidemiologia das infecções nesse ambiente nos últimos dez anos (BAJPAI *et al.*, 2019). Tal aumento, provavelmente, ocorre em virtude do quantitativo de diferentes espécies patógenas ao homem, que podem estar em ascendência e negligenciadas como responsáveis por infecções emergentes, que vêm afetando não apenas imunocomprometidos, mas também imunocompetentes (ALIM; GOEL; CHAUDHARY, 2018; LOCKHART; GUARNER, 2019).

Além disso, estes ambientes também são uma via importante para a transmissão de IRAS, pois cerca de 20% delas são causadas por fungos patogênicos que estão presentes na corrente de ar, contribuindo assim para o aumento destas infecções (ALENCAR *et al.*, 2019; STOCKWELL *et al.*, 2019; AGWARANZE *et al.*, 2020).

As infecções hospitalares fúngicas são causadas por fungos anemófilos e estão relacionadas aos fatores de virulência do microrganismo, suscetibilidade do indivíduo e o próprio ambiente hospitalar (FIGUEIREDO, 2012). Os fatores de risco que contribuem para a suscetibilidade do paciente à infecção são idade, doença crônica, uso indiscriminado de antimicrobianos, imunossupressão, procedimentos invasivos, exposição tecidual, manuseio inadequado de material médico cirúrgico e imprecisão nas técnicas de controle de infecções (ALENCAR *et al.*, 2019).

Fungos anemófilos podem desencadear irritação de mucosas e processos alérgicos em indivíduos sensíveis aos metabólitos toxigênicos, além de, micoses superficiais que podem

progredir para Infecções Fúngicas Invasivas (IFIs) que apresentam mundialmente incidência anual variando entre 200 mil e 1 milhão, com mortalidade entre 20 e 90% (TIEW *et al.*, 2020).

As infecções oportunistas mais graves que podem ser adquiridas por inalação de esporos são: aspergilose, mucormicose e talaromicose (peniciliose) (BROWN *et al.*, 2012; JIANG; LIU; ZENG, 2021). Outras, em ascensão são, a hialohifomicose que tem como principal patógeno oportunista e emergente humano a espécie *Purpureocillium lilacinum* (Thom) Luangsa-ard, Houbraken, Hywel-Jones & Samson e a feohifomicose que, embora mais raramente implicado em patologias humanas, seu principal agente pertence a *Cladosporium* Link. (SPRUTE *et al.*, 2021; IBRAHIM *et al.*, 2022).

No que concerne a IFI, a fungemia é a manifestação clínica mais comum, onde mais de 95% são causadas por *Candida* spp. porém, outros fungos patogênicos podem provocar este tipo de infecção. Ainda menos comum são os Infecções invasivas por fungos filamentosos são raras devido as características morfológicas destes microrganismos que não penetram na corrente sanguínea como as leveduras e, portanto, não causam fungemias verdadeiras. Mas, os gêneros *Aspergillus*, *Fusarium* Link, *Pseudallescheria* Negr. & I. Fisch. e *Purpureocillium* podem causar fungemias verdadeiras, sendo uma exceção entre os fungos filamentosos (TOMAZIN; MATOS, 2022).

Um assunto que provoca preocupação em ambiente hospitalar é a contaminação do ar climatizado artificialmente em salas cirúrgicas por ser um fator determinante para o surgimento de Infecções em Sítios Cirúrgicos (ISCs), em geral, devido a deposição direta de microrganismos na incisão cirúrgica ou em superfícies de equipamentos e instrumentais expostos que consequentemente poderão ser transferidos para a ferida operatória (PASQUARELLA *et al.*, 2020).

As ISCs são responsáveis por 13 a 17% da totalidade de IRAS, sendo 10 a 24% ocasionadas por bioaerossóis, os percentuais são expressivos em se tratando de infecções oriundas de SC que requerem impecabilidade higiênica e carga microbiana notadamente reduzida. Entretanto, as ISC ocupam atualmente a terceira posição dentre todas as IRAS vinculadas a hospitalização no Brasil (ALENCAR *et al.*, 2019; TOTARO *et al.*, 2019; ABBASI *et al.*, 2020; PASQUARELLA *et al.*, 2020).

Fatores como uso inadequado do uniforme, abertura parcial ou total das portas de acesso as SC durante parte ou todo o procedimento cirúrgico, fluxo intenso de profissionais circulando as salas, o período intraoperatório expondo os planos anatômicos até o término do procedimento, contribuem efetivamente para o aumento das ISC (COSTA *et al.*, 2019).

As IRAS consomem anualmente cerca de 10 bilhões de dólares. A maior parte dos recursos econômicos são destinados ao tratamento de infecções sistêmicas em UTIs, no entanto, 34% do subsídio é destinada às ISCs e mesmo mediante a empregabilidade de recursos para tratamento das

infecções hospitalares, os patógenos fúngicos conduzem ao óbito cerca de 1,5 milhões de indivíduos a cada ano (POLI *et al.*, 2018; BAJPAI *et al.*, 2019; TOTARO *et al.*, 2019).

Para dimensionar a presença de fungos aerossolizados em ambiente crítico, um estudo realizado em 2007 por Vicent *et al.* envolvendo 1.265 UTIs em 75 países, observou que 19% dos fungos patógenos isolados estavam presentes nas infecções que acometem pacientes assistidos nas unidades (BAJPAI *et al.*, 2019). Como a maioria das infecções são de caráter exógeno, ou seja, adquiridas por meio do sistema de climatização artificial - e esse é o principal foco de disseminação fúngica, o Brasil passou a contar desde 2003 com uma legislação que orienta a qualidade do ar interior de ambientes climatizados artificialmente (BRASIL, 2003; GONÇALVES *et al.*, 2018).

Tais infecções estão associadas a vários gêneros fúngicos que impactam negativamente a saúde de pacientes, colocando em risco indivíduos não hospitalizados como profissionais de saúde, acompanhantes e visitantes. Diante disto, estudos relacionando fungos anemófilos à qualidade do ar climatizado artificialmente em ambientes hospitalares foram desenvolvidos ao longo dos anos (AGWARANZE *et al.*, 2020).

As espécies anemófilas geralmente isoladas nestes ambientes são *Alternaria alternata* (Fr.) Keissl., *A. tenuissima* (Kunze) Wiltshire, *Aspergillus flavus* Link, *A. fumigatus* Fresen., *A. niger* Tiegh, *A. sydowii* (Bainier & Sartory) Thom & Church, *A. terreus* Thom, *Acremonium* sp. Link, *Cladosporium cladosporioides* (Fresen.) GA de Vries, *C. oxysporum* Berk. & MA Curtis, *Curvularia clavata* BL Jain, *C. lunata* (Wakker) Boedijn, *C. pallescens* Boedijn, *Fusarium incarnatum* (Desm.) Sacc., *F. proliferatum* (Matsush.) Nirenberg, *Penicillium aurantiogriseum* Dierckx, *P. chrysogenum* Thom, *P. citrinum* Thom, *P. solitum* Westling, *Rhizopus* sp. Ehrenb. e *Talaromyces marneffeii* (SALES *et al.*, 2011; SAMSON *et al.*, 2011; SILVA *et al.*, 2016; BAJPAI *et al.*, 2019; CALUMBY *et al.*, 2019; COSTA *et al.*, 2019; NASCIMENTO *et al.*, 2019; SOUZA *et al.*, 2019; PASQUARELLA *et al.*, 2020; CHOUBDAR *et al.*, 2022; HASSAN; ZEESHAN, 2022; PRIGITANO *et al.*, 2022).

3.2.1 Gênero *Aspergillus*

O gênero *Aspergillus* (1768), descrito em 1729, está inserido taxonomicamente no filo Ascomycota (WIJAYAWARDENE *et al.*, 2020). A classificação sistemática baseia-se na abordagem morfológica (especialmente na cor do conídio, morfologia do conidióforo e taxas de crescimento em meios de cultura), amparada por dados fisiológicos - produção de extrolícticos e moleculares das regiões do espaçador transcrito interno (*Internal Transcribed Spacer - ITS*), calmodulina (*Calmodulin - CaM*), beta-tubulina (*Beta-tubulin - BenA*) e segunda maior subunidade do ácido ribonucleico (RNA) polimerase II (*Second largest subunit of RNA polimerase II - RPB2*)

por Reação em Cadeia da Polimerase (*Polymerase Chain Reaction* - PCR) (HOUBRAKEN *et al.*, 2020).

O gênero é subdividido em seis subgêneros, 27 seções, 75 séries e possui cerca de 446 espécies atualmente incorporadas, que habitam naturalmente diversos substratos como solo, vegetação, esterco, ambientes internos e extremos, além de englobar patógenos humanos (BARBOSA *et al.*, 2020; HOUBRAKEN *et al.*, 2020).

Na condição de patógeno humano, o gênero *Aspergillus* pode conduzir à aspergilose, que apresenta diversas formas clínicas. Tal espectro de formas clínicas pode variar entre aspergilose broncopulmonar alérgica, aspergiloma (bola fúngica), aspergilose pulmonar crônica e aspergilose pulmonar invasiva (API). Dentre as espécies do gênero, as mais comuns envolvidas em infecções são *A. flavus*, *A. fumigatus*, *A. nidulans* (Eidam) G. Winter, *A. niger*, *A. terreus*, *A. ustus* (Bainier) Thom & Church, entre outras (KONTOYIANNIS *et al.*, 2010; SEVILHA *et al.*, 2017; BANDRES; SHARMA, 2018; BLANCHARD *et al.*, 2018; ABASTABAR *et al.*, 2022).

A aspergilose invasiva possui mortalidade de 30 a 95%, sendo possível observar, epidemiologicamente, que a incidência deste agravo está em ascensão, sendo cada vez mais diagnosticada em portadores de mieloma múltiplo, embora muitas vezes o laudo conclusivo só é revelado no exame de necropsia (BAJPAI *et al.*, 2019; TIEW *et al.*, 2020).

Além da aspergilose, o gênero *Aspergillus* pode estar envolvido em casos de meningite, otomicose, ceratite, endoftalmite, rinossinusite alérgica, endocardite, pericardite, bem como infecções cutâneas, osteoarticulares, trato urinário, infecções de feridas, entre outros (LÓPEZ *et al.*, 2021; SATHE *et al.*, 2021; ABASTABAR *et al.*, 2022).

Aspergillus fumigatus é o patógeno responsável por cerca de 80% das IFIs no trato respiratório, sendo API a forma clínica da aspergilose mais prevalente em UTI (SILVA *et al.*, 2017). O perfil dos acometidos por esta infecção são pacientes em estado crítico ou portadores de doença pulmonar obstrutiva crônica causando traqueobronquite, pneumonia, aspergiloma e aspergilose pulmonar cavitária com ou sem aspergiloma (TIEW *et al.*, 2020).

Por outro lado, *A. terreus* apresenta tropismo pelo tecido cutâneo causando pústula, bolhas hemorrágicas, lesão ulcerativa, celulite e abscesso, bem como pelo sistema gastrointestinal causando edema intestinal, obstrução, hemorragia e perfuração. Em contrapartida, *A. flavus* e *A. niger* possuem afinidade pelo SNC e causam hemorragia, meningite, meningoencefalite, infarto cerebral e aneurisma micótico (TIEW *et al.*, 2020).

A relevância da API como IRAS pode ser comprovada pelo estudo realizado por Koehler *et al.* que comprovaram a sua associação com o SARS-CoV-2 causador da Covid – 19, em cinco, dos 19 pacientes em estado crítico internados em UTIs que apresentaram síndrome do desconforto respiratório agudo de moderado a grave, sendo *A. fumigatus* o patógeno (KOEHLER *et al.*, 2020).

Embora *A. fumigatus* seja o responsável pela maioria das infecções, uma outra espécie, *A. nidulans*, que é raramente patogênica, é igualmente importante por ser uma das principais causas de infecções invasivas por aspergilose em pacientes com doença granulomatosa crônica (HENRIET; VERWEIJ; WARRIS, 2012).

Em um estudo realizado por Steenwyk *et al.*, foram sequenciados nove isolados clínicos que haviam sido identificados como *A. nidulans* e que foram isolados de pacientes com várias doenças pulmonares, sendo dois isolados de pacientes com doença granulomatosa crônica. Contudo, as análises fenotípicas e genômicas revelaram que dois isolados pertenciam realmente a *A. nidulans*, um isolado à *A. spinulosporus* Hubka, SW Peterson & M. Kolařík e seis eram espécies híbridas alodiplóides de *A. sublatus* Y. Horie originada da hibridização alodiplóide entre *A. spinulosporus* e uma espécie parental desconhecida, mas pertencente intimamente a *A. quadrilineatus* Thom & Raper que pertencem à mesma seção (*Nidulantes*). Este estudo apresentou o primeiro registro de alopoliploidia em fungos filamentosos patogênicos em humanos e mostrou que *A. sublatus* apresenta mais resistência a drogas antifúngicas que as espécies que o originaram (STEENWYK *et al.*, 2020).

A hibridização pode resultar no aumento da virulência, uma vez que híbridos podem conceder aptidão para várias doenças pulmonares. A hibridização constitui um mecanismo geral que pode ser potencialmente agregado por todos os patógenos fúngicos para adaptar-se a qualquer hospedeiro, colaborando para evolução de patógenos fúngicos filamentosos. Desta forma, *A. sublatus* expressa mecanismos genéticos capazes de promover a expressão de fatores de virulência causando patogenicidade, o que antes não era observado nas espécies não híbridas. Neste caso, em específico, os fatores intrínsecos do hospedeiro também podem ter contribuído para tal temática (STEENWYK *et al.*, 2020).

A conduta terapêutica recomendada para casos de aspergilose extrapulmonar é o voriconazol (VCR); para profilaxia de aspergilose invasiva é usado o posaconazol (POS) devido a sua alta qualidade evidenciada ou VRC que possui qualidade moderada; já para processos alérgicos é indicado o uso de itraconazol (ITR), que em casos de intolerância deve ser substituído por VRC, POS ou anfotericina B lipossomal inalada (PATERSSON *et al.*, 2016).

3.2.2 Gênero *Purpureocillium*

Antigo *Paecilomyces* Bainier (1907), o gênero *Purpureocillium* foi descrito em 2011 e inserido no filo Ascomycota (WIJAYAWARDENE *et al.*, 2020). As espécies do gênero se diferenciam fenotipicamente do *Paecilomyces* pelo crescimento lento em meio de cultura, por

admitirem temperaturas que variam entre 25 e 33 °C, apresentarem cor conidial lilás e não formarem clamidósporos (LUANGSA-ARD *et al.*, 2011).

O gênero é composto pelas espécies: *P. atypicola* (Yasuda) Spatafora, Hywel-Jones & Luangsa-ard, *P. lavendulum* Perdomo, Dania García, Gené, Cano & Guarro, *P. lilacinum* (Thom) Luangsa-ard, Houbraken, Hywel-Jones & Samson, *P. roseum* Calvillo & Raymundo, *P. sodanum* Papizadeh, Soudi, Wijayaw., Shahz. Faz. & KD Hyde, *P. takamizusanense* (Kobayasi) S. Ban, Azuma & Hiroki Sato LUANGSA-ARD *et al.*, 2011). As espécies são identificadas com base na morfologia e PCR das regiões *ITS* e gene do fator de alongamento de tradução (*Translation Elongation Factor – TEF*) (DODD *et al.*, 2002; HOUBRAKEN *et al.*, 2011).

Purpureocillium lilacinum é dimórfico, sendo a única espécie dentro do gênero com capacidade de infectar indivíduos imunocomprometidos e imunocompetentes, causando manifestações clínicas diversificadas e variando entre micoses superficiais a infecções sistêmicas que podem tornar-se fatal. Normalmente, sua porta de entrada envolve a inoculação direta de esporos por meio da quebra da barreira cutânea, uso de dispositivos invasivos como cateteres, inalação e fluidos contaminados pela espécie. A habilidade de esporular no tecido e produzir inúmeros conídios pode certamente explicar a tendência da alta disseminação desta espécie no organismo humano (PASTOR; GUARRO, 2006; KHALIQUE *et al.*, 2019).

Além disso, *P. lilacinum* apresenta tropismo por estruturas oculares e as manifestações clínicas regularmente relatadas em indivíduos são ceratomicose em usuários de lentes de contato, após implante de lente intraocular ou trauma ocular (CHEN *et al.*, 2020). Entretanto, tem sido frequentemente referida como agente etiológico de IFIs, a exemplo de fungemia, endocardite, sinusite invasiva, peritonite e pneumonia (SALAZAR-GONZÁLEZ *et al.*, 2020).

O conhecimento sobre infecções causadas por *P. lilacinum*, fundamenta-se em especial nos relatos de casos. Mediante a escassez desses relatos e a ausência de ensaios clínicos, ainda não há uma definição estabelecida para o manejo da doença, mas, é notório a relevância clínica desta espécie como patógeno oportunista, por está associada à sua potencial resistência aos métodos de esterilização; corriqueira contaminação de cremes e loções antissépticas utilizadas clinicamente, bem como de soluções de bicarbonato de sódio utilizadas como agente neutralizador do esterilizador hidróxido de sódio usado em lentes artificiais; e colonização em dispositivos hospitalares como cateteres e implantes plásticos (SPRUTE *et al.*, 2021).

A IFI por *Purpureocillium* tem sido associada ao imunocomprometimento, a exemplo de infectados pelo vírus da imunodeficiência humana, malignidades hematológicas, receptores de transplante de órgãos sólidos e de células-tronco hematopoiéticas, e em indivíduos com cirrose hepática. As infecções normalmente não ocorrem por inalação, mas, por meio da descontinuidade da pele como feridas ou cateteres vasculares contaminados e causam pneumonia, pielonefrite,

celulite, osteomielite, sinusite e em pacientes gravemente imunodeprimidos, fungemia. A mortalidade por *P. lilacinum* é inferior a 15%, ao contrário dos fungos patogênicos oportunistas comuns (TOMAZIN; MATOS, 2022).

Um estudo prospectivo de vigilância de três anos de um hospital em Little Rock, capital do estado norte-americano do Arkansas, responsável por atendimentos a imunocomprometidos, mostrou que *P. lilacinum* foi comumente encontrado no sistema de distribuição de água de uma unidade de transplante de medula óssea, assim como, na água de caixas d'água, chuveiros, pias, ralos, banheiros e no ar, demonstrando que esta espécie pode se desenvolver em ambientes úmidos e superfícies úmidas do sistemas de distribuição de água, favorecendo a formação de biofilme, associadamente com outras espécies dos gêneros *Aspergillus*, *Fusarium* e *Acremonium* Link (ANAISSIE *et al.*, 2003).

Em 2020, *P. lilacinum* foi relatado causando o primeiro caso de pneumonia bilateral em paciente adulto imunocomprometido devido a neoplasia hematológica com neutropenia grave. Após receber tratamento quimioterápico, o paciente desenvolveu infecção pulmonar com múltiplas consolidações bilaterais evidenciadas por imagem de tórax. A apresentação pulmonar de *P. lilacinum* é uma condição rara e há pouca informação sobre tratamento e prognóstico, mas, a sintomatologia evidenciou febre e tosse, podendo revelar por imagens radiográficas derrame pleural, nodulação pulmonar, doença pulmonar cavitária ou abscesso pulmonar (SALAZAR-GONZÁLEZ *et al.*, 2020).

Bennett e Shah (2022) relataram o primeiro caso de endoftalmite por *P. lilacinum* em criança imunocompetente sem histórico de doença ocular, cirurgia ou trauma procedendo a infecção causada. Embora não apresentasse sintomas sistêmicos, história pregressa, uso de medicações regulares e com imunização atualizada, a criança queixava-se de dor e vermelhidão no olho direito há cerca de uma semana. Ao exame de acuidade visual do olho direito, foi evidenciado no segmento anterior injeção conjuntival difusa intensa, córnea clara sem defeito epitelial, precipitados ceráticos finos e célula da câmara 4+ na câmara anterior com fibrina. O segmento posterior demonstrou vitrite moderada e uma lesão branca (suspeita de granuloma) estendendo-se desde a cabeça do nervo óptico com edema retiniano circundante. Este caso foi conduzido com tratamento cirúrgico e antifúngico tópico e oral.

Nas infecções causadas por *Purpureocillium* a conduta de tratamento é o VRC e POS alternativamente. O gênero não responde bem a AMB, ITR e equinocandinas (SALAZAR-GONZÁLEZ *et al.*, 2020).

3.2.3 Gênero *Rhizomucor*

O gênero *Rhizomucor* foi descrito por Lucet & Costantin em 1900 e está inserido no filo Mucoromycota, comportando as espécies termofílicas de *R. miehei* (Cooney & R. Emers.) e *R. pusillus* (WALTHER; WAGNER; KURZAI, 2019; WIJAYAWARDENE *et al.*, 2020).

As espécies se caracterizam por formarem rizóides em cultura e apresentarem esporângio multiesporado com columela, esporangióforos ramificados, esporangiósporos subglobosos a elipsoidais curtos. Por falta de marcadores adicionais, a maioria das espécies novas são descritas com base em locus único, geralmente *ITS* ou combinado com o gene da subunidade maior (*Large Subunit*) do RNA ribossômico (*LSU*) para precisão taxonômica (WALTHER; WAGNER; KURZAI, 2019).

Rhizomucor abriga espécies termofílicas que suportam temperaturas que variam entre menos 20 a 50 °C, onde estas raramente estão envolvidas em casos de infecção humana. No entanto, apesar da raridade, tal gênero pode provocar casos de mucormicose, que é relatada como a terceira causa de IFI, sendo precedida por candidíase e aspergilose (SCHOBER *et al.*, 2021). Cerca de 5% das mucormicoses no mundo são causadas por espécies do gênero, o percentual reduzido é justificado pela transferência de *R. variabilis* R.Y. Zheng & GQ Chen para *Mucor irregulares* Stchigel, Cano, Guarro & E. Álvarez (JEONG *et al.*, 2019).

As espécies *R. miehei* e *R. pusillus*, clinicamente relevantes, estão frequentemente envolvidas em infecções pulmonares, seguidas por manifestações disseminadas, cutâneas e mucormicose rino-órbito-cerebral. *R. nainitalensis* MC Joshi e *R. pakistanicus* M. Qureshi & JH Mirza sinonímia das duas primeiras (JEONG *et al.*, 2019).

Geralmente associadas à angioinvasão, a depender do prognóstico da doença subjacente, localização da infecção e período destinado ao diagnóstico e tratamento que em muitos casos, a identificação da espécie só é possível após a realização de uma necropsia, a mortalidade pode se aproximar de 47% em todos os pacientes e de até 80% em receptores de células-tronco hematopoiéticas (SCHOBER *et al.*, 2021).

A mucormicose está fortemente associada à angioinvasão das hifas no tecido, tal condição provoca hemorragia, trombose, infarto e necrose em qualquer órgão, com infecções sendo frequentemente relatadas em pacientes com doenças subjacentes como portadores de diabetes *mellitus* com ou sem cetoacidose diabética, malignidade hematológica e de órgãos sólidos, receptores de transplante de órgãos sólidos e de células-tronco hematopoiéticas, neutropenia e terapia com corticosteroides, causando em especial infecções pulmonares acompanhadas de manifestações disseminadas, cutâneas e rino-orbital-cerebrais (PRAKASH *et al.*, 2019; WALTHER; WAGNER; KURZAI, 2019).

Um estudo realizado na França entre 2020 e 2021, avaliou 17 pacientes que desenvolveram mucormicose associada ao COVID – 19, sendo identificado Mucolares como ordem e em nível de

gênero ou espécie por cultura ou PCR em 14 pacientes, dos quais três, estavam com malignidade hematológica e um com carcinoma pulmonar, sendo evidenciado de forma secundária a outros gêneros da ordem os isolados *R. pusillus*, *R. miehei*, *Lichtheimia* spp. (DANION *et al.*, 2022).

O primeiro relato de caso de uma criança com uma segunda recaída de leucemia linfática aguda desenvolvendo uma mucormicose fulminante durante o tratamento com blinatumomab, foi publicado em 2021. O relato revela que, durante o tratamento, a criança apresentou múltiplas lesões tromboembólicas sistêmicas com isquemia, sangramento e infarto em quase todos os órgãos. Além disso, o aumento da pressão cerebral conduziu à hérnia cerebral que resultou em óbito sete dias depois do tratamento iniciado com blinatumomab, um anticorpo monoclonal com especificidade dupla para células CD3⁺ (células T) e CD19⁺ células (células B) e cerca de 24 horas após os primeiros sintomas neurológicos. Contudo, a causa morte foi revelada após necropsia que identificou *R. pusillus* como agente etiológico (SCHOBER *et al.*, 2021).

Embora a disseminação por *R. pusillus* seja raríssima, em geral, progride agressivamente com evolução fatal, podendo envolver para no mínimo dois sítios orgânicos distintos com mucormicose rino-órbito-cerebral e pulmonar as formas dominantes, embora órgãos como pele, baço, coração, fígado, músculo e rim já terem sido relatados em infecções disseminadas (JEONG *et al.*, 2019; SHI *et al.*, 2022).

A terapia antifúngica para infecções disseminadas é AmB lipossomal combinada com debridamento cirúrgico. Outra opção é o POS, mas, é contraindicado para acometidos por doença renal terminal e é contraindicado na formulação oral para indivíduos com má absorção gastrointestinal. Isavuconazol (ISA) é indicado como uma terceira opção terapêutica (BERGER *et al.*, 2019; KARYADI; AGNES, 2022).

3.2.4 Outros gêneros fúngicos

O microbioma do ar ambiente hospitalar é diverso e outros gêneros fúngicos podem ser encontrados, como *Cladosporium* Link, *Curvularia* Boedijn, *Didymella* Sacc., *Fusarium*, *Nigrospora* Zimm., *Paraconiothyrium* Verkley, *Parengyodontium* C.C. Tsang, JFW Chan, WM Pong, JHK Chen, AHY Ngan, M. Cheung, CKC Lai, DNC Tsang, SKP Lau & PCY Woo, *Penicillium*, *Pseudopithomyces* Ariyaw. & KD Hyde e *Talaromyces* C.R. Benj.

O gênero *Cladosporium*, descrito em 1816, está inserido taxonomicamente no filo Ascomycota (WIJAYAWARDENE *et al.*, 2020). Três grandes complexos de espécies semelhantes morfológicamente, mas distinguíveis geneticamente, compõem o gênero: *C. cladosporioides*, *C. herbarum* (Pers.) Link e *C. sphaerospermum* (Penz.) (BENSCH *et al.*, 2018). São contaminantes do ar em ambientes internos e externos, patógenos de animais, plantas e, ocasionalmente, estão

associados a infecções humanas severas, incluindo à doença asmática (EL-DAWY; GHERBAWY; HUSSEIN, 2021; ITURRIETA-GONZÁLEZ; GARCÍA; GENÉ, 2021). Também são frequentemente referidos como aeroalérgenos, sendo considerados os mais abundantes e o segundo mundialmente mais alergênico, atrás apenas do gênero *Alternaria* (WERYSZKO-CHMIELEWSKA *et al.*, 2018). O neurotropismo do gênero foi relatado em vários casos de abscesso cerebral causados por *Cladosporium macrocarpum* Preuss e *C. sphaerospermum* (BATRA *et al.*, 2019).

Curvularia (1933) pertence ao filo Ascomycota (WIJAYAWARDENE *et al.*, 2020). São fungos demáceos frequentemente encontrados em solo e materiais vegetais. Como patógenos oportunistas, podem causar infecções em imunocompetentes e imunocomprometidos. Foi relatado que *C. lunata* causa tinea nigra, *C. alcornii* Manamgoda, L. Cai & KD Hyde causa pseudoaneurisma de aorta e *C. tuberculata* B.L. Jain causa feohifomicose disseminada (VASIKASIN *et al.*, 2019; NARAYANASAMY *et al.*, 2021; AL-ODAINI *et al.*, 2022).

Didymella foi descrito como gênero em 1880 e pertence ao filo Ascomycota, acomodando 90 espécies descritas e outras ainda não classificadas (WIJAYAWARDENE *et al.*, 2020). A maioria das espécies estão relacionados com plantas, algumas consideradas patógenos economicamente importantes, enquanto outras são conhecidas por sua patogenicidade em humanos, embora, raramente relatadas. Alguns exemplos podem ser citados como de ceratite fúngica causada por *D. heteroderae* (Sen Y. Chen, DW Dicks. & Kimbr.) Qian Chen & L. Cai e por *D. gardeniae* (S. Chandra & Tandon) Qian Chen & L. Cai, rinosinusite fúngica invasiva crônica causada por *D. pediae* (Aveskamp, Gruyter & Verkley) Qian Chen & L. Cai e infecção pulmonar invasiva por *D. microchlamydospora* (Aveskamp & Verkley) Qian Chen & L. Cai (MIYAKUBO *et al.*, 2019; SALEHI *et al.*, 2019a; RAIESI *et al.*, 2021; TODOKORO *et al.*, 2021).

Fusarium (1809) está inserido em filo Ascomycota (WIJAYAWARDENE *et al.*, 2020). Algumas espécies são conhecidas como patógenos de plantas, patógenos oportunistas em humanos e por produzirem micotoxinas como zearalenona, tricotecenos, fumonisina e ácido fusárico, deletérias à saúde humana (BERTERO *et al.*, 2018; ZHU *et al.*, 2021). Cerca de 70 espécies estão relacionadas com fusariose em humanos, com infecções ascendentes à medida que a população imunocomprometida aumenta, conduzindo a elevação no número de casos de morbimortalidade (GONG *et al.*, 2022).

Nigrospora foi descrito em 1902 como membro do filo Ascomycota (WIJAYAWARDENE *et al.*, 2020). Natural do solo, algumas espécies são entomopatogênicas e fitopatogênicas, raramente envolvidas em infecções oportunistas em humanos, embora já tenha sido relatada em casos de infecções superficiais e invasivas em indivíduos imunocompetentes e

imunocomprometidos, sendo *N. oryzae* (Berk. & Broome) Petch a espécie mais frequentemente relatada (VANAM *et al.*, 2020; BORBA *et al.*, 2021).

Paraconiothyrium, descrito em 2004, pertence ao filo Ascomycota (WIJAYAWARDENE *et al.*, 2020). O gênero abrange aproximadamente 27 espécies, procedendo a maior parte das cepas do parasitismo de patógenos e de fungos endofíticos, de solo e oceano, com algumas espécies consideradas patógenas de plantas e humanos, como *P. cyclothyrioides* Verkley que na condição de oportunista em indivíduos com imunodeficiência causa feohifomicose cutânea (WANG *et al.*, 2021).

Parengyodontium foi descrito em 2016 e está acomodado no filo Ascomycota (WIJAYAWARDENE *et al.*, 2020). Três espécies constam descritas: *P. album* (Limber) CC Tsang, JFW Chan, WM Pong, JHK Chen, AHY Ngan, M. Cheung, CKC Lai, DNC Tsang, SKP Lau & PCY Woo (antigo *Engyodontium album* (Limber) de Hoog), normalmente ambientais, são isolados de sedimentos marinhos, materiais vegetais, solo e paredes/pinturas, mas sua a patogenicidade em humanos pode ser confirmada por infecções relatadas em diversos sítios orgânicos, *P. americanum* M.M. Teixeira, Wiederh. & BM Barker também é patógeno humano e foi isolada de infecção pulmonar em paciente inicialmente diagnosticado com coccidioidomicose e *P. torokii* NK Singh & K. Venkateswaran tolerante a ambientes oligotróficos e que foi isolada da instalação de montagem da espaçonave Mars 2020 (TSANG *et al.*, 2016; TEIXEIRA *et al.*, 2020; PARKER *et al.*, 2022).

Penicillium foi descrito em 1809 e inserido no filo Ascomycota (WIJAYAWARDENE *et al.*, 2020). De acordo com Houbraken *et al.* (2020) aproximadamente 483 espécies que são em geral ambientais, encontradas em diversos substratos como solo, vegetação, esterco, ambientes internos e extremos, com algumas espécies causando infecções oportunistas em humanos, como *P. chrysogenum* e *P. simplicissimum* (Oudem.) Thom (antigo *P. janthinellum* Biourge) (BARBOSA *et al.*, 2020; LI *et al.*, 2020; SHIVAJI *et al.*, 2022).

Pseudopithomyces foi descrito em 2015, está inserido no filo Ascomycota (WIJAYAWARDENE *et al.*, 2020). Atualmente, 13 espécies compõem o gênero, sendo normalmente encontradas em folhas, embora o *P. diversisporus* G. Guevara, AM Cunha & Gené e *P. maydicus* (Sacc.) Jun F. Li, Ariyaw. & KD Hyde, tenham sido isoladas de lâmina ungueal, sendo as únicas do gênero relatadas na literatura causando onicomicose (CROUS *et al.*, 2016; TSANG *et al.*, 2019).

Talaromyces, descrito em 1955, está incluso no filo Ascomycota (WIJAYAWARDENE *et al.*, 2020). São descritas cerca de 171 espécies encontradas em solo, vegetação, esterco, ambientes internos e extremos, sendo a espécie dimórfica *Talaromyces marneffeii* (antes considerada *Penicillium marneffeii*) o único patógeno humano relatado causando infecções tanto em

imunocomprometidos quanto imunocompetentes (YU *et al.*, 2018; BARBOSA *et al.*, 2020; HOUBRAKEN *et al.*, 2020; HU *et al.*, 2022).

As IFIs são difíceis de tratar em consequência da resistência e da exigência de intervenções terapêuticas precoces, pois a porta de entrada e a natureza da disseminação em contraste com o sítio de infecção com risco de vida, levam a desafios maiores para o tratamento individualizado em indivíduos imunocomprometidos. Todavia, infecções oportunistas em imunocompetentes com comorbidades associadas não devem ser desconsideradas (KABLY *et al.*, 2022).

3.3 INTERVENÇÕES TERAPÊUTICAS ASSOCIADAS A INFECÇÕES POR FUNGOS ANEMÓFILOS

3.3.1 Tratamento antifúngico

As IFIs exigem tratamento antifúngico precoce e a decisão clínica sobre a escolha do fármaco deve considerar o licenciamento, experiência, disponibilidade local e aspectos farmacológicos e econômicos. Ademais, a escolha da prescrição depende de fatores como: espécie fúngica, sítio da infecção, tratamento antifúngico anteriores, fatores de risco, doenças subjacentes e efeitos adversos esperados (KABLY *et al.*, 2022).

A imprecisão relacionada a duração ideal do tratamento e a forma mais adequada de avaliação das respostas à profilaxia universal ou terapia preventiva, em contraste a profilaxia norteada ao transplante e onco-hematologia persistem desafiando a clínica. Os fungos multirresistentes possuem elevado potencial de disseminação, múltiplos perfis de resistência e altas taxas de mortalidade, entretanto, o arsenal terapêutico limita-se a classe dos polienos (AmB), azólicos (fluconazol, ISA, ITR, POS e VRC), equinocandinas (casposfungina, micafungina e anidulafungina) e análogos de pirimidina (flucitosina 5FC) (KABLY *et al.*, 2022).

Controlar patógenos fúngicos é laborioso devido ao limite de fármacos disponíveis e eficazes para a terapia antifúngica. O uso demasiado pode desencadear citotoxicidade humana em nível de rins e fígado, além de aumentar a resistência de patógenos oportunistas e, por tanto, acentua-se a necessidade de inovações farmacológicas e terapias alternativas que os restrinjam efetivamente (REVIE *et al.*, 2018; KIM *et al.*, 2020).

As intervenções terapêuticas de antifúngicos associados nos casos que apresentam resistência a antifúngicos são uma estratégia importante no tratamento de infecções fúngicas humanas, especialmente nas invasivas e potencialmente fatais devido à escassez de novos antifúngicos no mercado e a eficiência reduzida da monoterapia. As vantagens da terapia associada compreendem os distintos mecanismos que atuam em combinação permitindo um norteamento

dentro das células fúngicas, ampliação do espectro de ação, provável ação fungicida combinando dois agentes fungistáticos, toxicidade minimizada devido à utilização de menores dosagens e número reduzido de organismos resistentes (CHANG *et al.*, 2017).

3.3.1.1 Anfotericina B

A AmB foi descoberta em 1956 por Donovick, Gold, Pagano e Stout após a fermentação do actinomiceto *Streptomyces nodosus*, uma bactéria Gram-positiva isolada de amostra de solo na Venezuela. Enquanto agente terapêutico, foi licenciada em 1959 e comercializada a partir de 1960 em suspensão coloidal que a priori foi planejada para tratar infecções fúngicas locais e depois, admitida para infecções progressivas e potencialmente fatais (CAVASSIN *et al.*, 2021).

A AmB é um hepteno cíclico que possui dois mecanismos de ação: no primeiro, a AmB se adere a bicamada lipídica do fungo, ligando-se ao ergosterol e formando poros – os quais liberando íons (cálcio, cloro, magnésio e potássio) e glicose eletrolítica, causam a depleção acelerada de íons intracelulares e resultam em apoptose celular fúngica; no segundo, a AmB induz o acúmulo de espécies reativas de oxigênio causando danos ao ácido desoxirribonucleico (DNA), proteínas, mitocôndrias e membranas (HOUSŤ; SPÍŽEK; HAVLÍČEK, 2020).

Administrado comumente na formulação de desoxicolato de AmB, este fármaco apresenta a nefrotoxicidade como um importante efeito colateral, limitando o seu uso a pacientes gravemente comprometidos por doenças de base e comorbidades, o que os torna vulneráveis à toxicidade especialmente se combinado com outras medicações (CAVASSIN *et al.*, 2021). Farmacologicamente, a AmB se liga ao desoxicolato de sódio devido a solubilidade limitada em água, mas na administração intravenosa, se desprende do desoxicolato de sódio para ligar-se às lipoproteínas plasmáticas se acumulando no baço e no fígado, iniciando a excreção que ocorre após 15 dias com a droga inalterada por vias urinárias (33%) e fecais (43%), mesmo não sendo metabolizada pelas enzimas CYP450, entretanto, devido a toxicidade referente a infusão e a dose, torna sua aplicação limitada. A toxicidade ligada a infusão ocorre mediante a indução de citocinas e quimiocinas pró-inflamatórias, tais como: interleucina 1 β , fator de necrose tumoral α , proteína quimiotática de monócitos 1 e proteína inflamatória de macrófagos 1 β , mas quando ligada a altas doses, causam nefrotoxicidade em razão da ruptura não seletiva das células renais (HOUSŤ; SPÍŽEK; HAVLÍČEK, 2020).

No intuito de minimizar estes efeitos, opções terapêuticas sistêmicas que asseguram a atividade fungicida estão disponíveis, como: complexo lipídico de AmB e AmB lipossomal. A terceira formulações lipídicas de AmB - é dispersão coloidal de AmB que foi descontinuada em

2011 devido a alta taxa de eventos relacionados à infusão e não é mais fabricada (TIMMERS *et al.*, 2000; HAMILL, 2013).

O complexo lipídico de AmB e AmB lipossomal possuem o mesmo princípio ativo, características farmacológicas distintas, semelhanças entre estruturas químicas, farmacocinética, interações fármaco-alvo, estabilidade, bioequivalência e equivalência terapêutica, mas com peculiaridades quando comparadas à formulação convencional (CAVASSIN *et al.*, 2021).

Consequentemente, a AmB é legitimada para conduzir tratamentos de infecções fúngicas potencialmente fatais, como as micoses oportunistas (aspergilose, candidíase, criptococose, feohifomicose, fusariose, hialohifomicose e mucormicose) e endêmicas nas formas graves e generalizadas (blastomicose, coccidioidomicose, emergomicose (antes emmonsiose disseminada), esporotricose, histoplasmose, paracoccidioidomicose e talaromicose) (HOENIGL *et al.*, 2018; CORNELLY *et al.*, 2019; SCHWARTZ *et al.*, 2019; CHEN *et al.*, 2020; HOENIGL *et al.*, 2021; THOMPSON *et al.*, 2021).

Apesar da toxicidade, a AmB é considerada padrão ouro para o tratamento destas infecções, pois sua molécula pode ser alterada para tornar-se ainda mais eficaz e a aplicação da AmB e seus derivados podem ser amplificados por atuar não apenas como antifúngico, mas como antiviral e antitumoral. De modo que, o complexo L-AmB é mais aconselhável para micoses invasivas, que são coinfeções bacterianas, virais e oncológicas, assim como para complicações pós-operatórias (BAGHIROVA; KASUMOV, 2021).

A terapia convencional com AmB possui baixo custo em relação a formulação lipossomal, alta aceitação da formulação em uso contínuo por neonatos, toxicidade reduzida por formulações lipídicas de AmB, e em alguns indivíduos, é mais tolerada que as formulações mais modernas, conduzindo a AmB aos padrões terapêuticos e de comparação para ensaios clínicos entre antifúngicos (ROWEN; TATE, 1998; STEVENS; SHATSKY, 2001; BISHARA *et al.*, 2001).

Apesar dos avanços terapêuticos relacionados a antifúngicos azólicos aprimorados, das equinocandinas e dos estudos para novas formulações lipídicas de AmB, a AmB permanece em alta na prática médica e nos ensaios clínicos em razão da vasta possibilidade de indicações, permanecendo como tratamento de escolha mediante IF sistêmicas graves em vulneráveis. Além disso, é o fármaco com maior espectro de ação e menor potencial de resistência comparado a qualquer outro antifúngico conhecido, por isso, o mais utilizado em terapias intensivas (CHANG *et al.*, 2017).

A resistência a AMB está possivelmente relacionado a modificações na estrutura esteróide da membrana celular fúngica, pois, diversas mutações genéticas na biossíntese do ergosterol estão ligadas ao mecanismo de resistência do fármaco (CAROLUS *et al.*, 2020; BAGHIROVA; KASUMOV, 2021). No entanto, quando não envolve resistência, a AMB é relatada com sucesso

terapêutico em casos de aspergilose cutânea primária, blastomicose, candidíase neonatal, candidíase congênita e prototecose, cromoblastomicose oral e intralesional, fusariose cutânea, histoplasmosse cutânea, leishmaniose mucocutânea e mucormicose cutânea e vaginal (AGARWAL; BIKASH, 2022).

A dosagem de farmacoterapia de AmB a base de lipídeos e lipossomal para infecções invasivas dispensa a dose de ataque, mas indica manutenção de 3 a 5 mg/kg a cada 24 horas, podendo ser aumentada para 10 mg/kg a cada 24 horas na doença grave ou progressiva (BERGER *et al.*, 2019).

3.3.1.2 Azólicos

O miconazol sistêmico lançado em 1969 e indicado para atuar contra IFIs não é mais comercializado devido a toxicidade elevada, mas contribuiu para o desenvolvimento de antifúngicos classificados como azólicos - que são divididos de acordo com o número de átomos de nitrogênio ligado ao anel azólico em imidazóis que não tratam sistemicamente e os atuais triazóis sistêmicos que são fluconazol, ISA, ITR, POS e VRC (SHAFIEI *et al.*, 2020).

Os antifúngicos triazóis atingem a membrana celular dos fungos impedindo a conversão dependente do citocromo P450 de lanosterol em ergosterol, conduzindo a depleção de ergosterol, acúmulo de componentes tóxicos e dissociação da membrana celular fúngica (KAUSHIK; KEST, 2018; MOURAD; PERFECTO, 2018). Esta classe farmacológica dispõe de amplo espectro contra leveduras e filamentosos, sendo indicada para a profilaxia antifúngica em pacientes imunocomprometidos e tratamento de infecções superficiais e invasivas por *Candida*, AI e infecções causadas por fungos oportunistas e endêmicos (WHALEY *et al.*, 2017).

3.3.1.2.1 Isavuconazol

O ISA é um triazol de amplo espectro comercializado em formulações de via oral (VO) e intravenosa (IV), a qual foi liberado em 2015. Considerado a terapia de primeira escolha para AI e inicial para mucormicose - quando a AmB não é indicada, apresenta maior seguridade hepática e neurológica que o VRC e possui melhor interação quando comparado aos demais triazóis (BARG *et al.*, 2018; CORNU *et al.*, 2018).

Administrado na forma do pró-fármaco - sulfato de isavuconazônio, solúvel em água e no plasma, tem sua maior parte convertida rapidamente por esterases no fármaco original (BAL4815, ISA) e em um produto de clivagem inativo (BAL8728) (DENIS *et al.*, 2018). O ISA é ligado intensamente a proteínas, em especial a albumina, e se distribui de forma ágil na circulação

sanguínea, penetra grande parte dos tecidos e sofre metabolismo hepático oxidativo por CYP3A4 e CYP3A5, sendo excretado pelos rins em uma parcela inferior a 1% da dose administrada (DARNAUD *et al.*, 2018; McCARTHY *et al.*, 2018). E por isso, não é indicada para infecções do trato urinário, mas, atende bem a indivíduos com insuficiência renal dispensando o ajuste de dose para as formulações de VO e IV (TOWNSEND *et al.*, 2017).

Comumente, os efeitos adversos mais relatados são dor abdominal superior, cefaleia e faringite - ambos em intensidade leve, conjuntivite, diarreia, náusea, tontura, hipocalemia e doença semelhante à gripe são moderados. A monitorização da função hepática é recomendada devido à possibilidade de aumentos das transaminases hepáticas (BONGOMIN *et al.*, 2019). ISA interage com a metabolização hepática dos fármacos imunossupressores ciclosporina, tacrolimus e sirolimus, e pode contribuir em potencial para a nefrotoxicidade e insuficiência renal (GROLL *et al.*, 2017).

A farmacoterapia com ISA diante de infecções invasivas deve considerar dose de ataque com 200 mg IV ou VO a cada 8 horas por 48 horas e manutenção com 200 mg IV ou VO a cada 24 horas (BERGER *et al.*, 2019).

3.3.1.2.2 Itraconazol

O ITR disponível comercialmente nas formulações IV e VO, atua no combate a leveduras, filamentosos e dimórficos, tratando diversas micoses superficiais causadas por *Candida* spp. dermatófitos, sendo indicado também na profilaxia em imunocomprometidos (NIVOIX; LEDOUX; HERBRECHT, 2020).

A biodisponibilidade oral do fármaco, a depender da formulação, é de aproximadamente 50%, sendo bastante lipofílico e demasiadamente ligado a proteínas, necessitando de monitoramento terapêutico, embora a concentração possa ultrapassar as do plasma em tecidos normais ou mesmo infectados, no líquido cefalorraquidiano e urina são considerados irrelevantes (TRAGIANNIDIS *et al.*, 2021).

O fármaco é conceituado como seguro, preciso em sua ação, bem tolerado e com baixo poder nefrotóxico, por isso, dispensa ajuste de dose na formulação VO para indivíduos que possuem comprometimento da função renal. Mas na formulação IV torna-se contraindicado quando o clearance de creatinina estiver abaixo de 30 mL/min em consequência da eliminação do composto hidroxipropil- β -ciclodextrina por filtração glomerular. No entanto, é necessária cautela na administração do fármaco em casos de insuficiência hepática devido o pouco conhecimento sobre a atuação nesta população (BELLMANN; SMUSZKIEWICZ, 2017).

O ITR é metabolizado no fígado por meio do sistema enzimático citocromo P450 3A4, podendo sua ação comprometer ou ser comprometida por vários fármacos metabolizados pelo

mesmo sistema, onde a excreção ocorre por fezes e principalmente urina (KAUSHIK; KEST, 2018). Por ser normalmente relatado sintomas gastrointestinais e aumento dos níveis da função hepática nos testes, há a necessidade de monitoramento terapêutico, mas em relação a terapia de longo prazo os relatos são de hipocalcemia, hipotensão, edema periférico e insuficiência cardíaca congestiva em razão de efeito inotrópico negativo (MOURAD; PERFECT, 2018)

A farmacoterapia utilizando para infecções invasivas é de 400 mg IV por 4 dias ou 600 mg VO por 3 dias na dose de ataque, e 200 mg IV ou 400 a 600 mg VO na dose de manutenção (LANGNER; STABER; NEUMEISTER, 2008).

3.3.1.2.3 Posaconazol

O POS é correlato em estrutura com o ITR, possui amplo espectro no combate a leveduras e fungos oportunistas e dimórficos, sendo comercializado em suspensão oral, IV e comprimidos de liberação retardada, utilizando como carreador do fármaco o sulfobutil éter- β -ciclodextrina (SBE- β -CD). Atualmente, está em desenvolvimento o fármaco na formulação de suspensão oral de liberação retardada (GROLL *et al.*, 2020). A comercialização do POS se iniciou em 2006, sendo o mesmo indicado como segunda escolha para tratamento de IFI ocasionadas por fungos oportunistas e dimórficos, mas especialmente recomendado para a profilaxia primária em pacientes imunocomprometidos com MH ou após transplante de célula-tronco hematopoiética alogênico (NGUYEN *et al.*, 2020).

O fármaco POS é extremamente lipofílico e muito ligado às proteínas no plasma, se distribui facilmente nos tecidos e em fluidos aquosos é identificado em baixas concentrações, mas o monitoramento terapêutico só está indicado à suspensão oral (TRAGIANNIDIS *et al.*, 2021). O fármaco não possui metabolização hepática mediada pelo CYP450, mas é excretado na íntegra pela bile. Normalmente é bem tolerado e os efeitos adversos relatados são fadiga, cefaleia, sonolência, tontura, boca seca, constipação, náusea, vômito, diarreia e dor abdominal, podendo haver aumento das transaminases hepáticas, o que torna necessário monitorar os parâmetros da função hepática. Pseudo-hipoaldosteronismo motivado pelo fármaco já foi relatado apresentando hipertensão secundária, hipocalcemia e eventual alcalose metabólica (NICKLESS *et al.*, 2019).

Assim como os demais triazóis, o POS não conduz a nefrotoxicidade e não se faz necessário ajustes de dose para formulações orais em indivíduos com comprometimento da função renal, mas, o SBE- β -CD, transportador intravenoso, é desprezado por filtração glomerular podendo se acumular nas células renais e neste caso, em indivíduos com doença renal de moderada a grave, a indicação é formulação intravenosa considerando a análise de risco-benefício (MARTY *et al.*, 2016). Assim como o ISA, interage com a metabolização hepática dos imunossupressores: ciclosporina,

tacrolimus e sirolimus, podendo contribuir substancialmente para expressiva nefrotoxicidade e insuficiência renal (TRAGIANNIDIS *et al.*, 2021).

A indicação de farmacoterapia com POS contra infecções invasivas recomenda 300 mg IV ou VO a cada 12 horas para 2 doses e como dose de ataque - 300 mg IV ou VO (comprimido de liberação prolongada) a cada 24 horas na dose de manutenção (BERGER *et al.*, 2019).

3.3.1.2.4 Voriconazol

O VCR é um trizol de segunda geração com amplo espectro contra leveduras, fungos filamentosos oportunistas e dimórficos. Foi aprovado em 2000 para tratar AI, candidíase invasiva em pacientes não neutropênicos, infecções refratárias por *Fusarium spp.* e *Pseudallescheria boydii* (Shear) McGinnis, AA Padhye & Ajello, e auxiliar na profilaxia antifúngica em imunocomprometidos (GROLL *et al.*, 2017).

O fármaco é moderadamente ligado a proteínas, se distribui bem nos tecidos, inclusive em porções aquosas como o SNC. Possui boa biodisponibilidade após administração oral, sofre metabolização hepática oxidativa envolvendo CYP2C19, CYP2C9 e CYP3A4, e a excreção ocorre principalmente pela urina com menos de 2% excretados de forma inalterada; o transportador da solução intravenosa, o SBE- β -CD é excretado por filtração glomerular podendo se acumular nas células renais (NIVOIX; LEDOUX; HERBRECHT, 2020).

O VCR é bem tolerado, mas são relatados os seguintes efeitos adversos: dor abdominal, cefaleia, febre, erupção cutânea, anormalidades hepáticas, náuseas, vômitos, distúrbios visuais a depender da dose, porém reversíveis e neurotoxicidade. Na administração a longo prazo, há relatos de fototoxicidade, melanomas, alopecia e carcinoma de células escamosas, bem como relatos sucessivos de aumento nas transaminases hepáticas e fosfatase alcalina. Efeitos adversos hepáticos graves e insuficiência hepática também já foram relatados, logo, o monitoramento é fortemente recomendado (TRAGIANNIDIS *et al.*, 2021).

A formulação IV não deve ser prescrita para indivíduos em tratamento para hemodiálise, hemodiafiltração venovenosa contínua e depuração de creatinina < 50 mL/min., deve-se avaliar o risco-benefício relacionado à insuficiência renal de moderada a grave e estar atento a metabolização do fármaco com imunossupressores como ciclosporina, tacrolimus e sirolimus, pois podem cooperar em potencial para nefrotoxicidade e insuficiência renal (TRAGIANNIDIS *et al.*, 2021).

A farmacoterapia com VCR no tratamento de infecções invasivas indica uma dose de ataque de 6 mg/kg IV a cada 12 horas para 2 doses e uma dose de manutenção 4 mg/kg a cada 12 horas IV ou 200 mg a cada 12 horas VO, podendo aumentar gradualmente para 300 mg a cada 12 horas se a doença progredir (BERGER *et al.*, 2019).

3.3.2 Demais intervenções

A abordagem resolutiva para conduzir IFI é a reversão da condição predisponente a exemplo da neutropenia e cetoacidose, da terapia antifúngica - muitas vezes em associação com outros fármacos, e o desbridamento cirúrgico, para tanto, a conduta multidisciplinar é essencial e o envolvimento prévio de especialidades clínicas, a exemplo de endocrinologia, infectologia, hematologia, pneumologia, entre outras e cirúrgicas como oftalmologia, otorrinolaringologia, neurologia, bucomaxilofacial, somado a orientações microbiológicas é a chave para um tratamento bem sucedido (WATKINSON; CLARKE, 2018).

A intervenção cirúrgica é reconhecida como abordagem primordial a depender do tipo de infecção invasiva e tem por objetivo obter amostra de tecido e desbridar o tecido necrótico que pode envolver mucosa, epitélio e/ou alguma estrutura óssea com ressecção, por vezes, de grandes extensões e considerada bem-sucedida quando debridado até o encontro de tecido saudável e sangrante. Essa ressecção agressiva visa melhorar a sobrevida do indivíduo (TURNER *et al.*, 2013; CRAIG, 2019).

A abordagem multidisciplinar, em casos que a intervenção cirúrgica não está bem estabelecida, pode corroborar na tomada de decisão considerando o risco-benefício da busca cirúrgica apoiando-se na evidência da infecção disseminada e a fonte potencial de carga infecciosa primária, podendo estes provavelmente justificar a viabilidade cirúrgica (MASOOD *et al.*, 2022). O papel promissor da intervenção cirúrgica combinada com a terapia antifúngica, foi relatada em estudos de casos que envolvem síndrome de Evans, endocardite mural, endocardite de prótese valvar e mucormicose rino-órbito-cerebral (CHEN; LIN; HUNG, 2019; HIROSHIMA *et al.*, 2020; BEIGLBOECK *et al.*, 2022; TROIANO; NANTE, 2022).

Uma outra situação, porém, não invasiva, mas que envolve múltiplas intervenções é a rinosinusite fúngica alérgica causada por inalação de esporos de várias espécies de fungos, tais como *Curvularia lunata*, *Curvularia spicifera* (Bainier) Boedijn e espécies de *Aspergillus* como *A. fumigatus*, *A. flavus* e *A. niger* que estão entre os mais comumente isolados (RAIESI *et al.*, 2022). A rinosinusite fúngica alérgica é uma doença crônica com morbidade expressiva e elevadas taxas de recorrência, que décadas após a descrição ainda paira uma incerteza relevante sobre o manejo da doença e os processos patológicos que incluem pólipos nasais, presença de mucina fúngica alérgica e proteína IgE elevada a pelo menos um antígeno fúngico, acometendo normalmente imunocompetentes entre 21 e 33 anos, comum em população atópica, ou seja, que possui predisposição a doenças alérgicas como asma e rinite (MEDIKERI; JAVER, 2020).

Devido a distorção anatômica das vias de saída do seio maxilar, ligação com o envolvimento orbitário e constantes recorrências precoces em indivíduo não cirurgicamente tratados, mas submetidos a diversas terapias medicamentosas que torna a cirurgia essencial no adequado manejo do tratamento em casos de rinossinusite fúngica alérgica (WATKINSON; CLARKE, 2018).

A conduta exige intervenção cirúrgica para remoção completa do material fúngico e mucina, assim como, a restauração das vias de drenagem do seio maxilar e terapias com corticosteróides orais e tópicos no pré e pós-operatório a fim de minimizar respostas inflamatórias.

Em desenvolvimento, há a terapia fotodinâmica antimicrobiana de amplo espectro e não antibiótico que promete erradicar 99,99% de organismos *in vitro* após sessão única, no entanto, não há relatos da terapia em humanos com rinossinusite fúngica alérgica mas, foi avaliado em coelhos após inoculação de *Aspergillus fumigatus* nos seios maxilares que quando comparado ao controle, a TFDA SinuwaveTM mostrou eficácia na porcentagem prometida (MEDIKERI; JAVER, 2020).

Um caso que descreve bem intervenções correlacionadas entre intervenção cirúrgica e fármacos, e que retrata a relevância de traçar o perfil de suscetibilidade antifúngica é o caso relatado por Raiesi *et al.* em 2022, onde um paciente antes diagnosticado com aspergilose broncopulmonar alérgica apresentando histórico de anemia, pneumonia, bronquite, secreção pós-nasal, obstrução nasal, polipose nasal, sinusite fúngica crônica e asma resistente a fármacos, que por três anos, fez uso de prednisona oral, ácido acetilsalicílico, budesonida/formoterol, ITR, nefrocaps e antibióticos para tratamento de rinossinusite sem melhora de sintomas, foi submetido a cirurgia endoscópica nasossinusal e tomografia computadorizada que evidenciou doença fúngica bilateral com maior acometimento do seio maxilar e etmoidal, sem evidência de invasão no tecido. O novo diagnóstico foi de rinossinusite fúngica alérgica com acometimento de seios maxilares, causada por *Neoscytalidium dimidiatum* (Penz.) Crous & Chinelos e aspergilose broncopulmonar alérgica, a condição subjacente. Devido o relato de resistência a fármacos, testes de suscetibilidade antifúngica (TSA) *in vitro* foram realizados e indicaram que o isolado era suscetível à AmB e ITR e resistente à POS, VRC e caspofungina. A conduta terapêutica foi intervenção cirúrgica dos seios paranasais para desobstrução alérgica da mucosa e polipose nasal mais corticosteróides orais no pós-operatório e terapia antifúngica com AmB e ITR (RAIESI *et al.*, 2022).

3.4 PERFIL DE SUSCETIBILIDADE DE FUNGOS ANEMÓFILOS

O elevado número de indivíduos que apresentam fatores de risco para desenvolver IFIs tais como imunossupressão profunda, dispositivos médicos implantados, exposição a longos ciclos de antibióticos de amplo espectro, uso disseminado de antifúngicos, aumento da resistência adquirida

e o aparecimento de novos patógenos, especialmente os multirresistentes, justificam a necessidade de realização de TSA (KNABL; LASS-FLÖRL, 2020).

O TSA tem por finalidade apresentar um valor estimado da atividade *in vitro* de um determinado fármaco contra um patógeno, descrito como Concentração Inibitória Mínima (CIM) que possibilite orientar a implantação precoce e adequada da terapia antifúngica por meio da compreensão do perfil de suscetibilidade no contexto da epidemiologia local e das diretrizes antifúngicas. Além de averiguar as taxas de resistência a antifúngicos sendo indicado em casos de infecção invasiva com suspeita de resistência ao antifúngico e/ou na falha da terapia em uso (BERKOW; LOCKHART; ZEICHNER, 2020; KNABL; LASS-FLÖRL, 2020).

A CIM, por sua vez, é a concentração mais baixa que um fármaco consegue inibir o crescimento de um organismo em nível percentual predeterminado (50%, 90% ou 100%) demonstrado em microgramas por mililitro ($\mu\text{g/mL}$) pelo *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI) e em miligramas por litro (mg/L) pelo *European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing* (EUCAST) (KIDD; CRAWFORD; HALLIDAY, 2021).

A metodologia padronizada de microtitulação em caldo é considerada pelo CLSI e EUCAST como padrão ouro para o TSA, entretanto, é trabalhoso e demorado (ARASTEHFAR *et al.*, 2020). Possuem protocolo para alguns fungos filamentosos, mas apresentam algumas diferenças entre as padronizações, a exemplo da leitura que é, respectivamente, visual e por espectrofotômetro para CLSI e EUCAST, essas diferenças são refletidas nas CIMs apuradas e nos critérios interpretativos de cada metodologia (KIDD; CRAWFORD; HALLIDAY, 2021).

A designação de um isolado como suscetível ou resistente a determinado antifúngico é estabelecido pela relação entre a CIM *in vitro* do fármaco em avaliação com os resultados da eficácia *in vitro* de ensaios clínicos que incluem farmacocinética e farmacodinâmica para prever o resultado terapêutico (PERLIN; WIEDERHOLD, 2017). A interpretação da CIM para fungos que faltam o ponto de interrupção clínico torna-se complexo devido a ausência de critérios interpretativos para associações de fungos e antifúngicos gerando incertezas relacionadas aos dados e implementação na clínica (BERKOW; LOCKHART; ZEICHNER, 2020).

Os pontos de interrupção são instrumentos seguros para vincular *in vitro* a mensuração da CIM fornecido pelo teste à resposta presumível do isolado à concentração que o fármaco alcançará, diferenciando os isolados com elevada possibilidade de sucesso na terapia (susceptíveis/selvagens) daqueles com chances maiores de falhar (resistente/não selvagens) (PATEL; CARVER; ESCHENAUER, 2018). Uma exceção é a espécie *Pneumocystis jirovecii* Frenkel que não cresce *in vitro*, descartando o uso do TSA para traçar a suscetibilidade contra pneumonia por *Pneumocystis* (BASSETTI *et al.*, 2020).

Para gêneros como *Candida* e *Aspergillus*, a necessidade de identificar em nível de espécie foi ressaltada devido pontos de interrupção específicos para espécies e/ou valores de corte epidemiológicos (*Epidemiological Cutoff Value* – ECV), já para outros gêneros, a identificação precisa da espécie pode anunciar o tratamento antes que os resultados de suscetibilidade *in vitro* possam ser disponibilizados, pois os padrões de suscetibilidade antifúngica podem variar significativamente entre espécies (WICKES; WIEDERHOLD, 2018; KIDD; CRAWFORD; HALLIDAY, 2021).

O ECV não é considerado um ponto de interrupção e, portanto, não deve ser utilizado como equivalente, pois diferentemente do ponto de interrupção, não prevê sucesso ou fracasso clínico atribuído a um dado antifúngico, mas, pressupõe se um isolado carrega resistência a um antifúngico que de outra forma apresenta atividade contra a espécie do isolado (BERKOW; LOCKHART; ZEICHNER, 2020).

3.5 ALERGENICIDADE

Doenças alérgicas são um conjunto de distúrbios imunomediados com prevalência global elevada, atingindo mundialmente 30% da população (SÁNCHEZ *et al.*, 2022). Asma, rinite, anafilaxia, alergia a drogas, alimentos e insetos, eczema, urticária e angioedema estão incluídos neste conjunto, enquanto que, ácaros, pólenes, epitélios, fungos e alguns alimentos são considerados como os mais importantes alérgenos e responsáveis por causar alergias do tipo I (TANNO *et al.*, 2020).

A Organização Mundial da Saúde elenca em seu banco de dados oficial 113 alérgenos fúngicos que pertencem a diversas famílias de proteínas, sendo 88 pertencentes a Ascomycota, 23 a Basidiomycota e dois a Mucorales, dos quais 48 alérgenos pertencem as espécies de *Aspergillus* e *Penicillium*, dez a espécies de *Cladosporium* e 18 distribuídos entre espécies dos gêneros *Alternaria*, *Epicoccum* Link e *Curvularia* (SÁNCHEZ *et al.*, 2022).

Os fungos são fontes de sensibilização implicados em doenças alérgicas respiratórias e a exposição à alergênicos pode acarretar rinite alérgica mediada por IgE, asma e dermatite atópica. Os gêneros *Alternaria* e *Cladosporium* estão envolvidos em uma elevada prevalência de sensibilização (até 20%) e associação expressiva com a asma. No entanto, *Alternaria* e *Aspergillus* estão envolvidos no agravamento da parada asmática (ZUREIK *et al.*, 2002; GABRIEL *et al.*, 2016; COUSO *et al.*, 2021).

Fukutomi e Taniguchi (2015) destacam como as principais espécies alergênicas: *Alternaria alternata*, *Aspergillus fumigatus*, *Cladosporium herbarum* e *Penicillium chrysogenum*. Estudos envolvendo a distribuição espacial e sazonal de aerossóis fúngicos tem demonstrado que, enquanto

Alternaria e *Cladosporium* estão presentes normalmente no ar livre com grande concentração de esporos nas estações climáticas de verão e outono, *Aspergillus* e *Penicillium* são predominantes em ambientes internos no inverno em climas úmidos e frios (HERBARTH *et al.*, 2003; DE ANA *et al.*, 2006).

Indivíduos alérgicos produzem anticorpos IgE contra determinados antígenos ambientais designados de alergênicos, enquanto que, os não alérgicos e considerados saudáveis produzem anticorpos denominado imunoglobulina G (IgG) (VALENTA *et al.*, 2018). Anticorpos IgE conectam a receptores de afinidades altas (Fc ϵ RI) e baixas (Fc ϵ RII) para IgE existente em células inflamatórias que são acionadas por complexos imunológicos IgE alergênicos que desprendem mediadores inflamatórios, citocina e proteases ou para acionar células T específicas de alergênicos (ECKL-DORNA *et al.*, 2018).

O contato com alérgeno em indivíduos sensibilizados que possuem IgE específico, provoca inflamação alérgica em tecidos e órgãos causando rinoconjuntivite, asma, inflamação na pele, sintomas gastrointestinais e sistêmicos como choque anafilático, por exemplo (ANTO *et al.*, 2017). Em contrapartida, o reconhecimento de alérgenos não provocam inflamações alérgicas porque os complexos imunológicos IgG não se conectam a receptores fc ϵ (HUANG *et al.*, 2021).

Alergia a fungos pode ser diagnosticada por meio de testes alérgicos na pele contendo extratos alergênicos de fungos ou testes *in vitro* para designar IgE específico no soro sanguíneo para alérgenos fúngicos, mas, a reatividade cruzada é normalmente encontrada entre extratos de alérgenos fúngicos e esse fato reduz a precisão da análise (HRISTOVA *et al.*, 2020).

Identificar alérgenos comprovando a presença de IgE específico para alergênicos é a solução precisa na doença alérgica, uma vez que, possibilita orientar prevenção e tratamento conforme os perfis de sensibilização individuais de indivíduos sensibilizados (HUANG *et al.*, 2021). Para diagnosticar a sensibilização a alérgenos de fungos, estão disponíveis apenas espécies consideradas relevantes ao ar livre, como *Alternaria alternata*, *Aspergillus fumigatus*, *A. niger*, *Botrytis cinerea* Pers., *Fusarium solani* (Mart.) Sacc., *Candida albicans* (C.P. Robin) Berkhout, *Cladosporium herbarum*, *C. cladosporoides* e *Rhizopus stolonifer* (Ehrenb.) Vuill. (BENNDORF *et al.*, 2008).

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 LOCAL DO ESTUDO

Amostras do ar atmosférico foram coletadas de um hospital terciário de Caruaru, Pernambuco, Brasil, onde foram selecionadas quatro grandes áreas críticas: CC (oito salas), Corredor do Centro Cirúrgico (CCC), UTI - Adulto (16 leitos) e Área Externa da UTI (AE-UTI). O município de Caruaru abriga a IV Região de Saúde de Pernambuco. Estrategicamente posicionada no território, o município concentra a maior oferta de serviços de saúde nos diferentes níveis de atenção, sendo considerado o hospital de coleta em questão, o segundo centro médico do Estado de Pernambuco e o primeiro do interior. A IV Região é composta por 32 municípios do Agreste pernambucano, agrupados em quatro microrregiões de saúde (VI, VII, VIII, IX) (SES/PE, 2021).

4.2 COLETA E ISOLAMENTO DOS FUNGOS ANEMÓFILOS

Para a coleta dos fungos anemófilos foi utilizada a técnica de sedimentação passiva (ABBASI *et al.*, 2020). Três placas de Petri contendo o meio de cultura Ágar Sabouraud Dextrose (SDA) acrescido de cloranfenicol (100 mg/L) foram abertas por 30 minutos a um metro de distância do piso, em diferentes locais do ambiente estudado. Em seguida, as placas foram fechadas e levadas ao Laboratório de Taxonomia e Biotecnologia de Fungos da Micoteca URM/UFPE e incubadas a 25 °C (± 2 °C) por até dez dias. O crescimento fúngico foi acompanhado diariamente e as colônias foram isoladas e purificadas, sendo mantidas em tubos de ensaio contendo o mesmo meio de cultura da coleta, até o momento da identificação.

4.3 IDENTIFICAÇÃO MORFOLÓGICA DOS FUNGOS

Após o crescimento fúngico e de acordo com avaliação visual das colônias, as cepas foram inoculadas em SDA, Ágar Batata Dextrose e Ágar Extrato de Malte (MEA), ambos acrescidos de cloranfenicol e incubadas a 25 °C (± 2 °C) por até dez dias. Em seguida, os táxons foram identificados observando na análise morfológica as características macroscópicas (coloração, aspecto e diâmetro das colônias) e microscópicas (microestruturas somáticas e reprodutivas) da cultura de acordo com a literatura específica, a exemplo dos autores BARBOSA *et al.* (2018; 2020), CORREIA *et al.* (2020), CROUS *et al.* (2018; 2019; 2021); GONÇALVES, ESTEVES, ALVES (2020), GONZÁLEZ; GARCÍA; GENÉ (2021), KISS *et al.* (2020), MEDINA *et al.* (2020), SANTOS *et al.* (2019), SCARPARI *et al.* (2020), TSANG *et al.* (2016) e ZHENG; LIU; LI (2009).

Foram utilizados o ácido lático (60%) como fluido de montagem e o etanol 96% para remover o excesso de conídios no cultivo sob lamínula (BARBOSA *et al.*, 2018).

4.4 IDENTIFICAÇÃO MOLECULAR DOS FUNGOS

Todos os isolados foram analisados por meio do sequenciamento de genes/regiões mais adequadas de acordo com a identificação morfológica previamente realizada.

4.4.1 Extração de DNA, amplificação por PCR e sequenciamento

As extrações de DNA genômico foram realizadas a partir de colônias com sete dias de crescimento cultivadas em MEA utilizando o Kit de Purificação de DNA Genômico Wizard® (Promega, Madison, WI), conforme as recomendações do fabricante. As amplificações das regiões gênicas por PCR foram realizadas utilizando *primers* e condições indicadas na **tabela 1**.

Tabela 1 – *Primers* utilizados para obtenção de sequência de genes específicos para identificação molecular dos fungos filamentosos anemófilos.

Gênero	Região	Primer	Referência
<i>Aspergillus</i> sp.	<i>CaM</i>	CDM5/CDM6	HONG <i>et al.</i> (2006)
	<i>BenA</i>	Bt2a/Bt2b	GLASS; DONALDSON (1995)
<i>Cladosporium</i> sp.	<i>ACT</i>	512F/783R	CARBONE; KOHN (1999)
	<i>TEF</i>	728F/986R	CARBONE; KOHN (1999)
<i>Curvularia</i> sp.	<i>ITS</i>	ITS4/ITS5	ZHANG <i>et al.</i> (2020)
<i>Didymella</i> sp.	<i>ITS</i>	ITS1/ITS4	WHITE <i>et al.</i> (1990)
<i>Fusarium</i> sp.	<i>RPB2</i>	5F/7CR	O'DONNELL <i>et al.</i> (2008)
	<i>TEF</i>	986F/2218R	REHNER (2001)
<i>Nigrospora</i> sp.	<i>ITS</i>	ITS1/ITS2	WHITE <i>et al.</i> (1990)
<i>Paraconiothyrium</i> sp.	<i>ACT</i>	512F/783R	SALEHI <i>et al.</i> (2019b)
<i>Parengyodontium</i> sp.	<i>ITS</i>	ITS1/ITS4	TSANG <i>et al.</i> (2016)
<i>Penicillium</i> sp.	<i>CaM</i>	CDM5/CDM6	HONG <i>et al.</i> (2006)
	<i>BenA</i>	Bt2a/Bt2b	GLASS; DONALDSON (1995)
<i>Pseudopithomyces</i> sp.	<i>ITS</i>	ITS1/ITS4	SHINOHARA <i>et al.</i> (2021)
<i>Purpureocillium</i> sp.	<i>BenA</i>	Bt2a/Bt2b	GLASS; DONALDSON (1995)
	<i>ITS</i>	ITS1/ITS2	ENDE; HOOG (1999)

<i>Rhizomucor</i> sp.	<i>ITS</i>	ITS1/ITS4	LIMA <i>et al.</i> (2020)
	<i>LSU</i>	LR1/LSU2	LIMA <i>et al.</i> (2020)
<i>Talaromyces</i> sp.	<i>BenA</i>	Bt2a/Bt2b	GLASS; DONALDSON (1995)

Legenda: *ACT* (Actina), *BenA* (Beta-tubulina), *CaM* (Calmodulina), *ITS* (Espaçador transcrito interno), *LSU* (Subunidade maior), *RPB2* (Segunda maior subunidade da RNA polimerase II) e *TEF* (Fator de alongamento de tradução).

Os produtos de PCR foram sequenciados em ambas as direções com os mesmos *primers* usando o Big Dye® Terminator v. 3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems Life Technologies, Carlsbad, CA, EUA) e purificados com NucleoSAP® (Exonuclease and Alkaline Phosphatase Mix), de acordo com as recomendações dos fabricantes. Os contigs foram montados no programa SeqMan (v. 10.0.1; Madison, WI, EUA).

4.4.2 Análise filogenética

As sequências gênicas geradas foram analisadas na busca BLAST e as filogenias foram calculadas a partir de sequências de dados para as regiões gênicas conforme autores mencionados na **Tabela 1**. As sequências foram alinhadas usando MAFFT v. 7 com o algoritmo G-INS-I e otimizadas manualmente usando MEGA v. 6.06 (KATO; STANDLEY, 2013; TAMURA *et al.*, 2013). Alinhamentos individuais foram concatenados usando Mesquite v. 3.04 (MADDISON; MADDISON, 2016).

O modelo de substituição mais adequado foi determinado usando jMod elTest v. 2.1.7 (POSADA, 2008). Os conjuntos de dados foram posteriormente analisados usando uma análise de máxima verossimilhança realizada no Randomized Axelerated Maximum Likelihood (RAxML) v. 7.2.8 HPC BlackBox com o modelo GTRGAMMA para substituição de nucleotídeos no gateway científico CIPRES (<http://www.phylo.org/>) (MILLER; PFEIFFER; SCHWARTZ, 2010). Uma inferência de árvore Bayesiana (BI) foi realizada em MrBayes v. 3.2.2 (RONQUIST *et al.*, 2012).

Nas análises de BI, a cada 1.000 gerações foram amostradas, os primeiros 25% das amostras foram descartadas. As árvores foram visualizadas no FigTree v. 1.1.2 (RAMBAUT, 2009) e editadas no Adobe Illustrator v. 5.1. Os valores de BI, probabilidade posterior (pp) e bootstrap são rotulados nos nós. Valores inferiores a 0,95 pp e 70% de suporte a bs não são mostrados. As ramificações com suporte total em análises BI e RAxML são engrossadas.

Análises filogenéticas foram realizadas apenas para os isolados termotolerantes. Após a seleção, estes isolados foram depositados na URM Coleção de Cultura registrada na *World Federation for Culture Collections* (WFCC) sob o número WDCM 604 e certificada na norma ISO 9001:2015 sob o número de certificado BR018207-1.

4.5 ELEGIBILIDADE DE ANEMÓFILOS TERMOTOLERANTES

Após isolamento e identificação, os isolados foram semeados em SDA e incubados a 35 °C (± 2 °C) por até dez dias e as cepas que apresentaram crescimento foram selecionadas para os testes de suscetibilidade antifúngica e detecção de alérgenos por imunoenensaio, ambos *in vitro*, conforme o protocolo M38-A3 (CLSI 2017).

4.6 ANÁLISE ECOLÓGICA

Após isolamento e identificação, a riqueza e o índice de diversidade de Shannon Wiener foram estimados usando o software Primer (CLARK; GORLEY, 2006). Além disso, as diferenças nas associações de fungos anemófilos que ocorrem entre diferentes áreas hospitalares foram determinadas usando a Análise de Similaridade (ANOSIM Primer v.6), na qual a matriz de similaridade de Bray-Curtis foi plotada (CLARK; GORLEY, 2006).

4.7 TESTE DE SUSCETIBILIDADE ANTIFÚNGICA *in vitro*

Para determinar o perfil de suscetibilidade aos antifúngicos, os isolados anemófilos foram incubados a 35 °C (± 2 °C) por até dez dias e as cepas que apresentaram crescimento foram selecionadas. A CIM para os isolados foi determinada de acordo com o protocolo M38-A3 (CLSI 2017). O perfil de suscetibilidade foi interpretado pelo ECV disponível no documento M38M51S (CLSI, 2022). As cepas que apresentaram CIMs padrão > EVCs foram consideradas não selvagens (*Non-Wild* - NW) (potencialmente resistentes). O perfil das espécies não abrangidas pelo CLSI foi definido com base nos ECVs de espécies relacionadas e artigos científicos da área (BORMAN *et al.*, 2021; CORRÊA-MOREIRA *et al.*, 2022).

O meio de cultura utilizado foi o RPMI 1640 (Sigma-Aldrich, EUA) esterilizado em membranas de 0,22 μm (Millipore, Darmstadt, Alemanha) com L-glutamina, sem bicarbonato de sódio e tamponado pH $7,0 \pm 0,1$ com Ácido Morfolino Propano Sulfônico $0,165 \text{ mol./L}^{-1}$ (Sigma-Aldrich). Os antifúngicos avaliados foram AmB, ISA, ITR e VRC (Sigma-Aldrich) diluídos em Dimetilsulfóxido na concentração de 0,03 a 16 $\mu\text{g/mL}$.

Para a realização do teste, os isolados foram semeados em SDA e incubados a 35 °C (± 2 °C) pelo intervalo de tempo descrito no protocolo de cada gênero. As suspensões foram padronizadas na escala de Mac Farland, que a leitura foi realizada após 48h e os ECVs foram medidos pela acuidade visual para 100% de inibição *versus* o controle positivo. O teste foi realizado

em duplicata e ATCC® 22019 (*Candida parapsilosis* (Ashford) Langeron & Talice) e ATCC® 204305 (*Aspergillus fumigatus*) foram utilizadas como controle de qualidade.

4.8 DETECÇÃO *in vitro* DE ALÉRGENOS POR IMUNOENSAIO

Os critérios de elegibilidade dos isolados para detecção *in vitro* de alérgenos seguiram o mesmo princípio do item anterior, crescimento a 35 °C (± 2 °C). Para a realização do teste, os isolados foram semeados e incubados de acordo com o TSA.

A detecção de alérgenos por imunoenensaio foi realizada usando o protocolo do Kit IgE Elisa, conforme recomendado pelo fabricante (MyBioSource; San Diego, EUA – [Referência: MBS 2881346-Sandwich]). Para preparar a suspensão fúngica, quatro tampões de extração foram avaliados para determinar a melhor exposição protéica: 1) Solução salina a 0,85% acrescida de tween 80%; 2) (3-[(3-colamidopropil) dimetilamonium]-propano (CHAPS) [7M de ureia, 2M de tioureia, 4% CHAPS e 1% de dithiothreitol (DTT) (Sigma-Aldrich); 3) Saponina a 1% (H₂O); 4) Mistura 1:1 de CHAPS + saponina a 1%. Após o teste piloto, o tampão CHAPS foi o que apresentou melhor resultado (dados não apresentados). A suspensão fúngica foi preparada na concentração de $0,4 \times 10^4$ a 5×10^4 células/mL utilizando 300 μ L de tampão CHAPS. Para a extração proteica, as suspensões foram homogeneizadas em vórtice e os conteúdos distribuídos em placa de microtitulação específica do Kit IgE Elisa. Após 2 horas, o sobrenadante foi cuidadosamente removido e a proteína celular foi carregada e exposta nos poços da placa. Em seguida, os reagentes de detecção foram usados para avaliar a presença de alérgenos. A leitura do teste foi realizada a 450 nm.

Por ser uma abordagem alternativa para capturar alérgenos fúngicos, a produção de alérgenos na espécie foi categorizada como alta ($OD_{450} \geq 1$), baixa a moderada ($0,5 \leq DO_{450} < 1$) e ausente ($OD_{450} < 0,5$) a partir de dados de absorvância obtidos com os padrões do kit. O teste foi realizado em triplicado. A cepa ATCC® 204305 (*Aspergillus fumigatus*) foi utilizada como controle de qualidade. Para análise estatística, foi utilizado o software GraphPad Prism 8.0.1 (GraphPad Software, Inc., La Jolla, CA, EUA). Os dados obtidos foram verificados por sua normalidade de distribuição e foram expressos como média \pm erro padrão de três repetições. Os dados foram comparados usando análise de variância (ANOVA) unidirecional com comparações múltiplas por Teste *post hoc* de Tukey. O valor de $p < 0,05$ foi considerado significativo.

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

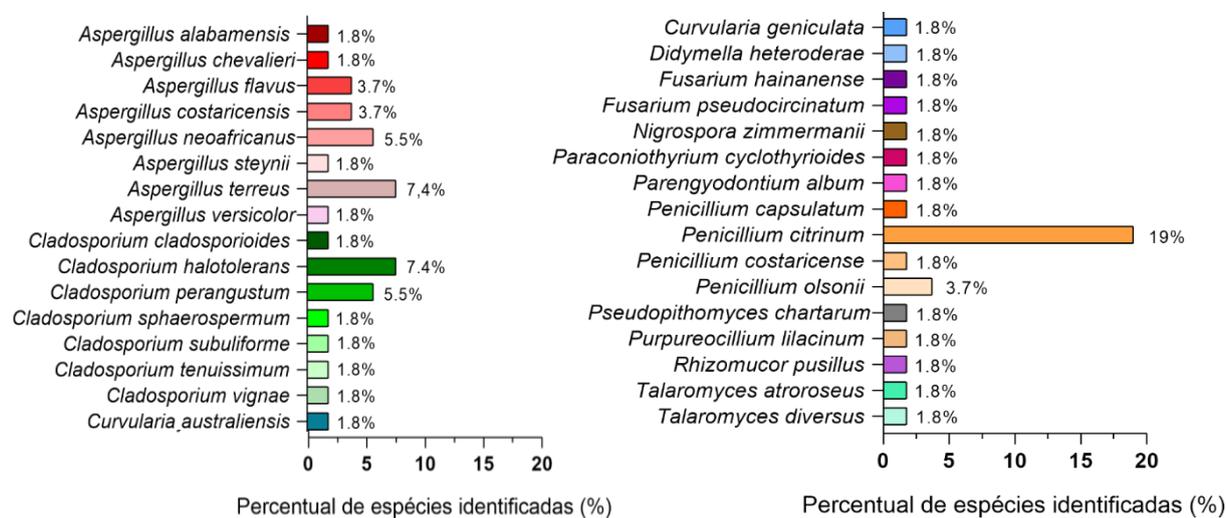
5.1 FUNGOS ANEMÓFILOS DE AMBIENTES HOSPITALARES CRÍTICOS

O monitoramento da qualidade microbiológica do ar interno de ambientes hospitalares tornou-se um tema de ampla discussão, devido à influência na transmissão e disseminação de espécies patogênicas que podem desencadear a ocorrência de surtos (WEBER *et al.*, 2019; PEDROSA *et al.*, 2022). Fungos em aerossol são uma antiga preocupação de unidades de saúde, como hospitais, pois esses ambientes críticos abrigam indivíduos com sistema imunológico comprometido, os quais são mais suscetíveis a infecções (STOCKWELL *et al.*, 2019).

Entre o período de coleta, foram recuperadas 135 amostras de ar atmosférico de um hospital terciário de Caruaru, Pernambuco, Brasil. A partir do isolamento observou-se o crescimento de 938 unidades formadoras de colônias (UFC), sendo 414 UFC no CC, 52 UFC no CCC, 52 UFC na UTI e 420 UFC na AE-UTI, e destas, 54 espécimes isolados. A seleção de espécies foi realizada agrupando-se os indivíduos semelhantes por acuidade visual, em seguida observada as características morfológicas e sequenciados de acordo com a literatura para cada gênero.

Após a caracterização morfológica e molecular, foram obtidas 54 cepas fúngicas, distribuídas em 13 gêneros, sendo *Aspergillus* (28%; n=15/54), *Penicillium* (26%; n=14/54), *Cladosporium* (22%; n=12/54), *Curvularia*, *Fusarium* e *Talaromyces* (4%; n=2/54 cada), *Didymella*, *Nigrospora*, *Paraconiothyrium*, *Parengyodontium*, *Pseudopithomyces*, *Purpureocillium* e *Rhizomucor* (2%; n=1/54 cada) (**Gráfico 1**). A maioria das espécies (n=31) pertencem ao filo Ascomycota e apenas uma ao Mucoromycota. O percentual de espécies encontradas no estudo está descrito detalhadamente na **Gráfico 1**.

Gráfico 1 – Percentual de espécies de fungos anemófilos identificados em um hospital terciário de Caruaru, Pernambuco, Brasil.



A maioria das espécies fúngicas isoladas nesse estudo já foram relatadas em outros ambientes hospitalares ao redor do mundo. *Aspergillus*, *Penicillium* e *Cladosporium* foram os gêneros fúngicos anemófilos mais prevalentes no presente estudo, corroborando com o levantamento de Sham *et al.* (2021) que identificaram prevalência dos mesmos gêneros em áreas críticas e não críticas de unidades de média e alta complexidades em 27 países. Esses três gêneros também foram relatados em outros estudos como prevalentes em ambiente cirúrgico na Indonésia e Itália (FIRDAUS; FARIDA; HAPSARI, 2020; MASIA *et al.*, 2021).

Detalhadamente, oito espécies de *Aspergillus* foram obtidas no presente estudo, sendo elas: *Aspergillus alabamensis*, *A. chevalieri*, *A. costaricensis*, *A. flavus*, *A. neoaffricanus*, *A. steynii*, *A. terreus* e *A. versicolor*. Embora *A. fumigatus* seja responsável pela maioria das infecções em humanos, outras espécies podem ser clinicamente importantes, a exemplo de *A. alabamensis* - espécie críptica de *A. terreus*, a qual já foi isolada de amostras clínicas de aspirado traqueal, escarro, ferimento, lavado broncoalveolar (LBA) e tecido do pé, ouvido e orelha (BALAJEE *et al.*, 2009; THRASHER *et al.*, 2009; GAUTIER; NORMAND; RANQUE, 2016).

A espécie *A. chevalieri* (teleomorfo, *Eurotium chevalieri*) foi inicialmente relatada em um caso de aspergilose cutânea e mais recente causando aspergilose cerebral fatal adquirida por inoculação traumática. No entanto, há relatos de isolamento em amostras clínicas de escarro, córnea, seio e LBA (NAIDU; SINGH, 1994; MASIH *et al.*, 2016; SIQUEIRA *et al.*, 2018). Um único estudo encontrado de *A. costaricensis* relata a espécie causando tinea isolado de pele humana (TSANG *et al.*, 2020).

Considerado o segundo agente mais relevante da AI, *A. flavus* é mundialmente responsável por 10% das aspergilose broncopulmonar. No entanto, outras infecções como ósseas, articulares, cardíacas, rinocerebral, rinosinusite fúngica invasiva, endofitalmite e aspergilose cutânea e subcutânea também estão associadas a espécie que também é produtora de micotoxinas (FRISVAD *et al.*, 2019; RUDRAMURTHY *et al.*, 2019; KOUTSERIMPAS *et al.*, 2022).

Reportado como fungo oportunista emergente, *A. terreus* assume 4% de todas as infecções invasivas do gênero e está relacionada a um espectro de doenças que incluem API, aspergilose broncopulmonar alérgica, bronquite e/ou traqueobronquite e aspergilose disseminada, estando a infecção deste agente etiológico ligada a alta mortalidade entre espécies do mesmo gênero (PASTOR; GUARRO, 2014; KOBAYASHI *et al.*, 2021).

Associado a síndrome do edifício doente, *A. versicolor* é apontado como patógeno emergente e já foi relatado causando onicomiose e API (HEUSSNER; BINGLE, 2015; DÍAZ NIETO *et al.*, 2018). *Aspergillus neoaffricanus* já foi recuperado de amostra humana em um estudo que isolou uma única cepa, mas não esclarece se a amostra foi recuperada de aspirado, secreção de ferida ou unhas (RISSLEGGER *et al.*, 2017).

Sete espécies de *Cladoaporium* foram obtidas no presente estudo, sendo elas: *Cladosporium cladosporioides*, *C. halotolerans*, *C. perangustum*, *C. sphaerospermum*, *C. subuliforme*, *C. tenuissimum* e *C. vignae*. A espécie oportunista *C. cladosporioides* é responsável por causar onicomicose, infecção cutânea, subcutânea, pulmonar e ocular como ceratomicose e úlcera de córnea, granulomas dentários e infecções do couro cabeludo, além de terem sido isolado de amostras clínicas do abdômen, pleura e escarro, e serem alérgenos importantes especialmente em asmáticos (KWON-CHUNG; SCHWARTZ; RYBAK, 1975; PEPE; BERTOLOTTO, 1991; CHEW *et al.*, 2009; DUQUIA *et al.*, 2010; SOSA; COHEN; TSCHEN, 2012; SANDOVAL-DENIS *et al.*, 2015; SHECHTER-MAOR *et al.*, 2016). Envolvido em infecções oculares, *C. halotolerans* já foi isolado de amostras clínicas de brônquio, LBA, linfonodo, medula óssea, ponta de cateter, unhas e couro cabeludo (SANDOVAL-DENIS *et al.*, 2015; SAHAY *et al.*, 2020). Infecções subcutâneas, abscesso cerebral, meningite aguda, pneumonia e lesão intrabrônquica foram causadas por espécies de *C. sphaerospermum* (YANO; KOYABASHI; KATO, 2003; QIU-XIA *et al.*, 2008; CHEN *et al.*, 2013a; MADURI *et al.*, 2015; YEW *et al.*, 2016; BATRA *et al.*, 2019; VILLANUEVA; VENKATESAN; FIGUEROA, 2022). As espécies *C. subuliforme* e *C. tenuissimum* causam infecção ocular, bem como já foram isoladas de amostras clínicas de LBA. A primeira, foi isolada ainda de líquido cefalorraquidiano e unhas, enquanto que a segunda, isolada de pele, líquido de toracentese e escarro (SANDOVAL-DENIS *et al.*, 2015; SAHAY *et al.*, 2020).

Em relação a *Curvularia australiensis* e *C. geniculata*, ambas podem provocar infecções oculares e disseminadas, estando a segunda envolvida também em relato de peritonite (FLANAGAN; BRYCESON, 1997; VACHHARAJANI *et al.*, 2005; NARULA *et al.*, 2020; KULKARNI, 2022).

Há relatos de *Didymella heteroderae* causando ceratite induzida por lente de contato e isolada de amostras clínicas de tecidos superficiais (VALENZUELA-LOPEZ *et al.*, 2017; TODOKORO *et al.*, 2021).

Tupaki-Sreepurna *et al.* (2018) citam *Fusarium pseudocircinatum* (integrante do Complexo *F. fujikuroi* - FFSC) como causa de ceratite, mas para *F. hainanense* (integrante do Complexo *F. incarnatum-equiseti* - FIESC) não foi encontrado na literatura relatos causando doença em humanos.

O *Paraconiothyrium cyclothyrioides* isolado no estudo já foi referido causando infecções cutâneas, respiratórias, endoftalmite, ungueal, em região suprapatelar e em disseminação pulmonar e cerebral (GORDON *et al.*, 2012; COLOMBIER *et al.*, 2015; VALENZUELA-LOPEZ *et al.*, 2017; GARCIA-HERMOSO *et al.*, 2019; HAMED *et al.*, 2021).

Parengyodontium album possui atividades proteolíticas e queratinolíticas, que o tornam um patógeno emergente oportunista (SIMONOVICOVA; GODYOVA; KUNERT, 2004;

MACÊDO *et al.*, 2007). Este foi relatado como agente de infecções superficiais e sistêmicas, tais como: granulomatose mamária, cerebrite, eczema vesiculosum, endocardite, fungemias e ceratite, de acordo com o levantamento realizado por Tsang *et al.* (2016).

Sendo o terceiro gênero em número de espécies obtidas no presente estudo, foram resgatadas quatro espécies de *Penicillium*, sendo elas: *P. capsulatum*, *P. citrinum*, *P. costaricense* e *P. olsonii*. Na condição de agente causador de infecção invasiva em humanos, o *Penicillium capsulatum* não havia sido documentado até 2013, quando foi relatado o primeiro caso mundial de infecção pulmonar em imunocomprometido portador de diabetes *mellitus* tipo 2. Contudo, parece ter sido o único caso registrado desta espécie envolvida em infecções humanas, uma vez que não foram encontrados outros casos na literatura médica (HOUBRAKEN; SAMSON, 2011; CHEN *et al.*, 2013b; YANG *et al.*, 2016).

Como patógeno oportunista em humanos, *P. citrinum* tem sido isolado de amostras clínicas de escarro, aspirado traqueal, LBA e líquido cefalorraquidiano, além de ser apontado como responsável por causar infecção cutânea, ocular e pulmonar, incluindo IF pulmonares invasivas com envolvimento pericárdico e coinfeção com *Pneumocystis jirovecii* Frenkel (MORI *et al.*, 1987; MOK *et al.*, 1997; KRISHNAN *et al.*, 2015; GARG *et al.*, 2016; GUEVARA-SUAREZ *et al.*, 2016; HESSE *et al.*, 2017; BEENA *et al.*, 2021).

Quanto a *P. costaricense*, não foi encontrado na literatura relatos sobre sua patogenicidade, mas, há registro de que foi isolado pela primeira vez do intestino de *Rothschildia lebea* (Guérin-Méneville, 1868) na Costa Rica e após 17 anos do primeiro isolamento foi encontrado no Brasil em ambiente cirúrgico. O segundo isolamento da espécie foi documentado em 2020 como primeira ocorrência para a América do Sul, primeiro relato como anemófilo e segundo registro mundial (**Apêndice A**) (SOBRAL *et al.*, 2020).

No que concerne a *P. olsonii*, só foi localizado um estudo mencionando o isolamento da espécie em amostras clínicas, o qual foi obtido do trato respiratório de um paciente com fibrose cística em um hospital da Dinamarca (NIELSEN *et al.*, 2014).

Pseudopithomyces chartarum produz esporidiesmina que pode afetar a integridade das células do fígado e intestino humano, bem como, o 3-NP que pode conduzir à morte. Além disso, já foi relatado causando IFI em indivíduo imunocompetente (WANG *et al.*, 2017; GIORDANO *et al.*, 2018; AWUCHI *et al.*, 2022; SKOGVOLD *et al.*, 2022).

Apontado como patógeno humano emergente e oportunista, *Purpureocillium lilacinum* raramente está ligado a infecções, mas pode infectar imunocomprometidos, por meio de corpos estranhos, dispositivos implantados como próteses valvares, cateteres, implantes de lentes, derivações ventrículo-peritoneais, cirurgia prévia ou trauma contribuindo para o aumento da morbimortalidade (LUANGSA-ARD *et al.*, 2011; BATARSEH *et al.*, 2020; SPRUTE *et al.*, 2021;

ALHARBI *et al.*, 2022). A espécie tem sido descrita na literatura médica causando infecções cutânea, subcutânea, pulmonar e oculares tais como oculomicose, ceratite e endoftalmite, osteomielite, em tecidos moles, fungemia e seios paranasais (SPRUTE *et al.*, 2021; ALBERT *et al.*, 2022).

A infecção causada por *Rhizomucor pusillus* pode ocorrer de forma isolada ou disseminada a qual pode alcançar a corrente sanguínea e/ou pelo menos dois sítios não adjacentes, sendo a mucormicose rino-órbito-cerebral e pulmonar as formas mais prevalentes (JEONG *et al.*, 2019; PANDEY; GUPTA, 2020). Na disseminação, embora muito rara, a progressão é agressiva e fatal, podendo comprometer nas mucormicose rino-órbito-cerebral, os seios paranasais, órbitas e cérebro; na mucormicose pulmonar profunda, a infecção pode comprometer os pulmões, parede torácica, coração, artéria ou aorta; nas infecções cutâneas profundas, pode haver invasão de músculo, tendão ou osso; e na mucormicose gastrointestinal, o trato gastrointestinal luminal e órgãos abdominais como fígado, baço, pâncreas e vesícula biliar estão envolvidos; há ainda a mucormicose renal, de ouvido, de glândula parótida, de linfonodos e útero (JEONG *et al.*, 2019; SHI *et al.*, 2022).

Há na literatura, relatos de isolamento de *Talamoryces atroroseus* em amostras clínicas de escarro, fezes e nasofaringe de pacientes infectados pelo vírus da imunodeficiência humana, e em amostras de LBA de pacientes não infectados pelo vírus (GUEVARA-SUAREZ *et al.*, 2016; SURJA *et al.*, 2019). Sobre *T. diversus*, só foi encontrado na literatura médica um estudo que menciona o isolamento da espécie em amostra clínica de pulmão (GUEVARA-SUAREZ *et al.*, 2016). Não foram encontrados na literatura relatos de *A. steynii*, *C. perangustum*, *C. vignae* e *N. zimmermanii* envolvidos em doença humana. No entanto, *A. steynii* produz OTA em grande quantidade (VISAGIE *et al.*, 2014).

Algumas espécies deste estudo já foram isoladas do ar de ambiente hospitalar e unidades de saúde. *A. flavus*, por exemplo, já foi isolado como anemófilos em um hospital universitário e enfermaria hemato-oncológico, ambos em Portugal; em UTI de um hospital universitário em Alagoas e em ambientes críticos e não críticos de um hospital Iraniano (ABBASI; SAMAEI, 2019; CALUMBY *et al.*, 2019; MONTEIRO *et al.*, 2019). *A. terreus*, por sua vez, foi isolado do ar hospitalar na Áustria (BALAJEE *et al.*, 2009).

As espécies *C. cladosporioides*, *C. halotolerans* e *P. citrinum* já foram isoladas do ar de UTI geral e neonatal no estado de Alagoas (CALUMBY *et al.*, 2019; SOUZA *et al.*, 2019). *C. perangustum* isolado no ar de ambientes hospitalares, centros de saúde, de enfermagem e centros de tutorias na China enquanto que *C. geniculata* foi isolada do ar de ambiente de UTI neonatal também em Alagoas (HSU *et al.*, 2012; SOUZA *et al.*, 2019).

As espécies de *P. lilacinum* e *R. pusillus* foram encontradas no ar de um centro oncológico na França e no ar e superfícies inanimadas de unidade hematológica, respectivamente (HEUTTE *et*

al., 2017; HARTNETT *et al.*, 2019). Não foram encontrados relatos das demais espécies isoladas no estudo enquanto anemófilos de ambientes clínico ou hospitalar, sendo este o primeiro estudo a caracterizar estas espécies.

5.2 ECOLOGIA DE FUNGOS ANEMÓFILOS

Ao analisar a diversidade e riqueza fúngica de cada ambiente, foram isoladas 40 cepas do CC – 23 espécies, sendo que os gêneros mais comuns foram *Penicillium*, *Aspergillus*, *Cladosporium* e *Talaromyces*. Cinco cepas foram recuperadas do CCC - *A. chevalieri*, *A. versicolor*, *Parengyodontium álbum*, *Penicillium olsonii* e *P. steckii*. Três cepas foram isoladas dos leitos da UTI - *C. halotolerans*, *C. sphaerospermum* e *A. neoaffricanus*. Em relação AE-UTI, seis cepas foram obtidas, *A. alabamensis*, *A. costaricensis*, *Curvularia geniculata*, *Didymella heteroderae*, *Nigrospora zimmermanii* e *Purpureocillium lilacinum* (**Gráfico 2; Tabela 2**).

Gráfico 2 - Frequência de similaridade dos fungos anemófilos isolados nas áreas do Centro Cirúrgico (CC), Corredor do Centro Cirúrgico (CCC), Unidade de Terapia Intensiva (UTI) e área externa da UTI (AE-UTI) do hospital terciário de Caruaru, Pernambuco, Brasil por meio de diagrama de Venn



O ambiente do CC concentra um grande número de profissionais/m², diversos equipamentos, procedimentos e rotatividade de assistência direta, o que pode contribuir para o aumento da carga fúngica. Essas questões podem favorecer a contaminação ambiental, como observadas no presente estudo, onde a maioria das cepas obtidas foram resgatadas do CC onde a periodicidade e atenção na assepsia de superfícies inanimadas é mais criteriosa, a riqueza no CC foi alta diferentemente das demais áreas (CCC, UTI e AE-UTI) que demonstraram serem baixas, assim como a similaridade que

de modo geral foram baixas para todas as áreas. A frequência de similaridade entre as espécies encontradas em cada área do estudo está descrita detalhadamente na **Tabela 2**. A riqueza de fungos anemófilos também foi alta nos estudos de Calumby *et al.* (2019), Monteiro *et al.* (2019) e Núñez e García (2023) que avaliaram, respectivamente, a UTI de um hospital universitário em Alagoas, um hospital universitário e enfermaria hemato-oncológico, ambos em Portugal e um hospital clínico na Espanha.

Tabela 2 - Fungos anemófilos isolados nas áreas do Centro Cirúrgico (CC), Corredor do Centro Cirúrgico (CCC), Unidade de Terapia Intensiva (UTI) e área externa da UTI (AE-UTI) do hospital terciário de Caruaru, Pernambuco, Brasil.

Espécies	Áreas de coleta			
	CC	CCC	UTI	AE-UTI
<i>Aspergillus alabamensis</i> Balajee, Baddley, Frisvad & Samson	-	-	-	+
<i>A. chevalieri</i> (L. Mangin) Thom & Church	-	+	-	-
<i>A. costaricensis</i> Samson & Frisvad	+	-	-	+
<i>A. flavus</i> Link	+	-	-	-
<i>A. neoafrikanus</i> Samson, SW Peterson, Frisvad & Varga	+	-	+	-
<i>A. steynii</i> Frisvad & Samson	+	-	-	-
<i>A. terreus</i> Thom	+	-	-	-
<i>A. versicolor</i> (Vuill.) Tirab.	-	+	-	-
<i>Cladosporium cladosporioides</i> (Fresen.) GA de Vries	+	-	-	-
<i>C. halotolerans</i> Zalar, de Hoog & Gunde-Cim.	+	-	+	-
<i>C. perangustum</i> Bensch, Crous & U. Braun	+	-	-	-
<i>C. sphaerospermum</i> Penz.	-	-	+	-
<i>C. subuliforme</i> Bensch, Crous & U. Braun	+	-	-	-
<i>C. tenuissimum</i> Cooke	+	-	-	-
<i>C. vignae</i> MW Gardner	+	-	-	-
<i>Curvularia australiensis</i> (Bugnic. ex MB Ellis) Manamgoda, L. Cai & KD Hyde	+	-	-	-
<i>C. geniculata</i> (Tracy & Earle) Boedijn	-	-	-	+
<i>Didymella heteroderae</i> (Sen Y. Chen, DW Dicks. & Kimbr.) Qian Chen & L. Cai	-	-	-	+
<i>Fusarium hainanense</i> M.M. Wang, Qian Chen e L. Cai	+	-	-	-
<i>F. pseudocircinatum</i> O'Donnell & Nirenberg	+	-	-	-

<i>Nigrospora zimmermanii</i> Crous	-	-	-	+
<i>Paraconiothyrium cyclothyrioides</i> Verkley	+	-	-	-
<i>Parengyodontium album</i> (Limber) CC Tsang, JFW Chan, WM Pong, JHK Chen, AHY Ngan, M. Cheung, CKC Lai, DNC Tsang, SKP Lau e PCY Woo	-	+	-	-
<i>Penicillium capsulatum</i> Raper & Fennell	+	-	-	-
<i>P. citrinum</i> Thom	+	+	-	-
<i>P. costaricense</i> Visagie, M. Urb & Seifert	+	-	-	-
<i>P. olsonii</i> Bainier & Sartory	+	+	-	-
<i>Pseudopithomyces chartarum</i> (Berk. & MA Curtis) Jun F. Li, Ariyaw. & KD Hyde	+	-	-	-
<i>Purpureocillium lilacinum</i> (Thom) Luangsa-ard, Houbraken, Hywel-Jones & Samson	-	-	-	+
<i>Rhizomucor pusillus</i> (Lindt) Schipper	+	-	-	-
<i>Talaromyces atroroseus</i> N. Yilmaz, Frisvad, Houbraken & Samson	+	-	-	-
<i>T. diversus</i> (Raper & Fennell) Samson, N. Yilmaz & Frisvad	+	-	-	-

Legenda: Presença (+); Ausência (-)

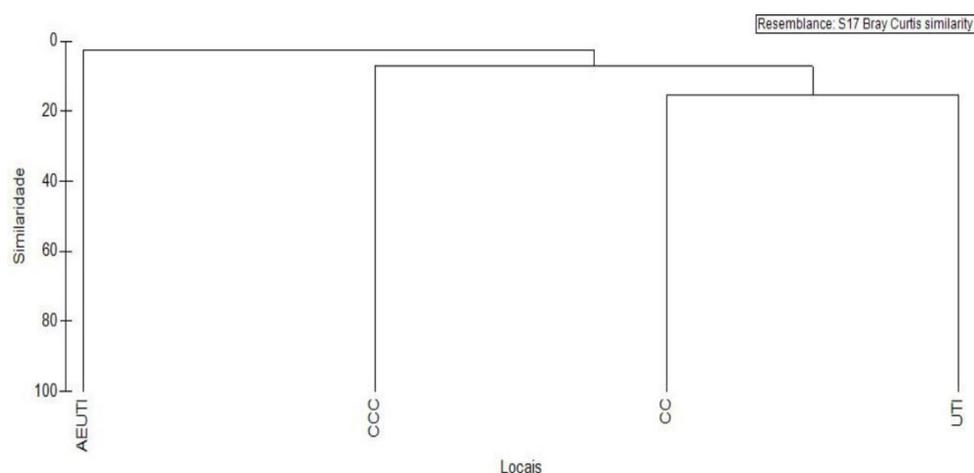
Pires (2021) observaram que *Cladosporium* e *Aspergillus* são predominantes em ambiente de terapia intensiva. O acesso restrito a ambientes hospitalares críticos como a UTI contribui para a redução da riqueza fúngica, devido ao baixo trânsito de profissionais, equipamentos e visitantes (BRASIL, 2002). Por outro lado, esperava-se que a carga fúngica encontrada na AE-UTI fosse maior do que a encontrada na UTI, o que seria aceitável, visto que é um ambiente sem restrições e maior circulação de profissionais, visitantes e equipamentos (BRASIL, 2002). A AE-UTI, por ser uma área de acesso, pode apresentar maior contaminação ambiental, o que pode ser explicado pelo aumento do tráfego humano e ventilação inadequada em relação às áreas restritivas (YOUSEFZADEH *et al.*, 2022).

O CC apresenta maior riqueza fúngica do que o corredor do CC (**Tabela 2**). Esse aumento de fungos no CC possivelmente está associado à quantidade de equipamentos fixos e ao maior número de profissionais concentrados nesses ambientes por mais tempo, bem como à frequência com que as portas de acesso às salas são abertas. Embora o CC e o CCC funcionem com diferencial de pressão positiva para impedir a entrada de ar contaminado das áreas adjacentes e, assim, garantir a assepsia, a frequência com que as portas são abertas desequilibra a pressão, permitindo a entrada de contaminantes (ALONSO *et al.*, 2022). Conseqüentemente, os contaminantes tornam-se mais presentes no CC do que no CCC, certamente porque no CCC há menos circulação de profissionais e pouco mobiliário auxiliar. Esses fatos, presumivelmente nos fazem entender porque a

contaminação fúngica foi maior no CC do que no CCC e, conseqüentemente, porque os achados são mais preocupantes no CC do que na UTI, neste estudo.

A similaridade de fungos anemófilos entre as áreas do ambiente hospitalar estudado, foi baixa, sendo observadas apenas cinco espécies presentes em mais de um ambiente (**Tabela 2**), *A. costaricensis*, *A. neoafricanus*, *C. halotolerans*, *P. citrinum* e *P. olsonii*. *A. costaricensis* foi encontrado tanto no CC quanto na AE-UTI, enquanto *A. neoafricanus* e *C. halotolerans* estavam presentes no CC e na UTI. O *P. citrinum* e *P. olsonii* foram encontrados nas CC e no CCC (**Gráfico 2; Tabela 2**). A ocorrência dessas espécies em mais de uma área provavelmente está relacionada à contaminação cruzada que pode ocorrer pelo trânsito de profissionais de saúde, colaboradores e pacientes entre áreas não restritas e áreas restritas. As áreas mais similares foram CC *versus* UTI (15,39%) e CCC *versus* CC (14,29%) (**Gráfico 3**).

Gráfico 3 – Análise de similaridade de Bray-Cutis da composição de fungos anemófilos entre as áreas de Centro Cirúrgico (CC), corredor do Centro Cirúrgico (CCC), Unidade de Terapia Intensiva (UTI) e área externa da UTI (AE-UTI) do hospital terciário de Caruaru, Pernambuco, Brasil.

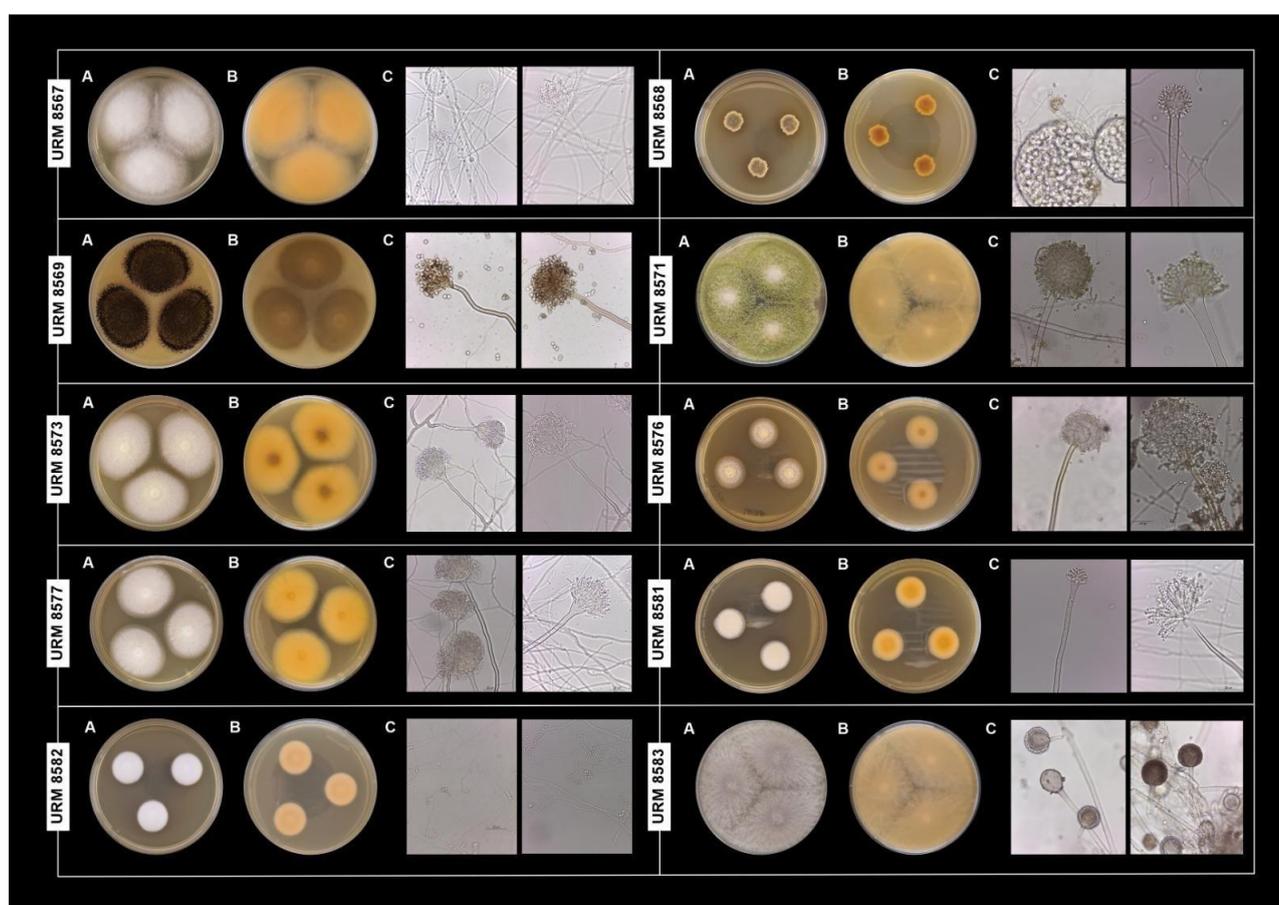


5.3 DETECÇÃO DE TERMOTOLERÂNCIA DE FUNGOS ANEMÓFILOS

Como critério de inclusão para as demais metodologias aplicadas no estudo, as 54 cepas fúngicas foram submetidas a avaliação de crescimento frente a temperatura de 35 °C (± 2 °C), destes, apenas 31,5% (n=17/54) formaram colônias viáveis. Um representante de cada espécie foi escolhido aleatoriamente para detalhar a macro e micromorfologia da cultura (**Figura 1**). Em comunhão, as análises filogenéticas destes isolados foram descritas, sendo gerados três filogramas de acordo com o gênero (**Figura 2; Figura 3; Figura 4**).

A maioria das espécies identificadas neste estudo já foi relatada como causadora de algum tipo de comprometimento clínico. Segundo Wall e Lopez-Ribot (2020) e León- Buitimea *et al.* (2021), os fungos patogênicos têm a capacidade de crescer a uma temperatura $\geq 37^\circ\text{C}$, invadir tecidos profundos associados à sua patogênese, digerir e absorver elementos do tecido humano, a fim de fornecer sua própria nutrição e resistir ao sistema imunológico humano. Por tanto, a capacidade de crescimento a 35°C das 17 cepas pertencentes a *Aspergillus*, *Purpureocillum* e *Rhizomucor* sugerem o seu potencial patogênico

Figura 1 – Análise morfológica dos representantes das espécies fúngicas anemófilos com potencial patogênico isoladas de um hospital terciário de Caruaru, Pernambuco, Brasil.



Legenda: A e B (Macroscopia das colônias fúngicas: A [Verso] e B [Reverso]); C (Microscopia das colônias fúngicas por cultura em lâmina em meio de cultura MEA) – Ampliação 400x; URM 8567 (*A. alabamensis*); URM 8568 (*A. chevalieri*); URM 8569 (*A. costaricensis*); URM 8571 (*A. flavus*); URM 8573 (*A. neoafrikanus*); URM 8576 (*A. steynii*); URM 8577 (*A. terreus*); URM 8581 (*A. versicolor*); URM 8582 (*P. lilacinum*); URM 8583 (*R. pusillus*).

Figura 2 – Filograma obtido por análise de verossimilhança a partir de seqüências do gene *BenA* mostrando o posicionamento de 15 cepas do gênero *Aspergillus* isolado do ar atmosférico de CC, CCC, UTI e AE-UTI de um hospital terciário de Caruaru, Pernambuco, Brasil. *Penicillium brasilianum* CBS 253.55 foi utilizado como grupo externo. Os valores de bootstrap acima de 70% são mostrados pertos dos nós. Os representantes destacados em negrito foram obtidos nesse estudo.

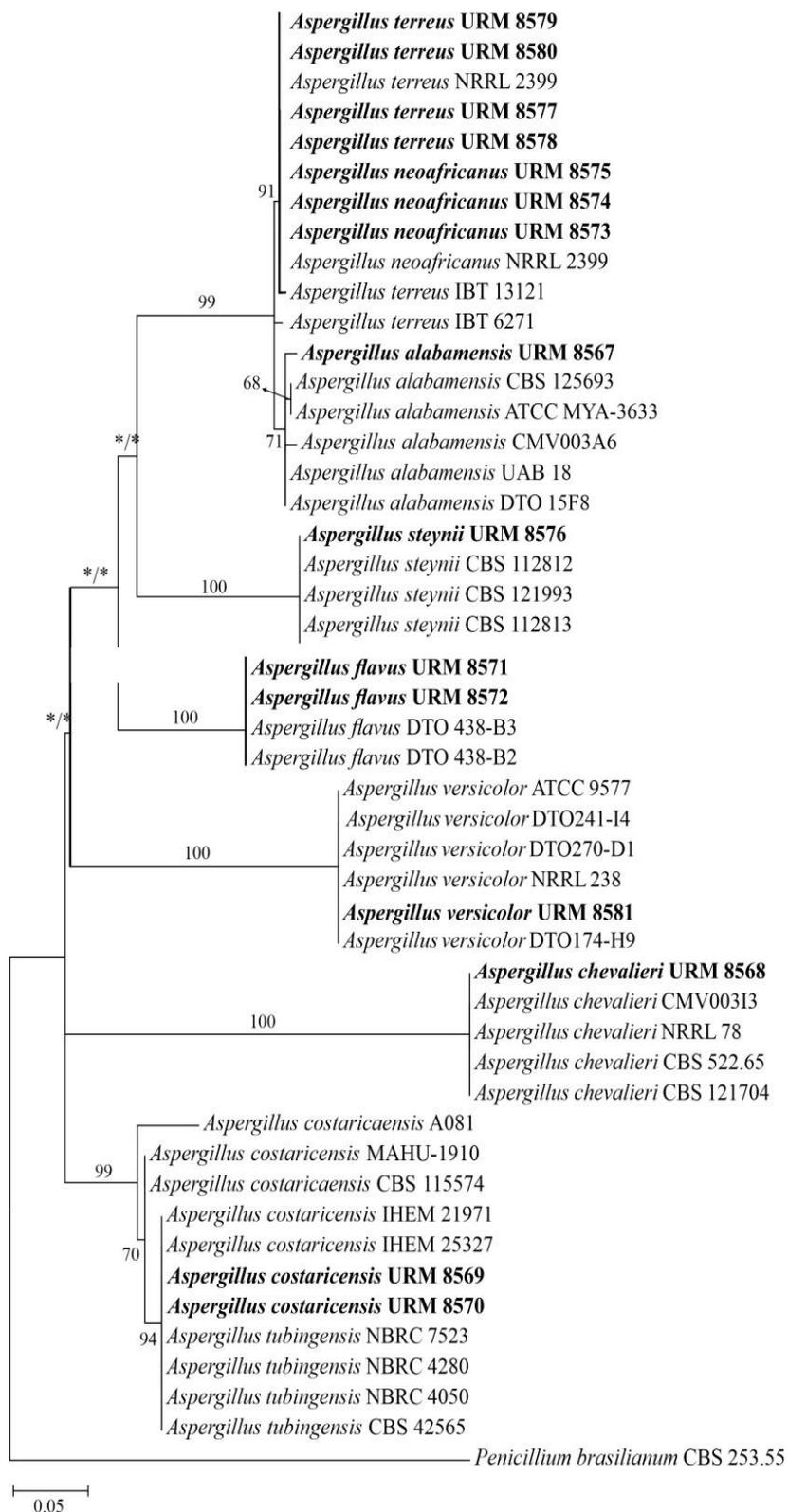


Figura 3 – Filograma obtido por análise de verossimilhança a partir de sequências do gene *LSU* mostrando o posicionamento de uma cepa do gênero *Purpureocillium* isolado do ar atmosférico de CC, CCC, UTI e AE-UTI de um hospital terciário de Caruaru, Pernambuco, Brasil. *Penicillium limosum* CBS 339.97 foi utilizado como grupo externo.

Os valores de bootstrap acima de 70% são mostrados pertos dos nós. O representante destacado em negrito foi obtido nesse estudo.

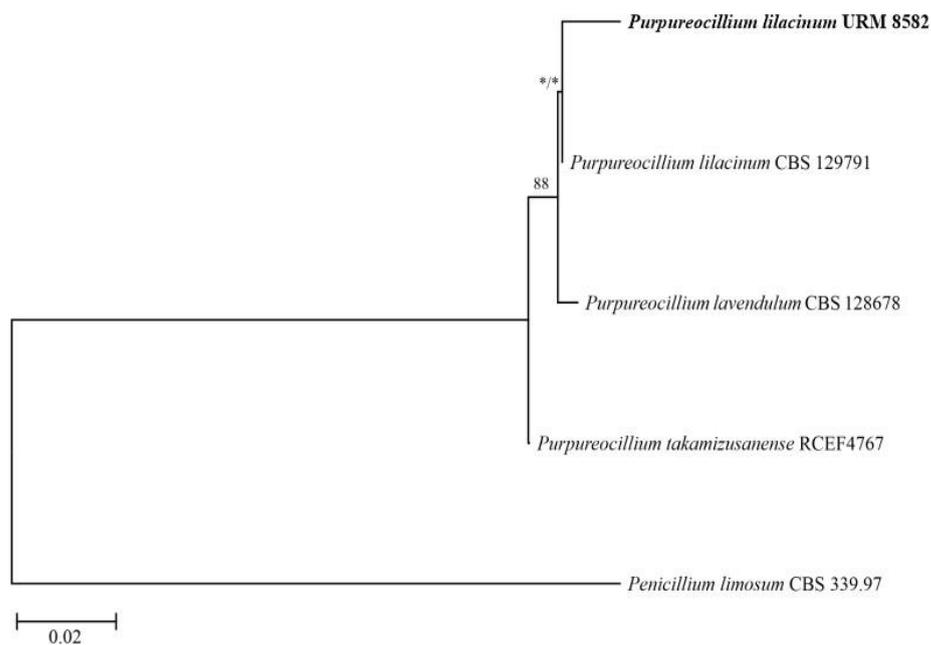
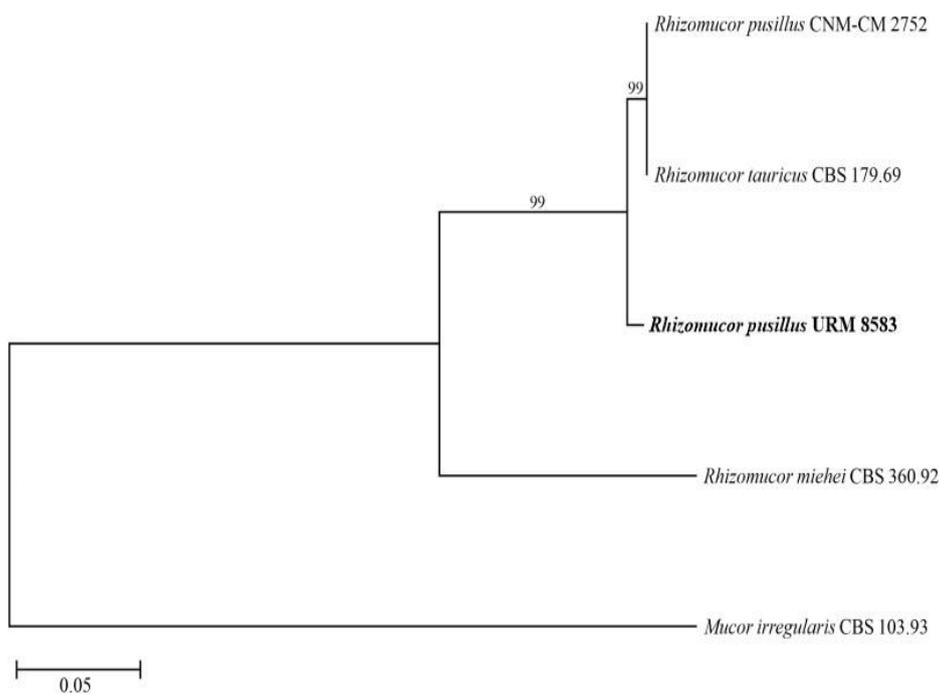


Figura 4 – Filograma obtido por análise de verossimilhança a partir de sequências do gene *ITS* mostrando o posicionamento de uma cepa do gênero *Rhizomucor* isolado do ar atmosférico de CC, CCC, UTI e AE-UTI de um hospital terciário de Caruaru, Pernambuco, Brasil. *Mucor irregularis* CBS 103.93 foi utilizado como grupo externo. Os valores de bootstrap acima de 70% são mostrados pertos dos nós. O representante destacado em negrito foi obtido nesse estudo.



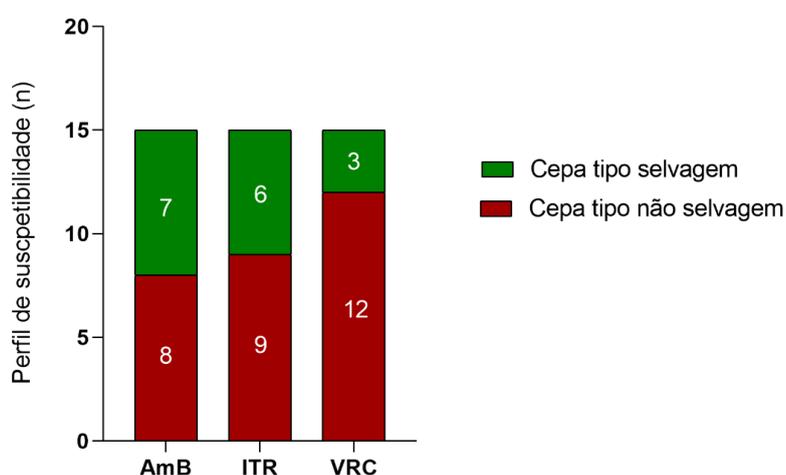
5.4 PERFIL DE SUSCETIBILIDADE ANTIFÚNGICA DE FUNGOS ANEMÓFILOS

A faixa de CIMs para os isolados de *Aspergillus* variaram de 0,25->16 µg/mL, 0,03->16 µg/mL e 1-8 µg/mL para AmB, ITR e VRC, respectivamente. Portanto, 53% (n=8/15) dos isolados foram considerados não selvagens contra AmB (*A. flavus* [URM 8571 e URM 8572], *A. terreus* [URM 8577]), *A. alabamensis* [URM 8567], *A. neoaffricanus* [URM 8573, URM 8574 e URM 8575] e *A. steynii* [URM 8576]). Enquanto que, 47% (n=7/15) foram selvagens (*A. terreus* [URM 8578, URM 8579 e URM 8580], *A. chevalieri* [URM 8568], *A. costaricensis* [URM 8569 e URM 8570] e *A. versicolor* [URM 8581]).

Em relação ao ITR, 60% (n=9/15) dos isolados de *Aspergillus* foram definidos como não selvagens (*A. flavus* [URM 8571 e URM 8572], *A. terreus* [URM 8577, URM 8578, URM 8579 e URM 8580], *A. costaricensis* [URM 8569 e URM 8570] e *A. neoaffricanus* [URM 8574]), enquanto 40% (n=6/15) foram selvagens (*A. alabamensis* [URM 8567], *A. chevalieri* [URM 8568], *A. neoaffricanus* [URM 8573 e URM 8575], *A. steynii* [URM 8576] e *A. versicolor* [URM 8581]).

Quando avaliados frente VRC, 80% (n=12/15) dos isolados foram considerados não selvagens (*A. flavus* [URM 8571 e URM 8572], *A. terreus* [URM 8577, URM 8578, URM 8579 e URM 8580], *A. costaricensis* [URM 8569 e URM 8570], *A. neoaffricanus* [URM 8573, URM 8574 e URM 8575] e *A. versicolor* [URM 8581]) e 20% (n=3/15) foram classificados como selvagens (*A. alabamensis* [URM 8567], *A. chevalieri* [URM 8568] e *A. steynii* [URM 8576]). Todos os dados estão descritos no **Gráfico 4**.

Gráfico 4 - Perfil de suscetibilidade dos isolados ambientais de *Aspergillus* sp. frente a Anfotericina B (AmB), Itraconazol (ITR) e voriconazol (VRC).



Avaliar a suscetibilidade antifúngica de patógenos fúngicos é uma maneira enérgica de contribuir para o gerenciamento eficaz de infecções em indivíduos de alto risco (BADIEE *et al.*, 2022). Espécies não selvagens são provavelmente as principais preocupações relacionadas a fungos para as unidades de saúde. As espécies não selvagens frente AmB - *A. flavus* (URM 8571 e 8572) e *A. terreus* (URM 8577) foram isoladas do ambiente cirúrgico - área crítica que recebe pacientes com comprometimento da saúde em diferentes graus, e que estarão com os planos anatômicos expostos a patógenos oportunistas durante o período intraoperatório (HALVORSON *et al.*, 2020; LIN *et al.*, 2020; FERRAZ *et al.*, 2022).

O isolamento de *A. terreus* resistente à AmB, um dos principais agentes da aspergilose, possui um risco excepcionalmente alto de resistência a múltiplas drogas (ARENDRUP *et al.*, 2012; TIANYU *et al.*, 2021; SHAHANDASHTI *et al.*, 2022). Embora o estudo apresente apenas um espécime de *A. terreus* não selvagem a esta droga, outros autores relatam que a espécie é inatamente resistente à droga tanto *in vivo* quanto *in vitro* (SHAHANDASHTI; LASS-FLÖRL, 2019). Também é possível encontrar na literatura *A. flavus* não selvagem frente este polienocoma argumentam Yang *et al.* (2021). Assim como neste estudo, Oliveira *et al.* (2020) identificaram espécies anemófilas não selvagens de *A. flavus* e *A. terreus* isolados de UTI, CC, centro de material e esterilização e superfícies inanimadas em dois hospitais privados do estado de Goiás, Brasil.

Sobre a suscetibilidade aos azólicos, Jing *et al.* (2022a) encontraram cepas selvagens de *A. flavus* e *A. terreus* frente ITR e VRC. Apesar das cepas deste estudo serem do tipo selvagem contra ITR, ambas as espécies diferiram em relação ao VRC que não demonstrou atividade antifúngica. As cepas não selvagens ao VRC encontradas em nosso trabalho se alinham com as de Risum *et al.* (2020) e Dietl *et al.* (2021), que foram capazes de identificar cepas potencialmente resistentes de *A. terreus* contra VRC em dois centros de referência para fibrose cística da Dinamarca e em amostras clínicas em um hospital universitário na Áustria, respectivamente.

Da mesma forma, Buil *et al.* (2021) relataram cepas não selvagens de *A. flavus* frente ITR e VRC isoladas durante o tratamento de aspergilose broncopulmonar invasiva subaguda em um paciente com doença pulmonar obstrutiva crônica. O voriconazol é o principal fármaco utilizado no manejo dos casos de aspergilose extrapulmonar e profilaxia da aspergilose invasiva na ausência do posaconazol – que atualmente está indisponível para uso no Brasil.

CIMs elevadas contra azóis em *A. flavus* e *A. terreus* já foram relatadas, mas, os mecanismos que causam o declínio da suscetibilidade a esta classe farmacológica em relação às espécies citadas ainda não são bem compreendidos por serem menos estudados que o *A.*

fumigatus – tal espécie tem a mutação no gene *Cyp51a* com um dos principais mecanismos de resistência (SHARPE *et al.*, 2018; RISUM *et al.*, 2020; BUIL *et al.*, 2021). Uma preocupação global deve ser destacada devido ao número de espécimes fúngicos que apresentam sensibilidade reduzida aos azóis, de modo que, a identificação do perfil de susceptibilidade tem impacto na prática clínica (ZORAN *et al.*, 2018; BADIEE *et al.*, 2022).

O perfil de suscetibilidade frente AmB para as demais espécies de *Aspergillus* do estudo corrobora os dados de Risslegger *et al.* (2017), que identificaram cepas não selvagens para *A. alabamensis* e *A. neoafricanus* recuperadas de amostras clínicas. O fato de *A. alabamensis* ser uma espécie críptica de *A. terreus* pode supostamente explicar o alto teor da CIM frente ao fármaco. Masih *et al.* (2016) relataram a boa tolerância antifúngica a azólicos de *A. versicolor* isolado de ceratite, divergindo do nosso resultado em relação ao VRC, mas concordante para ITR.

Aqui, *A. costaricensis* e *A. versicolor* se mostraram selvagens para AmB e não selvagens para VRC, divergindo de Masih *et al.* (2016) em relação ao VRC para *A. costaricensis* em amostras de espécies raras de *Aspergillus* clinicamente significativas em um hospital na Índia. Com relação ao ITR, as cepas mostraram-se não selvagem e selvagem, respectivamente, discordando de Tsang *et al.* (2020) que identificou uma cepa de *A. costaricensis* do tipo selvagem em infecções com espécies raras/crípticas de *Aspergillus*.

Em relação à cepa de *A. steynii*, os dados de suscetibilidade na literatura são escassos, por ser aparentemente raro ou nunca ter sido relatado como patógeno humano. Até onde sabemos, este é o primeiro perfil de susceptibilidade de *A. steynii*, onde a cepa demonstrou boa tolerância aos azólicos avaliados e potencialmente resistência a AmB.

A análise de suscetibilidade para *P. lilacinum* mostrou valores de CIMs altos para AmB e ITR (>16µg/mL ambos), mas baixos para ISA (0,125µg/mL) e VRC (2µg/mL), corroborando os estudos de Albert *et al.* (2022), que obtiveram espécies isoladas de um paciente com infecção subcutânea crônica. No entanto, ao contrário de Côrrea-Moreira *et al.* (2022) que mostraram cepas tipo selvagem para AmB e cepas não selvagens para VRC, apenas um isolado do estudo provou ser não selvagem para ITR. Portanto, é aconselhável que os fármacos disponíveis sejam testados para determinar o perfil de suscetibilidade de cada isolado.

O *R. pusillus* foi não selvagem para VRC (CIM >16µg/mL), ao contrário dos dados descritos por Toda *et al.* (2018) que conduziram um caso de leucemia mielóide aguda subjacente. De acordo com Liu *et al.* (2022), a terapia antimicótica inicial deve ser realizada com AmB, enquanto ISA e posaconazol para terapia de redução da carga fúngica, corroborando os dados inferidos neste estudo, já que AmB (CIM 0,25µg/mL) foi mais ativo que ISA (CIM

2µg/mL). Gupta *et al.* (2022) argumentam que o ITR tem baixa atividade contra esse patógeno. No entanto, o espécime analisado indicou o contrário (CIM 1µg/mL). Um ensaio realizado na China avaliou isolados de *R. pusillus* contra AmB, ISA e VRC, expondo valores de CIMs semelhantes aos deste estudo (JING *et al.*, 2022b). Borman *et al.* (2021) atingiram valores discordantes em relação ao ITR e ISA em isolados clínicos da mesma espécie. Sen *et al.* (2021) demonstraram que AmB é a terapia indicada para mucormicose e torna-se ainda mais eficaz quando combinada com ISA em pacientes coinfectados por COVID – 19, o que reafirma nosso resultado.

Atualmente, a preocupação com fungos, em especial com os emergentes, tem relação direta com as mudanças climáticas que podem provocar uma pressão ambiental capaz de incitar novas doenças, visto que, as espécies estão se adaptando paulatinamente ao aquecimento global e, portanto, desenvolvendo termotolerância (CASADEVALL, 2020; NNADI; CARTER, 2021). Essa condição tem conferido aos fungos cada vez mais capacidade de se tornarem resistentes, tolerantes ou insensíveis aos antifúngicos, além do mais, tem sido crescente o número de indivíduos suscetíveis. Uma vez introduzidos clinicamente, é possível prever que a resistência é questão de tempo e os perfis de resistência de cepas tanto podem ser a um quanto a múltiplos fármacos (FISHER *et al.*, 2022).

Curiosamente, parte das espécies isoladas neste estudo apresentam poucos relatos de infecção humana, ou nem mesmo foram recuperadas de ambiente hospitalar, mas expressam CIMs preocupantes. Este é o primeiro relato de espécimes em ambiente hospitalar crítico, tolerantes a uma ou mais drogas da classe dos polienos e azólicos, assim como, parece ser o primeiro a avaliar a eficácia do ISA, um novo triazol contra *P. lilacium*.

Por fim, o perfil de suscetibilidade antifúngica do estudo contribui fornecendo dados para o estabelecimento, em estudos posteriores, de valores de corte epidemiológicos para estas espécies ambientais. Todos os valores de CIMs para os isolados bem como suas interpretações de atividade antifúngica estão detalhadamente descritos na **Tabela 3**. Em negrito estão destacados os isolados categorizados como não selvagens aos antifúngicos avaliados.

Tabela 3 – Perfil de suscetibilidade antifúngica in vitro de fungos anemófilos no Centro Cirúrgico (CC), corredor do Centro Cirúrgico (CCC), Unidade de Terapia Intensiva (UTI) e área externa da UTI (AE-UTI) no hospital terciário de Caruaru, Pernambuco, Brasil.

Código URM	Espécie fúngica	Área de isolamento	Fármaco / Intervado CIM ₁₀₀ / Padrão de interpretação								
			AmB		ITR		VRC		ISA		
			WT	NW	WT	NW	WT	NW	WT	NW	
8567†	<i>A. alabamensis</i>	AE-UTI		16*	0,5			2			
8568	<i>A. chevalieri</i>	CCC	2		0,03			1			
8569	<i>A. costaricensis</i>	AE-UTI	0,25				>16*			8*	
8570	<i>A. costaricensis</i>	CC	2				16*			8*	
8571	<i>A. flavus</i>	CC		16	0,06					4	
8572	<i>A. flavus</i>	CC		16	0,03					4	
8573	<i>A. neoaffricanus</i>	CC		16*	0,5					4*	
8574	<i>A. neoaffricanus</i>	UTI		8*			4*			8*	
8575	<i>A. neoaffricanus</i>	CC		16*	0,5					8*	
8576	<i>A. steynii</i>	CC		>16*	0,03			2			
8577	<i>A. terreus</i>	CC		16	0,25					4	
8578	<i>A. terreus</i>	CC	2		0,25					4	
8579	<i>A. terreus</i>	CC		4	1					8	
8580	<i>A. terreus</i>	CC		4	0,25					4	
8581	<i>A. versicolor</i>	CCC	2		0,25					4*	
8582	<i>P. lilacinum</i>	AE-UTI		>16*			>16*	2			0,125
8583	<i>R. pusillus</i>	CC	0,25		1					>16*	2

Legenda: URM (Coleção de Culturas Micoteca URM/UFPE); CIM₁₀₀ (Concentração Mínima Inibitória Fungicida); AMB (Anfotericina B); ITR (Itraconazol); VRC (Voriconazol); ISA (Isavuconazol); WT (Cepa selvagem); NWT (Cepa não selvagem).

†Alto CIM, provável cepa não selvagem.

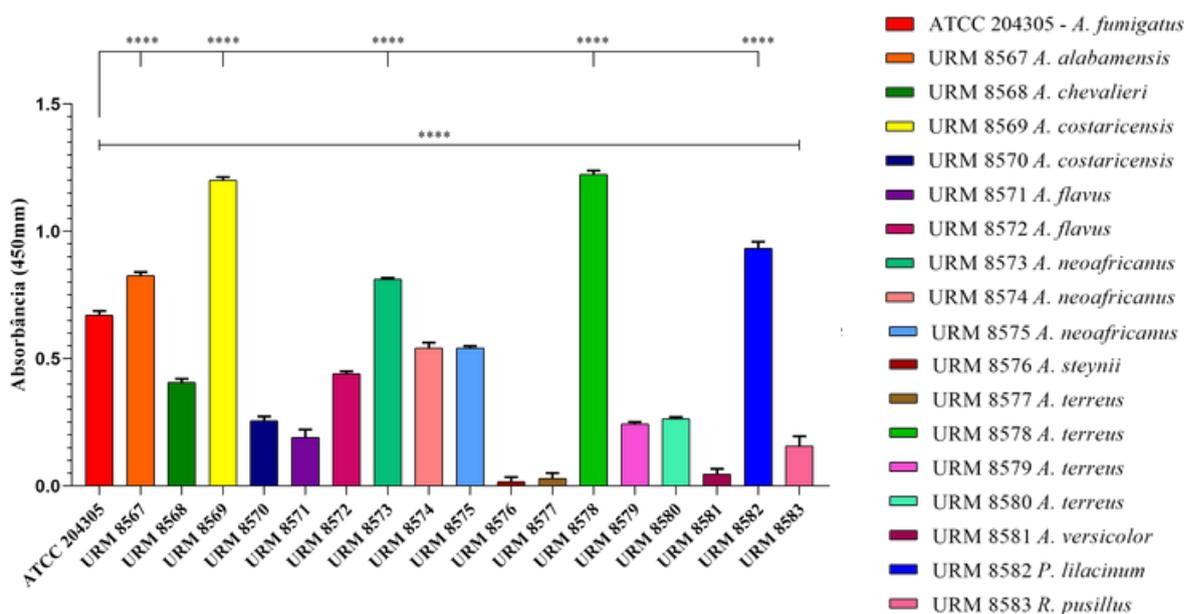
Em negrito estão as cepas, CIM e Padrões de Interpretação contra os medicamentos avaliados de acordo com o padrão *Epidemiological Cutoff Value* (ECV) descrito no documento M38M51S (CLSI, 2022).

Controle de qualidade (*Candida parapsilosis* (Ashford) Langeron & Talice [ATCC® 22019] e *Aspergillus fumigatus* Fresen. [ATCC® 20430]).

5.5 ALERGENICIDADE

A imunodeteção de alérgenos *in vitro* entre isolados variou de 0,0 a 1,2 por OD₄₅₀. Em comparação com o *A. fumigatus* ATCC 204305 - cepa referência, todos os isolados ambientais apresentaram diferença estatística ($p < 0,0001$). No entanto, apenas 29% ($n=5/17$) destes, apresentaram mais alergenicidade do que a cepa de referência. Isolados de *A. costaricensis* (URM 8569) e *A. terreus* (URM 8578) produziram 1,7x e 1,8x mais alérgenos, respectivamente ($p < 0,0001$) (**Gráfico 5**). Estas mesmas cepas foram categorizadas como de alta produção de alérgenos, ambas com OD₄₅₀ de 1,2. Produção baixa a moderada foi observada nas cepas de *A. alabamensis* (URM 8567) e *A. neoaffricanus* (URM 8573) ambas com OD₄₅₀ de 0,8; e OD₄₅₀ de 0,5 em *A. neoaffricanus* (URM 8574 e URM 8575). A ausência de alérgenos foi encontrada em *A. chevalieri* (URM 8568), *A. costaricensis* (URM 8570), *A. flavus* (URM 8571 e URM 8572), *A. steynii* (URM 8576), *A. terreus* (URM 8577, URM 8579 e URM 8580) e *A. versicolor* (URM 8581). Em relação a *R. pusillus*, a espécie apresentou baixo potencial alergênico (0,2 OD₄₅₀) e *P. lilacinum* apresentou alto potencial de alergenicidade (0,9 OD₄₅₀).

Gráfico 5 - Potencial alergênico de cepas fúngicas anemófilos obtidos de um hospital terciário de Caruaru, Pernambuco, Brasil



Neste estudo, *A. costaricensis* e *A. terreus* apresentaram alto potencial alergênico, mas cinco outras cepas (*A. alabamensis*, *A. neoaffricanus* [$n=3$] e *P. lilacinum*) apresentaram atividade alergênica moderada (**Tabela 4**). Esses dados são preocupantes, porque 41% ($n=$

7/17) dos patógenos avaliados em termos de alergênicos são bons produtoresalérgenos, estes estão presentes tanto no CC, quanto UTI e AE-UTI, podendo promover doenças alérgicas e gravidade da asma em indivíduos suscetíveis. Outro impacto é que, os principais produtores de alérgenos no estudo são isolados ambientais de *Aspergillus* resistentes a derivados azólicos e/ou políenios, bem como *P. lilacinum*. Essa ligação pode implicar diretamente no prognóstico de internação e/ou alergias, dificultando o tratamento, uma vez que os antifúngicos utilizados no manejo dessas cepas podem não ser ativos. Além disso, TSAs geralmente não são realizados na rotina hospitalar.

Correlacionar a exposição fúngica a resultados de saúde específicos é um desafio devido à falta de métodos quantitativos padronizados para inferir alérgenos fúngicos e as muitas coexposições concomitantes que são comumente associadas a ambientes internos úmidos (WILSON *et al.*, 2010; REPONEN *et al.*, 2013). Outra complexidade é a variação sazonal no tempo e no espaço (KAARAKAINEN *et al.*, 2009). Este estudo demonstra que, fungos aerossolizados em ambiente hospitalar podem levar a uma limitação importante na abordagem terapêutica de indivíduos sensibilizados e hospitalizados, pois, todas as cepas com potencial alergênico de baixo a alto, exceto *A. chevalieri*, se relevaram não selvagens a pelo menos um antifúngico, e uma das cepas de *A. neoaffricanus* não respondeu a nenhum dos antifúngicos testados e possui alergenicidade moderada, expressando a relevância da análise microbiológica do ar atmosférico para a qualidade do ambiente assistencial de saúde, sendo este estudo pioneiro nesta análise de potencial alergênico com espécies ambientais. Todos os valores de OD₄₅₀ para produção de alérgenos, bem como seus padrões de interpretações estão detalhadamente descritos na **Tabela 4**. Em negrito estão destacados os isolados categorizados como fortes produtores.

Tabela 4 - Imunodeteção in vitro de alérgenos fúngicos nas áreas do Centro Cirúrgico (CC), Corredor do Centro Cirúrgico (CCC), Unidade de Terapia Intensiva (UTI) e UTI externa (AE-UTI) do hospital terciário de Caruaru, Pernambuco, Brasil.

Código	Espécie fúngica	Área de isolamento	Padrão de interpretação da produção de alérgenos		
			DO ₄₅₀ ≥ 1	0,5 ≤ DO ₄₅₀ < 1	DO ₄₅₀ < 0,5
URM			Alta	Moderada	Baixa
8567	<i>A. alabamensis</i>	AE-UTI		0,8	
8568	<i>A. chevalieri</i>	CCC			0,4

8569	<i>A. costaricensis</i>	AE-UTI	1,2	
8570	<i>A. costaricensis</i>	CC		0,3
8571	<i>A. flavus</i>	CC		0,2
8572	<i>A. flavus</i>	CC		0,4
8573	<i>A. neoafricanus</i>	CC		0,8
8574	<i>A. neoafricanus</i>	UTI		0,5
8575	<i>A. neoafricanus</i>	CC		0,5
8576	<i>A. steynii</i>	CC		0,0
8577	<i>A. terreus</i>	CC		0,0
8578	<i>A. terreus</i>	CC	1,2	
8579	<i>A. terreus</i>	CC		0,2
8580	<i>A. terreus</i>	CC		0,3
8581	<i>A. versicolor</i>	CCC		0,0
8582	<i>P. lilacinum</i>	AE-UTI		0,9
8583	<i>R. pusillus</i>	CC		0,2

Legenda: URM (Coleção de Culturas Micoteca URM/UFPE); OD (Densidade Óptica).
Em negrito estão as cepas com maior produção de alérgenos detectada.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O estudo documentou a primeira ocorrência de *P. costaricense* para a América do Sul, seu primeiro relato como anemófilo e o segundo registro mundial, além de ser o primeiro isolado obtido a partir de ambiente cirúrgico. O índice de riqueza ecológica do estudo foi alto para o CC, mas com similaridade baixa, as demais áreas do estudo foram de modo geral baixas, mas dentre elas, o maior índice foi observado no CC que também apresentou maior similaridade com o CCC e onde os contaminantes estavam mais concentrados.

Foram recuperadas espécies fúngicas com poucos relatos em infecções humanas, além disso, algumas nem mesmo foram isoladas de ambiente hospitalar. No geral, estas espécies se revelaram como potencialmente resistentes a terapia com antifúngicos administrados na rotina clínica e este estudo é o primeiro relato de espécimes nesse contexto.

Assim como também é o primeiro a avaliar a eficácia de ISA no combate à *P. lillacium*, que demonstrou ser uma terapia alternativa em potencial. Em tese, houve equilíbrio no quantitativo de isolados que expressaram potencialidade alergênica entre as categorias de alta, moderada e baixa em comparação aos que foram considerados como ausentes na produção de alérgenos, alertando para possível sensibilização ou agravamento em termos de alergenicidade. Este é o primeiro estudo a determinar a imunogenicidade por testes imunológicos de isolados de ambiente hospitalar.

O controle de bioaerossóis fúngicos é um desafio e uma grande preocupação para a saúde pública mundial, principalmente em ambientes críticos e restritos, como o CC e a UTI. Assim, este estudo contribui para o conhecimento da distribuição de fungos anamófilos no ambiente hospitalar, conscientização sobre assepsia e alerta para o surgimento de espécies com virulência nestes ambientes. Além de, evidenciar que a saúde ambiental em hospitais é importante para a manutenção da saúde humana. Por fim, conclui-se que a hipótese de que fungos filamentosos presentes em CC e UTI são suscetíveis a antifúngicos é nula, mas válida no que concerne a possuírem potencial alergênico.

REFERÊNCIAS

- ABASTABAR, M. *et al.* Development of RFLP method for rapid differentiation of *Aspergillus flavus* and *Aspergillus oryzae*, two species with high importance in clinical and food microbiology. **J Mycol Med**, v. 32, n. 3, 101274, 2022. Doi: 10.1016/j.mycmed.2022.101274.
- ABBASI, F. *et al.* The effect of incubation temperature and growth media on index microbial fungi of indoor air in a hospital building in Shiraz, Iran. **J Build Eng**, v. 19, p. 31042-31045, 2020. S2352-7102. Doi: 10.1016/j.jobbe.2020.101294.
- ABBASI, F.; SAMAEI, M. The effect of temperature on airborne filamentous fungi in the indoor and outdoor space of a hospital. **Environ Sci Pollut Res**, v. 26, p. 16868–16876, 2019. Doi: 10.1007/s11356-017-0939-5.
- ABREU, A. G. S. *et al.* A new sensitive molecular marker for *Aspergillus*, calmodulin gene detection in biological samples, used as supplementary diagnosis for Invasive Aspergillosis (IA). **Braz. J. Dev.**, v. 7, n. 5, p. 44478-44489, 2021. Doi: 10.34117/bjdv7n5-054.
- AGARWAL, A.; BIKASH, R. K. Amphotericin-B in Dermatology. **Indian Dermatol Online J.**, v. 13, n. 1, p. 152-158, 2022. Doi: 10.4103/idoj.idoj_573_21.
- AGWARANZE, D. I. *et al.* Microbiological assessment of indoor and outdoor air quality in a general hospital in Norh-East Nigeria. **Res J Microbiol**, v. 15, n. 1, p. 9-14, 2020. Doi: 10.3923 / jm.2020.9.14.
- ALBERT, R. *et al.* Chronic subcutaneous infection of *Purpureocillium lilacinum* in an immunocompromised patient: Case report and review of the literature. **Med. Mycol. Case Rep.**, v. 38, p. 5-8, 2022. Doi: 10.1016/j.mmcr.2022.08.001.
- ALENCAR, G. P. *et al.* Bacterial, Fungal and Viral Infections in Surgical Site: Clinical, Diagnostic and Epidemiological Aspects. **J Health Sci**, v. 21, n. 3, p. 219-24, 2019. Doi: 10.17921/2447-8938.2019v21n3p219-224.
- ALHARBI, M. *et al.* *Paecilomyces/Purpureocillium* Infection in Children, Case Report, and Review of the Literature. **J Fungi**, v. 8, n. 9, p. 930, 2022. Doi: 10.3390/jof8090930.
- ALIM, A.; GOEL, N.; CHAUDHARY, U. Spectrum of fungal infections at a tertiary care hospital in Haryana, India. **Int J Res Med Sci**, v. 6, n. 4, p. 1398-1401, 2018. Doi: 10.18203/2320-6012.ijrms20181303.
- AL-ODAINI, N. *et al.* A special Tinea Nigra caused by *Curvularia lunata*: case report and literature review. **Mycopathologia**, 2022. Doi: 10.1007/s11046-022-00619-8.
- ALONSO, J. F. S. J. *et al.* Analysis and assessment of factors affecting air inflow from areas adjacent to operating rooms due to door opening and closing. **J. Build. Eng.**, v. 49, p. 104109, 2022. Doi: 10.1016/j.jobbe.2022.104109.
- ANAISSIE, E. *et al.* Pathogenic molds (including *Aspergillus* species) in hospital water distribution systems: a 3-year prospective study and clinical implications for patients with hematologic malignancies. **Blood**, v. 101, n. 7, p. 2542-2546, 2003. Doi: 10.1182/blood-2002-02-0530.

- ANTO, J. M. *et al.* Mechanisms of the Development of Allergy (MeDALL): Introducing novel concepts in allergy phenotypes. **J Allergy Clin Immunol**, v. 139, n. 2, p. 388–99, 2017. Doi: 10.1016/j.jaci.2016.12.940.
- ARENDRUP, M. C. *et al.* *In Vivo* Emergence of *Aspergillus terreus* with Reduced Azole Susceptibility and a *Cyp51a* M217I Alteration. **J. Infect. Dis.**, v. 206, n. 6, p. 981-985, 2012. Doi: 10.1093/infdis/jis442.
- AWUCHI, C. *et al.* Mycotoxins' Toxicities - from Consumer Health Safety Concerns, to Mitigation/Treatment Strategies: A Perspective Review. **J. Chem. Health Risks**, v. 12, n. 3, p. 427-464, 2022. Doi: 10.22034/jchr.2022.1939170.1399.
- BADIEE, P. *et al.* Multicenter Study of Susceptibility of *Aspergillus* Species Isolated from Iranian University Hospitals to Seven Antifungal Agents. **Microbiol. Spectr.**, v. 10, n. 3, p. e02539-21, 2022. Doi: 10.1128/spectrum.02539-21.
- BAGHIROVA, A. A.; KASUMOV, K. M. Antifungal macrocycle antibiotic amphotericin B - its present and future. Multidisciplinary perspective for the use in the medical practice. **Biomed Khim.**, v. 67, n. 4, p. 311-322, 2021. Doi: 10.18097/pbmc20216704311.
- BAJPAI, V. K. *et al.* Invasive fungal infections and their epidemiology: measures in the clinical scenario. **Biotechnol Bioprocess Eng**, n. 24, p. 436-444, 2019. Doi: 10.1007/s12257-018-0477-0.
- BALAJEE, S. A. *et al.* *Aspergillus alabamensis*, a New Clinically Relevant Species in the Section *Terrei*. **ASM Journals**, v. 8, n. 5, 2009. Doi: 10.1128/EC.00272-08.
- BANDRES, M.; SHARMA, S. *Aspergillus Fumigatus*. **Treasure Island**, p. 1-12, 2018.
- BARBOSA, R. N. *et al.* Brazilian tropical dry forest (Caatinga) in the spotlight: an overview of species of *Aspergillus*, *Penicillium* and *Talaromyces* (Eurotiales) and the description of *P. vascosobrinhou* sp. nov. **Acta Bot. Bras.**, v. 34, n. 2, 2020. Doi: 10.1590/0102-33062019abb0411.
- BARBOSA, R. N. *et al.* New *Penicillium* and *Talaromyces* species from honey, pollen and nests of stingless bees. **Antonie Van Leeuwenhoek**, v. 111, n. 10, p. 1883–1912, 2018. Doi: 10.1007/s10482-018-1081-1.
- BARG, A. A. *et al.* Successful treatment of invasive mucormycosis with isavuconazole in pediatric patients. **Pediatr Blood Cancer**, v. 65, n. 10, e27281, 2018. Doi: 10.1002/pbc.27281.
- BASSETTI, M. *et al.* Antifungal susceptibility testing in *Candida*, *Aspergillus* and *Cryptococcus* infections: Are the MICs useful for clinicians? **Clin. Microbiol. Infect.**, v. 26, p. 1024–1033, 2020. Doi: 10.1016/j.cmi.2020.02.017.
- BATARSEH, R. Y. *et al.* *Paecilomyces* in an immune competent host. **IDCases**, v. 21, p. e00885, 2020. Doi: 10.1016/j.idcr.2020.e00885.
- BATRA, N. *et al.* *Cladosporium sphaerospermum* causing brain abscess, a saprophyte turning pathogen: Case and review of published reports. **J Mycol Med.**, v. 29, n. 2, p. 180-184, 2019. Doi: 10.1016/j.mycmed.2019.04.005.
- BEENA, H.; GUPTA, M.; KINDO, A. J. Pulmonary infection with *Penicillium citrinum* in a patient with multiple myeloma. **Indian J Med Microbiol.**, v. 39, n. 2, p. 259-261, 2021. Doi:

10.1016/j.ijmmb.2021.03.001.

BEIGLBOECK, F. M. *et al.* Managing mucormycosis in diabetic patients: a case report with critical review of the literature. **Oral Diseases**, v. 28, n. 3, p. 568-576, 2022. Doi: 10.1111/odi.13802.

BELIZARIO, J. A.; LOPES, L. G.; PIRES, R. H. Fungi in the indoor air of critical hospital areas: a review. **Aerobiologia** (Bologna), v. 37, n. 3, p. 379-394, 2021. Doi: 10.1007/s10453-021-09706-7.

BELLMANN, R.; SMUSZKIEWICZ, P. Pharmacokinetics of antifungal drugs: practical implications for optimized treatment of patients. **Infection.**, v. 45, n. 6, p. 737-779, 2017. Doi: 10.1007/s15010-017-1042-z.

BENNDORF, D. *et al.* Identification of spore allergens from the indoor mould *Aspergillus versicolor*. **Allergy**, v. 63, n. 4, p. 454-460, 2008. Doi: 10.1111/j.1398-9995.2007.01603.x.

BENNETT, H. Y.; SHAH, S. P. A case of non-traumatic *Purpureocillium lilacinum* (*Paecilomyces lilacinus*) endophthalmitis in a child. **Am. J. Ophthalmol.**, v. 26, 101375, 2022. Doi: 10.1016/j.ajoc.2022.101375.

BENSCH, K. *et al.* *Cladosporium* species in indoor environments. **Stud Mycol.**, v. 89, p. 177-301, 2018. Doi: 10.1016/j.simyco.2018.03.002.

BERGER, A. P. *et al.* Angioinvasive fungal infections impacting the skin: diagnosis, management, and complications. **Dermatology**, v. 80, n. 4, p. 883 – 898.e2, 2019. Doi: 10.1016/j.jaad.2018.04.058.

BERKOW, E. L.; LOCKHART, S.R.; ZEICHNER, L. O. Antifungal susceptibility testing: current approaches. **Clin Microbiol Rev**, v. 33, n. 3, p. e00069-00019, 2020. Doi: 10.1128/CMR.00069-19.

BERRÍOS-TORRES, S. I. *et al.* Centers for disease control and prevention guideline for the prevention of surgical site infection. **JAMA Surgery**, v. 152, n. 8, p. 784-791, 2017. Doi: 10.1001 / jamasurg.2017.09 04.

BERTERO, A. *et al.* *Fusarium* molds and mycotoxins: potential species-specific effects. **Toxins** (Basel), v. 10, n. 6, 2018. Doi: 10.3390/toxins10060244.

BISHARA, J. *et al.* Amphotericin B—not so terrible. **Ann Pharmacother**, v. 35, n. 3, p. 308–310, 2001. Doi: 10.1345/aph.10240.

BLANCHARD, E. *et al.* Aspergilose pulmonaire invasive. **Rev. des Mal. Respir.**, v. 35, n. 2, p. 171–187, 2018. Doi: 10.1016/j.rmr.2018.01.002.

BOLOOKAT, F. *et al.* Assessment of bioaerosol particle characteristics at different hospital wards and operating theaters: A case study in Tehran. **Methodsx**, v. 5, p. 1588-1596, 2018. Doi: 10.1016/j.mex.2018.11.021.

BONGOMIN, F. *et al.* Isavuconazole and voriconazole for the treatment of chronic pulmonary aspergillosis: a retrospective comparison of rates of adverse events. **Mycoses**, v. 62, n. 3, p. 217-222, 2019. Doi: 10.1111/myc.12885.

BORBA, C. F. *et al.* Prospecção de fungos anemófilos e contaminantes de incubadoras de unidade de terapia neonatal de hospital escola em Pernambuco, Brasil. **Braz. J. Dev.**, v. 7, n. 5, p. 45210–

45222, 2021. Doi: 10.34117/bjdv7n5-102.

BORMAN, A. M. *et al.* *In Vitro* Antifungal Drug Resistance Profiles of Clinically Relevant Members of the Mucorales (Mucoromycota) Especially with the Newer Triazoles. **J. Fungi**, v. 7, n. 4, p. 271, 2021. Doi: 10.3390/jof7040271.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) nº 50 de 21 de fevereiro de 2002. **Dispõe sobre o Regulamento Técnico para planejamento, programação, elaboração e avaliação de projetos físicos de estabelecimentos assistenciais de saúde.** Disponível em: https://bvsmms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2002/rdc0050_21_02_2002.html. Acesso em: 20 nov 2022.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução nº 09, de 16 de janeiro de 2003. **Orientação técnica elaborada por grupo técnico assessor sobre padrões referenciais de qualidade do ar interior em ambientes climatizados artificialmente de uso público e coletivo.** Disponível em: <file:///C:/Users/pc-pc/Desktop/RE0920031.pdf>. Acesso em: 20 nov 2020.

BROWN, G. D. *et al.* Hidden killers: Human fungal infections. **Sci Transl Med**, v. 4, n. 165, p. 165rv13, 2012. Doi: 10.1126/scitranslmed.3004404.

BUIL, J. B. *et al.* Genetic and Phenotypic Characterization of in-Host Developed Azole-Resistant *Aspergillus flavus* Isolates. **J. Fungi**, v. 7, n. 3, p. 164, 2021. Doi: 10.3390/jof7030164.

CALUMBY, R. J. N. *et al.* Isolamento e identificação da microbiota fúngica anemófila em Unidade de Terapia Intensiva. **Braz J Develop**, v. 5, n. 10, p. 19708-19722, 2019. Doi: 10.34117/bjdv5n10-186.

CARBONE, I.; KOHN, L. M. A Method for designing primer sets for speciation studies in filamentous Ascomycetes. **Mycologia**, v. 91, n. 3, p. 553–556, 1999. Doi: 10.2307/3761358.

CAROLUS, H. *et al.* Amphotericin B and other polyenes-discovery, clinical use, mode of action and drug resistance? **J Fungi (Basel)**, v. 6, n. 4, 321, p. 1-21, 2020. Doi: 10.3390/jof6040321.

CASADEVALL, A. Climate change brings the specter of new infectious diseases. **J Clin Invest**, v. 130, n. 2, p. 553-555, 2020. Doi: 10.1172/JCI135003.

CAVASSIN, F. B. *et al.* Sixty years of Amphotericin B: an overview of the main antifungal agent used to treat invasive fungal infections. **Infect Dis Ther**, v. 10, p. 115–147, 2021. Doi: 10.1007/s40121-020-00382-7.

CHANG, Y. L. *et al.* New facets of antifungal therapy. **Virulence**, v. 8, n. 2, p. 222–236, 2017. Doi: 10.1080/21505594.2016.1257457.

CHEN, C. Y. *et al.* Acute meningitis caused by *Cladosporium sphaerospermum*. **Am J Med Sci.**, v. 346, n. 6, p. 523-525, 2013a. Doi: 10.1097/MAJ.0b013e3182a59b5f.

CHEN, M. *et al.* Pulmonary fungus ball caused by *Penicillium capsulatum* in a patient with type 2 diabetes: a case report. **BMC Infect Dis**, v. 13, p. 496, 2013b. Doi: 10.1186/1471-2334-13-496.

CHEN, W. C.; LIN, S. R.; HUNG, S. J. Successful treatment of recurrent cutaneous *Purpureocillium lilacinum* (*Paecilomyces lilacinus*) infection with posaconazole and surgical

debridement. **Acta Derm. Venereol.**, v. 99, n. 13, p. 1313-1314, 2019. Doi: 10.2340/00015555-3320.

CHEN, Y-T. *et al.* *Paecilomyces/Purpureocillium* keratitis: A consecutive study with a case series and literature review. **Med Mycol**, v. 58, n. 3, p. 293–299, 2020. Doi: 10.1093/mmy/myz059.

CHEW, F. L. M.; SUBRAYAN, V.; CHONG, P. P.; GOH, M. C.; NG, K. P. *Cladosporium cladosporioides* keratomycosis: a case report. **Jpn J Ophthalmol.**, v. 53, n. 6, p. 657-659, 2009. Doi: 10.1007/s10384-009-0722-3.

CHOUBDAR, M. *et al.* Environmental Survey on Microbial Contamination in Two Public Hospitals in Qazvin. **JCRH**, v. 12, 2022. Doi: 10.22034/jchr.2022.1897883.1126.

CLARKE, K. R.; GORLEY, R. N. **Primer v.6 User Manual\Tutorial**. Plymouth: Primer-E Ltd, 2006.

CLSI. M38-A3. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of filamentous fungi. 3rd ed. Wayne, PA: **Clinical and Laboratory Standards Institute**, 2017.

CLSI. M38M51S. Performance Standards for Antifungal Susceptibility Testing of Filamentous Fungi. 3rd ed. CLSI supplement M38M51S. Wayne, PA: **Clinical and Laboratory Standards Institute**, 2022.

COELHO, R. A. *et al.* Molecular identification and antifungal susceptibility profiles of clinical strains of *Fonsecaea* spp. isolated from patients with chromoblastomycosis in Rio de Janeiro, Brazil. **PLoS Negl Trop Dis**, v. 12, n. 7, e0006675, 2018. Doi: 10.1371/journal.pntd.0006675.

COLOMBIER, M. A. *et al.* Dual invasive infection with *Phaeoacremonium parasiticum* and *Paraconiothyrium cyclothyrioides* in a renal transplant recipient: Case report and comprehensive review of the literature of *Phaeoacremonium* phaeohyphomycosis. **J Clin Microbiol**, v. 53, n. 7, p. 2084–2094, 2015. Doi: 10.1128/JCM.00295-15.

CORNELY, O. A. *et al.* Global guideline for the diagnosis and management of mucormycosis: an initiative of the European Confederation of Medical Mycology in cooperation with the Mycoses Study Group Education and Research Consortium. **Lancet Infect Dis.**, v. 19, n. 12, p. e405–421, 2019. Doi: 10.1016/S1473-3099(19) 30312-3.

CORNU, M. *et al.* Successful outcome of disseminated mucormycosis in a 3-year-old child suffering from acute leukaemia: the role of isavuconazole? A case report. **BMC Pharmacol Toxicol.**, v. 19, n. 1, p. 81, 2018. Doi: 10.1186/s40360-018-0273-7.

CÔRREA-MOREIRA, D. *et al.* *Purpureocillium lilacinum* an emergent pathogen: antifungal susceptibility of environmental and clinical strains. **Lett. Appl. Microbiol.**, v. 75, n. 1, p. 45-50, 2022. Doi: 10.1111/lam.13707.

CORREIA, A. C. R. B. *et al.* The polyphasic re-identification of a Brazilian *Aspergillus* section *Terrei* collection led to the discovery of two new species. **Mycol Progress**, v. 19, n. 9, p. 885–903, 2020. Doi: 10.1007/s11557-020-01605-4.

COSTA, M. C. P. *et al.* Microrganismos isolados a partir de espécimes clínicos de centro cirúrgico. **Rev. Saúde Desenvolv.**, v. 13, n. 14, p. 1-17, 2019. ISSN: 2316-2864.

- COUSO, V. P. L. *et al.* Fungi sensitization in Spain: importance of the *Alternaria alternata* species and its major allergen alt a 1 in the allergenicity. **J. Fungi (Basel)**, v. 7, p. 631, 2021. Doi: 10.3390/jof7080631.
- CRAIG, J. R. Updates in management of acute invasive fungal rhinosinusitis. **Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg.**, v. 27, n. 1, p. 29-36, 2019. Doi: 10.1097/moo.0000000000000507.
- CROUS, P. W. *et al.* *Nigrospora brasiliensis* A. C..Q. Brito, C. Conforto, A. R. Machado, sp. nov. “Fungal Planet description sheets: 868-950”. **Persoonia**, v. 42, p. 291-473, 2019. Doi: 10.3767/persoonia.2019.42.11.
- CROUS, P. W. *et al.* *Pseudopithomyces angolensis* Crous, sp. nov. “Fungal Planet description sheets: 785-867”. **Persoonia**, v. 41, p. 238-417, 2018. Doi: 10.3767/persoonia.2018.41.12.
- CROUS, P. W. *et al.* *Fusarium*: more than a node or a foot-shaped basal cell. **Stud. Mycol.**, v. 98, p. 100116, 2021. Doi: 10.1016/j.simyco.2021.100116.
- CROUS, P. W. *et al.* *Pseudopithomyces diversisporus* Guevara-Suarez, Da Cunha, Gené, sp. nov. “Fungal planet description sheets: 469-557”. **Persoonia**, v. 37, p. 218-403, 2016. Doi: 10.3767/003158516X694499.
- DAI, C. *et al.* T-2 toxin neurotoxicity: role of oxidative stress and mitochondrial dysfunction. **Arch Toxicol**, v. 93, p. 3041–3056, 2019. Doi: 10.1007/s00204-019-02577-5.
- DANION, F. *et al.* COVID-Mucor study group, Coronavirus Disease 2019 – Associated Mucormycosis in France: A Rare but Deadly Complication. **Open Forum Infect. Dis.**, v. 9, n. 2, ofab566, 2022. Doi: 10.1093/ofid/ofab566.
- DARNAUD, L. *et al.* Isavuconazole kinetic exploration for clinical practice. **Drugs R D.**, v. 18, n. 4, p. 317-321, 2018. Doi: 10.1007/s40268-018-0251-y.
- DE ANA, S. G. *et al.* Seasonal distribution of *Alternaria*, *Aspergillus*, *Cladosporium* and *Penicillium* species isolated in homes of fungal allergic patients. **J Investig Allergol Clin Immunol**, v. 16, n. 6, p. 357-363, 2006. Disponível em: <https://www.jiaci.org/issues/vol16issue06/5.pdf>. Acesso em: 20 nov 2022.
- DENIS, J. *et al.* Isavuconazole: a new broad-spectrum azole. Part 1: In vitro activity. **J Mycol Med**, v. 28, n. 1, p. 8–14, 2018. Doi: 10.1016/j.mycmed.2018.02.005.
- DÍAZ NIETO, C. H. *et al.* Sterigmatocystin: a mycotoxin to be seriously considered. **Food Chem Toxicol**, v. 118, p. 460–470, 2018. Doi: 10.1016/j.fct.2018.05.057.
- DIETL, A-M. *et al.* The Environmental Spread of *Aspergillus terreus* in Tyrol, Austria. **Microorganisms**, v. 9, n. 3, p. 539, 2021. Doi: 10.3390/microorganisms9030539.
- DODD, S. L. *et al.* Taxonomy and phylogenetic relationships of two species of *Hypocrea* with *Trichoderma* anamorphs. **Mycol Progress**, v. 1, p. 409–428, 2002. Doi: 10.1007/s11557-006-0037-4.
- DUQUIA, R. P.; DE ALMEIDA, H. L.; JR VETTORATO, G.; ROCHA, N. M.; DE CASTRO, L. A. Ecthyma-like phaeohyphomycosis caused by *Cladosporium clausporioides*. **Mycoses**, v. 53, p. 541-543, 2010. Doi: 10.1111/j.1439-0507.2009.01745.x.

- ECKL-DORNA, J. *et al.* Allergen-specific antibodies regulate secondary allergen-specific immune responses. **Front Immunol**, v. 9, p. 3131, 2018. Doi: 10.3389/fimmu.2018.03131.
- EL-DAWY, E. G. A. E. M.; GHERBAWY, Y. A.; HUSSEIN, M. A. Morphological, molecular characterization, plant pathogenicity and biocontrol of *Cladosporium* complex groups associated with faba beans. **Sci Rep**, v. 11, 14183, 2021. Doi.org/10.1038/s41598-021-93123-w.
- EMYGDIO, A. P. M. *et al.* One year of temporal characterization of fungal spore concentration in São Paulo metropolitan area, Brazil. **J Aerosol Sci**, v. 115, p. 121-132, 2018. Doi: 10.1016/j.jaerosci.2017.07.003.
- ENDE, A. H. G. G.V. D.; HOOG, G. S. Molecular variability and diagnosis of the neurotropic species *Cladophialophora bantiana*. **Stud Mycol**, v. 43, p. 151-162, 1999. Disponível em: https://www.researchgate.net/profile/Bert-Gerrits-Van-Den-Ende/publication/279904798_Variability_and_molecular_diagnostics_of_the_neurotropic_species_Cladophialophora_bantiana/links/56d7ef3508aebe4638af2497/Variability-and-molecular-diagnostics-of-the-neurotropic-species-Cladophialophora-bantiana.pdf. Acesso em: 20 nov 2022.
- ESPINOSA, K. C. S. *et al.* Phylogenetic Identification, Diversity, and Richness of *Aspergillus* from Homes in Havana, Cuba. **Microorganisms**, v. 9, n. 1, p. 115, 2021. Doi: 10.3390/microorganisms9010115.
- FERRAZ, T. L. L. *et al.* Lethal destructive sinusopathy due to amphotericin B-resistant *Aspergillus flavus*: A case report. **Rev Iberoam Micol**, v. 39, n. 1, p. 21-24, 2022. Doi: 10.1016/j.riam.2022.01.001.
- FIGUEIREDO, D. A. **Fatores de risco associados à infecção hospitalar em uma unidade de terapia intensiva**. Dissertação (Mestrado em Modelos de Decisão e Saúde) – UFPB. Universidade Federal da Paraíba. Centro de Ciências Exatas e da Natureza. 2012, 101f. Disponível em: http://www.de.ufpb.br/~mds/DissertacoesAprovadas/Dissertacao_Danielle_Alves_Figueiredo-2012.pdf. Acesso em: abril de 2020.
- FIRDAUS, N. S.; FARIDA, H.; HAPSARI, R. The existence of fungi and the effect of terminal cleansing on operating room airborne fungi. **JKD (Diponegoro Medical Journal)**, v. 9, n. 4, p. 343-350, 2020. Doi: 10.14710/dmj.v9i4.27666.
- FISHER, M. C. *et al.* Tackling the emerging threat of antifungal resistance to human health. **Nat Rev Microbiol**, v. 20, p. 557–571, 2022. Doi: 10.1038/s41579-022-00720-1.
- FLANAGAN, K. L.; BRYCESON, A. D. M. Disseminated Infection Due to *Bipolaris australiensis* in a Young Immunocompetent Man: Case Report and Review. **Clin. Infect. Dis.**, v. 25, n. 2, p. 311–313, 1997. Doi: 10.1086/514528.
- FRISVAD, J. C.; HUBKA, V.; EZEKIEL, C. N.; HONG, S. B.; NOVÁKOVÁ, A.; CHEN, A. J.; ARZANLOU, M.; LARSEN, T. O.; SKLENÁŘ, F.; MAHAKARNCHANAKUL, W.; SAMSON, R. A.; HOUBRAKEN, J. Taxonomy of *Aspergillus* section *Flavi* and their production of aflatoxins, ochratoxins and other mycotoxins. **Stud Mycol.**, v. 93, p. 1-63, 2019. Doi: 10.1016/j.simyco.2018.06.001.
- FRÖHLICH-NOWOISKY, J. *et al.* Bioaerosols in the earth system: climate, health, and ecosystem interactions. **Atmos Res**, v. 182, p. 346-376, 2016. Doi: 10.1016/j.atmosres.2016.07.018.

- FUKUTOMI, Y.; TANIGUCHI, M. Sensitization to fungal allergens: resolved and unresolved issues. **Allergol. Int.**, n. 64, n. 4, p. 321–331, 2015. Doi: 10.1016/j.alit.2015.05.007.
- GABRIEL, M. F. *et al.* *Alternaria alternata* allergens: markers of exposure, phylogeny and risk of fungi-induced respiratory allergy. **Environ. Int.**, v. 89-90, p. 71–80, 2016. Doi: 10.1016/j.envint.2016.01.003.
- GARCIA-HERMOSO, D. *et al.* Diversity of coelomycetous fungi in human infections: A 10-y experience of two European reference centres. **Fungal Biol.**, v. 123, n. 4, p. 341-349, 2019. Doi: 10.1016/j.funbio.2019.02.001.
- GARG, A.; STUART, A.; FAJGENBAUM, M.; LAIDLAW, D. A.; STANFORD, M. Chronic postoperative fungal endophthalmitis caused by *Penicillium citrinum* after cataract surgery. **J Cataract Refract Surg**, v. 42, n. 9, p. 1380-1382, 2016. Doi: 10.1016/j.jcrs.2016.07.025.
- GAUTIER, M.; NORMAND, A.-C.; RANQUE, S. Previously unknown species of *Aspergillus*, **Clin. Microbiol. Infect.**, v. 22, n. 8, p. 662-669, 2016. Doi: 10.1016/j.cmi.2016.05.013.
- GIORDANO, D. M.; PINTO, C.; MARONI, L.; BENEDETTI, A.; MARZIONI, M. Inflammation and the Gut-Liver Axis in the Pathophysiology of Cholangiopathies. **Int. J. Mol. Sci.**, v. 19, n. 10, p. 3003, 2018. Doi: 10.3390/ijms19103003.
- GLASS, N. L.; DONALDSON, G. C. Development of primer sets designed for use with the PCR to amplify conserved genes from filamentous ascomycetes. **Appl Environ Microbiol**, v. 61, n. 4, p. 1323-1330, 1995. Doi: 10.1128/aem.61.4.1323-1330.1995.
- GONÇALVES, C. L. *et al.* Airborne fungi in an intensive care unit. **Braz J Biol**, v. 78, n. 2, p. 265-270, 2018. Doi: 10.1590/1519-6984.06016.
- GONÇALVES, M. F. M.; ESTEVES, A. C.; ALVES, A. Revealing the hidden diversity of marine fungi in Portugal with the description of two novel species, *Neoscochyta fuci* sp. nov. and *Paraconiothyrium salinum* sp. nov. **Int. J. Syst. Evol. Microbiol.**, v. 70, n. 10, p. 5337–5354, 2020. Doi: 10.1099/ijsem.0.004410.
- GONG, J. *et al.* Rapid identification of four *fusarium* spp. Complex by high-resolution melting curve analysis and their antifungal susceptibility profiles. **Research Square**, 2022. Doi: 10.21203/rs.3.rs-1197822/v1.
- GONZÁLEZ, I. I.; GARCÍA, D.; GENÉ, J. Novel species of *Cladosporium* from environmental sources in Spain. **MycKeys**, v. 77, p. 1–25, 2021. Doi: 10.3897/mycokeys.77.60862.
- GORDON, R. A. *et al.* Cutaneous Phaeohyphomycosis Caused by *Paraconiothyrium cyclothyrioides*. **J Clin Microbiol**, v. 50, n. 11, p. 3795–3798, 2012. Doi: 10.1128/JCM.01943-12.
- GROLL, A. H. *et al.* Pharmacokinetics and safety of posaconazole intravenous solution and powder for oral suspension in children with neutropenia: an open-label, sequential dose-escalation trial. **Int J Antimicrob Agents**, v. 56, n. 3, 106084, 2020. Doi: 10.1016/j.ijantimicag.2020.106084.
- GROLL, A. H. *et al.* Pharmacokinetic assessment of drug-drug interactions of isavuconazole with the immunosuppressants cyclosporine, mycophenolic acid, prednisolone, sirolimus, and tacrolimus in healthy adults. **Clin Pharmacol Drug Dev.**, v. 6, n. 1, p. 76-85, 2017. Doi: 10.1002/cpdd.284.

- GUEVARA-SUAREZ, M. *et al.* Identification and Antifungal Susceptibility of *Penicillium*-Like Fungi from Clinical Samples in the United States. **J Clin Microbiol**, v. 54, n. 8, p. 2155-261, 2016. Doi: 10.1128/JCM.00960-16.
- GUO, M. *et al.* DNA metabarcoding of fungal communities in *Heshouwu* (*Polygonum multiflorum* Thunb.). **Food Control**, v. 136, p. 108850, 2022. Doi: 10.1016/j.foodcont.2022.108850.
- GUPTA, M. K.; KUMAR, N.; DHAMEJA, N.; SHARMA, A.; TILAK, R. Laboratory diagnosis of mucormycosis: Present perspective. **J Family Med Prim Care**, v. 11, n. 5, p. 1664-1671, 2022. Doi: 10.4103/jfmprc.jfmprc_1479_21.
- HALVORSON, A. J. Risk of surgical site infection after carpal tunnel release performed in an operating room versus a clinic-based procedure room within a Veterans Affairs medical center. **Am J Infect**, v. 48, n. 2, p. 173-177, 2020. Doi: 10.1016/j.ajic.2019.09.004.
- HAMED, A. *et al.* Cutaneous infection caused by *Paraconiothyrium cyclothyrioides* in a renal transplant recipient. **Transpl Infect Dis.**, v. 23, n. 4, p. e13624, 2021. Doi: 10.1111/tid.13624.
- HAMILL, R. J. Amphotericin B formulations: a comparative review of efficacy and toxicity. **Drugs**, v. 73, n. 9, p. 919-934, 2013. Doi: 10.1007/s40265-013-0069-4.
- HARTNETT, K. P. *et al.* A Guide to Investigating Suspected Outbreaks of Mucormycosis in Healthcare. **J. Fungi.**, v. 5, n. 3, p. 69, 2019. Doi: 10.3390/jof5030069.
- HASSAN, A.; ZEESHAN, M. Microbiological indoor air quality of hospital buildings with different ventilation systems, cleaning frequencies and occupancy levels. **Atmospheric Pollut. Res.**, v. 13, n. 4, p. 101382, 2022. Doi: 10.1016/j.apr.2022.101382.
- HERBARTH, O. *et al.* Spatiotemporal distribution of airborne mould spores in apartments. **Mycol. Res.**, v. 107, n. 11, p. 1361-1371, 2003. Doi: 10.1017/S0953756203008566.
- HESSE, S. E. *et al.* *Penicillium citrinum*: Opportunistic pathogen or idle bystander? A case analysis with demonstration of galactomannan cross-reactivity, **Med. Mycol. Case Rep.**, v. 17, p. 8-10, 2017. Doi: 10.1016/j.mmcr.2017.05.003.
- HEUSSNER, A. H.; BINGLE, L. E. H. Comparative Ochratoxin Toxicity: A Review of the Available Data. **Toxins**, v. 7, n. 10, p. 4253-4282, 2015. Doi: 10.3390/toxins7104253.
- HEUTTE, N. *et al.* Assessment of multi-contaminant exposure in a cancer treatment center: a 2-year monitoring of molds, mycotoxins, endotoxins, and glucans in bioaerosols. **Environ Monit Assess**, v. 189, n. 31, 2017. Doi: 10.1007/s10661-016-5751-z.
- HIROSHIMA, Y. *et al.* Successful treatment of *Aspergillus* mural endocarditis in malignant lymphoma using a combined antifungal and surgical approach: a case report. **Surg Case Rep.**, v. 6, n. 1, p. 128, 2020. Doi: 10.1186/s40792-020-00883-0.
- HOENIGL, M. *et al.* Global guidelines and initiatives from the European Confederation of Medical Mycology to improve patient care and research worldwide: New leadership is about working together. **Mycoses**, v. 61, n. 11, p. 885–894, 2018. Doi: 10.1111/myc.12836.
- HOENIGL, M. *et al.* Global guideline for the diagnosis and management of rare mold infections: an

initiative of the European Confederation of Medical Mycology in cooperation with the International Society for Human and Animal Mycology and the American Society for Microbiology. **Lancet Infect Dis.**, v. 21, n. 8, p. e246-e257, 2021. Doi: 10.1016/S1473-3099(20)30784-2.

HONG, S. B. *et al.* Novel *Neosartorya* species isolated from soil in Korea. **Int J Syst Evol Microbiol.**, 56, n. 2, p. 477-486, 2006. Doi: 10.1099/ijs.0.63980-0.

HOUBRAKEN, J. *et al.* Classification of *Aspergillus*, *Penicillium*, *Talaromyces* and related genera (Eurotiales): An overview of families, genera, subgenera, sections, series and species. **Stud. Mycol.**, v. 95, p. 5-169, 2020. Doi: 10.1016/j.simyco.2020.05.002.

HOUBRAKEN, J. *et al.* *Penicillium araracuarensense* sp. nov., *Penicillium elleniae* sp. nov., *Penicillium penarojense* sp. nov., *Penicillium vanderhammenii* sp. nov. and *Penicillium wotroi* sp. nov., isolated from leaf litter. **Int J Evol Syst Microbiol.**, v. 61, n. 6, p. 1462–1475, 2011. Doi: 10.1099/ijs.0.025098-0.

HOUBRAKEN, J.; SAMSON, R. A. Phylogeny of *Penicillium* and the segregation of Trichocomaceae into three families. **Stud Mycol**, v. 70, n. 1, p. 1-51, 2011. Doi: 10.3114/sim.2011.70.01.

HOU ŠT', J.; SPÍŽEK, J.; HAVLÍČEK, V. Antifungal drugs. **Metabolites**, v. 10, n. 3; p. 106, 2020. Doi: 10.3390/metabo10030106.

HRISTOVA, D. *et al.* Sensitization to fungal allergens in patients with respiratory allergy—accuracy in diagnostic process. **Zh. Mikrobiol. Epidem. Immunobiol.**, v. 97, n. 2, p. 119–124, 2020. Doi: 10.36233/0372-9311-2020-97-2-119-124.

HSU, Y-C.; KUNG, P-Y.; WU, T-N.; SHEN, Y-H. Characterization of Indoor-Air Bioaerosols in Southern Taiwan. **Air Qual Res.**, v. 12, p. 651–661, 2012. Doi: 10.4209/aaqr.2012.03.0070.

HU, W. *et al.* Biological aerosol particles in polluted regions. **Curr Pollut Rep**, v. 6, p. 65-89, 2020. Doi: 10.1007/s40726-020-00138-4.

HU, W. *et al.* HIV-child with disseminated *Talaromyces Marneffeii* (*Penicillium marneffeii*) infection: a rare severe case report. **BMC Pediatr**, v. 22, n. 1, p. 28, 2022. Doi: 10.1186/s12887-021-03100-5.

HUGHES, K. M. *et al.* Impact of Fungal Spores on Asthma Prevalence and Hospitalization. **Int. J. Mol. Sci.**, v. 23, n. 8, p. 4313, 2022. Doi: 10.3390/ijms23084313.

IBRAHIM, R. *et al.* First reported case of *Cladosporium* para-aortic abscess. **IDCases**, v. 27, e01423, 2022. Doi: 10.1016/j.idcr.2022.e01423.

ITURRIETA-GONZÁLEZ, I.; GARCÍA, D.; GENÉ, J. Novel species of *Cladosporium* from environmental sources in Spain. **MycoKeys**, v. 77, p. 1–25, 2021. Doi: 10.3897/mycokeys.77.60862

JANIK, E. *et al.* Biological Toxins as the Potential Tools for Bioterrorism. **Int. J. Mol. Sci.**, v. 20, n. 5, p. 1181, 2019. Doi: 10.3390/ijms20051181.

- JEONG, W. *et al.* The epidemiology and clinical manifestations of mucormycosis: a systematic review and meta-analysis of case reports. **Clin Microbiol Infect**, n. 25, p. 26–34, 2019. Doi: 10.1016/j.cmi.2018.07.011.
- JIANG, Y-Y; LIU, W-J; ZENG, Y-P. Blackish necrotic eschar with swelling erythema on the face. **J Dtsch Dermatol Ges.**, v. 19, n. 7, p. 1084-1087, 2021. Doi: 10.1111/ddg.14440.
- JING, R. *et al.* *In vitro* Activity of Isavuconazole and Comparators Against Clinical Isolates of Molds from a Multicenter Study in China. **Infect Drug Resist.**, v. 15, p. 2101-2113, 2022b. Doi: 10.2147/IDR.S360191.
- JING, R. *et al.* Species identification and antifungal susceptibility testing of *Aspergillus* strains isolated from patients with otomycosis in northern China. **J Microbiol Immunol Infect.**, v. 55, n. 2, p. 282-290, 2022a. Doi: 10.1016/j.jmii.2021.03.011.
- KAARAKAINEN, P. *et al.* Microbial content of house dust samples determined with qPCR. **Sci Total Environ.**, v. 407, p. 4673–4680, 2009. Doi: 10.1016/j.scitotenv.2009.04.046.
- KABLY, B. *et al.* Antifungal drugs TDM: trends and update. **Ther Drug Monit.**, v. 44, n. 1, p. 166–197, 2022. Doi: 10.1097/FTD.0000000000000952.
- KARYADI, E.; AGNES, L. Cutaneous mucormycosis. **CDK-301**, v. 49, n. 2, p. 69–72, 2022. Doi: 10.55175/cdk.v49i2.1740.
- KATOH, K.; STANDLEY, D. M. MAFFT multiple sequence alignment software version 7: improvements in performance and usability. **Mol Biol Evol**, v. 30, n. 4, p. 772–780, 2013. Doi: 10.1093/molbev/mst010.
- KAUSHIK, A.; KEST, H. The Role of antifungals in pediatric critical care invasive fungal infections. **Crit Care Res Pract.**, p. 1–9, 8469585, 2018. Doi: 10.1155/2018/8469585.
- KHALAF, N. F. *et al.* Indoor house dust-borne fungi and risk of allergic respiratory diseases in Baghdad city. **Rev Fr Allergol**, v. 62, n. 4, p. 401-406, 2022. Doi: 10.1016/j.reval.2021.05.002.
- KHALIQUE, Z. *et al.* Unusual complicated fungal endocarditis in a patient with vascular Ehlers-Danlos Syndrome. **Ann. Thorac. Surg.**, v. 107, n. 4, p. e269–e271, 2019. Doi: 10.1016/j.athoracsur.2018.08.074.
- KIDD, S. E.; ABDOLRASOULI, A.; HAGEN, F. Fungal Nomenclature: Managing Change is the Name of the Game. **Open Forum Infect. Dis.**, v. 10, n. 1, ofac559, 2023. Doi: 10.1093/ofid/ofac559.
- KIDD, S. E.; CRAWFORD, L. C.; HALLIDAY, C. L. Antifungal susceptibility testing and identification. **Infect Dis Clin N Am**, v. 35, p. 313-339, 2021. Doi: 10.1016/j.idc.2021.03.004.
- KIM, J. H. *et al.* Antifungal drug repurposing. **Antibiotics**, v. 9, n. 11, p. 812, 2020. Doi: 10.3390/antibiotics9110812.
- KISS, N. *et al.* New species of the genus *Curvularia*: *C. tamilnaduensis* and *C. coimbatorensis* from fungal keratitis cases in south India. **Pathogens**, v. 9, n. 9; p. 1-14, 2020. Doi: 10.3390/pathogens9010009.

- KNABL, L.; LASS-FLÖRL, C. Antifungal susceptibility testing in *Candida* species: current methods and promising new tools for shortening the turnaround time. **Expert Rev. Anti Infect. Ther.**, v. 18, n. 8, p. 779–787, 2020. Doi: 10.1080/14787210.2020.1760841.
- KOBAYASHI, T. *et al.* Prosthetic Finger Joint Infection Due to *Aspergillus terreus*. **Open Forum Infect. Dis.**, v. 8, n. 1, ofaa614, 2021. Doi: 10.1093/ofid/ofaa614.
- KONTOYIANNIS, D. *et al.* Prospective surveillance for invasive fungal infections in hematopoietic stem cell transplant recipients, 2001-2006: overview of the Transplant- Associated Infection 68 Surveillance Network (TRANSNET) Database. **Clin Infect Dis**, v. 50, n. 8, p. 1091–1100, 2010. Doi: 10.1086/651263.
- KOUTSERIMPAS, C. *et al.* Osseous Infections Caused by *Aspergillus* Species. **Diagnostics**, v. 12, n. 1, p. 201, 2022. Doi: 10.3390/diagnostics12010201.
- KRISHNAN, S. G. *et al.* A case of cutaneous penicilliosis in a child with acute myeloid leukaemia. **JMM Case Rep**, v. 2, p. 1–4, 2015. Doi: 10.1099 /jmmcr.0.000098.
- KULKARNI, M. S. The study of mycotic corneal ulcers in a tertiary care hospital in Mumbai. **IP Int J Med Microbiol Trop Dis**, v. 8, n. 2, p. 137-139, 2022. Doi: 10.18231/j.ijmmtd.2022.028.
- KVAM, A. J. *et al.* Rapid oxidative release of fungal mannan for detection by immunoassay. **Med Mycol**, v. 60, n. 9, myac066, 2022. Doi: 10.1093/mmy/myac066.
- KWON-CHUNG, K. J.; SCHWARTZ, I. S.; RYBAK, B. J. A Pulmonary Fungus Ball Produced by *Cladosporium cladosporioides*. **Am J Clin Pathol**, v. 64, n. 4, p. 564–568, 1975. Doi: 10.1093/ajcp/64.4.564.
- LANGNER, S.; STABER, P. B.; NEUMEISTER, P. Posaconazole in the management of refractory invasive fungal infections. **Ther Clin Risk Manag**, v. 4, n. 4, p. 747-758, 2008. Doi: 10.2147/term.s3329.
- LEÓN-BUITIMEA, A. *et al.* Nanomaterial-Based Antifungal Therapies to Combat Fungal Diseases Aspergillosis, Coccidioidomycosis, Mucormycosis, and Candidiasis. **Pathogens**, v. 10, n. 10, p. 1303, 2021. Doi: 10.3390/pathogens10101303.
- LI, X. *et al.* *Penicillium janthinellum* pneumonia in an sle patient: a case study. **Infect. Drug Resist.**, v. 13, p. 2745–2749, 2020. Doi: 10.2147/idr.s255 968.
- LIMA, D. X. *et al.* Novel mucoralean fungus from a repugnant substrate: *Mucor merdophylus* sp. nov. Isolated from dog excrement. **Curr Microbiol**, v. 77, n. 10, p. 2642–2649, 2020. Doi: 10.1007/s00284-020-02038-8.
- LIMA, M. L. F.; LIMA, J. S.; SILVA, M. T. Fungos anemófilos: avaliação da microbiota do ar em ambientes interno e externo. **Essentia (Sobral)**, v. 20, n.1, p. 88-95, 2019. Disponível em: file:///c:/users/pc-pc/desktop/220-texto%20do%20 artigo-811-1-10-20190702.pdf. Acesso em: abril de 2020.
- LIN, T. *et al.* An experimental study of the flow characteristics and velocity fields in an operating room with laminar airflow ventilation. **J Build Eng**, v. 29 (article 101184), 2020. Doi: 10.1016/j.jobbe.2020.101184.

- LIU, L. *et al.* *Rhizomucor pusillus* Infection in a Patient with Acute Myeloid Leukaemia After Haematopoietic Stem Cell Transplantation: Clinical Impact of Metagenomics Next-Generation Sequencing. **Infect. Drug Resist.**, v. 15, p. 4285-4290, 2022. Doi: 10.2147/IDR.S376045.
- LOCKHART, S. R.; GUARNER, J. Emerging and reemerging fungal infections. **Semin Diagn Pathol**, v. 36, n. 3, p. 177-181, 2019. Doi: 10.1053/j.semmp.2019.04.010.
- LÓPEZ, A. L. *et al.* *Aspergillus proliferans* onychomycosis forming fungal masses. **Dermatología CMQ**, v. 19, n. 2, 2021. Disponível em: <https://www.medigraphic.com/pdfs/cosmetica/dcm-2021/dcm212n.pdf>. Acesso em: 20 nov 2022.
- LUANGSA-ARD, J. *et al.* *Purpureocillium*, a new genus for the medically important *Paecilomyces lilacinus*. **FEMS Microbiol. Lett.**, v. 321, n. 2, p.141–149, 2011. Doi: 10.1111/j.1574-6968.2011.02322.x.
- MACÊDO; D. P. C. *et al.* *Engyodontium album* fungaemia: the first reported case. **Braz. J. Microbiol.**, v. 38, n. 1, p. 110-112, 2007. Doi: 10.1590/S1517-83822007000100023.
- MADDISON, W. P.; MADDISON, D. R. **Mesquite: a modular system for evolutionary analysis, version 3.11**, 2016. Disponível em: <http://mesquiteproject.org>. Acesso: 20 nov 2022.
- MADURI, A. *et al.* Subcutaneous infection by *Cladosporium sphaerospermum*-A rare case report. **Indian J Pathol Microbiol**, v. 58, n. 3, p. 406-407, 2015. Doi: 10.4103/0377-4929.162936.
- MASIA, M. D. *et al.* Microbial Monitoring as a Tool for Preventing Infectious Risk in the Operating Room: Results of 10 Years of Activity. **Atmosphere**, v. 12, n. 1, p. 19, 2021. Doi: 10.3390/atmos12010019.
- MASIH, A. *et al.* Identification by molecular methods and matrix-assisted laser desorption ionization–time of flight mass spectrometry and antifungal susceptibility profiles of clinically significant rare *Aspergillus* species in a referral chest hospital in Delhi, India. **J Clin Microbiol**, v. 54, p. 2354 -2364, 2016. Doi: 10.1128/JCM.00962-16.
- MASOOD, M. *et al.* Surgical management of a local angioinvasive fungal soft tissue infection in the knee: a case report. **J. Surg. Case Rep.**, v. 2022, n. 1, rjab546, 2022. Doi: 10.1093/jscr/rjab546.
- MBARECHE, H.; MORAWSKA, L.; DUCHAINE, C. On the interpretation of bioaerosol exposure measurements and impacts on health. **J Air Waste Manag Assoc**, v. 69, n. 7, p. 789-804, 2019. Doi: 10.1080/10962247.2019.1587552.
- MCCARTHY, M. W. *et al.* Clinical pharmacokinetics and pharmacodynamics of isavuconazole. **Clin Pharmacokinet**, v. 57, n. 12, p. 1483-1491, 2018. Doi: 10.1007/s40262-018-0673-2.
- MEDIKERI, G.; JAVER, A. Optimal management of allergic fungal rhinosinusitis. **J Asthma Allergy**, v. 11, n. 13, p. 323-332, 2020. Doi: 10.2147/JAA.S217658.
- MEDINA, R. P. C. *et al.* *Purpureocillium roseum* sp. nov. A new ocular pathogen for humans and mice resistant to antifungals. **Mycoses**, v. 64, n. 2, p. 162-173, 2020. Doi: 10.1111/myc.13198.
- MEENA, H.; RANI, M; KUMAR, N. **Organic Farming: An Overview**. Chapter – 9. p. 82-89. Insect Science and Experiment. AkiNik Publications Edition: 1 st Publication Year, p. 277, 2020. ISBN: 978-93-90420-73-5. Doi: 10.22271/ed.book.981.

- MILLER, M. A.; PFEIFFER, W.; SCHWARTZ, T. **Creating the CIPRES Science Gateway for inference of large phylogenetic trees**. 2010. In: IEEE Gateway Computing Environments Workshop (GCE), New Orleans, LA, p. 1–8, 2010. Doi: 10.1109/GCE.2010.5676129.
- MIYAKUBO, T. *et al.* Fungal keratitis caused by *Didymella gardeniae* (formerly *Phoma gardeniae*) successfully treated with topical voriconazole and miconazole. **Med. Mycol. Case Rep.**, v. 24, p. 90–92, 2019. Doi: 10.1016/j.mmcr.2019.04.006.
- MOK, T. *et al.* Fatal *Penicillium citrinum* pneumonia with pericarditis in a patient with acute leukemia. **J Clin Microbiol.**, v. 35, n. 10, p. 2654–2656, 1997. Doi: 10.1128/jcm.35.10.2654-2656.1997.
- MONTEIRO, C *et al.* *Aspergillus* species collected from environmental air samples in Portugal – molecular identification, antifungal susceptibility and sequencing of *cyp51A* gene on *A. fumigatus sensu stricto* itraconazole resistant. **J. Appl. Microbiol.**, v. 126, n. 4, p. 1140–1148, 2019. Doi: 10.1111/jam.14217.
- MORI, T. *et al.* A fatal case of pulmonary penicilliosis. **Jpn J Med Mycol**, v. 28, p. 341–348, 1987. Doi: 10.3314/jjmm1960.28.341.
- MOURAD, A.; PERFECT, J. R. Tolerability profile of the current antifungal armoury. **J Antimicrob Chemother**, v. 1, n. 73(suppl_1), p. i26–i32, 2018. Doi: 10.1093/jac/dkx446. PMID: 29304209; PMCID: PMC6636388.
- NAIDU, J.; SINGH, S. M. *Aspergillus chevalieri* (Mangin) Thom and Church: a new opportunistic pathogen of human cutaneous aspergillosis. **Mycoses**, v. 37, n. 7–8, p. 271–274, 1994. Doi: 10.1111/j.1439-0507.1994.tb00425.x .
- NARAYANASAMY, S. *et al.* *Curvularia alcornii* aortic pseudoaneurysm following aortic valve replacement: case report and review of the literature. **Open Forum Infect. Dis.**, v. 8, n. 11, ofab536, 2021. Doi: 10.1093/ofide/ofab536.
- NARULA, H.; MEENA, S.; JHA, S.; KAISTHA, N.; PATHANIA, M.; GUPTA, P. *Curvularia lunata* causing orbital cellulitis in a diabetic patient: An old fungus in a new territory. **Curr Med Mycol.**, v. 6, n. 1, p. 51–54, 2020. Doi: 10.18502/cmm.6.1.2510.
- NASCIMENTO, J. P. M. *et al.* Airborne fungi in indoor hospital environments. **Int J Curr Microbiol App Sci**, v. 8, n. 1, p. 2749–2772, 2019. Doi: 10.20546 / ijcmas.2019.801.291.
- NGUYEN, M. H. *et al.* Posaconazole serum drug levels associated with pseudohyperaldosteronism. **Clin Infect Dis.**, v. 70, n. 12, p. 2593–2598, 2020. Doi: 10.1093/cid/ciz741.
- NICKLESS, J. R. *et al.* Evaluation of intravenous posaconazole dosing and pharmacokinetic target attainment in pediatric patients. **J Pediatric Infect Dis Soc.**, v. 8, n. 4, p. 365–367, 2019. Doi: 10.1093/jpids/piy094.
- NIELSEN, S. M. *et al.* Increased prevalence and altered species composition of filamentous fungi in respiratory specimens from cystic fibrosis patients. **APMIS**, v. 122, n. 10, p. 1007–1012, 2014. Doi: 10.1111/apm.12253.
- NIVOIX, Y.; LEDOUX, M. P.; HERBRECHT, R. Antifungal therapy: new and evolving therapies.

Semin Respir Crit Care Med., v. 41, n. 1, p. 158-174, 2020. Doi: 10.1055/s-0039-3400291.

NNADI, N. E.; CARTER, D. A. Climate change and the emergence of fungal pathogens. **PLoS Pathog**, v. 17, n. 4, p. e1009503, 2021. Doi: 10.1371/journal.ppat.1009503.

NÚÑEZ, A.; GARCÍA, A. M. The aerobiome in a hospital environment: Characterization, seasonal tendencies and the effect of window opening ventilation. **Build Environ**, v. 230, 110024, 2023. Doi: 10.1016/j.buildenv.2023.110024.

O'DONNELL, K. *et al.* Molecular phylogenetic diversity, multilocus haplotype nomenclature, and in vitro antifungal resistance within the *Fusarium solani* species complex. **J Clin Microbiol.**, v. 46, n. 8, p. 2477–2490, 2008. Doi: 10.1128/JCM.02371-07.

OLIVEIRA, M. T. *et al.* Risks associated with pathogenic fungi isolated from surgical centers, intensive care units, and materials sterilization center in hospitals. Risks associated with pathogenic fungi isolated from critical hospital áreas. **Med Mycol**, v. 0, 1–6, 2020. Doi: 10.1093/my/myaa004.

PANDEY, V.; GUPTA, M. K. An unusual case of renal fungal mass masquerading as renal cell carcinoma. **Indian J Med Res.**, v. 152 (Suppl 1), p. S173-S174, 2020. Doi: 10.4103/ijmr.IJMR_2269_19.

PASQUARELLA, C. *et al.* The influence of surgical staff behavior on air quality in a conventionally ventilated operating theatre during a simulated arthroplasty: a case study at the University Hospital of Parma. **Int J Environ Res Public Health**, v. 17, n. 452, p. 1-14, 2020. Doi: 10.3390/ijerph17020452.

PASTOR, F. J.; GUARRO, J. Treatment of *Aspergillus terreus* infections: A clinical problem not yet resolved. **Int. J. Antimicrob. Agents**, v. 44, n. 4, p. 281-289, 2014. Doi: 10.1016/j.ijantimicag.2014.07.002.

PATEL, R. *et al.* Gliotoxin penetrates and impairs the integrity of the human blood-brain barrier *in vitro*. **Mycotoxin Res**, v. 34, p. 257–268, 2018. Doi: 10.1007/s12550-018-0320-7.

PATEL, T. S.; CARVER, P. L.; ESCHENAUER, G. A. Are *in vitro* susceptibilities to azole antifungals predictive of clinical outcome in the treatment of candidemia? **J Clin Microbiol**, v. 56, n. 12, p. e01072-01018, 2018. Doi: 10.1128/JCM.01072-18.

PAUL, J. *et al.* Diagnostic and therapeutic challenges of treating opportunistic fungal cellulitis: a case series. **BMC Infect Dis**, v. 22, n. 435, 2022. Doi: 10.1186/s12879-022-07365-8.

PEDROSA, K. P. *et al.* Airborne Fungi in a Neonatal Intensive Care Unit and Operating Theater in a University Hospital. **Int. J. Innov. Educ. Res.**, vol. 10, n. 2, p. 41-55, 2022. Doi: 10.31686/ijier.vol10.iss2.3629.

PEPE, R. R.; BERTOLOTTI, C. The first isolation of *Cladosporium cladosporioides* (Fres.) de Vries from dental granulomas. **Minerva Stomatol.**, v. 40, n. 12, p. 781-785, 1991. Disponível em: <https://europepmc.org/article/med/1815127>. Acesso em: 22 Nov 2022.

PERLIN, D. S.; WIEDERHOLD, N. P. Culture-independent molecular methods for detection of antifungal resistance mechanisms and fungal identification. **J Infect Dis**, v. 216, n. (suppl_3), p. S458–65, 2017. Doi: 10.1093/infdis/jix121.

- PFALLER, M. A. *et al.* *In vitro* activity of isavuconazole against opportunistic fungal pathogens from two mycology reference laboratories. **Antimicrob Agents Chemother**, v. 62, n. 10, e01230-18, 2018. Doi: 10.1128/AAC.01230-18.
- POLI, M. D. *et al.* Antifungal treatments in critically ill patients. In: Chiumello D. (eds) Practical trends in anesthesia and intensive care 2018. **Springer**, Cham., p 237-248, 2018. Doi: 10.1007/978-3-319-94189-9_14.
- POSADA, D. jModelTest: phylogenetic model averaging. **Mol Biol Evol**, v. 25, n. 7, p. 1253–1256, 2008. Doi: 10.1093/molbev/msn083.
- PRAKASH, H. *et al.* A prospective multicenter study on mucormycosis in India: epidemiology, diagnosis, and treatment. **Med. Mycol.**, n. 57, v. 4, p. 395–403, 2019. Doi: 10.1093/mmy/myy060.
- PRIGITANO, A. *et al.* ICU environmental surfaces are a reservoir of fungi: species distribution in northern Italy. **J. Hosp. Infect.**, v. 123, p. 74-79, 2022. Doi: 10.1016/j.jhin.2022.02.006.
- PRIYAMVADA, H. *et al.* Assessment of PM and bioaerosols at diverse indoor environments in a southern tropical Indian region. **Build Environ**, v. 137, p. 215-225, 2018. Doi: 10.1016/j.buildenv.2018.04.016.
- PYRHONEN, K.; KULMALA, P.; NAYHA, S. Coincidence of pollen season with the first fetal trimester together with early pet exposure is associated with sensitization to cat and dog allergens in early childhood: a Finnish population-based study. **Clin Exp Allergy**, v. 48, n. 3, p. 306–316, 2018. Doi: 10.1111/cea.13067.
- QIU-XIA, C.; CHANG-XING, L.; WEN-MING, H.; JIANG-QIANG, S.; WEN, L.; SHUN-FANG, L. Subcutaneous phaeohyphomycosis caused by *Cladosporium sphaerospermum*. **Mycoses**, v. 51, p. 79-80, 2008. Doi: 10.1111/j.1439-0507.2007.01417.x
- RAGHAV, N. *et al.* Enumeration and characterization of airborne microbial communities in an outdoor environment of the city of Taj, India. **Urban Clim**, v. 32, 100596, 2020. Doi: 10.1016/j.uclim.2020.100596.
- RAIESI, O. *et al.* First report of chronic invasive fungal rhinosinusitis in a patient with ovarian cancer caused by *Didymella pedeeiae* and successful treatment with voriconazole: a case report. **Curr Med Mycol**, v. 7, n. 1, p. 55–58, 2021. Doi: 10.18502/cmm.7.1.6244.
- RAIESI, O. *et al.* Allergic fungal rhinosinusitis caused by *Neoscytalidium dimidiatum*: a case report: allergic fungal rhinosinusitis due to *Neoscytalidium dimidiatum*. **J Mycol Med**, v. 32, n. 1, 2022. Doi: 10.1016/j.mycmed.2021.101212.
- RAMBAUT, A. **FigTree v.1.3.1. Computer program and documentation distributed by the author**. 2009. Disponível em: <http://tree.bio.ed.ac.uk/software/>. Acesso em: 20 nov 2022.
- REHNER, S. A. **Primers for elongation factor 1-alpha (EF1- alpha)**, 2001. Disponível em: <http://ocid.nacse.org/research/deephyphae/EF1primer.pdf>. Acesso em 20 nov 2022.
- REPONEN, T. *et al.* Family and home characteristics correlate with mold in homes. **Environ Res.**, v. 124, p. 67–70, 2013. Doi: 10.1016/j.envres.2013.04.003.

- REVIE, N. M. *et al.* Antifungal drug resistance: evolution, mechanisms and impact. **Curr. Opin. Microbiol.**, v. 45, p. 70–76, 2018. Doi: 10.1016/j.mib.2018.02.005.
- RISSLEGGER, B. *et al.* A prospective international *Aspergillus terreus* survey: an EFISG, ISHAM and ECMM joint study. **Clin. Microbiol. Infect.**, v. 23, n. 10, p. 776.e1-776.e5, 2017. Doi: 10.1016/j.cmi.2017.04.012.
- RISUM, M.; HARE, R. K.; GERTSEN, J. B.; KRISTENSEN, L.; JOHANSEN, H. K.; HELWEG-LARSEN, J.; ABOU-CHAKRA, N.; PRESSLER, T.; SKOV, M.; JENSEN-FANGEL, S.; ARENDRUP, M. C. Azole-Resistant *Aspergillus fumigatus* Among Danish Cystic Fibrosis Patients: Increasing Prevalence and Dominance of TR₃₄/L98H. **Front. Microbiol.**, v. 11, (Article 1850), 2020. Doi: 10.3389/fmicb.2020.01850.
- RONQUIST, F.; TESLENKO, M.; VAN DER MARK, P.; AYRES, D. L.; DARLING, A.; HÖHNA, S.; LARGET, B.; LUI, L.; SUCHARD, M. A.; HUELSENBECK, J. P. (2012) MrBayes 3.2: Efficient bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space. **Syst Biol**, v. 61, n. 3, p. 539–542, 2012. Doi: 10.1093/sysbio/sys029.
- ROWEN, J. L.; TATE, J. M. Management of neonatal candidiasis. Neonatal Candidiasis Study Group. **Pediatr Infect Dis J.**, v. 17, n. 11, p. 1007-10011, 1998. Doi: 10.1097/00006454-199811000-00008.
- RUDRAMURTHY, S.M. *et al.* Invasive Aspergillosis by *Aspergillus flavus*: Epidemiology, Diagnosis, Antifungal Resistance, and Management. **J. Fungi**, v. 5, n. 3, p. 55, 2019. Doi: 10.3390/jof5030055.
- RUIZ, L.S.; PEREIRA, V. B. R. Importância dos fungos no ambiente hospitalar. **Bol Inst Adolfo Lutz**, v. 26, n. U, art. 2, p. 01–03, 2016. ISSN (impresso)1984-235X / ISSN (on line) 1984-2368.
- SAHAY, P. *et al.* Infectious Keratitis Caused by Rare and Emerging Micro-Organisms, **Curr. Eye Res.**, v. 45, n. 7, p. 761-773, 2020. Doi: 10.1080/02713683.2019.1708407.
- SCHWARTZ *et al.* Emergomycose: the global rise of new dimorphic fungal pathogens. **PLoS Pathog**, v. 15, n. 9, e1007977, 2019. Doi: 10.1371/journal.ppat.1007977.
- SALAZAR-GONZÁLEZ, M. A. *et al.* *Purpureocillium lilacinum* as unusual cause of pulmonary infection in immunocompromised hosts. **J Infect Dev Ctries**, v. 14, n. 4, p. 415-419, 2020. Doi: 10.3855/jidc.12235.
- SALEHI, M. *et al.* Elicitors derived from endophytic fungi *Chaetomium globosum* and *Paraconiothyrium brasiliense* enhance paclitaxel production in *Corylus avellana* cell suspension culture. **Plant Cell Tiss Organ Cult**, v. 136, p. 161–171, 2019b. Doi: 10.1007/s11240-018-1503-9.
- SALEHI, M. *et al.* First report of invasive pulmonary infection by *Didymella microchlamydospora* and successful treatment with voriconazole. **Clin Microbiol Infect**, v. 25, n. 3, p. 392-393, 2019a. Doi: 10.1016/j.cmi.2018.10.018.
- SALES, E. *et al.* Micota no ar da unidade de terapia intensiva e centro cirúrgico de um hospital universitário. **Bioikos**, v. 25, n. 2, p. 109-115, 2011. ISSN 2318-0900.
- SAMSON, R. A. *et al.* Phylogeny and nomenclature of the genus *Talaromyces* and taxa accommodated in *Penicillium* subgenus *biverticillium*. **Stud Mycol**, v. 70, p. 159-183, 2011. Doi:

10.3114/sim.2011.70.04.

SÁNCHEZ, P. *et al.* Fungal allergen and mold allergy diagnosis: role and relevance of *Alternaria alternata* Alt a 1 protein family. **J. Fungi**, v. 8, n. 3, p. 277, 2022. Doi: 10.3390/jof803027.

SANDOVAL-DENIS, M. *et al.* *Cladosporium* species recovered from clinical samples in the United States. **J Clin Microbiol**, v. 53, n. 9, p. 2990–3000, 2015. Doi: 10.1128/JCM.01482-15.

SANTOS, A. C. S. *et al.* Morphology, phylogeny, and sexual stage of *Fusarium caatingaense* and *Fusarium pernambucanum*, new species of the *Fusarium incarnatum-equiseti* species complex associated with insects in Brazil. **Mycologia**, v. 111, n. 2, p. 244-259, 2019. Doi: 10.1080/00275514.2019.1573047.

SANTOS, W. B. *et al.* Microbiota infectante de feridas cirúrgicas: análise da produção científica nacional e internacional. **Rev SOBECC**, v. 21, n. 1, p. 46-51, 2016. Doi: 10.5327/Z1414-4425201600010007.

SATALA, D. *et al.* 2023. More than Just Protein Degradation: The Regulatory Roles and Moonlighting Functions of Extracellular Proteases Produced by Fungi Pathogenic for Humans. **J Fungi**, v. 9, n. 1, p.121. Doi: 10.3390/jof9010121.

SATHE, N. *et al.* Rare case of extensive aspergillosis of nose and paranasal sinuses with sinking orbit. **IP J Surg Allied Sci**, v. 3, n. 4, p. 112–115, 2021. Doi: 10.18231/j.jsas.2021.025.

SCARPARI, M. *et al.* *Didymella corylicola* sp. nov., a new fungus associated with hazelnut fruit development in Italy. **Mycol Progress**, v. 19, n. 4, p. 317–328, 2020. Doi: 10.1007/s11557-020-01562-y.

SCHOBBER, S. *et al.* Fulminant *Rhizomucor pusillus* mucormycosis during anti-leukemic treatment with blinatumomab in a child: A case report and review of the literature. **Med. Mycol. Case Rep.**, v. 32, n. 29, p. 4-9, 2021. Doi: 10.1016/j.mmcr.2020.12.002.

SEN, M. *et al.* Epidemiology, clinical profile, management, and outcome of COVID-19-associated rhino-orbital-cerebral mucormycosis in 2826 patients in India - Collaborative OPAI-IJO Study on Mucormycosis in COVID-19 (COSMIC), Report 1. **Indian J Ophthalmol.**, v. 69, n. 7, p. 1670-1692, 2021. Doi: 10.4103/ijo.IJO_1565_21.

SEVILHA, J. B. *et al.* Infectious and non-infectious diseases causing the air crescent sign: a state-of-the-art review. **Lung**, v. 196, n. 1, p. 1- 10, 2017. Doi: 10.1007/s00408-017-0069-3.

SHAFIEI, M. *et al.* History of the development of antifungal azoles: a review on structures, SAR, and mechanism of action. **Bioorg Chem.**, v. 104 (e1-624), p. 104240, 2020. Doi: 10.1016/j.bioorg.2020.104240.

SHAHANDASHTI, R. V. *et al.* *Aspergillus terreus* and the Interplay with Amphotericin B: from Resistance to Tolerance? **J. Antimicrob. Chemother.**, v. 66, n. 4, p. e02274-21, 2022. Doi: 10.1128/aac.02274-21.

SHAHANDASHTI, R. V.; LASS-FLÖRL, C. Antifungal resistance in *Aspergillus terreus*: A current scenario. **Fungal Genet. Biol.**, v. 131, p. 103247, 2019. Doi: 10.1016/j.fgb.2019.103247.

SHAM, N. M. *et al.* Fungus and mycotoxins studies in hospital environment: A scoping review,

Build Environ, v. 193, p. 107626, 2021. Doi: 10.1016/j.buildenv.2021.107626.

SHARPE *et al.*, Triazole resistance surveillance in *Aspergillus fumigatus*. **Med Mycol**, v. 56, n. (suppl_1), p. S83–S92, 2018. Doi: 10.1093/mmy/myx144.

SHECHTER-MAOR, G. *et al.* Fetal distress as a presenting symptom of acute leukemia during pregnancy. **Open J Clin Med Case Rep.**, v. 2, n. 2, p. 1070, 2016. Disponível em: <http://jclinmedcasereports.com/articles/OJCMCR-1070.pdf>. Acesso: 20 nov 2022.

SHI, L. *et al.* Aggressive disseminated *Rhizomucor pusillus* infection in a ph-like acute lymphoblastic leukemia patient: early detection by cell-free dna next-generation sequencing. **J. Infect. Chemother.**, v. 28, n. 3, p. 459–464, 2022. Doi: 10.1016/j.jiac.2021.12.007.

SHINOHARA, N. *et al.* Comparison of DNA sequencing and morphological identification techniques for characterization of environmental fungal communities. **Sci Rep**, v. 11, p. 2633, 2021. Doi: 10.1038/s41598-021-81996-w.

SHIVAJI, S. *et al.* Fungi of the human eye: culture to mycobiome. **Exp. Eye Res.**, v. 217, 108968, 2022. Doi: 10.1016/j.exer.2022.108968.

SILVA, D. G. *et al.* Fungos anemófilos isolados em um hospital particular de Sinop-MT, Brasil. **Sci Elec Arch**, v. 9, n. 5, p. 1-6, 2016. ISSN: 2316-9281. Disponível em: <https://pdfs.semanticscholar.org/88e8/c434742a95a877242f26a8c44dcb e34b15dd.pdf>. Acesso em: abril de 2020.

SIMONOVICOVA, A.; GODYOVA, M.; KUNERT, J. *Engyodontium album*, a new species of microscopic fungi for Slovakia and its keratinolytic activity. **Biol Brat**, v. 59, n. 1, p. 17-18, 2004. Disponível em: https://www.researchgate.net/profile/Miroslava-Macharikova/publication/228773826_Engyodontium_album_a_new_species_of_microscopic_fungi_for_Slovakia_and_its_keratinolytic_activity/links/0046353ce1e7e0126b000000/Engyodontium-album-a-new-species-of-microscopic-fungi-for-Slovakia-and-its-keratinolytic-activity.pdf. Acesso em: 20 nov 2022.

SIQUEIRA, J. P. Z. *et al.* Species of *Aspergillus* section *Aspergillus* from clinical samples in the United States. **Med Mycol**, v. 56, n. 5, p. 541-550, 2018. Doi: 10.1093/mmy/myx085.

SKOGVOLD, H. B. *et al.* A pioneer study on human 3-nitropropionic acid intoxication: Contributions from metabolomics. **J Appl Toxicol**, v. 42, n. 5, p. 818–829, 2022. Doi: 10.1002/jat.4259.

SOBRAL, L. V. *et al.* First report of *Penicillium costaricense* Visagie, M. Urb & Seifert (Eurotiales, Ascomycota) in South America and a second report for the world. **Check List**, v. 16, n. 6, p. 1457–1463, 2020. Doi: 10.15560/16.6.1457.

SOLOMKIN, J. S. *et al.* Introduction to the centers for disease control and prevention and the healthcare infection control practices advisory committee guideline for the prevention of surgical site infections. **Surg Infect (Larchmt)**, v. 18, n. 4, p. 385-393, 2017. Doi: 10.1089 / sur.2017.075.

SON, S-H. *et al.* HbxB is a key regulator for stress response and β -glucan biogenesis in *Aspergillus nidulans*. **Microorganisms**, v. 9, n. 1, p. E144, 2021. Doi: 10.3390/microorganisms9010144.

SOSA, E. E.; COHEN, P. R.; TSCHEN, J. A. *Cladosporium* scalp infection. **Skinmed**, v. 10, n. 6, p. 393-394, 2012. Disponível em: <https://europepmc.org/article/med/23346670>. Acesso em: 22 Nov 2022.

SOUSA, B. R. *et al.* Refractory esophagitis caused by *Candida nivariensis*: second description of this yeast in Brazil and a literature review. **Future Microbiol**, v. 17, n. 12, p. 903-915, 2022. Doi: <https://doi.org/10.2217/fmb-2021-0109>

SOUZA, A. K. P. *et al.* Airborne Fungi in Neonatal Intensive Care Unit of a Public Hospital in Brazil. **Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci.**, v. 8, n. 12, p. 1210-1219, 2019. Doi: 10.20546/ijcmas.2019.812.149.

SPRUTE, R. *et al.* Invasive infections with *Purpureocillium lilacinum*: clinical characteristics and outcome of 101 cases from FungiScope® and the literature. **J. Antimicrob. Chemother.**, v. 76, n. 6, p. 1593-1603, 2021. Doi: 10.1093/jac/dkab039.

STEVENS, D. A.; SHATSKY, S. A. Intrathecal amphotericin in the management of coccidioidal meningitis. **Semin Respir Infect.**, v. 16, n. 4, p. 263-269, 2001. Doi: 10.1053/srin.2001.29298.

STOCKWELL, R. E. *et al.* Indoor hospital air and the impact of ventilation on bioaerosols: a systematic review. **J Hosp Infect**, v. 103, n. 2, p. 175-184, 2019. Doi: 10.1016/j.jhin.2019.06.016.

SURJA, S. S. *et al.* *Talaromyces atrovirens* in HIV and non-HIV patient: A first report from Indonesia. **Med Mycol**, p. 1-4, 2019. Doi: 10.1093/mmy/myz090.

TAMURA, K. *et al.* MEGA6: molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. **Mol Biol Evol**, v. 30, n. 12, p. 2725–2729, 2013. Doi: 10.1093/molbev/mst197.

TANNO, L. K. *et al.* Global implementation of the WHO's International classification of diseases (ICD) -11: The allergic and hypersensitivity conditions model. **Allergy**, v. 75, n. 9, p. 2206–2218, 2020. Doi: 10.1111/all.14468.

TEIXEIRA, M. M. *et al.* Genomic characterization of *Parengyodontium americanum* sp. nov. **Fungal Genet. Biol.**, v. 138, 2020. Doi: 10.1016/j.fgb.2020.103351.

THOMPSON, G. R. *et al.* Global guideline for the diagnosis and management of the endemic mycoses: an initiative of the European Confederation of Medical Mycology in cooperation with the International Society for Human and Animal Mycology. **Lancet Infect Dis.**, 2021 v. 21, n. 11, p. e364-e374, 2021. Doi: 10.1016/S1473-3099(21)00191-2.

THRASHER, J. D.; CRAWLEY, S. The biocontaminants and complexity of damp indoor spaces: more than what meets the eyes. **Toxicol Ind Health**, v. 25, n. 9-10, p. 583-615, 2009. Doi: 10.1177/0748233709348386.

TIANYU, L.; WEI, C.; XINYU, Y.; QIQI, W.; ZHE, W.; RUOYU, L.; WEI, L. The Elevated Endogenous Reactive Oxygen Species Contribute to the Sensitivity of the Amphotericin B-Resistant Isolate of *Aspergillus flavus* to Triazoles and Echinocandins. **Front. Microbiol.**, v. 12 (Article 680749), p. 1-10, 2021. Doi: 10.3389/fmicb.2021.680749.

TIEW, P. Y. *et al.* The mycobiome in health and disease: emerging concepts, methodologies and challenges. **Mycopathologia**, v. 185, n. 2, p. 207-231, 2020. Doi: 10.1007 /s11046-019-00413-z.

- TIMMERS, G. *et al.* Amphotericin B colloidal dispersion (Amphocil) vs fluconazole for the prevention of fungal infections in neutropenic patients: data of a prematurely stopped clinical trial. **Bone Marrow Transplant**, v. 25, p. 879–884, 2000. Doi: 10.1038/sj.bmt.1702243.
- TODA, Y. *et al.* Disseminated *Rhizomucor pusillus* infection in a patient with acute myeloid leukemia successfully treated with extensive surgical debridement and long-term liposomal amphotericin B. **Tenri Medical Bulletin**, v. 21, n. 1, p. 30-40, 2018. Doi: 10.12936/tenrikiyo.21-004.
- TODOKORO, D. *et al.* A case of contact lens-induced fungal keratitis caused by *Didymella heteroderae*. **Mycopathologia**, v. 186, p. 309–311, 2021. Doi: 10.1007/s11046-021-00536-2.
- TOMAZIN, R.; MATOS, T. Filamentous fungi that most frequently cause true fungaemia. **Rev Med Microbiol**; v. 33, n. 4, p. 236-240, 2022. Doi: 10.1097/MRM.0000000000000309.
- TOTARO, M. *et al.* Microbiological air quality in heating, ventilation and air conditioning systems of surgical and intensive care areas: the application of a disinfection procedure for dehumidification devices. **Pathogens**, v. 8, n. 8, p. 1-9, 2019. Doi: 10.3390/pathogens8010008.
- TOWNSEND, R. W. *et al.* Phase I trial to investigate the effect of renal impairment on isavuconazole pharmacokinetics. **Eur J Clin Pharmacol.**, v. 73, n. 6, p. 669–678, 2017. Doi: 10.1007/s00228-017-2213-7.
- TRAGIANNIDIS, A. *et al.* Antifungal agents and the kidney: pharmacokinetics, clinical nephrotoxicity, and interactions. **Expert Opin Drug Saf.**, 2021. Doi: 10.1080/14740338.2021.1922667.
- TROIANO, G.; NANTE, N. Mucormycosis - emerging fungal threats. **Encyclopedia**, v. 2, n. 1, p. 247–255, 2022. Doi: 10.3390/encyclopedia2010016.
- TSANG, C. C. *et al.* Cutaneous hyalohyphomycosis due to *Parengyodontium album* gen. et comb. nov. **Med Mycol.**, v. 54, n. 7, p. 699-713, 2016. Doi: 10.1093/mmy/myw025.
- TSANG, C. C. *et al.* Diversity of phenotypically non-dermatophyte, non-*Aspergillus* filamentous fungi causing nail infections: importance of accurate identification and antifungal susceptibility testing. **Emerg Microbes Infect.**, v. 8, n. 1, p. 531-541, 2019. Doi: 10.1080/22221751.2019.1598781.
- TSANG, C. C. *et al.* Rare/cryptic *Aspergillus* species infections and importance of antifungal susceptibility testing. **Mycoses**, v. 63, n. 12, p. 1283–1298, 2020. Doi: 10.1111/myc.13158.
- TUPAKI-SREEPURNA, A. *et al.* Phylogenetic Diversity and *In Vitro* Susceptibility Profiles of Human Pathogenic Members of the *Fusarium fujikuroi* Species Complex Isolated from South India. **Mycopathologia**, v. 183, n. 3, p. 529-540, 2018. Doi: 10.1007/s11046-018-0248-7.
- TURKI, S. G. *et al.* Allergen profile of rhinitis and asthma among Iraqi patients. **Clin. Epidemiology Glob. Health.**, v. 8, n. 2, p. 637-642, 2020. Doi: 10.1016/j.cegh.2019.12.018.
- TURNER, J. H. *et al.* Survival outcomes in acute invasive fungal sinusitis: a systematic review and quantitative synthesis of published evidenc. **The Laryngoscope**, v. 123, n. 5, p. 1112-1118, 2013. Doi: 10.1002/lary.23912.

TYLER, M. A.; LUONG, A. U. Current understanding of allergic fungal rhinosinusitis. **World J. Otorhinolaryngol.-Head Neck Surg.**, v. 4, n. 3, p. 179–185, 2018. Doi: 10.1016/j.wjorl.2018.08.003.

US AGENCY. Yellow Rain; **Us Information Agency**: Washington, DC, USA, 1983. Disponível em: http://insidethecoldwar.org/sites/default/files/documents/Yellow%20Rain_1.pdf. Acesso em 20 nov 2022.

VACHHARAJANI, T. J. *et al.* *Curvularia geniculata* fungal peritonitis: a case report with review of literature. **Int Urol Nephrol**, v. 37, n. 4, p. 781-784, 2005. Doi: 10.1007/s11255-004-0628-4.

VALENTA, R. *et al.* Allergen extracts for *in vivo* diagnosis and treatment of allergy: is there a future? **J Allergy Clin Immunol Pract**, v.6, n.6, p. 1845–1855.e2, 2018. Doi: 10.1016/j.jaip.2018.08.032.

VALENZUELA-LOPEZ, N. *et al.* Coelomycetous Fungi in the Clinical Setting: Morphological Convergence and Cryptic Diversity. **J Clin Microbiol.**, v. 55, n. 2, p. 552-567, 2017. Doi: 10.1128/JCM.02221-16.

VANAM, H. P. *et al.* *Nigrospora oryzae* pulmonary infection in a bronchogenic cancer: an opportunistic invader? **SN Compr. Clin. Med.**, v. 2, p. 919–927, 2020. Doi: 10.1007/s42399-020-00340-x.

VASIKASIN, V. *et al.* Disseminated phaeohyphomycosis caused by *Curvularia tuberculata* in a previously healthy man. **Mycopathologia**, v. 184, p. 321–325, 2019. Doi: 10.1007/s11046-019-00323-0.

VERŠILOVSKIS, A.; BARTKEVIČS, V. Stability of sterigmatocystin during the bread making process and its occurrence in bread from the Latvian market. **Mycotoxin Res**, v. 28, p. 123–129, 2012. Doi: 10.1007/s12550-012-0124-0.

VILLANUEVA, D. M.; VENKATESAN, B.; FIGUEROA, N. *Cladosporium sphaerospermum* as a Rare Cause of Pneumonia. **Cureus**, v. 14, n. 6, p. e26256, 2022. Doi: 10.7759/cureus.26256.

VISAGIE, C. M. *et al.* Ochratoxin production and taxonomy of the yellow aspergilli (*Aspergillus* section *Circumdati*). **Stud Mycol.**, v. 78, p. 1-61, 2014. Doi: 10.1016/j.simyco.2014.07.001.

WALL, G.; LOPEZ-RIBOT, J. L. Current Antimycotics, New Prospects, and Future Approaches to Antifungal Therapy. **Antibiotics**, v. 9, n. 8, p. 445, 2020. Doi: 10.3390/antibiotics9080445.

WALTHER, G.; WAGNER, L.; KURZAI, O. Updates on the Taxonomy of Mucorales with an Emphasis on Clinically Important Taxa. **J. Fungi**, v. 5, n. 4, p. 106, 2019. Doi: 10.3390/jof5040106.

WANG, J. *et al.* The genus *Paraconiothyrium*: species concepts, biological functions, and secondary metabolites. **Crit Rev Microbiol.**, v. 47, n. 6, p. 781-810, 2021. Doi: 10.1080/1040841X.2021.1933898.

WANG, L. *et al.* Effect of Praeruptorin C on 3-nitropropionic acid induced Huntington's disease-like symptoms in mice. **Biomed. Pharmacother.**, v. 86, p. 81-87, 2017. Doi: 10.1016/j.biopha.2016.11.111.

- WATKINSON, J. C.; CLARKE, R. W. (Ed.). **Scott-Brown's Otorhinolaryngology and Head and Neck Surgery**, 3 volume set, 8th ed, p. 4356, CRC Press, 2018. ISBN 9781444175899.
- WEBER, R. E. *et al.* IS26-Mediated Transfer of blaNDM-1 as the Main Route of Resistance Transmission During a Polyclonal, Multispecies Outbreak in a German Hospital. **Front Microbiol.**, v. 10, 2019. Doi: 10.3389/fmicb.2019.02817.
- WERYSZKO-CHMIELEWSKA, E. *et al.* Health hazard caused by conidiospores of *Cladosporium* — biological air pollutants in Poland, central Europe. **J Environ Sci**, v. 65, p. 271–281, 2018. Doi: 10.1016/j.jes.2017.02.018.
- WHALEY, S. G. *et al.* Azole antifungal resistance in *Candida albicans* and emerging non-*albicans* *Candida* species. **Front Microbiol.**, v. 7, p. 2173, 2017. Doi: 10.3389/fmicb.2016.02173.
- WHITE, T. J. *et al.* **Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics.** In: Innis MA, Gelfand DH, Sninsky JJ, White TJ (eds) PCR protocols: a guide to methods and applications, Academic, San Diego, 315–322, 1990.
- WICKES, B. L.; WIEDERHOLD, N. P. Molecular diagnostics in medical mycology. **Nat Commun**, v. 9, n. 1, p. 5135, 2018. Doi: 10.1038/s41467-018-07556-5.
- WIJAYAWARDENE, N. N. *et al.* Outline of fungi and fungus-like taxa. **Mycosphere**, v. 11, n. 1, p. 1060-1456, 2020. Doi: 10.5943/mycosphere/11/1/8.
- WILSON, J. *et al.* 2010. Housing and allergens: A pooled analysis of nine US studies. **Environ. Res.**, v. 110, n. 2, p. 189-198. Doi: 10.1016/j.envres.2009.10.007.
- YANG, X.; CHEN, W.; LIANG, T.; TAN, J.; LIU, W.; SUN, Y.; WANG, Q.; XU, H.; LI, L.; ZHOU, Y.; WANG, Q.; WAN, Z.; SONG, Y.; LI, R.; LIU, W. A 20-Year Antifungal Susceptibility Surveillance (From 1999 to 2019) for *Aspergillus* spp. and Proposed Epidemiological Cutoff Values for *Aspergillus fumigatus* and *Aspergillus flavus*: A Study in a Tertiary Hospital in China. **Front. Microbiol.**, v. 12, Article 680884, 2021. Doi: 10.3389/fmicb.2021.680884.
- YANG, Y. *et al.* Genome Sequencing and Comparative Genomics Analysis Revealed Pathogenic Potential in *Penicillium capsulatum* as a Novel Fungal Pathogen Belonging to Eurotiales. **Front. Microbiol.**, v. 7, p. 1541, 2016. Doi: 10.3389/fmicb.2016.01541.
- YANO, S.; KOYABASHI, K.; KATO, K. Intrabronchial lesion due to *Cladosporium sphaerospermum* in a healthy, non-asthmatic woman. **Mycoses**, v. 46, n. 8, p. 348-350, 2003. Doi: 10.1046/j.1439-0507.2003.00885.x.
- YEW, S. M. *et al.* Insight into different environmental niches adaptation and allergenicity from the *Cladosporium sphaerospermum* genome, a common human allergy-eliciting Dothideomycetes. **Sci Rep**, v. 6, p. 27008, 2016. Doi: 10.1038/srep27008.
- YOUSEFZADEH, A. *et al.* Evaluation of bio-aerosols type, density, and modeling of dispersion in inside and outside of different wards of educational hospital. **Environ Sci Pollut Res**, v. 29, n. 10, p. 14143–14157, 2022. Doi: 10.1007/s11356-021-16733-x.
- YU, X. *et al.* Fungemia caused by *Penicillium marneffeii* in an immunocompetent patient with copd. **Medicine (Baltimore)**, v. 97, n. 3, e9658, 2018. Doi: 10.1097/MD.0000000000009658.

ZHANG, Q. *et al.* Diseases of *Cymbopogon citratus* (Poaceae) in China: *Curvularia nanningensis* sp. nov. **MycoKeys**, v. 63, p. 49–67, 2020. Doi: 10.3897/mycokeys.63.49264.

ZHANG, J., TAO, A. **Antigenicity, Immunogenicity, Allergenicity**. In: Tao, A., Raz, E. (eds) Allergy Bioinformatics. Translational Bioinformatics, v. 8, p. 175, 2015. Springer, Dordrecht. Doi: 10.1007/978-94-017-7444-4_11.

ZHENG, R. Y.; LIU, X. Y.; LI, R. Y. More *Rhizomucor* causing human mucormycosis from China: *R. chlamydosporus* sp. nov. **Sydowia**, v. 61, p. 135–137, 2009. Disponível em: https://www.researchgate.net/profile/Xiao-Yong-Liu-2/publication/287884414_More_Rhizomucor_causing_human_mucormycosis_from_China_R_chlamydosporus_sp_nov/links/5c7c673f299bf1268d364d55/More-Rhizomucor-causing-human-mucormycosis-from-China-R-chlamydosporus-sp-nov.pdf. Acesso em: 20 nov 2022.

ZHU, J. *et al.* Antifungal sesquiterpenes with post-harvest anthracnose control effect on bananas from the fungus *Fusarium lateritium*. **Nat Prod Res.**, v. 36, n. 5, p. 1245–1252, 2021. Doi: 10.1080/14786419.2021.1872569.

ZORAN, T. *et al.* Azole-Resistance in *Aspergillus terreus* and Related Species: An Emerging Problem or a Rare Phenomenon? **Microbiol Frontal**, v. 9 (Article 516), p. 1-9, 2018. Doi: 10.3389/fmicb.2018.00516.

ZUREIK, M. *et al.* Sensitisation to airborne moulds and severity of asthma: cross sectional study from European Community respiratory health survey. **BMJ**, v. 325, n. 411, p. 1-7, 2002. Doi: 10.1136/bmj.325.7361.411.

APÊNDICE A - First report of *Penicillium costaricense* Visagie, M. Urb & Seifert (Eurotiales, Ascomycota) in South America and a second report for the world

First report of *Penicillium costaricense* Visagie, M. Urb & Seifert (Eurotiales, Ascomycota) in South America and a second report for the world

Laureana de Vasconcelos Sobral, Diogo Xavier Lima, Joenny Maria da Silveira de Lima, Renan do Nascimento Barbosa, Roberta Cruz, Cristina Maria de Souza-Motta

Programa de Pós-Graduação em Biologia de Fungos, Departamento de Microbiologia, Universidade Federal de Pernambuco, Av. Prof. Moraes Rego, 1235, Cidade Universitária, 50670-900, Recife, PE, Brazil

Corresponding author: Diogo Xavier Lima, diogo_xavier00@hotmail.com

Abstract

Penicillium Link is a cosmopolitan group of fungi able to colonize various substrates and habitats. Like other fungi, atmospheric air is one of the most common ways for dispersion. *Penicillium* species in indoor hospital air are an important risk for patients whom may develop infections. We isolated *Penicillium costaricense* Visagie, M. Urb & Seifert in air samples from a surgery center in a public hospital in Brazil. The isolate was identified by morphology together with the β -tubulin and calmodulin molecular markers. The only published data on the occurrence of this species is from the infestation of the caterpillar of *Rothia hufschultzei* (Guérin-Méneville, 1868) in Costa Rica. This report is a warning call to understand the pathogenicity of this species. To the best of our knowledge, this is the first report of *P. costaricense* in South American and only the second report in the world.

Keywords

Airborne fungi, Eurotiomycetes, indoor fungi, taxonomy

Academic editor: Egoz Faguer Ribeiro Melo | Received 15 June 2020 | Accepted 5 November 2020

Citation: Sobral LV, Lima DX, Lima JMS, Barbosa RN, Cruz R, Souza-Motta CM (2020) First report of *Penicillium costaricense* Visagie, M. Urb & Seifert (Eurotiales, Ascomycota) in South America and a second report for the world. Check List 16 (2): 1457–1462. <https://doi.org/10.15560/16.2.1457>

Introduction

Penicillium Link is a generalist and cosmopolitan group of fungi which belongs to Ascomycetes and classified in the order Eurotiales, family Aspergillaceae (Visagie et al. 2020). Visagie et al. (2014) accepted 354 species, yet this number is rapidly increasing with the description of new species from several substrates and habitats (e.g. Houbbraken et al. 2016a; Barbosa et al. 2018; Diao et al. 2018; George et al. 2019; Gonçalves et al. 2019; Visagie et al. 2020). Species of *Penicillium* are commonly found in

soil, decaying organic materials, animal feed, and stored grains, as well as indoors (Cruz et al. 2013; Barbosa et al. 2016, 2018; Houbbraken et al. 2016b; Yadav et al. 2018).

The typical morphological feature of *Penicillium* species is their dense, brush-like, spore-bearing structures called penicilli. The conidiophores are simple or branched and are terminated by clusters of flask-shaped phialides. The asexual spores (conidia) are produced in chains from the tips of the phialides, with the youngest spore at the base of the chain, and are nearly always green (Raper and Thom 1949; Oriani and Brady 1987;

Pitt 1991). Even though the taxonomic structure of the genus *Penicillium* is well defined, the identification of species based only on morphology is still problematic (Visagie et al. 2014). Thus, multigene phylogenetics using β -tubulin (*BstA*) and calmodulin (*CaM*) is recommended to confirm species identification.

In order to present a natural classification, species of these genera are grouped in several sections based on morphology and phylogeny (Houbraken et al. 2020). The *Penicillium* section *Charletia* Houbraken & Samson comprises rather rare species which exhibit monoverticillate or biverticillate conidophores (Visagie et al. 2016). Currently, Houbraken et al. (2020) accepted nine species in this section: *P. charletii* G. Sacc., *P. chermisium* Bioterge, *P. coffiae* S.W. Peterson, F.E. Vega, Posada & Nagai, *P. costaricensis* Visagie, M. Ueb & Seifert, *P. caudlyae* Visagie & L.H. Rang, *P. felicitatum* Bioterge, *P. miricum* D.K. Sandhu & R.S. Sandhu, *P. lanuae* Visagie & Yilmaz, and *P. phoeniceum* J.F.H. Beyma. Some of these species, such as *P. chermisium*, *P. felicitatum*, and *P. phoeniceum*, were mainly reported as anemophilous in indoor hospital environments (Sarica et al. 2002; Okten and Asan 2012; Demirel et al. 2017; Cho et al. 2008).

Like other fungi, atmospheric air is one of the most common ways for *Penicillium* spores dispersion (Nascimento et al. 2019). Generally, these fungi are able to colonize various substrates (Lima et al. 2009) and are the main contaminants of indoor and artificially heated environments

(Oliveira et al. 2020). Fungal spores can impact human health by simple allergic reactions or by spread of infections in immunocompromised individuals (Calumby et al. 2009; Souza et al. 2019). Thus, airborne fungi in indoor hospital environments are an important risk factor mainly for patients with immune system impairment, for whom the risk of developing infections caused by spores or fungal fragments present in the air increases substantially (Li et al. 2007; Nascimento et al. 2019).

During a study about the occurrence of anemophilous fungi in indoor hospital environments, one strain of *P. costaricensis*, which belongs to the section *Charletia*, was isolated. This species was described in 2016 from a single isolate obtained in 2001 from the intestines of *Rattus norvegicus* (Gairin-Mèneville, 1868) feeding on *Spondias mombin* L. Seventeen years after the first isolation, this species is being reported for a second time in the world, however, now from the air of a surgery center in a public hospital in Caruaru, Pernambuco, Brazil. Using morphological and molecular analyses, we highlight the occurrence of this species for the first time in South America and the second time in the world.

Methods

Isolation and purification. Air samples from a surgery center in a public hospital in Caruaru, Pernambuco, Brazil (Fig. 1) were collected in August, October, and



Figure 1. The location in South America (Caruaru, Pernambuco, Brazil; 08°18'27"S, 62°58'05"W) where *Penicillium costaricensis* URM 6341 was found.

December 2018. For this purpose, the technique of passive sedimentation was used (Abbas et al. 2020). Sabouraud dextrose agar with chloramphenicol (100 mg/L) (SDA), contained in Petri dishes, was used as the medium for isolation. Three plates were opened at 1m distance off the floor at different locations in the environment for 30 minutes for the deposition of the microorganisms. In the laboratory, the plates were kept at room temperature (TA 28 °C ± 2 °C) for 30 days. All colonies grown on the dishes were transferred to tube slants with malt agar media until identification.

Morphology. Morphological analysis was performed according to the recommendations of Barbosa et al. (2008). In summary, the strain was three-point inoculated in 9-cm plastic Petri dishes using a dense conidial suspension in Czapek yeast extract agar (CYA), malt extract agar (MEA), and supplemented yeast extract agar (YES). All media were prepared according to Samson et al. (2000). For determination of cultural characteristics (growth rate, texture of colony, pigmentation, and exudates) plates were incubated in the dark at 25 °C for 7 days. Microscopic observations of the asexual stage were made from colonies grown on MEA. Lactic acid (60%) was used as a mounting fluid, and 96% ethanol was used to remove excess conidia. The cultural characteristics and microscopic observations were compared with previous descriptions by Visagie et al. (2016). Following the recommendations of Barbosa et al. (2020), the isolate was subsequently deposited in the Micoteca URM culture collection (Federal University of Pernambuco, Recife, Brazil).

DNA sequence analysis. Genomic DNA extractions were made from 7-day-old colonies grown on MEA using the Wizard® Genomic DNA Purification Kit (Promega, Madison, WI). Polymerase chain reaction (PCR) amplifications of the *BenA* and *CaM* gene regions were performed using primers and conditions indicated by Visagie et al. (2014). The PCR products were sequenced in both directions with the same primers using the Big-Dye® Terminator v. 3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems Life Technologies, Carlsbad, CA, USA) and purified with NucleoSAP® (Exonuclease and Alkaline Phosphatase Mix), according to the manufacturer's recommendations. Contigs were assembled in the SeqMan (v. 10.0.1; Madison, WI, USA) program. Newly generated sequences were submitted to GenBank.

Phylogenetic analyses. The gene sequences generated were analyzed in the BLAST search and phylogenies were calculated for the section *Charlesia* with a reference sequence dataset from Visagie et al. (2016). The sequences were aligned using MAFFT v. 7 (Katoh and Standley 2013) with the G-INS-I algorithm and manually optimized using MEGA v. 6.06 (Tamura et al. 2013). Individual alignments were concatenated by using Mesquite v. 3.04 (Maddison and Maddison 2016). The most suitable substitution model was determined using jModelTest v. 2.1.7 (Posada 2008). Datasets were subsequently

analyzed using a maximum likelihood (ML) analysis performed using RAxML v. 7.2.8 HPC BlackBox with the GTRGAMMA model for nucleotide substitution at the CIPRES science gateway (<http://www.phylo.org/>) (Miller et al. 2010). A Bayesian tree inference (BI) was performed in MrBayes v. 3.2.2 (Ronquist et al. 2012). In the BI analyses, every 1,000 generations were sampled and the first 25% of the samples were discarded. Trees were visualized in FigTree v. 1.1.2 (Rambaut 2009) and edited in Adobe Illustrator v. 5.1. BI posterior probability (pp), and bootstrap (bs) values are labelled at the nodes. Values less than 0.95 pp and 70% bootstrap support are not shown. Branches with full support in Bayesian and RAxML analyses are thickened.

Results

Penicillium costaricense Visagie, M. Urb & Seifert, *Persoonia* 36: 263. (Visagie et al. 2016)

Figure 2A–H

Identification. Colony morphology in CYA culture medium (1.9 cm in diameter after 7 days at 25 °C): low plane of radial sulcate, low margin, texture velutinous; dense sporulation, gray-burquoise to opaque green conidia on the surface (MP 114C) (Maere and Paul 1950); soluble pigments absent; exudates absent; sclerotia absent; reverse yellow (MP 114D) and MEA (2.5 cm in diameter after 7 days at 25 °C): radially low sulcate plane, low margin, texture velutinous; sparse sporulation, opaque green conidia on the surface (MP 114C); absence of soluble pigments; exudates absent; sclerotia absent; reverse yellow (MP 114D). Microscopy: conidiophores monoverrucillate 30–260 × 2–3 µm, stem smooth. Vesicles formed terminally on conidiophores, 2.4–4 µm long. Phialides ampulliform, 30–20 per stipe, 7.5–12 × 2–3.5 µm. Conidia subglobose, 2.5–3 × 2–3 µm, smooth-walled.

Our phylogenetic analyses of *P. costaricense* and related species were prepared for the *BenA* and *CaM* genes, as well as a concatenation of both. Results showed, with high support values, that the sequence from *P. costaricense* URM 8341 is placed in the same clade as the sequence of *P. costaricense* DAOMC250520 (Fig. 3). The BLASTn analysis of the *BenA* and *CaM* gene sequences showed 99.75% and 98.26% identity, respectively, between URM 8341 and the holotype.

Material examined. BRAZIL • Pernambuco, Caruaru; 08°18'27"S, 035°58'05"W; 27 Mar. 2020; Lazarena de Vasconcelos Sobral URM 8341; habitus as anemophile; GenBank accession no. *BenA*: LR796905; *CaM*: LR794231.

Distribution. Brazil and Costa Rica.

Discussion

Although *Penicillium costaricense* was first found inside the intestine of a caterpillar of *Rothschalkia lobana* in Costa Rica (Visagie et al. 2016), a specimen of the same

1460

Check List 16 (8)

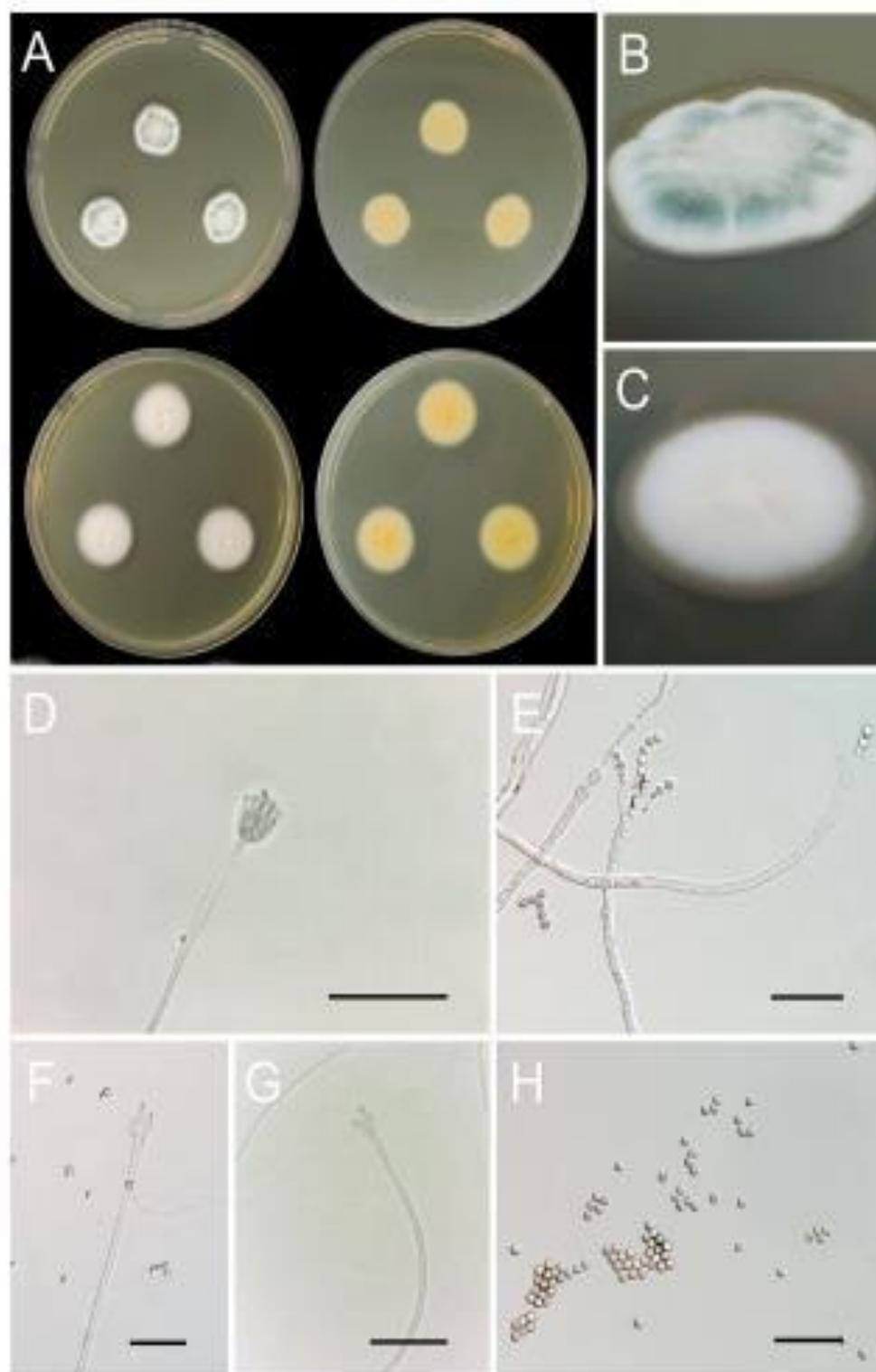


Figure 2. *Penicillium costaricense* URM 3341. **A.** Colonies in the top row grown on CYA, and reverse (from left to right), in the bottom row grown on MEA, and reverse (from left to right). **B.** Colony texture on CYA. **C.** Colony texture on MEA. **D, E, F, G.** Conidiophores. **H.** Conidia. Scale bars: E, G, H = 30 µm; D = 50 µm; F = 30 µm.

Tecnologia do Estado de Pernambuco – FACEPE, process APQ-0350-2.12/19) and “Abordagem polifásica para o estudo da diversidade fúngica do Brasil” (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES, process 88887.311891/2018-00). We thank FACEPE and the Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico-CNPq for the scholarships awarded to Diogo Xavier Lima and Cristina Maria de Souza-Motta, respectively, and CAPES for the scholarships awarded to Laureana de Vasconcelos Sobral, Joerney Maria da Silveira de Lima, and to Renan do Nascimento Barbosa.

Authors' Contributions

CMSM, RC, and LVS prepared the project and supervised the experiment; LVS and JMLS collected the material and executed DNA sequence analysis; LVS and DXL wrote the text; DXL and RC identified the species; RNB made the phylogenetic trees; CMSM, RC, DXL, RNB, and JMLS revised the text.

References

Ahmed F, Samad MR, Moneschehri Z, Jafar M, Yazdani E (2020) The effect of incubation temperature and growth media on indoor microbial fungi of indoor air in a hospital building in Shiraz, Iran. *Journal of Building Engineering* 31 (19): 31045–31045. <https://doi.org/10.1016/j.jobe.2020.101294>

Barbosa RN, Bezerra JDF, Costa PMO, Lima Junior NC, Góes IRGAS, Santos Junior AA, Fernandes MS, Souza-Motta CM, Oliveira NT (2020) *Aspergillus* and *Penicillium* (Eurotiales: Trichosporales) in soils of the Brazilian tropical dry forest: diversity in an area of environmental preservation. *Revista de Biologia Tropical* 64 (1): 45–52. <https://doi.org/10.15177/rbt.v64.n1.18223>

Barbosa RN, Bezerra JDF, Souza-Motta CM, Fritvad JC, Samson RA, Oliveira NT, Houbekhan J (2018) New *Penicillium* and *Talaromyces* species from honey, pollen and seeds of *Strigium* bees. *Antonie Van Leeuwenhoek* 113 (30): 1983–1992. <https://doi.org/10.1007/s10482-018-1081-4>

Barbosa RN, Bezerra JDF, Santos ACS, Melo RFR, Houbekhan J, Oliveira NT, Souza-Motta CM (2020) Brazilian tropical dry forest (Caatinga) in the spotlight: an overview of species of *Aspergillus*, *Penicillium* and *Talaromyces* (Eurotiales) and the description of *P. tucanoabrythos* sp. nov. *Acta Botanica Brasiliensia* 34 (2): 409–429. <https://doi.org/10.1590/0002-3198201904060411>

Cabraly R, Silva JA, Silva DP, Moraes RT, Araújo MAS, Almeida LM, Grillo LAM, Alvares V (2019) Isolamento e identificação da microbiota fúngica associada em Unidades de Terapia Intensiva. *Brazilian Journal of Development* 5 (10): 19708–19722. <https://doi.org/10.34073/bjdv5i10-186>

Choi SY, Myong JP, Kim W-B, Park C, Lee SJ, Lee SH, Lee DG (2018) Profiles of environmental mold: indoor and outdoor air sampling in a hematology hospital in Seoul, South Korea. *International Journal of Environmental Research and Public Health* 15 (11): 2568. <https://doi.org/10.3390/ijerph15112568>

Cruz R, Santos C, Lima BS, Moreira KA, Souza-Motta CM (2013) Diversity of *Penicillium* in soil of Caatinga and Atlantic Forest areas of Pernambuco, Brazil: an ecological approach. *Nova Hedwigia* 97 (3–4): 540–556. <https://doi.org/10.1127/0029-5035/2013/0127>

Denzel R, Sosa R, Kádaićlar D, Yohas A, Oliveira S, Orkalo E, Bortolan D, Samson RA, Urtasun AB, Vilanova N, Gouyon AD, Apolodra H, Asari A, Kivimäki M, Ordoñez S, Sukarapriya E (2017) Indoor air-

borne fungal pollution in newborn units in Turkey. *Environmental Monitoring and Assessment* 189 (7): 362. <https://doi.org/10.1007/s10661-017-6051-y>

Diao Y-Z, Chen Q, Jiang X-Z, Houbekhan J, Barbosa RN, Cai L, Wu W-P (2018) *Penicillium* section *Laevata-divaricata* from acidic soil. *Cladonia* 35: 514–548. <https://doi.org/10.1111/clad.12365>

Georgi TK, Houbekhan J, Mathew L, Jaku MS (2019) *Penicillium* *terreum*, a new species from Wilkanie monoflora (L.) Dunal. *Mycology* 10 (1): 49–60. <https://doi.org/10.1002/2150203.2018.1555868>

Gonçalves MFM, Santos L, Silva RMV, Alves AC, Vicente TTL, Freitas AC, Alves A (2019) Biodiversity of *Penicillium* species from marine environments in Portugal and description of *Penicillium lusitanum* sp. nov., a novel species isolated from sea water. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 69 (10): 3014–3023. <https://doi.org/10.1099/ijsem.000053>

Houbekhan J, Wang L, Liu HB, Fritvad JC (2016a) New sections in *Penicillium* containing novel species producing penalis, pyrrolysine or other bioactive compounds. *Pezizomiza* 36: 298–314. <https://doi.org/10.3767/00151516X090040>

Houbekhan J, Samson RA, Vilanova N (2016b) Taxonomy of *Aspergillus*, *Penicillium* and *Talaromyces* and its significance for biotechnology. In: de Vries RP, Gábori IB, Adriaens MR (eds). *Aspergillus and Penicillium in the post-genomic era*. Center Academic Press, Norwich, 1–16. <https://doi.org/10.21775/978190490095.01>

Houbekhan J, Kocubal S, Vossler CM, Vilanova N, Wang NC, Muijzer M, Kraak R, Hubka V, Bensch K, Samson RA, Fritvad JC (2020) Classification of *Aspergillus*, *Penicillium*, *Talaromyces* and related genera (Eurotiales): an overview of families, genera, subgenera, sections, series and species. *Studies in Mycology* 95: 5–169. <https://doi.org/10.1016/j.stmyc.2020.05.002>

Kanoh K, Standley DM (2013) MAFFT multiple sequence alignment software version 7: improvement in performance and stability. *Molecular Biology and Evolution* 30: 772–780. <https://doi.org/10.1093/molbev/mst010>

Li Y, Leung GM, Tang JW, Yang X, Chao CYH, Liu JZ, Lu JW, Nickson PV, Niu J, Qian H, Tamu AC, Su HJ, Sader J, Wong TW, Yuan W (2007) Role of ventilation in airborne transmission of infectious agents in the built environment—a multidisciplinary systematic review. *Indoor Air* 17 (1): 2–28. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/j.1600-0668.2006.00445.x>

Lima MLF, Lima JS, Silva MT (2019) Fungos amóebios: avaliação da microbiota de ar em ambientes internos e externos. *Ecologia* 20 (1): 88–95.

Maurer AJ, Paul MR (1958) *A dictionary of color*. 2nd edition. McGraw-Hill, New York, 208pp.

Maddison WP, Maddison DR (2016) Mesquite: a modular system for evolutionary analysis, version 3.11. <http://mesquiteproject.org>. Accessed on: 2020-7-28.

Miller MA, Pfeiffer W, Schwartz T (2010) Creating the CIPRES Science Gateway for inference of large phylogenetic trees. In: IEEE Gateway Computing Environments Workshop (GCE), New Orleans, LA, 1–8. <https://doi.org/10.1109/GCE.2010.5676129>

Nascimento JPM, López AMQ, Araújo MA, Araújo LA, Silva Filho EA (2019) Airborne fungi in indoor hospital environments. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences* 8 (1): 2746–2772. <https://doi.org/10.20546/ijcm.2019.801.291>

Ökten S, Asan A (2012) Airborne fungi and bacteria in indoor and outdoor environment of the pediatric unit of Suluca Government Hospital. *Environmental Monitoring and Assessment* 184 (3): 1759–1751. <https://doi.org/10.1007/s10661-011-2075-z>

Oliveira MT, Brito NKR, Góes IR, Silva MRR, Costa CR, Bora MTE, Torres IVS (2020) Risk associated with pathogenic fungi isolated from surgical centers, intensive care units, and neonatal ventilation center in hospitals. Risk associated with pathogenic fungi isolated from critical hospital areas. *Medical Mycology* 58 (7): 881–886. <https://doi.org/10.1093/mmy/kzab04>

Ottens ABB, Brady BL (1997) Taxonomy of *Penicillium* and *Asper-*

- monium. In: Peckoly JF (Ed.) *Penicillium and Aspergillus*. Biotechnology Handbook 1. Springer, Boston, MA, 1-35. https://doi.org/10.1007/978-1-4899-1986-1_1
- Penon SW, Vega FE, Pineda F, Nagai C (2005) *Penicillium copifera*, a new endophytic species isolated from a coffee plant and its phylogenetic relationship to *P. fallaximum*, *P. citrinum* and *P. brevis* based on parsimony analysis of multilocus DNA sequences. *Mycologia* 97 (3): 659-666. <https://doi.org/10.1052/mycol.2005.97.3.659>
- Pitt JI (1980) A laboratory guide to common *Penicillium* species. Commonwealth Scientific and Industrial Research Organization - Division of Food Processing, North Ryde, Sydney, 397 pp.
- Posada D (2008) jModelTest: phylogenetic model averaging. *Molecular Biology and Evolution* 25 (7): 1253-1256. <https://doi.org/10.1093/molbev/evn033>
- Rambaut A (2009) FigTree v1.1.1. Computer program and documentation distributed by the author. <http://tree.bio.ed.ac.uk/software/>. Accessed on: 2020-1-28.
- Raper KB, Thom C (1949) *A manual of the Penicillia*. Beckman, Williams and Wilkins, London, 996 pp.
- Requena F, Tachino M, van der Meek B, Aguin ER, Darling A, Holmes S, Lopez R, Lai L, Scharif MA, Hochrathock JP (2012) MrBayes 3.2: efficient Bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space. *Systematic Biology* 61: 539-542. <https://doi.org/10.1093/sysbio/syr029>
- Sancar S, Anis A, Okun MT, Tunc M (2002) Monitoring indoor airborne fungi and bacteria in the different areas of Trakya University Hospital, Edirne, Turkey. *Indoor and Built Environment* 11 (15): 285-292. <https://doi.org/10.1199/089966520201105285>
- Samson RA, Hoehrkorn J, Thams U, Friestad JC, Andersen B (2010) Food and indoor fungi. 2nd edition. CBS Laboratory manual series. *Centraalbureau voor Schimmingscultuur*, Utrecht, the Netherlands, 481 pp.
- Sandhu DK, Sandhu RS (1967) A new species of *Penicillium* isolated from spores. *Canadian Journal of Botany* 45 (8): 1271-1274. <https://doi.org/10.1139/b67-085>
- Santos AEP, Matsumoto IPM, Araújo MAS, Pedrosa KPS, Toledo HM, Pires LLS, Lima GBC, Barbosa RES, Silva Filho EA (2019) Airborne fungi in neonatal intensive care unit of a public hospital in Brazil. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences* 8 (12): 1210-1219. <https://doi.org/10.20546/ijcm.2019.812.149>
- Tamura K, Staicher G, Peterson D, Filipecki A, Kumar S (2013) MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 6.0. *Molecular Biology and Evolution* 30: 2725-2728. <https://doi.org/10.1093/molbev/mst197>
- Vicaglio CM, Hoshikawa I, Friestad JC, Hong SH, Klumpp CHW, Peterson G, Seifert KA, Vargas J, Yaguchi T, Samson RA (2014) Identification and nomenclature of the genus *Penicillium*. *Studies in Mycology* 76: 143-172. <https://doi.org/10.1007/s12028-014-09100>
- Vicaglio CM, Remond JB, Burgess KMN, Mollack DW, Clark D, Kerdh L, Urb M, Leticia-Suiza G, Anselmetti E, Samson RA, Seifert KA (2016) *Tilman*, new species of *Penicillium*. *Persoonia - Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi* 36 (1): 247-280. <https://doi.org/10.7707/0013818160691627>
- Vicaglio CM, Yilmaz N, Vandenbrouk E, Remond JB, Samson RA, Hoshikawa I, Anselmetti E, Seifert KA, Mollack D (2020) *Penicillium* diversity in Canadian hot areas, including a new species, *P. spoliatum*. *Fungal Systematics and Evolution* 5 (3): 1-16. <https://doi.org/10.3114/fse.2020.05.01>
- Yadav AN, Verma P, Kumar V, Sangwan P, Mishra S, Pajjan N, Gupta VK, Saxena AK (2020) Biodiversity of the genus *Penicillium* in different habitats. In: Gupta VK, Rodrigues-Couto S (Eds.) *New and future developments in microbial biotechnology and bioprocessing*. Elsevier, Amsterdam, 7-18. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-63291-3.00001-6>

APÊNDICE B - Peritonitis by *Paecilomyces formosus*: first case report and literature review

Journal of Medical Mycology 32 (2022) 101273



Contents lists available at ScienceDirect

Journal of Medical Mycology

journal homepage: www.elsevier.com/locate/mycmed



Peritonitis by *Paecilomyces formosus*: first case report and literature review



Eduardo Marques de Marques^{a,c}, Lucila Valente^b, Laureana Sobral^a, Renan Barbosa^a, Gisele Vajgel^b, Danielle Bezerra^b, Amanda Carvalhar^b, Cristina Souza Motta^a, Manoel Marques Evangelista de Oliveira^d, Reginaldo Gonçalves de Lima-Neto^{a,*}

^a Federal University of Pernambuco, Av. Moraes Rego, 1235, Cidade Universitária, Recife, PE, 50670-901, Brazil

^b Hospital das Clínicas of the Federal University of Pernambuco, HC-UFPE, Av. Prof. Moraes Rego, 1235, University City, Recife, PE, 50670-901, Brazil

^c EA 1155 IICI Med Parasitologie et Mycologie médicales UFR des Sciences Pharmaceutiques, Université de Nantes, Nantes, 44200, France

^d Instituto Oswaldo Cruz, FIOCRUZ, Av Brasil, 4365, Manguinhos, Rio de Janeiro, RJ, 21045-360, Brazil

ARTICLE INFO

Article history:

Received 28 September 2021

Revised 5 March 2022

Accepted 7 March 2022

Available online 8 March 2022

Key words:

Invasive fungal infection

Peritonitis

Hyalohyphomycosis

Dear Editor,

Paecilomyces formosus, a saprophytic fungus found in the forest soil and wood surfaces, belongs to a complex of at least three species (*Paecilomyces maximus*, *Paecilomyces formosus* and *Paecilomyces lecythidis*). These three species cannot be distinguished by microscopic examination and together they form the *P. maximus*-clade [1]. As opposed to other species of the genus *Paecilomyces*, the species belonging to the *P. maximus*-clade grow faster at 37°C than at 30°C, which makes them capable of causing human infections. Several *Paecilomyces* species have been reported to be human pathogens; for example, *P. variotii* has been associated with continuous ambulatory peritoneal dialysis (CAPD) [2,3]. However, case reports of *P. formosus* pathogenesis are scarce; moreover, the clinical course and response to antifungal therapy can vary or be unexpected. Here, we report a peritonitis case caused by *P. formosus* with elevated MICs to amphotericin B and triazoles, which was successfully treated with anidulafungin.

The patient was a 53-year-old man with end-stage chronic kidney disease who was undergoing peritoneal dialysis for three years. He was hospitalized presenting with abdominal pain and cloudy peritoneal fluid on January 23, 2021. He denied nausea, vomiting, fever, or other symptoms. The patient's past medical his-

tory included focal segmental glomerulosclerosis with preserved treatment for six years, preemptive kidney transplantation fourteen years ago, and arterial hypertension without hypertensive drugs during four months. His medication consisted of a combination of 1, 25- dihydroxycholecalciferol (0.75 µg thrice weekly) and levothyroxine (50 µg/day). The patient was admitted conscious, oriented, eupneic, pale (+/4+), hydrated, acyanotic, anicteric, and afebrile, with a white blood cell count of 8,900/mm³ (neutrophils 34.50%, eosinophils 8.20%, and monocytes 15.80%). Previous images of computed tomography and magnetic resonance suggested the presence of a BOSNIAK IV lesion in the pole of the right kidney (native kidney). He started a new follow-up study of intraperitoneal antibiotic therapy with vancomycin and amikacin, but two days later, the patient developed fever and persistent abdominal pain. Therefore, antimicrobial therapy was switched to intravenous vancomycin and meropenem. Liquid examination showed increased levels of lactic dehydrogenase.

Gram-positive cocci and filamentous fungi (hyphomycete) were isolated from the patient's peritoneal fluid and were cultured on Sabouraud dextrose agar. As fungal infection was suspected, an empirical therapy with anidulafungin was initiated while awaiting the fungi identification. Abdominal tomography showed increased mesenteric fat density (Fig. 1), which suggested inflammatory activity. Six days after admission (01/29/2021), the peritoneal drain was removed, and a new culture presented the same hyphomycete,

* Corresponding author.

E-mail address: reginaldo.limant@ufpe.br (R.G.d. Lima-Neto).



Fig 1. Abdominal tomography image showing increased density of the mesenteric fat and thickening of the diffuse mesenteric fat, indicated by the red arrows.

Table 1
Minimum inhibitory concentration (MIC) for *Paecilomyces formosus* against antifungal drugs, according to the CLSI protocol.

Antifungal	MIC
Amphotericin B	2 µg/ml
Ketoconazole	1 µg/ml
Fluconazole	≥64 µg/ml
Voriconazole	≥16 µg/ml
Itraconazole	0.25 µg/ml
Caspofungin	2 µg/ml
Micafungin	2µg/ml
Anidulafungin	0.25 µg/ml

probably a *Paecilomyces* sp. (Fig. 2), but no bacterial growth. Antifungal susceptibility testing was performed following the CLSI M38-A2 protocol, which revealed that the clinical isolate exhibited low minimum inhibitory concentration (MIC) against to itraconazole, ketoconazole, and anidulafungin. However, it showed elevated MIC against to amphotericin B, fluconazole, voriconazole, caspofungin, and micafungin (Table 1).

The clinical isolate was cultured on malt extract agar (MEA; Oxoid, Hampshire, UK) and potato dextrose agar (Oxoid, Hampshire, UK) and incubated at 28°C, for identification by a polyphasic approach, which combined morphological characterization and gene sequencing. DNA was extracted from seven days old cultures grown on MEA using the Promega DNA isolation kit (Wizard Genomic DNA Purification Kit) according to the manufacturer's instructions. *ITS*, *β-tubulin*, and *calmodulin* genes were amplified by polymerase chain reaction (PCR) as described by Barbosa et al [4]. The purified PCR products were sequenced and analyzed as Barbosa et al [5], using sequences from accepted species in Houbraken

et al [6]. The clinical isolate of *Paecilomyces* was stored in URM Culture collection under registration number URM 8388 and was grouped with *P. formosus* CBS 990.73 in a combined phylogram (1.00 pp, 100% bootstrap) with high statistical support (Fig. 3). We confirmed the species identification by comparing the phenotypic and physiological characteristics of the clinical isolate and *P. formosus* CBS 990.73. The sequences generated in this study were deposited in the GenBank database under the accession numbers *ITS* (MZ675361), *β-tubulin* (OU470156), and *calmodulin* (OU470155).

The patient presented good evolution during hospitalization without fever or other infectious signs, and dialysis was performed through a catheter in the right jugular vein, subsequently undergoing permcath implantation without complications on February 12, 2021. The patient completed anidulafungin for 21 days, and he was discharged from the hospital in good clinical condition on February 19th, 2021, with functioning permcath, and cardiac advice.

We analyzed all reported cases of this clinical picture and other reports of *P. formosus* infections by searching PubMed until August 2021. The existence of *P. formosus* as a human pathogen has been poorly described. We found only two cases of clinically significant infection due to *P. formosus* in immunocompromised hosts [7,8] and one report in an immunocompetent patient [9]. Therefore, this article is the first record of *P. formosus* in peritoneal fluid worldwide. As this fungus has excellent growth rate at human body temperature (37°C), it is an emerging opportunistic fungal pathogen. In fact, hyalohyphomycosis caused by *P. formosus* has rarely been reported; however, fungal infection in the body fluid present within the peritoneal cavity, between the parietal and visceral leaflets, can have serious consequences for the patient's health status. Pastor and Guarro [10] reported that 40% of patients with fungal infections in the peritoneal fluid died from complications. This type of infection is usually related to the manual handling of the dialysis

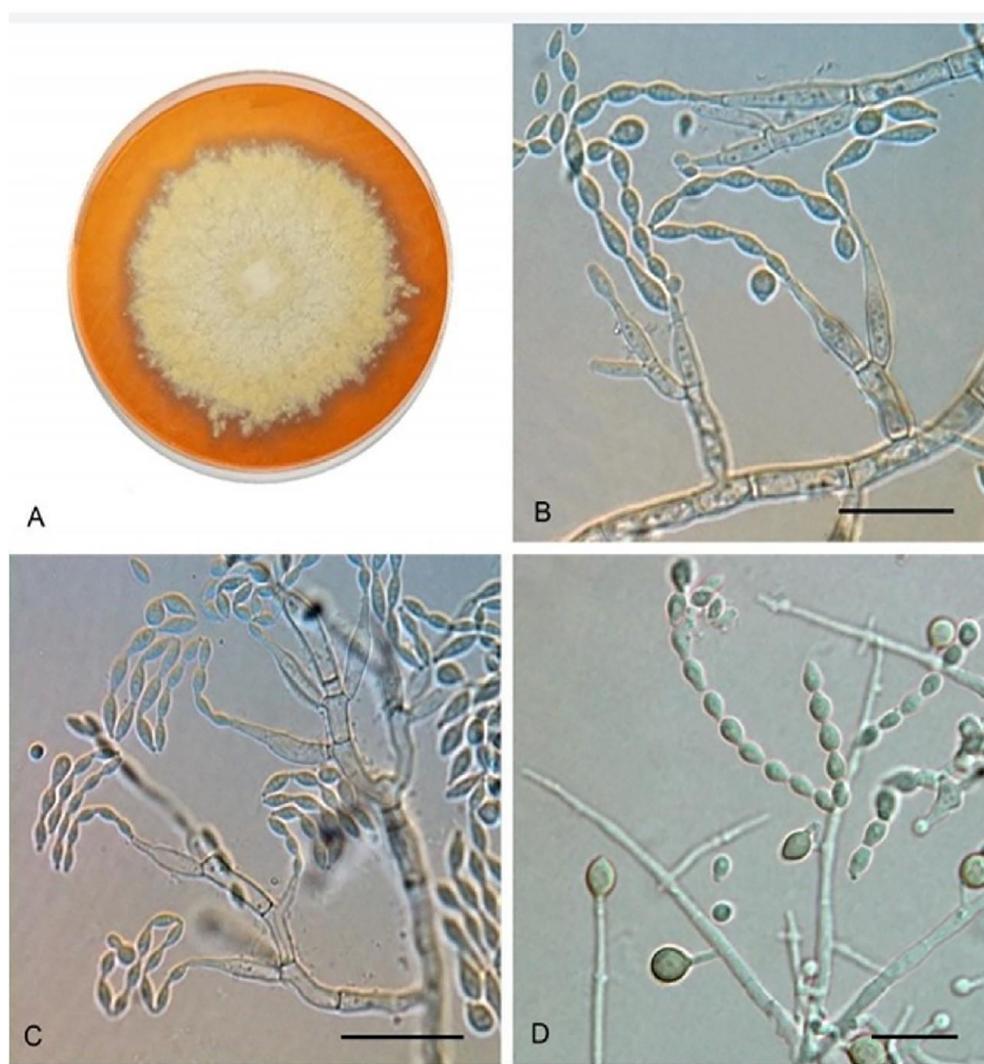


Fig 2. *Paecilomyces formosus*. A) Macromorphology on malt extract agar after seven days of growth, presenting a brownish-yellow colony; B-D) Conidiophores with irregular branches, with olive-brown conidia, smooth, globose walls, and weakly pigmented. Conidia are variable from ellipsoid to cylindrical, all with truncated ends. Lactophenol was used as a mounting fluid for microscopic examination. Scale bars = 10 µm.

catheter [11]; however, this does not appear to be the case of our patient. He lives nearby large areas dedicated to the monoculture of sugarcane (municipality of Palmares, Pernambuco, Brazil), which may be the origin of contamination because these types of fungi are commonly found in sugarcane.

Antifungal management was successful in eradicating the infection of our patient, although an ideal treatment has not yet been established [12]. Herein, fungal infection was solved with the empirical use of anidulafungin, which coincided with the low MIC that the clinical isolate presented to this drug. In three previously reported cases of fungal infections, the treatments used were liposomal amphotericin B and caspofungin for six weeks [7], intravenous micafungin and lanconazole ointment [8], and intravenous amphotericin B for two weeks followed by six weeks of oral posaconazole [9], all of which were successful. Nevertheless, the *Paecilomyces* clinical strain isolated from our patient showed high MIC values against caspofungin, micafungin, amphotericin B, and fluconazole. Some studies have reported variable MIC values for these drugs against *P. formosus* [7–9,13]. Since none of these

reports performed antifungal susceptibility testing against anidulafungin, there is the need for further studies to standardize the treatment of this fungal infection.

In conclusion, this is the first report of peritoneal hyalohyphomycosis caused by *P. formosus* and the first report of infection by this fungus in Brazil. From the data obtained in this study, we affirm that the therapeutic choice is fundamental for the resolution of this infection. Moreover, further studies are needed to describe the pathogenesis and susceptibility profile of the other species included in the *P. maximus*-clade.

Peritonitis by *Paecilomyces formosus*

First case report and literature review.

References

- [1] Samson RA, Houbraken J, Varga J, Frisvad JC. Polyphasic taxonomy of the heat resistant ascomycete genus *Byssosclamyces* and its *Paecilomyces* anamorphs. *Peritonia* 2009;22:14–27. doi:10.3767/003158509X418925.

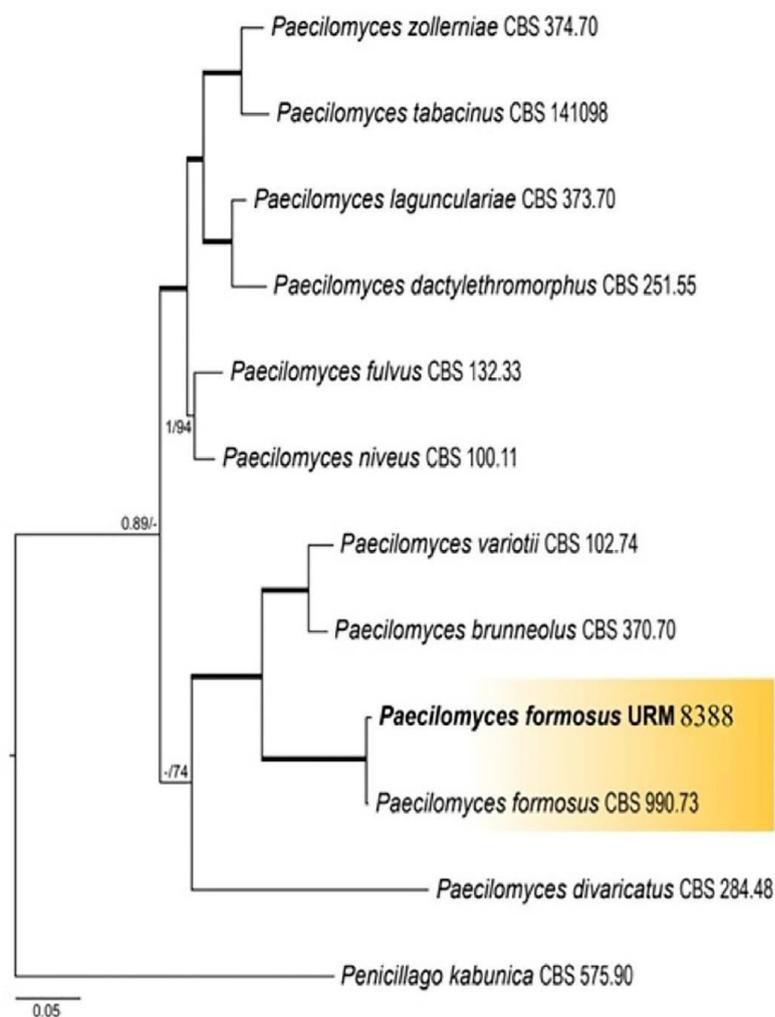
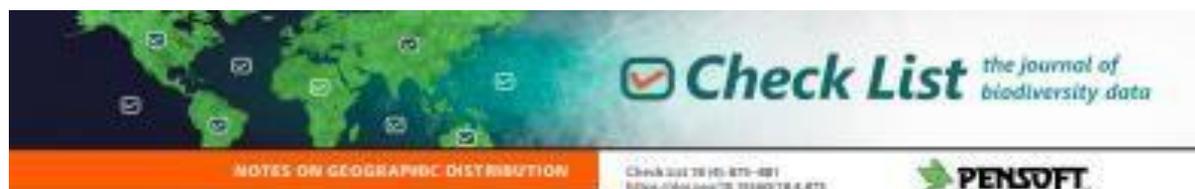


Fig 3. Combined phylogram that grouped the *P. formosus* URM 8388 clinical strain and *P. formosus* CBS 990.73 with high statistical support (1.00 pp, 100% bootstrap).

- [2] Nayak S, Satish R, Gokulnath Savio J, Rajalakshmi T. Peritoneal mucormycosis in a patient on CAPD. *Perit Dial Int* 2007;27(2):216–17. doi:10.1016/S0272-6386(89)80058-7.
- [3] Polo JR, Luño J, Menarguez C, Gallego E, Robles R, Hernandez P. Peritoneal mucormycosis in a patient receiving continuous ambulatory peritoneal dialysis. *Am J Kidney Dis* 1989;13(3):237–9. doi:10.1016/s0272-6386(89)80058-7.
- [4] Barbosa R, Leong S, Vinnere-Pettersson O, Chen A, Souza-Motta C, C Frisvad J, Samson R, Oliveira N, Houbraken J. Phylogenetic analysis of *Monascus* and new species from honey, pollen and nests of stingless bees. *Stud Mycol* 2017;86:29–51. doi:10.1016/j.simyco.2017.04.001.
- [5] Barbosa R, Bezerra J, Santos A, Melo R, Houbraken J, Oliveira N, Souza-Motta C. Brazilian tropical dry forest (Caatinga) in the spotlight: an overview of species of *Aspergillus*, *Penicillium* and *Talaromyces* (Eurotiales) and the description of *P. vascosobrinhus* sp. nov. *Acta Botanica Brasílica* 2020;34:409–29. doi:10.1590/0102-33062019abb0411.
- [6] Houbraken J, Kocsubé S, Visagie C, Yilmaz N, X Wang M, Meijer B, Kraak V, Hubka K, Bensch R, Samson J, Frisvad. Classification of *Aspergillus*, *Penicillium*, *Talaromyces* and related genera (Eurotiales): An overview of families, genera, subgenera, sections, series and species. *Stud Mycol* 2020;95:5–169 Published 2020 Jun 27. doi:10.1016/j.simyco.2020.05.002.
- [7] Heshmatnia J, Marjani M, Mahdavi SA, Adimi P, Pourabdollah M, Tabarsi P, Mahdavi F, Jamaati H, Adcock IM, Garssen J, Velayati A, Mansouri D, Mortaz E. *Paecilomyces formosus* infection in an adult patient with undiagnosed chronic granulomatous disease. *J Clin Immunol* 2017;37(4):342–6. doi:10.1007/s10875-017-0395-5.
- [8] Kuboi T, Okazaki K, Inotani M, Sugino M, Sadamura T, Nakano A, Kobayashi S, Ota A, Nishimura K, Yaguchi T. A case of cutaneous *Paecilomyces formosus* infection in an extremely premature infant. *J Infect Chemother* 2016;22(5):339–41. doi:10.1016/j.jiac.2015.12.003.
- [9] Batarseh R, Shehata M, Becker M, Sigdel S, He P, Shweihat Y. *Paecilomyces* in an immune competent host. *IDCases* 2020;21:e00885 Published 2020 Jun 26. doi:10.1016/j.idcr.2020.e00885.
- [10] Pastor F, Guarro J. Clinical manifestations, treatment and outcome of *Paecilomyces lilacinus* infections. *Clin Microbiol Infect* 2006;12(10):948–60. doi:10.1111/j.1469-0691.2006.01481.x.
- [11] Nguyen M, Muder R. *Aspergillus* peritonitis in a continuous ambulatory peritoneal dialysis patient. Case report and review of the literature. *Diagn Microbiol Infect Dis* 1994;20(2):99–103. doi:10.1016/0732-8893(94)90099-x.
- [12] Zhang S, Zhang X, Li H, Wei Z, Cao J. Three cases of retained cuff related infection after manual pull removal of peritoneal dialysis catheter. *Ren Fail* 2021;43(1):58–61. doi:10.1080/0886022X.2020.1858872.
- [13] Aguilar C, Pujol I, Sala J, Guarro J. Antifungal susceptibilities of *Paecilomyces* species. *Antimicrob Agents Chemother* 1998;42(7):1601–4. doi:10.1128/AAC.42.7.1601.

APÊNDICE C - First of *Aspergillus hongkongensis* C. C. Tsang et al. (Eurotiales, Ascomycota) in South America and the third report worldwide



First record of *Aspergillus hongkongensis* C.C. Tsang et al. (Eurotiales, Ascomycota) in South America and the third report worldwide

Joenny Maria da Silveira de Lima^{1*}, Renan do Nascimento Barbosa¹, Laureana de Vasconcelos Sobral², Diogo Xavier Lima², Roberta Cruz², Cristina Maria de Souza-Motta³

¹ Department of Mycology, Federal University of Pernambuco, Recife, PE, Brazil • BMSL: jmsilv@ufpe.br • <https://orcid.org/0000-0002-6492-6818> • RNBR: renan.nsb@gmail.com • <https://orcid.org/0006-0002-2679-9157> • LVS: lauravascobed@gmail.com • <https://orcid.org/0000-0002-9978-2502> • DXL: diogo_xavier06@hotmail.com • <https://orcid.org/0000-0001-7951-0034> • CMSM: cristina.motta@ufpe.br • <https://orcid.org/0006-0002-0944-8271>

² Universidade de Niterói University Center, Paraitinga, PE, Brazil • RC: robertacruz@ufpe.br • <https://orcid.org/0000-0001-9710-7100>

* Corresponding author

Abstract

The genus *Aspergillus* P. Micheli is among the most abundant fungi worldwide. Numerous species belonging to this genus have been reported to contaminate food and cause infections. We isolated *Aspergillus hongkongensis* C.C. Tsang et al. from eggplant flour sold in Recife, Brazil. The isolate was identified using morphological and molecular analyses (beta-tubulin and calmodulin genes). This is the first record of *A. hongkongensis* in South America and the third report worldwide. Our study contributes to a better understanding of the phenotypic variations in this species, as well as the geographic distribution of *Aspergillus* species.

Keywords

Eggplant flour, food contaminants, *Nidulantes*, taxonomy

Academic editor: Roger Fagundes Ribeiro Melo | Received 15 March 2022 | Accepted 1 July 2022 | Published 11 August 2022

Citation: Lima JMS, Barbosa RN, Sobral LV, Lima DX, Cruz R, Souza-Motta CM (2022) First record of *Aspergillus hongkongensis* C.C. Tsang et al. (Eurotiales, Ascomycota) in South America and the third report worldwide. *Check List* 18(4): 875–881. <https://doi.org/10.15560/18.4.875>

Introduction

Aspergillus P. Micheli is a genus of cosmopolitan fungi belonging to the family Aspergillaceae and currently contains approximately 446 species (Houbraken et al. 2020). The constant emergence of new strains within this genus reveals its high biodiversity. Owing to their varied characteristics, the strains of this genus can grow on diverse substrates, occurring in nature as endophytes, saprophytes, parasites, food contaminants, and human

pathogens (Houbraken et al. 2004, 2020; Friisvad and Larsen 2015; Wang and Zhuang 2022).

According to Houbraken et al. (2020), *Aspergillus* is subdivided into six subgenera and 27 sections, among which the section *Nidulantes* currently contains seven series (series *Aurantiostraweri*, *Multicoloris*, *Nidulantes*, *Spelaeoc*, *Stellati*, *Unguicatus*, and *Ferrucoloratus*). This section includes species with varying characteristics; some

can cause superficial and systemic infections and produce mycotoxins, whereas others are air and food contaminants (Klich 2009; Hubka et al. 2012; Houben et al. 2014; Visagie et al. 2014b; Chen et al. 2015; Frievald and Larsen 2015; Tsang et al. 2016). When studying the cause of onychomycosis in human fingernails, Tsang et al. (2016) isolated and described *Aspergillus hongkongensis* C.C. Tsang et al. as a novel etiological agent of this mycosis. This species currently belongs to the series *Viridulores*, and it was also recently isolated from bat guano-contaminated soil samples from the Gwihaba Cave in the Okavango basin, Botswana (Visagie et al. 2021).

Flours are generally considered microbiologically safe owing to their low water activity that prevents the growth of microorganisms and ensures higher-quality products (Benghofer et al. 2003; Sospetta et al. 2016; Lócaris et al. 2020). Although there are few reported cases of food poisoning caused by contaminated flour, some microbiological studies conducted on different flour types have shown that the fungal community is diverse. Most of the identified species are the primary mycotoxin-producing contaminants belonging to the genera *Aspergillus* and *Penicillium* Link and possess a xerophilic character (Weidenböcker et al. 2000; Gashgari et al. 2010; Lima 2019; Sousa et al. 2021).

The different sources and processes from which fungal contamination can occur in flours include raw material harvesting, cleaning, flour manufacturing, packaging, transport, and storage. These conditions can be avoided if the raw material is stored in accordance with the recommended standards for food processing until the final product is sold (Sousa et al. 2004; Silva et al. 2017; Lima et al. 2020).

During a study on the microbiological and physicochemical composition of eggplant flour in Recife, Brazil, a strain of *A. hongkongensis* was isolated. This species was previously reported to cause onychomycosis in human nails in Hong Kong (Tsang et al. 2016). Here, we present a detailed description and illustration of *A. hongkongensis* and record the first occurrence of this species in South America and the third report worldwide.

Methods

Isolation and purification. Eggplant flour samples sold in bulk were obtained from a specialized store in the metropolitan region of Recife, Brazil, during September to November 2017. The samples were collected from three different batches and stored in sterile plastic bags. Each sample was analyzed within 24 h of acquisition. The fungi were isolated according to the method described by Alhadas et al. (2004). Samples were initially subjected to surface sterilization with 0.2% sodium hypochlorite solution for 2 min, rinsed thrice with sterile distilled water, and then the excess water was dried with sterile filter paper. The packages were opened under aseptic conditions, and the dilution technique was used for plating. Briefly, 25 g of each sample was removed,

and 225 mL of 0.1% peptone water (1:10) was added serially until 1:10000 dilution was reached. This mixture was then shaken, and 1 mL aliquots were spread on the surface of Petri dishes with dichloran rose bengal chloramphenicol base agar (DRBC), dichloran glycerol agar 18% (DG18), and malt salt agar (MSA) in triplicate (King et al. 1979; Hocking and Pitt 1980; Neves 2013). Plates were incubated for 10 days at 25 ± 1 °C. The obtained fungal colonies were purified and subcultured on potato dextrose agar (PDA) or malt extract (MEA) and incubated at 25 °C for 5–7 days for taxonomic characterization and identification.

Morphology. Morphological analyses were performed according to the recommendations of Barbosa et al. (2018). Briefly, each strain was inoculated at three time-points in 9-cm plastic Petri dishes using a dense suspension of conidia on Czapek yeast extract agar (CYA), malt extract agar (MEA), oatmeal agar (OA), Czapek agar (CZ), CYA supplemented with 5% NaCl (CVAS), creatine agar (CREA), and yeast extract sucrose agar (YES). All media were prepared as described by Samson et al. (2008). To determine the culture characteristics (growth rate, colony texture, pigmentation, and exudates), plates were incubated in the dark at 25 °C for seven days. The color names and alphanumeric codes were provided as described by Rayner (1970). Microscopic observations of colonies grown on MEA were performed. Cultural and microscopic features were compared to previous descriptions by Tsang et al. (2016). The isolate was deposited in the URM culture collection (Microbota URM Prof.ª Maria Auxiliadora Cavalcanti (WCDM 604) of the Federal University of Pernambuco (UFPE), Recife, Brazil (Barbosa et al. 2020).

DNA sequence analysis. Genomic DNA extraction was performed using the Wizard Genomic DNA Purification Kit (Promega) following the manufacturer's recommendations. The *BenA* (beta-tubulin) and *CaM* (calmodulin) regions were amplified using the primers and PCR conditions described by Visagie et al. (2004a). The PCR products were purified with exonuclease I and alkaline phosphatase enzymes contained in the Illustra ExoProbe 1-Step kit (GE Healthcare), according to the manufacturer's guidelines, and subsequently sent for sequencing with the same primers using the BigDye® Terminator v. 3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems Life Technologies, Carlsbad, CA, USA) on the Multisizer Sequencing and Gene Expression Platform of the Biological Sciences Center of UFPE.

Phylogenetic analyses. Nucleotide sequences were edited and assembled from both directions using the SeqMan program v. 10.0.1 and analyzed using the BLASTn program on the NCBI database platform. The sequence database of each strain was generated using sequences of type materials previously published and available from the NCBI. The sequences obtained in this study were aligned through the multiple alignments

can cause superficial and systemic infections and produce mycotoxins, whereas others are air and food contaminants (Klich 2009; Hubka et al. 2012; Houben et al. 2014; Visagie et al. 2014b; Chen et al. 2015; Frievad and Larsen 2015; Tsang et al. 2016). When studying the cause of onychomycosis in human fingernails, Tsang et al. (2006) isolated and described *Aspergillus hongkongensis* C.C. Tsang et al. as a novel etiological agent of this mycosis. This species currently belongs to the series *terrestriferes*, and it was also recently isolated from bat guano-contaminated soil samples from the Gcwihaba Cave in the Okavango basin, Botswana (Visagie et al. 2021).

Flours are generally considered microbiologically safe owing to their low water activity that prevents the growth of microorganisms and ensures higher-quality products (Berghofer et al. 2003; Soquetta et al. 2016; Liscaris et al. 2020). Although there are few reported cases of food poisoning caused by contaminated flour, some microbiological studies conducted on different flour types have shown that the fungal community is diverse. Most of the identified species are the primary mycotoxin-producing contaminants belonging to the genera *Aspergillus* and *Penicillium* Link and possess a xerophilic character (Weidenböcker et al. 2000; Gashgari et al. 2008; Lima 2009; Sousa et al. 2021).

The different sources and processes from which fungal contamination can occur in flours include raw material harvesting, cleaning, flour manufacturing, packaging, transport, and storage. These conditions can be avoided if the raw material is stored in accordance with the recommended standards for food processing until the final product is sold (Souza et al. 2004; Silva et al. 2007; Lima et al. 2020).

During a study on the microbiological and physicochemical composition of eggplant flour in Recife, Brazil, a strain of *A. hongkongensis* was isolated. This species was previously reported to cause onychomycosis in human nails in Hong Kong (Tsang et al. 2016). Here, we present a detailed description and illustration of *A. hongkongensis* and record the first occurrence of this species in South America and the third report worldwide.

Methods

Isolation and purification. Eggplant flour samples sold in bulk were obtained from a specialized store in the metropolitan region of Recife, Brazil, during September to November 2007. The samples were collected from three different batches and stored in sterile plastic bags. Each sample was analyzed within 24 h of acquisition. The fungi were isolated according to the method described by Albadan et al. (2004). Samples were initially subjected to surface sterilization with 0.2% sodium hypochlorite solution for 2 min, rinsed thrice with sterile distilled water, and then the excess water was dried with sterile filter paper. The packages were opened under aseptic conditions, and the dilution technique was used for plating. Briefly, 25 g of each sample was removed,

and 225 mL of 0.1% peptone water (1:10) was added serially until 1:1000 dilution was reached. This mixture was then shaken, and 1 mL aliquots were spread on the surface of Petri dishes with dichloran rose bengal chloramphenicol base agar (DRBC), dichloran glycerol agar 18% (DG18), and malt salt agar (MSA) in triplicate (King et al. 1979; Hocking and Pitt 1980; Neves 2013). Plates were incubated for 10 days at $25 \pm 1^\circ\text{C}$. The obtained fungal colonies were purified and subcultured on potato dextrose agar (PDA) or malt extract (MEA) and incubated at 25°C for 5–7 days for taxonomic characterization and identification.

Morphology. Morphological analyses were performed according to the recommendations of Barbosa et al. (2018). Briefly, each strain was inoculated at three time-points in 9-cm plastic Petri dishes using a dense suspension of conidia on Czapek yeast extract agar (CYA), malt extract agar (MEA), oatmeal agar (OA), Czapek agar (CZ), CYA supplemented with 5% NaCl (CYAS), creatine agar (CREA), and yeast extract sucrose agar (YES). All media were prepared as described by Samson et al. (2010). To determine the culture characteristics (growth rate, colony texture, pigmentation, and exudates), plates were incubated in the dark at 25°C for seven days. The color names and alphanumeric codes were provided as described by Rayner (1970). Microscopic observations of colonies grown on MEA were performed. Cultural and microscopic features were compared to previous descriptions by Tsang et al. (2016). The isolate was deposited in the URM culture collection (Microteca URM Prof. Maria Auxiliadora Cavalcanti (WCDM 604) of the Federal University of Pernambuco (UFPE), Recife, Brazil (Barbosa et al. 2020).

DNA sequence analysis. Genomic DNA extraction was performed using the Wizard Genomic DNA Purification Kit (Promega) following the manufacturer's recommendations. The *BenA* (beta-tubulin) and *CaM* (calmodulin) regions were amplified using the primers and PCR conditions described by Visagie et al. (2004a). The PCR products were purified with exonuclease I and alkaline phosphatase enzymes contained in the Illustra ExoProbe 1-Step kit (GE Healthcare), according to the manufacturer's guidelines, and subsequently sent for sequencing with the same primers using the BigDye® Terminator v. 3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems Life Technologies, Carlsbad, CA, USA) on the Multisizer Sequencing and Gene Expression Platform of the Biological Sciences Center of UFPE.

Phylogenetic analyses. Nucleotide sequences were edited and assembled from both directions using the SeqMan program v. 10.0.1 and analyzed using the BLASTn program on the NCBI database platform. The sequence database of each strain was generated using sequences of type materials previously published and available from the NCBI. The sequences obtained in this study were aligned through the multiple alignments

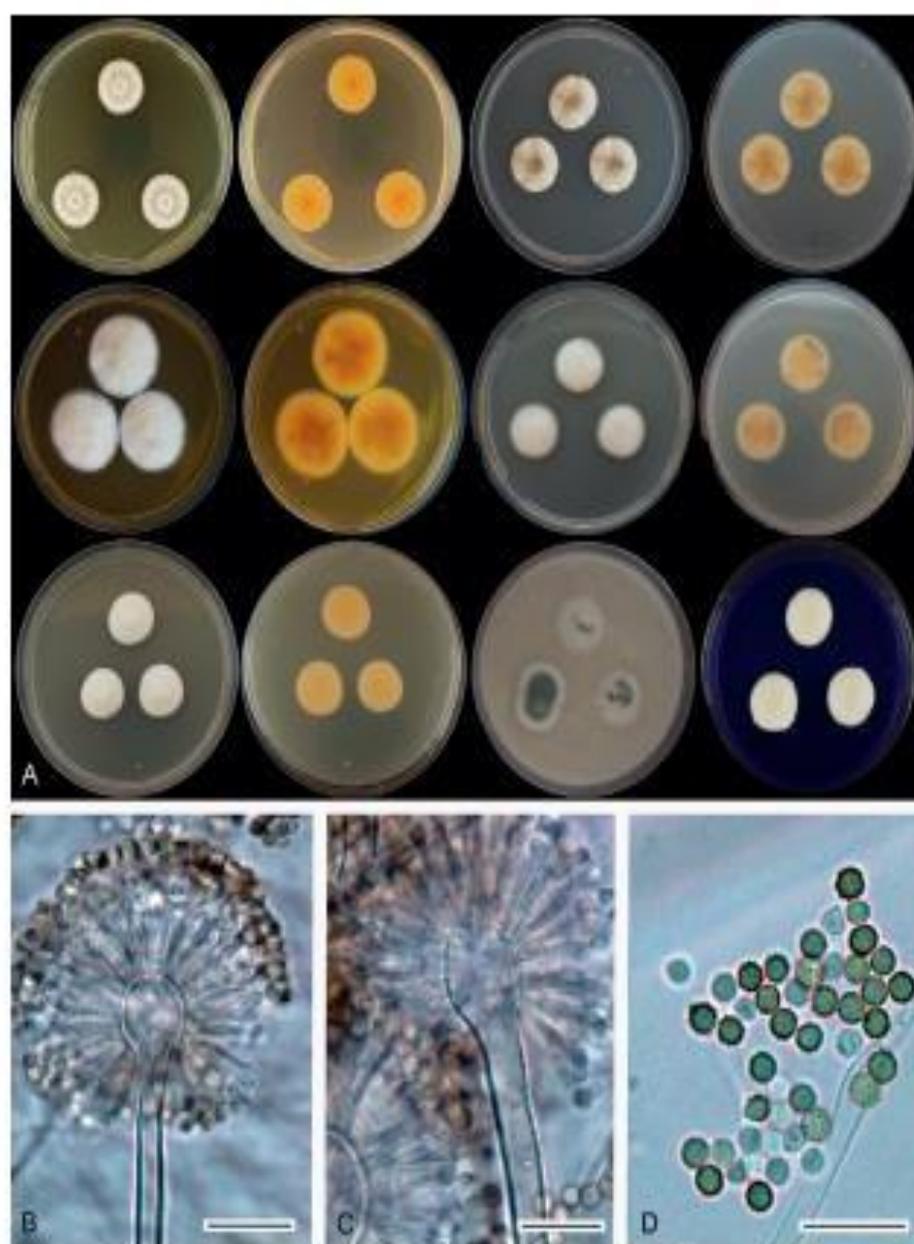


Figure 1. *Aspergillus hongkongensis* URM 8457. **A.** Colonies from left to right (top row) grown on MEA plate and its reverse, CZ plate and its reverse, YES plate and its reverse, CYA plate and its reverse, CYG plate and its reverse, GA, and CREA. **B, C.** Details of conidophores with vesicles and phialides. **D.** Conidia. Scale bars: B, C = 10 μ m; D = 50 μ m.

Sartory) Thom & Church has been found in samples of black pepper and cassava flour (Silva et al. 2012; Ekpakpale et al. 2021), and *A. versicolor* (Vuill.) Tirat. in samples of corn and wheat flours (Cabañas et al. 2008; Plavić et al. 2016; Mem et al. 2020). According to Chen et al. (2016), many *Aspergillus* species belonging to the section *Nidulantes* produce aflatoxins. This is the first recorded report of *A. hongkongensis* in food from Latin America and the third report worldwide. In our molecular

data, the new record clustered into a well-supported clade (1.00BL, 100%), with the type species being the only known strain to date. Morphologically, our lineage (URM 8457) was consistent with the original description (Tsang et al. 2016); however, some phenotypic variations were observed between the description of the ex-type lineage [HKU49 (T)] and our lineage (URM 8457). These variations include differences in growth rates at 25 °C on CYA (26 mm vs. 20 mm), MEA (22 mm vs. 20–25

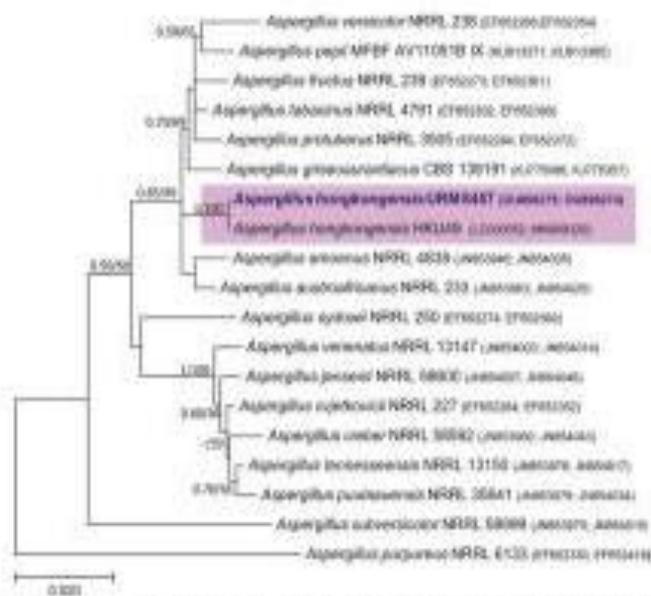


Figure 2. Phylogenetic tree of *Aspergillus* series *versicolor* of section *Nidulantes* and *Aspergillus hongkongensis* URM 845T, constructed using combined *BenA* and *Caf1* genes sequences. *Aspergillus papirus* NRRL 6133 was used as outgroup. The sequence obtained in this study is in bold. Bayesian inference (BI), posterior probabilities (pp) values, and bootstrap (B) values are labelled at the nodes. Values less than 0.50 pp and 50% bootstrap support are not shown.

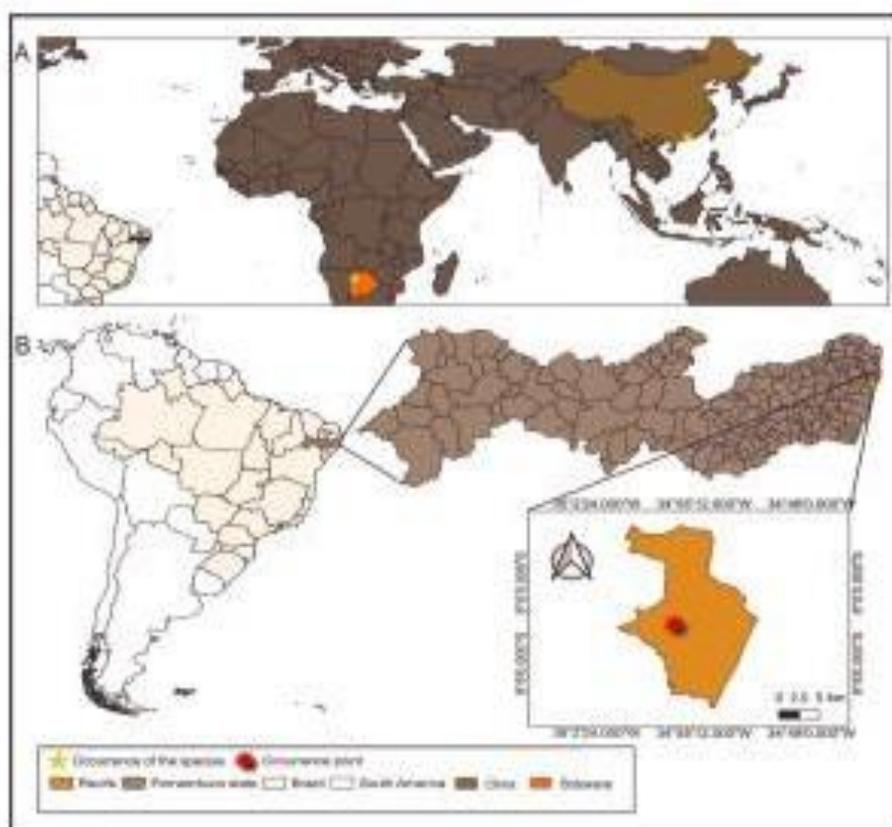


Figure 3. Map depicting the locations of occurrence (known and new record) of *Aspergillus hongkongensis*.

mm), and CZ (18 mm vs. 20–25 mm). In addition, some differences in colony color and the presence of soluble pigments in CZ culture were observed. *Aspergillus longkongensis* was first reported from clinical samples as the causative organism of onychomycosis (Tsang et al. 2016). Strains isolated from clinical samples typically have phenotypes that are different from those of environmental strains. Our record was obtained from food with low water activity, and more strains (from various substrates) are needed to show whether these differences are related to niche differentiation.

We report the first occurrence of *A. longkongensis* in South America, its first report in a food product, and the third recorded occurrence worldwide. Our report on this species isolated from eggplant flour sold in Recife-Pernambuco, Brazil, contributes to the knowledge of the geographic distribution of the Eurotalian fungi.

Acknowledgements

We are thankful for financial support from Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia de Pernambuco (Processo FACEPE/APQ 01432.12/15) and Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (Processo CNPq 312146/2014-0).

Authors' Contributions

Conceptualization: JMSL, RC. Data curation: JMSL. Formal analysis: RB, DXL. Funding acquisition: CMSM. Investigation: JMSL, RC. Methodology: JMSL, LVS. Resources: CMSM. Supervision: CMSM, RC, JMSL. Visualization: JMSL, RB. Project administration: CMSM, JMSL. Software: RB, DXL. Validation: JMSL, CMSM. Writing – original draft: JMSL, RNB, DXL. Writing – review and editing: JMSL, CMSM, RC, DXL, RNB, LVS.

References

Alhabaz RVA, Stuart RM, Beers MR, Pimental JC (2004) Contagem de bolores e leveduras em fubá e identificação de gêneros potencialmente patogênicos. *Vida Acadêmica* 5 (2): 79–82. <https://doi.org/10.5180/vad.v5i2.549>

Barbosa RN, Bezerra JD, Souza-Motta CM, Fritvad JC, Samson RA, Oliveira NT, Hoshikawa J (2018) New *Penicillium* and *Talaromyces* species from honey, pollen and nests of stingless bees. *Antonie van Leeuwenhoek* 111 (10): 1883–1892. <https://doi.org/10.1007/s10482-018-1001-1>

Barbosa RN, Bezerra JD, Santos ACDS, Melo RFR, Hoshikawa J, Oliveira NT, Souza-Motta CMD (2020) Brazilian tropical dry forest (Caatinga) in the spotlight: an overview of species of *Aspergillus*, *Penicillium* and *Talaromyces* (Eurotiales) and the description of *P. canariobrevipes* sp. nov. *Acta Botanica Brasílica* 34: 409–428. <https://doi.org/10.1590/0102-7708201804011>

Burgelman LK, Hocking AD, Miskelly D, James S (2007) Microbiology of wheat and flour milling in Australia. *International Journal of Food Microbiology* 85:137–149. [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(07\)00707-4](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(07)00707-4)

Cabales R, Bragagnoli MR, Abreu ML, Castelli G, Cabales EI (2008) Occurrence of *Penicillium verrucosum* in retail wheat flours from

the Spanish market. *Food Microbiology* 25 (5): 642–647. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2008.04.001>

Chen AJ, Xao X, Hu Y, Lu X, Gao W (2015) Mycobacteria and mycomycetes in traditional medicinal woods from China. *Toxins* 7: 3053–3075. <https://doi.org/10.3390/toxins7103053>

Chen AJ, Fritvad JC, Sun HD, Varga J, Kocsubi S, Dijkman J, Kim DH, Hong S-B, Hoshikawa J, Samson RA (2006) *Aspergillus* section *Nidulantes* (formerly *Zemlinioides*) polyphasic taxonomy, chemistry and biology. *Studies in Mycology* 54: 1–118. <https://doi.org/10.1006/jmyco.2010.10.001>

Choudhary V, Habba V, Cerkovský P, Kozub M, Witzbergová B, Lyková P, Hoshikawa J, Šebek P (2018) *Protonix* in vitro pulmonary aspergilliosis in stem cell transplant recipient due to *Aspergillus nidulans*, a cryptic species of *A. nidulans*. *Mycopathologia* 181 (2): 423–429. <https://doi.org/10.1007/s11046-017-0223-8>

Ekpaka DO, Kraak R, Meijer M, Agwai KI, Hoshikawa J, Ezeikel CN (2021) Fungal diversity and aflatoxin in maize and rice grains and cassava-based flour (ngapar) from Ondo state, Nigeria. *Journal of Fungi* 7 (8): 635. <https://doi.org/10.3390/jf7080635>

Fritvad JC, Larsen TO (2015) Chemodiversity in the genus *Aspergillus*. *Applied Microbiology and Biotechnology* 99: 7859–7877. <https://doi.org/10.1007/s00253-015-6639-z>

Fritvad JC, Habba V, Ezeikel CN, Hong S-B, Nosiková A, Chen AJ, Acciaroli M, Larsen TO, Šebek P, Mahakachachandakul W, Samson RA, Hoshikawa J (2018) Taxonomy of *Aspergillus* section *Flavi* and their production of aflatoxins, ochratoxins and other mycotoxins. *Studies in Mycology* 80: 1–62. <https://doi.org/10.1006/jmyco.2018.06.001>

Gadgil RM, Shetty YM, Ghoshroy YA (2008) Molecular characterization of mycobacteria and aflatoxin contamination of retail wheat flours from Indian markets. *Foodborne Pathogens and Disease* 7: 1047–1054. <https://doi.org/10.1089/fpd.2008.0596>

Grice M, Kappasman M, Posa G, Pardo A (2015) Taxonomic characterization and secondary metabolite profiling of *Aspergillus* section *Aspergillus* contaminating foods and feedstuffs. *Toxins* 7: 3512–3517. <https://doi.org/10.3390/toxins7093512>

Hocking AD, Pitt JI (1988) Dichloroacetyl-glycine esterase for enumeration of xerophilic fungi from low-moisture foods. *Applied and Environmental Microbiology* 54 (3): 488–492. <https://doi.org/10.1128/aem.54.3.488-492.1988>

Hoshikawa J, de Vries RP, Samson RA (2014) Modern taxonomy of biotechnologically important *Aspergillus* and *Penicillium* species. *Advances in Applied Microbiology* 65:199–249. <https://doi.org/10.1016/S0197-0-12-000262-0-00004-4>

Hoshikawa J, Kocsubi S, Varga CM, Vilmar N, Wang XC, Meijer M, Kraak R, Habba V, Samson RA, Fritvad JC (2020) Classification of *Aspergillus*, *Penicillium*, *Talaromyces* and related genera (Eurotiales): an overview of families, genera, subgenera, sections, series and species. *Studies in Mycology* 96:141–157. <https://doi.org/10.1006/jmyco.2020.05.002>

Habba V, Kubáňová A, Molláková N, Šedláček P, Melicher J, Skerňáková M, Mešná E, Lyková P, Staněkova B, Chaděkova M, Hamal P, Kolarik M (2012) Rare and new ecological agents revealed among 178 clinical *Aspergillus* strains obtained from Czech patients and characterized by molecular sequencing. *Medical Mycology* 50: 605–610. <https://doi.org/10.1080/13697766.2012.667578>

Habba V, Nosiková A, Petruson WS, Fritvad JC, Šebek P, Menezes T, Kubáňová A, Kolarik M (2006) A reappraisal of *Aspergillus* section *Nidulantes* with descriptions of two new sterigmatocystin-producing species. *Plant Systematics and Evolution* 302 (9): 1267–1299. <https://doi.org/10.1007/s00606-006-1331-5>

Jarjević J, Petruson SW, Hovri BW (2012) *Aspergillus* section *Ferrugini*: nine new species and multilocus DNA sequence based phylogeny. *IMA Fungus* 3 (1): 59–76. <https://doi.org/10.5598/imafungus.2012.03.01.07>

Katoh K, Kuma KI, Ishii H, Miyata T (2005) MAFFT version 5: im-

- provement in accuracy of multiple sequence alignment. *Nucleic Acids Research* 31 (2): 510–518. <https://doi.org/10.1093/nar/gkj398>
- Klich MA (2009) Health effects of *Aspergillus* in food and air. *Toxicology and Industrial Health* 25: 657–667. <https://doi.org/10.1177/0748210709348271>
- King N, Adl HM, Hocking AD, Pitt JI (2019) Databases-for-fungal-ecology-for-enumeration-and-isolation-of-fungi-from-foods. *Applied and Environmental Microbiology* 77 (1): 959–964. <https://doi.org/10.1128/aem.01755-18.959-964.2019>
- Lacort MFS, Lima JV, Nunes TP, da Silveira Moreira EJ, Neves-Brito BS, Paganini AAC, Abad AK de S, de Oliveira Junior AM (2020) Estração, caracterização, atividade antimicrobiana e caracterização de resíduos de manga (Tomato *Adkins*). *Research, Society and Development* 9: e20180806. <https://doi.org/10.23440/rsd-v9i02-0806>
- Lima JMS (2019) Produção de micotoxinas por fungos filamentosos presentes em farinha de mandioca comercializada em Recife-PE. Master's Dissertation, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Brazil. 62 pp.
- Lima GS, dos Santos VM, Santos MCL, Sousa TLTL, Silveira MKS, Padilha MRF (2020) Qualidade da farinha de mandioca comercializada em Recife, Pernambuco. *Journal of Environmental Analysis and Progress* 5 (1): 981–983. <https://doi.org/10.24221/jcap.v5i1.2020.2036-001-010>
- Maddison WP, Maddison DR (2010) Mesquite: a modular system for evolutionary analysis, version 3.01. <http://mesquiteproject.org>
- Mata MP, Romero SM, Lacerda AG, Santos L, Correia R, Soares CS, Simão M, Vasconcelos G (2020) Microbiological quality, fungal diversity and aflatoxin contamination in cashew flour (*Prunus Annona*). *International Journal of Food Microbiology* 326: 108655. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2020.108655>
- Neves JA (2015) Interferência da farinha de trigo na qualidade microbiológica e micotoxológica de pão tipo francês. Master's Dissertation, Universidade Federal do Piauí, Teresina, Brazil. 78 pp.
- Pitt JI, Hocking AD (2009) *Aspergillus and related teleomorphs*. In: Pitt JI, Hocking A (Eds.) *Fungi and food spoilage*. 3rd edition. Springer, London, UK, 275–337.
- Platón D, David G, Pridmore D, Bari L, Mandi A, Calabuig I, Ferraro P (2016) Presence of a potentially virulent *Aspergillus* species in wheat flour. In: *Proceedings of the 5th International Congress Flora-Bread '15, 10th Croatian Congress of Cereal Technologists*, Osijek, Croatia, 246–254.
- Reada D (2001) ModelFit: phylogenetic model averaging. *Molecular Biology and Evolution* 25 (7): 1251–1256. <https://doi.org/10.1093/molbev/mse050>
- Rambaut A (2009) FigTree v. 1.3.1. Computer program and documentation distributed by the author. <http://tree.bio.ed.ac.uk/software/>
- Rack C, Mullan KF, Lemos TO, Varga J, Samson RA, Friesal JC (2011) Distribution of metagenomes in filamentous fungi. *Fungal Biology* 115: 406–420. <https://doi.org/10.1016/j.funbio.2011.02.003>
- Rayner RB (1978) A zoological colour chart. Commonwealth Mycological Institute, Kew, UK, 24 pp.
- Romagnolo F, Tolstako M, Van Der Meek P, Ayres DL, Darling A, Hibon S, Langer B, Liu L, Sackard MA, Hershkovitz JP (2022) MLbayes 3.2: efficient Bayesian phylogenetics in literature and model choice across a large model space. *Systematic Biology* 69(7): 138–142. <https://doi.org/10.1093/sysbio/syab029>
- Samson RA, Hershkovitz J, Thams U, Friesal JC, Anderson H (2000) Food and indoor fungi. CBS Laboratory Manual Series 2. 2nd edition. Centraalbureau voor Schimmeldiagnostiek, Utrecht, the Netherlands, 480 pp.
- Silva LP, Alves AR, de Moraes Barbosa C, Malta M (2022) Contaminação fúngica em condimentos de livres livres e experimentais. *Revista do Instituto Adolfo Lutz* 71 (1): 282–286. <https://doi.org/10.5203/revista.2022.v71i284>
- Silva JRC, Cardoso BDCV, Góes LÁW, Drexler JJ, Júnior POV, de Andrade ACB (2017) Food safety in cassava “Bour bonense” of Capixaba Valley, Bahia, Brazil: Diagnosis and contribution to geographical indication. *Food Control* 72: 87–94. <https://doi.org/10.1016/j.foodcon.2016.07.054>
- Souza TL, Silva CA, Sousa CP (2004) Qualidade sanitária de equipamentos, superfícies, água e mãos de manipuladores de alguns estabelecimentos que comercializam alimentos no estado de São Paulo, PB. *Revista Higienista Alvorada* 10: 98–102.
- Souza NDC, Costa TL, Silva CCB, Sousa FBC, Paulino CG, de Silva Mendes LO (2021) Qualidade das farinhas de mandioca comercializadas em livres livres no Estado de Cadi estado de Pernambuco, Brazil. *Research, Society and Development* 10 (2): e2101022001. <https://doi.org/10.23440/rsd-v10i02-2001>
- Sugruti MR, Sathishkumar P, Ja Mani Hsarta R, Mounika SS, de Rosa CS, Torra NV (2016) Characterization of physicochemical and microbiological properties, and bioactive compounds, of flour made from the skin and bagasse of kani fruit (*Arundinaceae dulcis*). *Food Chemistry* 209: 471–478. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.12.022>
- Tanaka A (2008) RAAML-VS-HPC: maximum likelihood-based phylogenetic analysis with thousands of taxa and mixed models. *Bioinformatics* 22 (21): 2688–2690. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btn446>
- Tajiri JA, Peterson SW, Ficht A, Hanson H, Samson RA, Mellado E, Calvo-Estrada M, Kwon-Chung KJ (2014) Genetic relatedness versus biological compatibility between *Aspergillus fumigatus* and related species. *Journal of Clinical Microbiology* 52 (10): 3707–3721. <https://doi.org/10.1128/JCM.01764-14>
- Tamura K, Nei M, Tamura K, Nei M, Tamura K, Nei M (2007) MEGA: molecular evolutionary genetics analysis version 1.0. *Molecular Biology and Evolution* 24: 2725–2729. <https://doi.org/10.1093/molbev/mn197>
- Tang CC, Hsu FWST, Liu RC, Chen JHC, Ngai AHC, Tain FWY, Chen JFW, Wu AL, Cheng M, Tai HPH, Wu AKL, Lai CKC, Tsang DNC, Qiu TL, Luo CW, Yuan KY, Liu SKP, Wu PCY (2016) Genetic diversity of *Aspergillus* species isolated from onychomycosis and *Aspergillus longiconicus* sp. nov., with implications to antifungal susceptibility testing. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease* 94: 125–134. <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2015.03.007>
- Vinagre CM, Goodbell M, Neves DO (2021) *Aspergillus* diversity from the Getuliana Cave in Bresterra and description of two new species. *Fungal Systematics and Evolution* 8: 81–89. <https://doi.org/10.1016/j.fun.2021.08.007>
- Vinagre CM, Hershkovitz J, Friesal JC, Hung S-H, Klomparens C, Perrone G, Seifert K, Varga J, Vagstad T, Samson R (2014) Identification and nomenclature of the genus *Ficovellum*. *Studies in Mycology* 70: 341–371. <https://doi.org/10.1016/j.stmyc.2014.09.001>
- Vinagre CM, Varga J, Hershkovitz J, Meijer M, Kocourek S, Yilmaz N, Faudar R, Seifert KA, Friesal JC, Samson RA (2014b) Ochratoxin production and taxonomy of the yellow aspergillus (*Aspergillus* section *Circumdati*). *Studies in Mycology* 70: 5–41. <https://doi.org/10.1016/j.stmyc.2014.07.001>
- Wang XC, Zhang WY (2022) New species of *Aspergillus* (*Aspergillus*) from tropical islands of China. *Journal of Fungi* 4 (7): 225. <https://doi.org/10.3390/jf04070225>
- Woudabitter M, Wiersma C, Appel S, Kist H (2000) Whole wheat and white wheat flour the aspergilli and potential mycotoxins. *Food Microbiology* 17: 161–167. <https://doi.org/10.1006/food.1999.0279>

APÊNDICE D - Fungi in the hospital environment: profile of antifungal susceptibility and allergenicity

02/08/2023, 21:47

MYCO-D-23-00220 - Submission Notification to co-author - [EMID:55cd306f46bc9908] - laureanavsobral@gmail.com - Gmail

MYCO-D-23-00220 - Submission Notification to co-author - [EMID:55cd306f46bc9908]

Caixa de entrada

**Mycopathologia (MYCO)** <em@editorialmanager.com>
para mim

qua., 26 de jul., 23:36 (há 7 dias)

inglês

português

[Traduzir mensagem](#)[Desativar para: inglês](#)

Re: "Airborne fungi in the hospital environment: profile of antifungal susceptibility and allergenicity"

Full author list: Laureana de Vasconcelos Sobral; Bruna Rodrigues de Sousa; Joenny Maria da Silveira de Lima; Diogo Xavier Lima; Renan do Nascimento Barbosa; Reginaldo Gonçalves de Lima-Neto; Cristina Maria de Souza-Motta

Dear Dr. Sobral,

We have received the submission entitled: "Airborne fungi in the hospital environment: profile of antifungal susceptibility and allergenicity" for possible publication in Mycopathologia, and you are listed as one of the co-authors.

The manuscript has been submitted to the Journal by Dr. Prof Reginaldo Gonçalves Lima-Neto who will be able to track the status of the paper through his/her login.

If you have any objections, please contact the editorial office as soon as possible. If we do not hear back from you, we will assume you agree with your co-authorship.

Thank you very much.

With kind regards,

Springer Journals Editorial Office
Mycopathologia

This letter contains confidential information, is for your own use, and should not be forwarded to third parties.

Recipients of this email are registered users within the Editorial Manager database for this journal. We will keep your information on file to use in the process of submitting, evaluating and publishing a manuscript. For more information on how we use your personal details please see our privacy policy at <https://www.springernature.com/production-privacy-policy>. If you no longer wish to receive messages from this journal or you have questions regarding database management, please contact the Publication Office at the link below.

In compliance with data protection regulations, you may request that we remove your personal registration details at any time. (Use the following URL: <https://www.editorialmanager.com/mycologin.asp?a=r>). Please contact the publication office if you have any questions.