

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM DOENÇAS
INFECCIOSAS E PARASITÁRIAS**

MICHELE SCARDINE CORRÊA DE LEMOS

**MONITORAMENTO DE AEROCONTAMINAÇÃO POR *Aspergillus*
spp. EM HOSPITAL TERCIÁRIO DE CAMPO GRANDE**

CAMPO GRANDE 2022

MICHELE SCARDINE CORRÊA DE LEMOS

**MONITORAMENTO DE AEROCONTAMINAÇÃO POR *Aspergillus*
spp. EM HOSPITAL TERCIÁRIO DE CAMPO GRANDE**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Doenças Infecciosas e Parasitárias da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Doenças Infecciosas e Parasitárias.

Orientadora: Prof^a Dr^a Marilene Rodrigues Chang

CAMPO GRANDE 2022

MICHELE SCARDINE CORRÊA DE LEMOS

**MONITORAMENTO DE AEROCONTAMINAÇÃO POR *Aspergillus*
spp. EM HOSPITAL TERCIÁRIO DE CAMPO GRANDE**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Doenças Infecciosas e Parasitárias da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Doenças Infecciosas e Parasitárias.

Orientadora: Prof^a Dr^a Marilene Rodrigues Chang

A banca examinadora, após a avaliação do trabalho, atribuiu a candidata o conceito_____.

2022. Campo Grande, MS, 30 de setembro de

Banca examinadora:

Nota/Conceito

Dra. Marilene Rodrigues Chang – FACFAN – UFMS

Dra. Anamaria Mello Miranda Paniago –UFMS

Dra. Rosianne Assis de Sousa Tsujisaki – UFPB

Dra. Sandra Maria do Valle Leone de Oliveira – UFMS

Dra. Ana Rita Barbieri – HUMAP

Ao meu esposo Celso França de Lemos, que sempre me encorajou e me apoiou. Por seu cuidado, abnegação e sacrifícios para me proporcionar tranquilidade para realizar este trabalho. As minhas filhas Beatriz Scardine e Heloísa Scardine, que são minha esperança no futuro. Por entenderem minhas ausências e me motivarem a cada dia.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, por me conceder o dom da vida e me permitir realizar este trabalho com entusiasmo.

A minha família, meu pai Dorival Alves Corrêa, minha mãe Angela Scardine Corrêa e minha tia Angela Maria Scardine, por toda ajuda e esforço em tornar meus dias mais leves.

A minha orientadora professora Dr^a. Marilene Rodrigues Chang, pela generosidade, pela grande oportunidade, por todo aprendizado, pela confiança, paciência e amizade. Muito obrigada!

As minhas amigas do Laboratório de Micologia Nayara Moreno, Suellen Ferreira, Daniele Venâncio, Cláudia Liz Rodrigues, Amanda Colman, Denise Leme e Maína Nunes, por toda ajuda, ensinamentos, amizade e pelos bons momentos compartilhados.

Ao Dr. Wellington Fava (Weg), por todo ensinamento, disposição e cooperação neste projeto.

Ao Laboratório de Doenças Infecciosas e Parasitárias da FAMED-UFMS, na pessoa do professor Dr. James Venturini e ao Núcleo de Micologia do Instituto Adolfo Lutz, na pessoa da professora Dr^a. Márcia de Souza Carvalho Melhem pelo apoio e interesse em colaborar com este trabalho.

À Comissão de Controle de Infecção Hospitalar (CCIH) do Hospital Universitário Maria Aparecida Pedrossian (HUMAP), na pessoa do Dr. Minoru German Higa Júnior, pelo apoio e disposição em colaborar com esta pesquisa.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), Fundação de Apoio ao Desenvolvimento do Ensino, Ciência e Tecnologia do Estado de Mato Grosso do Sul (FUNDECT), à Agência de Cooperação Internacional do Japão (JICA) e Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS) pelo apoio financeiro.

RESUMO

Espécies de *Aspergillus* são fungos produtores de esporos que são dispersos no ar ambiente. A inalação dessas partículas pode levar desde um processo alérgico, ou uma infecção pulmonar primária até uma infecção disseminada, comumente fatal em pacientes com condição de imunodepressão. *Aspergillus* são responsáveis pela segunda maior ocorrência de infecções fúngicas invasivas em hospitais terciários. O objetivo deste estudo foi investigar a aerocontaminação por *Aspergillus* em ar condicionado e ar ambiente de um hospital terciário de Campo Grande-MS e determinar o perfil de suscetibilidade antifúngica dos isolados. No ano de 2021, amostras de ar foram coletadas na Unidade de Clínica Médica (UCM), Unidade de Cuidados Intensivos/Semi-Intensivos (UCIS) e Unidade de Urgência e Emergência (UUE) com uso de amostrador de ar (100L/min por 1min) contendo placas de ágar Dicloran Rosa Bengala. As placas foram incubadas por 72 h a 30°C. Os *Aspergillus* foram identificados a nível de seção por meio de suas características macro e microscópicas e confirmadas por PCR e sequenciamento de DNA. A suscetibilidade aos antifúngicos itraconazol, voriconazol e posaconazol foi determinada pelo teste de triagem conforme recomendação do EUCAST e a resistência foi confirmada com a metodologia de microdiluição em caldo (EUCAST E.Def. 9.3.2). Foram realizadas 238 amostragens, 184 do ar ambiente e 54 de ar condicionados. Cerca de 4.300 colônias de fungos foram isoladas. Dentre estas, 324 (7,54%) colônias eram de *Aspergillus* spp. Estes foram identificados a nível de seção como sendo 95 (29,5%) da seção *Fumigati*, 89 (27,4%) da seção *Nigri*; 73 (22,5%) da seção *Versicolores*; 38 (11,7%) da seção *Flavi*; 17 (5,2%) da seção *Nidulantes*; 10 (3,1%) da seção *Terrei* e em 2 (0,6%) não foi possível identificar a seção. *Aspergillus* da seção *Fumigati* foram mais isolados no inverno e na UCIS. No teste de triagem realizado com 148/324 *Aspergillus* foi observada resistência em 16 (10,8%). A resistência a pelo menos um antifúngico foi confirmada em quatro (12,5%) isolados de *A. fumigatus*, dois (3,7%) *A. flavus*, dois (3,7%) da seção *Nigri*, sendo um (1,85%) *A. tubingensis* e 8 (32,0%) da seção *Versicolores*, sendo cinco (20,0%) *A. sydowii*. No ar ambiente e no ar condicionado de unidades hospitalares, onde se encontram pacientes críticos, foram isolados fungos do gênero *Aspergillus* que podem causar aspergilose invasiva. No ar ambiente do hospital foram identificados *A. fumigatus* resistentes a azóis, fungos esses que podem causar aspergilose de difícil tratamento. O monitoramento do ar de unidades hospitalares com pacientes críticos é essencial como subsídio para implementação de melhorias na qualidade do ar ambiente minimizar o risco de aquisição de aspergilose pulmonar e invasiva.

Descritores: Aspergilose, antifúngicos, poluição do ar, fungos filamentosos.

ABSTRACT

Aspergillus species are fungi that produce spores that are dispersed in the ambient air. Inhalation of these particles can lead from an allergic process, or a primary pulmonary infection until disseminated infection, commonly fatal in immunosuppressed patients. *Aspergillus* are responsible for the second highest occurrence of invasive fungal infections in tertiary hospitals. The objective of this study was to investigate aerocontamination by *Aspergillus* in conditioning air and indoor air of a tertiary hospital in Campo Grande- MS and to determine the antifungal susceptibility profile of the isolates. In the year 2021 air samples were collected at the Medical Clinic Unit (UCM), Intensive/Semi- Intensive Care Unit (UCIS), Urgent, and Emergency Unit (UUE) using an air sampler (volume of 100L/min for 1min) containing dichloran rose bengal agar plates. The plates were incubated for 72 h at 30°C. *Aspergillus* were identified at section level through their macro and microscopic characteristics and confirmed by PCR and DNA sequencing. Resistance to the antifungals itraconazole, voriconazole and posaconazole was determined by screening test as recommended by EUCAST, and resistance was confirmed with the broth microdilution methodology (EUCAST E.Def. 9.3.2). During one year of sampling total of 238 air samples were collected (ambient air= 184 and conditioning air=54). About 4.300 fungal colonies were isolated. Among these, 324 of *Aspergillus* spp. Through the phenotypic characteristics, the isolates were identified at the section level being 29.5% from the *Fumigati* section, 27.4% from the *Nigri* section, 22.5% from the *Versicolores* section, 11.7% from the *Flavi* section, 5.2 % from *Nidulantes* section, 3.1% from *Terrei* section, and in 0.6% it was not possible to identify the section. *Aspergillus* from de *Fumigati* section were more isolated in the winter and in the UCIS. The azole antifungal screening test was performed in 148/324 isolates. Of these, the broth microdilution test was performed with 16 (10.8%) isolates to confirm resistance. Four (12.5%) isolated from the *A. fumigatus*, 2 (3.7%) from the *A. flavus*, two (3.7%) from the *Nigri*, being one (1.85%) *A. tubingensis* and 8 (32%) from the *Versicolores* section, being five (20.0%) *A. sydowii*, which showed resistance to at least one antifungal. In the conditioning air and indoor air of hospital units, where critical patients are found, were isolated fungi of the *Aspergillus* genus that can cause invasive aspergillosis. *Aspergillus fumigatus* resistant on the ambient air may favor aspergillosis of difficult treatment. Air monitoring of hospital units with critical patients is essential as a subsidy for implementing improvements in hospital air quality minimizing the acquisition of pulmonary and invasive aspergillosis.

Descriptors: aspergillosis, antifungal agents, air pollution, fungi

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Fotos de diferentes culturas (macromorfologia) de <i>Aspergillus</i> sp. cultivados em ágar batata após 72h de incubação a 30° C.....	14
Figura 2 -	Fotos ilustrando micromorfologia de <i>Aspergillus</i> sp. em microcultivo em ágar batata. Lactofenol azul de algodão (A- 200X e B- 400X).....	15
Figura 3 -	Ponto de coleta de ar em um quarto da Clínica Médica.....	31
Figura 4 -	Ponto de coleta de ar no piso do corredor da Clínica Médica.....	31
Figura 5 -	Fotos de colônias de fungos em ágar dicloran rosa bengala cloranfenicol, após 72h de incubação a 30°C, isoladas do ar coletado no hospital.....	32
Figura 6 -	Micromorfologia de <i>A. fumigatus</i>	34
Figura 7 -	<i>Aspergillus</i> spp da seção <i>Fumigati</i> e sua micromorfologia em lactofenol-azul algodão. 400 X.....	34
Figura 8 -	Foto representativa de amostras amplificadas pelo método de PCR convencional, analisadas pela visualização da densidade da banda de DNA (gel de agarose a 1,5%) obtidos com ITS5/ITS4 (600 a 800pb)	36
Figura 9 -	Foto ilustrando placas para o teste de triagem aos azóis.....	37
Figura 10 -	Foto ilustrando placa de microdiluição em caldo para a determinação da concentração inibitória mínima	38
Figura 11 -	Foto ilustrando materiais preparados para a realização do teste de microdiluição em caldo	39
Figura 12 -	Foto ilustrando placa de microdiluição em caldo posicionada no espelho de leitura.....	40
Figura 13 -	Número de colônias e seções de <i>Aspergillus</i> isolados de aparelhos de ar condicionados e do ar ambiente em hospital terciário de ensino. HUMAP - Campo Grande-MS, 2021.....	42
Figura 14 -	Diferença mínima significativa entre as colônias de fungos filamentosos por placa, provenientes de ar condicionado e ar ambiente hospitalar, segundo data de coleta. HUMAP - Campo Grande-MS, 2021.....	44
Figura 15 -	Diferença mínima significativa entre as médias de <i>Aspergillus</i> por placa provenientes de ar condicionado e ar ambiente hospitalar, segundo data de coleta. HUMAP - Campo Grande-MS, 2021.....	45
Figura 16 -	Frequência relativa de <i>Aspergillus</i> spp. segundo umidade, temperatura e precipitação pluviométrica de acordo com a data da coleta. Campo Grande – Mato Grosso do Sul, 2021.....	48
Figura 17 -	<i>Aspergillus</i> do microbioma hospitalar (n=37) identificados por sequenciamento. HUMAP - Campo Grande-MS, janeiro a dezembro de 2021	50
Figura 18 -	Estudos ambientais sobre resistência de <i>Aspergillus fumigatus</i> a antifúngicos azólicos.....	58

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Comparação de frequência, média e desvio padrão de colônias de fungos filamentosos provenientes de ar condicionado e ar ambiente hospitalar, segundo data de coleta. HUMAP – Campo Grande, 2021.	43
Tabela 2 -	Comparação de frequência, média e desvio padrão de colônias de <i>Aspergillus</i> provenientes de ar condicionado e ar ambiente hospitalar, segundo data de coleta. HUMAP - Campo Grande-MS, 2021	44
Tabela 3 -	Seção de <i>Aspergillus</i> spp. por data da coleta. HUMAP - Campo Grande-MS, janeiro a dezembro de 2021.....	46
Tabela 4 -	Distribuição de <i>Aspergillus</i> (seção) por unidade hospitalar de onde foram coletadas as amostras ambientais. HUMAP - Campo Grande-MS,2021.....	47
Tabela 5 -	Número de UFC de <i>Aspergillus</i> identificados a nível de seção por estação do ano. HUMAP - Campo Grande-MS, 2021.....	49
Tabela 6 -	<i>Aspergillus</i> com resistência a pelo menos um antifúngico (itraconazol, voriconazol e posaconazol) no teste de triagem, segundo classificação de seção. HUMAP – Campo Grande-MS, 2021.....	50
Tabela 7 -	<i>Aspergillus</i> que apresentaram crescimento a pelo menos um ágar contendo azul no teste de triagem aos antifúngicos itraconazol, voriconazol e posaconazol, presumindo resistência dos <i>Aspergillus</i> spp, segundo setor hospitalar. HUMAP - Campo Grande-MS, 2021.	51
Tabela 8 –	Perfil de resistência a antifúngicos de 16 <i>Aspergillus</i> spp. presentes unidades de pacientes críticos.....	52
Tabela 9 -	Protocolo para a realização da PCR.....	85
Tabela 10-	Parâmetros utilizados na reação de PCR para amplificação de DNA das regiões de Bt2A, Bt2B, CL1 e CL2A.....	85
Tabela 11-	Protocolo para a realização da PCR	86
Tabela 12-	Protocolo para a realização da PCR.....	86
Tabela 13-	Protocolo para a realização da PCR.....	87
Tabela 14-	Parâmetros utilizados na reação de PCR para amplificação de DNA das regiões de β -tubulina, Calmodulina, e ITS.....	88

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Abreviatura	Significado
ABPA	Aspergilose Broncopulmonar Alérgica
Aids	<i>Acquired Immunodeficiency Syndrome</i> – Síndrome da Imunodeficiência Adquirida
AI	Aspergilose Invasiva
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
CDC	Centers for Disease Control and Prevention
CEMTEC/SEMAGRO	Centro de Monitoramento do Tempo e do Clima do Estado do Mato Grosso do Sul
CIM	Concentração Inibitória Mínima
DPOC	Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica
ELISA	<i>Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay</i> - Ensaio Imunoenzimático
EUCAST	<i>European Committee Antimicrobial on Susceptibility Testing</i>
FACFAN – UFMS	Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Alimentos e Nutrição da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
FAMED-UFMS	Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
HIV	<i>Human Immunodeficiency Virus</i> – Vírus da Imunodeficiência Humana
HUMAP	Hospital Universitário Maria Aparecida Pedrossian
MALDI-TOF	<i>Matrix Associated Laser Desorption-Ionization – Time of Flight</i>
PCR	<i>Polimerase Chain Reaction</i> – Reação em Cadeia da Polimerase
PCR-RFLP	<i>Polymerase Chain Reaction-Restriction Fragment Length Polymorphism</i>
RPMI	<i>Roswell Park Memorial Institute Medium</i>
UCIS	Unidade de Cuidados Intensivos/Semi-Intensivos
UCM	Unidade de Clínica Médica
UFC	Unidade Formadora de Colônia
UTI	Unidades de Terapia Intensiva
UUE	Unidade de Urgência e Emergência

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	11
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	13
2.1	O gênero <i>Aspergillus</i>	13
2.2	Aspergilose.....	17
2.3	Tratamento.....	21
2.4	<i>Aspergillus</i> no ambiente hospitalar	25
3	OBJETIVOS.....	28
3.1	Objetivo geral.....	28
3.2	Objetivos específicos.....	28
4	METODOLOGIA.....	29
4.1	Local, tipo e período da pesquisa.....	29
4.2	Locais de coleta.....	30
4.3	Procedimentos de amostragem.....	32
4.4	Procedimentos para a identificação fúngica.....	32
4.5	Teste de suscetibilidade.. ..	36
4.6	Análise estatística.....	41
4.7	Considerações éticas.....	41
5	RESULTADOS.....	42
6	DISCUSSÃO.....	53
7	CONCLUSÕES.....	61
	REFERÊNCIAS.....	62
	APÊNDICES.....	84
	ANEXOS	95

1 INTRODUÇÃO

A qualidade do ar tem como elemento importante a quantidade de microrganismos dispersos no ambiente e é afetada por centenas de espécies de bactérias e fungos, em particular fungos filamentosos (HESELTINE; ROSEN, 2009). Os fungos do gênero *Aspergillus* estão entre os mais abundantes no ar ambiente do mundo todo e produzem esporos que são facilmente transportados pelo ar (KRIJGSHELD *et al.*, 2013; WYATT *et al.*, 2013).

Dependendo de condições favoráveis e da condição imunológica do indivíduo, esses microrganismos podem ocasionar desde reações alérgicas a patologias graves como pneumonia, aspergiloma e até infecções disseminadas (CHO *et al.*, 2017; KRIJGSHELD *et al.*, 2013; O’GORMAN, 2011).

Considerados de caráter oportunista, fungos do gênero *Aspergillus* são responsáveis pela segunda maior ocorrência de infecções fúngicas invasivas em hospitais terciários incluindo infecções pulmonares com altas taxas de morbidade e mortalidade (BELIZARIO *et al.*, 2021; CHO *et al.*, 2017; LOEFFERT *et al.*, 2019; MARTÍNEZ-HERRERA *et al.*, 2016; PALMER *et al.*, 2019; VIEGAS *et al.*, 2019).

Estudos prévios têm mostrado que o ambiente pode desempenhar um papel importante na incidência de colonização por esses fungos, assim como o desenvolvimento da aspergilose invasiva, que é letal, a menos que seja tratada prontamente (BOFF *et al.*, 2013; CHO *et al.*, 2019; GONÇALVES *et al.*, 2018; LOEFFERT *et al.*, 2019; NYWENING *et al.*, 2020).

As espécies pertencentes às seções *Nigri*, *Fumigati* e *Flavi* estão entre as mais frequentemente isoladas em amostras de ambiente hospitalar (CHO *et al.*, 2017; GHEITH *et al.*, 2015). Particularmente preocupantes são os isolados resistentes de *A. fumigatus* provenientes de amostras clínicas e ambientais (ETIENNE *et al.*, 2021; SHISHODIA *et al.*, 2019; VERMEULEN *et al.*, 2013). Além dessas espécies, *A. terreus* e *A. nidulans* também podem causar infecções oportunistas importantes (MONTEIRO, *et al.*, 2021).

No Hospital Universitário Maria Aparecida Pedrossian (HUMAP) são atendidos muitos pacientes com doenças crônicas e com doenças infecto-parasitárias. Este hospital é considerado referência no diagnóstico e tratamento de doenças infecciosas.

Apesar da relevância, pouco se sabe a respeito das legislações, protocolos de segurança e monitoramento em hospitais brasileiros. Estudos mostram que os *Aspergillus* são frequentemente encontrados no ar ambiente hospitalar e o crescente problema de saúde pública causado pela resistência aos antifúngicos precisa ser mais estudado e compreendido (BELIZARIO *et al.*, 2021; 2019; MOBIN; SALMITO, 2006; PANTOJA *et al.*, 2012).

Buscando ampliar o conhecimento sobre o tema, foi objetivo deste estudo, identificar e descrever as espécies de *Aspergillus* no ar ambiente de um hospital terciário de Mato Grosso do Sul e determinar a sua suscetibilidade a antifúngicos. Acredita-se que os resultados obtidos servirão de alerta para possíveis novos casos de infecção hospitalar por *Aspergillus*, assim como para a implementação de protocolos para monitorar a qualidade do ar neste e em outros hospitais.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 O gênero *Aspergillus*

A primeira descrição do gênero *Aspergillus* ocorreu em 1729 onde o padre e biólogo italiano Antonio Micheli observou microrganismos com forma semelhante a um *aspergillum* (em latim, *aspergere*, "espalhar"), um dispositivo usado para dispersar água benta em liturgias cristãs (BALEJEE *et al.*, 2007).

Em 1926, Tom e Church publicaram a primeira monografia sobre o gênero *Aspergillus* e, em 1965, Rapper e Fennel realizaram uma descrição completa sobre o gênero. Desde então, *Aspergillus* passou a ser um dos fungos mais estudados (BALEJEE *et al.*, 2007; CHEN *et al.*, 2017; GEISER *et al.*, 2007; HOUBRAKEN *et al.*, 2020).

Estudos filogenéticos apoiados em ferramentas moleculares são essenciais para a identificação de novas espécies, além de ser um recurso decisivo para a descrição acurada de espécies deste gênero (ARASTEHFAR *et al.*, 2021; CORREIA *et al.*, 2020; GEISER *et al.*, 2007). *Aspergillus* pertencem ao Reino Fungi, família Aspergillaceae, filo Ascomycota, classe Eurotiomycetes e ordem Eurotiales (CHEN *et al.*, 2017; GEISER *et al.*, 2007; HOUBRAKEN *et al.*, 2020; SAMSON *et al.*, 2014).

É subdividido em seis subgêneros, *Circumdati*, *Nidulantes*, *Fumigati*, *Aspergillus*, *Cremeri* e *Polypaecilum*. Cerca de 450 espécies já foram descritas na literatura e estão agrupadas em 27 seções: *Candidi*, *Petersoniorum*, *Nigri*, *Terrei*, *Flavipedes*, *Janorum*, *Circumdati*, *Tannerorum*, *Robusti*, *Flavi*, *Nidulantes*, *Aenei*, *Usti*, *Cavernicolarum*, *Raperorum*, *Silvatici*, *Bispori*, *Ochraceorosei*, *Sparsi*, *Fumigati*, *Clavati*, *Vargarum*, *Cervini*, *Restricti*, *Aspergillus*, *Cremeri* e *Polypaecilum* (HOUBRAKEN *et al.*, 2020).

Os *Aspergillus* são identificados por meio das características macroscópicas ou macromorfologia (cor e aspecto da colônia) e das estruturas microscópicas ou micromorfologia - observação dos conídios e conidióforos (HOUBRAKEN *et al.*, 2020; WALSH; HAYDEN; LARONE, 2018).

Normalmente, as colônias apresentam cor branca na fase inicial de maturação

e podem evoluir para verde, amarelo, castanho ou preto dependendo da espécie. A cor e textura da colônia também variam, normalmente algodoada quando novas, tornando-se pulverulenta com a produção de esporos (HOUBRAKEN *et al.*, 2020; LACAZ *et al.*, 2002; WALSH *et al.*, 2018). A figura 1 ilustra diferentes aspectos macroscópicos de culturas de *Aspergillus* sp.

Figura 1 – Fotos de diferentes culturas (macromorfologia) de *Aspergillus* sp. cultivados em ágar batata após 72h de incubação a 30° C



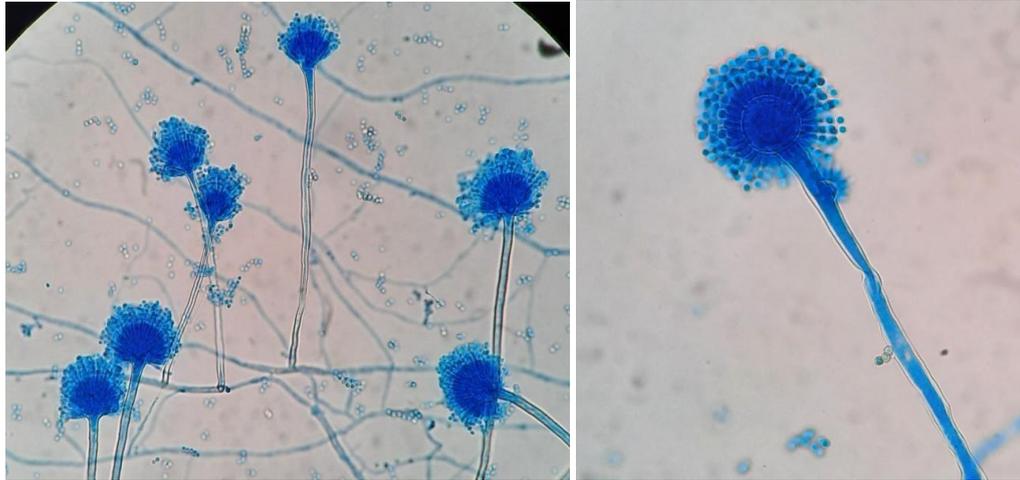
Fonte: Autora

Microscopicamente, *Aspergillus* sp. apresenta um filamento miceliano constituído por hifas hialinas septadas com ramificações dicotômicas fazendo ângulos de 45°. A partir de uma célula basal surgem os conidióforos e no prolongamento destes, encontra-se a “cabeça” aspergilar chamada de vesícula. A forma dessa vesícula e sua disposição é uma característica essencial na identificação micromorfológica das diferentes espécies de *Aspergillus* (HOUBRAKEN *et al.*,2020; LACAZ *et al.*,2002; WALSH, HAYDEN; LARONE, 2018).

As fiáldes, células produtoras de esporos, podem ser uni ou bisseriadas, podem cobrir toda a superfície da vesícula ou apenas o seu topo. A partir da extremidade das fiáldes surgem os conídios cujas dimensões são variáveis consoante

a espécie (WALSH, HAYDEN; LARONE, 2018). A figura 2 ilustra estruturas microscópicas úteis na diferenciação de *Aspergillus* sp.

Figura 2 – Fotos ilustrando micromorfologia de *Aspergillus* sp. em microcultivo em ágar batata. Lactofenol azul de algodão (A- 200X e B- 400X)



Fonte: Autora

Os *Aspergillus* são fungos filamentosos ubíquos comumente isolados de solo, plantas, detritos e ar ambiente (interno e externo) que se adaptam e crescem em ambientes hostis e, essa capacidade, tem contribuído para a resistência e sobrevivência do gênero. No ambiente hospitalar tem sido descrito em sistemas de ventilação de ar, água, superfícies e alimentos (DIBA *et al.*, 2019; LATGÉ; CHAMILOS, 2019; MARTÍNEZ-HERRERA *et al.*, 2016; PAULUSSEN, *et al.*, 2017).

Esses fungos têm como característica capacidade de sobreviver em um grande intervalo de pH, temperatura e peculiaridades na parede celular que contribuem para sua dispersão no ar (FUKUDA *et al.*, 2018; KWON-CHUNG; SUGUI, 2013).

Aspergillus apresentam impacto negativo e positivo sobre as atividades humanas e ganham atenção de diversas áreas de pesquisa. Esses fungos oferecem aplicações na produção de enzimas utilizadas em diferentes tipos de indústrias, como de alimentos, detergentes, têxteis, cosméticos e farmacêuticos (FORSAN, *et al.*, 2021; KHAN *et al.*, 2021; KRIJGSHELD *et al.*, 2013; MIKAWLRANG, 2016).

Aspergillus flavus, produzem a aflatoxina, uma das micotoxinas mais importantes conhecidas. Esse metabólito ameaça e contamina culturas agrícolas em todo o mundo. Essa espécie também tem sido considerada agente de AI com maiores incidências em países tropicais (FRISVAD *et al.*, 2019; KHAN *et al.*, 2019;

RUDRAMURTHY *et al.*, 2019).

Espécies como *Aspergillus niger* e *Aspergillus versicolor* são utilizadas na indústria de biotecnologia, além de serem normalmente contaminantes do ambiente hospitalar. O encontro desses fungos indica a necessidade de implementar protocolos para monitorar a qualidade do ar em hospitais (SIVAGNANASUNDARAM *et al.*, 2019; VIEGAS *et al.*, 2019).

Espécies de *A. terreus* têm importância na indústria farmacêutica. Crescem em diferentes tipos de clima e foram descritos como agentes de infecções em pacientes que sofrem de doenças pulmonares crônicas. Digo de nota é que essa espécie exibe resistência ao antifúngico anfotericina B com elevada concentração inibitória mínima no teste de suscetibilidade (RISSLEGGGER *et al.*, 2017; WALSH *et al.*, 2008).

Aspergillus fumigatus, *Aspergillus flavus* e *Aspergillus niger* são os *Aspergillus* mais isolados de pacientes com aspergilose diagnosticada e são as espécies mais relatadas em estudos sobre o tema (DIBA *et al.*, 2019; FUKUDA *et al.*, 2018; LOEFFERT *et al.*, 2019; PARDO *et al.*, 2019; ROCCHI *et al.*, 2014; VIEGAS *et al.*, 2019).

Aspergillus fumigatus é a espécie mais estudada por ser o principal causador da aspergilose invasiva (AI) e pelo crescente problema de saúde pública com dimensões globais causado por cepas resistentes aos fungicidas azóis (ETIENNE *et al.*; 2021; JENSEN *et al.*; 2016; SHISHODIA *et al.*; 2019; VERMEULEN *et al.*, 2013).

Ainda que *A. fumigatus* seja a espécie mais prevalente em infecções outras espécies que não *A. fumigatus* estão sendo associadas a infecções fúngicas invasivas, como por exemplo, *A. lentulus*, *A. welwitschiae*, *A. sydowii*, e outros. Tais isolados tendem a ser mais resistentes aos antifúngicos (NEDEL; PASQUALOTTO, 2014).

2.2 Aspergilose

2.2.1 Formas clínicas e condições de risco da aspergilose

As formas clínicas das doenças causadas por *Aspergillus* são dependentes da resposta do hospedeiro, o que determina a direção e gravidade das manifestações (KOSMIDIS; DENNING, 2015; LATGÉ; CHAMILOS, 2019; PATTERSON *et al.*, 2016; SABINO *et al.*, 2019).

Dependendo de condições favoráveis, os *Aspergillus* conseguem ultrapassar as defesas humanas e ocasionar infecções (DIBA *et al.*, 2019; LATGÉ; CHAMILOS, 2019; RICHARDSON; BOWYER; SABINO, 2019).

Os problemas de saúde causados por *Aspergillus* incluem reações alérgicas, infecções pulmonares e infecções em outros órgãos. Os esporos fúngicos estão sendo cada vez mais reconhecidos como alérgenos e as condições alérgicas são afetadas pela exposição aos conídios (ISAA, 2022; KLUGE *et al.*, 2022).

A aspergilose broncopulmonar alérgica (ABPA) é uma resposta de hipersensibilidade do tipo I ao *Aspergillus* causando inflamação nos pulmões. Os pacientes frequentemente apresentam sintomas como asma, hemoptise, tosse produtiva, febre baixa, perda de peso, etc.. Aqueles que utilizam medicamentos para asma podem ser assintomáticos (AGARWAL *et al.*, 2013; ANEES-HILL *et al.*, 2022; ASANO; KAMEI; HEBISAWA, 2018; PATTERSON *et al.*, 2016).

A sinusite alérgica ocorre quando *Aspergillus* causa inflamação nos seios com sintomas de uma infecção sinusal e presença de secreção espessa, tenaz e eosinofílica, com achados histológicos característicos. Há uma hipersensibilidade e reações mediadas por células T, bem como uma resposta imune humoral (GLASS; AMEDEE, 2011; PATTERSON *et al.*, 2016).

Na aspergilose pulmonar crônica a infecção por *Aspergillus* causa cavidades nos pulmões e pode ser uma condição de longo prazo (3 meses ou mais). Geralmente os sintomas são a tosse produtiva crônica e perda de peso com hemoptise leve, dispneia e fadiga (DENNING *et al.*, 2003; PATTERSON *et al.*, 2016).

O aspergiloma ou bola fúngica é caracterizado como uma massa de micélios fúngicos com células inflamatórias, fibrina, muco e detritos teciduais que se evidencia

nos pulmões ou nos seios, mas geralmente não se espalha para outras partes do corpo (LEE *et al.*, 2004). Essa doença ocorre normalmente em uma cavidade pulmonar já desenvolvida. Pode se apresentar como infecção ativa ou como forma quiescente. O fungo coloniza a parede da cavidade e uma resposta inflamatória grave no pulmão pode ocorrer, resultando em mais sintomas. Se a terapia se der no início da doença, o prognóstico pode ser positivo (KORUKANTI *et al.*, 2022; PATTERSON *et al.*, 2016; RUBY *et al.*, 2021).

Na aspergilose necrotizante crônica ocorre a invasão local do tecido pulmonar, sem necessariamente depender de uma cavidade pré-existente. Acomete geralmente pacientes de meia-idade e idosos com doenças pulmonares como DPOC, tuberculose, fibrose cística, etc. (ESCOBAR-SALINAS *et al.*, 2021; LATGÉ; CHAMILOS, 2019; PATTERSON *et al.*, 2016).

A aspergilose invasiva é uma infecção grave associada a elevada letalidade com uma sobrevivência de seis a 12 semanas (GARCIA-VIDAL *et al.*, 2015; RESENDIZ-SHARPE *et al.*, 2019; ROTH *et al.*, 2022). A doença afeta geralmente os pulmões, mas também via corrente sanguínea pode se disseminar para outros sítios. (KOSMIDIS; DENNING, 2015; PALMER; ONIFADE, 2019; PATTERSON *et al.*, 2016). Insuficiência respiratória tem sido descrita como a causa mais frequente de óbito. Assim, medidas para o cuidado com a função pulmonar no manejo precoce desses pacientes são indispensáveis.

A aspergilose cutânea ocorre quando *Aspergillus* entra no corpo por uma secção de continuidade na pele (por exemplo, após a cirurgia ou uma ferida por queimadura) e causa infecção. A aspergilose cutânea também pode ocorrer se a aspergilose invasiva se espalhar para a pele de outro lugar do corpo, como os pulmões (VAN BURIK; COLVEN; SPACH, 1998; WALSH *et al.*, 2008).

Infecções por *Aspergillus* em sítios pouco comuns também tem sido descritos. Osteomielite causada pelo *Aspergillus* spp. representa uma infecção oportunista rara e grave. A maioria desses casos acomete as vértebras, manifestando-se como espondilodiscite (KOUTSERIMPAS *et al.*, 2021). Ceratites e endoftalmites por *Aspergillus* podem levar à perda da visão se não houver intervenção rápida (WALSH *et al.*, 2008).

Os *Aspergillus* também podem acometer o sistema nervoso central através de várias vias. Aspergilose cerebral é atípica e a arterite necrosante dos grandes vasos cerebrais pode progredir rapidamente em pacientes imunocomprometidos (HADDAD,

et al., 2021). Monteiro e colaboradores (2021) descreveram um caso de mediastinite por *A. fumigatus* após cirurgia cardíaca no Brasil.

A colonização do ambiente por *Aspergillus* pode resultar em doença pulmonar, principalmente se o paciente possuir doença subjacente, ou tenha seu estado imunológico alterado (RICHARDSON; BOWYER; SABINO, 2019).

Pacientes com patologias hematológicas, neutropênicos que tiveram transplante de células hematopoiéticas e de órgãos sólidos, pacientes que fazem terapia com esteróides em altas doses, recém-nascidos, internados em Unidades de Terapia Intensiva (UTI) e aqueles que realizaram cirurgia torácica são os principais grupos de riscos para a aspergilose em países desenvolvidos e em desenvolvimento (CZYZEWSKI *et al.*, 2019; RESENDIZ-SHARPE *et al.*, 2019; ROTH *et al.*, 2022).

Doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC), pneumonia viral grave (influenza, COVID-19), doenças como o HIV/aids, tuberculose, asma e câncer tem risco aumentado para o desenvolvimento para a AI (CZYZEWSKI *et al.*, 2019; DENNING, *et al.*, 1998; KLUGE, *et al.*, 2022).

Estudos recentes mostram que o tratamento para a COVID-19 é um fator de risco relevante para a aspergilose devido ao prognóstico ruim (ALANIO, *et al.*, 2020; ARKEL, *et al.*, 2020; EBNER *et al.*, 2022; HELLEBERG; STEENSEN; ARENDRUP, 2021; KOEHLER *et al.*, 2020; LAI, YU *et al.*, 2021; MACHADO *et al.*, 2021; SEGRELLES-CALVO *et al.*, 2021). Neste sentido, pacientes gravemente doentes pela COVID-19 devem ser investigados para a doença fúngica.

2.2.2 Diagnóstico laboratorial de aspergilose

A suspeita clínica de aspergilose é um desafio e necessita da associação de dados clínicos, radiológicos e microbiológicos (ULLMANN *et al.*, 2018). Diferentes tipos de amostras clínicas (escarro, lavado broncoalveolar, aspirado traqueal, biopsia etc) podem ser enviadas para exames laboratoriais e dependem do sítio envolvido (PATTERSON *et al.*, 2016).

Entre os exames microbiológicos de rotina, os mais comuns são o exame micológico direto com KOH a 20%, que normalmente é feito em amostras como escarro e lavado brônquico, e cultura em ágar Sabouraud dextrose com antibióticos

(LACAZ *et al.*, 2002).

A microscopia é o método predominante para a identificação fúngica, porém ela não permite a diferenciação de toda gama de esporos fúngicos transportados pelo ar (ANEES-HILL *et al.*, 2022).

Os métodos mais comuns até o momento incluem isolar *Aspergillus* sp de lavado broncoalveolar e aspirado traqueal em meio de cultura. Testes em soro e amostras clínicas para detecção de antígeno galactomanana e também anticorpos específicos anti - *A. fumigatus*, também tem sido utilizados. Os exames laboratoriais e achados na tomografia computadorizada contribuem com o diagnóstico de aspergilose (ARASTEHFAR *et al.*, 2020; PARDO *et al.*, 2019; PATTERSON *et al.*, 2016).

O padrão-ouro para o diagnóstico da aspergilose é a cultura da amostra clínica. Essa técnica tem a vantagem de fornecer o agente etiológico e possibilita realizar testes de suscetibilidade aos antifúngicos. Entretanto, a desvantagem é a demora na sinalização da análise que pode levar vários dias (LASS-FLÖRL *et al.*, 2019; PATTERSON *et al.*, 2016).

Um diagnóstico rápido com sensibilidade moderada pode ser fornecido pela imunocromatografia de fluxo lateral específico para diagnóstico de aspergilose pulmonar invasiva em pacientes com malignidades hematológicas subjacentes. Baseando-se em referências microbiológicas, apoiadas em evidências, foi relatado uma precisão diagnóstica de 92% neste ensaio, sinalizando seu aproveitamento no contexto clínico (LASS-FLÖRL *et al.*, 2019; PRATTES *et al.*, 2015).

Diagnosticar precocemente a AI é um grande desafio, uma vez que são poucas as alternativas de diagnóstico. A Reação em Cadeia de Polimerase (PCR), elisaimunoensaio de galactomanana e tomografia computadorizada do pulmão podem fornecer resultados confiáveis para o diagnóstico de infecção fúngica invasiva (LASS-FLÖRL *et al.*, 2007). Com a disponibilidade das ferramentas de automação diferentes técnicas de PCR podem beneficiar pacientes com aspergilose (MENGOLI *et al.*, 2009).

O PCR-RFLP (*Polymerase Chain Reaction-Restriction Fragment Length Polymorphism*) é um método muito útil para a identificação de espécies de *Aspergillus* e colabora para abordagens epidemiológicas de importância médica devido à sua alta sensibilidade do diagnóstico. O sequenciamento molecular é o método mais confiável para a identificação das espécies de *Aspergillus* (SALAH *et al.*, 2019; DIBA, *et al.*,

2014).

Os estudos proteômicos, como o *Matrix Associated Laser Desorption-Ionization – Time of Flight* (MALDI-TOF), surgiram como um novo horizonte no campo da biologia molecular. É uma técnica relativamente rápida que vem se mostrando bastante promissora como ferramenta de identificação. Estudos vem sendo feitos para complementar a biblioteca disponível comercialmente e assim ampliar o banco de dados para a identificação precisa das espécies (VIDAL-ACUÑA *et al.*, 2018; SANGUINETTI; POSTERARO, 2017).

Contudo, as metodologias convencionais como a cultura e microscopia, continuam sendo a base do diagnóstico, sendo os testes sorológicos e moleculares um aprimoramento para conclusão da investigação da doença (LASS-FLÖRL *et al.*, 2019; PATTERSON *et al.*, 2016).

2.3 Tratamento

Na década de 1950, aproximadamente 30 anos após a chegada dos primeiros agentes antibacterianos, a anfotericina B foi introduzida e permaneceu como única opção terapêutica contra as infecções fúngicas. Mais tarde, foram introduzidos antifúngicos menos tóxicos como 5-flucitosina, as classes antifúngicas imidazólicas e triazólicas, e finalmente as equinocandinas (BERKOW *et al.*, 2020).

O voriconazol foi introduzido em 2003 e aprovado como droga de escolha contra infecções por *Aspergillus* spp. O uso desse antifúngico foi associado a maior sobrevida em pacientes com neoplasia hematológica e aspergilose invasiva. A tolerância a este azol é maior, pois os eventos adversos são transitórios e geralmente leves ou moderados e raramente provocam a suspensão da terapia (HERBRECHT, *et al.*, 2002; PARDO, *et al.*, 2019; WALSH *et al.*, 2008).

Os azóis, incluindo o voriconazol, posaconazol e isavuconazol, são os antifúngicos indicados como terapia antifúngica de primeira linha para a aspergilose. O itraconazol é uma opção para a aspergilose pulmonar crônica. Porém, nos últimos anos, a resistência a essa classe de antifúngicos tem sido um problema emergente (ARASTEHFAR *et al.*, 2021; BUIL *et al.*, 2019; ETIENNE *et al.*; 2021; HADDAD *et*

al.,2022).

A anfotericina B e equinocandinas estão disponíveis como opções de terapia de segunda linha. Comparando a taxa de resposta, taxa de sobrevivência e segurança do tratamento, o voriconazol supera a anfotericina B. (ARASTEHFAR *et al.*, 2021; HERBRECHT *et al.*, 2002; TISSOT *et al.*, 2017; WALSH *et al.*, 2008).

Nas AI as combinações de antifúngicos podem se tornar uma alternativa no tratamento de infecções por *Aspergillus* spp resistentes. Embora possua menor atividade contra a aspergilose e o emprego como monoterapia seja limitado, as equinocandinas podem ser uma opção para agir sinergicamente com outros antifúngicos (ROGERS *et al.*,2022; ARUANNO; GLAMPEDAKIS; LAMOTH, 2019).

A discussão sobre a condução da terapia em pacientes com *Aspergillus* resistentes pode ser feita considerando os aspectos diagnósticos e terapêuticos baseados na cultura e guiada pela epidemiologia local ou resistência clínica e ambiental aos azóis (ARASTEHFAR *et al.*, 2020).

2.3.1 O problema da resistência a antifúngicos

A emergência de *Aspergillus* resistentes a antifúngicos é motivo de grande preocupação e é considerado, na atualidade, um problema de saúde pública. Resistência tem sido descrita em *Aspergillus* isolados de amostras clínicas e ambientais (AHANGARKANI, *et al.*, 2019; CHO *etal.*, 2017; GHEITH *et al.*, 2015; RESENDIZ-SHARPE, *et al.*, 2019; SHISHODIA *et al.*, 2019; VERMEULEN *et al.*, 2013).

Há evidências de que *Aspergillus* resistentes a azóis presentes no ambiente hospitalar podem causar aspergilose de difícil tratamento. RHODES *et al.*, (2022) mostra a aquisição de infecção hospitalar por *Aspergillus fumigatus* com o mesmo perfil molecular e de resistência de *A. fumigatus* isolados no ambiente.

Resistência aos antifúngicos azóis e à equinocandina estão sendo relatadas em todo o mundo. Os mecanismos de resistência devem ser investigados mais profundamente nas espécies com sensibilidade diminuída a esses antifúngicos (SALAH *et al.*, 2019).

A resistência aos antifúngicos azóis tem sido associada, principalmente, a

mutações no gene CYP51A. Estudo realizado na Holanda mostrou que de 20,2% de *A. fumigatus* resistentes ao voriconazol em pacientes com doença hematológica e quase todos os isolados apresentavam mutações nesse gene (AHANGARKANI *et al.*, 2020; RESENDIZ-SHARPE, *et al.*, 2019).

Estudos defendem que, nos testes de suscetibilidade, se mais de 10% dos *Aspergillus* isolados apresentarem resistência ao voriconazol, a monoterapia com este antifúngico deve ser reavaliada e uma combinação com equinocandina ou anfotericina B poderá ser utilizada (RESENDIZ-SHARPE *et al.*, 2019; VERWEIJ *et al.*, 2015).

Diferente do grande número de antibióticos oferecidos para o tratamento de infecções bacterianas, o número de antifúngicos disponíveis para tratamento de infecções fúngicas invasivas é bastante limitado. Aspergilose invasiva causadas por cepas resistentes a antifúngicos estão associadas a um pior prognóstico (LESTRADE *et al.*, 2019; LOCKHART; BEER; TODA, 2020).

A escalada global de *Aspergillus* resistentes aos antifúngicos azóis, associados a desfechos clínicos ruins e menor sobrevida, tornou-se uma preocupação no tratamento da aspergilose. A resistência ao azol dificulta o manejo do paciente, pois essa classe de antifúngicos é a recomendável para a maioria das formas clínicas da aspergilose. As opções alternativas de tratamento são poucas e incluem a anfotericina B e as echinocandinas, sendo que essas última apresentam eficácia limitada em pacientes neutropênicos (LOCKHART; BEER; TODA, 2020; VERWEIJ *et al.*, 2020).

A eficácia da anfotericina B em relação ao voriconazol, no tratamento alternativo para a AI com *Aspergillus* resistentes, permanece incerta, faltam estudos mais aprofundados para se determinar a eficácia comparativa entre azóis e anfotericina B e também na combinação desses agentes antifúngicos. (ARASTEHFAR *et al.*, 2020; ARUANNO; GLAMPEDAKIS; LAMOTH, 2019).

Aspergillus resistentes aos antifúngicos têm se tornado frequentes nos últimos anos, provavelmente pela aplicação de fungicidas azólicos em setores da agricultura e indústrias, causando pressão seletiva e levando o surgimento de mutações e mecanismos de resistência em isolados clínicos e ambientais (ARASTEHFAR *et al.*, 2021; VERWEIJ *et al.*, 2009).

Há evidências que a exposição ambiental aos fungicidas azólicos está estimulando o surgimento de mutações. Os fungicidas utilizados na agricultura apresentam estrutura química semelhante aos antifúngicos azóis empregados na medicina, favorecendo a resistência cruzada. Entretanto, o surgimento da resistência

ainda não está bem compreendido e a experiência clínica no tratamento da aspergilose causada por isolados resistentes ainda é limitada (LESTRADE *et al.*, 2019; ROGERS *et al.*, 2022).

2.3.2 Teste de suscetibilidade antifúngica

O teste de suscetibilidade aos antifúngicos oferece um parâmetro da sensibilidade e resistência e mostra a concentração de antifúngico necessária para impedir o crescimento do fungo em questão. Essa medida tem o nome de concentração inibitória mínima - CIM (BERKOW, LOCKHART, OSTROSKY-ZEICHNER, 2020; ARENDRUP *et al.*, 2020).

Métodos para realizar a detecção precoce da resistência aos antifúngicos azóis em isolados clínicos de *A. fumigatus* são essenciais. Atualmente três métodos estão padronizados para a verificação da CIM para *Aspergillus*: microdiluição em caldo, difusão em ágar e triagem de ágar contendo azol (LUCIO *et al.*, 2022; ARENDRUP *et al.*, 2020; BERKOW; LOCKHART; OSTROSKY-ZEICHNER, 2020; BUIL *et al.*, 2017).

O teste de suscetibilidade aos antifúngicos, padrão ouro, é a metodologia de microdiluição em caldo segundo o documento do *European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing* (EUCAST) E.Def. 9.3.2, que por sua vez é bastante trabalhosa e nem sempre os laboratórios de microbiologia têm estrutura necessária para sua realização. Este método recomenda valores de corte epidemiológicos que permitem detectar fenótipos resistentes aos antifúngicos (SERRANO-LOBO *et al.*, 2021; VERWEIJ *et al.*, 2015).

O teste de triagem utiliza placas de ágar contendo concentrações determinadas dos antifúngicos. O crescimento no ágar contendo antifúngico azol indica a possibilidade de resistência e recomenda-se a realização da metodologia de microdiluição em caldo (GUINEA *et al.*, 2019).

Vários estudos foram publicados demonstrando o emprego, eficácia e eficiência do teste de triagem aos azóis e recentemente, o EUCAST padronizou com o documento E.Def 10.1 o uso deste teste (AHANGARKANI *et al.*, 2020; ARENDRUP *et al.*, 2017; BERKOW; LOCKHART; OSTROSKY-ZEICHNER, 2020; BUIL *et al.*, 2017; GUINEA *et al.*, 2019; GONZALEZ-LARA *et al.*, 2019; HEO *et al.*, 2017;

LOCKHART; BEER; TODA, 2020; MELETIADIS *et al.*, 2019; SERRANO-LOBO *et al.*, 2021, 2022).

Os testes de suscetibilidade comercialmente disponíveis são: *VIPcheck* (*Mediaproducts BV*, Países Baixos), que faz a triagem em placas contendo azóis, *Sensititre YeastOne YO9 AST Plate* (*Thermo Fisher Scientific*, EUA) - (microdiluição colorimétrica em caldo), e fitas *Etest* (*bioMérieux, Marcy l'Etoile*, França) as quais contém antifúngicos com diferentes gradientes de concentração-método de difusão em ágar (ESPINEL-INGROFF *et al.*, 2019).

2.4 *Aspergillus* no ar ambiente hospitalar

Os fungos podem crescer e se espalhar dentro dos ambientes e também podem ser associados a bioaerossóis. A contagem de conídios (esporos) de fungos em ambientes internos pode ser influenciada pelo ar externo e do sistema de ventilação do local. Há evidências de que a qualidade do ar está associada à carga fúngica presente no ambiente (SABINO *et al.*, 2019).

Estudos mostram a existência de correlação entre a contaminação por fungos no ar e a incidência de AI em pacientes imunocomprometidos ou com doença hematológica durante os períodos de construção ou reformas realizadas dentro e próximo a hospitais (CHO *et al.*, 2018; LOEFFERT *et al.*, 2018; PARK *et al.*, 2019).

Demolições, construções e trabalhos que causam acúmulo de poeira ou vazamento de água também podem aumentar a dispersão de esporos fúngicos. Sob este aspecto é necessário atenção mais cuidadosa para preservar pacientes imunocomprometidos durante esses períodos (LOEFFERT *et al.*, 2018).

A média da densidade de fungos no ar interno que pode ser influenciada pela temperatura do ambiente é um fator de risco importante para a propagação de patógenos relacionados à infecção. Neste sentido, o monitoramento regular é essencial para avaliar a qualidade do ar e para detectar a presença de microrganismos perigosos à saúde humana (ABBASI; SAMAEI, 2019; SOUZA *et al.*, 2019).

Mesmo sendo inevitável a exposição a um baixo nível de esporos, a vigilância de fungos em ar ambiente ou superfícies hospitalares e de casos clínicos é

recomendada (DIBA *et al.*, 2019; CHO *et al.*, 2019; DEMUYSER *et al.*, 2019; O’GORMAN, 2011).

No Brasil, os critérios sobre a qualidade do ar interior em ambientes climatizados artificialmente de uso público e coletivo são regulamentados pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA. O valor máximo recomendável (VMR) para contaminação microbiológica deve ser = 750 UFC/m³ de fungos e a relação I/E = 1,5. Onde “I” é a quantidade de fungos no ambiente interior e “E” é a quantidade de fungos no ambiente exterior (BRASIL, 2003). Até a presente data não foi encontrada uma legislação relacionada a contaminação microbiológica específica para o ar ambiente de hospitais no Brasil.

De acordo com o *Guidelines for Environmental Infection Control in Health-Care Facilities*, (2003) do *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC), atualizado em 2019, não há uma padronização sobre os níveis seguros de exposição aos esporos fúngicos ligados a infecções hospitalares. Embora estejam disponíveis uma série de métodos de amostragens e ensaios, ainda não existe um protocolo padrão largamente aceito para se estudar e medir fungos dentro de um determinado ambiente interno (AKTAS *et al.*, 2018).

Apesar das limitações acima citadas, o monitoramento do ar pode determinar se as medidas de controle são eficazes ou precisam ser melhoradas a fim de prevenir infecções hospitalares. A carga fúngica no ambiente pode ser correlacionada com o número de casos clínicos. Dessa forma, estudos de vigilância e medidas de controle podem ser utilizadas para minimizar os casos de aspergilose (PARK *et al.*, 2019).

Estudos sobre aerocontaminação por *Aspergillus* em ambiente hospitalar são escassos (CHO *et al.*, 2018; GONÇALVES *et al.*, 2017; LOEFFERT *et al.*, 2017; SOUZA *et al.*, 2019; WIRMANN *et al.*, 2018). E a relação entre isolados ambientais e isolados clínicos deve ser mais estudada.

Analisar a presença de *Aspergillus* no microbioma hospitalar e verificar prevalência das diferentes espécies que podem afetar a qualidade do ar interior é de grande relevância para prevenir infecções causadas por esses fungos. O monitoramento de fungos filamentosos no ambiente hospitalar é necessário para se conhecer e diminuir as concentrações fúngicas em ambientes que precisam ser controlados dentro do hospital e em áreas onde se encontram pacientes críticos (CAGGIANO *et al.*, 2014).

Instalar sistemas de ventilação mecânica, como os filtros HEPA, restringe a

entrada e propagação de microrganismos nos ambientes internos. Educação continuada dos funcionários, bem como a comunicação com o paciente são medidas necessárias para a prevenção de aspergilose invasiva além de outras infecções fúngicas (HASSAN; ZEESHAN, 2022; LA MILIA *et al.*, 2019; TALENTO *et al.*, 2019).

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Investigar aerocontaminação por espécies de *Aspergillus* em hospital terciário de CampoGrande-MS.

3.2 Objetivos específicos

- Identificar *Aspergillus* do ar condicionado e do ar ambiente da Unidade de Urgência e Emergência (UUE), Unidade de Clínica Médica (UCM) e Unidade de Cuidados Intensivos e Semi-Intensivos (UCIS);
- Verificar se o isolamento de *Aspergillus* (de seções distintas) sofre influência da sazonalidade;
- Determinar o perfil de suscetibilidade antifúngica “*in vitro*” dos *Aspergillus* spp. isolados.

4 METODOLOGIA

4.1 Local, tipo e período da pesquisa

Este estudo é descritivo, de desenho transversal, baseado no isolamento de *Aspergillus* spp. de amostras provenientes do ar condicionado e do ar ambiente de três unidades de um hospital terciário, sendo duas de internação e uma unidade de atendimentos de urgência e emergência.

O estado de Mato Grosso do Sul está localizado na região do Centro-Oeste do Brasil e ocupa uma área de 357.147,995 km². Latitude: 7° 36' 0" Sul, Longitude: 37° 48' 0" Oeste.

Este estudo foi realizado na capital do estado, Campo Grande, que possui cerca de 916.001 habitantes (IBGE, 2021). O Hospital terciário é público e de ensino. Possui cerca de 232 leitos e é referência no diagnóstico e tratamento de doenças infecciosas, procedimentos de alta complexidade; terapia renal, cirurgia cardiovascular, hemodiálise e neurologia ligados ao Sistema Único de Saúde (SUS).

Geograficamente, o município de Campo Grande está situado próximo da fronteira do Brasil com Paraguai e Bolívia. Localiza-se na latitude de 20°26'34" Sul e longitude de 54° 38' 47" Oeste.

O clima é tropical semi-úmido, caracterizado por invernos secos e verões quentes e chuvosos. Ao longo do ano, em geral a temperatura varia de 16 °C a 31 °C e raramente é inferior a 10 °C ou superior a 36 °C. A estação quente permanece por 7,6 meses, de 26 de agosto a 13 de abril, com temperatura máxima média diária acima de 31 °C. O mês mais quente do ano em Campo Grande é dezembro, com a máxima de 31 °C e mínima de 22 °C, em média. A estação fresca permanece por 2,3 meses, de 14 de maio a 23 de julho, com temperatura máxima diária em média abaixo de 28 °C. O mês mais frio do ano em Campo Grande é julho, com a mínima de 16 °C e máxima 28 °C, em média

Chove ao longo do ano inteiro em Campo Grande. O mês mais chuvoso é janeiro, com média de 179 milímetros de precipitação de chuva e o menos chuvoso é julho, com média de 27 milímetros de precipitação de chuva.

As amostragens do ar foram realizadas com intervalos de quinze dias nos meses de janeiro, fevereiro, março, agosto e dezembro, entre às 14:00h e 16:00h.

Os experimentos deste estudo foram realizados no Laboratório de Pesquisas Microbiológicas na Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Alimentos e Nutrição da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (FACFAN – UFMS), parte no Núcleo de Micologia do Instituto Adolfo Lutz e no Laboratório de Doenças Infecciosas e Parasitárias da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (FAMED-UFMS).

4.2 Locais de coleta

As coletas foram realizadas nos setores de Unidade de Cuidados Intensivos e Semi-Intensivos (UCIS), Unidade de Clínica Médica (UCM) e Unidade de Urgência e Emergência (UUE) do hospital. As coletas de ar foram realizadas em 11 pontos na UCIS, 12 pontos na UCM e 4 pontos na UUE. Os locais das coletas foram fixados e procurou-se sempre coletar nos mesmos pontos determinados na primeira amostragem.

A figura 3 e 4 mostram o amostrador de ar em determinados pontos de coleta na Unidade de Clínica Médica.

Figura 3 – Ponto de coleta de ar em um quarto da Clínica Médica



Fonte: Autora

Figura 4 – Ponto de coleta de ar no piso do corredor da Clínica Médica



Fonte: Autora

4.3 Procedimentos de amostragem

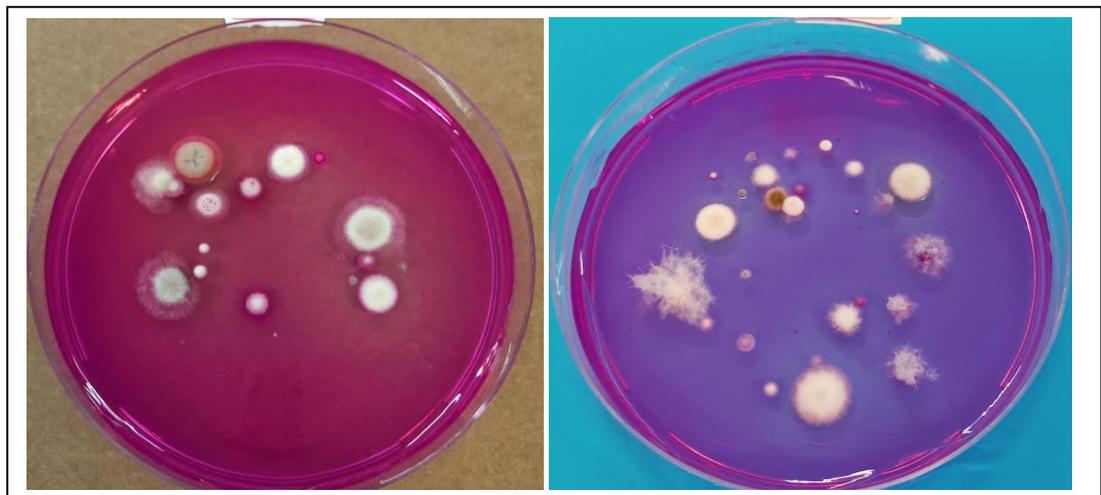
Foram coletadas amostras de ar ambiente e de ar condicionado utilizando impactador de ar (MiniCapt® Microbial Air Sampler, Particle Measuring Systems, Inc, Airport Blvd Boulder, CO., USA), o qual foi ajustado para a coleta de um volume de 100L/min em uma placa contendo ágar dicloran rosa bengala cloranfenicol (KASVI, Espanha) (LOEFFERT, *et al.*, 2017).

4.4 Procedimentos para identificação fúngica

Após a amostragens de ar nos setores, as placas foram incubadas em estufa à 30°C por 72h. Ao fim de 48h, as amostras eram verificadas quanto ao crescimento das colônias fúngicas e incubadas por mais 24h à 30°C.

A figura 5 mostra placas de ágar dicloran rosa bengala cloranfenicol, contendo colônias de fungos presentes no ar coletado no hospital.

Figura 5 – Fotos de colônias de fungos em ágar dicloran rosa bengala cloranfenicol, após 72h de incubação a 30°C, isoladas do ar coletado no hospital



Fonte: Autora

Para isolamento dos fungos utilizamos os meios de cultura com ágar

Sabouraud dextrose (Oxoid, Austrália) suplementado com cloranfenicol 0,05 g / L e o ágar batata dextrose (Laborclin, Brasil).

Após serem retiradas da estufa, o número de colônias que cresceram em cada placa foi registrado e, de cada colônia, foram analisadas as características macroscópicas (tamanho, cor, aspecto e textura) e microscópicas (microscopia de estruturas fúngicas com corante lactofenol azul de algodão),

As colônias cujas lâminas apresentaram formas sugestivas de *Aspergillus* sp. foram repicadas em placas de ágar Sabouraud dextrose suplementado com cloranfenicol 0,05 g / L e ágar batata dextrose para o isolamento de colônias puras.

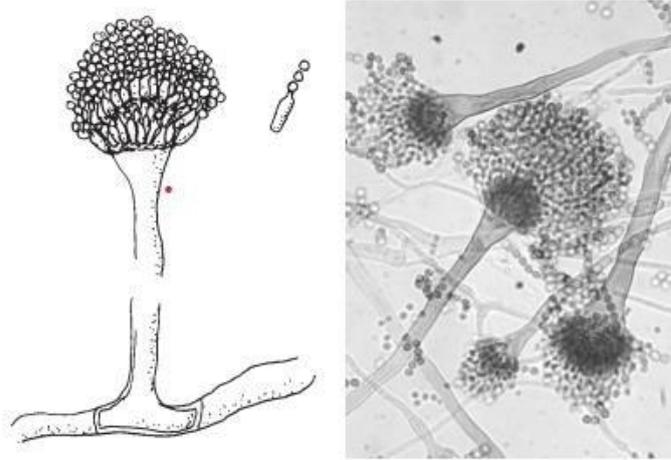
Após incubação à 30°C por 72h, as colônias puras que apresentavam características fenotípicas diferentes foram armazenadas em tubo com água destilada estéril. Por meio de análise das características macroscópicas e microscópicas (microcultivo em ágar batata) os *Aspergillus* foram identificados a nível de seção (LACAZ *et al.*, 2002; WALSH, HAYDEN; LARONE, 2018).

4.4.1 Identificação das seções

As formas microscópicas foram avaliadas buscando observar tamanho e morfologia de estruturas como conidióforos, vesículas, fiálides, além das cadeias de conídios (LACAZ *et al.*, 2002; WALSH; HAYDEN; LARONE, 2018).

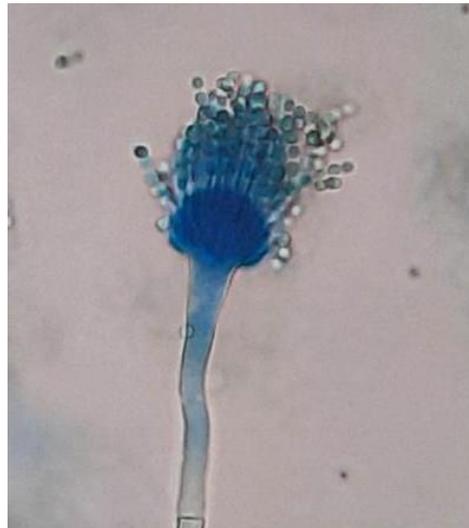
As Figura 6 e 7 ilustram colônias características de *Aspergillus* spp da seção *Fumigati* e sua micromorfologia em lactofenol-azul algodão. 400 X.

Figura 6 - Micromorfologia de *A. fumigatus*.



Fonte: WALSH, HAYDEN; LARONE, 2018

Figura 7 - *Aspergillus* spp da seção *Fumigati* e sua micromorfologia em lactofenol-azul algodão. 400 X



Fonte: Autora

4.4.2 Identificação molecular

A identificação dos isolados foi confirmada a nível de espécie por PCR convencional (HADRICH *et al.*, 2009) e sequenciamento de DNA (BALAJEE *et al.*, 2009).

A extração do DNA genômico das amostras de *Aspergillus* foi feita utilizando-

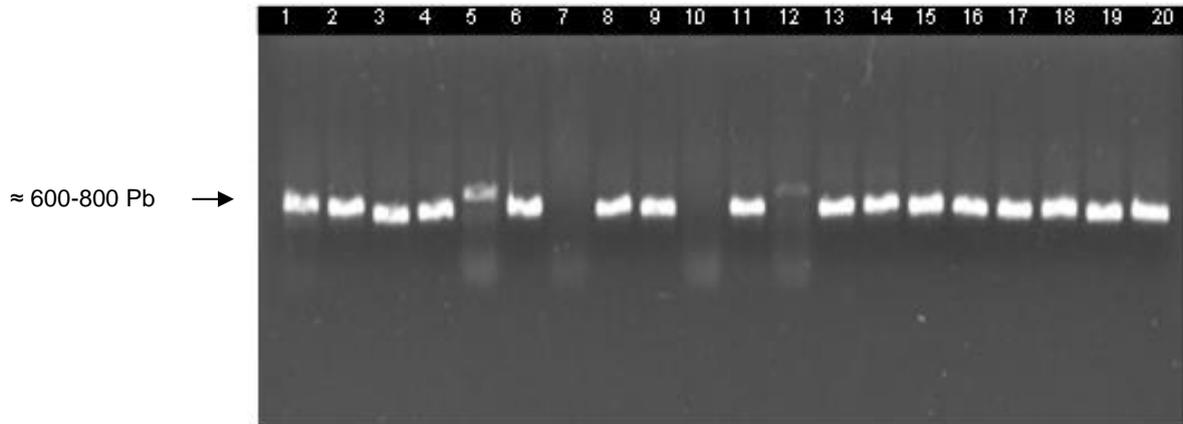
se o kit Biogene (Bioclin, Brasil) seguindo as instruções do fabricante. A PCR foi realizada de acordo com FERRER *et al.* (2001) e SEPÚLVEDA *et al.* (2017).

Para amplificação dos fragmentos de DNA dos isolados pertencentes à seção *Aspergillus fumigatus* foram utilizados primers (abaixo listados) das regiões β -tubulina (GLASS; DONALDSON, 1995), Calmodulina (O'DONNELL *et al.*, 2000) e ITS4/5 (WHITE *et al.*, 1990).

Primers	Sequência (5'-3')
Bt2A	GGTAACCAAATCGGTGCTGCTTTC
Bt2B	ACCCTCAGTGTAGTGACCCTTGGC
CL1 (PCR)	GARTWCAAGGAGGCCTTCTC
CL2A (PCR)	TTTTTGCATCATGAGTTGGAC
CL11 (Seq)	ACCATGATGGCGCGCAAG
CL22(Seq)	TCCTTCATCTTGCGCGCC
ITS4	TCCTCCGCTTATTGATATGC
ITS5	GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG

A figura 8 mostra uma foto representativa do gel de agarose com amostras de *Aspergillus* amplificadas com ITS5/ITS4 e Calmodulina.

Figura 8 – Foto representativa de amostras amplificadas pelo método de PCR convencional, analisadas pela visualização da densidade da banda de DNA (gel de agarose a 1,5%) obtidos com ITS5/ITS4 (600 a 800Pb)



1, 6 e 15: *A. flavus*; **2:** *A. tubingensis*; **3:** *Aspergillus* da seção *Versicolores*;
4: *A. sydowii*; **5, 8, 9, 11 e 13:** *A. fumigatus*; **7:** *Aspergillus* da seção *Nigri*;
10 e 12: *Aspergillus* da seção *Flavi*; **14:** *A. pseudotamarii*; **16:** *A. unguis*;
17, 18, 19 e 20: *A. sydowii*

A purificação dos produtos de PCR foi realizada com o kit ExoSap-IT Express (Applied Biosystems, EUA). E o sequenciamento foi realizado em sequenciador ABI 3500 (Applied Biosystems) e no sequenciador ABI 3730 pela empresa Macrogen (<http://www.dna.macrogen.com/>). As sequências foram editadas usando o programa Bioedit. Os dados foram analisados no banco de dados do BLASTn (GenBank).

4.5 Teste de suscetibilidade

4.5.1 Teste de triagem aos azóis

O teste de triagem de resistência aos azóis itraconazol (4mg/L), voriconazol (2 mg/L) e posaconazol (0,5 mg/L) foi realizado conforme protocolo padronizado pelo documento E.Def 10.1 do *European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing*

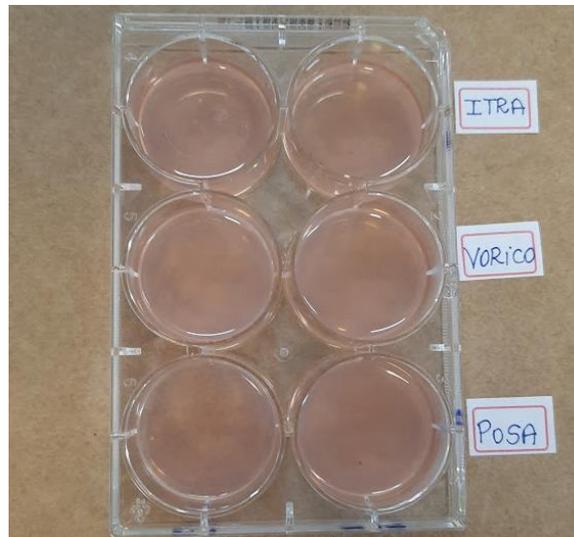
(EUCAST) com os *Aspergillus* spp. isolados no estudo (CHEN, *et al.*, 2019).

Os antifúngicos foram preparados para obter-se uma solução estoque de 1600 µl/mL, e armazenados em alíquotas de 2mL e congelados -20°C.

Foram utilizadas placas de poliestireno sem pirogênio, descartáveis, estéreis de 6 poços de fundo plano (capacidade de aproximadamente 3 mL e 34 mm), não tratadas e com tampas, que foram preparadas com ágar contendo antifúngicos.

A figura 9 ilustra as placas que foram preparadas para o teste de triagem aos azóis.

Figura 9 – Foto ilustrando placas para o teste de triagem aos azóis



Fonte: Autora

Os procedimentos de preparo e inoculação das placas contendo itraconazol, posaconazol e voriconazol, (Sigma-Aldrich Brasil Ltda, EUA). As placas foram inoculadas com 25 µL da suspensão de inóculo em cada um dos três poços de azol, foram incubadas em estufa à 35°C e observadas após 48 horas e 72h. Os testes foram feitos sempre em duplicatas.

A leitura foi feita visualmente observando a presença ou ausência de crescimento em cada poço. Qualquer crescimento em um ou mais ágar contendo azóis foi levado em consideração e a suscetibilidade do isolado foi confirmada com o teste de microdiluição em caldo.

4.5.2 Teste de microdiluição em caldo

Para confirmar a resistência ao azol em todos os isolados que demonstraram algum crescimento nas placas de triagem foi realizado o teste de suscetibilidade *in vitro* segundo o documento EUCAST E.Def. 9.3.2 por meio da microdiluição em caldo. Os antifúngicos utilizados foram a anfotericina, itraconazol, posaconazol e voriconazol, (Sigma-Aldrich Brasil Ltda, EUA).

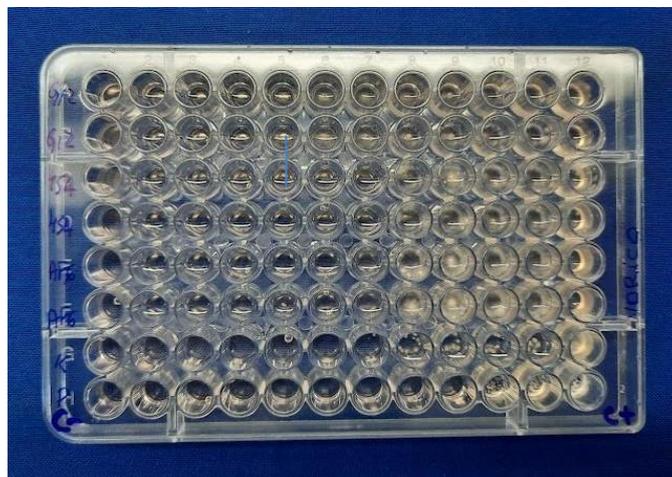
Os antifúngicos foram preparados de acordo com o protocolo padronizado do (EUCAST) para obter-se uma solução estoque de 1600 $\mu\text{L}/\text{mL}$, e armazenados em alíquotas de 2mL e congelados a -20°C .

Os antifúngicos itraconazol, voriconazol, posaconazol e anfotericina B foram preparados em placas de poliestireno sem pirogênio, descartáveis, estéreis, não tratadas, com 96 poços de fundo plano e com tampas.

Nas colunas de 2 a 11 foram pipetados 100 μL dos antifúngicos diluídos em RPMI em concentrações pré-determinadas e 100 μL da suspensão do inóculo. A coluna 1 foi utilizada para o controle negativo, onde pipetou-se somente 200 μL do meio de cultura RPMI. E a coluna 12 foi empregada para o controle positivo, onde foram adicionados 100 μL de RPMI e 100 μL da suspensão do inóculo. Os testes foram feitos sempre em duplicata.

A figura 10 ilustra uma placa utilizada no teste de microdiluição em caldo.

Figura 10 – Foto ilustrando placa de microdiluição em caldo para a determinação da concentração inibitória mínima



Fonte: Autora

Todos os isolados que apresentaram algum crescimento no teste de triagem aos azóis foram testados com o teste de microdiluição em caldo seguindo o documento do EUCAST E.Def. 9.3.2 para fungos filamentosos conforme descrito a seguir:

Foi preparada uma suspensão com esporos dos *Aspergillus* em 5 mL de água destilada estéril suplementada com 0,1% de Tween 20 e a concentração de inóculo foi ajustada para a escala 0,5 de McFarland. Então contou-se os conídios dessa suspensão com auxílio de uma câmara de Neubauer. A concentração do inóculo foi ajustada para 2 a 5×10^6 UFC/mL. Por fim, fez-se uma diluição 1:10 em meio de cultura RPMI afim de se obter uma concentração de $2-5 \times 10^5$ UFC/mL.

Imediatamente, utilizando uma pipeta multicanal, 100 μ L da suspensão do inóculo foi pipetada nos poços das colunas numeradas de 2 a 12 da placa com o antifúngico preparado anteriormente. A concentração final de conídios foi de 1 - $2,5 \times 10^5$ UFC/mL.

Como controle de qualidade utilizou-se cepas padrão de *Candida krusei* ATCC 6258 e *Candida parapsilosis* ATCC 22019 para validar o teste, as quais foram preparadas conforme metodologia do EUCAST.

A figura 11 ilustra a rotina de trabalho nos testes de microdiluição em caldo.

Figura 11 – Foto ilustrando materiais preparados para a realização do teste de microdiluição em caldo



Fonte: Autora

Após preparadas, as placas de microdiluição foram incubadas em estufa à 35°C por 24 horas. Com auxílio de um espelho, foi feita a leitura dos controles e a Concentração Inibitória Mínima (CIM) foi determinada observando o poço com 50% de inibição de crescimento das cepas padrão das *Candidas*. Após 48 horas foi realizada a leitura das CIMs dos antifúngicos considerando a menor concentração do antifúngico com 100% de inibição de crescimento de *Aspergillus*.

Foram considerados isolados resistentes com base na concentração inibitória mínima (CIM) caracterizada pelos pontos de corte do *European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing* (EUCAST), que determina os pontos de corte para interpretação de resistência ou sensibilidade para *Aspergillus*, onde, uma cepa é resistente com valores de CIM >1 µg/mL para itraconazol, voriconazol e anfotericina B, valores CIM >0,25 µg/mL para posaconazol.

A figura 12 ilustra uma placa de microdiluição do teste de suscetibilidade antifúngica e o espelho utilizado na leitura.

Figura 12 – Foto ilustrando placa de microdiluição posicionada no espelho de leitura



Fonte: Autora

4.6 Análise estatística

A análise descritiva e a caracterização da amostra foram realizadas a partir da distribuição de frequência das variáveis selecionadas, cálculo de média, desvio-padrão e proporções. O teste ANOVA foi aplicado nas amostras coletadas por placa e na quantidade de *Aspergillus* coletados por placa para avaliar se existia diferença na quantidade de *Aspergillus* spp entre os dias de coletas. O teste de qui-quadrado de Pearson ou o Teste exato de Fisher (quando uma das variáveis de interesse era menor que 5) foi aplicado para testar a diferença entre o tipo de *Aspergillus* coletado em diferentes unidades hospitalares e entre as estações do ano. A análise estatística foi realizada utilizando a linguagem R (version 4.1.1) sob a interface do RStudio (R Core Team, 2021).

4.7 Considerações éticas

Esta pesquisa foi aprovada pela Gerência de Ensino e Pesquisa do Hospital “Maria Aparecida Pedrossian” da Fundação Universidade Federal de Mato Grosso Do Sul, segundo Protocolo GEP 66/2019 da Resolução N° 301, 20 de dezembro de 2019 (ANEXO A) e Protocolo GEP 28/2021 da Resolução N° 48, de 21 de julho de 2021 (ANEXO B).

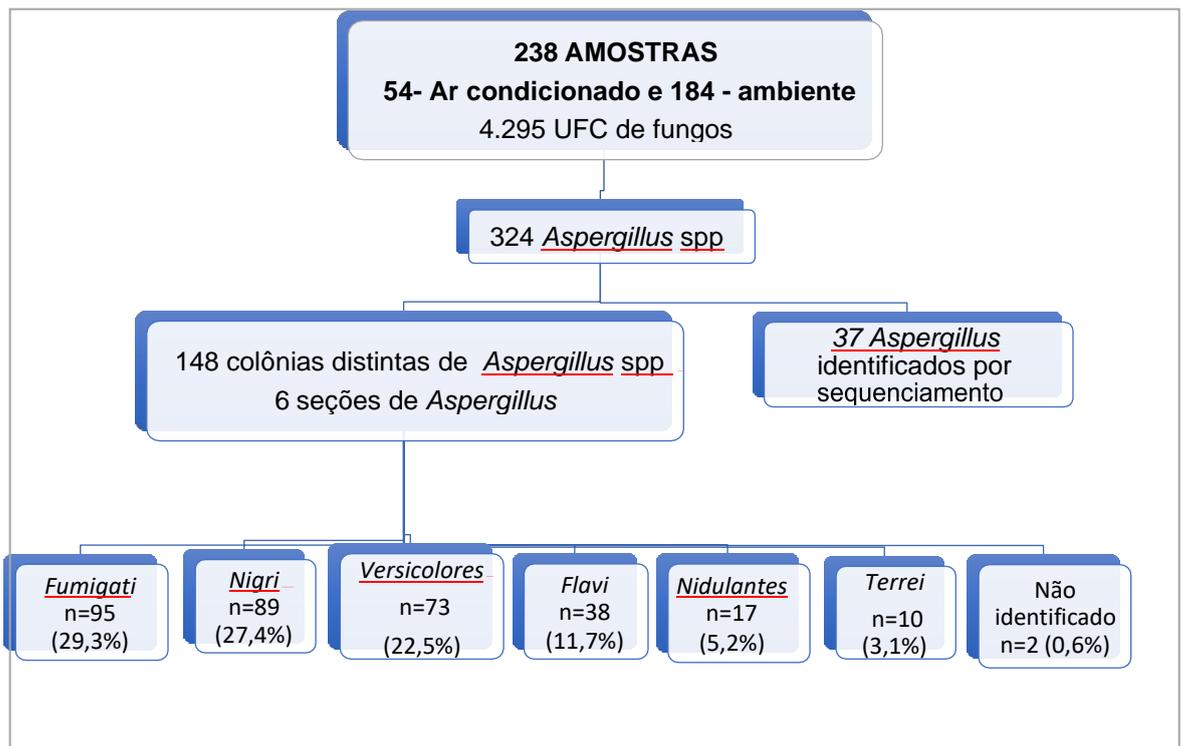
5 RESULTADOS

No período de janeiro a dezembro de 2021 foram realizadas 238 amostragens de ar nas Unidades de Urgência e Emergência (UUE), Unidade de Cuidados Intensivos e Semi-intensivos (UCIS) e Unidade de Clínica Médica (UCM). Cerca de 4.300 colônias de fungos foram isoladas em 238 placas de cultura contendo Ágar dicloran rosa bengala cloranfenicol (KASVI, Espanha).

O número de colônias e as seções de *Aspergillus* isolados de amostragens de ar condicionados (n=54) e do ar ambiente (n=184) das unidades críticas estudadas estão ilustrados na Figura 13.

Do total de 4300 colônias, 324 apresentaram características macro e microscópica de *Aspergillus* spp. Entre essas, 148 colônias que apresentavam aspectos distintos foram selecionadas para testes de suscetibilidade após identificação fenotípica. Destas, 37 foram identificadas a nível de espécie por sequenciamento. Os *Aspergillus* identificados a nível de seção foram *Nigri*, *Fumigati*, *Versicolores*, *Flavi*, *Nidulantes*, *Terrei* e 2 isolados não foram identificados.

Figura 13- Número de colônias e seções de *Aspergillus* isolados de aparelhos de ar condicionados e do ar ambiente em hospital terciário de ensino. HUMAP - Campo Grande-MS, 2021



Na tabela 1, observa-se que a média de colônias de fungos filamentosos isolados por amostra de ar variou de 7,4 até 42,4, dependendo do dia coletado, com diferença significativa entre o dia de coleta e a quantidade de fungos do ambiente por coleta (p-valor <0,001).

Tabela 1 – Comparação de frequência, média e desvio padrão de colônias de fungos filamentosos provenientes de ar condicionado e ar ambiente hospitalar, segundo data de coleta. HUMAP – Campo Grande, 2021

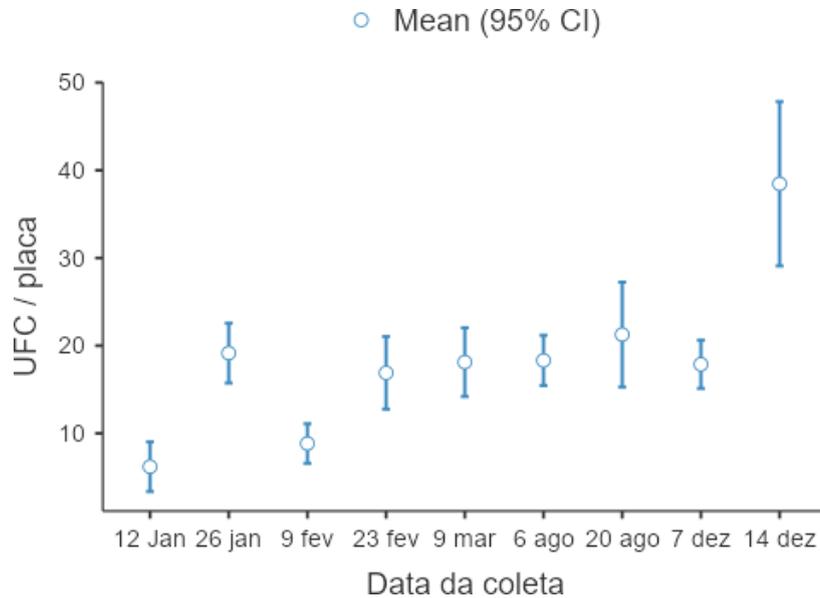
Data da coleta	UFC de Fungos			
	n (%)	Média/amostragem por placa/dia	DP	p-valor*
12 Jan	253 (6,04)	9,3	6,6	
26 Jan	448 (10,46)	16,7	9,2	
09 Fev	202 (4,98)	7,4	5,0	
23 Fev	325 (7,55)	12,5	9,2	
09 Mar	431 (10,33)	15,9	7,8	<0,001
06 Ago	442 (10,80)	17,0	6,7	
20 Ago	498 (12,22)	19,1	8,9	
07 Dez	593 (11,86)	18,8	7,6	
14 Dez	1103 (25,73)	42,4	12,5	

Nota: *ANOVA

UFC= Unidade Formadora de Colônias

A figura 14 demonstra a diferença mínima significativa (teste de Tukey) entre as colônias de fungos filamentosos por placa, provenientes de ar condicionado e ar ambiente hospitalar, segundo data de coleta.

Figura 14 - Diferença mínima significativa entre as colônias de fungos filamentosos por placa, provenientes de ar condicionado e ar ambiente hospitalar, segundo data de coleta. HUMAP - Campo Grande-MS, 2021



Na tabela 2 observa-se que, dependendo do dia de coleta, a média de colônias de *Aspergillus* spp. isolados por amostra de ar variou de 1,7 até 3,0 UFC de *Aspergillus* spp. por placa. Foi observado que houve diferença significativa entre o dia de coleta e a quantidade de *Aspergillus* spp no ambiente por amostra de ar (p -valor =0,02).

Tabela 2 – Comparação de frequência, média e desvio padrão de colônias de *Aspergillus* provenientes de ar condicionado e ar ambiente hospitalar, segundo data de coleta. HUMAP - Campo Grande-MS, 2021

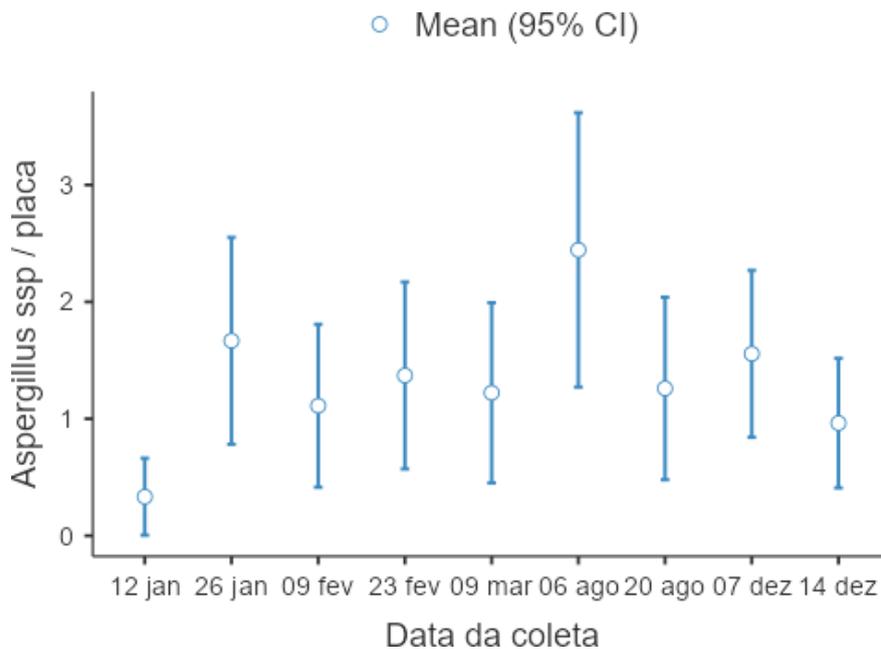
<i>Aspergillus</i> spp. (UFC)				
Data da coleta	n (%)	Média/amostragem por placa	DP	p-valor*
12 Jan	9 (29,0)	1,8	1,0	
26 Jan	45 (11,7)	2,2	1,2	
09 Fev	30 (26,0)	2,3	1,4	
23 Fev	38 (11,2)	1,9	1,2	
09 Mar	33 (11,3)	2,0	1,4	0,02
06 Ago	67 (16,6)	3,0	2,8	
20 Ago	34 (10,6)	2,2	1,4	
07 Dez	42 (8,5)	1,7	1,4	
14 Dez	26 (5,0)	1,9	1,1	

Nota: *ANOVA

UFC= Unidade Formadora de Colônias

A figura 15 demonstra a diferença mínima significativa entre as médias de *Aspergillus* por placa, provenientes de ar-condicionado e ar ambiente hospitalar, segundo data de coleta, após realizar o teste de Tukey.

Figura 15 - Diferença mínima significativa entre as médias de *Aspergillus* por placa provenientes de ar condicionado e ar ambiente hospitalar, segundo data de coleta. HUMAP - Campo Grande-MS, 2021



De 238 amostragens de ar realizadas, em 112 (47,1%) foram identificados 324 (7,5%) colônias de *Aspergillus* spp. Assim como para colônias de outros fungos (filamentosos e leveduras), foi observado diferença significativa na quantidade de colônias de *Aspergillus* spp por placa por dia de coleta (p -valor=0,02). Com isso, observa-se que nos dias de coleta, a colonização fúngica de *Aspergillus* spp e de fungos em geral no ambiente hospitalar se apresentaram em quantidades diferentes.

Ao comparar o número de Unidade Formadoras de Colônias por seção de *Aspergillus* spp que cresceram por data da coleta, observamos que houve uma diferença significativa entre os dias. O número de UFC de isolados da seção *Fumigati* foi menor nos meses de janeiro, fevereiro e março. Além disso o número de UFC de isolados da seção *Fumigati* se mostrou inversamente proporcional ao número de UFC de isolados das seções *Nigri* e *Versicolores* (Tabela 3).

Tabela 3 – Seção de *Aspergillus* spp. por data da coleta. HUMAP - Campo Grande-MS, janeiro a dezembro de 2021

UCF de <i>Aspergillus</i> spp								*p-valor
Data	<i>Flavi</i>	Indetermi- nado	<i>Nidulantes</i>	<i>Nigri</i>	<i>Terrei</i>	<i>Versicolores</i>	<i>Fumigati</i>	
	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	
12 Jan	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	5 (55,5)	0 (0,0)	0 (0,0)	4 (44,4)	
26 Jan	8 (17,8)	0 (0,0)	5 (11,1)	26(57,8)	4(8,9)	0(0,0)	2(4,4)	
09 Fev	0 (0,0)	0 (0,0)	1(3,3)	4(13,3)	0 (0,0)	25(83,3)	0 (0,0)	
23 Fev	1(2,6)	0 (0,0)	6(15,8)	18(47,4)	1(2,6)	12(31,6)	0 (0,0)	
09 Mar	11(33,3)	2 (6,1)	0 (0,0)	18(54,5)	2(6,1)	0 (0,0)	0 (0,0)	
06 Ago	1(1,5)	0 (0,0)	1(1,5)	4(6,0)	1(1,5)	12(17,9)	48(71,6)	<0,001
20 Ago	9(26,4)	0 (0,0)	0 (0,0)	5(14,7)	1(2,9)	3(8,8)	16(47,1)	
07 Dez	5(11,9)	0 (0,0)	4(9,5)	5(11,9)	1(2,4)	9(21,4)	18(42,9)	
14 Dez	3(11,5)	0 (0,0)	0(0,0)	4(15,4)	0 (0,0)	12(46,2)	7(26,9)	
Total	38 (11,7)	2 (0,6)	17 (5,2)	89(27,4)	10 (3,1)	73 (22,5)	95 (29,3)	

Nota: *Teste Qui-quadrado de Pearson
UFC= Unidade Formadora de Colônias.

A tabela 4 demonstra a frequência das seções de *Aspergillus* spp, por setor de coleta. A maior frequência de *Aspergillus* spp, foi identificado na UCIS, com 48,5% (n=157) de todas as amostras observadas. Isolados das seções *Fumigati* (36,3%) (n=57/157) e *Flavi* (13,3%) (21/157) apresentaram maior frequência na UCIS. A seção *Nigri* foi a mais encontrada na UCM seguida pela seção *Versicolores*. Foram observadas diferenças no número de isolados por seção, porém, sem valor de significância.

Tabela 4 – Distribuição de *Aspergillus* (seção) por unidade hospitalar de onde foram coletadas as amostras ambientais. HUMAP - Campo Grande-MS,2021

<i>Aspergillus</i> spp. (Seção)	Unidade de coleta			p-valor *
	UCM	UCIS	UUE	
	n (%)	n (%)	n (%)	
<i>Flavi</i>	13 (34,2)	21 (55,2)	4 (10,5)	
<i>Nidulantes</i>	7 (41,2)	7 (41,2)	3 (17,6)	
<i>Nigri</i>	41 (40,6)	39 (43,8)	9 (10,1)	
<i>Terrei</i>	5 (50,0)	5 (50,0)	0 (0,0)	0.19
<i>Versicolores</i>	39 (53,4)	28 (38,4)	6 (8,2)	
<i>Fumigati</i>	31 (32,6)	57 (60,0)	7 (7,4)	
Indeterminado	2 (100,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	
Total	138 (42,6)	157 (48,5)	29 (9,0)	

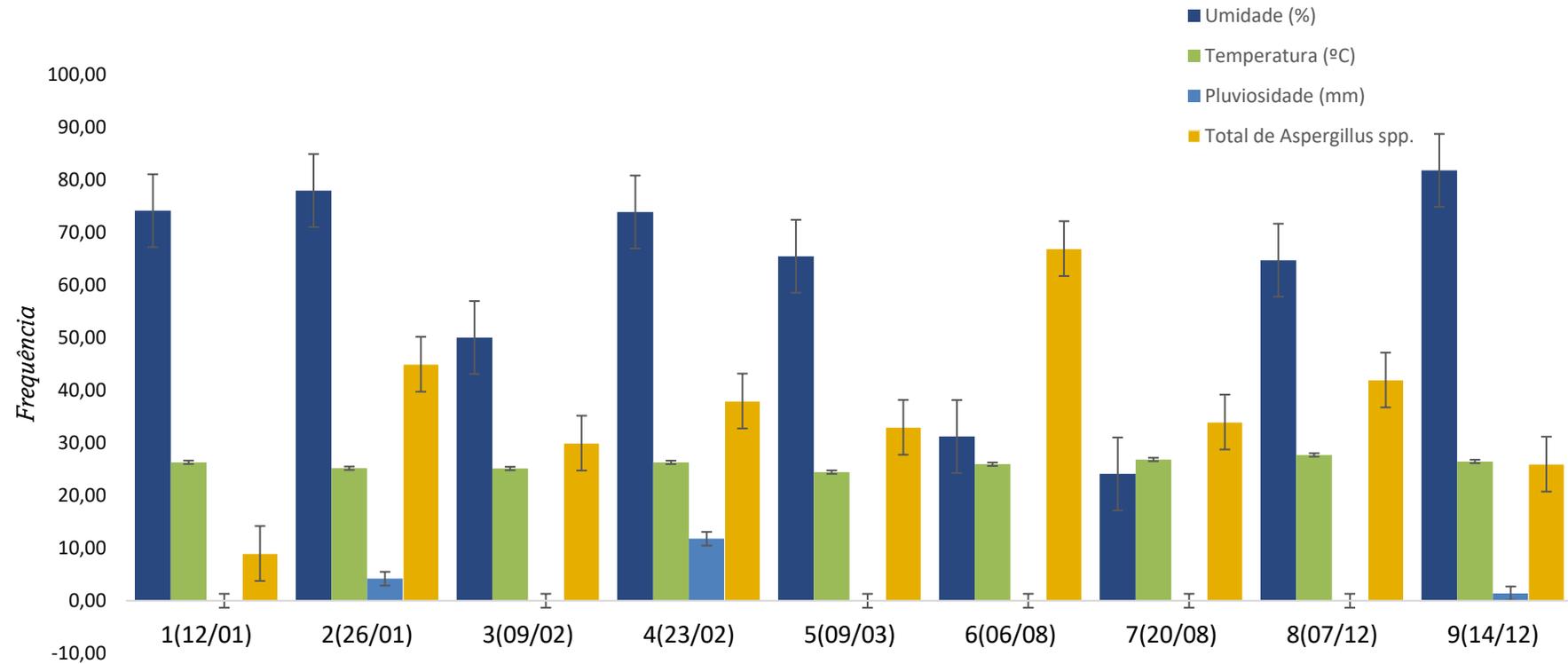
* Qui-quadrado de Pearson

UFC= Unidade Formadora de Colônias

A relação entre o número médio de *Aspergillus* spp. isolados no ambiente hospitalar e a sazonalidade é mostrado na figura 16. Os dados de umidade, temperatura e precipitação pluviométrica no período de coleta de amostras foram obtidos do Centro de Monitoramento do Tempo e do Clima do Estado do Mato Grosso do Sul (CEMTEC/SEMAGRO).

No período de estudo não houve grandes variações de temperatura. Com relação a estação do ano, no inverno, período com menor ocorrência de chuvas, foi observado (em média) maior número isolamentos de *Aspergillus* spp. Por outro lado, *Aspergillus* da seção *Nigri* e *Versicolores* foram mais prevalentes no verão.

Figura 16– Frequência relativa de *Aspergillus* spp. segundo umidade, temperatura e precipitação pluviométrica de acordo com a data da coleta. Campo Grande – Mato Grosso do Sul, 2021



Dados da Tabela 5 mostram que *Aspergillus* da seção *Fumigati* (69,7%) foram mais isolados durante o inverno ($p < 0,001$). No outono não foi possível a realização de coletas.

Aspergillus da seção *Fumigati* (por seção e por estação do ano), foi observado que a seção *Fumigati* que teve 69,7% de seus isolados coletados durante o inverno e somente 6,7% durante o período de verão (Tabela 5), com diferença significativa entre as estações do ano e UFC de *Aspergillus* por seção (p -valor $< 0,001$). No outono não foi possível a realização de coletas.

Tabela 5 – Número de UFC de *Aspergillus* identificados a nível de seção por estação do ano. HUMAP - Campo Grande-MS, 2021

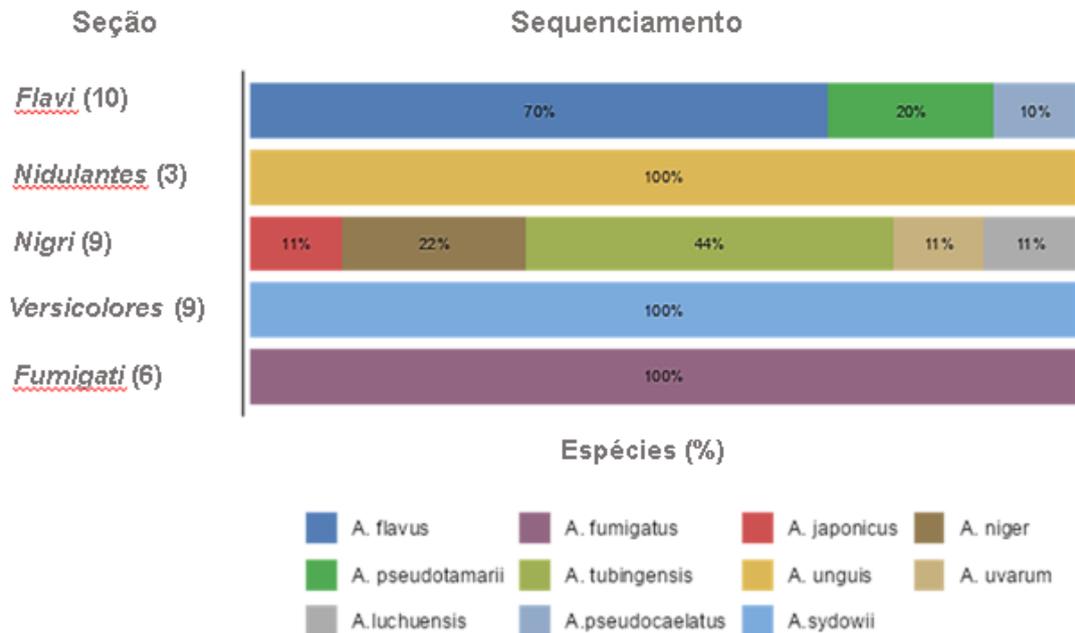
<i>Aspergillus</i> spp. (Seção)	Estação do ano						
	INVERNO		PRIMAVERA		VERÃO		p-valor*
	N	(%)	N	(%)	N	(%)	
<i>Flavi</i>	10	(26,3)	8	(21,0)	20	(52,6)	
<i>Nidulantes</i>	1	(5,9)	4	(23,5)	12	(70,5)	
<i>Nigri</i>	9	(10,1)	9	(10,1)	71	(79,8)	
<i>Terrei</i>	2	(20,0)	1	(10,0)	7	(70,0)	<0,001
<i>Versicolores</i>	15	(20,6)	21	(28,7)	37	(50,7)	
<i>Fumigati</i>	64	(67,4)	25	(26,3)	6	(6,3)	
Indeterminado	0	(0,0)	0	(0,0)	2	(100,0)	
Total	101	(31,2)	68	(21)	155	(47,8)	

* Teste Qui-quadrado de Pearson

UFC= Unidade Formadora de Colônias

Do total de 148 *Aspergillus* spp que apresentaram colônias de aspecto distintos, 37 (25,0%) isolados foram identificados por PCR e posterior sequenciamento de DNA. Os resultados obtidos são mostrados na figura 17.

Figura 17 - *Aspergillus* do microbioma hospitalar (n=37) identificados por sequenciamento. HUMAP - Campo Grande-MS, janeiro a dezembro de 2021



O resultado do teste de triagem de resistência aos azóis realizado com 148/324 *Aspergillus* spp que apresentaram colônias de aspectos distintos é mostrado na tabela 6. Dos 148 isolados, 16 (10,8%) foram classificados como resistentes a pelo menos um azol.

Tabela 6- *Aspergillus* com resistência a pelo menos um antifúngico (itraconazol, voriconazol e posaconazol) no teste de triagem, segundo classificação de seção. HUMAP - Campo Grande-MS, 2021

Seção	Resistente (UFC)		p-valor *
	Não n(%)	Sim n(%)	
Flavi	17 (89,5)%	2 (10,5)%	
Nidulantes	10 (100,0)%	0 (0,0)%	
Nigri	52 (96,3)%	2 (3,7)%	
Terrei	6 (100,0)%	0 (0,0)%	
Versicolores	17 (68,0)%	8 (32,0)%	0,01
Fumigati	28 (87,5)%	4 (12,5)%	
Indeterminado	2 (100,0)%	0 (0,0)%	
Total	132 (89,2)%	16 (10,8)%	

*Teste Exato de Fisher

UFC= Unidade Formadora de Colônias

A tabela 7 mostra que o maior número de *Aspergillus* com resistência aos azóis no teste triagem foram isolados na unidade de cuidados intensivos e semi-intensivos (UCIS) com 8 (50%) isolados resistentes. Entre esses, três (18,75%) eram *A. fumigatus*, dois (12,5%) *A. sydowii*, pertencentes à seção *Versicolores*, 1 (6,25%) *A. flavus* e um (6,25%) isolado da seção *Nigri*.

Na UCM foram observados cinco (31,25%) isolados resistentes, sendo um (6,25%) *A. flavus*, da seção *Flavi* e quatro (25,0%) isolados pertencentes à seção *Versicolores*.

O menor número de fungos considerados resistentes foi identificado na UUE com um (6,25%) *A. fumigatus*, da seção *Fumigati*, um (6,25%) *A. sydowii*, pertencente à seção *Versicolores* e um (6,25%) *A. tubingensis*, da seção *Nigri*.

Foi observado que quatro *A. fumigatus* apresentaram resistência a pelo menos um antifúngico azol. Dois isolados (6,25%) apresentaram resistência ao itraconazol dois (6,25%) apresentaram resistência ao itraconazol, voriconazol e posaconazol concomitantemente.

Tabela 7- *Aspergillus* que apresentaram crescimento a pelo menos um ágar contendo azol no teste de triagem aos antifúngicos itraconazol, voriconazol e posaconazol, presumindo resistência dos *Aspergillus* spp, segundo setor hospitalar. HUMAP - Campo Grande-MS, 2021

Setor (n)	Resistente (UFC)				P-valor*
	Não		Sim		
UCM (70)	65	(92,8%)	5	(7,1%)	0,19
UCIS (64)	56	(87,5%)	8	(12,5%)	
UUE (14)	11	(78,5%)	3	(21,4%)	
Total	132	(89,2%)	16	(10,8%)	

*Teste Exato de Fisher

UFC= Unidade Formadora de Colônias, UCM= Unidade de Cuidados Médicos; UCIS= Unidade de Cuidados Intensivos e Semi-intensivos; UUE= Unidade de Urgência e Emergência

A tabela 8 mostra o resultado do teste de suscetibilidade por microdiluição em caldo (EUCAST E.Def. 9.3.2) realizada com os 16 isolados que apresentaram resistência a pelo menos um antifúngico azol no teste de triagem.

Tabela 8 – Perfil de resistência a antifúngicos de 16 *Aspergillus* spp. presentes unidades de pacientes críticos

Seção	Espécie de <i>Aspergillus</i> ¹	Setor	Itraconazol ²		Voriconazol ²		Posaconazol ²		CIM Anfotericina ³
			[>4 mg/L] (R)	CIM Itraconazol ³	[>2 mg/L] (R)	CIM Voriconazol ³	[>0,5 mg/L] (R)	CIM Posaconazol ³	
Flavi	<i>A.flavus</i>	UCM	Sim (R)	>8 (R)	Não (S)	0,5 (S)	Sim (R)	1(R)	0,5 (S)
Versicolores	<i>A.sydowii</i>	UCM	Sim (R)	>8 (R)	Sim (R)	>8 (R)	Sim (R)	>8 (R)	4 (R)
Nigri	<i>A. tubingensis</i>	UUE	Sim (R)	>8 (R)	Não (S)	1 (S)	Não (S)	0,12 (S)	0,5 (S)
Versicolores	<i>A.sydowii</i>	UUE	Sim (R)	>8 (R)	Sim (R)	2 (R)	Não (S)	0,25 (S)	2 (R)
Versicolores	<i>A.sydowii</i>	UCIS	Não (S)	1 (S)	Sim (R)	2 (R)	Não (S)	0,25 (S)	0,25 (S)
Versicolores	NI	UCM	Sim (R)	>8 (R)	Sim(R)	>8 (R)	Não (S)	0,25 (S)	1 (S)
Versicolores	<i>A.sydowii</i>	UCIS	Sim (R)	>8 (R)	Não (S)	1 (S)	Não (S)	0,25 (S)	4 (R)
Versicolores	<i>A.sydowii</i>	UCIS	Sim (R)	>8 (R)	Não (S)	1 (S)	Não (S)	0,25 (S)	4 (R)
Fumigati	<i>A. fumigatus</i>	UCIS	Sim (R)	>8 (R)	Sim (R)	4 (R)	Sim (R)	>8 (R)	1 (S)
Versicolores	NI	UCM	Sim (R)	>8 (R)	Sim (R)	2 (R)	Não (S)	0,25 (S)	1 (S)
Flavi	<i>A. flavus</i>	UCIS	Sim (R)	8 (R)	Não (S)	0,5 (S)	Não (S)	0,25 (S)	1 (S)
Versicolores	NI	UCM	Sim (R)	>8 (R)	Não (S)	1 (S)	Não (S)	0,25 (S)	4 (R)
Nigri	NI	UCIS	Sim (R)	>8 (R)	Não (S)	1 (S)	Não (S)	0,12 (S)	0,25 (S)
Fumigati	<i>A. fumigatus</i>	UCIS	Sim (R)	>8 (R)	Sim (R)	>8 (R)	Sim (R)	0,5 (R)	1 (S)
Fumigati	<i>A. fumigatus</i>	UUE	Sim (R)	>8 (R)	Não (S)	1 (S)	Não (S)	0,25 (S)	1 (S)
Fumigati	<i>A. fumigatus</i>	UCIS	Sim (R)	>8 (R)	Não (S)	0,25	Não (S)	0,25 (S)	0,25 (S)

¹=Identificadas por sequenciamento; ²=Testes de triagem ; ³= Teste de microdiluição; **NI**= não identificada; **CIM**= concentração inibitória mínima; **UCM**= Unidade de Cuidados Médicos; **UCIS**= Unidade de Cuidados Intensivos e Semi-intensivos; **UUE**= Unidade de Urgência e Emergência; **R**= Resistente; **S**= Sensível

6 DISCUSSÃO

Esporos de diferentes espécies de fungos estão dispersos no ar e a concentração destes no ambiente hospitalar requer atenção, uma vez que isolados ambientais podem ocasionar doenças graves em pacientes suscetíveis (RHODES *et al.*, 2022).

A presença de fungos filamentosos no ar ambiente como observado no presente estudo, é um fato comum. Entretanto, dados da literatura revelam que o ambiente hospitalar com grande número de esporos circulantes no ar aumenta não só o risco de infecção, mas também, de surtos de infecção hospitalar (BELIZARIO; LOPES; PIRES, 2021; BOFF *et al.*, 2013; CHEN *et al.*, 2019; SÁNCHEZ ESPINOSA *et al.*, 2021; HASSAN; ZEESHAN, 2022). Há evidências de que esporos de *Aspergillus* são mais encontrados em ambientes externos do que dentro de unidades hospitalares (CHO *et al.*, 2018).

Apesar da relevância, existem poucos estudos na literatura que descrevem os números de esporos de *Aspergillus* sp no ar de unidades onde se encontram internados pacientes críticos (MARTÍNEZ-HERRERA *et al.*, 2016; PARK *et al.*, 2019). No presente estudo documenta-se pela primeira vez na região Centro Oeste do Brasil, o isolamento de espécies de *Aspergillus* provenientes do ar ambiente de diferentes unidades de um hospital terciário, de ensino.

A média de colônias (224 UFC/m³) isoladas neste estudo foi inferior ao valor máximo de 750 UFC/m³ de contaminação fúngica no ar ambiente permitida nas normas do Ministério da Saúde e da Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA (Resolução-RE nº 9, de 16 de janeiro de 2003). Por outro lado, em se tratando de locais onde estão internados pacientes imunossuprimidos e portadores de doenças crônicas, como os internados em unidades de cuidados intensivos e semi-intensivos, o isolamento de fungos patogênicos se fazem relevantes.

No presente estudo, *Aspergillus* spp foram isolados nestas unidades durante o ano todo (2021) e variaram de 17 A 30 UFC/mm³. Os resultados obtidos confirmam que fungos do gênero *Aspergillus* fazem parte da biodiversidade do ambiente hospitalar (CHO *et al.*, 2018; CHEN *et al.*, 2019; SIVAGNANASUNDARAM, *et al.*, 2019; VIEGAS *et al.*, 2019).

Os resultados desta pesquisa mostram que o número médio de colônias de fungos filamentosos (incluindo *Aspergillus* spp.) por placa variaram de acordo com o dia da coleta ($p < 0,05$). Com a finalidade de minimizar interferências, as coletas de amostras foram realizadas sempre no mesmo horário, antes da limpeza de rotina. Assim como já relatado por outros autores, a variação do número de colônias colônias (17 A 30 UFC/mm³) por período de coleta pode ter sido influenciada por fatores internos ou externos como circulação de pacientes, de visitantes e funcionários, bem como pequenas obras que ocorreram no interior do hospital (ABBASI; SAMAEI, 2019; CHO *et al.*, 2018; DANCER, 2009; SIVAGNANASUNDARAM, *et al.*, 2019). Diante do exposto, analisar a carga microbiana fúngica no ar é um grande desafio.

Na presente pesquisa, a quantidade de UFC de fungos no último dia de coleta (14 de dezembro de 2021) foi maior do que a de outros dias evidenciando que, neste dia, o ar (de quase todas as unidades de internação) apresentava grande concentração de fungos filamentosos. Acredita-se que a elevada umidade relativa do ar (superior a 80%) neste dia possa ter favorecido o aumento na concentração de fungos aéreos, como já reportado por outros pesquisadores (MORI *et al.*, 2020; SHELTON *et al.*, 2002). Estudos mais aprofundados, incluindo a observação dos casos de infecções fúngicas no mesmo período são necessários para verificar o impacto de elevada concentração de esporos fúngicos no ambiente hospitalar.

Diferenças significativas foram observadas entre número de UFC entre as diferentes seções de *Aspergillus*, de acordo com a data da coleta. *Aspergillus* pertencentes a seção *Fumigati* (29,3%) e seção *Nigri* (28,4%) foram os mais isolados no hospital estudado, corroborando com estudo realizado em outro estado brasileiro, Teresina- PI, onde isolados dessas seções foram identificados como os mais abundantes no ar de ambiente hospitalar (MOBIN; SALMITO, 2006).

Estudo de revisão com dados nacionais mostram que *A. niger*, *A. fumigatus* e *A. flavus* são as espécies mais encontradas no ambiente dos hospitais brasileiros. Entretanto, o conhecimento das espécies mais prevalentes em hospitais no país é limitado pois cerca de 62% dos isolados de *Aspergillus* nos estudos publicados não foram identificadas a nível de espécie. Mesmo assim, os autores ressaltam que as espécies mais encontradas são aquelas associadas à aspergilose invasiva (ANDRADE JÚNIOR *et al.*, 2019).

No hospital de ensino estudado, o maior número de isolamento de *Aspergillus* spp no ambiente foi identificado na UCIS (n=157; 48,5%), local este onde estão

internados pacientes críticos, conhecidos como grupo de risco para infecção por patógenos oportunistas. Faz-se importante destacar que os *Aspergillus* da seção *Fumigati*, considerados principais agentes de aspergilose invasiva, foram os mais isolados nesta unidade (36,3%). Isso é de extrema importância porque já está bem estabelecido que pacientes imunocomprometidos são vulneráveis a infecções invasivas fatais causadas por *A. fumigatus* (DEMUYSER; DE COCK; SERMIJN, 2019; RHODES, *et al.*, 2022).

Fungos da seção *Flavi* também se mostraram frequentes na UCIS. A presença de *Aspergillus* das seções *Fumigati* e *Flavi* em unidades críticas alerta para a possibilidade de aquisição de doenças causadas por esses potenciais patógenos e fornece subsídios para a implementação de medidas para melhorar a qualidade do ar nesta e em outras unidades hospitalares.

Estudo realizado em Porto Alegre-RS identificou *A. fumigatus* e *A. flavus* como espécies mais relacionadas com a aspergilose invasiva e rinossinosite fúngica no hospital estudado (AQUINO *et al.*, 2010). Em São Paulo, espécies da seção *Fumigati* foram as mais prevalentes (50%) nas amostras clínicas pesquisadas (REICHERT-LIMA *et al.*, 2018).

O hospital estudado está localizado em um ambiente com clima tropical, onde o inverno possui períodos de seca e os verões são úmidos, com muita chuva, e quentes.

No período de estudo, foi registrada pouca precipitação pluviométrica no município de Campo Grande-MS. No primeiro trimestre de 2021, de maior ocorrência de chuva na região os isolados das seções *Nigri* e *Versicolores*, foram os mais isolados do ar das unidades hospitalares estudadas. Esses fungos, normalmente presente no ar ambiente, podem causar doenças graves em indivíduos hospitalizados (GÉRY *et al.*, 2021; GITS-MUSELLI *et al.*, 2021).

No inverno, período de menor ocorrência de chuvas, houve um maior número médio de *Aspergillus* spp. por placa. Estudos anteriores mostraram que altas temperaturas e alta umidade relativa do ar estavam diretamente relacionadas com o aumento no crescimento e na capacidade de reprodução da carga fúngica no ambiente hospitalar (ABDEL HAMEED *et al.*, 2012; CHO *et al.*, 2018; LOEFFERT *et al.*, 2018).

No hospital estudado, *A. fumigatus* foram isolados em maior número durante o período de seca, no inverno. De acordo com estudos prévios, nesta estação, as

concentrações de *A. fumigatus* tendem a aumentar por fatores característicos da espécie. Os esporos de pequeno tamanho (2 a 3,5 µm) são significativamente mais hidrofóbicos do que os de outras espécies do gênero e permaneçam mais tempo dispersos no ar (KWON-CHUNG; SUGUI, 2013; MARTÍNEZ-HERRERA *et al.*, 2016; O'GORMAN, 2011).

Nos Estados Unidos, a incidência de aspergilose foi associada a períodos sazonais de baixa precipitação e altas temperaturas, e relataram que o tempo quente e seco permite uma maior dispersão dos conídios hidrofóbicos (PANACKAL *et al.*, 2010).

Apesar de todo avanço da indústria farmacêutica, o número de opções de tratamento da aspergilose hoje em dia é muito limitado. Avanços nos testes e nos alvos de drogas são extremamente necessários (FISHER *et al.*, 2022).

Mesmo havendo necessidade de saber se o agente de infecção é resistente ao antifúngico instituído no tratamento, muitos laboratórios de microbiologia clínica não realizam testes de suscetibilidade a antifúngicos. Esse problema é maior em países em desenvolvimento, que muitas vezes não dispõe de técnicas de identificação básicas (BURKS *et al.*, 2021; GUINEA *et al.*, 2019).

O teste de triagem de resistência a antifúngicos utilizado neste estudo apresentou boa correlação com o teste de microdiluição em caldo padronizado. Embora ele não mostre valores das CIM, este teste é prático e poderia fazer parte dos exames de rotina no laboratório de microbiologia clínica. Em nossa opinião, o elevado custo dos antifúngicos é o principal fator limitante do uso desta técnica.

Estudos prévios mostram que o conhecimento do perfil de suscetibilidade antifúngica dos isolados ambientais e clínicos regional é importante para fins epidemiológicos e colabora na condução da terapia antifúngica de pacientes com infecções invasivas por espécies de *Aspergillus* (ARASTEHFAR *et al.*, 2020).

Os resultados de nosso estudo mostram isolados de *Aspergillus* resistentes aos azóis em unidades hospitalares de pacientes críticos. *Aspergillus fumigatus* (n=4, 12,5%) apresentaram resistência a pelo menos um antifúngico azol. Um isolado da UUE e outro da UCIS apresentaram resistência ao itraconazol. Os outros dois isolados, que foram coletados na UCIS, apresentaram resistência ao itraconazol, voriconazol e posaconazol, concomitantemente.

Aspergillus fumigatus resistentes aos azóis é um problema emergente e tem sido documentada em todos os continentes (ABDOLRASOULI *et al.*, 2018;

AHANGARKANI *et al.*, 2020; BUIL *et al.*, 2017, 2019; BURKS *et al.*, 2021; CHEN *et al.*, 2019; FISHER *et al.*, 2022.; GONZALEZ-LARA *et al.*, 2019; LESTRADE *et al.*, 2019a; LOEFFERT *et al.*, 2018b; MOIN *et al.*, 2020; PERLIN *et al.*, 2017; PRIGITANO *et al.*, 2021; RAGOZZINO *et al.*, 2022; RIAT *et al.*, 2018; RESENDIZ-SHARPE *et al.*, 2019, 2021; RIVERO-MENENDEZ *et al.*, 2016; RUDRAMURTHY *et al.*, 2019; TSITSOPOULOU *et al.*, 2018; VERMEULEN *et al.*, 2013; VERWEIJ *et al.*, 2020; WIRMANN *et al.*, 2018; ZHANG *et al.*, 2021). As taxas de resistência ainda são desconhecidas e é possível que sejam maiores que as existentes pela falta de vigilância, tanto em isolados clínicos quanto ambientais (WIEDERHOLD; VERWEIJ, 2020).

A resistência de *A. fumigatus* aos azóis estão associados à falha no tratamento e ao aumento da mortalidade (LOCKHART; BEER; TODA, 2020; WIEDERHOLD; VERWEIJ, 2020). *A. fumigatus* pan-azol resistente é um problema grave.

Diversos mecanismos podem estar relacionados com a resistência e geralmente ocorrem por mutações adquiridas ambientalmente no gene componente da síntese do ergosterol, o Cyp51A, que é o alvo dos antifúngicos azóis, conhecido como TR₃₄/L98H e TR₄₆/Y121F/T289A, e afeta principalmente o voriconazol e isavuconazol, mas pode levar a uma baixa suscetibilidade ao itraconazol e posaconazol (IVANOV; ĆIRIĆ; STOJKOVIĆ, 2022; LESTRADE *et al.*, 2019b; PARK *et al.*, 2019).

Vários mecanismos de resistência foram descritos em *A. fumigatus*, como mutações relacionadas ao alvo azólico lanosterol 14 α desmetilase (Cyp51A), mutações de substituição de um aminoácido no gene HapE e mutações no gene hmg1, que afetam a biossíntese do ergosterol. Outro mecanismo subjacente da resistência não mediada por Cyp51A é a super expressão de bombas de efluxo com consequente resistência aos azóis (CAMPS *et al.*, 2012; CHOWDHARY *et al.*, 2014; HAGIWARA *et al.*, 2018; NYWENING *et al.*, 2020; PERLIN *et al.*, 2017; ROGERS *et al.*, 2022; SHISHODIA *et al.*, 2019; SNELDERS *et al.*, 2008; ZAKARIA *et al.*, 2020).

Apesar de sua toxicidade, a anfotericina B ainda é utilizada no tratamento de infecções resistentes aos azóis, e como primeira opção em algumas infecções fúngicas invasivas. Essa classe de antifúngico interage com o ergosterol da membrana celular, aumentando a permeabilidade, ocasionando a lise e morte celular. A resistência à anfotericina ainda não é bem conhecida e a mutação na via de síntese e aumento da produção de catalases que protegem a célula do estresse oxidativo

causado pelo antifúngico podem estar relacionados com a resistência (REICHERT-LIMA *et al.*, 2018).

Pesquisas sobre monitoramento do ar e a identificação de fungos nos hospitais, são pouco conhecidas (AHANGARKANI *et al.*, 2020; CHEN *et al.*, 2019; CHO *et al.*, 2019; RESENDIZ-SHARPE *et al.*, 2021; TSITSOPOULOU *et al.*, 2018; WIRMANN *et al.*, 2018). Estudos brasileiros sobre resistência de *Aspergillus* ambientais são poucos descritos no Brasil e se concentram principalmente nas regiões Sudeste e Sul (AQUINO *et al.*, 2010; DE ALMEIDA; JÚNIOR; HAHN, 2011; GONÇALVES *et al.*, 2018; MOBIN; SALMITO, 2006; SOUZA *et al.*, 2019).

A figura 18 mostra alguns estudos com *Aspergillus fumigatus* isolados de ambiente e com resistência aos antifúngicos azólicos em diferentes continentes.

Figura 18 – Estudos ambientais sobre resistência de *Aspergillus fumigatus* a antifúngicos azólicos

Continente	País	Hospital	Ar ambiente	Espécie	Referência
Ásia	Iran	não	Não (solo)	<i>A. fumigatus</i> =R voriconazole CIMs (≥ 16 mg/L) TR46/Y121F/T289A mutação no gene <i>cyp51A</i>	AHANGARKANI <i>et al.</i> , 2020
América Latina e África	México, Paraguai e Peru na América Latina e Benim e Nigéria na África	não	Não (solo)	<i>A. fumigatus</i> =R TR34/L98H e TR46/Y121F/T289A mutação no gene <i>cyp51A</i>	RESENDIZ-SHARPE <i>et al.</i> , 2021
Europa	Reino unido	sim	Sim (solo e ar)	<i>A. fumigatus</i> =R itraconazol CIMs (≥ 2 mg/dL) e voriconazole (≥ 2 mg/dL) TR34/L98H mutação no gene <i>cyp51A</i>	TSITSOPOULOU <i>et al.</i> , 2018
Europa	Alemanha	sim	Sim (ar livre) período de demolição	<i>A. fumigatus</i> com mutação no gene <i>Cyp51A</i> TR34/L98H	WIRMANN <i>et al.</i> , 2018
Ásia	Coreia do Sul	sim	Sim (ar livre e clínico)	<i>A. fumigatus</i> com mutação no gene <i>Cyp51A</i> TR34/L98H	CHO <i>et al.</i> , 2019
Ásia	Taiwan	sim	Sim (ar livre, solo e clínico)	<i>A. fumigatus</i> com mutações TR34/L98H e Y121F/T289A	CHEN <i>et al.</i> , 2019

A resistência ao azol é um processo evolutivo de seleção natural que colabora com a variação genética e possivelmente já está na população ou é desencadeada por novas mutações. Porém, outros fatores, ainda desconhecidos, podem estar relacionados a esse tema, como a concentração de fungicidas encontrados no ambiente (FISHER *et al.*, 2022; WANG *et al.*, 2022).

Neste estudo observou-se a presença de isolados de *A. flavus*, que apresentaram resistência aos azóis. Um estudo mostrou a relação da resistência dessa espécie com genes Cyp51A que codificam a proteína alvo dos azóis e mutações após exposição prolongada aos azóis (BUIL *et al.*, 2021).

Em nosso estudo, a maioria dos isolados de *Aspergillus* da seção *Versicolores* apresentaram sensibilidade diminuída aos azóis (n=7, 28,0% com MIC > 8,0 para itraconazol). Estes resultados corroboram com estudos que descrevem espécies da seção *Versicolores* como menos suscetíveis a azóis do que as espécies mais conhecidas (NEDEL; PASQUALOTTO, 2014; NEGRI *et al.*, 2014).

A resistência aos antifúngicos tem sido descritas às espécies incomuns (que não *A. fumigatus*) causadoras de doenças, entretanto, os valores de corte clínico e epidemiológico ainda não foram bem definidos estas espécies. Há evidências de que a resistência a antifúngico em espécies pouco comuns pode ser adquirida em resposta à exposição a medicamentos, e sabe-se também que algumas são intrinsecamente resistentes a certos agentes antifúngicos (HOWARD, 2014). Outros autores relatam fenótipos sensíveis aos azóis para as espécies da seção *Versicolores*, com CIMs menores que 1 µg/mL para itraconazol, voriconazol e posaconazol (PFALLER *et al.*, 2003; WANG *et al.*, 2022).

Neste estudo, inicialmente, os isolados foram identificados de acordo com as características macro e microscópica dos *Aspergillus*, e com isso, quase todos foram classificados em seção. A identificação fenotípica de fungos do gênero *Aspergillus* é um desafio e possui algumas limitações, uma vez que esses fungos apresentam estruturas similares entre espécies, além de variações morfológicas dependentes do meio de cultivo ou temperatura de incubação, bem como a exigência de experiência do analista (LACAZ, *et al.*, 2002; WALSH *et al.*, 2018).

Mesmo que a identificação molecular não foi realizada com todos os isolados de *Aspergillus* encontrados, com o sequenciamento nossa investigação revelou que existem espécimes pouco conhecidas que estão presentes no ambiente do hospital.

A pandemia da COVID-19 foi um fator importante que gerou limitações em

muitos seguimentos desta pesquisa. Realizamos amostragem de ar em intervalos quinzenais que não puderam ser regulares durante o ano. As coletas foram influenciadas diretamente pelas restrições impostas pela administração hospitalar como impedimento aos locais de coletas e dos laboratórios para a realização dos experimentos.

Além disso, métodos padronizados de amostragem de ar, com protocolos definidos, de onde, com que frequência ou o quanto de ar deve ser amostrado, ainda não foram estabelecidos. Sendo assim, há a necessidade de mais estudos nessa área.

Este é o primeiro trabalho sobre aerocontaminação por *Aspergillus* neste hospital, e um dos primeiros no estado de Mato Grosso do Sul. Mais pesquisas devem ser fomentadas para obter conhecimento e percepção sobre este assunto tão relevante.

Nossos achados contribuem para o conhecimento da diversidade e ecologia dos fungos em ambiente hospitalar. Os resultados obtidos sinalizam a existência de patógenos fúngicos que podem favorecer o agravamento de sintomas de asma e rinite alérgica, além de causarem doenças graves em indivíduos suscetíveis.

O ambiente hospitalar contaminado por conídios de *Aspergillus* pode ser fonte de infecção para aspergilose pulmonar e disseminada, o monitoramento do ar de unidades hospitalares com pacientes críticos é fundamental como subsídio para medidas de controle.

Estudos futuros devem ser realizados para correlacionar os genótipos dos isolados clínicos e ambientais coletados durante o mesmo período do ano, a fim de se conhecer a origem da infecção e/ou colonização de *Aspergillus* spp.

Estudos prévios mostram que o conhecimento do perfil de suscetibilidade antifúngica dos isolados ambientais e clínicos regional é importante para fins epidemiológicos e colabora na condução da terapia antifúngica de pacientes com infecções invasivas por espécies de *Aspergillus* (ARASTEHFAR *et al.*, 2020).

7 CONCLUSÕES

Fungos do gênero *Aspergillus* estão presentes no ar ambiente e no ar condicionado de hospital terciário de referência em doenças infecciosas que atende a população de Mato Grosso do Sul.

Esporos de espécies das Seções *Fumigati*, *Flavi*, *Nigri* e *Versicolores* presentes em unidades onde estão internados pacientes críticos podem ser fonte de aspergilose.

Técnicas fenotípicas permitem a identificação a nível de seção de *Aspergillus*, mas a identificação a nível de espécie só é possível com utilização de técnicas moleculares.

Isolados da seção *Fumigati* estão presentes em maior número no inverno, porém são necessários mais estudos para se conhecer a relação com a sazonalidade desses fungos.

As espécies *A. fumigatus*, *A. flavus*, *A. sydowii* e *A. tubingensis* resistentes aos azóis no hospital pesquisado podem acarretar prejuízos na terapia antifúngica.

A presença de *Aspergillus fumigatus* e *Aspergillus flavus* em unidades críticas alerta para a possibilidade de aquisição de doenças causadas por esses potenciais patógenos e fornece subsídios para a implementação de medidas para melhorar a qualidade do ar nesta e em outras unidades hospitalares.

REFERÊNCIAS

- ABARCA, M. L. *et al.* Taxonomy and significance of black aspergilli. **Antonie van Leeuwenhoek**, v. 86, n. 1, p. 33–49, 1 ago. 2004.
- ABBASI, F.; SAMAEI, M. R. The effect of temperature on airborne filamentous fungi in the indoor and outdoor space of a hospital. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 26, n. 17, p. 16868–16876, 1 jun. 2019.
- ABDEL HAMEED, A. A. *et al.* Study on some factors affecting survivability of airbornefungi. **Science of the Total Environment**, v. 414, p. 696–700, 1 jan. 2012.
- ABDOLRASOULI, A. *et al.* High prevalence of triazole resistance in clinical *Aspergillus fumigatus* isolates in a specialist cardiothoracic centre. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 52, n. 5, p. 637–642, nov. 2018.
- AGARWAL, R. *et al.* Allergic bronchopulmonary aspergillosis: review of literature andproposal of new diagnostic and classification criteria. **Clinical and Experimental Allergy: Journal of the British Society for Allergy and Clinical Immunology**, v. 43, n. 8, p. 850–873, ago. 2013.
- AHANGARKANI, F. *et al.* First azole-resistant *Aspergillus fumigatus* isolates with theenvironmental TR46/Y121F/T289A mutation in Iran. **Mycoses**, v. 63, n. 5, p. 430– 436, 2020.
- AHMADI, A. *et al.* Current Status and Structure Activity Relationship of Privileged Azoles as Antifungal Agents (2016–2020). **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 59, n. 3, p. 106518, 1 mar. 2022.
- AKTAS, Y. D. *et al.* Surface and passive/active air mould sampling: A testing exercise in a North London housing estate. **Science of The Total Environment**, v. 643, p. 1631–1643, 1 dez. 2018.
- ALANIO, A. *et al.* Prevalence of putative invasive pulmonary aspergillosis in criticallyill patients with COVID-19. **The Lancet Respiratory Medicine**, v. 8, n. 6, p. e48– e49, 1 jun. 2020.
- ALCAZAR-FUOLI, L. *et al.* Species Identification and Antifungal Susceptibility Patterns of Species Belonging to *Aspergillus* Section *Nigri*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 53, n. 10, p. 4514–4517, out. 2009.
- ANDERSON, T. M. *et al.* Amphotericin forms an extramembranous and fungicidal sterol sponge. **Nature Chemical Biology**, v. 10, n. 5, p. 400–406, maio 2014.
- ANDRADE JÚNIOR, F. P. D. *et al.* PRESENCE OF *ASPERGILLUS* IN BRAZILIAN HOSPITALS: AN INTEGRATIVE REVIEW. **Journal of Medicine and Health Promotion**, p. 1242–1253, 1 jan. 2019.
- ANEES-HILL, S. *et al.* A systematic review of outdoor airborne fungal spore seasonality across Europe and the implications for health. **Science of the Total Environment**, v. 818, p. 151716, 20 abr. 2022.

- AQUINO, V. R. *et al.* Distribution of filamentous fungi causing invasive fungal disease at the Haematological Unit, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Brazil. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 14, n. 3, p. 277–280, 1 maio 2010.
- ARASTEHFAR, A. *et al.* COVID-19 Associated Pulmonary Aspergillosis (CAPA) From Immunology to Treatment. **Journal of Fungi**, v. 6, n. 2, p. 91, 24 jun. 2020.
- ARASTEHFAR, A. *et al.* *Aspergillus fumigatus* and aspergillosis: From basics to clinics. **Studies in Mycology**, v. 100, n. 1, p. 100115–100115, 1 set. 2021.
- ARENDRUP, M. C. *et al.* EUCAST DEFINITIVE DOCUMENT E.DEF 9.3. p. 23, 2015.
- ARENDRUP, M. C. *et al.* Multicentre validation of 4-well azole agar plates as a screening method for detection of clinically relevant azole-resistant *Aspergillus fumigatus*. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 72, n. 12, p. 3325–3333, 1 dez. 2017.
- ARENDRUP, M. C. *et al.* How to interpret MICs of antifungal compounds according to the revised clinical breakpoints v. 10.0 European committee on antimicrobial susceptibility testing (EUCAST). **Clinical Microbiology and Infection**, v. 26, n. 11, p. 1464–1472, 1 nov. 2020.
- ARUANNO, M.; GLAMPEDAKIS, E.; LAMOTH, F. Echinocandins for the Treatment of Invasive Aspergillosis: from Laboratory to Bedside. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 63, n. 8, p. e00399-19, 1 ago. 2019.
- ASANO, K.; KAMEI, K.; HEBISAWA, A. Allergic bronchopulmonary mycosis – pathophysiology, histology, diagnosis, and treatment. **Asia Pacific Allergy**, v. 8, n. 3,4 jul. 2018.
- BALAJEE, S. A. *et al.* *Aspergillus* species identification in the clinical setting. **Studies in Mycology**, v. 59, p. 39–46, 2007.
- BALAJEE, S. A. *et al.* Molecular Identification of *Aspergillus* Species Collected for the Transplant-Associated Infection Surveillance Network. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 47, n. 10, p. 3138–3141, out. 2009.
- BARBER, A. E. *et al.* *Aspergillus fumigatus* pan-genome analysis identifies genetic variants associated with human infection. **Nature Microbiology**, v. 6, n. 12, p. 1526–1536, dez. 2021.
- BARROS CORREIA, A. C. R. *et al.* The polyphasic re-identification of a Brazilian *Aspergillus* section *Terrei* collection led to the discovery of two new species. **Mycological Progress**, v. 19, n. 9, p. 885–903, 1 set. 2020.
- BELIZARIO, J. A.; LOPES, L. G.; PIRES, R. H. Fungi in the indoor air of critical hospital areas: a review. **Aerobiologia**, v. 37, n. 3, p. 379–394, 1 set. 2021.
- BERKOW, E. L.; LOCKHART, S. R.; OSTROSKY-ZEICHNER, L. Antifungal Susceptibility Testing: Current Approaches. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 33, n. 3, p. e00069-19, 29 abr. 2020.

BERTUZZI, M. *et al.* On the lineage of *Aspergillus fumigatus* isolates in common laboratory use. **Medical Mycology**, v. 59, n. 1, p. 7–13, 4 jan. 2021.

BOFF, C. *et al.* The indoor air as a potential determinant of the frequency of invasive aspergillosis in the intensive care. **Mycoses**, v. 56, n. 5, p. 527–531, set. 2013.

BONGOMIN, F. *et al.* Global and Multi-National Prevalence of Fungal Diseases—Estimate Precision. **Journal of Fungi**, v. 3, n. 4, p. 57, dez. 2017.

BONGOMIN, F. Post-tuberculosis chronic pulmonary aspergillosis: An emerging public health concern. **PLOS Pathogens**, v. 16, n. 8, p. e1008742, 20 ago. 2020.

BORJIAN BOROUJENI, Z. *et al.* Distribution of invasive fungal infections: Molecular epidemiology, etiology, clinical conditions, diagnosis and risk factors: A 3-year experience with 490 patients under intensive care. **Microbial Pathogenesis**, v. 152, p. 104616, 1 mar. 2021.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). **Resolução – RE no 9, de 16 de janeiro de 2003**. Determina a publicação de Orientação Técnica elaborada por Grupo Técnico Assessor, sobre Padrões Referenciais de Qualidade do Ar Interior, em ambientes climatizados artificialmente de uso público e coletivo. 2003.

BROWN, G. D. *et al.* Hidden Killers: Human Fungal Infections. **Science Translational Medicine**, v. 4, n. 165, 19 dez. 2012.

BUIL, J. B. *et al.* Single-Center Evaluation of an Agar-Based Screening for Azole Resistance in *Aspergillus fumigatus* by Using VIPcheck. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 61, n. 12, p. e01250-17, 22 nov. 2017.

BUIL, J. B. *et al.* The fading boundaries between patient and environmental routes of triazole resistance selection in *Aspergillus fumigatus*. **PLOS Pathogens**, v. 15, n. 8, p. e1007858, 22 ago. 2019.

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

BURKS, C. *et al.* Azole-resistant *Aspergillus fumigatus* in the environment: Identifying key reservoirs and hotspots of antifungal resistance. **PLOS Pathogens**, v. 17, n. 7, p. e1009711, 29 jul. 2021.

CADENA, J.; THOMPSON, G. R.; PATTERSON, T. F. Aspergillosis: Epidemiology, Diagnosis, and Treatment. **Infectious Disease Clinics of North America**, v. 35, n. 2, p. 415–434, jun. 2021.

CAGGIANO, G. *et al.* Mold contamination in a controlled hospital environment: a 3-year surveillance in southern Italy. **BMC Infectious Diseases**, v. 14, n. 1, p. 595, 15 nov. 2014.

CAILLAUD, D. *et al.* Outdoor Mold and Respiratory Health: State of Science of

Epidemiological Studies. **The Journal of Allergy and Clinical Immunology: In Practice**, v. 10, n. 3, p. 768- 784.e3, 1 mar. 2022.

CALUMBY, R. J. N. *et al.* Isolation and identification of anemophilic fungal microbiota in an Intensive Care Unit. **Brazilian Journal of Development**, v. 5, n. 10, p. 19708–19722, 15 out. 2019.

CAMPS, S. M. T. *et al.* Discovery of a hapE Mutation That Causes Azole Resistance in *Aspergillus fumigatus* through Whole Genome Sequencing and Sexual Crossing. **PLOS ONE**, v. 7, n. 11, p. e50034, 30 nov. 2012.

CASARES, J.; LONGHURST, J.; BARNES, J. **Air Pollution XXIX**. [s.l.] WIT Press, 2021.

CHEN, A. J. *et al.* Polyphasic taxonomy of *Aspergillus* section *Aspergillus* (formerly Eurotium), and its occurrence in indoor environments and food. **Studies in Mycology**, v. 88, p. 37–135, set. 2017.

CHEN, M. *et al.* Epidemiology of fungal infections in China. **Frontiers of Medicine**, v.12, n. 1, p. 58–75, 1 fev. 2018.

CHEN, Y.-C. *et al.* Azole resistance in *Aspergillus* species in Southern Taiwan: An epidemiological surveillance study. **Mycoses**, v. 62, n. 12, p. 1174–1181, 2019.

CHO, S.-Y. *et al.* Characteristics of culture-positive invasive pulmonary aspergillosis in patients with hematologic diseases. **Medicine**, v. 96, n. 49, p. e8841, 8 dez. 2017.

CHO, S.-Y. *et al.* Profiles of Environmental Mold: Indoor and Outdoor Air Sampling in a Hematology Hospital in Seoul, South Korea. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 15, n. 11, p. 2560, nov. 2018.

CHO, S.-Y. *et al.* Epidemiology and Antifungal Susceptibility Profile of *Aspergillus* Species: Comparison between Environmental and Clinical Isolates from Patients with Hematologic Malignancies. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 57, n. 7, p. e02023-18, 25 jun. 2019.

CHOWDHARY, A. *et al.* Exploring azole antifungal drug resistance in *Aspergillus fumigatus* with special reference to resistance mechanisms. **Future Microbiology**, v.9, n. 5, p. 697–711, maio 2014.

Clima, condições meteorológicas e temperatura média por mês de Campo Grande (Brasil) - Weather Spark. Disponível em: <<https://pt.weatherspark.com/y/29530/Clima-caracter%C3%ADstico-em-Campo-Grande-Brasil-durante-o-ano>>. Acesso em: 20 out. 2022.

CORNELY, O. A. *et al.* Improving outcome of fungal diseases - Guiding experts and patients towards excellence. **Mycoses**, v. 60, n. 7, p. 420–425, 1 jul. 2017.

CUNHA, R. M. A.; SOUZA, E. B. A. DE; GAZOLA, H. Q. G. B. QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DO AR EM AMBIENTE DE UM INSTITUTO DE ONCOLOGIA ERADIOTERAPIA DO MUNICÍPIO DE PORTO VELHO. **Saber Científico (1982-792X)**, v. 6, n. 2, p. 54–63, 17 maio 2021.

CZYŻEWSKI, K. *et al.* Epidemiology and outcome of invasive fungal disease in children after hematopoietic cell transplantation or treated for malignancy: Impact of national programme of antifungal prophylaxis. **Mycoses**, v. 62, n. 11, p. 990–998, 2019.

DANCER, S. J. The role of environmental cleaning in the control of hospital-acquired infection. **Journal of Hospital Infection**, Proceedings of the Lancet Conference on Healthcare-Associated Infections. v. 73, n. 4, p. 378–385, 1 dez. 2009.

DAYANNE MAIA PANTOJA, L. *et al.* Fungal biodiversity of air in hospitals in the city of Fortaleza, Ceará, Brazil. **Revista Brasileira em Promoção da Saúde**, v. 25, n. 2, p. 192–196, 30 jun. 2012.

DE ALMEIDA ALVES SIMÕES, S.; JÚNIOR, D. P. L.; HAHN, R. C. Fungal Microbiota in Air-Conditioning Installed in Both Adult and Neonatal Intensive Treatment Units and Their Impact in Two University Hospitals of the Central Western Region, Mato Grosso, Brazil. **Mycopathologia**, v. 172, n. 2, p. 109–116, ago. 2011.

DEMUYSER, T.; DE COCK, E.; SERMIJN, E. Airborne *Aspergillus fumigatus* contamination in an intensive care unit: Detection, management and control. **Journal of Infection and Public Health**, v. 12, n. 6, p. 904–906, 1 nov. 2019.

DENNING, D. W. Invasive Aspergillosis. **Clinical Infectious Diseases**, v. 26, n. 4, p. 781–803, 1 abr. 1998.

DENNING, D. W. *et al.* Chronic cavitary and fibrosing pulmonary and pleural aspergillosis: case series, proposed nomenclature change, and review. **Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America**, v. 37 Suppl 3, p. S265-280, 1 out. 2003.

DENNING, D. W.; PERLIN, D. S. Azole resistance in *Aspergillus*: a growing public health menace. **Future Microbiology**, v. 6, n. 11, p. 1229–1232, nov. 2011.

DENNING, D. W. The ambitious “95-95 by 2025” roadmap for the diagnosis and management of fungal diseases. **Thorax**, v. 70, n. 7, p. 613–614, 1 jul. 2015.

Detection and Identification of Fungal Pathogens by PCR and by ITS2 and 5.8S Ribosomal DNA Typing in Ocular Infections. Disponível em: <<https://journals.asm.org/doi/epub/10.1128/JCM.39.8.2873-2879.2001>>. Acesso em: 20 jul. 2022.

DIBA, K. *et al.* *Aspergillus* monitoring project in a large educational hospital using molecular assay. **African Journal of Infectious Diseases**, v. 8, n. 1, p. 1–4, 2014.

DIBA, K. *et al.* *Aspergillus* diversity in the environments of nosocomial infection cases at a university hospital. **Journal of Medicine and Life**, v. 12, n. 2, p. 128–132, 2019.

DONNELLY, J. P. *et al.* Revision and Update of the Consensus Definitions of Invasive Fungal Disease From the European Organization for Research and

Treatment of Cancer and the Mycoses Study Group Education and Research Consortium. **Clinical Infectious Diseases**, v. 71, n. 6, p. 1367–1376, 15 set. 2020.

EBNER, J. *et al.* Routine Surveillance of Healthcare-Associated Infections Misses a Significant Proportion of Invasive Aspergillosis in Patients with Severe COVID-19. **Journal of Fungi**, v. 8, n. 3, p. 273, mar. 2022.

ESCOBAR-SALINAS, J. S. *et al.*
http://scielo.iics.una.py/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S1996-36962021000100055&lng=es&nrm=iso&tlng=es. **Revista del Instituto de Medicina Tropical**, v. 16, n. 1, p. 55–59, jun. 2021.

ESPINEL-INGROFF, A. *et al.* Method-Dependent Epidemiological Cutoff Values for Detection of Triazole Resistance in *Candida* and *Aspergillus* Species for the Sensititre YeastOne Colorimetric Broth and Etest Agar Diffusion Methods. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 63, n. 1, p. e01651-18, jan. 2019.

ETIENNE, K. A. *et al.* Genomic Diversity of Azole-Resistant *Aspergillus fumigatus* in the United States. **mBio**, v. 12, n. 4, p. e01803-21, 31 ago. 2021.

FERNANDEZ-PITTOL, M. *et al.* Aspergillosis by cryptic *Aspergillus* species: A case series and review of the literature. **Revista Iberoamericana de Micología**, v. 39, n. 2, p. 44–49, 1 abr. 2022.

FERRER, C. *et al.* Detection and Identification of Fungal Pathogens by PCR and by ITS2 and 5.8S Ribosomal DNA Typing in Ocular Infections. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 39, n. 8, p. 2873–2879, ago. 2001.

FISHER, M. C. *et al.* Tackling the emerging threat of antifungal resistance to human health. **Nature Reviews. Microbiology**, 29 mar. 2022.

FORSAN, C. F. *et al.* Xylooligosaccharide production from sugarcane bagasse and leaf using *Aspergillus versicolor* endoxylanase and diluted acid. **Biomass Conversion and Biorefinery**, 1 mar. 2021.

FRISVAD, J. C. *et al.* Taxonomy of *Aspergillus* section Flavi and their production of aflatoxins, ochratoxins and other mycotoxins. **Studies in Mycology**, v. 93, p. 1–63, jun. 2019.

FUKUDA, Y. *et al.* High burden of *Aspergillus fumigatus* infection among chronic respiratory diseases. **Chronic Respiratory Disease**, v. 15, n. 3, p. 279–285, ago. 2018.

FURUKAWA, T. *et al.* Exploring a novel genomic safe-haven site in the human pathogenic mould *Aspergillus fumigatus*. **Fungal Genetics and Biology**, v. 161, p. 103702, jul. 2022.

GANGNEUX, J.-P. *et al.* An estimation of burden of serious fungal infections in France. **Journal de Mycologie Médicale**, v. 26, n. 4, p. 385–390, 1 dez. 2016.

GARCIA-VIDAL, C. *et al.* Environmental variables associated with an increased risk of invasive aspergillosis. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 20, n. 11, p.

O939–O945, 2014.

GARCIA-VIDAL, C. *et al.* Causes of Death in a Contemporary Cohort of Patients with Invasive Aspergillosis. **PLOS ONE**, v. 10, n. 3, p. e0120370, 24 mar. 2015.

GAUTIER, M. *et al.* *Aspergillus tubingensis*: a major filamentous fungus found in the airways of patients with lung disease. **Medical Mycology**, v. 54, n. 5, p. 459–470, 1 jul. 2016.

GAUTIER, M.; NORMAND, A.-C.; RANQUE, S. Previously unknown species of *Aspergillus*. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 22, n. 8, p. 662–669, 1 ago. 2016.

GEISER, D. M. *et al.* The current status of species recognition and identification in *Aspergillus*. **Studies in Mycology**, v. 59, p. 1–10, 2007.

GÉRY, A. *et al.* First Characterization and Description of *Aspergillus* Series *Versicolores* in French Bioaerosols. **Journal of Fungi**, v. 7, n. 8, p. 676, ago. 2021.

GÉRY, A. *et al.* Aspergilli series *Versicolores*: importance of species identification in the clinical setting. **Critical Reviews in Microbiology**, v. 0, n. 0, p. 1–14, 26 jun. 2022.

GÉRY, A. *et al.* Draft Genome Sequences of Three Airborne Aspergilli Series *Versicolores*. **Mycobiology**, v. 50, n. 1, p. 66–68, [s.d.].

GIL-DE-LA-FUENTE, A. *et al.* *Aspergillus* Metabolome Database for Mass Spectrometry Metabolomics. **Journal of Fungi**, v. 7, n. 5, p. 387, maio 2021.

GITS-MUSELLI, M. *et al.* Different repartition of the cryptic species of black aspergilli according to the anatomical sites in human infections, in a French University hospital. **Medical Mycology**, v. 59, n. 10, p. 985–992, 1 out. 2021.

GLASS, D.; AMEDEE, R. G. Allergic Fungal Rhinosinusitis: A Review. **The Ochsner Journal**, v. 11, n. 3, p. 271–275, 2011.

GLASS, N. L.; DONALDSON, G. C. Development of primer sets designed for use with the PCR to amplify conserved genes from filamentous ascomycetes. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 61, n. 4, p. 1323–1330, abr. 1995.

GONÇALVES, C. L. *et al.* Airborne fungi in an intensive care unit. **Brazilian Journal of Biology**, v. 78, p. 265–270, 27 jul. 2017.

GONZALEZ-JIMENEZ, I. *et al.* Hospital Environment as a Source of Azole-Resistant *Aspergillus fumigatus* Strains with TR34/L98H and G448S Cyp51A Mutations. **Journal of Fungi**, v. 7, n. 1, p. 22, jan. 2021.

GONZALEZ-LARA, M. F. *et al.* Azole resistance and cyp51A mutation screening in *Aspergillus fumigatus* in Mexico. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 74, n. 7, p. 2047–2050, 1 jul. 2019.

GROLL, A. H.; KOLVE, H. Antifungal Agents: In Vitro Susceptibility Testing, Pharmacodynamics, and Prospects for Combination Therapy. **European Journal of**

Clinical Microbiology and Infectious Diseases, v. 23, n. 4, p. 256–270, 1 abr. 2004.

Environmental Guidelines Library Infection Control CDC.

Disponível em:

<<https://www.cdc.gov/infectioncontrol/guidelines/environmental/index.html>>.

Acesso em: 20jul. 2022.

GUINEA, J. *et al.* How to: EUCAST recommendations on the screening procedure E.Def 10.1 for the detection of azole resistance in *Aspergillus fumigatus* isolates using four-well azole-containing agar plates. **Clinical Microbiology and Infection**, v.25, n. 6, p. 681–687, 1 jun. 2019.

GUINEA, J. Updated EUCAST Clinical Breakpoints against *Aspergillus*, Implications for the Clinical Microbiology Laboratory. **Journal of Fungi**, v. 6, n. 4, p. 343, dez. 2020.

HADDAD, E. *et al.* Cerebral vasculitis due to *Aspergillus* spp. in immunocompromised patients: literature review. **International Journal of Infectious Diseases**, v. 122, p. 244–251, 1 set. 2022.

HAGIWARA, D. *et al.* Non-cyp51A Azole-Resistant *Aspergillus fumigatus* Isolates with Mutation in HMG-CoA Reductase. **Emerging Infectious Diseases**, v. 24, n. 10, p. 1889–1897, out. 2018.

HASSAN, A.; ZEESHAN, M. Microbiological indoor air quality of hospital buildings with different ventilation systems, cleaning frequencies and occupancy levels. **Atmospheric Pollution Research**, v. 13, n. 4, p. 101382, 1 abr. 2022.

HELLEBERG, M.; STEENSEN, M.; ARENDRUP, M. C. Invasive aspergillosis in patients with severe COVID-19 pneumonia. **Clinical Microbiology and Infection**, v.27, n. 1, p. 147–148, 1 jan. 2021.

HEO, S. T. *et al.* Changes in In Vitro Susceptibility Patterns of *Aspergillus* to Triazoles and Correlation With Aspergillosis Outcome in a Tertiary Care Cancer Center, 1999–2015. **Clinical Infectious Diseases**, v. 65, n. 2, p. 216–225, 15 jul. 2017.

HERBRECHT, R. *et al.* Voriconazole versus Amphotericin B for Primary Therapy of Invasive Aspergillosis. **New England Journal of Medicine**, v. 347, n. 6, p. 408–415, 8 ago. 2002.

HERRERA, S.; HUSAIN, S. Current State of the Diagnosis of Invasive Pulmonary Aspergillosis in Lung Transplantation. **Frontiers in Microbiology**, v. 9, p. 3273, 9 jan. 2019.

HESELTINE, E.; ROSEN, J.; WORLD HEALTH ORGANIZATION (EDS.). **WHO guidelines for indoor air quality: dampness and mould**. Copenhagen: WHO, 2009.

HINRIKSON, H. P. *et al.* Molecular methods for the identification of *Aspergillus* species. **Medical Mycology**, v. 43, n. Supplement_1, p. S129–S137, 1 jan. 2005.

HIWAR, W. *et al.* What is the relationship between indoor air quality parameters and airborne microorganisms in hospital environments? A systematic review and meta-analysis. **Indoor Air**, v. 31, n. 5, p. 1308–1322, 2021.

HOANG, T. N. M. *et al.* Invasive aspergillosis-on-chip: A quantitative treatment study of human *Aspergillus fumigatus* infection. **Biomaterials**, v. 283, p. 121420, 1 abr. 2022.

HOENIGL, M. *et al.* Clinical evaluation of the newly formatted lateral-flow device for invasive pulmonary aspergillosis. **Mycoses**, v. 61, n. 1, p. 40–43, jan. 2018.

HOENIGL, M. Invasive Fungal Disease Complicating Coronavirus Disease 2019: When It Rains, It Spores. **Clinical Infectious Diseases**, v. 73, n. 7, p. e1645–e1648, 1 out. 2021.

HOUBRAKEN, J. *et al.* Classification of *Aspergillus*, *Penicillium*, *Talaromyces* and related genera (Eurotiales): An overview of families, genera, subgenera, sections, series and species. **Studies in Mycology**, v. 95, p. 5–169, mar. 2020.

HOWARD, S. J. Multi-Resistant Aspergillosis due to Cryptic Species. **Mycopathologia**, v. 178, n. 5, p. 435–439, 1 dez. 2014.

HUBKA, V. *et al.* Rare and new etiological agents revealed among 178 clinical *Aspergillus* strains obtained from Czech patients and characterized by molecular sequencing. **Medical Mycology**, v. 50, n. 6, p. 601–610, 1 ago. 2012.

ISAA, M. A. A review on the effect of fungi on patients with respiratory diseases. **International Journal of Advanced Research in Medicine**, v. 4, n. 1, p. 120–131, 1 jan. 2022.

IVANOV, M.; ĆIRIĆ, A.; STOJKOVIĆ, D. Emerging Antifungal Targets and Strategies. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 23, n. 5, p. 2756, jan. 2022.

JENKS, J. D. *et al.* Point-of care Diagnosis of Invasive Aspergillosis in Non-Neutropenic Patients: *Aspergillus* Galactomannan Lateral Flow Assay versus *Aspergillus*-specific Lateral Flow device test in Bronchoalveolar Lavage. **Mycoses**, v. 62, n. 3, p. 230–236, mar. 2019.

JENKS, J. D. *et al.* Breakthrough invasive fungal infections: Who is at risk? **Mycoses**, v. 63, n. 10, p. 1021–1032, 2020.

JENSEN, R. H. *et al.* Azole-resistant *Aspergillus fumigatus* in Denmark: a laboratory-based study on resistance mechanisms and genotypes. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 22, n. 6, p. 570.e1-570.e9, 1 jun. 2016.

JoF | Free Full-Text | Updated EUCAST Clinical Breakpoints against *Aspergillus*, Implications for the Clinical Microbiology Laboratory | HTML.
Disponível em: <<https://www.mdpi.com/2309-608X/6/4/343/html>>. Acesso em: 13 jul. 2022.

JURJEVIĆ, Ž. *et al.* Two novel species of *Aspergillus* section *Nigri* from indoor air.

IMA Fungus, v. 3, n. 2, p. 159–173, dez. 2012.

JURJEVIĆ, Ž. *et al.* Re-examination of species limits in *Aspergillus* section *Flavipedes* using advanced species delimitation methods and description of four newspecies. **Studies in Mycology**, v. 99, n. 1, p. 100120–100120, 1 jun. 2021.

JURJEVIC, Z.; PETERSON, S. W.; HORN, B. W. *Aspergillus* section *Versicolores*: nine new species and multilocus DNA sequence based phylogeny. **IMA Fungus : The Global Mycological Journal**, v. 3, n. 1, p. 59–79, jun. 2012.

KANAMORI, H. *et al.* Review of Fungal Outbreaks and Infection Prevention in Healthcare Settings During Construction and Renovation. **Clinical Infectious Diseases**, v. 61, n. 3, p. 433–444, 1 ago. 2015.

KHAN, R. *et al.* Biocontrol of Aflatoxins Using Non-Aflatoxigenic *Aspergillus flavus*: A Literature Review. **Journal of Fungi**, v. 7, n. 5, p. 381, maio 2021.

KLUGE, S. *et al.* Aspergillosis: Emerging risk groups in critically ill patients. **Medical Mycology**, v. 60, n. 1, p. myab064, 1 jan. 2022.

KOEHLER, P. *et al.* Defining and managing COVID-19-associated pulmonary aspergillosis: the 2020 ECMM/ISHAM consensus criteria for research and clinical guidance. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 21, n. 6, p. e149–e162, 1 jun. 2021.

KORUKANTI, P. K. *et al.* Aspergilloma Morphology on Computed Tomography Angiography and its Clinical Impact in Patients of Haemoptysis. **Current Problems in Diagnostic Radiology**, 25 jan. 2022.

KOSMIDIS, C.; DENNING, D. W. The clinical spectrum of pulmonary aspergillosis. **Thorax**, v. 70, n. 3, p. 270–277, 1 mar. 2015.

KOUTSERIMPAS, C. *et al.* Spondylodiscitis Caused by *Aspergillus* Species. **Diagnostics**, v. 11, n. 10, p. 1899, out. 2021.

KOUTSERIMPAS, C. *et al.* Osseous Infections Caused by *Aspergillus* Species. **Diagnostics**, v. 12, n. 1, p. 201, jan. 2022.

KRIJGSHELD, P. *et al.* Development in *Aspergillus*. **Studies in Mycology**, v. 74, n. 1, p. 1–29, 15 mar. 2013.

KWON-CHUNG, K. J.; SUGUI, J. A. *Aspergillus fumigatus*—What Makes the Species a Ubiquitous Human Fungal Pathogen? **PLOS Pathogens**, v. 9, n. 12, p. e1003743, 5 dez. 2013.

LACAZ, C. da S. *et al.* Tratado de micologia médica. 2002.

LA MILIA, D. I. *et al.* Monitoring of particle environmental pollution and fungal isolations during hospital building-work activities in a hematology ward. **Mediterranean Journal of Hematology and Infectious Diseases**, v. 11, n. 1, p. e2019062, 1 nov. 2019.

LAI, C.-C.; YU, W.-L. COVID-19 associated with pulmonary aspergillosis: A literature review. **Journal of Microbiology, Immunology and Infection**, v. 54, n. 1,

p. 46–53, 1 fev. 2021.

LASS-FLÖRL, C. *et al.* The Value of Computed Tomography-Guided Percutaneous Lung Biopsy for Diagnosis of Invasive Fungal Infection in Immunocompromised Patients. **Clinical Infectious Diseases**, v. 45, n. 7, p. e101–e104, 1 out. 2007.

LASS-FLÖRL, C. How to make a fast diagnosis in invasive aspergillosis. **Medical Mycology**, v. 57, n. Supplement_2, p. S155–S160, 1 abr. 2019.

LASS-FLÖRL, C. *et al.* Respiratory specimens and the diagnostic accuracy of *Aspergillus* lateral flow assays (LFA-IMMY™): real-life data from a multicentre study. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 25, n. 12, p. 1563.e1-1563.e3, 1 dez. 2019.

LATGÉ, J.-P.; CHAMILOS, G. *Aspergillus fumigatus* and Aspergillosis in 2019. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 33, n. 1, p. e00140-18, 13 nov. 2019.

LE CLECH, L. *et al.* Evaluation of posaconazole antifungal prophylaxis in reducing the incidence of invasive aspergillosis in patients with acute myeloid leukemia. **Current Research in Translational Medicine**, v. 68, n. 1, p. 23–28, jan. 2020.

LEE, L. D. *et al.* Hospital environment and invasive aspergillosis in patients with hematologic malignancy. **American Journal of Infection Control**, v. 40, n. 3, p. 247–249, 1 abr. 2012.

LEE, S. H. *et al.* Clinical Manifestations and Treatment Outcomes of Pulmonary Aspergilloma. **The Korean Journal of Internal Medicine**, v. 19, n. 1, p. 38–42, mar. 2004.

LEENDERS, A. C. A. P. *et al.* Density and Molecular Epidemiology of *Aspergillus* in Air and Relationship to Outbreaks of *Aspergillus* Infection. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 37, n. 6, p. 1752–1757, jun. 1999.

LESTRADE, P. P. *et al.* Voriconazole Resistance and Mortality in Invasive Aspergillosis: A Multicenter Retrospective Cohort Study. **Clinical Infectious Diseases**, v. 68, n. 9, p. 1463–1471, 24 abr. 2019a.

LESTRADE, P. P. A. *et al.* Triazole resistance in *Aspergillus fumigatus*: recent insights and challenges for patient management. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 25, n. 7, p. 799–806, 1 jul. 2019b.

LIMPER, A.; CARMONA, E. **Diagnosis and Treatment of Fungal Chest Infections, An Issue of Clinics in Chest Medicine**. [s.l.] Elsevier Health Sciences, 2017.

LIMPER, A. H. *et al.* Fungal infections in HIV/AIDS. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 17, n. 11, p. e334–e343, nov. 2017.

LOCKHART, S. R.; BEER, K.; TODA, M. Azole-Resistant *Aspergillus fumigatus*: What You Need To Know. **Clinical Microbiology Newsletter**, v. 42, n. 1, p. 1–6, 1 jan. 2020.

- LOEFFERT, S. T. *et al.* Monitoring of clinical strains and environmental fungal aerocontamination to prevent invasive aspergillosis infections in hospital during large deconstruction work: a protocol study. **BMJ Open**, v. 7, n. 11, p. e018109, 1 nov. 2017.
- LOEFFERT, S. T. *et al.* Evaluation of Hirst-type spore traps in outdoor Aspergillaceae monitoring during large demolition work in hospital. **PLOS ONE**, v. 13, n. 1, p. e0191135, 18 jan. 2018a.
- LOEFFERT, S. T. *et al.* Prospective survey of azole drug resistance among environmental and clinical isolates of *Aspergillus fumigatus* in a French University hospital during major demolition works. **Journal de Mycologie Médicale**, v. 28, n. 3, p. 469–472, 1 set. 2018b.
- LOEFFERT, S. T. *et al.* Investigation of the Relationships Between Clinical and Environmental Isolates of *Aspergillus fumigatus* by Multiple-locus Variable Number Tandem Repeat Analysis During Major Demolition Work in a French Hospital. **Clinical Infectious Diseases**, v. 68, n. 2, p. 321–329, 7 jan. 2019.
- LUCIO, J. *et al.* An expanded agar-based screening method for azole-resistant *Aspergillus fumigatus*. **Mycoses**, v. 65, n. 2, p. 178–185, 2022.
- MACHADO, M. *et al.* Invasive pulmonary aspergillosis in the COVID-19 era: An expected new entity. **Mycoses**, v. 64, n. 2, p. 132–143, 2021.
- MANIKANDAN, P. *et al.* Fungal Keratitis: Epidemiology, Rapid Detection, and Antifungal Susceptibilities of *Fusarium* and *Aspergillus* Isolates from Corneal Scrapings. **BioMed Research International**, v. 2019, p. e6395840, 20 jan. 2019.
- MARTÍNEZ-HERRERA, E. O. *et al.* Fungal diversity and *Aspergillus* in hospital environments. **Annals of Agricultural and Environmental Medicine**, v. 23, n. 2, p. 264–269, 2 jun. 2016.
- MELETIADIS, J. *et al.* Development and multicentre validation of an agar-based screening method for echinocandin susceptibility testing of *Aspergillus* species. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 74, n. 8, p. 2247–2254, 1 ago. 2019.
- MELO, L. L. S. DE *et al.* Environmental fungal flora in Pediatric and Neonatal Intensive Care Units at a tertiary hospital. **Revista Paulista de Pediatria**, v. 27, p. 303–308, set. 2009.
- MENDELL, M. J. *et al.* Respiratory and Allergic Health Effects of Dampness, Mold, and Dampness-Related Agents: A Review of the Epidemiologic Evidence. **Environmental Health Perspectives**, v. 119, n. 6, p. 748–756, jun. 2011.
- MENGOLI, C. *et al.* Use of PCR for diagnosis of invasive aspergillosis: systematic review and meta-analysis. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 9, n. 2, p. 89–96, 1 fev. 2009.
- MOBIN, M.; DO AMPARO SALMITO, M. [Fungus microbiota in air conditioners in intensive care units in Teresina, Piauí]. **Revista Da Sociedade Brasileira De Medicina Tropical**, v. 39, n. 6, p. 556–559, dez. 2006.

- MOIN, S. *et al.* Screening for triazole resistance in clinically significant *Aspergillus* species; report from Pakistan. **Antimicrobial Resistance & Infection Control**, v. 9, n. 1, p. 62, 11 maio 2020.
- MONTEIRO, C. *et al.* *Aspergillus* species collected from environmental air samples in Portugal—molecular identification, antifungal susceptibility and sequencing of cyp51A gene on *A. fumigatus* sensu stricto itraconazole resistant. **Journal of Applied Microbiology**, v. 126, n. 4, p. 1140–1148, 2019.
- MORI, T. *et al.* Seasonal changes in indoor airborne fungal concentration in a hematology ward. **Journal of Infection and Chemotherapy**, v. 26, n. 4, p. 363–366, 1 abr. 2020.
- MORTENSEN, K. L. *et al.* Environmental Study of Azole-Resistant *Aspergillus fumigatus* and Other Aspergilli in Austria, Denmark, and Spain. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 54, n. 11, p. 4545–4549, nov. 2010.
- MORTENSEN, K. L. *et al.* A prospective survey of *Aspergillus* spp. in respiratory tract samples: prevalence, clinical impact and antifungal susceptibility. **European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases: Official Publication of the European Society of Clinical Microbiology**, v. 30, n. 11, p. 1355–1363, nov. 2011.
- MUTHU, V. *et al.* Epidemiology and outcomes of allergic bronchopulmonary aspergillosis in the elderly. **Mycoses**, v. 65, n. 1, p. 71–78, 2022.
- NAGEEN, Y. *et al.* Analysis of culturable airborne fungi in outdoor environments in Tianjin, China. **BMC Microbiology**, v. 21, n. 1, p. 134, dez. 2021.
- NAJAFZADEH, M. J. *et al.* Molecular Diversity of Aspergilli in Two Iranian Hospitals. **Mycopathologia**, v. 186, n. 4, p. 519–533, 1 ago. 2021.
- NAKANISHI, Y. *et al.* Evaluation of Nosocomial Infection Control Measures to Minimize the Risk of *Aspergillus* Dispersion During Major Demolition Work: A Case Study of a Japanese University Hospital. **HERD: Health Environments Research & Design Journal**, v. 14, n. 4, p. 58–74, 1 out. 2021.
- NARGESI, S. *et al.* Molecular identification and antifungal susceptibility of clinically relevant and cryptic species of *Aspergillus* sections Flavi and Nigri. **Journal of Medical Microbiology**, v. 71, n. 4, p. 001480, [s.d.].
- NEDEL, W. L.; PASQUALOTTO, A. C. Treatment of Infections by Cryptic *Aspergillus* Species. **Mycopathologia**, v. 178, n. 5, p. 441–445, 1 dez. 2014.
- NEGRI, C. E. *et al.* Cryptic and Rare *Aspergillus* Species in Brazil: Prevalence in Clinical Samples and In Vitro Susceptibility to Triazoles. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 52, n. 10, p. 3633–3640, out. 2014.
- NICHOLS, J. Discussion on: A 10-year survey of fungal aerocontamination in hospital corridors: a reliable sentinel to predict fungal exposure risk? **Journal of Hospital Infection**, v. 91, n. 1, p. 90–92, 1 set. 2015.

NYWENING, A. V. *et al.* Mechanisms of triazole resistance in *Aspergillus fumigatus*. **Environmental Microbiology**, v. 22, n. 12, p. 4934–4952, 2020.

OBAR, J. J. Sensing the threat posed by *Aspergillus* infection. **Current Opinion in Microbiology**, Host-microbe Interactions: Fungi • Host-microbe Interactions: Parasitology. v. 58, p. 47–55, 1 dez. 2020.

O'DONNELL, K. *et al.* A Multigene phylogeny of the *Gibberella fujikuroi* species complex: Detection of additional phylogenetically distinct species. **Mycoscience**, v. 41, n. 1, p. 61–78, 1 jan. 2000.

O'GORMAN, C. M. Airborne *Aspergillus fumigatus* conidia: a risk factor for aspergillosis. **Fungal Biology Reviews**, v. 25, n. 3, p. 151–157, out. 2011.

O'GORMAN, C. M.; FULLER, H. T.; DYER, P. S. Discovery of a sexual cycle in the opportunistic fungal pathogen *Aspergillus fumigatus*. **Nature**, v. 457, n. 7228, p. 471–474, jan. 2009.

OLIBONI, G. M. Coordenadoria do Controle de Doenças. p. 26, [s.d.].

PALMER, O.; ONIFADE, A. Microorganisms Isolated from Hospital Environmental Surfaces in Akure Metropolis, Ondo State, Nigeria. **Journal of Advances in Microbiology**, p. 1–8, 27 mar. 2019.

PANACKAL, A. A. *et al.* Geoclimatic Influences on Invasive Aspergillosis after Hematopoietic Stem Cell Transplantation. **Clinical Infectious Diseases**, v. 50, n. 12, p. 1588–1597, 15 jun. 2010.

PARDO, E. *et al.* Invasive pulmonary aspergillosis in critically ill patients with hematological malignancies. **Intensive Care Medicine**, v. 45, n. 12, p. 1732–1741, 1 dez. 2019.

PARK, J. H. *et al.* Airborne fungal spores and invasive aspergillosis in hematologic units in a tertiary hospital during construction: a prospective cohort study. **Antimicrobial Resistance and Infection Control**, v. 8, p. 88, 29 maio 2019.

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**, v. 63, n. 4, p. e1–e60, 15 ago. 2016.

PEGORIE, M.; DENNING, D. W.; WELFARE, W. Estimating the burden of invasive and serious fungal disease in the United Kingdom. **Journal of Infection**, v. 74, n. 1, p. 60–71, jan. 2017.

PERKHOFER, S. *et al.* The Nationwide Austrian *Aspergillus* Registry: a prospective data collection on epidemiology, therapy and outcome of invasive mould infections in immunocompromised and/or immunosuppressed patients. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 36, n. 6, p. 531–536, 1 dez. 2010.

PERLIN, D. S.; RAUTEMAA-RICHARDSON, R.; ALASTRUEY-IZQUIERDO, A. The global problem of antifungal resistance: prevalence, mechanisms, and management.

The Lancet Infectious Diseases, v. 17, n. 12, p. e383–e392, dez. 2017.

PFALLER, J. B. *et al.* In Vitro Susceptibility Testing of *Aspergillus* spp.: Comparison of Etest and Reference Microdilution Methods for Determining Voriconazole and Itraconazole MICs. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 41, n. 3, p. 1126–1129, mar.2003.

PFALLER, M. A. *et al.* Antifungal susceptibilities of opportunistic filamentous fungal pathogens from the Asia and Western Pacific Region: data from the SENTRY Antifungal Surveillance Program (2011–2019). **The Journal of Antibiotics**, v. 74, n. 8, p. 519–527, 2021a.

PFALLER, M. A. *et al.* In vitro activity of posaconazole and comparators versus opportunistic filamentous fungal pathogens globally collected during 8 years. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, v. 101, n. 3, p. 115473, 1 nov. 2021b.

PILMIS, B. *et al.* Could we predict airborne *Aspergillus* contamination during construction work? **American Journal of Infection Control**, v. 45, n. 1, p. 39–41, 1 jan. 2017.

PRATTES, J. *et al.* Diagnostic accuracy of the *Aspergillus*-specific bronchoalveolar lavage lateral-flow assay in haematological malignancy patients. **Mycoses**, v. 58, n. 8, p. 461–469, 2015.

PRIGITANO, A. *et al.* Azole resistance in *Aspergillus* isolates by different types of patients and correlation with environment - An Italian prospective multicentre study (ARiA study). **Mycoses**, v. 64, n. 5, p. 528–536, 2021.

QUADROS, M. E. *et al.* Indoor air quality in hospitals: a case study and a critical review of current standards. **Engenharia Sanitaria e Ambiental**, v. 14, p. 431–438, set. 2009.

RAGOZZINO, S. *et al.* Distribution of *Aspergillus* Species and Prevalence of Azole Resistance in Respiratory Samples From Swiss Tertiary Care Hospitals. **Open Forum Infectious Diseases**, v. 9, n. 2, p. ofab638, 1 fev. 2022.

RAPER, K. B.; FENNELL, D. I.; AUSTWICK, P. K. C. **The Genus *Aspergillus***. [s.l.] Williams & Wilkins, 1965.

REBOUX, G. *et al.* A 10-year survey of fungal aerocontamination in hospital corridors: a reliable sentinel to predict fungal exposure risk? **Journal of Hospital Infection**, v. 87, n. 1, p. 34–40, 1 maio 2014.

REICHERT-LIMA, F. *et al.* Surveillance for azoles resistance in *Aspergillus* spp. highlights a high number of amphotericin B-resistant isolates. **Mycoses**, v. 61, n. 6, p. 360–365, 2018.

RESENDIZ-SHARPE, A. *et al.* Prevalence of voriconazole-resistant invasive aspergillosis and its impact on mortality in haematology patients. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 74, n. 9, p. 2759–2766, 1 set. 2019.

- RESENDIZ-SHARPE, A. *et al.* Triazole-Resistance in Environmental *Aspergillus fumigatus* in Latin American and African Countries. **Journal of Fungi**, v. 7, n. 4, p. 292, abr. 2021.
- RHAME, F. S. Prevention of nosocomial aspergillosis. **Journal of Hospital Infection**, Hospital Infection-Towards the Year 2000. v. 18, p. 466–472, 1 jun. 1991.
- RHODES, J. *et al.* Population genomics confirms acquisition of drug-resistant *Aspergillus fumigatus* infection by humans from the environment. **Nature Microbiology**, v. 7, n. 5, p. 663–674, maio 2022.
- RIAT, A. *et al.* Azole Resistance of Environmental and Clinical *Aspergillus fumigatus* Isolates from Switzerland. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 62, n. 4, p.e02088-17, 27 mar. 2018.
- RICHARDSON, M.; BOWYER, P.; SABINO, R. The human lung and *Aspergillus*: You are what you breathe in? **Medical Mycology**, v. 57, n. Supplement_2, p. S145–S154, 1 abr. 2019.
- RISSLEGGER, B. *et al.* A prospective international *Aspergillus terreus* survey: an EFISG, ISHAM and ECMM joint study. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 23, n. 10, p. 776.e1-776.e5, 1 out. 2017.
- RIVERO-MENENDEZ, O. *et al.* Triazole Resistance in *Aspergillus* spp.: A Worldwide Problem? **Journal of Fungi**, v. 2, n. 3, p. 21, set. 2016.
- ROCCHI, S. *et al.* Evaluation of invasive aspergillosis risk of immunocompromised patients alternatively hospitalized in hematology intensive care unit and at home. **Indoor Air**, v. 24, n. 6, p. 652–661, 2014.
- RODRIGUEZ-TUDELA, J. *et al.* EUCAST DEFINITIVE DOCUMENT E.DEF 9.1: Method for the determination of broth dilution minimum inhibitory concentrations of antifungal agents for conidia forming moulds. **Def**, v. 9, p. 1-13, 2008.
- ROGERS, T. R. *et al.* Molecular mechanisms of acquired antifungal drug resistance in principal fungal pathogens and EUCAST guidance for their laboratory detection and clinical implications. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, p. dkac161, 15 jun. 2022.
- ROMERO, S. M.; GIUDICESSI, S. L.; VITALE, R. G. Is the fungus *Aspergillus* a threat to cultural heritage? **Journal of Cultural Heritage**, v. 51, p. 107–124, set. 2021.
- ROTH, R. S. *et al.* Invasive Mold Infections in Allogeneic Hematopoietic Cell Transplant Recipients in 2020: Have We Made Enough Progress? **Open Forum Infectious Diseases**, v. 9, n. 1, p. ofab596, 1 jan. 2022.
- R-P. VONBERG; GASTMEIER, P. Nosocomial aspergillosis in outbreak settings. **Journal of Hospital Infection**, v. 63, n. 3, p. 246–254, jul. 2006.
- RUBY, L. C. *et al.* Pulmonary aspergilloma on transthoracic ultrasound. **Infection**, v.49, n. 6, p. 1337–1340, 2021.

RUDRAMURTHY, S. M. *et al.* Invasive Aspergillosis by *Aspergillus flavus*: Epidemiology, Diagnosis, Antifungal Resistance, and Management. **Journal of Fungi**, v. 5, n. 3, p. 55, set. 2019.

RUIZ-CAMPS, I. *et al.* Guidelines for the prevention of invasive mould diseases caused by filamentous fungi by the Spanish Society of Infectious Diseases and Clinical Microbiology (SEIMC). **Clinical Microbiology and Infection**, v. 17, p. 1–24, 1 abr. 2011.

SÁ, M. M. UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE. p. 52, 2018.

SAAD-HUSSEIN, A. *et al.* Impact of mannose-binding lectin gene polymorphism on lung functions among workers exposed to airborne *Aspergillus* in a wastewater treatment plant in Egypt. **Environmental Science and Pollution Research**, 22 abr. 2022.

SABINO, R. *et al.* Molecular epidemiology of *Aspergillus* collected from cystic fibrosis patients. **Journal of Cystic Fibrosis**, v. 14, n. 4, p. 474–481, 1 jul. 2015.

SABINO, R. *et al.* The role of occupational *Aspergillus* exposure in the development of diseases. **Medical Mycology**, v. 57, n. Supplement_2, p. S196–S205, 1 abr. 2019.

SABINO, R. *et al.* Trends on *Aspergillus* Epidemiology—Perspectives from a National Reference Laboratory Surveillance Program. **Journal of Fungi**, v. 7, n. 1, p. 28, jan. 2021.

SALAH, H. *et al.* The Emergence of Rare Clinical *Aspergillus* Species in Qatar: Molecular Characterization and Antifungal Susceptibility Profiles. **Frontiers in Microbiology**, v. 10, 2019.

SALEHI, M. *et al.* Proven *Aspergillus flavus* pulmonary aspergillosis in a COVID-19 patient: A case report and review of the literature. **Mycoses**, v. 64, n. 8, p. 809–816, 2021.

SALES, M. DA P. U. Capítulo 5 - Aspergilose: do diagnóstico ao tratamento. **Jornal Brasileiro de Pneumologia**, v. 35, n. 12, p. 1238–1244, dez. 2009.

SAMSON, R. A. *et al.* Phylogeny, identification and nomenclature of the genus *Aspergillus*. **Studies in Mycology**, v. 78, p. 141–173, 1 jun. 2014.

SÁNCHEZ ESPINOSA, K. C. *et al.* Phylogenetic Identification, Diversity, and Richness of *Aspergillus* from Homes in Havana, Cuba. **Microorganisms**, v. 9, n. 1, p. 115, jan. 2021.

SANGLARD, D. Emerging Threats in Antifungal-Resistant Fungal Pathogens. **Frontiers in Medicine**, v. 3, 2016.

SANGUINETTI, M.; POSTERARO, B. Identification of Molds by Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization–Time of Flight Mass Spectrometry. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 55, n. 2, p. 369–379, fev. 2017.

- SANTOLAYA, M. E. *et al.* Efficacy of pre-emptive versus empirical antifungal therapy in children with cancer and high-risk febrile neutropenia: a randomized clinical trial. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 73, n. 10, p. 2860–2866, 1 out. 2018.
- SARAN, S. *et al.* Heating, ventilation and air conditioning (HVAC) in intensive care unit. **Critical Care**, v. 24, n. 1, p. 194, 6 maio 2020.
- SCHAUWVLIEGHE, A. F. A. D. *et al.* Invasive aspergillosis in patients admitted to the intensive care unit with severe influenza: a retrospective cohort study. **The Lancet Respiratory Medicine**, v. 6, n. 10, p. 782–792, out. 2018.
- SCHWARTZ, S. *et al.* Advances in the diagnosis and treatment of fungal infections of the CNS. **The Lancet Neurology**, v. 17, n. 4, p. 362–372, 1 abr. 2018.
- SCHWEER, K. *et al.* Domestic mould exposure and invasive aspergillosis—air sampling of *Aspergillus* spp. spores in homes of hematological patients, a pilot study. **Medical Mycology**, v. 54, n. 6, p. 576–583, 1 ago. 2016.
- SEGAL, B. H. Aspergillosis. **New England Journal of Medicine**, v. 360, n. 18, p. 1870–1884, 30 abr. 2009.
- SEGRELLES-CALVO, G. *et al.* Prevalence of opportunistic invasive aspergillosis in COVID-19 patients with severe pneumonia. **Mycoses**, v. 64, n. 2, p. 144–151, 2021.
- SEPÚLVEDA, V. E. *et al.* Genome Sequences Reveal Cryptic Speciation in the Human Pathogen *Histoplasma capsulatum*. **mBio**, v. 8, n. 6, p. e01339-17, 5 dez. 2017.
- SERRANO-LOBO, J. *et al.* Screening of azole resistance in *Aspergillus fumigatus* using the EUCAST E.Def 10.2 azole-containing agar method: A single study suggests that filtration of conidial suspensions prior to inoculum preparation may not be needed. **Mycoses**, v. n/a, n. n/a, [s.d.].
- SERRANO-LOBO, J. *et al.* Azole-Resistant *Aspergillus fumigatus* Clinical Isolate Screening in Azole-Containing Agar Plates (EUCAST E.Def 10.1): Low Impact of Plastic Trays Used and Poor Performance in Cryptic Species. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 65, n. 8, p. e00482-21, [s.d.].
- SHAFIEI, M. *et al.* History of the development of antifungal azoles: A review on structures, SAR, and mechanism of action. **Bioorganic Chemistry**, v. 104, p. 104240, 1 nov. 2020.
- SHAM, N. M. *et al.* Fungus and mycotoxins studies in hospital environment: A scoping review. **Building and Environment**, v. 193, p. 107626, 15 abr. 2021.
- SHELTON, B. G. *et al.* Profiles of Airborne Fungi in Buildings and Outdoor Environments in the United States. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 68, n. 4, p. 1743–1753, abr. 2002.
- SHISHODIA, S. K.; TIWARI, S.; SHANKAR, J. Resistance mechanism and proteins in *Aspergillus* species against antifungal agents. **Mycology**, v. 10, n. 3, p. 151–165,

3 jul. 2019.

SILVA, D. M. D. *Aspergillus* SEÇÃO *Nigri* POR TAXONOMIA. p. 89, [s.d.].

SILVA, D. M. D. IDENTIFICAÇÃO DE ESPÉCIES DE *Aspergillus* SEÇÃO *Nigri* POR.p. 90, [s.d.].

SIMÕES, D. *et al.* *Aspergillus* collected in specific indoor settings: their molecular identification and susceptibility pattern. **International Journal of Environmental Health Research**, v. 31, n. 3, p. 248–257, 3 abr. 2021.

SIMÕES, S. DE A. A.; LEITE JÚNIOR, D. P.; HAHN, R. C. Fungal microbiota in air-conditioning installed in both adult and neonatal intensive treatment units and their impact in two university hospitals of the central western region, Mato Grosso, Brazil. **Mycopathologia**, v. 172, n. 2, p. 109–116, ago. 2011.

SIQUEIRA, J. P. Z. *et al.* Species diversity of *Aspergillus* section *Versicolores* in clinical samples and antifungal susceptibility. **Fungal Biology**, Integrative Taxonomy - Uncovering Fungal Diversity. v. 120, n. 11, p. 1458–1467, 1 nov. 2016.

SIVAGNANASUNDARAM, P. *et al.* Assessment of Airborne Bacterial and Fungal Communities in Selected Areas of Teaching Hospital, Kandy, Sri Lanka. **Bio Med Research International**, v. 2019, p. e7393926, 12 jun. 2019.

SNELDERS, E. *et al.* Emergence of Azole Resistance in *Aspergillus fumigatus* and Spread of a Single Resistance Mechanism. **PLOS Medicine**, v. 5, n. 11, p. e219, 11 nov. 2008.

SOONTRAPA, P.; CHONGTRAKOOL, P.; CHAYAKULKEEREE, M. Characteristics and Outcomes of Patients with Invasive Pulmonary Aspergillosis and Respiratory Tract *Aspergillus* Colonization from a Tertiary University Hospital in Thailand. **Journal of Fungi**, v. 8, n. 4, p. 344, 25 mar. 2022.

SOUBANI, A. O.; CHANDRASEKAR, P. H. The Clinical Spectrum of Pulmonary Aspergillosis. **Chest**, v. 121, n. 6, p. 1988–1999, 1 jun. 2002.

SOUZA, A. *et al.* Airborne Fungi in Neonatal Intensive Care Unit of a Public Hospital in Brazil. **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**, v.8, p. 1210–1219, 26 dez. 2019.

TAKEDA, K. *et al.* Non-fumigatus *Aspergillus* Infection Associated with a Negative *Aspergillus* Precipitin Test in Patients with Chronic Pulmonary Aspergillosis. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 60, n. 2, p. e02018-21, 16 fev. 2022.

TALENTO, A. F. *et al.* Prevention of healthcare-associated invasive aspergillosis during hospital construction/renovation works. **Journal of Hospital Infection**, v. 103, n. 1, p. 1–12, 1 set. 2019.

TAVAKOLI, M. *et al.* The first rare and fatal case of invasive aspergillosis of spinal cord due to *Aspergillus nidulans* in an Iranian child with chronic granulomatous disease: review of literature. **Current Medical Mycology**, v. 6, n. 1, p. 55–60, 2020.

TEJERINA, E. E. *et al.* Invasive aspergillosis in critically ill patients: An autopsy

study. **Mycoses**, v. 62, n. 8, p. 673–679, 2019.

THAMMAHONG, A. **Aspergillus-Human Interactions: From the Environment to Clinical Significance**. [s.l.] IntechOpen, 2021.

THOMPSON, G. R. *et al.* Global guideline for the diagnosis and management of the endemic mycoses: an initiative of the European Confederation of Medical Mycology in cooperation with the International Society for Human and Animal Mycology. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 21, n. 12, p. e364–e374, 1 dez. 2021.

THOMPSON, G. R.; YOUNG, J.-A. H. *Aspergillus* Infections. **New England Journal of Medicine**, v. 385, n. 16, p. 1496–1509, 14 out. 2021.

TISSOT, F. *et al.* ECIL-6 guidelines for the treatment of invasive candidiasis, aspergillosis and mucormycosis in leukemia and hematopoietic stem cell transplant patients. **Haematologica**, v. 102, n. 3, p. 433–444, mar. 2017.

TSITSOPOULOU, A. *et al.* Determination of the Prevalence of Triazole Resistance in Environmental *Aspergillus fumigatus* Strains Isolated in South Wales, UK. **Frontiers in Microbiology**, v. 9, 2018.

VALLABHANENI, S. *et al.* Trends in Hospitalizations Related to Invasive Aspergillosis and Mucormycosis in the United States, 2000–2013. **Open Forum Infectious Diseases**, v. 4, n. 1, p. ofw268, 13 jan. 2017.

VAN ARKEL, A. L. E. *et al.* COVID-19–associated Pulmonary Aspergillosis. **American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine**, v. 202, n. 1, p. 132–135, jul. 2020.

VAN BURIK, J.-A. H.; COLVEN, R.; SPACH, D. H. Cutaneous Aspergillosis. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 36, n. 11, p. 3115–3121, nov. 1998.

VAN DE PEPPEL, R. J. *et al.* The burden of Invasive Aspergillosis in patients with haematological malignancy: A meta-analysis and systematic review. **Journal of Infection**, v. 76, n. 6, p. 550–562, jun. 2018.

VAN DER TORRE, M. H. *et al.* Molecular Epidemiology of *Aspergillus fumigatus* in Chronic Pulmonary Aspergillosis Patients. **Journal of Fungi**, v. 7, n. 2, p. 152, fev. 2021.

VANDEWOUDE, K. H.; VOGELAERS, D.; BLOT, S. I. Aspergillosis in the ICU – The new 21st century problem? **Medical Mycology**, v. 44, n. Supplement_1, p. S71–S76, 1 set. 2006.

VENCESLAU, E.; OLIVEIRA, I.; MARTINS, R. Frequência de fungos anemófilos em áreas críticas de unidade hospitalar de Aracaju, Sergipe, Brasil Frequency of airborne fungus in critical areas at hospital unit of Aracaju, Sergipe, Brazil. **RBAC**, v. 44, p. 26–30, 1 jan. 2012.

VERMEULEN, E. *et al.* Invasive *Aspergillus niger* complex infections in a Belgian tertiary care hospital. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 20, n. 5, p. O333–O335, 1 maio 2014.

VERMEULEN, E.; LAGROU, K.; VERWEIJ, P. E. Azole resistance in *Aspergillus fumigatus*: a growing public health concern. **Current Opinion in Infectious Diseases**, v. 26, n. 6, p. 493–500, dez. 2013.

VERWEIJ, P. E. *et al.* International expert opinion on the management of infection caused by azole-resistant *Aspergillus fumigatus*. **Drug Resistance Updates**, v. 21–22, p. 30–40, 1 jul. 2015.

VERWEIJ, P. E. *et al.* In-host adaptation and acquired triazole resistance in *Aspergillus fumigatus*: a dilemma for clinical management. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 16, n. 11, p. e251–e260, 1 nov. 2016.

VERWEIJ, P. E. *et al.* The one health problem of azole resistance in *Aspergillus fumigatus*: current insights and future research agenda. **Fungal Biology Reviews**, v.34, n. 4, p. 202–214, 1 dez. 2020.

VIDAL-ACUÑA, M. R. *et al.* Identification of clinical isolates of *Aspergillus*, including cryptic species, by matrix assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS). **Medical Mycology**, v. 56, n. 7, p. 838–846, 1 out. 2018.

VIDAL-ACUÑA, M. R. *et al.* Prevalence and in vitro antifungal susceptibility of cryptic species of the genus *Aspergillus* isolated in clinical samples. **Enfermedades infecciosas y microbiología clínica (English ed.)**, v. 37, n. 5, p. 296–300, maio 2019.

VIEGAS, C. *et al.* *Aspergillus* spp. prevalence in Primary Health Care Centres: Assessment by a novel multi-approach sampling protocol. **Environmental Research**, v. 175, p. 133–141, 1 ago. 2019.

VIEGAS, C. *et al.* Microbiological Contamination Assessment in Higher Education Institutes. **Atmosphere**, v. 12, n. 8, p. 1079, 23 ago. 2021a.

VIEGAS, C. *et al.* Cytotoxicity of *Aspergillus* Section *Fumigati* Isolated from Health Care Environments. **Journal of Fungi**, v. 7, n. 10, p. 839, out. 2021b.

VIEGAS, C.; CAETANO, L. A.; VIEGAS, S. Occupational exposure to *Aspergillus* section *Fumigati*: Tackling the knowledge gap in Portugal. **Environmental Research**, v. 194, p. 110674, 1 mar. 2021.

WALSH, T. J. *et al.* Treatment of Aspergillosis: Clinical Practice Guidelines of the Infectious Diseases Society of America. **Clinical Infectious Diseases**, v. 46, n. 3, p.327–360, 1 fev. 2008.

WALSH, T. J.; HAYDEN, R. T.; LARONE, D. H. **Larone's Medically Important Fungi: A Guide to Identification**. [s.l.] John Wiley & Sons, 2018.

WANG, Y. *et al.* Epidemiology, Drug Susceptibility, and Clinical Risk Factors in Patients With Invasive Aspergillosis. **Frontiers in Public Health**, v. 10, p. 835092, 15abr. 2022.

WHITE, T. J. *et al.* Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA

genes for phylogenetics In: Innis MA, Gelfand DH, Sninsky JJ, White TJ, editors. PCR protocols: a guide to methods and applications. **PCR protocols: a guide to methods and applications**, v. 18, p. 315-322, 1990.

WIEDERHOLD, N. P.; VERWEIJ, P. E. *Aspergillus fumigatus* and pan-azole resistance: who should be concerned? **Current Opinion in Infectious Diseases**, v. 33, n. 4, p. 290–297, ago. 2020.

WIRMAN, L. *et al.* Airborne *Aspergillus fumigatus* spore concentration during demolition of a building on a hospital site, and patient risk determination for invasive aspergillosis including azole resistance. **Journal of Hospital Infection**, v. 100, n. 3, p. e91–e97, 1 nov. 2018.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. REGIONAL OFFICE FOR EUROPE. **WHO guidelines for indoor air quality: dampness and mould**. [s.l.] World Health Organization. Regional Office for Europe, 2009.

WYATT, T. T.; WÖSTEN, H. A. B.; DIJKSTERHUIS, J. Fungal Spores for Dispersion in Space and Time. Em: **Advances in Applied Microbiology**. [s.l.] Elsevier, 2013. v.85p. 43–91.

XIONG, L. *et al.* Environmental Design Strategies to Decrease the Risk of Nosocomial Infection in Medical Buildings Using a Hybrid MCDM Model. **Journal of Health care Engineering**, v. 2021, p. e5534607, 16 jun. 2021.

XU, X. *et al.* Identification and in vitro antifungal susceptibility of causative agents of onychomycosis due to *Aspergillus* species in Mashhad, Iran. **Scientific Reports**, v. 11, n. 1, p. 6808, 24 mar. 2021.

ZAKARIA, A. *et al.* Recent trends in the epidemiology, diagnosis, treatment, and mechanisms of resistance in clinical *Aspergillus* species: A general review with a special focus on the Middle Eastern and North African region. **Journal of Infection and Public Health**, v. 13, n. 1, p. 1–10, 1 jan. 2020.

ZENAIDE-NETO, H.; NASCIMENTO, J. S. DO. Air quality and microbiological control in a hospital in Paraíba, Brazil. v. 7, n. 9, 12 set. 2020.

ZHANG, J. *et al.* A Novel Environmental Azole Resistance Mutation in *Aspergillus fumigatus* and a Possible Role of Sexual Reproduction in Its Emergence. **mBio**, v. 8, n. 3, p. e00791-17, 27 jun. 2017.

ZHANG, J. *et al.* Azole-Resistance Development; How the *Aspergillus fumigatus* Lifecycle Defines the Potential for Adaptation. **Journal of Fungi**, v. 7, n. 8, p. 599, ago. 2021.

ZHANG, S. *et al.* The Diagnosis of Invasive and Noninvasive Pulmonary Aspergillosis by Serum and Bronchoalveolar Lavage Fluid Galactomannan Assay. **BioMed Research International**, v. 2015, p. e943691, 22 jan. 2015.

APÊNDICE A- PROTOCOLO DE IDENTIFICAÇÃO MOLECULAR DO NÚCLEO DEMICOLOGIA DO INSTITUTO ADOLFO LUTZ

Foi realizada reação de PCR convencional (Veriti, Applied Biosystems), com sistema comercial (Master mix, Go Taq Green, Promega) seguindo o protocolo da tabela 9.

Tabela 9 – Protocolo para a realização da PCR

REAGENTES	VOLUME (µL)
PCR Master Mix	13
Primer 20 µmol/uL	1
Água ultra pura	5
DNA	5

Tabela 10 – Parâmetros utilizados na reação de PCR para amplificação de DNA das regiões de Bt2A, Bt2B, CL1 e CL2A.

Temperatura (°C)	Tempo	Ciclos
94	5 min	1
94	40 s	36
58	40 s	
72	40s	
72	1 min	1
4°C	Infinito	

Após essa etapa foi feito um gel de agarose a 2% com 4 mm de espessura com 5µL de *loading juice* com 5 uL de amostra e 4 uL de escala 50Kb Plus (Invitrogen, EUA) para observação de bandas de DNA.

Os amplicons foram limpos com ExoSAP-IT Clean Up (Applied Biosystems, EUA), conforme instruções do fabricante.

O PCR para seqüenciamento foi realizado com sistema comercial (Applied Biosystems, EUA) seguindo o protocolo segundo o tabela 11.

Tabela 11 – Protocolo para a realização da PCR

REAGENTES	VOLUME (μ L)
Big Dye	0,5
Tampão	0,75
Primers 1,6 pmol/ μ L	0,5
Amostra	1

Na reação de PCR empregou-se as seqüências iniciadoras (primers) Bt2A; Bt2B; CL-1 e CL-2, utilizando o protocolo do tabela 12.

Tabela 12 – Protocolo para a realização da PCR

Temperatura ($^{\circ}$ C)	Tempo	Ciclos
96	5 s	1
96	10 s	25
50	5 s	
60	4min	
4 $^{\circ}$ C	Infinito	

As amostras foram purificadas e o seqüenciamento foi realizado em sequenciador ABI 3500 (Applied Biosystems). As seqüências foram editadas usandoo programa Bioedit. Os dados foram analisados no banco de dados do BLASTn (GenBank).Ao todo foram 23 isolados identificados por esta metodologia.

APÊNDICE B- PROTOCOLO DE IDENTIFICAÇÃO MOLECULAR DO LABORATÓRIO DE DOENÇAS INFECCIOSAS E PARASITÁRIAS DA FAMED- UFMS

Utilizando metodologia para Isolamento de DNA modificada de FERRER *et al.*, 2001 e SEPÚLVEDA *et al.*, 2017, foi realizado a extração do DNA fúngico.

A integridade do DNA foi examinada em eletroforese em gel de agarose 1% e visualizado com Gelred (Biotium) e luz ultravioleta. O DNA foi diluído 1:10 para uso nas reações de amplificação. Na amplificação do DNA alvo pela PCR foram utilizados os primers das regiões β -tubulina 2A (GLASS; DONALDSON, 1995), Calmodulina (O'DONNELL *et al.*, 2000) e ITS4/5 (WHITE *et al.*, 1990).

Para a realização das PCR foram utilizados o protocolo descrito na tabela 13.

Tabela 13 – Protocolo para a realização da PCR

REAGENTES	CONCENTRAÇÃO	VOLUME (μ L)
PCR Master Mix Promega 2x	1 x	12.5
Primer direto F 10 μ M	0.2 μ M	0.5
Primer reverso R 10 μ M	0.2 μ M	0.5
DMSO	5%	1.25
Água ultra pura	-	7.75
DNA	Ca. 100 ng/ μ l (5-10%)	2.5
VOLUME DA REAÇÃO		25

Para a realização das PCR foi utilizado o termociclador Veriti 96 Well Thermal Cycler (Appliedbiosystems, by Thermo Fisher Scientific).

As condições das reações de PCR estão descritas no tabela 14.

Tabela 14 – Parâmetros utilizados na reação de PCR para amplificação de DNA das regiões de β -tubulina, Calmodulina, e ITS.

Protocolo de PCR			
Etapa	Temperatura (°C)	Tempo	Ciclos
Desnaturação inicial	95	5 min	1
Desnaturação	95	30 s	35
Anelamento	55	30 s	
Extensão	70	1 min	
Extensão final	70	5 min	1

A eletroforese foi realizada em gel de agarose a 2% (Invitrogen, EUA). As amostras foram coradas com 5 μ L de Gelred (Biotium, EUA). Foi utilizado 5 μ L de DNA Ladder 100bp (Invitrogen, EUA). As bandas foram observadas pelo equipamento Molecular Imager ChemiDoc TM XRS+ with Image Lab th Software.

A purificação dos produtos de PCR foi realizada com o kit ExoSap-IT Express (Applied Biosystems, EUA). Então o PCR foi estocado a -20°C até ser realizado o sequenciamento.

O sequenciamento foi realizado no sequenciador ABI 3730 pela empresa Macrogen (<http://www.dna.macrogen.com/>). Os dados foram analisados no banco de dados do BLASTn (GenBank). Ao todo foram 15 isolados identificados por esta metodologia.

APÊNDICE C- RELAÇÃO DOS ISOLADOS COM OS PRINCIPAIS RESULTADOS

ISOLADOS	SETOR	CÓDIGO	SEÇÃO	Identificação ¹	DATA DA COLETA	TRIAGEM ITZ ²	TRIAGEM VCZ ²	TRIAGEM PCZ ²	CIM ITZ ³	CIM VCZ ³	CIM PCZ ³	CIM ANFO ³
4CM84/12-01/CB	UCM	A1	<i>Nigri</i>	NI	1/12/2021	S	S	S	NR	NR	NR	NR
5CM85/12-01/CA	UCM	AF1	<i>Fumigati</i>	NI	1/12/2021	S	S	S	1	0,5	0,12	0,5
8CM88/12-01/CA	UCM	A2	<i>Nigri</i>	<i>A. uvarum</i>	1/12/2021	S	S	S	NR	NR	NR	NR
1ADMPAM/12-01/CA	UUE	AF2	<i>Fumigati</i>	<i>A. fumigatus</i>	1/12/2021	S	S	S	NR	NR	NR	NR
2AAPAM/12-01/CA	UUE	A3	<i>Nigri</i>	<i>A. japonicus</i>	1/12/2021	S	S	S	NR	NR	NR	NR
7CM87/26-01/CA	UCM	B1	<i>Nigri</i>	<i>A. niger</i>	1/26/2021	S	S	S	1	0,5	0,12	0,12
7CM87/26-01/CB	UCM	B2	<i>Flavi</i>	<i>A. pseudotamarii</i>	1/26/2021	S	S	S	NR	NR	NR	NR
10CM90/26-01/CA	UCM	B3	<i>Nigri</i>	<i>A.pseudotamarii</i>	1/26/2021	S	S	S	NR	NR	NR	NR
11CMPISO/26-01/CA	UCM	B4	<i>Nigri</i>	NI	1/26/2021	S	S	S	NR	NR	NR	NR
11CMPISO/26-01/CB	UCM	B5	<i>Fumigati</i>	NI	1/26/2021	S	S	S	NR	NR	NR	NR
11CMPISO/26-01/CD	UCM	B6	<i>Flavi</i>	<i>A. flavus</i>	1/26/2021	S	S	S	NR	NR	NR	NR
11CMPISO/26-01/CC	UCM	B7	<i>Flavi</i>	<i>A.flavus</i>	1/26/2021	R	S	R	>8	0,5	1	0,5
12CMPE/26-01/CB	UCM	B8	<i>Nigri</i>	NI	1/26/2021	S	S	S	NR	NR	NR	NR
1ADMPAM/26-01/CA	UUE	B9	<i>Nigri</i>	NI	1/26/2021	S	S	S	NR	NR	NR	NR
3UCOH/26-01/CA	UTI	B10	<i>Nigri</i>	NI	1/26/2021	S	S	S	NR	NR	NR	NR
3UCOH/26-01/CD	UTI	B11	<i>Terrei</i>	NI	1/26/2021	S	S	S	NR	NR	NR	NR
4UCOG/26-01/CA	UTI	B12	<i>Nigri</i>	NI	1/26/2021	S	S	S	NR	NR	NR	NR
6UCOE/26-01/CA	UTI	B13	<i>Nigri</i>	<i>A. tubingensis</i>	1/26/2021	S	S	S	NR	NR	NR	NR
7UCOD/26-01/CA	UTI	B14	<i>Nigri</i>	<i>A. niger</i>	1/26/2021	S	S	S	NR	NR	NR	NR
7UCOD/26-01/CB	UTI	B15	<i>Nidulantes</i>	<i>A. unguis</i>	1/26/2021	S	S	S	NR	NR	NR	NR
7UCOD/26-01/CD	UTI	B16	<i>Nidulantes</i>	<i>A.unguis</i>	1/26/2021	S	S	S	NR	NR	NR	NR
8UCOC/26-01/CA	UTI	B17	<i>Nigri</i>	NI	1/26/2021	S	S	S	NR	NR	NR	NR
9UCOB/26-01/CA	UTI	B18	<i>Nigri</i>	NI	1/26/2021	S	S	S	NR	NR	NR	NR
10UCOSM/26-01/CA	UTI	B19	<i>Nigri</i>	NI	1/26/2021	S	S	S	NR	NR	NR	NR

ISOLADOS	SETOR	CÓDIGO	SEÇÃO	Identificação ¹	DATA DA COLETA	TRIAGEM ITZ ²	TRIAGEM VCZ ²	TRIAGEM PCZ ²	CIM ITZ ³	CIM VCZ ³	CIM PCZ ³	CIM ANFO ³
11UCOAE/26-01/CA	UTI	B20	<i>Nigri</i>	NI	1/26/2021	S	S	S	NR	NR	NR	NR
1CM81/09-02/CA	UCM	C1	<i>Nigri</i>	NI	2/9/2021	S	S	S	NR	NR	NR	NR
1CM81/09-02/CG	UCM	CF1	<i>Versicolores</i>	<i>A.sydwii</i>	2/9/2021	R	R	R	>8	>8	>8	4
2CM82/09-02/CE	UCM	CF2	<i>Versicolores</i>	NI	2/9/2021	S	S	S	NR	NR	NR	NR
5CM85/09-02/CA	UCM	CF3	<i>Versicolores</i>	NI	2/9/2021	S	S	S	NR	NR	NR	NR
10CM90/09-02/CA	UCM	C2	<i>Nigri</i>	<i>A.tubigensis</i>	2/9/2021	S	S	S	NR	NR	NR	NR
10CM90/09-02/CD	UCM	CF4	<i>Versicolores</i>	NI	2/9/2021	S	S	S	NR	NR	NR	NR
11CMPISO/09-02/CD	UCM	CF5	<i>Versicolores</i>	NI	2/9/2021	S	S	S	NR	NR	NR	NR
12CMPE/09-02/CA	UCM	C3	<i>Nigri</i>	NI	2/9/2021	S	S	S	1	0,5	0,06	0,06
1ADMPAM/09-02/CB	UUE	C4	<i>Nidulantes</i>	<i>A.unguis</i>	2/9/2021	S	S	S	NR	NR	NR	NR
2AAPAM/09-02/CA	UUE	C5	<i>Nigri</i>	<i>A.tubigensis</i>	2/9/2021	R	S	S	>8	1	0,12	0,5
3ACAAPAM/09-02/CA	UUE	CF6	<i>Versicolores</i>	<i>A.sydwii</i>	2/9/2021	R	R	S	>8	2	0,25	2
4UCOG/09-02/CC	UTI	CF7	<i>Versicolores</i>	<i>A.sydwii</i>	2/9/2021	S	R	S	1	2	0,25	0,25
7UCOD/09-02/CB	UTI	C6	<i>Versicolores</i>	<i>A.sydwii</i>	2/9/2021	S	S	S	NR	NR	NR	NR
4CM84/23-02/CA	UCM	D2	<i>Nigri</i>	<i>A.sydwii</i>	2/23/2021	S	S	S	NR	NR	NR	NR
5CM85/23-02/CA	UCM	D3	<i>Nigri</i>	NI	2/23/2021	S	S	S	NR	NR	NR	NR
5CM85/23-02/CB	UCM	D4	<i>Nidulantes</i>	NI	2/23/2021	S	S	S	NR	NR	NR	NR
6CM86/23-02/CA	UCM	D5	<i>Flavi</i>	NI	2/23/2021	S	S	S	NR	NR	NR	NR
6CM86/23-02/CB	UCM	D6	<i>Nidulantes</i>	NI	2/23/2021	S	S	S	NR	NR	NR	NR
6CM86/23-02/CD	UCM	D7	<i>Terrei</i>	NI	2/23/2021	S	S	S	NR	NR	NR	NR
7CM87/23-02/CF	UCM	DF1	<i>Versicolores</i>	NI	2/23/2021	S	S	S	NR	NR	NR	NR
7CM87/23-02/CB	UCM	D8	<i>Nigri</i>	NI	2/23/2021	S	S	S	NR	NR	NR	NR
7CM87/23-02/CC	UCM	D9	<i>Nidulantes</i>	NI	2/23/2021	S	S	S	NR	NR	NR	NR
8CM88/23-02/CA	UCM	D10	<i>Nigri</i>	<i>A.luchuensis</i>	2/23/2021	S	S	S	NR	NR	NR	NR
9CM89/23-02/CA	UCM	D11	<i>Nigri</i>	NI	2/23/2021	S	S	S	NR	NR	NR	NR

ISOLADOS	SETOR	CÓDIGO	SEÇÃO	Identificação ¹	DATA DA COLETA	TRIAGEM ITZ ²	TRIAGEM VCZ ²	TRIAGEM PCZ ²	CIM ITZ ³	CIM VCZ ³	CIM PCZ ³	CIM ANFO ³
12CMPE/23-02/CA	UCM	D12	<i>Nidulantes</i>	NI	2/23/2021	S	S	S	NR	NR	NR	NR
12CMPE/23-02/CC	UCM	D13	<i>Versicolores</i>	<i>A.sydowii</i>	2/23/2021	S	S	S	NR	NR	NR	NR
1UCOACD/23-02/CA	UTI	D14	<i>Nigri</i>	NI	2/23/2021	S	S	S	NR	NR	NR	NR
6UCOE/23-02/CE	UTI	D15	<i>Versicolores</i>	<i>A.sydowii</i>	2/23/2021	S	S	S	NR	NR	NR	NR
8UCOC/23-02/CA	UTI	D16	<i>Nigri</i>	NI	2/23/2021	S	S	S	NR	NR	NR	NR
8UCOC/23-02/CE	UTI	DF2	<i>Nigri</i>	<i>A.tubigenensis</i>	2/23/2021	S	S	S	NR	NR	NR	NR
9UCOB/23-02/CA	UTI	D17	<i>Nigri</i>	NI	2/23/2021	S	S	S	NR	NR	NR	NR
10UCOSM/23-02/CA	UTI	D18	<i>Nigri</i>	NI	2/23/2021	S	S	S	NR	NR	NR	NR
1AEHU/23-02/CB	UTI	D19	<i>Nigri</i>	NI	2/23/2021	S	S	S	NR	NR	NR	NR
1CM81/09-03/CA	UCM	E1	?	NI	3/9/2021	S	S	S	NR	NR	NR	NR
4CM84/09-03/CA	UCM	E2	<i>Nigri</i>	NI	3/9/2021	S	S	S	NR	NR	NR	NR
6CM86/09-03/CA	UCM	E3	<i>Nigri</i>	NI	3/9/2021	S	S	S	NR	NR	NR	NR
7CM87/09-03/CA	UCM	E4	<i>Nigri</i>	NI	3/9/2021	S	S	S	NR	NR	NR	NR
7CM87/09-03/CE	UCM	E5	<i>Terrei</i>	NI	3/9/2021	S	S	S	NR	NR	NR	NR
9CM89/09-03/CA	UCM	E6	<i>Nigri</i>	NI	3/9/2021	S	S	S	NR	NR	NR	NR
9CM89/09-02/CB	UCM	E7	<i>Flavi</i>	NI	3/9/2021	S	S	S	NR	NR	NR	NR
11CMPISO/09-03/CA	UCM	E8	<i>Flavi</i>	<i>A.pseudocaelatus</i>	3/9/2021	S	S	S	NR	NR	NR	NR
3ACAAPAM/09-03/CA	UUE	E9	<i>Nigri</i>	NI	3/9/2021	S	S	S	NR	NR	NR	NR
1UCOACD/09-03/CA	UTI	E10	<i>Flavi</i>	<i>A.flavus</i>	3/9/2021	S	S	S	NR	NR	NR	NR
2UCOJ/09-03/CA	UTI	E11	<i>Nigri</i>	NI	3/9/2021	S	S	S	NR	NR	NR	NR
3UCOH/09-03/CA	UTI	E12	<i>Flavi</i>	NI	3/9/2021	S	S	S	NR	NR	NR	NR
4UCOG/09-03/CA	UTI	EF1	<i>Flavi</i>	<i>A.flavus</i>	3/9/2021	S	S	S	NR	NR	NR	NR
5UCOF/09-03/CA	UTI	E13	<i>Flavi</i>	<i>A.flavus</i>	3/9/2021	S	S	S	NR	NR	NR	NR
6UCOE/09-03/CA	UTI	E14	<i>Flavi</i>	NI	3/9/2021	S	S	S	NR	NR	NR	NR
10UCOSM/09-03/CA	UTI	E15	<i>Nigri</i>	NI	3/9/2021	S	S	S	NR	NR	NR	NR

ISOLADOS	SETOR	CÓDIGO	SEÇÃO	Identificação ¹	DATA DA COLETA	TRIAGEM ITZ ²	TRIAGEM VCZ ²	TRIAGEM PCZ ²	CIM ITZ ³	CIM VCZ ³	CIM PCZ ³	CIM ANFO ³
1CM81/06-08/CC	UCM	F1	<i>Fumigati</i>	NI	8/6/2021	S	S	S	NR	NR	NR	NR
4CM84/06-08/CA	UCM	F2	<i>Terrei</i>	NI	8/6/2021	S	S	S	NR	NR	NR	NR
5CM85/06-08/CA	UCM	F3	<i>Nigri</i>	NI	8/6/2021	S	S	S	NR	NR	NR	NR
6CM86/06-08/CA	UCM	F4	<i>Nidulantes</i>	NI	8/6/2021	S	S	S	NR	NR	NR	NR
7CM87/06-08/CA	UCM	F5	<i>Nigri</i>	NI	8/6/2021	S	S	S	NR	NR	NR	NR
7CM87/06-08/CB	UCM	F6	<i>Fumigati</i>	NI	8/6/2021	S	S	S	NR	NR	NR	NR
9CM89/06-08/CA	UCM	F7	<i>Nigri</i>	NI	8/6/2021	S	S	S	NR	NR	NR	NR
9CM89/06-08/CB	UCM	F8	<i>Fumigati</i>	NI	8/6/2021	S	S	S	NR	NR	NR	NR
11CMPISO/06-08/CA	UCM	F9	<i>Versicolores</i>	NI	8/6/2021	R	R	S	>8	>8	0,25	1
12CMPE/06-08/CA	UCM	F10	<i>Versicolores</i>	NI	8/6/2021	S	S	S	NR	NR	NR	NR
2AAPAM/06-08/CA	UUE	F11	<i>Flavi</i>	NI	8/6/2021	S	S	S	NR	NR	NR	NR
1UCOACD/06-08/CA	UTI	F12	<i>Nigri</i>	NI	8/6/2021	S	S	S	NR	NR	NR	NR
1UCOACD/06-08/CB	UTI	F13	<i>Fumigati</i>	NI	8/6/2021	S	S	S	NR	NR	NR	NR
2UCOJ/06-08/CB	UTI	F14	<i>Versicolores</i>	<i>A.sydowii</i>	8/6/2021	R	S	S	>8	1	0,25	4
4UCOG/06-08/CC	UTI	F15	<i>Versicolores</i>	<i>A.sydowii</i>	8/6/2021	R	S	S	>8	1	0,25	4
5UCOF/06-08/CA	UTI	F16	<i>Fumigati</i>	<i>A. fumigatus</i>	8/6/2021	R	R	R	>8	4	>8	1
5UCOF/06-08/CC	UTI	F17	<i>Fumigati</i>	NI	8/6/2021	S	S	S	NR	NR	NR	NR
6UCOE/06-08/CB	UTI	F18	<i>Fumigati</i>	NI	8/6/2021	S	S	S	NR	NR	NR	NR
7UCOD/06-08/CA	UTI	F19	<i>Fumigati</i>	NI	8/6/2021	S	S	S	NR	NR	NR	NR
9UCOB/06-08/CA	UTI	F20	<i>Fumigati</i>	NI	8/6/2021	S	S	S	NR	NR	NR	NR
10UCOSM/06-08/CA	UTI	F21	<i>Fumigati</i>	NI	8/6/2021	S	S	S	NR	NR	NR	NR
11UCOACE/06-08/CC	UTI	F22	<i>Fumigati</i>	NI	8/6/2021	S	S	S	NR	NR	NR	NR
2CM82/20-08/CA	UCM	G1	<i>Fumigati</i>	NI	8/20/2021	S	S	S	NR	NR	NR	NR
3CM83/20-08/CA	UCM	G2	<i>Fumigati</i>	NI	8/20/2021	S	S	S	NR	NR	NR	NR
5CM85/20-08/CA	UCM	G3	<i>Nigri</i>	NI	8/20/2021	S	S	S	NR	NR	NR	NR

ISOLADOS	SETOR	CÓDIGO	SEÇÃO	Identificação ¹	DATA DA COLETA	TRIAGEM ITZ ²	TRIAGEM VCZ ²	TRIAGEM PCZ ²	CIM ITZ ³	CIM VCZ ³	CIM PCZ ³	CIM ANFO ³
5CM85/20-08/CB	UCM	G4	Versicolores	NI	8/20/2021	R	R	S	>8	2	0,25	1
6CM86/20-08/CA	UCM	G5	Terrei	NI	8/20/2021	S	S	S	NR	NR	NR	NR
6CM86/20-08/CB	UCM	G6	Fumigati	NI	8/20/2021	S	S	S	NR	NR	NR	NR
8CM88/20-08/CB	UCM	G7	Fumigati	NI	8/20/2021	S	S	S	NR	NR	NR	NR
1ADMPAM/20-08/CA	UUE	G8	Nigri	NI	8/20/2021	S	S	S	NR	NR	NR	NR
2UCOJ/20-08/CB	UTI	G9	Fumigati	NI	8/20/2021	S	S	S	NR	NR	NR	NR
2UCOJ/20-08/CD	UTI	G10	Flavi	NI	8/20/2021	S	S	S	NR	NR	NR	NR
5UCOF/20-08/CA	UTI	G11	Nigri	NI	8/20/2021	S	S	S	NR	NR	NR	NR
5UCOF/20-08/CB	UTI	G12	Versicolores	NI	8/20/2021	S	S	S	NR	NR	NR	NR
6UCOE/20-08/CA	UTI	G13	Nigri	NI	8/20/2021	S	S	S	NR	NR	NR	NR
8UCOC/20-08/CA	UTI	G14	Flavi	NI	8/20/2021	S	S	S	NR	NR	NR	NR
11UCOACE/20-08/CA	UTI	G15	Flavi	<i>A.flavus</i>	8/20/2021	R	S	S	8	0,5	0,25	1
2CM82/07-12/CA	UCM	H1	Fumigati	NI	12/7/2021	S	S	S	NR	NR	NR	NR
3CM83/07-12/CA	UCM	H2	Nigri	NI	12/7/2021	S	S	S	NR	NR	NR	NR
4CM84/07-12/CA	UCM	H3	Fumigati	NI	12/7/2021	S	S	S	NR	NR	NR	NR
5CM85/07-12/CA	UCM	H4	Flavi	NI	12/7/2021	S	S	S	NR	NR	NR	NR
5CM85/07-12/CB	UCM	H5	Nigri	NI	12/7/2021	S	S	S	NR	NR	NR	NR
5CM85/07-12/CD	UCM	H6	Fumigati	NI	12/7/2021	S	S	S	NR	NR	NR	NR
8CM88/07-12/CA	UCM	H7	Fumigati	NI	12/7/2021	S	S	S	NR	NR	NR	NR
11CMPISO/07-12/CA	UCM	H8	Fumigati	NI	12/7/2021	S	S	S	NR	NR	NR	NR
12CMPE/07-12/CA	UCM	H9	Versicolores	NI	12/7/2021	R	S	S	>8	1	0,25	4
2AAPAM/07-12/CA	UCM	H10	Nigri	NI	12/7/2021	S	S	S	NR	NR	NR	NR
2AAPAM/07-12/CB	UUE	H11	Nidulantes	NI	12/7/2021	S	S	S	NR	NR	NR	NR
1UCOACD/07-12/CB	UTI	H12	Versicolores	NI	12/7/2021	S	S	S	NR	NR	NR	NR
1UCOACD/07-12/CC	UTI	H13	Flavi	NI	12/7/2021	S	S	S	NR	NR	NR	NR

ISOLADOS	SETOR	CÓDIGO	SEÇÃO	Identificação ¹	DATA DA COLETA	TRIAGEM ITZ ²	TRIAGEM VCZ ²	TRIAGEM PCZ ²	CIM ITZ ³	CIM VCZ ³	CIM PCZ ³	CIM ANFO ³
3UCOH/07-12/CA	UTI	H14	<i>Fumigati</i>	<i>A. fumigatus</i>	12/7/2021	S	S	S	0,25	0,5	0,06	0,5
4UCOG/07-12/CA	UTI	H15	<i>Flavi</i>	NI	12/7/2021	S	S	S	NR	NR	NR	NR
4UCOG/07-12/CC	UTI	H16	<i>Fumigati</i>	NI	12/7/2021	S	S	S	NR	NR	NR	NR
5UCOF/07-12/CA	UTI	H17	<i>Fumigati</i>	NI	12/7/2021	S	S	S	NR	NR	NR	NR
6UCOE/07-12/CA	UTI	H18	<i>Nigri</i>	NI	12/7/2021	R	S	S	>8	1	0,12	0,25
6UCOE/07-12/CC	UTI	H19	<i>Fumigati</i>	<i>A. fumigatus</i>	12/7/2021	R	R	S	>8	>8	0,5	1
6UCOE/07-12/CD	UTI	H20	<i>Flavi</i>	<i>A. flavus</i>	12/7/2021	S	S	S	NR	NR	NR	NR
7UCOD/07-12/CA	UTI	H21	<i>Nigri</i>	NI	12/7/2021	S	S	S	NR	NR	NR	NR
9UCOB/07-12/CA	UTI	H22	<i>Nidulantes</i>	NI	12/7/2021	S	S	S	NR	NR	NR	NR
9UCOB/07-12/CC	UTI	H23	<i>Terrei</i>	NI	12/7/2021	S	S	S	NR	NR	NR	NR
10UCOSM/07-12/CA	UTI	H24	<i>Versicolores</i>	NI	12/7/2021	S	S	S	NR	NR	NR	NR
7CM87/14-12/CA	UCM	I1	<i>Nigri</i>	NI	12/14/202	S	S	S	NR	NR	NR	NR
7CM87/14-12/CB	UCM	I2	<i>Versicolores</i>	NI	12/14/202	S	S	S	NR	NR	NR	NR
11CMPISO/14-12/CA	UCM	I3	<i>Nigri</i>	NI	12/14/202	S	S	S	NR	NR	NR	NR
1ADMPAM/14-12/CB	UUE	I4	<i>Fumigati</i>	NI	12/14/202	S	S	S	NR	NR	NR	NR
2AAPAM/14-12/CA	UUE	I5	<i>Fumigati</i>	<i>A. fumigatus</i>	12/14/202	R	S	S	>8	1	0,25	1
3ACAAPAM/14-12/CA	UUE	I6	<i>Flavi</i>	NI	12/14/202	S	S	S	0,25	0,03	0,12	1
4ATRPAM/14-12/CC	UUE	I7	<i>Versicolores</i>	NI	12/14/202	S	S	S	NR	NR	NR	NR
1UCOACD/14-12/CA	UTI	I8	<i>Nigri</i>	NI	12/14/202	S	S	S	NR	NR	NR	NR
2UCOJ/14-12/CA	UTI	I9	<i>Fumigati</i>	NI	12/14/202	S	S	S	NR	NR	NR	NR
3UCOH/14-12/CA	UTI	I10	<i>Nigri</i>	NI	12/14/202	S	S	S	NR	NR	NR	NR
5UCOF/14-12/CA	UTI	I11	<i>Fumigati</i>	<i>A. fumigatus</i>	12/14/202	R	S	S	>8	0,25	0,25	0,25
5UCOF/14-12/CC	UTI	I12	<i>Versicolores</i>	NI	12/14/202	S	S	S	NR	NR	0,25	NR
9UCOB/14-12/CB	UTI	I13	<i>Versicolores</i>	NI	12/14/202	S	S	S	NR	NR	NR	NR

UCM= Unidade de Cuidados Médicos; **UCIS**= Unidade de Cuidados Intensivos e Semi-intensivos; **UUE**= Unidade de Urgência e Emergência;

¹=Identificadas por sequenciamento; **NI**= não identificada; ²=Testes de triagem ; ³= Teste de microdiluição; **R**= Resistente; **S**= Sensível; **ITZ**: Itraconazol; **VCZ**: Voriconazol; **PCZ**: Posaconazol; **CIM**= concentração inibitória mínima; **NR**= Não Realizado

ANEXO A – Protocolo GEP 66/2019. Boletim de Serviço. Nº 301, 20 de dezembro de 2019

RESOLUÇÃO Nº 61, DE 19 DE DEZEMBRO DE 2019

O COLEGIADO EXECUTIVO DO HOSPITAL UNIVERSITÁRIO “MARIA APARECIDA PEDROSSIAN” DA FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL, no uso de suas atribuições legais e regimentais, nos termos do art. 6º da Lei nº 12.550, de 15 de dezembro de 2011, dos arts. 60, 61 e 62 do Regimento Interno da Ebserh e

II. Protocolo GEP 66/2019

- a) Título do Projeto: Aspergilose invasiva: epidemiologia, diagnóstico e estudo ambiental em dois hospitais de referência de Mato Grosso do Sul
- b) Pesquisador: Márcia de Souza Carvalho Melhem
- c) Orientador: Marilene Rodrigues Chang
- d) Categoria: Mestrado
- e) Período: Janeiro de 2020 a Dezembro de 2022
- f) Local de Execução: Laboratório de Micologia
- g) CAAE:95838818.0.0000.002

ANEXO B – Protocolo GEP 28/2021. Boletim de serviço. Nº 48, 21 de julho de 2021



RESOLUÇÃO Nº 48, DE 21 DE JULHO DE 2021

O COLEGIADO EXECUTIVO DO HOSPITAL UNIVERSITÁRIO "MARIA APARECIDA PEDROSSIAN" DA FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL, no uso de suas atribuições legais e regimentais, nos termos do art. 6º da Lei nº 12.550, de 15 de dezembro de 2011, dos arts. 60, 61 e 62 do Regimento Interno da Ebsers e dos arts. 6º, 7º e 8º do Regimento Interno do Hmap-UFMS, conforme reunião ordinária realizada no dia 21 de julho de 2021, **RESOLVE**:

Art. 1º - Aprovar os projetos de pesquisa abaixo relacionados:

Protocolo GEP 28/2021

- a) Título do projeto: Monitoramento de Aerocontaminação por *Aspergillus*Spp em Hospital Terciário de Mato Grosso do Sul
- b) Pesquisador: Michele Scardine Corrêa de Lemos
- c) Orientador: Marlene Rodrigues Chang
- d) Categoria: Mestrado - Programa de Pós-Graduação em Doenças Infecciosas e Parasitárias - UFMS
- e) Período: julho de 2021 a março de 2022
- f) Financiamento: FUNDECT
- g) Local de execução: Laboratório de Micologia
- h) CAAE: 95838818.0.0000.00