

Universidade Federal do Mato Grosso do Sul
Programa de Pós-graduação em Doenças Infecciosas e Parasitárias

Alexandre Albuquerque Bertucci

EVOLUÇÃO CLÍNICA E ANÁLISE DO TRANSCRIPTOMA DE MONÓCITOS NA
ASPERGILOSE PULMONAR CRÔNICA

Campo Grande – MS
2025

Alexandre Albuquerque Bertucci

EVOLUÇÃO CLÍNICA E ANÁLISE DO TRANSCRIPTOMA DE MONÓCITOS NA
ASPERGILOSE PULMONAR CRÔNICA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Doenças Infecciosas e Parasitárias, da Universidade Federal do Mato Grosso do Sul como requisito final à obtenção do título de Mestre em Doenças Infecciosas e Parasitárias

Orientadora: Prof^{fa} Dr^a Anamaria Mello Miranda Paniago

Campo Grande – MS
2025

AGRADECIMENTOS

À minha esposa, Talya, por todo apoio, incentivo, afeto e, sobretudo, pela tolerância durante cada etapa desta jornada.

Aos meus pais, Agnaldo e Ana Beatriz, por despertarem em mim o valor do estudo e da dedicação.

À minha irmã, Ana Clara, pela presença calorosa e serenidade que tanto me confortaram ao longo do processo

À minha orientadora, Profa. Dra. Anamaria, por compartilhar seu vasto conhecimento com paciência, generosidade e constante inspiração.

Aos professores Dr. James Venturini, Dr. Wellington Santos, Dra. Bárbara Amorim e Dra. Adriana França, por sua orientação e apoio ao longo da formação.

Ao Prof. Dr. Ricardo Cavalcante, por ter me apresentado ao fascinante mundo da micologia médica e por ser um grande mentor e incentivador desde então.

À Dra. Cláudia Volpe, por todo o aprendizado prático ao longo desses anos, pelo exemplo de experiência, cuidado e dedicação aos pacientes.

Aos colegas da pós-graduação, em especial Alexandre, Matheus e Nathalia, pela parceria, companheirismo e troca constante.

Ao Programa de Pós-Graduação em Doenças Infecciosas e Parasitárias da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (PPGDIP-UFMS), pela oportunidade de contribuir com a pesquisa brasileira e crescer como pesquisador

A todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho, meu sincero agradecimento.

RESUMO

A aspergilose pulmonar crônica (APC) é uma infecção fúngica progressiva que acomete indivíduos com alterações pulmonares estruturais, especialmente após tuberculose pulmonar (TBP). Para investigar aspectos clínicos, prognósticos e imunogenômicos da APC, foi conduzido um estudo observacional de coorte com 30 pacientes atendidos entre setembro de 2014 e julho de 2024 em um hospital universitário no Brasil. A mediana de idade foi de 55,5 anos; 70% eram do sexo masculino e 70% tinham histórico prévio de TBP. A qualidade de vida foi avaliada em 14 pacientes por meio do Questionário Respiratório de St. George (SGRQ), com escore geral mediano de 61,78 e subescores de sintomas (53,64), atividade (63,57) e impacto (59,16). A melhora clínica aos seis e doze meses foi observada em 55,6% e 47,4% dos casos, respectivamente, enquanto a melhora radiológica ocorreu em apenas 36,8%. Houve cura em um paciente, tratamento completo em 10%, recidiva e falha terapêutica em 13,3% e óbito em 23,3% dos casos. Na análise univariada, os pacientes que evoluíram a óbito apresentaram maior tempo entre o início dos sintomas e o início do tratamento ($p = 0,014$), menores taxas de cultura positiva de amostras respiratórias ($p = 0,031$), e níveis mais elevados de proteína C reativa ($p = 0,012$), leucócitos ($p = 0,007$) e monócitos ($p = 0,012$). A hipoalbuminemia foi associada à menor sobrevida na regressão de Cox ($p = 0,0499$). A análise transcriptômica de monócitos revelou superexpressão dos genes EIF1AY e TTTY15 (sem relevância biológica, por serem provenientes de amostras femininas) em pacientes com APC, além de subexpressão do gene JCHAIN em controles com TBP tratada, sugerindo possível comprometimento da imunidade adaptativa de mucosa. Os achados reforçam a ocorrência de dissociação entre melhora clínica e progressão radiológica, e indicam que inflamação sistêmica e atraso terapêutico podem comprometer o prognóstico da APC.

Palavras-chave: Aspergilose pulmonar. Aspergiloma. Monócitos. PBMC. Transcriptoma.

ABSTRACT

Chronic pulmonary aspergillosis (CPA) is a progressive fungal infection that affects individuals with structural lung damage, particularly following pulmonary tuberculosis (PTB). To investigate the clinical, prognostic, and immunogenomic aspects of CPA, an observational cohort study was conducted involving 30 patients treated between September 2014 and July 2024 at a university hospital in Brazil. The median age was 55.5 years; 70% were male and 70% had a history of PTB. Quality of life was assessed in 14 patients using the St. George's Respiratory Questionnaire (SGRQ), with a median total score of 61.78 and domain scores for symptoms (53.64), activity (63.57), and impact (59.16). Clinical improvement at six and twelve months was observed in 55.6% and 47.4% of patients, respectively, while radiological improvement occurred in only 36.8%. One patient achieved cure, 10% completed treatment, 13.3% experienced recurrence or failure, and 23.3% died. In univariate analysis, deceased patients had longer delays between symptom onset and treatment initiation ($p = 0.014$), lower rates of positive fungal cultures ($p = 0.031$), and higher levels of C-reactive protein ($p = 0.012$), leukocytes ($p = 0.007$), and monocytes ($p = 0.012$). Hypoalbuminemia was associated with reduced survival in the Cox regression model ($p = 0.0499$). Transcriptomic analysis of monocytes revealed overexpression of EIF1AY and TTTY15 (genes located on the Y chromosome, detected in female samples, without biological relevance) in CPA patients, and underexpression of the JCHAIN gene in PTB-treated controls, suggesting possible impairment of mucosal adaptive immunity. These findings reinforce the dissociation between clinical improvement and radiological progression and suggest that systemic inflammation and treatment delay may serve as prognostic markers in CPA.

Keywords: Aspergilloma. Pulmonary Aspergillosis. Monocytes. PBMC. Transcriptome.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

APC – Aspergilose pulmonar crônica.

APCC– Aspergilose pulmonar cavitária crônica.

APCF– Aspergilose pulmonar crônica fibrosante.

APS – Aspergiloma pulmonar simples

APISA – Aspergilose pulmonar invasiva subaguda

CIE – Contraeletroforese.

DPOC – Doença pulmonar obstrutiva crônica.

HAS – Hipertensão arterial sistêmica;

HIV – Vírus da imunodeficiência humana.

HR – *Hazard ratio*.

IC – Insuficiência cardíaca.

IDD – Imunodifusão dupla.

LBA – Lavado bronco alveolar.

MNT – Micobactérias não tuberculosas.

PBMC – células mononucleose do sangue periférico (*peripheral blood mononuclear cells*)

PCR – Proteína C reativa.

SGRQ – Questionário Respiratório de Saint George.

TB – Tuberculose.

TBP – Tuberculose pulmonar.

TEP – Tromboembolismo pulmonar.

QUBIT – Bit quântico;

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Achados tomográficos representativos das formas clínicas da aspergilose pulmonar crônica (APC)	17
Figura 2 - Exame de microscopia de cultura evidenciando fungo do gênero <i>Aspergillus</i>	19
Figura 3 - Representação esquemática da resposta imune inata frente à infecção pulmonar por <i>Aspergillus spp.</i>	26
Figura 4 - Diagrama de Venn representando os exames diagnósticos em 30 pacientes com aspergilose pulmonar crônica.	41
Figura 5 - Fluxograma dos desfechos clínicos dos pacientes com aspergilose pulmonar crônica (APC) incluídos no estudo (n = 30)	43
Figura 6 - Diagramas de Venn com genes diferencialmente expressos entre pacientes com APC e controles.....	48

LISTA DE TABELA

Tabela 1 - Frequência dos principais sintomas descritos em pacientes com aspergilose pulmonar crônica (APC), segundo a literatura.....	14
Tabela 2 – Frequência das principais alterações tomográficas descritos em pacientes com aspergilose pulmonar crônica (APC), segundo a literatura.....	16
Tabela 3 – Características demográficas, epidemiológicas e clínicas de 30 pacientes com aspergilose pulmonar crônica (APC)	38
Tabela 4 – Características clínicas de 30 pacientes com aspergilose pulmonar crônica (APC)..	39
Tabela 5 – Achados tomográficos de 28 pacientes com aspergilose pulmonar crônica (APC)..	39
Tabela 6 – Exames hematológicos e bioquímicos de pacientes com aspergilose pulmonar crônica (APC).....	40
Tabela 7 – Exames diagnósticos de 30 pacientes com aspergilose pulmonar crônica (APC)....	40
Tabela 8 – Escore do Questionário Respiratório de Saint George (SGRQ) de 14 pacientes com aspergilose pulmonar crônica (APC), ao longo do acompanhamento.....	42
Tabela 9 – Desfechos de 30 pacientes com aspergilose pulmonar crônica (APC) durante o acompanhamento.....	43
Tabela 10 – Fatores demográficos, clínicos, radiológicos e laboratoriais associados ao óbito em pacientes com aspergilose pulmonar crônica (APC).....	44
Tabela 11– Análise univariada e multivariada por regressão de Cox para associação com óbito em pacientes com aspergilose pulmonar crônica (APC).....	47
Tabela 12 – Características clínicas e laboratoriais dos pacientes submetidos à análise de transcriptoma (n = 4).....	48

SUMÁRIO

1. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	11
1.1. <i>Aspergillus</i> e aspergilose pulmonar.....	11
1.2. Epidemiologia da APC	11
1.3. Diagnóstico da APC	12
1.3.1. Sintomas e formas clínicas	14
1.3.2. Exames de imagem.....	15
1.3.3. Testes imunológicos	17
1.3.4. Exame micológico direto e cultura.....	18
1.4. Tratamento.....	20
1.5. Evolução	21
1.5.1. Resposta clínica	21
1.5.2. Resposta radiológica.....	22
1.5.3. Resposta laboratorial	23
1.6. Recidiva.....	23
1.7. Aspectos imunopatogênicos na APC.....	23
1.8. Imunidade inata	24
1.9. Imunidade adaptativa.....	26
1.10. O transcriptoma de monócitos.....	27
2. RACIONAL DA PESQUISA.....	29
3. OBJETIVOS.....	30
3.1. Objetivo geral	30
3.2. Objetivos específicos.....	30
4. METODOLOGIA.....	31
4.1. Aspectos éticos	31
4.2. Desenho e local do estudo	31
4.3. Alocação dos participantes	31
4.3.1. Critérios de inclusão	31
4.3.2. Critério de exclusão	32
4.4. Definição de caso.....	32
4.5. Variáveis analisadas	32

4.6. Procedimentos realizados:.....	33
5. RESULTADOS.....	38
6. DISCUSSÃO	49
7. CONCLUSÕES	53
8. REFERÊNCIAS.....	54

1. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

1.1. *Aspergillus* e aspergilose pulmonar

Aspergillus spp. são fungos filamentosos saprófitas encontrados na água, nos alimentos, no ar, no solo e, particularmente, em vegetações em decomposição. O gênero *Aspergillus* contém 28 seções, mais de 400 espécies reconhecidas e, aproximadamente, 40 espécies patogênicas ao homem sendo as seções *Fumigati*, *Flavi*, *Nigri*, *Terrei* e *Nidulantes* as principais de interesse médico (Larkin *et al.*, 2020; Visagie *et al.*, 2024). Esses fungos são responsáveis por causar síndromes clínicas que incluem doenças alérgicas, crônicas e invasivas, de acordo, com a interação do fungo com a imunidade do hospedeiro (Bennett; Dolin; Blaser, 2020; Bongomin *et al.*, 2020a; Truda *et al.*, 2023).

A aspergilose pulmonar pode se apresentar de diversas formas a depender do estado imunológico do hospedeiro. Nos pacientes muito imunossuprimidos como naqueles com neoplasias hematológicas, neutropênicos graves e os transplantados de órgãos sólidos e medula óssea predomina a aspergilose pulmonar invasiva (API). Nos indivíduos atópicos e/ou com fibrose cística, em que há predomínio de resposta imune celular Th2, predomina a aspergilose broncopulmonar alérgica (ABPA); e, no indivíduo imunocompetente com comorbidades pulmonares preexistentes, a aspergilose pulmonar crônica (APC) (Bongomin *et al.*, 2020a; Kanj; Abdallah; Soubani, 2018).

A APC é uma das formas clínicas da infecção por *Aspergillus spp.* que, geralmente, ocorre em situações de alterações anatômicas e/ou, funcionais do pulmão como: sequelas de tuberculose pulmonar (TBP), infecção por micobactérias não tuberculosas (MNT), sarcoidose e doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC) predispondo à colonização pulmonar, não requerendo imunossupressão para o seu desenvolvimento (Bongomin *et al.*, 2020a).

1.2. Epidemiologia da APC

Estima-se uma prevalência global de APC de 3 milhões de casos, que varia de acordo com a população estudada apresentando uma relação diretamente proporcional com a TBP (Brown *et al.*, 2012; Denning; Pleuvry; Cole, 2011). Aproximadamente 22% dos pacientes tratados para TBP, que permanecem com cavidades com diâmetro maior ou igual a 2,5 cm, desenvolverão APC em até quatro anos (Denning; Pleuvry; Cole, 2011). Em De Oliveira *et al.*, (2023), a TBP prévia foi o principal fator de risco para o desenvolvimento de APC, estando presente em 76,9% dos pacientes. No Brasil, a incidência estimada de APC após o tratamento

de TBP é de 6,1 casos por 100 mil habitantes (Giacomazzi *et al.*, 2016), e sua prevalência entre os que tiveram TBP é de 10,9%, com 18 vezes mais chance de ocorrer naqueles que tiveram TBP há mais de quatro anos (Volpe Chaves *et al.*, 2022).

Devido à similaridade clínica, a APC é um diagnóstico diferencial pouco lembrado de TBP, podendo ser identificada em até 9,4% dos casos que estão em investigação de TBP (Ocansey *et al.*, 2022). Em até um quinto dos casos de infecção ativa por TB pode ocorrer coinfeção com APC, devendo ser investigada especialmente naqueles que mantêm sintomatologia após 2 meses do início do tratamento (Namusobya *et al.*, 2022).

Em países onde a prevalência de TBP não é tão significativa, a DPOC se destaca como fator de risco para desenvolvimento de APC (Hayes; Novak-Frazer, 2016). Nessa população, a alteração do sistema mucociliar - resultado da exposição ao tabagismo e infecções recorrentes - favorece a colonização por *Aspergillus spp.* e, conseqüentemente, a APC. Nessa população *A. fumigatus* é o patógeno mais frequentemente isolado no escarro (Bertuzzi *et al.*, 2018; Huerta *et al.*, 2014).

Em um estudo prospectivo de oito anos realizado no Reino Unido, a DPOC foi a condição pulmonar mais prevalente, estando presente em até um terço dos pacientes, e identificada como desordem pulmonar prévia em 9% (Smith; Denning, 2011). Além de ser fator de risco para o desenvolvimento de APC, a DPOC também está associada a um risco relativo de mortalidade de 1,57 nesse grupo de pacientes (Otu *et al.*, 2023).

Em relação a mortalidade, uma revisão sistemática estimou a mortalidade global da APC em 27%. Quando estratificada por condições pulmonares preexistentes, a mortalidade foi de 23% na população pós-TBP, 24% na população com DPOC e 46% na população com infecção MNT (Sengupta *et al.*, 2024).

1.3. Diagnóstico da APC

O diagnóstico de APC requer uma combinação de critérios clínicos, tomográficos e evidência de infecção por *Aspergillus spp.* ou resposta imunológica ao fungo (Bongomin *et al.*, 2020a).

Em 2018, o painel de especialistas do *Global Action Fund for Fungal Infections* (GAFFI) propôs um consenso para diagnóstico de APC em situações de recursos limitados. Neste, consideram-se:

- (i) presença de sintomas por mais de três meses, como hemoptise e/ou tosse persistente

e/ou perda de peso;

(ii) características radiológicas (cavitação progressiva na imagem do tórax e/ou bola fúngica intracavitária e/ou espessamento pleural, fibrose pericavitária ou infiltrados adjacentes às cavidades);

(iii) evidência microbiológica de infecção por *Aspergillus* (resultados positivos de anti-*Aspergillus* IgG e/ou microscopia de escarro mostrando hifas consistentes com *Aspergillus* e/ou crescimento de *Aspergillus* em mais de dois escarros ou outras amostras respiratórias);

(iv) infecção micobacteriana descartada com baciloscopia, teste rápido molecular e/ou cultura micobacteriana (Denning *et al.*, 2018).

Como evidências recentes têm demonstrado que a APC pode se apresentar durante a TBP, principalmente em países endêmicos, versões modificadas dos critérios do GAFFI têm sido propostas. Um exemplo é o estudo de Ocansey *et al.* (2022), no qual foram considerados pacientes com diagnóstico de APC os pacientes que apresentavam os três critérios a seguir:

(i) perda ponderal, tosse persistente e/ou hemoptise por três meses;

(ii) características radiológicas (cavitação progressiva na imagem do tórax e/ou bola fúngica intracavitária e/ou espessamento pleural, fibrose pericavitária ou infiltrados adjacentes às cavidades);

(iii) anticorpos anti-*Aspergillus* IgG positivo ou outra evidência de infecção pelo *Aspergillus*.

Ainda neste trabalho, os pacientes que apresentaram o critério (i) e um dos critérios (ii) ou (iii) foram considerados como casos de prováveis APC, conforme evidenciado no quadro 1 (Ocansey *et al.*, 2022).

Quadro 1 - Critérios diagnósticos para aspergilose pulmonar crônica (APC), segundo combinações de manifestações clínicas, radiológicas e laboratoriais.

Sintoma (I), imagem (II) e sorologia ou outra evidência (III)	
Provável	I+II ou I+III
Confirmado	I+II+III

Fonte: adaptado de Ocansey *et al.* (2022).

Análise do quadro: I: critérios clínicos como perda ponderal, tosse persistente e/ou hemoptise por três meses; II: características radiológicas compatíveis com APC (cavitação progressiva na imagem do tórax e/ou bola fúngica intracavitária e/ou espessamento pleural,

fibrose pericavitária ou infiltrados adjacentes às cavidades); III: evidência de infecção por *Aspergillus spp*: anticorpos anti-*Aspergillus* IgG positivo ou outra evidência de infecção pelo *Aspergillus*..

1.3.1. Sintomas e formas clínicas

O espectro clínico da APC varia de quadros assintomáticos a manifestações respiratórias e sistêmicas, com duração mínima de três meses (Denning *et al.*, 2016a, 2018), podendo evoluir por anos. Um estudo de De Oliveira *et al.* (2023) demonstrou que a mediana de duração dos sintomas foi de 12 meses, variando entre seis e 24 meses. Entre os sintomas respiratórios mais comuns destacam-se tosse, expectoração e hemoptise, conforme evidenciado na tabela 1 (Akram *et al.*, 2021; De Oliveira *et al.*, 2023a; Volpe-Chaves *et al.*, 2022).

Tabela 1 – Frequência dos principais sintomas descritos em pacientes com aspergilose pulmonar crônica (APC), segundo a literatura

Sintomas	Frequência
Tosse	74,0 – 95,0%
Expectoração	44,0 – 90,4%
Hemoptise	46,0 – 70,0%
Dispneia	17,9 – 70,0%
Dor torácica	10,1%
Fadiga	66,7 - 92,7%
Febre	8,9 – 85,8%
Perda ponderal	34,9 – 57,1%
Sudorese noturna	10,0 – 15,0%

Fonte: Akram *et al.*, 2021; De Oliveira *et al.*, 2023a; Volpe-Chaves *et al.*, 2022.

A APC pode ser classificada nas seguintes formas clínicas:

- i) nódulo de *Aspergillus*,
- ii) aspergiloma pulmonar simples (APS),
- iii) aspergilose pulmonar crônica cavitária (APCC),
- iv) aspergilose pulmonar crônica fibrosante (APCF); e
- v) aspergilose pulmonar invasiva subaguda (APISA) (Denning *et al.*, 2016a).

A forma nodular por *Aspergillus* é uma forma clínica incomum da APC. Aproximadamente 20% dos pacientes são assintomáticos e, quando sintomáticos, a hemoptise é o sintoma mais relatado (Kang; Park; Jhun, 2020). Os nódulos tendem a ser não cavitários, podendo ser solitários ou múltiplos, com menos de 3 cm e muito semelhantes a nódulos causados por outras doenças, como TBP e neoplasias pulmonares (Larkin *et al.*, 2020; Patterson *et al.*, 2016).

Aspergilomas ou bolas fúngicas consistem em hifas do fungo associada a matriz extracelular e podem estar presentes em quase todas as formas de APC, exceto em sua forma nodular. O APS é caracterizado pela presença de aspergiloma em uma única cavidade pulmonar que se mantém estável radiologicamente por pelo menos três meses, com pouca sintomatologia, apresentando eventualmente hemoptises que podem ser ameaçadoras à vida (Denning *et al.*, 2016b).

A APCC é a principal forma clínica da APC sendo caracterizada pela formação de novas cavidades ou progressão das existentes, podendo conter aspergilomas em seu interior, com infiltrados pericavitários e espessamento pleural adjacente. Quando não tratada, a APCC pode evoluir para forma fibrosante, a APCF, resultado de fibrose de pelo menos dois lobos e da perda progressiva da função pulmonar (Denning *et al.*, 2016b).

Em indivíduos moderadamente imunossuprimidos pode-se observar a forma APISA, que apresenta alterações radiológicas semelhantes à APCC, mas com progressão mais rápida, (inferior a três meses) e evidência de invasão tecidual por hifas no exame histopatológico (Denning *et al.*, 2016b).

1.3.2. Exames de imagem

A tomografia computadorizada (TC) de tórax com alta resolução é o exame de escolha para investigação da APC. Os achados tomográficos variam de acordo com a forma clínica da doença, podendo haver sobreposição radiológicas entre as apresentações (Denning *et al.*, 2016a).

Os nódulos por *Aspergillus* se apresentam como nódulos não cavitários únicos ou múltiplos, com menos de 3 cm de diâmetro podendo apresentar bordas espiculadas (Denning *et al.*, 2016a; Garg *et al.*, 2023). No APS, observa-se tipicamente uma massa de densidade de partes moles, bem definida, contida dentro de uma cavidade, podendo ser móvel ou fixa (Denning *et al.*, 2018; Garg *et al.*, 2023).

A APCC é caracterizada por múltiplas cavidades com paredes espessadas, áreas irregulares de consolidação ao redor e espessamento pleural adjacente, podendo conter aspergilomas em seu interior. Já na forma APCF, observa-se fibrose pulmonar extensa com destruição de, no mínimo, dois lobos pulmonares, presença de cavidades múltiplas com fibrose ao redor e distorção arquitetural (Denning *et al.*, 2016a). Essas alterações geralmente são assimétricas e envolvem áreas de doença pulmonar prévia como sequelas de tuberculose (Garg *et al.*, 2023).

Nos casos de APISA, a TC revela áreas de consolidação focal e lesões semelhantes a massas sofrendo cavitação progressiva, afetando principalmente os lobos superiores (Garg *et al.*, 2023).

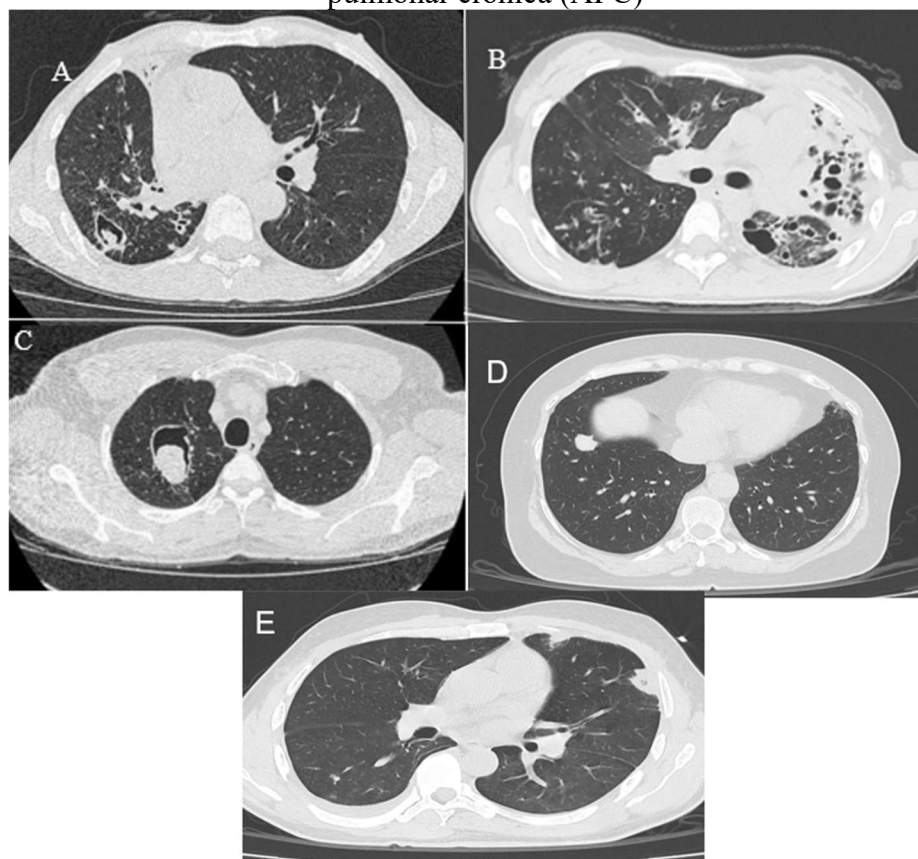
Dentre as principais características tomográficas observadas nos pacientes incluem a presença de cavidades, bola fúngica e infiltrados pulmonares, conforme evidenciado na tabela 2 (Akram *et al.*, 2021; De Oliveira *et al.*, 2023a; Garg *et al.*, 2023; Oladele *et al.*, 2017; Volpe-Chaves *et al.*, 2022).

Tabela 2 - Frequência das principais alterações tomográficas descritos em pacientes com aspergilose pulmonar crônica (APC), segundo a literatura

Achado tomográfico	Frequência
Cavidades	17,1% - 100,0%
Bola fúngica	65,6% - 91,0%
Infiltrados pulmonares	42,7% a 66,0%
Infiltrados pericavitários	43,0% - 66,7%
Espessamento pleural	24,3% - 95,2%
Bronquiectasias	15,3% - 90,0%
Árvore em brotamento	44,4%
Nódulos	44,4%

Fonte: (Akram *et al.*, 2021; De Oliveira *et al.*, 2023a; Garg *et al.*, 2023; Oladele *et al.*, 2017; Volpe-Chaves *et al.*, 2022).

Figura 1 - Achados tomográficos representativos das formas clínicas da aspergilose pulmonar crônica (APC)



Fonte: Elaboração própria com base em imagens do acervo pessoal do autor.

Na imagem A: Aspergilose pulmonar crônica cavitária (APCC): cavitação com bola fúngica em seu interior e espessamento pleural adjacente. Na imagem B: Aspergilose pulmonar crônica fibrosante (APCF): alterações estruturais do pulmão esquerdo com bronquiectasias e bronchiolectasias envolvendo ambos os lobos. Na imagem C: Aspergiloma pulmonar simples (APS): cavidade localizada no ápice pulmonar direito com presença de bola fúngica. Na imagem D: Nódulos por *Aspergillus*: nódulo não cavitário no lobo inferior direito. Na imagem E: Aspergilose pulmonar invasiva subaguda (APISA): imagem consolidativa apresentando área central de cavitação.

1.3.3. Testes imunológicos

A detecção de anticorpos anti-*Aspergillus* é fundamental para investigação da APC, havendo diversas plataformas diferentes disponíveis para este fim (Patterson *et al.*, 2016). O ensaio de imunoabsorção enzimática (Elisa) para detecção de anti- *A. fumigatus* é uma dessas

plataformas, podendo ser realizado de forma automatizada ou manual, com sensibilidade e especificidade de 93% e 97%, respectivamente (Volpe Chaves *et al.*, 2020). Outra metodologia disponível é o teste de fluxo lateral para detecção de IgG/IgM de *A. fumigatus*, que possui a vantagem de poder ser realizada à beira-leito, utilizando soro, plasma ou sangue de polpa digital, com sensibilidade de 86,7% a 91,6% e especificidade de 90% a 98% (Sehgal *et al.*, 2023a; Singh *et al.*, 2022; Stucky Hunter; Richardson; Denning, 2019).

A sorologia pode resultar negativa caso o agente causal da APC não seja a espécie *A. fumigatus*, sendo recomendada, nesses casos e na presença de forte suspeita clínica, seguir com a realização de testes de detecção de IgG contra outras espécies de *Aspergillus* (Bongomin *et al.*, 2020a; Larkin *et al.*, 2020).

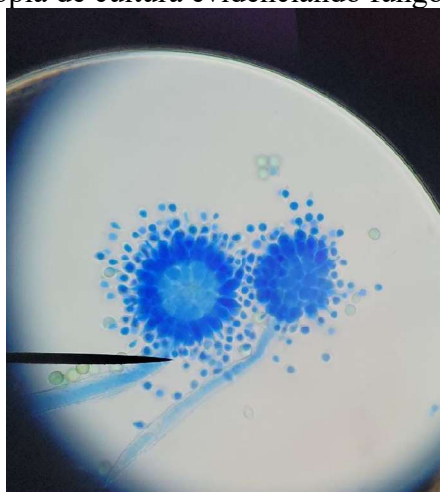
Os testes de precipitina são outra metodologia sorológica utilizada para detectar anticorpos contra *Aspergillus spp.*, incluindo a imunodifusão dupla (IDD) e a contraeletroforese (CIE), ambos tradicionalmente empregados no diagnóstico de APC, porém são mais laboriosos e com menor padronização em comparação aos ensaios Elisa. Em uma revisão sistemática, a sensibilidade dos testes de precipitina foi de 64% e especificidade de 99% (Volpe Chaves *et al.*, 2020).

1.3.4. Exame micológico direto e cultura

Tanto o exame micológico direto, quanto a cultura de fungos são os métodos mais básicos e amplamente disponíveis que podem auxiliar no diagnóstico de APC, embora apresentem limitações. Devido à característica ubíqua do gênero *Aspergillus*, sua presença em materiais respiratórios deve ser interpretada com cautela, pois pode significar contaminação ou colonização. Assim, recomenda-se a repetição da análise em amostras de escarro ou a obtenção de amostras por lavado broncoalveolar (LBA), preferencialmente (Denning *et al.*, 2016a; Shinfuku *et al.*, 2023).

As principais características morfológicas do gênero *Aspergillus* que podem ser evidenciadas no exame direto, incluem: hifas septadas, geralmente com 3–6 µm de diâmetro, apresentando ramificação dicotômica (isto é, cada ramificação possui aproximadamente a mesma largura da hifa parental), com ângulos de 45° e tendência a crescer radialmente a partir de lesões hematogênicas, formando um padrão de ramos quase paralelos entre si (Walsh; Hayden; Larone, 2018).

Figura 2 - Exame de microscopia de cultura evidenciando fungo do gênero *Aspergillus*.



Fonte: Micoteca Labdip (2025)

A cultura fúngica assume papel importante especialmente em casos de suspeita de resistência antifúngica, quando há falha terapêutica apesar do uso adequado de antifúngicos e o crescimento de fungo em amostras respiratórias persiste, bem como em infecções causadas por espécies não *Aspergillus fumigatus*, nas quais a sorologia pode ser negativa (Patterson *et al.*, 2016).

Em coortes brasileiras de pacientes com APC, tanto a microscopia direta quanto a cultura de escarro apresentam baixa sensibilidade, variando de 3,4% a 23,4% para a microscopia direta e de 19 a 39% para a cultura (De Oliveira *et al.*, 2023b; Volpe Chaves *et al.*, 2020).

1.3.5. Exame histopatológico

Apesar da baixa disponibilidade e aplicabilidade limitada na prática clínica, o exame histopatológico das lesões pulmonares pode ser útil para diferenciar colonização de infecção ativa, além de auxiliar na distinção entre as formas APISA e APCC (Denning *et al.*, 2016a). Muitas vezes, sua indicação ocorre diante da necessidade de afastar neoplasias (Shen *et al.*, 2022).

Na histologia, as hifas fúngicas podem ser visualizadas por colorações como hematoxilina-eosina, metenamina-prata de Grocott-Gomori ou ácido periódico de Schiff (PAS). Entretanto, pode ser difícil distinguir *Aspergillus spp.* de outros fungos filamentosos apenas pela morfologia (Larkin *et al.*, 2020).

Apesar de classicamente considerada padrão-ouro para o diagnóstico, dados de uma

coorte brasileira demonstram sensibilidade de 68% para o exame histológico na detecção da APC (De Oliveira *et al.*, 2023b; Sehgal; Agarwal, 2023).

1.4. Tratamento

A decisão terapêutica na APC depende da forma clínica da doença e da viabilidade de abordagem cirúrgica. Os principais objetivos do tratamento incluem: melhora dos sintomas e do status funcional, resultando em melhor qualidade de vida; prevenção de destruição pulmonar progressiva e desenvolvimento de fibrose; controle de hemoptises; prevenção de resistência antifúngica e redução da morbidade e mortalidade (Bongomin *et al.*, 2020a).

Na forma nodular por *Aspergillus*, a ressecção cirúrgica é o tratamento de escolha, especialmente quando não é possível descartar malignidades. Em pacientes sintomáticos ou sem possibilidade de cirurgia, recomenda-se manejo semelhante ao da APCC (Bongomin *et al.*, 2020a).

Em casos de APS, pacientes oligossintomáticos e clinicamente estáveis por seis a 24 meses podem ser apenas monitorados, sem a necessidade de antifúngicos. No entanto, se sintomáticos, especialmente diante de hemoptise ameaçadora a vida, a ressecção cirúrgica deve ser considerada (Maghrabi; Denning, 2017). Nesses casos, a embolização de artéria brônquica pode ser utilizada como ponte para cirurgia ou quando há função pulmonar limitada (Denning *et al.*, 2016b). A terapia antifúngica no APS possui benefício limitado, sendo mais indicada nos casos de progressão radiológica ou impossibilidade de cirurgia (Bongomin *et al.*, 2020a).

Nos pacientes com APCC e APCF que estão com doença estável, o uso de antifúngicos não é necessário, embora se recomende monitoramento clínico, tomográfico e de função pulmonar (Bongomin *et al.*, 2020a). Já em pacientes sintomáticos e/ou com progressão tomográfica, o tratamento antifúngico está indicado, sendo as principais opções: itraconazol 200mg a cada 12 horas e voriconazol, 200mg a cada 12 horas.

A escolha entre os dois deve considerar eventos adversos e interações medicamentosas, sendo o voriconazol preferido em doença de maior extensão (doença bilateral e com grandes aspergilomas) (Bongomin *et al.*, 2018). Outros antifúngicos como equinocandinas ou anfotericina B são reservados para casos de falha, intolerância ou resistência aos azólicos (Maghrabi; Denning, 2017).

A duração do tratamento antifúngico pode variar de seis a doze meses ou tempo indefinido, conforme resposta clínica e tomográfica. Estudos demonstram melhores desfechos com duração mínima de doze meses, em comparação com seis meses (Sehgal *et al.*, 2022).

A APISA, por envolver invasão pulmonar por hifas de *Aspergillus spp.*, deve ser tratada conforme os protocolos de API (Denning *et al.*, 2016b). O esquema recomendado é voriconazol na dose inicial de 6 mg/kg intravenoso (IV) a cada 12 horas no primeiro dia, seguido por 4 mg/kg IV a cada 12 horas, com transição para via oral quando possível. Se o voriconazol estiver contraindicado, podem ser utilizadas isavuconazol, posaconazol e anfotericina B nas formulações lipídicas (Douglas *et al.*, 2021).

Nos casos de hemoptise grave, com instabilidade hemodinâmica ou ventilatória, está indicada intervenção cirúrgica e/ou embolização de artéria brônquica. Os principais procedimentos são: lobectomia, segmentectomia e ressecção em cunha (Farid *et al.*, 2013; Setianingrum *et al.*, 2020; Shen *et al.*, 2022). O uso de terapia antifúngica no pré-operatório está associado a redução de recidivas (Setianingrum *et al.*, 2020), sendo recomendada: voriconazol IV por duas semanas ou micafungina no dia da cirurgia, especialmente quando há suspeita de resistência antifúngica ou cirurgia iminente (Farid *et al.*, 2013).

O uso de antifúngico no pós-operatório é controverso, Shen *et al.* (2022) não encontraram diferença estatística em desfecho cirúrgico ou recorrência com seu uso, no entanto, pode ser considerado nas seguintes situações: derramamento de conteúdo fúngico no espaço pleural durante o ato operatório ou ressecção incompleta, com cavidades residuais (Farid *et al.*, 2013). Quando indicado, o antifúngico deve seguir o esquema utilizado para APCC (Denning *et al.*, 2016a; Maghrabi; Denning, 2017). Após a cirurgia, recidivas ocorrem em 7,1% a 41% dos casos (Setianingrum *et al.*, 2020; Shen *et al.*, 2022).

1.5. Evolução

No acompanhamento de pacientes com APC, especialmente após introdução de tratamento, deve-se realizar reavaliação clínica, tomográfica e laboratorial de rotina.

1.5.1. Resposta clínica

Para a avaliação clínica, pode ser utilizado um escore de sintomas respiratórios que contempla seis itens: tosse, produção de escarro, dispneia, sangue no escarro, dor torácica e despertar noturno. Cada sintoma pode ser quantificado por meio de uma escala analógica simples (EVA). Considera-se:

- Estabilidade: variação entre -25% e +25% (equivalente a $\pm 2,5$ cm na EVA);
- Melhora: redução > 25%;

- Piora: aumento > 25% (Van Braeckel *et al.*, 2022a).

Além disso, Sehgal *et al.* (2019) observaram que a perda ponderal ao longo do acompanhamento pode ser um marcador adicional de piora clínica e falha terapêutica.

O Questionário Respiratório de Saint George (SGRQ) é uma ferramenta validada para avaliação da qualidade de vida respiratória, composta por 76 itens divididos em três domínios: sintomas, atividade e impactos. Cada domínio possui uma pontuação máxima e os escores são convertidos em percentuais: pontuações mais altas refletem pior estado de saúde (Al-Shair *et al.*, 2013; Jones *et al.*, 2012).

O SGRQ também tem sido amplamente utilizado avaliar resposta clínica ao tratamento da APC. Em uma coorte retrospectiva, Sehgal *et al.* (2023) demonstraram que uma diferença mínima de 7 pontos no escore global é considerada clinicamente significativa pelos pacientes em relação à sua melhora geral de bem-estar. Além disso, o SGRQ pode contribuir para previsão de recidiva: Bongomin e Otu, (2021) observaram que a falha em melhorar ao menos 8 pontos no domínio dos sintomas foi um marcador preditivo de recidiva.

1.5.2. Resposta radiológica

Em Van Braeckel *et al.* (2022), a melhora radiológica é definida por:

- Em pacientes com cavidades: redução de pelo menos 20% (máximo de 2 mm) no espessamento pleural máximo ou na espessura da parede da cavidade ou ainda desaparecimento da bola fúngica.

- Na ausência de cavidades: redução de no mínimo 1 ponto em escore semiquantitativo de vidro fosco, opacidades, consolidações ou micronódulos considerando o volume pulmonar afetado (0-100%); ou redução superior a 50% do volume de um macronódulo com pelo menos 1cm de diminuição, desde que não haja surgimento de novos achados radiológicos sugestivos de APC.

Por outro lado, considera-se piora radiológica quando:

- Em pacientes com cavidades: aumento de pelo menos 20% (mínimo de 2 mm) no espessamento pleural ou da parede da cavidade, ou aumento superior a 30% do volume da bola fúngica com ou sem surgimento de novas lesões compatíveis com APC.

- Na ausência de cavidades: aumento de pelo o menos 1 ponto no escore semiquantitativo de vidro fosco, opacidades, consolidações ou micronódulos (0-100% do volume pulmonar), ou quando houver aumento superior a 50% do volume de um macronódulo com crescimento de pelo o menos 1cm (Van Braeckel *et al.*, 2022a).

1.5.3. Resposta laboratorial

Durante o acompanhamento, exames laboratoriais podem auxiliar na avaliação de toxicidade medicamentosa, gravidade de doença e resposta terapêutica. Sehgal, *et al.* (2019) analisaram os níveis de IgG anti-*Aspergillus fumigatus* e de galactomanana (GM) sérica após três e seis meses de tratamento, mas não encontraram associação estatística com os desfechos clínicos observados. Apesar de sua baixa evidência, a negatificação da cultura de fungos em amostras respiratórias tem sido considerada como critério de cura por especialistas do painel CPAnet (Van Braeckel *et al.*, 2022b).

Exames como velocidade de hemossedimentação (VHS), proteína C reativa (PCR), contagem total de leucócitos, neutrófilos e linfócitos são comumente solicitados no acompanhamento desses pacientes. Embora alterações nesses parâmetros tenham sido observadas em pacientes com piores desfechos, não são considerados marcadores clássicos de resposta clínica (Nam *et al.*, 2023; Sehgal *et al.*, 2023b).

1.6. Recidiva

Considera-se recidiva o reaparecimento de qualquer critério clínico ou radiológico de piora após três meses da suspensão do antifúngico, em pacientes previamente responsivos ao tratamento e clinicamente estáveis (Van Braeckel *et al.*, 2022a).

Estudos mostram que até 50% dos pacientes com APC podem apresentar recidiva após o término de terapia antifúngica. O risco é aumentado em indivíduos com doença bilateral, naqueles que utilizaram antifúngico por menos de 12 meses e em pacientes que não receberam antifúngico no pré-operatório (Bongomin *et al.*, 2020b; Im *et al.*, 2021; Sehgal *et al.*, 2022).

1.7. Aspectos imunopatogênicos na APC

Os conídios de *Aspergillus spp.* possuem ampla distribuição no meio ambiente, com concentrações que variam, em média, de 1 a 100 conídios por metro cúbico (m³). Essas estruturas apresentam carga superficial, hidrofobicidade e tamanho reduzido (2 a 5 micrômetros), características que facilitam sua propagação aérea e colonização de vias aéreas superiores e seios paranasais (Thompson; Young, 2021; Wéry, 2014).

A colonização epitelial por *Aspergillus* pode ser favorecida por alterações na expressão

do fator de transcrição ZNF77 no epitélio brônquico. Essa disfunção leva a uma redução da integridade das células epiteliais e à regulação ascendente de proteínas da matriz extracelular, favorecendo a adesão dos conídios à superfície respiratória (Gago *et al.*, 2018).

A colonização saprofítica por *Aspergillus spp.* de uma cavidade pulmonar pode resultar na formação de um aspergiloma, que consiste em um aglomerado de micélios fúngicos, células inflamatórias, fibrina, muco, hemácias degradadas, debris epitelial e material necrótico. Essa massa fúngica pode estar livre no interior da cavidade ou aderida à parede cavitária por meio de tecido inflamatório e/ou granulomatoso (Latgé; Chamilos, 2019).

A patogênese do aspergiloma geralmente envolve a colonização e proliferação do fungo em áreas de doença pulmonar estrutural pré-existente, como cavidades secundárias à TBP, DPOC, sarcoidose ou outras condições (Latgé; Chamilos, 2019).

1.8. Imunidade inata

Em indivíduos saudáveis, a maioria dos conídios inalados de *Aspergillus spp.* é eliminada pelo sistema mucociliar no trato respiratório. No entanto, devido ao seu pequeno tamanho (2–5 µm), alguns conídios podem atingir os alvéolos pulmonares, onde interagem com as células epiteliais alveolares. Estas ativam a fagocitose dependente de actina, promovendo a morte eficiente de conídios em fagolisossomos (Latgé; Chamilos, 2019).

As primeiras células do sistema imune a interagir com os conídios inalados são os macrófagos alveolares, que utilizam receptores de reconhecimento de padrões (PRRs) para iniciar a resposta imunológica. Entre os principais PRRs envolvidos estão os receptores de lectina tipo C (CLRs), dectina-1/Syk tirosina quinase, além da pentraxina 3 (PTX3). Esses receptores favorecem a fagocitose dos conídios e ativam cascatas de sinalização imune (Van de Veerdonk *et al.*, 2017). Polimorfismos disfuncionais na PTX3 estão associados a formas invasivas de aspergilose em pacientes transplantados de células hematopoiéticas, bem como à colonização por *Aspergillus* em indivíduos com DPOC predispostos ao desenvolvimento de APC (He *et al.*, 2018).

A morte intracelular dos conídios dentro dos fagossomos depende da ativação do complexo NADPH oxidase, que regula diversas vias de morte fúngica. Nos macrófagos e monócitos, essa via está associada à ativação da cadeia leve 3 da proteína 1 (LAP), que promove a fusão eficiente entre fagossomos e lisossomos. Desregulações genéticas que afetam o complexo NADPH ou a via LAP estão relacionadas ao desenvolvimento de doença granulomatosa crônica (Latgé; Chamilos, 2019; van de Veerdonk *et al.*, 2017).

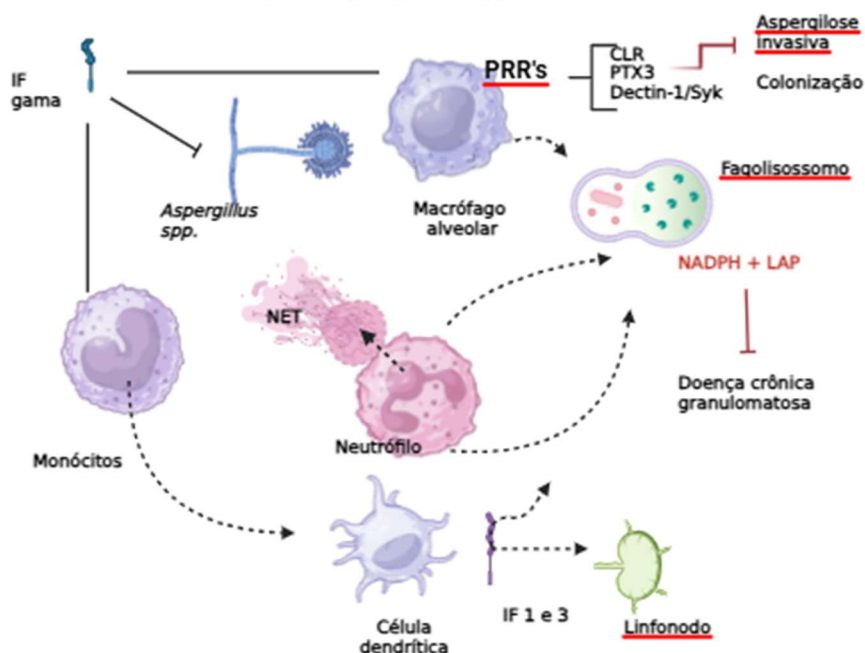
Além dos macrófagos, os monócitos inflamatórios CCR2⁺ e as células dendríticas derivadas de monócitos atuam no transporte dos conídios aos linfonodos, iniciando a resposta imune adaptativa e modulando a ação dos neutrófilos por meio das vias de interferons do tipo I e III (Latgé; Chamilos, 2019). Os monócitos apresentam intensa atividade fagocítica, produzem IL-10 após estímulo por lipopolissacarídeo (LPS) e são os principais precursores de macrófagos teciduais (Venturini *et al.*, 2014).

Os neutrófilos constituem a principal linha de defesa contra *Aspergillus spp.*, sendo a neutropenia grave o principal fator de risco para API. Essas células apresentam respostas especializadas conforme o estágio de crescimento do fungo. Embora o mecanismo de degranulação dos neutrófilos ainda não esteja completamente elucidado, sabe-se que o complexo NADPH oxidase contribui para a apoptose de células infectadas por conídios, além de mediar a liberação de armadilhas extracelulares de neutrófilos (NETs), que contêm peptídeos antimicrobianos, proteases e lactoferrina, atuando contra hifas fúngicas (Latgé; Chamilos, 2019; van de Veerdonk *et al.*, 2017).

Em pacientes com APC, as células mononucleares de sangue periférico (*peripheral blood mononuclear cells* – PBMCs) demonstram capacidade reduzida de produção de interferon-gama (IFN- γ) (Colombo *et al.*, 2022). Ainda não está claro se essa disfunção é resultado de defeito intrínseco das células imunes inatas ou consequência de desregulação imunológica crônica do epitélio alveolar, frequentemente associada a fibrose e doenças pulmonares estruturais (Latgé; Chamilos, 2019).

Em um estudo indiano, Chirumamilla *et al.* (2024) compararam a resposta imune inata de pacientes com APC e indivíduos com doença pulmonar pós-tuberculose. Não foram observadas diferenças significativas nas vias investigadas da imunidade inata, incluindo lectina ligadora de manose (MBL), C3, C4 e intensidade de fluorescência neutrofílica. No entanto, observou-se índice de estimulação neutrofílica significativamente menor em pacientes com APC (Chirumamilla *et al.*, 2024).

Figura 3 – Representação esquemática da resposta imune inata frente à infecção pulmonar por *Aspergillus spp.*



Fonte: Elaborado pelo autor na plataforma Bio Render. Disponível em: <<https://www.biorender.com>>.

APC: aspergilose pulmonar crônica; CLR: receptor de lecitina tipo C; dectin-1/Syk : Dectina 1/ Syk tirosina quinase; IF: interferon; LAP: cadeia leve 3 da proteína 1; NADPH: do complexo oxidase fosfato de dinucleotídeo de nicotinamida e adenina; NET: armadilha de neutrófilos; PRR's: padrões de receptores de reconhecimento;

As primeiras células do sistema imune inato a entrarem em contato com *Aspergillus spp.* são os macrófagos alveolares, que reconhecem os conídios por meio de PRRs (como Dectin-1, Dectin-2, PTX3 e CLR). Esses receptores ativam vias intracelulares que induzem respostas inflamatórias e fagocitose. Neutrófilos também participam do controle da infecção, por meio de mecanismos como liberação de NETs, espécies reativas de oxigênio (NADPH oxidase) e atividade lisossomal. A ativação do eixo IFN- γ promove resposta adaptativa. A falha na ativação efetiva desses mecanismos pode levar à persistência fúngica e ao desenvolvimento de formas crônicas da doença.

1.9. Imunidade adaptativa

As células T de memória desempenham papel central na patogênese das formas não invasivas da aspergilose pulmonar. As respostas Th1 e Th17, reguladas pelas vias TLR/MyD88 e Dectin-1, são essenciais para a ativação de macrófagos e recrutamento de neutrófilos, além de produzirem citocinas como IFN γ e interleucina-17 (IL-17) (Camargo; Husain, 2014; Latgé;

Chamilos, 2019).

Na APC, observa-se um fenótipo pró-inflamatório, caracterizado por monócitos circulantes com hiperexpressão de genes reguladores das vias IL1 e IL15, que aumentam a quimiotaxia de neutrófilos, e por uma redução da produção de IL-10 pelos macrófagos, contribuindo para a progressão da doença (Latgé; Chamilos, 2019; Smith *et al.*, 2014, 2015).

Bongomin *et al.* (2017) observaram em pacientes com APC, linfopenia significativa, com redução de células T CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺, células B e células natural killer (NK). Em indivíduos com APC pós-tuberculose, foi observado um aumento significativo dos níveis séricos de IgG, especialmente IgG4, além de redução nas células T de memória e da resposta imune Th1, sugerindo um perfil imune disfuncional e menos protetor (Chirumamilla *et al.*, 2024; Tomee *et al.*, 1996).

1.10. O transcriptoma de monócitos

A tradução e expressão gênica em monócitos refere-se ao processo pelo qual a informação contida no DNA é convertida em proteínas funcionais, como citocinas (IL-1, TNF- α , IL-6), receptores de membrana (CD14, TLRs), enzimas e outras proteínas essenciais para a função imunológica dessas células (Alberts *et al.*, 2017).

A ativação dos monócitos pode alterar profundamente seu perfil de expressão gênica, direcionando-os para diferentes respostas imunológicas, como a diferenciação em macrófagos ou células dendríticas. Esse processo é altamente regulado e influenciado por sinais ambientais, infecções e processos inflamatórios, permitindo que os monócitos atuem de forma dinâmica no sistema imune (Alberts *et al.*, 2017).

O processo tem início com a transcrição, na qual o DNA nuclear é lido e convertido em RNA mensageiro (mRNA). A transcrição é regulada por fatores como citocinas inflamatórias, sinalização imune e interações com patógenos. Após sua síntese, o mRNA é transportado ao citoplasma, onde ocorre a tradução, convertendo a sequência de nucleotídeos em uma cadeia de aminoácidos, resultando na produção de proteínas específicas (Alberts *et al.*, 2017).

O transcriptoma representa o conjunto completo de RNAs transcritos a partir do genoma de um tipo celular específico ou tecido, em determinado estágio de desenvolvimento ou sob uma condição fisiológica (De Jong; Bosco, 2021; Dong; Chen, 2013).

Atualmente, o transcriptoma pode ser analisado por duas abordagens principais:

- Hibridização em microarranjos (microarrays): técnica baseada na hibridização de RNAs em uma matriz de sondas específicas.
- Sequenciamento de RNA (RNA-seq): método baseado em sequenciamento de nova

geração (NGS), em que o RNA é convertido em DNA complementar (cDNA), fragmentado e incorporado a uma biblioteca genômica. O sequenciador então gera leituras digitais, que são mapeadas ao transcriptoma, permitindo a quantificação precisa da expressão gênica (Jones *et al.*, 2024).

A forma mais comum de análise é a expressão diferencial (DE), que identifica genes superexpressos ou subexpressos entre grupos distintos (como indivíduos saudáveis versus doentes). Outra abordagem complementar envolve a representação das interações gênicas em redes biológicas, permitindo a visualização de alterações nos padrões de interação entre genes e proteínas, o que auxilia na compreensão de fenótipos patológicos (Jones *et al.*, 2024).

Na APC, a análise transcriptômica pode aprimorar a compreensão dos mecanismos patogênicos que explicam por que apenas alguns indivíduos em risco desenvolvem a doença. Além disso, o transcriptoma pode facilitar o diagnóstico precoce e diferencial, contribuir para a estratificação de risco, prognóstico e viabilizar abordagens terapêuticas personalizadas.

2. JUSTIFICATIVA E RACIONAL DA PESQUISA

Em 2022, a Organização Mundial da Saúde (OMS) reconheceu a crescente ameaça das infecções fúngicas ao divulgar uma lista de patógenos fúngicos prioritários, classificando *Aspergillus fumigatus* no grupo de prioridade crítica, dada sua importância clínica, resistência emergente e carga de morbidade associada (WHO, 2022).

Dentre as diferentes formas de aspergilose, a APC, que afeta cerca de 3 milhões de indivíduos no mundo, é a mais negligenciada, com baixa visibilidade científica e clínica estando fortemente associada, no Brasil, à TBP, uma condição ainda endêmica no país (Brown *et al.*, 2012; Denning; Pleuvry; Cole, 2011). Configura-se como um desafio diagnóstico e terapêutico na prática clínica, e, mostrar as manifestações clínicas, tomográficas, impacto na qualidade de vida de doentes, fornecerá uma visão abrangente sobre os múltiplos aspectos da APC e contribuirá para o aprimoramento do cuidado clínico desses pacientes.

Muitas lacunas ainda persistem sobre os mecanismos imunopatogênicos que determinam a suscetibilidade à APC, especialmente em indivíduos com histórico de TBP. Considerando que os monócitos são células-chave na defesa inata contra *Aspergillus spp.*, atuando desde o reconhecimento dos conídios até a mediação da resposta adaptativa, investigar sua atividade transcricional pode revelar novos marcadores de disfunção imune e susceptibilidade à doença. O uso da análise transcriptômica - uma abordagem de varredura molecular abrangente - permite identificar padrões globais de expressão gênica que não seriam detectáveis por métodos convencionais, oferecendo uma visão mais ampla da resposta imune em nível celular.

Além disso, a escolha de comparar o transcriptoma de monócitos de pacientes com APC e TBP justifica-se pelo perfil imunológico parcialmente sobreposto dessas condições e pela dificuldade clínica, muitas vezes, de distinguir entre elas na prática. Compreender as diferenças no perfil de expressão gênica dos monócitos entre esses dois grupos pode contribuir para o desenvolvimento de biomarcadores diagnósticos, ferramentas de estratificação prognóstica e até para o direcionamento de abordagens terapêuticas personalizadas em um contexto de doença respiratória crônica pós-infecciosa.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo geral

Avaliar os aspectos clínicos, qualidade de vida e evolução clínica de pacientes com APC, bem como os aspectos imunológicos relacionados aos seus monócitos.

3.2. Objetivos específicos

- a)** Descrever as apresentações clínicas, tomográficas e funcionais dos pacientes;
- b)** Investigar a qualidade de vida dos pacientes;
- c)** Avaliar a evolução clínica e resposta terapêutica;
- d)** Analisar fatores associados ao óbito; e
- e)** Caracterizar o transcriptoma de monócitos na APC.

4. METODOLOGIA

4.1. Aspectos éticos

O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com seres humanos (CEP) da UFMS sob número: 67923023.2.0000.0021.

4.2. Desenho e local do estudo

Este é um estudo epidemiológico observacional, com uma coorte de pacientes com APC. Foram coletadas variáveis independentes (dados demográficos, epidemiológicos, manifestações clínicas, aspectos tomográficos, exames laboratoriais e de qualidade de vida) e variáveis de desfecho (resposta clínica, resposta radiológica, cura, tratamento completo, recidiva, perda de seguimento e óbito). Além disso, uma análise do transcriptoma de monócitos foi realizada em subgrupos prospectivo de quatro pacientes: dois com APC e dois com TBP tratada sem APC.

O estudo foi realizado com pacientes atendidos entre setembro de 2014 a julho de 2024, no Hospital Dia Professora Esterina Corsini da Universidade Federal do Mato Grosso do Sul (HDIA-UFMS). A coleta de PBMCs para realização do transcriptoma ocorreu entre janeiro de 2023 e junho de 2024.

4.3. Alocação dos participantes

Os pacientes foram convidados a participarem da pesquisa durante suas consultas no local do estudo. Aqueles que preencheram os critérios de inclusão, concordaram em participar e assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) foram incluídos.

4.3.1. Critérios de inclusão

Foram incluídos pacientes com 18 anos ou mais, de ambos os sexos, com diagnóstico de APC em qualquer momento da vida.

Para a análise do transcriptoma, utilizou-se como grupo controle pacientes com TBP previamente tratada, sem diagnóstico de APC.

4.3.2. Critério de exclusão

Foram excluídas as gestantes, devido ao risco inerente à realização de TC. Para a análise do transcriptoma foram excluídos os pacientes com doenças sistêmicas de etiologia infecciosa, neoplásica, inflamatória, bem como aqueles em uso de terapias imunossupressoras.

4.4. Definição de caso

Foi considerado caso confirmado de APC aquele que atendia aos três critérios:

(i) perda ponderal, tosse persistente e/ou hemoptise por três meses;

(ii) características radiológicas (cavitação progressiva na imagem do tórax e/ou bola fúngica intracavitária e/ou espessamento pleural ou fibrose pericavitária ou infiltrados adjacentes às cavidades);

(iii) anticorpos anti-*Aspergillus* IgG positivo ou outra evidência de infecção pelo *Aspergillus*.

Casos que não apresentavam os critérios (ii) ou (iii) foram considerados como prováveis APC (Ocansey *et al.*, 2022).

Para a análise do transcriptoma, foi considerado TBP tratada aqueles pacientes com comprovação molecular ou microbiológica (cultura de micobactérias positiva) que finalizaram tratamento e apresentaram ao final melhora clínica e radiológica.

4.5. Variáveis analisadas

Incluíram-se as seguintes variáveis independentes: idade, sexo, comorbidades, uso de medicações imunossupressoras, histórico de tuberculose (sem necessidade de comprovação microbiológica ou molecular prévia), sintomas clínicos e tratamento medicamentoso prescrito.

Resultados de exames laboratoriais, micológicos, sorológicos e alterações tomográficas foram coletados do sistema de informação laboratorial e de exames de imagem do hospital do estudo.

Foram incluídos na análise os resultados de sorologia anti *Aspergillus*, por Elisa e por IDD, pesquisa e cultura de fungos do escarro de qualquer momento durante o acompanhamento dos pacientes.

Variáveis de desfechos analisadas foram: resposta clínica, resposta radiológica, cura, tratamento completo, recidiva, perda de seguimento e óbito.

4.6. Procedimentos realizados:

Exames foram realizados no Laboratório de Análises Clínicas - LAC do Hospital Universitário Maria Aparecida Pedrossian – Humap e exames de tomografia no setor de imagem do Humap.

Hemograma completo: pelo equipamento hematológico da Série-XN 3000 (Sysmex Corporation, Kobe, Japan) para analisar: série branca: leucócitos totais (WBC), monócitos (MONO). Valores de referência de acordo com Hoffbrand (2020): WBC (4.500 - 11.000/ μ L), MONO (200 - 800/ μ L).

Dosagem sérica da proteína c-reativa (PCR): pelo método imunoturbidimétrico (Cobas 600 analyzer e501). Valor de referência de acordo com o fabricante: 0 - 5 mg/L.

Dosagem sérica de proteínas totais, albumina e frações: pelo método colorimétrico (Cobas 600 analyzer c501). Valores de referência de acordo com o fabricante: proteínas totais de 6,0 – 8,0 g/dL, albumina de 3,5 – 5,5 g/dL e globulinas estimadas como a diferença entre proteínas totais e albumina (2,0 – 3,0 g/dL).

Exames sorológicos foram solicitados conforme a rotina assistencial em qualquer momento do acompanhamento. O Elisa Platellia® Bio-Rad, utilizando antígenos de *A. fumigatus* foi considerado positivo quando resultado foi superior a 10 UI/ml. O teste IDD foi realizado de acordo com o método de Ouchterlony, (1953) usando antígenos de *A. fumigatus* e, ou *pool* de espécies de *Aspergillus spp.* gentilmente cedidos pela Dra. Adriana Vicentini do Instituto Adolfo Lutz.

Avaliação tomográfica: as tomografias de tórax foram realizadas no tomógrafo Toshiba de alta resolução modelo de 64 cortes e avaliadas pelo autor e por radiologista do HUMAP-UFMS. Os achados incluíram presença de cavidades, bola fúngica, bronquiectasia, espessamento pleural, espessamento da parede da cavidade e fibrose pulmonar.

Classificação da APC: as formas clínicas de APC foram classificadas pelo autor, com base em critérios clínicos e tomográficos em APS, nódulos de *Aspergillus*, APCC, APCF e APISA (Denning *et al.*, 2016a).

Questionário Respiratório de St. George: realizado pelo autor durante a avaliação clínica dos pacientes apenas uma vez em qualquer momento do acompanhamento (Al-Shair *et al.*, 2013).

Classificação dos desfechos: os desfechos clínicos foram classificados pelo autor, de acordo com os dados disponíveis no prontuário e caracterizados em: (a) melhora clínica, (b) estabilidade clínica, (c) piora clínica, (d) melhora radiológica, (e) piora radiológica, (f) estabilidade radiológica, (g) cura, (h) tratamento completo, (i) falha de tratamento, (j) recidiva, (k) perda de seguimento e (l) óbito, de acordo com a classificação do CPAnet (Van Braeckel *et al.*, 2022b). A resposta clínica foi avaliada especificamente nos marcos de seis e doze meses. Para todos os demais desfechos, a avaliação considerou todo o período de acompanhamento dentro da janela de inclusão do estudo.

Para avaliação de resposta clínica foram considerados os seguintes sintomas: tosse, dispneia, escarro, escarro com sangue, dor torácica, perda ponderal e febre. Alternativamente ao proposto pelo CPAnet foi optado por considerar perda ponderal ao invés de sudorese noturna devido a indisponibilidade deste dado no prontuário.

A avaliação de resposta radiológica foi realizada por uma profissional médica radiologista do HUMAP-UFMS comparando as imagens tomográficas no momento inicial da inclusão no estudo e o último exame realizado antes do fim do período de inclusão.

(a) melhora clínica: redução de, no mínimo, dois sintomas;

(b) estabilidade clínica quando houve variação da presença de um sintoma (a mais ou a menos);

(c) piora clínica quando houve aumento da frequência de dois sintomas;

(d) melhora radiológica, quando:

- Em pacientes com cavidades: redução de pelo menos 20% (com máximo de 2 mm) no espessamento pleural máximo ou na espessura da parede da cavidade ou desaparecimento da bola fúngica.

- Na ausência de cavidades: redução de no mínimo 1 ponto em escore semiquantitativo de vidro fosco, opacidades, consolidações ou micronódulos considerando o volume pulmonar afetado (0-100%); ou redução superior a 50% do volume de um macronódulo com diminuição de pelo menos 1cm, desde que não haja surgimento de novos achados radiológicos sugestivos de APC.

(e) piora radiológica, quando:

- Em pacientes com cavidades: aumento de pelo menos 20% (com mínimo de 2 mm) no espessamento pleural ou da espessura da cavidade, ou aumento superior a 30% do volume da bola fúngica, com ou sem surgimento de novas lesões sugestivas de APC.

- Na ausência de cavidades: aumento de pelo menos 1 ponto no escore semiquantitativo de vidro fosco, opacidades, consolidações ou micronódulos (0-100% do volume pulmonar), ou aumento superior a 50% do volume de um macronódulo com crescimento mínimo de 1cm.

(f) estabilidade radiológica quando não houve diferença comparativa entre os dois exames;

(g) cura foi considerado quando foi considerado quando houve ressecção cirúrgica completa e, ou, terapia antifúngica completa, associada ao preenchimento dos seguintes critérios por um período de dois anos após o tratamento:

- (i) Resposta sustentada ao tratamento clínico definida por melhora clínica ao final do período de tratamento antifúngico pré-definido ou seis meses após a ressecção completa curativa bem-sucedida;
- (ii) Cura microbiológica definida por cultura negativa de amostra respiratório ao final do tratamento e nos dois anos subsequentes à conclusão do tratamento, com pelo menos duas culturas negativas em dois momentos diferentes por ano;
- (iii) Resposta radiológica sustentada ao tratamento definida melhora radiológica após a conclusão do tratamento antifúngico e ausência de piora radiológica. Nos casos de ressecção cirúrgica curativa bem-sucedida quando após seis meses não houve surgimento de novas lesões suspeitas de APC.

(h) tratamento completo quando houve ressecção curativa completa bem-sucedida e/ou tratamento antifúngico durante todo o período de estudo pré-definido não inferior a seis meses sem episódios de recidivas;

(i) falha de tratamento: piora clínica ou radiológica após 12 meses com necessidade de troca de terapia antifúngica;

(j) recidiva foi considerado quando houve reintrodução de tratamento medicamentoso após tempo mínimo de três meses sem medicação antifúngica associado a piora clínica e/ou radiológica;

(k) perda de seguimento foi definida como a ausência de retorno para acompanhamento clínico por um período superior a nove meses desde a última avaliação registrada;

(l) óbito quando ocorreu morte por qualquer causa durante o estudo ou período de acompanhamento.

Coleta de sangue e isolamento do PBMC: o sangue periférico dos pacientes foi obtido por meio de punção venosa, com 30 mL sendo coletados em tubos estéreis contendo 20 U/mL de heparina. As células mononucleares foram recuperadas através de separação em gradiente com Histopaque-1077 (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EUA). A contagem celular foi realizada

utilizando o método de Turk, e a viabilidade das PBMCs foi determinada pela incorporação de Azul de Tripan a 0,1%. Após determinação da concentração e viabilidade celular, as amostras foram colocadas em criotubos e armazenadas em nitrogênio.

Isolamento de monócitos: a partir de PBMC congeladas, os monócitos foram obtidos utilizando kits de isolamento negativo com esferas magnéticas revestidas com anticorpos monoclonais (MACs; Miltenyi Biotec). As células foram preparadas e ressuspensas em 40 μ L de tampão (por 10^7 células totais). Foram adicionados 10 μ L de Reagente Bloqueador de FcR e 10 μ L de Coquetel de Anticorpos Biotinizados (por 10^7 células totais) por 5 minutos no refrigerador (2 a 8 °C). Em seguida, 30 μ L de tampão e 20 μ L de Microesferas Anti-Biotina foram adicionados à suspensão, misturados e incubados por 10 minutos a 2 a 8 °C. Posteriormente, procedeu-se à separação celular magnética subsequente. A concentração final de monócitos foi determinada a partir da contagem no corante vermelho neutro.

Isolamento do RNA e tratamento com DNase: o RNA foi isolado de cada amostra pelo método Trizol Plus Total Transcriptome Isolation ® Purelink RNA Mini Kit (Thermo Fisher Scientific) conforme as instruções do fabricante. Logo após a extração o RNA foi submetido a um tratamento com DNase através do kit TURBO DNA-free kit (AM1907).

Pureza, quantidade e qualidade do RNA: a pureza, quantidade e a qualidade do RNA extraído foram avaliadas utilizando o ensaio Qubit™ High Sensitivity. Este método permitiu uma quantificação precisa do RNA em nanogramas por microlitro (ng/ μ L), garantindo a detecção de baixas concentrações de ácido nucleico. Além disso, o ensaio foi realizado em condições controladas, seguindo rigorosamente as recomendações do fabricante para assegurar a reprodutibilidade dos resultados e a integridade das amostras.

Preparação do cDNA, amplificação e enriquecimento: a preparação da biblioteca foi realizada utilizando o kit Ion AmpliSeq™ Transcriptome Human Gene Expression (MAN0010742). Inicialmente, 10 ng de RNA total foram transcritos em cDNA utilizando o kit SuperScript™ VILO™. Em seguida, o cDNA foi amplificado com a tecnologia Ion AmpliSeq™, seguido pela digestão parcial dos primers e pela ligação de adaptadores aos amplicons gerados. Após a ligação, as bibliotecas foram purificadas para remoção de contaminantes, quantificadas e diluídas para a concentração adequada ao sequenciamento.

Preparação da biblioteca, templates e cargas de chip para sequenciamento: realizado pelo Ion Chef™ System utilizando o Ion 540™ Chip (200 bases) conforme orientação do fabricante.

Sequenciamento do transcriptoma: o sequenciamento foi realizado pelo Ion GeneStudio™ S5 series.

Análises estatísticas: as análises estatísticas foram realizadas por meio dos softwares JASP e R. A avaliação das variáveis numéricas incluiu o teste de normalidade de Shapiro-Wilk. Para dados com distribuição normal, utilizou-se o teste t de Student; para distribuições não paramétricas, empregou-se o teste de U Mann-Whitney. Variáveis categóricas foram analisadas por meio dos testes qui-quadrado ou exato de Fisher, conforme a adequação aos pressupostos. Considerou-se um valor de $p < 0,05$ como estatisticamente significativo.

Para comparar a evolução clínica (melhora, estabilidade e piora) entre seis e doze meses, aplicou-se o teste de Stuart–Maxwell para homogeneidade marginal e, adicionalmente, o teste de Bowker para simetria das discordâncias, considerando-se significância estatística para $p < 0,05$.

Para a análise de sobrevida, foi utilizada a regressão de Cox nas variáveis que apresentaram $p < 0,20$ na avaliação inicial, considerando-se significância estatística para $p < 0,05$.

5. RESULTADOS

Foram incluídos 30 pacientes com APC, 24 confirmados e seis prováveis, todos com critério clínico e radiológico. Foi observado importante predomínio de homens pardos ou pretos e com relato de TB prévia. As características demográficas e epidemiológicas estão apresentadas na Tabela 3.

Tabela 3 - Características demográficas, epidemiológicas e clínicas de 30 pacientes com aspergilose pulmonar crônica (APC)

Variáveis	N ou mediana	% ou 1º - 3º quartis
Idade	55,5	38-64
Sexo masculino	21	70,0
Pardos ou pretos	21	70,0
APC confirmado	24	80,0
APC provável	6	20,0
Bronquiectasia	3	10,0
Diabetes mellitus	2	6,7
DPOC	4	13,3
HAS	5	16,7
MNT	1	3,3
HIV	4	13,3
Imunossupressor	1	3,3
TBP prévia	21	70,0
TBP há menos 1 ano	3	10,0
TBP entre 1 e 3 anos	3	10,0
TBP há mais de 4 anos	15	50,0
TBP atual	7	23,3
TBP posterior	2	6,7
Tratamento	29	96,7
Itraconazol	26	86,7

APC: aspergilose pulmonar crônica; DPOC: doença pulmonar obstrutiva crônica; HAS: hipertensão arterial sistêmica; HIV vírus da imunodeficiência humana; MNT: micobactéria não tuberculosa; TBP: tuberculose pulmonar.

A infecção por HIV foi identificada em 13,3%, com mediana de CD4 no diagnóstico da APC de 133 céls/mm³ [112,5-215]. Dos 21 pacientes com TBP prévia, um terço apresentou comprovação microbiológica e/ou molecular.

O sintoma respiratório mais frequente foi a tosse, seguida por expectoração e dispneia. Perda ponderal e febre foram as manifestações constitucionais que predominaram. A mediana do tempo entre início dos sintomas e início de tratamento foi maior do que um ano (Tabela 4).

Tabela 4 - Características clínicas de 30 pacientes com aspergilose pulmonar crônica (APC)

Variáveis	N ou mediana	% ou 1º - 3º quartis
Tosse	23	76,7
Expectoração	19	63,3
Expectoração com sangue	15	50,0
Febre	12	40,0
Perda ponderal	17	56,7
Dispneia	17	56,7
Dor torácica	9	30,0
Tempo de sintomas (em meses) ¹	13	3-20

¹Tempo de sintomas: intervalo entre o início dos sintomas e a avaliação inicial no serviço. O tempo de sintomas não pode ser definido em três pacientes.

As formas clínicas mais prevalentes foram APCC em 23 (76,7%) seguida de APCF em 4 (13,3%) e APS em 3 (10%). Nenhum caso de nódulos de *Aspergillus* nem de APISA foi identificado. Os achados tomográficos predominantes foram cavidade com bola fúngica.

Tabela 5 – Achados tomográficos de 28 pacientes com aspergilose pulmonar crônica (APC)

Variáveis	n	%
Cavidade	25	89,3
Bola fúngica	23	82,1
Bronquiectasias	18	64,3
Espessamento pleural	18	64,3
Espessamento da parede da cavidade	10	35,7
Fibrose	6	21,4

Na tabela 6 estão descritos alguns resultados de exames hematológicos e bioquímicos. Ressalta-se os elevados valores da PCR nesses indivíduos e os níveis de globulinas com valores similares ao da albumina sérica.

Tabela 6 – Exames hematológicos e bioquímicos de pacientes com aspergilose pulmonar crônica (APC)

Exame	n de realizados	Mediana	1º e 3º quartis
PCR	24	39,4	15,8-88,0
Leucócitos	29	9500	6830-11065
Monócitos	29	659	410-972
Proteínas totais	23	7,6	7,4-8,1
Albumina	23	3,8	3,5-4,1
Globulina	23	3,8	3,5-4,6

No acompanhamento tanto o micológico direto quanto a cultura de fungos em amostras de via aérea foram positivos em 53,3%. A seção mais frequentemente identificada foi *Fumigati* em 56,3%, seguida de *Nigri* em 18,8% e em um paciente foi isolada mais de uma seção, *Fumigati* e *Terrei*. Não houve identificação de seção ou espécie em 25% das amostras. O Elisa e IDD foram realizados na inclusão em 20 e 25 pacientes respectivamente como pode ser visualizado na Tabela 7.

Tabela 7 - Exames diagnósticos de 30 pacientes com aspergilose pulmonar crônica (APC)
(continua)

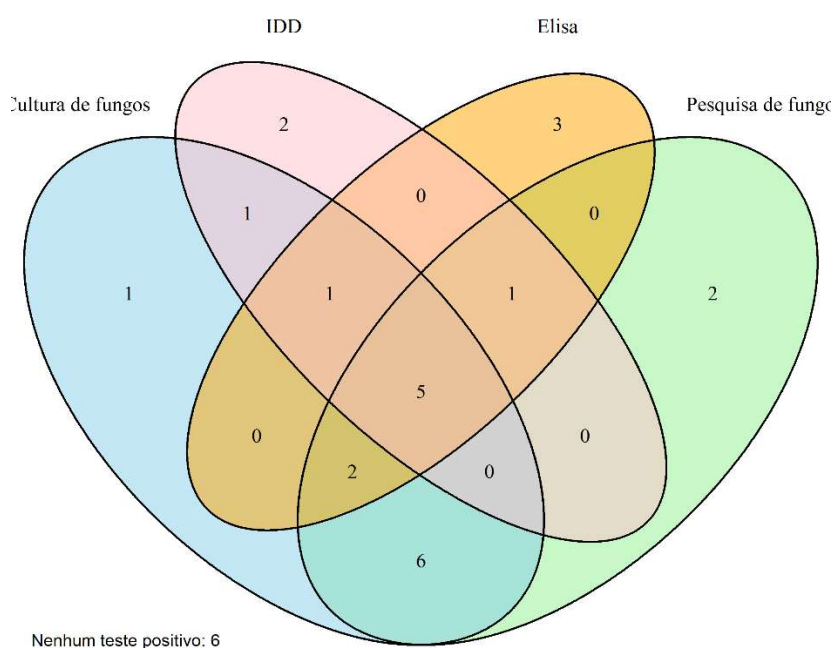
Exames	n de realizados	n de positivos	%
Elisa anti- <i>Aspergillus</i> IgG	20	12	60,0
11-15		2	10,0
16-19		1	5,0
> 20		9	45,0
IDD	25	10	40,0
Sem descrição de diluição		2	8,0
1:1		2	8,0
1:2-1:4		2	8,0
> 1:4		4	16,0
Micológico direto	30	16	53,3
Cultura de fungos ¹		16	53,3

Tabela 7 - Exames diagnósticos de 30 pacientes com aspergilose pulmonar crônica (APC)
(continua)

Exames	n de realizados	n de positivos	%
Sem seção identificada		4	25,0
Seção <i>Fumigati</i>		8	50,0
Seção <i>Nigri</i>		3	18,8
Seção <i>Terrei</i>		1	6,3
Seção <i>Flavi</i>		1	6,3

¹Em um paciente foi identificado duas seções *Fumigati* e *Flavi*.

Figura 4 – Diagrama de Venn representando os exames diagnósticos em 30 pacientes com aspergilose pulmonar crônica.



IDD: imunodifusão dupla

Fonte: elaborado pelo autor no aplicativo R.

O tratamento antifúngico foi instituído em 96,7% dos pacientes. O itraconazol foi o antifúngico mais prescrito (89,7%). Voriconazol, fluconazol e anfotericina B foram utilizadas em casos pontuais, sendo o fluconazol prescrito na indisponibilidade do itraconazol. A mediana de duração do tratamento foi 18 meses.

O SGRQ pôde ser aplicado em 14 pacientes. Seis estavam em tratamento antifúngico há menos de seis meses e nove há mais de seis. A mediana geral do escore foi 61,8, com subescores de sintomas 53,6, atividade 63,6 e impacto em 59,2, conforme a tabela 8.

Tabela 8 - Escore do Questionário Respiratório de Saint George (SGRQ) de 14 pacientes com aspergilose pulmonar crônica (APC), ao longo do acompanhamento

Domínio	Em até 6 meses do acompanhamento n=5 mediana (1º- 3º quartis)	Após 6 meses do acompanhamento n=9 mediana (1º- 3º quartis)	Total n=14 mediana (1º- 3º quartis)
Geral	68,9 (47,1–75,4)	48,5 (45,5–67,9)	61,8 (40,2–69,7)
Sintomas	56,4 (43,4–61,8)	50,1 (29,9–73,5)	53,6 (32,8–66,3)
Atividade	80,3 (60,3–89,6)	59,5 (40,9–71,8)	63,6 (47,3–81,9)
Impacto	60,3 (36,7–77,5)	53,0 (31,1–62,0)	59,2 (37,0–65,9)

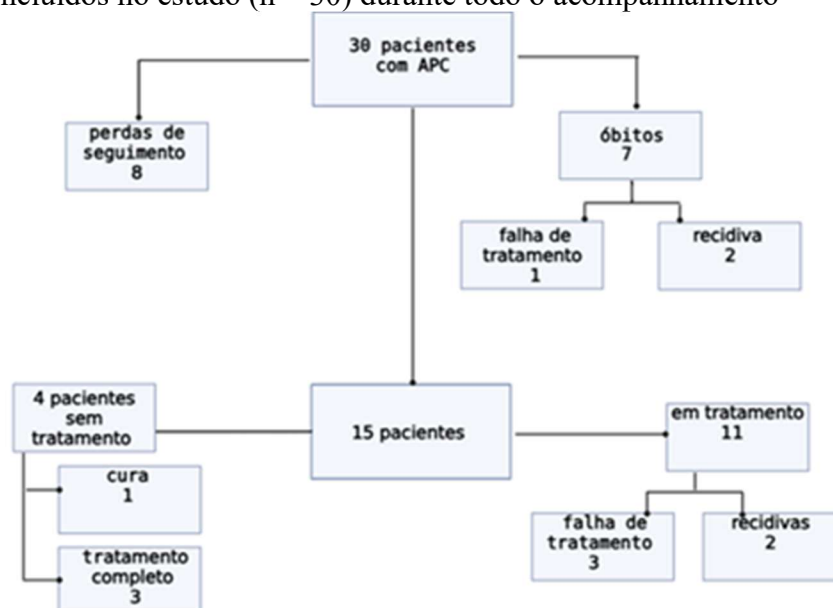
Espirometria foi realizada em seis pacientes. A mediana de volume expiratório forçado no primeiro segundo (VEF-1) foi 63% e da relação volume expiratório forçado no primeiro segundo sobre capacidade vital forçada (VEF-1/CVF) 96%. Dois pacientes apresentaram distúrbios obstrutivos, dois distúrbios restritivos e dois pacientes com valores dentro da normalidade.

A Tabela 9 apresenta a distribuição das categorias de evolução clínica aos seis e doze meses, entre os 16 pacientes com avaliações pareadas, não houve mudança global entre os tempos (Stuart–Maxwell: $\chi^2=3,18$; gl=2; p=0,204; Bowker: $\chi^2=3,20$; gl=3; p=0,362). Sete pacientes (23,3%) evoluíram a óbito. Recidiva e falha de tratamento ocorreram em 13,3%. Perda de seguimento foi observada em 26,7%.

Durante acompanhamento um paciente evoluiu com cura e três completaram tratamento. Falha de tratamento foi observada em 13,3% dos pacientes e em todos os casos de falha foi prescrito voriconazol. Recidivas aconteceram em 13,3%. A perda de seguimento no estudo foi de 26,7% e 23,3% evoluíram para óbito.

Tabela 9 – Desfechos de 30 pacientes com aspergilose pulmonar crônica (APC) durante o acompanhamento

Desfechos	6 meses n (%)	12 meses n (%)	Em qualquer momento do seguimento n (%)
Resposta clínica	n=18	n=19	
Melhora	10 (55,6)	9 (47,4)	
Estabilidade	7 (38,9)	7 (36,8)	
Piora	1 (5,5)	3 (15,8)	
Resposta radiológica (n=19)			
Melhora			7 (36,8)
Estabilidade			1 (5,3)
Piora			11 (57,9)
Cura			1 (3,3)
Tratamento completo			3 (10,0)
Falha de tratamento			4 (13,3)
Recidiva			4 (13,3)
Perda de seguimento			8 (26,7)
Óbito			7 (23,3)

Figura 5 - Fluxograma dos desfechos clínicos dos pacientes com aspergilose pulmonar crônica (APC) incluídos no estudo (n = 30) durante todo o acompanhamento

Fonte: Elaborado pelo autor na plataforma BioRender. Disponível em: <<https://www.biorender.com>>.

A figura 5 é a representação visual dos desfechos clínicos observados durante o acompanhamento dos 30 pacientes com APC. Os pacientes evoluíram com cura (n = 1), tratamento completo (n = 3), recidiva (n = 4), falha terapêutica (n = 4), óbito (n = 7) ou perda de seguimento (n = 8).

Dos sete pacientes que evoluíram para óbito, quatro apresentavam outra condição pulmonar de gravidade, dois tinham DPOC; um, infecção pulmonar por MNT; e, um TEP. Uma paciente apresentava APCF (quadro 2).

Quadro 2 - Características demográficas, clínicas e radiológicas dos pacientes com aspergilose pulmonar crônica (APC) que evoluíram a óbito (n = 7)

Paciente	Idade	Sexo	Comorbidades	Forma clínica	Tratamento	Tempo em meses entre inclusão e óbito (mediana)
1	35	feminino	nenhuma	APCF	itraconazol	14
2	40	masculino	esclerose sistêmica	APCC	itraconazol	31
3	59	feminino	HAS, colelitíase	APCC	itraconazol	18
4	64	masculino	DPOC	APCC	anfotericina	42
5	64	masculino	DPOC, espondilite anquilosante	APCC	itraconazol	47
6	74	masculino	HAS, MNT (<i>M. abscessus</i>)	APCC	itraconazol	38
7	84	feminino	IC, TEP	APCC		0

APCC: aspergilose pulmonar crônica cavitária; APCF: aspergilose pulmonar crônica fibrosante; DPOC: doença pulmonar obstrutiva crônica; HAS: hipertensão arterial sistêmica; IC: insuficiência cardíaca; MNT: micobactéria não tuberculosa; TEP: trombo embolismo pulmonar

Na Tabela 10 são apresentados os fatores associados ao óbito. Pacientes que evoluíram a óbito apresentaram valores significativamente maiores de PCR, leucócitos, monócitos e maior tempo de sintomas. Além disso, a cultura de fungos foi menos frequentemente positiva nesse grupo.

Tabela 10 – Fatores demográficos, clínicos, radiológicos e laboratoriais associados ao óbito em pacientes com aspergilose pulmonar crônica (APC)

(continua)				
Variável	N estudado	Óbito n (%) ou mediana (1° e 3° quartis)	Não óbito (%) ou mediana (1° e 3° quartis)	p
Idade	30	64 (40-74)	54 (36-62)	0,150

Tabela 10 – Fatores demográficos, clínicos, radiológicos e laboratoriais associados ao óbito em pacientes com aspergilose pulmonar crônica (APC)

(continua)

Variável	N estudado	Óbito n (%) ou mediana (1° e 3° quartis)	Não óbito (%) ou mediana (1° e 3° quartis)	p
Sexo masculino		4 (57,1)	17 (73,9)	0,600
Cor parda ou preta		3 (42,9)	18 (78,3)	0,150
Diabetes Mellitus		0	2 (8,7)	1,000
Bronquiectasia		0	3 (13,0)	1,000
DPOC		2 (28,6)	2 (8,7)	1,000
HAS		2 (28,6)	3 (13,0)	0,560
MNT		1 (14,3)	0	0,230
HIV		0	4 (17,4)	0,550
Imunossupressor		1 (14,3)	1 (4,3)	0,420
TBP prévia		4 (57,1)	17 (73,9)	0,640
TBP atual		1 (14,3)	6 (26,1)	1,000
TBP posterior		1 (14,3)	1 (4,3)	0,420
Tosse		6 (85,7)	18 (78,3)	1,000
Expectoração		4 (57,1)	15 (65,2)	1,000
Expectoração com sangue		2 (28,6)	13 (56,5)	0,390
Febre		4 (57,1)	8 (34,8)	0,390
Emagrecimento		5 (71,4)	12 (52,2)	0,400
Dispneia		4 (57,1)	13 (56,5)	1,000
Dor torácica		3 (42,9)	6 (26,1)	0,640
Tempo de sintomas em meses	27	18 (18-60)	3 (2-17)	0,014
Cavidade	28	7 (100,0)	18 (85,7)	0,550
Bola fúngica		5 (71,4)	18 (85,7)	0,570
Espessamento pleural		4 (57,1)	14 (66,7)	0,670
Espessamento da parede da cavidade		3 (42,9)	7 (33,3)	0,670
Bronquiectasias		5 (71,4)	13 (65)	1,000
Fibrose		1 (14,3)	5 (23,8)	1,000
Elisa anti- <i>Aspergillus</i> reagente	29	4 (57,1)	11 (50,0)	1,000
IDD reagente	28	3 (42,9)	9 (42,9)	1,000
Micológico direto positivo	30	4 (57,1)	12 (52,0)	1,000
Cultura de fungos positiva	30	1 (14,3)	15 (71,4)	0,031
APCC	23	6 (85,7)	17 (73,9)	1,000

Tabela 10 – Fatores demográficos, clínicos, radiológicos e laboratoriais associados ao óbito em pacientes com aspergilose pulmonar crônica (APC)

(continua)

Variável	N estudado	Óbito n (%) ou mediana (1° e 3° quartis)	Não óbito (%) ou mediana (1° e 3° quartis)	p
APCF	4	1 (14,3)	3 (13,0)	1,000
APS	3	0	3 (13,0)	1,000
Tratamento	29	6 (85,7)	23 (100,0)	0,230
Itraconazol	26	5 (71,4)	21 (91,3)	0,220
Falha de tratamento	4	1 (14,3)	3 (13,0)	1,000
	24	81,9 (45,9– 151,6)	24,8 (10,5-62,7)	0,012
PCR	29	11860 (9580– 17900)	8760 (6160-10035)	0,007
Leucócitos		958 (659,20- 1253)	613,2 (394,9-843,9)	0,012
Monócitos				
Albumina	23	3,69 (2,70-3,78)	3,8 (3,61-4,10)	0,054
Globulina		3,8(3,60-4)	3,8 (3,45-4,675)	0,654
Proteínas		7,79 (6,93-7,52)	6,98(6,93-7,52)	0,080
SGRQ geral	14	48,5	65,02 (36,6-70,5)	0,900
SGRQ sintoma		33,0	54,79 (40,75-68,4)	0,380
SGRQ atividade		67,0	60,15 (46,9-83,5)	0,750
SGRQ impacto		42,8	60,27 (32,8-69,8)	0,450

APCC: aspergilose pulmonar crônica cavitária; APCF: aspergilose pulmonar crônica fibrosante; APS: aspergiloma pulmonar simples; DPOC: doença pulmonar obstrutiva crônica; HAS: hipertensão arterial sistêmica; HIV: vírus da imunodeficiência humana; IC: insuficiência cardíaca; IDD: imunodifusão dupla; MNT: micobactéria não tuberculosa; PCR: proteína C reativa; SGRQ: Questionário respiratório de Saint George TEP: trombo embolismo pulmonar

Mais baixos níveis séricos de albumina se mostraram independentemente associados a óbito (tabela 11).

Tabela 11 – Análise univariada e multivariada por regressão de Cox para associação com óbito em pacientes com aspergilose pulmonar crônica (APC)

Variável		Valor de		HR	Valor de	
	HR	IC 95%	p	ajustado	IC 95%	p
Albumina	0,2634	0,076- 0,912	0,035	0,1870	0,0350 – 0,9909	0,0499
Cor	0,8912	0,183 – 4,343	0,887			
Cultura de fungos	0,231	0,028 - 1,932	0,176			
Idade	1,039	0,970 – 1,113	0,274			
Leucócitos	1,0004		0,010	1,0007	0,9990 – 1,0020	0,3000
Monócitos	1,0018	1 - 1,004	0,053			
PCR	1,035	1,007 - 1,063	0,013			
Proteínas totais	0,324	0,096 – 1,094	0,695			
Tempo de sintomas	1,010	0,989 – 1,032	0,364			

Análise do transcriptoma

Foram incluídos quatro pacientes para análise de transcriptoma: dois com APC e dois controles com TB tratada sem APC. As características clínicas e laboratoriais estão resumidas na tabela 12. A quantificação de RNA variou entre 34,2 e 75 ng/μL.

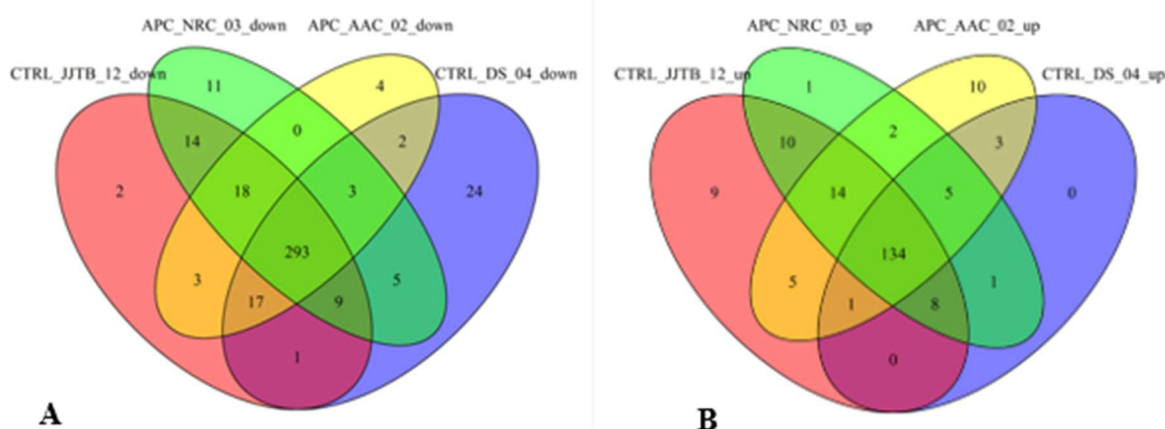
Tabela 12 - Características clínicas e laboratoriais dos pacientes submetidos à análise de transcriptoma (n = 4)

Identificação	Idade	Comorbidades	Tempo de TBP	Qubit [] (ng/μL)
Controle 1	80	DPOC	> 4 anos	75
Controle 2	52	Diabetes	< 1 ano	50
APC 1	19	bronquiectasia	Não se aplica	34.2
APC 2	84	IC; TEP	Não se aplica	68

APC: aspergilose pulmonar crônica DPOC: doença pulmonar obstrutiva crônica; IC: insuficiência cardíaca; MNT: micobactéria não tuberculosa; TEP: trombo embolismo pulmonar

Na figura 6, ilustrado em um diagrama de Venn a análise do transcriptoma com os genes subexpressos e superexpressos. Os pacientes com APC sem TB apresentaram superexpressão de dois genes relacionado à tradução proteica *EIF1AY* e *TTY15* (*eukaryotic translation initiation factor 1A Y-linked e testis-specific transcript Y-linked15 non-protein coding*), e na TBP prévia apresentou um gene com subexpressão relacionado à resposta imune *JCHAIN* (*immunoglobulin J polypeptide linker protein for immunoglobulin alpha and mu polypeptide*).

Figura 6 – Diagramas de Venn com genes diferencialmente expressos entre pacientes com APC e controles.



Fonte: Elaborado pelo autor no software R (versão 4.2.2), com uso do pacote *VennDiagram*.

Na figura 6 é possível perceber que os diagramas representam a interseção de genes diferencialmente expressos nas análises de transcriptoma. A figura A mostra os genes com subexpressão (downregulated), e a figura B, os genes com superexpressão (upregulated), considerando os grupos APC com e sem cultura positiva e os controles com tuberculose previamente tratada.

6. DISCUSSÃO

Este estudo descreve a apresentação e a evolução clínica de casos de APC diagnosticados, tratados e acompanhados em um centro de referência de Mato Grosso do Sul. Quase todos os casos correspondiam à forma APCC desenvolvida em pulmões previamente alterados por tuberculose. Após seis e doze meses de acompanhamento, apenas cerca de metade dos pacientes apresentou melhora clínica, enquanto a melhora radiológica foi observada em pouco mais de um terço dos casos – mais da metade, porém, evoluiu com piora dos padrões tomográficos. Essa dissociação entre resposta clínica e imagem evidencia que mesmo em pacientes sob tratamento pode haver progressão silenciosa da doença.

Esse achado contrasta com estudos prévios como o de Kosmidis *et al.* (2023), em que 36% dos pacientes apresentaram melhora clínica e 53% melhora radiológica, e o de Sehgal *et al.* (2022), que reportou melhora clínica e radiológica em mais da metade dos pacientes. Essas discrepâncias podem ser explicadas por diferenças nos critérios utilizados entre os estudos.

Os escores do SGRQ foram mais elevados em nossa amostra do que os descritos na literatura, tanto entre pacientes com menos de seis meses de tratamento quanto, especialmente, naqueles em tratamento há mais de seis meses. Nestes, a mediana dos domínios geral, sintomas, atividade e impacto foi mais que o dobro dos valores encontrados por Sehgal *et al.* (2023) sugerindo um comprometimento mais significativo da qualidade de vida. Embora não tenha sido observada associação entre os escores do SGRQ e mortalidade, a avaliação da qualidade de vida permanece um parâmetro relevante, já que a melhora clínica subjetiva é um dos objetivos centrais do tratamento da APC (Denning *et al.*, 2016b). Vale destacar que a ausência de significância estatística pode estar relacionada ao pequeno tamanho amostral e à limitação metodológica de não ter sido aplicado o SGRQ no início do tratamento.

A maior parte dos pacientes com APC tinha mais de 50 anos e história prévia de TBP, o que reforça o papel da TB como fator de risco importante para o desenvolvimento de APC, especialmente em países em desenvolvimento com alta prevalência de tuberculose, como o Brasil. Ao analisar o intervalo entre o tratamento da TBP e o diagnóstico de APC, observou-se que metade dos casos (50%) ocorreu em pacientes com antecedente de TB há mais de quatro anos, apontando para um risco cumulativo ao longo do tempo — achado também descrito por Volpe-Chaves *et al.* (2022).

Os sintomas mais prevalentes foram tosse (76,7%), expectoração (63,3%), perda ponderal (56,7%) e dispneia (56,7%). Esses sintomas podem estar relacionados tanto à atividade

inflamatória da doença quanto às sequelas pulmonares estruturais deixadas pelas doenças de base, que favoreceram o desenvolvimento da APC. A prevalência de febre (40%) foi inferior à descrita em estudos anteriores, como os de Akram *et al.*, (2021) e Volpe-Chaves *et al.* (2022), que relataram febre em 85,8% e 66,7% dos pacientes, respectivamente. Essa diferença pode refletir uma apresentação mais localizada da doença no trato respiratório e menor repercussão sistêmica em nossa amostra.

As alterações radiológicas mais frequentemente encontradas foram presenças de cavidades (89,3%), bolas fúngicas (82,1%) e bronquiectasias (64,3%), em concordância com outras coortes, como as de De Oliveira *et al.* (2023) e Godet *et al.*, (2016). Por outro lado, estudos realizados na África e na Ásia apontam um perfil radiológico distinto, com maior prevalência de fibrose paracavitária (60%) e espessamento pleural (20%), conforme relatado por Namusobyá *et al.* (2022), Nguyen *et al.* (2021), Ocansey *et al.* (2022) e Setianingrum *et al.* (2022). Essas diferenças podem refletir variações regionais na apresentação da APC, possíveis influências genéticas, ambientais ou mesmo limitações diagnósticas locais.

A forma clínica mais prevalente em nossa coorte foi a APCC, semelhante ao observado em estudos realizados no Reino Unido e na Austrália, onde a APCC foi identificada em 88,9% e 60% dos casos, respectivamente (Despois *et al.*, 2022; Smith; Denning, 2011). Em contraste, estudos realizados na China e na Índia relataram maior frequência de APS, com prevalência entre 53,8% e 59% (Hou *et al.*, 2017; Lakhtakia; Spalgais; Kumar, 2022) enquanto uma coorte francesa encontrou predominância de APISA em 50% dos pacientes (Camara *et al.*, 2015). Destaca-se que, em nossa amostra, não foram identificados casos de APISA nem de nódulos por *Aspergillus*. Essa ausência pode estar relacionada à natureza dinâmica e progressiva da doença, cujos diferentes fenótipos compõem um espectro clínico que varia conforme fatores estruturais pulmonares, imunológicos e epidemiológicos locais (Bongomin *et al.*, 2020a).

O exame micológico direto e a cultura de fungos em amostras respiratórias foram positivos em 53,3% dos pacientes durante o acompanhamento, um valor superior ao encontrado por De Oliveira *et al.* (2023) e Sehgal *et al.* (2019), que relataram positividade em 39% e 25,1% dos casos, respectivamente. Entre as culturas positivas, a seção *Fumigati* foi a mais frequente (50%), padrão semelhante ao descrito por Akram *et al.* (2021) e Sehgal *et al.* (2018), seguida pela seção *Nigri*. Em 25% dos casos com cultura positiva não foi possível determinar a seção, o que pode limitar a caracterização epidemiológica local dos isolados de *Aspergillus* nos pacientes com APC. Embora a cultura de fungos tenha apresentado taxas de positividade relativamente altas, a caracterização completa dos isolados foi limitada, o que reforça a

importância dos exames sorológicos como ferramentas complementares no diagnóstico da APC.

Os exames sorológicos Elisa anti-*Aspergillus* IgG e IDD foram reagentes na inclusão em 60% e 40% e em 51,7% e 42,9% durante todo o período de acompanhamento, respectivamente. A positividade do IDD foi semelhante à descrita na literatura internacional, em torno de 60%, embora inferior à observada em outra coorte brasileira (De Oliveira *et al.*, 2023a). Por outro lado, o Elisa, que em revisão sistemática demonstrou sensibilidade superior a 90% (Volpe Chaves *et al.*, 2020) apresentou baixa positividade em nossa amostra. Uma possível explicação para esse desempenho reduzido é a presença de 50% dos isolados identificados não pertencentes à seção *Fumigati*, o que pode estar associado à menor sensibilidade do teste sorológico frente a outras espécies.

Quase todos os pacientes apresentaram elevação de PCR, especialmente aqueles que evoluíram para óbito. Nesses pacientes, também foram observados aumentos significativos de leucócitos e monócitos, com diferença estatística em relação aos sobreviventes. A elevação do PCR já foi descrita em outras coortes, como as de Despois *et al.* (2022), Hou *et al.* (2017) e Jhun *et al.* (2013), reforçando a presença de um processo inflamatório relevante na APC.

Na análise de sobrevida por regressão de Cox, menores níveis de albumina foram associados a maior risco de mortalidade, achado semelhante ao descrito por Kosmidis *et al.* (2023). Esse resultado pode refletir um estado inflamatório mais intenso, maior carga de doença e pior estado nutricional sugerindo que na APC, a hipoalbuminemia pode atuar como marcador prognóstico e alvo potencial de intervenção nutricional.

Os pacientes que evoluíram para óbito apresentaram menor taxa de positividade nas culturas de amostras das vias aéreas, o que pode estar relacionado à demora no diagnóstico. Esse atraso também se refletiu no maior intervalo entre o início dos sintomas e o início do tratamento nesse grupo. A mediana para início do tratamento foi de 13 meses, valor semelhante ao descrito por De Oliveira *et al.* (2023), e possivelmente contribuiu para a pior evolução clínica. O atraso terapêutico pode permitir a progressão da doença para formas fibrosantes, aumentando o risco de complicações graves como hemoptises ameaçadoras à vida e insuficiência respiratória.

O tratamento antifúngico foi indicado para quase todos os pacientes, sendo o itraconazol a medicação mais prescrita, com mediana de duração de 14 meses, semelhante ao descrito em outras coortes (De Oliveira *et al.*, 2023a; Despois *et al.*, 2022). Em 50% dos casos, o tempo de tratamento ultrapassou 12 meses, o que pode ter contribuído para a baixa taxa de recidiva observada (13,3%), inferior à relatada por Bongomin *et al.* (2020) e Im *et al.* (2021), que identificaram necessidade de retratamento em 42% e 35% dos pacientes, respectivamente.

Durante o período de acompanhamento, a taxa de óbito foi de 23,3%, valor próximo ao encontrado na revisão de Sengupta *et al.* (2024), que reportou 27%. Falha terapêutica foi observada em 13,3% dos casos, semelhante ao estudo de Bongomin *et al.* (2018), no qual a falha ao itraconazol ocorreu em 13%. Nesses pacientes, o voriconazol foi a medicação de segunda linha utilizada. Apenas 10% dos pacientes completaram o tratamento proposto, e a cura foi documentada em um único caso.

A análise transcriptômica revelou expressão residual dos genes ligados ao cromossomo Y *EIF1AY* e *TTY15* em amostras de monócitos provenientes exclusivamente de pacientes do sexo feminino. Como esses genes são normalmente restritos a indivíduos portadores de cromossomo Y e não possuem função imunológica conhecida fora do testículo, tal achado provavelmente reflete ruído técnico, erro de anotação de metadados ou contaminação cruzada na fase de processamento do RNA, e não um fenômeno biológico relevante para a APC. Resultados semelhantes já foram descritos em estudos de expressão gênica quando não há controle estrito de qualidade para genes sex-específicos (Godfrey *et al.*, 2020; Jansen *et al.*, 2014). Portanto, recomenda-se cautela na interpretação de genes cromossomo-específicos em conjuntos de dados com amostras heterogêneas quanto ao sexo.

De forma inesperada, observou-se subexpressão de genes relacionados às imunoglobulinas IgA (cadeia alfa), IgM (mu) e cadeia leve lambda nos pacientes com antecedente de TBP. Esses genes estão associados à resposta humoral adaptativa, particularmente à imunidade de mucosa, que tem papel central na defesa pulmonar. A redução da expressão desses genes pode indicar comprometimento da imunidade da mucosa nesses indivíduos, possivelmente como consequência de lesões estruturais pulmonares, esgotamento funcional de linfócitos B ou reprogramação imunológica pós-TB. Essa deficiência na resposta adaptativa local pode favorecer a colonização crônica por *Aspergillus spp.* e a progressão para formas clínicas da APC (Johansen; Braathen; Brandtzaeg, 2001; Kawasaki *et al.*, 2024; Yoo *et al.*, 1999).

A análise de enriquecimento gênico (como GO ou KEGG) não foi realizada devido ao número reduzido de genes diferencialmente expressos e ao tamanho limitado da amostra. Nessas condições, a aplicação dessas ferramentas poderia comprometer a robustez estatística e levar a interpretações pouco confiáveis. Optou-se, portanto, por concentrar a análise nos genes com maior relevância biológica individual.

Esses achados sugerem perfis imunes distintos entre pacientes com APC e TB tratados, embora as conclusões sejam limitadas pelo pequeno tamanho amostral e ausência de replicação biológica.

7. CONCLUSÕES

A APC apresentou-se, nesta coorte, como uma condição de curso insidioso, com predomínio de sintomas respiratórios, achados tomográficos cavitários e impacto importante na qualidade de vida, mesmo após o início do tratamento antifúngico. A forte associação com TBP reforça a importância do rastreamento em pacientes com história respiratória crônica, especialmente em países com alta carga de TB como o Brasil.

A avaliação do transcriptoma de monócitos em pacientes com APC revelou expressão inesperada dos genes *EIF1AY* e *TTY15*, ambos localizados no cromossomo Y, em amostras provenientes exclusivamente de pacientes do sexo feminino. Considerando que esses genes não são expressos em indivíduos XX, este achado provavelmente reflete um ruído técnico, erro de anotação ou contaminação cruzada durante o processamento dos dados, e não possui relevância biológica para a resposta imune na APC. Em contrapartida, nos pacientes com antecedente de TBP, observou-se subexpressão de genes relacionados às imunoglobulinas IgA (cadeia alfa), IgM (mu) e cadeia leve lambda, sugerindo possível comprometimento da imunidade adaptativa de mucosa. Essa deficiência pode favorecer a colonização crônica das vias aéreas por *Aspergillus spp.* e contribuir para a evolução clínica da APC em indivíduos com lesão pulmonar estrutural prévia.

Apesar da frequência de melhora clínica, a progressão radiológica observada na maioria dos casos sugere que a APC pode evoluir de forma silenciosa, com deterioração pulmonar mesmo sob tratamento. Os achados laboratoriais de inflamação sistêmica exacerbada (elevação de PCR, leucócitos e monócitos) e hipoalbuminemia, associados à mortalidade, apontam para marcadores prognósticos potenciais a serem investigados em estudos futuros. Além disso, a baixa positividade das culturas nos casos fatais pode indicar perda da janela diagnóstica ideal, destacando a necessidade de maior vigilância clínica e acesso oportuno a exames específicos.

Esses dados contribuem para a compreensão do perfil clínico, radiológico, inflamatório e prognóstico da APC em um cenário real, e reforçam a urgência de estratégias de diagnóstico precoce e seguimento estruturado em pacientes com doença pulmonar crônica. Estudos multicêntricos, com maior número de pacientes e acompanhamento longitudinal, são essenciais para validar esses achados e orientar intervenções precoces capazes de modificar o curso da doença.

8. REFERÊNCIAS

AKRAM, W. *et al.* Clinical manifestations, associated risk factors and treatment outcomes of Chronic Pulmonary Aspergillosis (CPA): Experiences from a tertiary care hospital in Lahore, Pakistan. **PLOS ONE**, [s. l.], v. 16, n. 11, p. e0259766, 2021.

AL-SHAIR, K. *et al.* Validity and reliability of the St. George's Respiratory Questionnaire in assessing health status in patients with chronic pulmonary aspergillosis. **Chest**, [s. l.], v. 144, n. 2, p. 623–631, 2013.

BENNETT, J. E.; DOLIN, R.; BLASER, M. J. (org.). **Mandell, Douglas, and Bennett's principles and practice of infectious diseases**. Ninth edition. Philadelphia, PA: Elsevier, 2020.

BERTUZZI, M. *et al.* Anti-Aspergillus Activities of the Respiratory Epithelium in Health and Disease. **Journal of Fungi**, [s. l.], v. 4, n. 1, p. 8, 2018.

BONGOMIN, F. *et al.* Innate and Adaptive Immune Defects in Chronic Pulmonary Aspergillosis. **Journal of Fungi**, [s. l.], v. 3, n. 2, p. 26, 2017.

BONGOMIN, F. *et al.* Twelve-month clinical outcomes of 206 patients with chronic pulmonary aspergillosis. **PLOS ONE**, [s. l.], v. 13, n. 4, p. e0193732, 2018.

BONGOMIN, F. *et al.* Chronic Pulmonary Aspergillosis: Notes for a Clinician in a Resource-Limited Setting Where There Is No Mycologist. **Journal of Fungi (Basel, Switzerland)**, [s. l.], v. 6, n. 2, p. 75, 2020a.

BONGOMIN, F. *et al.* Risk factors for relapse of chronic pulmonary aspergillosis after discontinuation of antifungal therapy. **Clinical Infection in Practice**, [s. l.], v. 5, p. 100015, 2020b.

BONGOMIN, F.; OTU, A. Utility of St. George's respiratory questionnaire in predicting clinical recurrence in chronic pulmonary aspergillosis. **Therapeutic Advances in Infectious Disease**, [s. l.], v. 8, p. 20499361211034643, 2021.

BROWN, G. D. *et al.* Hidden Killers: Human Fungal Infections. **Science Translational Medicine**, [s. l.], v. 4, n. 165, 2012. Disponível em: <https://www.science.org/doi/10.1126/scitranslmed.3004404>. Acesso em: 9 jan. 2025.

BRUCE ALBERTS; ALEXANDER JOHNSON; JULIAN LEWIS; DAVID MORGAN; ET AL. **Biologia molecular da célula**. 6. ed. [S. l.: s. n.], 2017.

CAMARA, B. *et al.* Characteristics and outcomes of chronic pulmonary aspergillosis: a retrospective analysis of a tertiary hospital registry. **The Clinical Respiratory Journal**, [s. l.], v. 9, n. 1, p. 65–73, 2015.

CAMARGO, J. F.; HUSAIN, S. Immune correlates of protection in human invasive aspergillosis. **Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America**, [s. l.], v. 59, n. 4, p. 569–577, 2014.

CHIRUMAMILLA, N. K. *et al.* Innate and adaptive immune responses in subjects with CPA secondary to post-pulmonary tuberculosis lung abnormalities. **Mycoses**, [s. l.], v. 67, n. 5, p. e13746, 2024.

COLOMBO, S. A. P. *et al.* Defective Interferon-Gamma Production Is Common in Chronic Pulmonary Aspergillosis. **The Journal of Infectious Diseases**, [s. l.], v. 225, n. 10, p. 1822–1831, 2022.

DE JONG, E.; BOSCO, A. Unlocking immune-mediated disease mechanisms with transcriptomics. **Biochemical Society Transactions**, [s. l.], v. 49, n. 2, p. 705–714, 2021.

DE OLIVEIRA, V. F. *et al.* Challenges, Characteristics, and Outcomes of Chronic Pulmonary Aspergillosis: A 11-Year Experience in A Middle-Income Country. **Mycopathologia**, [s. l.], v. 188, n. 5, p. 683–691, 2023a.

DE OLIVEIRA, V. F. *et al.* Sensitivity of Antigen, Serology, and Microbiology Assays for Diagnosis of the Subtypes of Chronic Pulmonary Aspergillosis at a Teaching Hospital in São Paulo, Brazil. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, [s. l.], v. 108, n. 1, p. 22–26, 2023b.

DENNING, D. W.; PLEUVRY, A.; COLE, D. C. Global burden of chronic pulmonary aspergillosis as a sequel to pulmonary tuberculosis. **Bulletin of the World Health Organization**, [s. l.], v. 89, n. 12, p. 864–872, 2011.

DENNING, D. W. *et al.* Chronic pulmonary aspergillosis: rationale and clinical guidelines for diagnosis and management. **The European Respiratory Journal**, [s. l.], v. 47, n. 1, p. 45–68, 2016a.

DENNING, D. W. *et al.* Chronic pulmonary aspergillosis: rationale and clinical guidelines for diagnosis and management. **The European Respiratory Journal**, [s. l.], v. 47, n. 1, p. 45–68, 2016b.

DENNING, D. W. *et al.* Case Definition of Chronic Pulmonary Aspergillosis in Resource-Constrained Settings. **Emerging Infectious Diseases**, [s. l.], v. 24, n. 8, p. e171312, 2018.

DESPOIS, O. *et al.* Chronic Pulmonary Aspergillosis: Burden, Clinical Characteristics and Treatment Outcomes at a Large Australian Tertiary Hospital. **Journal of Fungi**, [s. l.], v. 8, n. 2, p. 110, 2022.

DONG, Z.; CHEN, Y. Transcriptomics: Advances and approaches. **Science China Life Sciences**, [s. l.], v. 56, n. 10, p. 960–967, 2013.

DOUGLAS, A. P. *et al.* Consensus guidelines for the diagnosis and management of invasive aspergillosis, 2021. **Internal Medicine Journal**, [s. l.], v. 51 Suppl 7, p. 143–176, 2021.

FARID, S. *et al.* Results of surgery for chronic pulmonary Aspergillosis, optimal antifungal therapy and proposed high risk factors for recurrence - a National Centre's experience. **Journal of Cardiothoracic Surgery**, [s. l.], v. 8, n. 1, p. 180, 2013.

GAGO, S. *et al.* Lung colonization by *Aspergillus fumigatus* is controlled by ZNF77. **Nature Communications**, [s. l.], v. 9, n. 1, p. 3835, 2018.

GARG, M. *et al.* Imaging Spectrum in Chronic Pulmonary Aspergillosis. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, [s. l.], v. 108, n. 1, p. 15–21, 2023.

GIACOMAZZI, J. *et al.* The burden of serious human fungal infections in Brazil. **Mycoses**, [s. l.], v. 59, n. 3, p. 145–150, 2016.

GODET, C. *et al.* CT Imaging Assessment of Response to Treatment in Chronic Pulmonary Aspergillosis. **Chest**, [s. l.], v. 150, n. 1, p. 139–147, 2016.

GODFREY, A. K. *et al.* Quantitative analysis of Y-Chromosome gene expression across 36 human tissues. **Genome Research**, [s. l.], v. 30, n. 6, p. 860–873, 2020.

HAYES, G.; NOVAK-FRAZER, L. Chronic Pulmonary Aspergillosis—Where Are We? and Where Are We Going?. **Journal of Fungi**, [s. l.], v. 2, n. 2, p. 18, 2016.

HE, Q. *et al.* Pentraxin 3 Gene Polymorphisms and Pulmonary Aspergillosis in Chronic Obstructive Pulmonary Disease Patients. **Clinical Infectious Diseases**, [s. l.], v. 66, n. 2, p. 261–267, 2018.

HOU, X. *et al.* Clinical features and diagnosis of chronic pulmonary aspergillosis in Chinese patients. **Medicine**, [s. l.], v. 96, n. 42, p. e8315, 2017.

HUERTA, A. *et al.* Importance of *Aspergillus* spp. isolation in Acute exacerbations of severe COPD: prevalence, factors and follow-up: the FUNGI-COPD study. **Respiratory Research**, [s. l.], v. 15, n. 1, p. 17, 2014.

IM, Y. *et al.* Impact of treatment duration on recurrence of chronic pulmonary aspergillosis. **Journal of Infection**, [s. l.], v. 83, n. 4, p. 490–495, 2021.

JANSEN, R. *et al.* Sex differences in the human peripheral blood transcriptome. **BMC Genomics**, [s. l.], v. 15, n. 1, p. 33, 2014.

JHUN, B. W. *et al.* Clinical characteristics and treatment outcomes of chronic pulmonary aspergillosis. **Medical Mycology**, [s. l.], v. 51, n. 8, p. 811–817, 2013.

JOHANSEN, F. E.; BRAATHEN, R.; BRANDTZAEG, P. The J chain is essential for polymeric Ig receptor-mediated epithelial transport of IgA. **Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)**, [s. l.], v. 167, n. 9, p. 5185–5192, 2001.

JONES, P. W. *et al.* A Self-complete Measure of Health Status for Chronic Airflow Limitation: The St. George's Respiratory Questionnaire. **American Review of Respiratory Disease**, [s. l.], 2012. Disponível em: <https://www.atsjournals.org/doi/epdf/10.1164/ajrcem/145.6.1321?role=tab>. Acesso em: 29 jan. 2025.

JONES, E. F. *et al.* Quantifying transcriptome diversity: a review. **Briefings in Functional Genomics**, [s. l.], v. 23, n. 2, p. 83–94, 2024.

KANG, N.; PARK, J.; JHUN, B. W. Clinical Characteristics and Treatment Outcomes of Pathologically Confirmed *Aspergillus* Nodules. **Journal of Clinical Medicine**, [s. l.], v. 9, n. 7, p. 2185, 2020.

KANJ, A.; ABDALLAH, N.; SOUBANI, A. O. The spectrum of pulmonary aspergillosis. **Respiratory Medicine**, [s. l.], v. 141, p. 121–131, 2018.

KAWASAKI, K. *et al.* The immunoglobulin J chain is an evolutionarily co-opted chemokine. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, [s. l.], v. 121, n. 3, p. e2318995121, 2024.

KOSMIDIS, C. *et al.* Predictive factors for treatment response and mortality in chronic pulmonary aspergillosis. **Mycoses**, [s. l.], v. 66, n. 11, p. 960–968, 2023.

LAKHTAKIA, L.; SPALGAIS, S.; KUMAR, R. Spectrum of pulmonary aspergillus diseases in post TB lung diseases. **Indian Journal of Tuberculosis**, [s. l.], v. 69, n. 4, p. 523–529, 2022.

LARKIN, P. M. K. *et al.* A Collaborative Tale of Diagnosing and Treating Chronic Pulmonary Aspergillosis, from the Perspectives of Clinical Microbiologists, Surgical Pathologists, and Infectious Disease Clinicians. **Journal of Fungi (Basel, Switzerland)**, [s. l.], v. 6, n. 3, p. 106, 2020.

LATGÉ, J.-P.; CHAMILOS, G. Aspergillus fumigatus and Aspergillosis in 2019. **Clinical Microbiology Reviews**, [s. l.], v. 33, n. 1, p. e00140-18, 2019.

MAGHRABI, F.; DENNING, D. W. The Management of Chronic Pulmonary Aspergillosis: The UK National Aspergillosis Centre Approach. **Current Fungal Infection Reports**, [s. l.], v. 11, n. 4, p. 242–251, 2017.

NAM, Y. *et al.* Chronic cavitary pulmonary aspergillosis: Serial clinical and CT findings correlated with antifungal treatment and patient response. **Mycoses**, [s. l.], v. 66, n. 2, p. 106–117, 2023.

NAMUSOBYA, M. *et al.* Chronic pulmonary aspergillosis in patients with active pulmonary tuberculosis with persisting symptoms in Uganda. **Mycoses**, [s. l.], v. 65, n. 6, p. 625–634, 2022.

NGUYEN, N. T. B. *et al.* Chronic Pulmonary Aspergillosis Situation among Post Tuberculosis Patients in Vietnam: An Observational Study. **Journal of Fungi**, [s. l.], v. 7, n. 7, p. 532, 2021.

OCANSEY, B. K. *et al.* Chronic pulmonary aspergillosis is common among patients with presumed tuberculosis relapse in Ghana. **Medical Mycology**, [s. l.], v. 60, n. 9, p. myac063, 2022.

OLADELE, R. O. *et al.* Chronic pulmonary aspergillosis as a cause of smear-negative TB and/or TB treatment failure in Nigerians. **The International Journal of Tuberculosis and Lung Disease**, [s. l.], v. 21, n. 9, p. 1056–1061, 2017.

OTU, A. *et al.* The clinical spectrum of aspergillosis in chronic obstructive pulmonary disease. **Infection**, [s. l.], v. 51, n. 4, p. 813–829, 2023.

OUCHTERLONY, O. Antigen-antibody reactions in gels. IV. Types of reactions in coordinated systems of diffusion. **Acta Pathologica Et Microbiologica Scandinavica**, [s. l.], v. 32, n. 2, p. 230–240, 1953.

PATTERSON, T. F. *et al.* Practice Guidelines for the Diagnosis and Management of Aspergillosis: 2016 Update by the Infectious Diseases Society of America. **Clinical Infectious**

Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America, [s. l.], v. 63, n. 4, p. e1–e60, 2016.

SEHGAL, I. S. *et al.* Diagnostic cut-off of *Aspergillus fumigatus* -specific IgG in the diagnosis of chronic pulmonary aspergillosis. **Mycoses**, [s. l.], v. 61, n. 10, p. 770–776, 2018.

SEHGAL, I. S. *et al.* Monitoring treatment response in chronic pulmonary aspergillosis: role of clinical, spirometric and immunological markers. **Clinical Microbiology and Infection**, [s. l.], v. 25, n. 9, p. 1157.e1-1157.e7, 2019.

SEHGAL, I. S. *et al.* Efficacy of 12-months oral itraconazole versus 6-months oral itraconazole to prevent relapses of chronic pulmonary aspergillosis: an open-label, randomised controlled trial in India. **The Lancet Infectious Diseases**, [s. l.], v. 22, n. 7, p. 1052–1061, 2022.

SEHGAL, I. S.; AGARWAL, R. Diagnosis of Chronic Pulmonary Aspergillosis: Which Is the Best Investigation?. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, [s. l.], v. 108, n. 6, p. 1300, 2023.

SEHGAL, I. S. *et al.* Comparison of three sample types for performing LDBio Aspergillus immunochromatographic technology lateral flow assay for IgG/IgM antibody detection in chronic aspergillosis. **Clinical Microbiology and Infection**, [s. l.], v. 29, n. 3, p. 404–405, 2023a.

SEHGAL, I. S. *et al.* Role of C-Reactive Protein and Erythrocyte Sedimentation Rate in the Diagnosis and Monitoring of Treatment Response in Treatment Naïve Subjects with Chronic Pulmonary Aspergillosis. **Mycopathologia**, [s. l.], v. 188, n. 5, p. 705–711, 2023b.

SEHGAL, I. S. *et al.* The minimal important difference of Saint George's Respiratory Questionnaire in subjects with chronic pulmonary aspergillosis. **Medical Mycology**, [s. l.], v. 61, n. 5, p. myad048, 2023c.

SENGUPTA, A. *et al.* Mortality in chronic pulmonary aspergillosis: a systematic review and individual patient data meta-analysis. **The Lancet Infectious Diseases**, [s. l.], p. S147330992400567X, 2024.

SETIANINGRUM, F. *et al.* A prospective longitudinal study of chronic pulmonary aspergillosis in pulmonary tuberculosis in Indonesia (APICAL). **Thorax**, [s. l.], v. 77, n. 8, p. 821–828, 2022.

SETIANINGRUM, F. *et al.* Clinical outcomes of patients with chronic pulmonary aspergillosis managed surgically. **European Journal of Cardio-Thoracic Surgery**, [s. l.], v. 58, n. 5, p. 997–1003, 2020.

SHEN, C. *et al.* Outcomes of surgery for different types of chronic pulmonary aspergillosis: results from a single-center, retrospective cohort study. **BMC Pulmonary Medicine**, [s. l.], v. 22, n. 1, p. 40, 2022.

SHINFUKU, K. *et al.* Validity of Platelia Aspergillus IgG and Aspergillus Precipitin Test To Distinguish Pulmonary Aspergillosis from Colonization. **Microbiology Spectrum**, [s. l.], v. 11, n. 1, p. e03435-22, 2023.

SINGH, S. *et al.* LDBio *Aspergillus* immunochromatographic test lateral flow assay for IgG/IgM antibody detection in chronic pulmonary aspergillosis: Single-centre evaluation and meta-analysis. **Indian Journal of Medical Microbiology**, [s. l.], v. 40, n. 2, p. 204–210, 2022.

SMITH, N. L.; DENNING, D. W. Underlying conditions in chronic pulmonary aspergillosis including simple aspergilloma. **The European Respiratory Journal**, [s. l.], v. 37, n. 4, p. 865–872, 2011.

SMITH, N. L. D. *et al.* A prominent role for the IL1 pathway and IL15 in susceptibility to chronic cavitary pulmonary aspergillosis. **Clinical Microbiology and Infection**, [s. l.], v. 20, n. 8, p. O480–O488, 2014.

SMITH, N. L. D. *et al.* Elevated levels of the neutrophil chemoattractant pro-platelet basic protein in macrophages from individuals with chronic and allergic aspergillosis. **The Journal of Infectious Diseases**, [s. l.], v. 211, n. 4, p. 651–660, 2015.

STUCKY HUNTER, E.; RICHARDSON, M. D.; DENNING, D. W. Evaluation of LDBio *Aspergillus* ICT Lateral Flow Assay for IgG and IgM Antibody Detection in Chronic Pulmonary Aspergillosis. **Journal of Clinical Microbiology**, [s. l.], v. 57, n. 9, p. e00538-19, 2019.

THOMPSON, G. R.; YOUNG, J.-A. H. *Aspergillus* Infections. **New England Journal of Medicine**, [s. l.], v. 385, n. 16, p. 1496–1509, 2021.

TOMEI, J. F. *et al.* Specific IgG4 responses during chronic and transient antigen exposure in aspergillosis. **American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine**, [s. l.], v. 153, n. 6 Pt 1, p. 1952–1957, 1996.

TRUDA, V. S. S. *et al.* A contemporary investigation of burden and natural history of aspergillosis in people living with HIV / AIDS. **Mycoses**, [s. l.], v. 66, n. 7, p. 632–638, 2023.

VAN BRAECKEL, E. *et al.* Treatment outcome definitions in chronic pulmonary aspergillosis: a CPAnet consensus statement. **European Respiratory Journal**, [s. l.], v. 59, n. 6, p. 2102950, 2022a.

VAN BRAECKEL, E. *et al.* Treatment outcome definitions in chronic pulmonary aspergillosis: a CPAnet consensus statement. **European Respiratory Journal**, [s. l.], v. 59, n. 6, p. 2102950, 2022b.

VAN DE VEERDONK, F. L. *et al.* *Aspergillus fumigatus* morphology and dynamic host interactions. **Nature Reviews. Microbiology**, [s. l.], v. 15, n. 11, p. 661–674, 2017.

VENTURINI, J. *et al.* Phenotypic and functional evaluations of peripheral blood monocytes from chronic-form paracoccidioidomycosis patients before and after treatment. **BMC Infectious Diseases**, [s. l.], v. 14, n. 1, p. 552, 2014.

VISAGIE, C. M. *et al.* A review of recently introduced *Aspergillus*, *Penicillium*, *Talaromyces* and other *Eurotiales* species. **Studies in Mycology**, [s. l.], v. 107, n. 1, p. 1–66, 2024.

VOLPE CHAVES, C. E. *et al.* Accuracy of serological tests for diagnosis of chronic pulmonary aspergillosis: A systematic review and meta-analysis. **PloS One**, [s. l.], v. 15, n. 3, p. e0222738, 2020.

VOLPE CHAVES, C. E. *et al.* Prevalence of chronic pulmonary aspergillosis regarding time of tuberculosis diagnosis in Brazil. **Mycoses**, [s. l.], v. 65, n. 7, p. 715–723, 2022.

WÉRY, N. Bioaerosols from composting facilities - a review. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, [s. l.], v. 4, 2014. Disponível em: <http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fcimb.2014.00042/abstract>. Acesso em: 15 nov. 2024.

WALSH, T. J.; HAYDEN, R. T.; LARONE, D. H. **Larone's Medically Important Fungi: A Guide to Identification**. Washington, DC, USA: ASM Press, 2018. Disponível em: <http://doi.wiley.com/10.1128/9781555819880>. Acesso em: 29 maio 2023.

WHO FUNGAL PRIORITY PATHOGENS LIST TO GUIDE RESEARCH, DEVELOPMENT AND PUBLIC HEALTH ACTION. 1st eded. Geneva: World Health Organization, 2022.

YOO, E. M. *et al.* Structural requirements for polymeric immunoglobulin assembly and association with J chain. **The Journal of Biological Chemistry**, [s. l.], v. 274, n. 47, p. 33771–33777, 1999.