

VIVIANE REIS DE AZEVEDO

**AVALIAÇÃO DO PERFIL DE SUSCEPTIBILIDADE
DE 157 AMOSTRAS CLÍNICAS E AMBIENTAIS DE
Fusarium spp. FRENTE A 05 ANTIFÚNGICOS.**

Tese apresentada à Universidade Federal
de São Paulo – Escola Paulista de
Medicina, para obtenção do Título de Mestre
em Ciências.

SÃO PAULO
2008

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

VIVIANE REIS DE AZEVEDO

**AVALIAÇÃO DO PERFIL DE SUSCEPTIBILIDADE
DE 157 AMOSTRAS CLÍNICAS E AMBIENTAIS DE
Fusarium spp. FRENTE A 05 ANTIFÚNGICOS.**

Tese apresentada à Universidade Federal de
São Paulo – Escola Paulista de Medicina, para
obtenção do Título de Mestre em Ciências.

Orientador: Prof. Dr. Arnaldo Lopes Colombo

Co-orientador: Dr. Patricio Godoy Martinez

SÃO PAULO
2008

Reis de Azevedo, Viviane

Avaliação do Perfil de Susceptibilidade de 157 Amostras Clínicas e Ambientais de *Fusarium* spp. Frente a 05 Antifúngicos. / Viviane Reis de Azevedo. – São Paulo, 2008.
xxi, 125f.

Tese (Mestrado) – Universidade Federal de São Paulo. Escola Paulista de Medicina. Programa de Pós-graduação em Infectologia.

Título em inglês: Evaluation of Antifungal Susceptibility Pattern of 157 Clinical and Environmental Samples of *Fusarium* spp.

1. Patógenos Emergentes. / 2. Resistência a antimicrobianos. / 3. Identificação fenotípica. / 4. *Fusarium* spp. / 5. Infecções nosocomiais.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO PAULO
ESCOLA PAULISTA DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE MEDICINA

Chefe do Departamento de Medicina: Prof. Dr. Angelo Amato
Vincenzo de Paola

Vice-Chefe do Departamento de Medicina: Prof. Arnaldo Lopes
Colombo

Coordenador do Curso de Pós-Graduação: Prof. Dr. Ricardo
Sobhie Diaz

Este trabalho foi desenvolvido no Laboratório Especial de Micologia, da Universidade Federal de São Paulo – Escola Paulista de Medicina, aprovado pelo Comitê de Ética (1779/06), contando com o apoio financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) sob processo nº. 135219-2006-0.

VIVIANE REIS DE AZEVEDO

AVALIAÇÃO DO PERFIL DE SUSCEPTIBILIDADE DE 157 AMOSTRAS CLÍNICAS E AMBIENTAIS DE *Fusarium* spp. FRENTE A 05 ANTIFÚNGICOS.

PRESIDENTE DA BANCA:

Prof. Arnaldo Lopes Colombo
Professor Titular da Disciplina de Infectologia
Departamento de Medicina – Universidade Federal de São Paulo

BANCA EXAMINADORA:

Prof. Dr. Márcio Luiz Moore Nucci
Professor Adjunto da Disciplina de Hematologia
Departamento de Clínica Médica – Universidade Federal do Rio de Janeiro

Prof. Dra. Olga Fischman Gompertz
Professor Adjunto e Livre Docente da Disciplina de Biologia Celular
Departamento de Microbiologia, Imunobiologia e Parasitologia – Universidade Federal de São Paulo

Dr. Guilherme Maranhão Chaves
Disciplina de Infectologia
Departamento de Medicina – Universidade Federal de São Paulo

SUPLENTE:

Prof. Dr. Benedito Corrêa
Professor Titular do Departamento de Microbiologia
Universidade de São Paulo

DEDICATÓRIA

Aos meus amados pais,

Edimilson Albino de Azevedo e Maria das Graças Reis de Azevedo
(a Dona Leila)

Os grandes responsáveis pelo o que hoje sou. Exemplos de fé, humildade e perseverança em minha vida.

Aqueles que me ensinaram, desde bem pequena, o significado do respeito e do amor ao próximo.

Que inúmeras vezes se sacrificaram em prol da minha vida.

Agradeço a Deus, todos os dias, pela vida de vocês na minha vida.

Ao meu amor,

Roberto Leal Bastos

Pelo amor, confiança e compreensão incondicionais.

Aquele que por diversas vezes, no decorrer dessa jornada, foi o meu ombro amigo e meu porto seguro.

Que me consolou em momentos de tristeza e vibrou em momentos de alegrias e conquistas.

Juntos, somos um!

E o que nos une é infundavelmente maior do que o que pode nos separar.

“ESTA TESE É DEDICADA A VOCÊS, RAZÃO DO MEU VIVER!!!”

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

Ao meu orientador,

Professor Arnaldo Lopes Colombo,

Exemplo de competência, dinamismo, disciplina, responsabilidade, razão e sucesso.

Agradeço pela oportunidade, concedida a mim, de fazer parte do grupo LEMI, pela orientação deste trabalho, pelo profissionalismo incomparável e irrepreensível e pelos inúmeros votos de confiança e credibilidade depositados sobre mim ao longo desses mais de seis anos de convivência.

Espero ter cumprido com os objetivos propostos e superado as expectativas! Muitíssimo obrigada!

Ao meu querido amigo e co-orientador,

Dr. Patrício Godoy (o Patito),

A primeira pessoa que me acolheu no LEMI e que abriu os meus olhos para o maravilhoso mundo dos fungos.

Agradeço pelas inúmeras demonstrações de carinho, amizade e cumplicidade, pelos ótimos momentos de convivência, por todas as vezes em que pude contar com seu apoio, seja no âmbito pessoal, emocional ou profissional (e olha que não foram poucas vezes), por todas as oportunidades e oferecimentos de desenvolvimento profissional e intelectual.

Você tem parte cativa em meu coração, levarei a nossa amizade para todo o sempre! Obrigada por tudo!

AGRADECIMENTOS

Minha intenção não é graduar meus agradecimentos, isto seria muito injusto. Ao longo desses mais de seis anos de convivência com o grupo LEMI, muitos fatos (bons e ruins) ocorreram, muitas pessoas fizeram e continuarão fazendo parte da minha vida e tudo, absolutamente tudo, contribuiu de alguma forma para o meu desenvolvimento pessoal, emocional e profissional. A todas estas encantadoras pessoas que se fizeram presentes em diversos momentos e situações do meu cotidiano, o meu agradecimento sincero...

À minha professora de graduação **Dra. Marta Cristina Sousa** por ter incentivado o desejo de fazer parte de um grupo de pesquisa e ter indicado o meu nome para o trabalho junto ao LEMI.

À minha querida amiga **Thelma Alves da Silva**, nunca me esquecerei dos momentos que passamos juntas no “subsolo” do LEMI. Sua amizade, sem dúvida alguma, foi uma das melhores coisas que me aconteceram nos últimos anos.

Ao amigo **Daniel Archimedes da Matta**, por sempre ter incentivado positivamente meus passos na micologia, seja com palavras, seja com atitudes ou exemplos de vida. Obrigada pelas animadas conversas e pelas inúmeras vezes em que pude contar com sua gentileza e amabilidade.

Ao amigo **Thomas Chagas Neto**, pelo harmonioso convívio em todos esses anos, pelas ótimas gargalhadas e “assobios” que demos juntos. Foi muito bom dividir a bancada com você.

À minha querida amiga **Cledja Soares Amorim** (a senhora Tico), pela alegria contagiante, pelo exemplo de vida e coragem. Jamais me esquecerei das nossas boas risadas. Muito obrigada!

À supervisora e amiga **Edméa Helena de Oliveira**, pelas demonstrações de confiança e amizade, pelas inúmeras palavras de incentivo e carinho direcionadas a mim. Muito obrigada!

Aos amigos **Analy Salles de Azevedo Melo** e **Guilherme Maranhão Chaves**, pela ótima convivência, pelos agradáveis bate-papos e almoços que compartilhamos ao longo de inúmeras sextas-feiras. O meu carinho a vocês!

À querida **Débora de Cássia Pires Geiger**, por ter, gentilmente, cedido espaço em seu laboratório para a realização dos experimentos desta tese, contribuindo para a minha formação profissional. Muito obrigada!

Ao amigo **Ricardo Andreotti Siqueira**, jovem com um futuro promissor a ser traçado a quem oferto minha amizade e carinho. Agradeço pelos agradáveis momentos de descontração.

Ao amigo **Agenor Messias Júnior** (o sinistro), pelos momentos de diversão e pelas boas gargalhadas. Você faz a micologia ser mais divertida. Many thanks!

Aos meus queridos amigos **Mara Stort** e **Wancler Alencar**, vocês, com certeza fizeram a minha caminhada nessa jornada ser mais suave e tranqüila. Foi muito bom ter encontrado pessoas maravilhosas como vocês. Muito obrigada pela amizade e carinho!

À querida secretária **Josiane Gregório**, mulher batalhadora, exemplo de eficiência e competência. Agradeço pela ótima convivência e pelas boas risadas. Obrigada!

Aos meus queridos “Doctors” **Vinicius Ponzio da Silva** e **Daniel Wagner dos Santos**, pela amizade construída e consolidada ao longo deste ótimo período de convivência. Amo vocês!

Às queridas **Maria de Jesus Lima dos Santos**, **Maria de Fátima de Souza Nascimento** e **Camila Uchoa**, mulheres de fibra, simplicidade e dedicação em tudo o que fazem. Vocês tornaram os meus dias mais alegres, obrigada pela convivência!

Aos que fizeram e fazem parte da história do LEMI e que compartilhamos diversos momentos e situações como **Leila Paula**, **Thaís Guimarães**, **Robert Rosas**, **Lígia Brito**, **Maria Daniela**, **Beatriz (Tita) Quental**, **Michele Zicker**, **Marlyan Dulz**, **Maria Emília**, **Fernanda Mazzarolo**, **Patrícia Rady**, **Norka Saldaña**, **Ana Carolina** e **Zelinda Nakagawa**.

A todo o pessoal do Instituto Paulista de Doenças Infecciosas e Parasitárias (IDIPA) e, em especial à **Cássia Garcia, Celso Tavares e Fábio Rodrigues**, pelas inúmeras vezes em que pude contar com a ajuda e compreensão de vocês na hora de fazer cotações, compras e entregar de documentos. Muito obrigada!

A todos os professores da Disciplina de Infectologia da Universidade Federal de São Paulo.

Aos pós-graduandos do LEMI **Marcos Paulo Wille, Fernanda Pahim, Fernando Bizerra, Sabrina Mesquita e Gisela Ramos**. Obrigada!

Tenho que mencionar aqui aqueles que fazem parte da minha vida fora do LEMI, pessoas que trazem alegria aos meus dias, que me sustentam com demonstrações de amizade e amor fraternal.

Aos meus amorosos pais **Edimilson Albino de Azevedo e Maria das Graças Reis de Azevedo**, mais conhecida como **Dona Leila**, por terem demonstrado o verdadeiro valor do amar e ser amada, pelo cuidado que derramam sobre mim a todo o momento e por todos os ensinamentos que delinearão a minha personalidade e o meu caráter. Sou grata por tudo o que vocês me concedem até hoje!

Ao meu amado noivo **Roberto Leal Bastos**, pelas inúmeras demonstrações de amor e cuidado sobre mim. Você é o melhor presente de Deus para a minha vida. Te amo hoje e sempre!

A todos os meus familiares que sempre estiveram ao meu lado, e em especial, ao meu querido primo **Sillas Alves dos Reis**, pelo apoio, incentivo e carinho que sempre demonstra por mim. Muito obrigada!

Aos meus amigos e irmãos eleitos **Erika Bernardo, Marcos Ferreira** (o Marquito) e **Daniel Luiz Pereira**, pelo carinho e amizade que vocês têm por mim. Obrigada!

A todos aqueles que, mesmo não mencionados aqui, acreditaram em mim e se mantiveram ao meu lado em todos os momentos.

MUITO OBRIGADA !!!

“Os velozes nem sempre vencem a corrida, os fortes nem sempre triunfam na guerra, os sábios nem sempre têm comida, os prudentes nem sempre são ricos, os instruídos nem sempre têm prestígio, pois o tempo e o acaso afetam a todos”.

Eclesiastes 9:11

SUMÁRIO

Dedicatória	v
Agradecimentos Especiais	vi
Agradecimentos	vii
Listas	xi
Resumo	xx
Abstract	xxi
1. Introdução	1
1.1 Biologia e sistemática de <i>Fusarium</i> spp.	2
1.2 Relevância clínica das infecções causadas pelo gênero <i>Fusarium</i>	7
1.2.1 Ceratites	8
1.2.2 Onicomicoses	13
1.2.3 Infecções cutâneas e sistêmicas	15
1.3 Reservatório de Infecções por <i>Fusarium</i> no ambiente hospitalar	17
1.4 Teste de susceptibilidade a antifúngicos pelo método de microdiluição em caldo	20
2. Objetivos	23
3. Material e Métodos	25
3.1 Seleção de amostras	26
3.2 Verificação da viabilidade e pureza das amostras armazenadas no LEMI	27
3.3 Identificação fenotípica das amostras	27
3.3.1 Análise macromorfológica	27
3.3.2 Análise micromorfológica	28
3.4 Avaliação do perfil de susceptibilidade aos antifúngicos	29
3.4.1 Preparo do meio de cultura	29
3.4.2 Preparo das drogas antifúngicas	29
3.4.3 Preparo das placas para os ensaios de microdiluição em caldo	30
3.4.4 Preparo do inóculo	31
3.4.5 Realização dos ensaios de susceptibilidade aos 05 antifúngicos	33
3.4.6 Leitura dos ensaios	34
3.4.7 Descrição dos resultados do teste de susceptibilidade obtidos com	34

as diferentes drogas testadas	
4. Resultados	36
4.1 Microrganismos	37
4.2 Caracterização morfológica dos isolados de <i>Fusarium</i> spp.	38
4.2.1 Análise macromorfológica e micromorfológica das 157 cepas de <i>Fusarium</i> spp. – Identificação dos complexos de espécies	38
4.3 Distribuição geral das espécies de <i>Fusarium</i> spp. de acordo com o material clínico ou ambiental	44
4.4 Análise do perfil de susceptibilidade das 157 cepas de <i>Fusarium</i> spp. frente aos 05 antifúngicos testados pelo método de microdiluição em caldo	47
4.4.1 Controle de qualidade dos ensaios de microdiluição em caldo com os 05 antifúngicos testados contra os organismos controle	47
4.4.2 Análise da variação de valores de concentrações inibitórias mínimas (CIMs), CIM ₅₀ e CIM ₉₀ apresentados pelas 157 cepas clínicas e ambientais de <i>Fusarium</i> spp. frente aos 05 antifúngicos testados	50
4.4.3 Análise do perfil de susceptibilidade de 126 amostras clínicas de <i>Fusarium</i> spp. em relação a 05 antifúngicos	53
4.4.3.1 Perfil de susceptibilidade a anfotericina B	53
4.4.3.2 Perfil de susceptibilidade a fluconazol	56
4.4.3.3 Perfil de susceptibilidade a itraconazol	57
4.4.3.4 Perfil de susceptibilidade a 5-fluorocitosina	58
4.4.3.5 Perfil de susceptibilidade a voriconazol	59
4.4.4 Análise do perfil de susceptibilidade de 31 amostras ambientais de <i>Fusarium</i> spp. em relação a 05 antifúngicos	62
4.4.4.1 Perfil de susceptibilidade a anfotericina B	62
4.4.4.2 Perfil de susceptibilidade a fluconazol	64
4.4.4.3 Perfil de susceptibilidade a itraconazol	65
4.4.4.4 Perfil de susceptibilidade a 5-fluorocitosina	66
4.4.4.5 Perfil de susceptibilidade a voriconazol	67
4.4.5 Análise do perfil de susceptibilidade das 143 cepas do complexo	69

<i>Fusarium solani</i> em relação às 14 cepas de outras espécies de <i>Fusarium</i> frente à anfotericina B	
4.4.6 Análise do perfil de susceptibilidade das 143 cepas do complexo <i>Fusarium solani</i> em relação às 14 cepas de outras espécies de <i>Fusarium</i> frente à voriconazol	70
5. Discussão	71
6. Conclusões	93
7. Anexos	96
8. Referências bibliográficas	104

LISTA DE TABELAS

1. Distribuição de espécies das 157 cepas clínicas e ambientais de <i>Fusarium</i> spp.	43
2. Distribuição de espécies das amostras clínicas de <i>Fusarium</i> spp. segundo o sítio biológico de isolamento	44
3. Distribuição das espécies das amostras ambientais de <i>Fusarium</i> spp. segundo o sitio de isolamento	45
4. Variação dos valores de CIMs ($\mu\text{g/mL}$) apresentados pelos organismos controle frente a anfotericina B, fluconazol, itraconazol, 5-fluorocitosina e voriconazol	48
5. Variação dos valores de Concentração Inibitória Mínima (CIM), CIM ₅₀ e CIM ₉₀ apresentados pelas 157 cepas clínicas e ambientais de <i>Fusarium</i> spp.	51
6A. Variação dos valores de Concentração Inibitória Mínima (CIM), CIM ₅₀ e CIM ₉₀ apresentados pelas 126 cepas clínicas de <i>Fusarium</i> spp. contra anfotericina B	52
6B. Perfil de susceptibilidade de 126 cepas clínicas de <i>Fusarium</i> spp. testadas contra anfotericina B, de acordo com 03 diferentes períodos de leitura	53
6C. Perfil de susceptibilidade de 126 cepas clínicas de <i>Fusarium</i> spp. testadas contra anfotericina B, de acordo com os valores de CIMs apresentados nos 03 períodos de leitura	54
7A. Variação nos valores de Concentrações Inibitórias Mínimas (CIMs), CIM ₅₀ e CIM ₉₀ apresentados pelas 126 cepas clínicas de <i>Fusarium</i> spp. contra fluconazol	55
7B. Perfil de susceptibilidade de 126 cepas clínicas de <i>Fusarium</i> spp. testadas contra fluconazol, de acordo com 03 diferentes períodos de leitura	56
8A. Variação nos valores de Concentrações Inibitórias Mínimas (CIMs), CIM ₅₀ e CIM ₉₀ apresentados pelas 126 cepas clínicas de <i>Fusarium</i> spp. contra itraconazol	56
8B. Perfil de susceptibilidade de 126 cepas clínicas de <i>Fusarium</i> spp.	57

testadas contra itraconazol, de acordo com 03 diferentes períodos de leitura	
9. Perfil de susceptibilidade de 126 cepas clínicas de <i>Fusarium</i> spp. testadas contra 5-fluorocitosina, de acordo com 03 diferentes períodos de leitura	58
10A. Variação nos valores de Concentrações Inibitórias Mínimas (CIMs), CIM ₅₀ e CIM ₉₀ apresentados pelas 126 cepas clínicas de <i>Fusarium</i> spp. contra voriconazol	58
10B. Perfil de susceptibilidade de 126 cepas clínicas de <i>Fusarium</i> spp. testadas contra voriconazol, de acordo com 03 diferentes períodos de leitura	59
10C. Perfil de susceptibilidade de 126 cepas clínicas de <i>Fusarium</i> spp. testadas contra voriconazol, de acordo com os valores de CIMs apresentados nos 03 períodos de leitura	60
11A. Variação dos valores de Concentração Inibitória Mínima (CIM), CIM ₅₀ e CIM ₉₀ apresentados pelas 31 cepas de <i>Fusarium</i> spp. contra anfotericina B	61
11B. Perfil de susceptibilidade de 31 cepas ambientais de <i>Fusarium</i> spp. testadas contra anfotericina B, de acordo com 03 diferentes períodos de leitura	62
11C. Perfil de susceptibilidade de 31 cepas ambientais de <i>Fusarium</i> spp. testadas contra anfotericinaB, de acordo com os valores de CIMs apresentados nos 03 períodos de leitura	63
12A. Variação nos valores de Concentrações Inibitórias Mínimas (CIMs), CIM ₅₀ e CIM ₉₀ apresentados pela 31 cepas ambientais de <i>Fusarium</i> spp. contra fluconazol	63
12B. Perfil de susceptibilidade de 31 cepas ambientais de <i>Fusarium</i> spp. testadas contra fluconazol, de acordo com 03 diferentes períodos de leitura	64
13A. Variação nos valores de concentrações inibitórias mínimas (CIMs), CIM ₅₀ e CIM ₉₀ apresentados pelas 31 cepas ambientais de <i>Fusarium</i> spp. contra itraconazol	64
13B. Perfil de susceptibilidade de 31 cepas ambientais de <i>Fusarium</i>	65

spp. testadas contra itraconazol, de acordo com 03 diferentes períodos de leitura	
14. Perfil de susceptibilidade de 31 cepas ambientais de <i>Fusarium</i> spp. testadas contra 5-fluorocitosina, de acordo com 03 diferentes períodos de leitura	66
15A. Variação nos valores de concentrações inibitórias mínimas (CIMs), CIM ₅₀ e CIM ₉₀ apresentados pelas 31 cepas ambientais de <i>Fusarium</i> spp. contra voriconazol	66
15B. Perfil de susceptibilidade de 31 cepas de <i>Fusarium</i> spp. testadas contra voriconazol, de acordo com 03 diferentes períodos de leitura	67
15C. Perfil de susceptibilidade de 31 cepas ambientais de <i>Fusarium</i> spp. testadas contra voriconazol, de acordo com os valores de CIMs apresentados nos 03 períodos de leitura	68
16. Perfil de susceptibilidade das 143 cepas do complexo <i>Fusarium solani</i> e de 14 cepas de <i>Fusarium</i> spp. frente anfotericina B	69
17. Perfil de susceptibilidade das 143 cepas do complexo <i>Fusarium solani</i> e de 14 cepas de <i>Fusarium</i> spp. frente voriconazol	69

LISTA DE FIGURAS

1. Caracterização de cepas do complexo <i>Fusarium solani</i> . (A) Colônias com textura algodonosa e coloração lilás. (B) Colônias com textura algodonosa e coloração branca. (C) e (D) Monofiálides longas, microconídios, macroconídios e clamidoconídios (40X)	39
2. Caracterização de cepas do complexo <i>Fusarium dimerum</i> . (A) Colônias com textura lisa e micélio aéreo raro, coloração alaranjada. (B) Mesoconídios (100X)	40
3. Caracterização de cepas do complexo <i>Fusarium incarnatum</i> . (A) Colônias com textura algodonosa e coloração amareladas. (B) Macroconídios (100X)	40
4. Caracterização de cepas de <i>Fusarium verticillioides</i> . (A) Colônias com textura algodonosa e coloração levemente lilás. (B) Fiálides e microconídios asseptados (40X)	41
5. Caracterização de cepas do complexo <i>Fusarium oxysporum</i> . (A) Colônias com textura algodonosa e coloração levemente lilás. (B) Fiálides curtas, microconídios e macroconídios (40X)	42

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

ATCC	American Type Culture Collection
°C	Graus Celsius
cm	Centímetros
CIM	Concentração Inibitória Mínima
CIM ₅₀	CIM de antifúngico capaz de inibir o crescimento de 50% dos isolados
CIM ₉₀	CIM de antifúngico capaz de inibir o crescimento de 90% dos isolados
CLSI	Clinical and Laboratory Standards Institute
e cols.	E colaboradores
<i>et al</i>	E outros
EUA	Estados Unidos da América
GPYA	Ágar Glicose Peptona e Extrato de Levedura
g	Gramas
g/L	Gramas por Litro
HAART	Terapia anti-retroviral de alta potência
HIV	Human immunodeficiency virus
h	Hora(s)
µg/mL	Micrograma por mililitro
µL	Microlitro
LEMI	Laboratório Especial de Micologia
mm	Milímetro
MOPS	Ácido morfolinopropanosulfônico
NCCLS	National Committee for Clinical Laboratory Standards
nm	Nanômetro
nº.	Número
pH	Potencial Hidrogeniônico
ppm	Partes por Milhão
®	Marca Registrada
spp.	Espécies
UNIFESP	Universidade Federal de São Paulo
UFC	Unidade Formadora de Colônia

UTI	Unidade de Terapia Intensiva
x	Vezes
\geq	Maior do que ou igual a
\leq	Menor do que ou igual a
%	Por cento
\pm	Mais ou menos

RESUMO

Introdução: *Fusarium* spp. representa um fitopatógeno de grande importância econômica no Brasil e no mundo. Nos seres humanos pode causar diversos tipos de doenças, que vão desde infecções superficiais em pacientes imunocompetentes, até infecções invasivas e disseminadas como as fungemias em pacientes imunocomprometidos. **Objetivos:** (1) Avaliar de forma descritiva as características fenotípicas de 157 cepas de *Fusarium* spp. isoladas de episódios de infecções em humanos e coletas ambientais; (2) Descrever a prevalência de diferentes espécies de *Fusarium* encontradas nestas amostras. (3) Definir o perfil de susceptibilidade dessas cepas utilizando o método de microdiluição em caldo descrito no documento M38-A2 publicado pelo Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI), frente aos antifúngicos Anfotericina B, Fluconazol, Itraconazol, 5-fluorocitosina e Voriconazol. **Material e Métodos:** Foram avaliadas 126 cepas clínicas e 31 cepas ambientais de *Fusarium* spp. que foram coletadas entre os anos de 1996 e 2008. Estas cepas estavam armazenadas no banco de microrganismos do Laboratório Especial de Micologia na Universidade Federal de São Paulo - UNIFESP. Os isolados foram identificados por análise das características macro- e micromorfológicas, seguindo a chave de identificação publicada por De Hoog *et al*, (2000). A avaliação da susceptibilidade *in vitro* dos isolados foi realizada pelo método de microdiluição em caldo, de acordo com as normas de padronização publicadas no documento M38-A2 do CSLI (2008). Foram realizadas leituras de 24, 48 e 72h de incubação. **Resultados:** Analisou-se um total de 157 amostras clínicas e ambientais, incluindo 143 cepas do complexo *Fusarium solani* (91,1%), 07 do complexo *Fusarium dimerum* (4,5%), 04 do complexo *Fusarium incarnatum* (2,5%), 02 de *Fusarium verticillioides* (1,3%) e 01 do complexo *Fusarium oxysporum* (0,6%). A maioria dos isolados (98 a 100%) apresentou baixa ou nula susceptibilidade a fluconazol, itraconazol e 5-fluorocitosina, independente dos períodos de incubação dos ensaios. Para anfotericina B e voriconazol, foi documentado aumento substancial no percentual de cepas inibidas em concentrações de droga superiores a 2,0µg/mL entre as leituras realizadas após 24 *versus* leituras realizadas após 48h/72h de incubação. Em relação aos ensaios de susceptibilidade aos antifúngicos observamos que para voriconazol leituras realizadas após 24h de incubação apresentam maior correlação com as taxas de sucesso terapêutico descritas em séries abertas tratadas com este medicamento. **Conclusões:** Verificamos que há predomínio de cepas do complexo *Fusarium solani* tanto nas amostras de micoses superficiais como nas amostras de micoses invasivas. Finalmente, tendo em vista os dados do perfil de susceptibilidade obtidos *in vitro*, anfotericina B apresenta maior atividade que voriconazol contra as cepas do complexo *Fusarium solani* e o oposto é observado entre as cepas de *Fusarium* não-*solani* avaliadas neste estudo.

ABSTRACT

Introduction: *Fusarium* spp. represents a phytopathogen of great economic importance in Brazil and worldwide. In humans it can cause different forms of diseases, ranging from superficial infections in immunocompetent patients to invasive and disseminated infections such as fungemia in immunocompromised patients. **Objectives:** (1) To identify phenotypic characteristics of 157 strains of *Fusarium* spp. recovered from human infections episodes and environmental samples, (2) To describe the prevalence of different species of *Fusarium* found in these samples. (3) To define the susceptibility pattern of *Fusarium* spp. strains using the broth microdilution method described in the document M38-A2 (2008) published by the Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI) against amphotericin B, fluconazole, itraconazole, 5-fluorocytosine and voriconazole. **Methods:** We analyzed 126 clinical strains and 31 environmental strains of *Fusarium* spp. which were collected from 1996 and 2008. The strains were stored at -80°C in the fungi culture collection of the Laboratório Especial de Micologia of Universidade Federal de São Paulo - UNIFESP. The isolates were identified by macro and micromorphological characteristics analysis based on the identification keys published by De Hoog *et al*, (2000). The evaluation of *in vitro* susceptibility of the isolates was performed by the microdilution method according to standardization CLSI M38-A2 document. Visual readings were performed after 24, 48 and 72 hours of incubation. **Results:** We analyzed a total of 157 clinical and environmental samples, including 143 (91.1%) of *Fusarium solani* complex strains, 07 (4.5%) of *Fusarium dimerum* complex, 04 (2.5%) of *Fusarium incarnatum* complex, 02 (1.3%) of *Fusarium verticillioides* and 01 (0.6%) of the *Fusarium oxysporum* complex. Most isolates (98 to 100%) showed low or zero susceptibility to fluconazole, itraconazole and 5-fluorocytosine, regardless of the periods of incubation of the tests. For amphotericin B and voriconazole, it was observed a substantial increase in the percentage of strains inhibited at drugs concentrations higher than 2.0µg/mL between the readings taken after 24 *versus* readings taken after 48h/72h of incubation. In the antifungal susceptibility tests with amphotericin B and voriconazole we observed that readings taken after 24 hours of incubation generate results more similar to those described in open series of therapeutic success rates treated with this medicine. **Conclusions:** We verified that there is a predominance of *Fusarium solani* complex strains in both samples of superficial and invasive mycoses. Finally, the data obtained by *in vitro* susceptibility showed that amphotericin B is more effective than voriconazole against the strains of the *Fusarium solani* complex and the opposite is observed for the strains of *Fusarium non-solani* evaluated in this study.

1. INTRODUÇÃO

1.1 Biologia e sistemática de *Fusarium* spp.

O gênero *Fusarium* é amplamente distribuído na natureza e compreende uma grande quantidade de espécies que comumente são fitopatógenas e saprófitas do solo.

A maioria das espécies deste gênero habita a parte subterrânea e raízes das plantas, fragmentos vegetais e compostos orgânicos depositados até 100cm de profundidade do solo, outros grupos habitam as regiões aéreo-superiores de plantas causando cancro em brotos, lesão em galhos e obstrução em inflorescências. Estes fungos dispersam seus propágulos por ação da água de chuvas, ventos e insetos (Burguess, 1981).

Quando são capazes de causar doença no ser humano originam infecções que com base em características morfológicas e de pigmentação de colônia são designadas pelo termo hialohifomicoses. Sua posição sistemática é definida como pertencente ao Reino *Eumycota*, Divisão *Ascomycota*, Classe *Euascomycetes*, Ordem *Hypocreales*, Família *Hypocreaceae*, Gênero *Fusarium* (De Hoog *et al*, 2000).

A caracterização de um isolado clínico ou ambiental de *Fusarium* pode se tornar complicada, visto que outros gêneros fúngicos, como *Cylindrocarpon* e *Acremonium*, apresentam estruturas morfológicas semelhantes, o que torna essencial uma investigação morfológica minuciosa e detalhada. O

elevado número de espécies e, mais recentemente, a revolução na taxonomia do gênero são outros fatores que interferem na correta identificação das espécies de *Fusarium* (Guarro, Gene, 1995; O'Donnell, 2000).

Devido às dificuldades citadas, vários estudos publicados na literatura mundial se referem somente ao gênero e não mencionam a espécie do agente, o que dificulta a caracterização da epidemiologia, freqüência e prevalência deste fungo como patógeno oportunista (Guarro, Gene, 1992).

As manifestações clínicas apresentadas por pacientes com infecções causadas pelo gênero *Fusarium* também não são exclusivas e o exame microscópico direto, bem como a histopatologia, são similares a outras infecções causadas por outros gêneros fúngicos. Portanto, para estabelecer um diagnóstico definitivo é imprescindível obter a cultura do agente em laboratório e realizar a caracterização fenotípica, seguindo rigorosamente os critérios já pré-estabelecidos em chaves de identificação (Booth, 1975).

Várias chaves de classificação de espécies de *Fusarium* foram publicadas, porém, essas chaves tinham como principal objetivo identificar espécies consideradas fitopatógenas e continham termos que não eram aplicados à micologia médica (Wollenweber, Reinking, 1935; Snyder, Hansen, 1940; Booth, 1971). Somente em 1992, Guarro, Gené publicaram uma chave de classificação que permitiu a identificação de várias espécies patogênicas para o ser humano e outros animais.

Os cultivos de *Fusarium* spp. são caracterizados pelo crescimento rápido da colônia, com micélio aveludado a levemente cotonoso, opaco ou levemente brilhante. Inicialmente as colônias são brancas e após 7 a 10 dias de incubação a 25°C os fungos desse gênero podem apresentar características de pigmentação do micélio de diversas cores, tais como, rosa, púrpura, cinza, bege, marrom, amarelada e alaranjada, sendo estas características fenotípicas importantes para a identificação das espécies (Guarro, Gene, 1992).

Os meios de cultivo utilizados nos laboratórios de rotina para a determinação das espécies são aqueles comumente utilizados em micologia: ágar aveia (OAT) e ágar batata (PDA) entre outros como, por exemplo, o ágar extrato de malte e o ágar folha de cravo (CLA) que é um meio extremamente pobre em nutrientes e estimula a conidiogênese (Fischer *et al*, 1982; Lacaz *et al*, 1998).

A principal característica fenotípica que determina o gênero *Fusarium* é a produção de conídios em forma de foice, com extremidade afilada, constituindo fusos hialinos, levemente curvos ou inclinados. Algumas espécies apresentam macroconídios com uma estrutura pronunciada designada como célula-pé. Eles emergem de células conidiogênicas, denominadas de fiáides, e podem apresentar-se isoladamente ou agrupados em massas. Os macroconídios, geralmente, estão unidos por material mucilaginoso e podem ter de 1 até 10 septos transversais dependendo da espécie (Guarro, Gene, 1995).

Ainda com relação à produção de conídios, algumas espécies apresentam microconídios unicelulares com forma elipsóide, alantóide, piriforme, ovóides ou subglobosos. Estes podem apresentar um septo e são produzidos sobre mono ou polifiálides e organizados em cabeças mucóides ou cadeias, apresentando a base truncada (Nelson *et al*, 1994; Guarro, Gene, 1995). Algumas espécies, ainda, em condições adversas, apresentam estruturas de resistência denominadas clamidoconídios (Samson, Von Reenen-Hoekstra, 1995).

Em raros casos, a identificação do gênero também pode ser dificultada quando os macroconídios ou microconídios não são produzidos em cultivo. Gams, Nirenberg (1989) estabeleceram alguns critérios de identificação fenotípica baseados numa combinação de características, o que permite o reconhecimento do gênero *Fusarium* exclusivamente pela produção de conídios, tomando-se em conta a cor das colônias e a morfologia dos conidióforos e microconídios. Vários testes baseados em características fenotípicas têm sido utilizados para a classificação taxonômica, análise da patogenicidade e principalmente estudos epidemiológicos (Guarro, Gené, 1995).

Os métodos de identificação fenotípica, muitas vezes não permitem a correta determinação das espécies deste gênero, constituindo-se em métodos laboriosos e demorados, devendo ser executado por profissionais bem treinados e, ainda assim, podendo gerar resultados conflitantes.

Pelas limitações em desenvolver estudos morfológicos do gênero e, principalmente, pela necessidade em determinar a correta classificação das espécies, os métodos moleculares baseados em reação de polimerase em cadeia (PCR) vêm sendo cada vez mais utilizados no auxílio do esclarecimento da taxonomia, evitando classificações artificiais e sem consistência com a filogenética do gênero (Manicom *et al*, 1987; Thomas *et al*, 1994; O'Donnell, 2000).

Dentre as técnicas moleculares mais utilizadas destacam-se: RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA), RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism), AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism), seqüenciamento de rDNA e da região dos genes espaçadores transcritos internos (internal transcriber spacer – ITS1 e ITS2), genes “housekeeping” codificadores de proteínas, como β -tubulina e fator de alongação- α entre outras (Sharples, Lloyd, 1990; Swaminathan, Matar, 1994; Voss *et al*, 1995; Power, 1996; Taylor *et al*, 1999; Soll, 2000; O'Donnell, 2000).

A partir da utilização dessas técnicas moleculares verificou-se a existência de um elevado grau de heterogeneidade entre as espécies do gênero *Fusarium* definidas com base morfológica. Pesquisadores sugerem a formação de complexos de espécies filogeneticamente distintas, transformando assim, toda a taxonomia do gênero. (Guadet, 1989; O'Donnell, Gray, 1995; O'Donnell, 2000; O'Donnell *et al*, 2004; Zhang *et al*, 2006; O'Donnell *et al*, 2008).

Fusarium solani, espécie considerada principal causadora de fusariose em humanos, hoje é considerada um complexo que compreende 44 espécies. Sob o ponto de vista filogenético, essas espécies estão aglutinadas em 03 ramos principais, onde exemplares isolados de solo e vegetais estão estritamente agrupados nos ramos 1 e 2 e exemplares isolados de episódios de infecções em humanos estão agrupados principalmente no ramo 3 (Zhang *et al*, 2006; O'Donnell *et al*, 2008).

Da mesma forma, outras espécies de importância na medicina humana e na fitopatologia vêm sendo caracterizadas como complexos de espécie, a exemplo do complexo *Fusarium oxysporum*, complexo *Giberella fujikuroi*, entre outros (Baayen *et al*, 2000; O'Donnell *et al*, 2004; Leslie *et al*, 2007).

Apesar de todos os avanços obtidos através da utilização da taxonomia molecular como ferramenta na identificação de espécies, ainda hoje, a grande maioria dos laboratórios de rotina realizam o diagnóstico utilizando as ferramentas fenotípicas usuais.

1.2 Relevância clínica de infecções causadas pelo gênero *Fusarium*

O gênero *Fusarium* era considerado até recentemente como agente de micotoxicoses e de infecções superficiais, porém, desde a década de 70, têm sido relatados com maior frequência casos de infecções disseminadas por este

agente, especialmente em pacientes imunodeprimidos (Guarro, Gene, 1995; Paphitou *et al*, 2002; Lewis *et al*, 2005).

Os complexos de espécies que provocam doença em seres humanos e que se apresentam com maior frequência são: *Fusarium solani*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium verticillioides*, *Fusarium dimerum*, *Fusarium moniliforme*, *Fusarium equiseti*, *Fusarium semitectum*, *Fusarium anthophilium*, *Fusarium graminearum* etc. (Torres *et al*, 2003; Dignani, Anaissie, 2004).

1.2.1 Ceratites

A maioria dos casos de ceratite fúngica está associada a trauma da córnea por vegetais do solo, corpos estranhos ou pelo uso de lentes de contato (Thomas, 2003; Saha, Das, 2006). O trauma da córnea por material vegetal pode introduzir o fungo diretamente no epitélio ou lesar o tecido tornando-o propício para colonização e infecção por patógenos ambientais (Klotz *et al*, 2000).

Evidências sugerem que o fungo não invade a córnea facilmente, requerendo alguns fatores predisponentes do hospedeiro como alterações no mecanismo de defesa ocular, ulceração do epitélio ou estroma devido a antecedentes de herpes simplex ou associado a lesões da córnea por uso de lentes de contato, secreção de lágrimas diminuída, baixa concentração de IgA nas lágrimas, defeitos no posicionamento e mecanismo de oclusão das pálpebras. Outros fatores de risco predisponentes a ceratite incluem, *Diabetes mellitus* e

condições imunossupressoras como uso de corticóides e terapia antimicrobiana (Chander *et al*, 1993; Thomas, 2003; Keay *et al*, 2006).

As ceratites micóticas apresentam evolução clínica lenta e a lesão pode ser única ou associada a lesões satélites, com bordas irregulares e apiculadas (com projeções semelhantes a espículas) e/ou abscessos no estroma de intensidade variável. Nos casos mais graves, observa-se um infiltrado de células no estroma da córnea com reação inflamatória intra-ocular representada pela presença de células na câmara anterior e vítrea. Uma grande quantidade dos polimorfonucleares pode levar a sua precipitação na câmara anterior e formação da área branca, denominada hipópio (Hofling-Lima, 2003).

Uma característica clínica apresentada exclusivamente por espécies do gênero *Fusarium* em episódios de ceratites é a invasão da câmara anterior formando uma massa fúngica na lente e na área da pupila, interferindo na drenagem de humor aquoso e aumentando a pressão intra-ocular (Kuriakose, Thomas, 1991; Thomas, 2003).

Os pacientes que sofrem o quadro de ceratite, geralmente, apresentam lacrimejamento, dor, desconforto, irritação, acuidade visual, fotofobia, olhos vermelhos, sensação de corpo estranho, sendo que o exame do olho revela úlcera de córnea elevada com margens irregulares e brancas, além de infiltrado profundo no estroma da córnea, sob a úlcera (Thomas, 1994).

As ceratites podem ter conseqüências devastadoras se não são diagnosticadas precocemente e tratadas efetivamente. A ceratite causada por *Fusarium* é clinicamente similar aquelas causadas por outros tipos de fungos, porém apresenta pior prognóstico, resultando em rápidas alterações da córnea marcada pela perda da visão, chegando até a necessidade de realização de transplante (Thomas, 2003; Saha, Das, 2006; Chang *et al*, 2006; Dyavaiah *et al*, 2007; Xie *et al*, 2008).

A principal micose superficial causada pelo gênero *Fusarium* é a ceratomicose ou infecção da córnea. Vários estudos relatam esse agente como sendo um dos principais causadores de ceratites, dependendo da região climática onde elas ocorrem (Thomas, 2003).

No Brasil, em um estudo retrospectivo conduzido por Godoy *et al* (2004A) foram analisados um total de 152 fungos causadores de ceratites, dos quais o gênero *Fusarium* foi o principal responsável, causando 68 (44,7%) episódios, seguido por *Candida albicans* em 25 (16,4%) episódios. Outros fungos como *Paecilomyces* spp., *Penicilium* spp., *Aspergillus* spp., *Exophiala* spp., *Scedosporium* spp., *Fonsecaea* spp., *Acremonium* spp., *Candida tropicalis*, entre outros, foram responsáveis por (38,9%) dentro desta casuística.

Ainda no Brasil, em investigação realizada por Salera *et al* (2002) na cidade de Belo Horizonte, entre janeiro de 1994 a dezembro de 1999, foram

avaliados 20 pacientes com ceratite micótica. Os gêneros isolados foram *Fusarium* spp. (60%), *Aspergillus* spp. (30%), *Acremonium* spp. (5%) e *Dreschlera* spp. (5%).

Vemuganti *et al* (2002) realizaram estudo no LV Prasad Eye Institute, na cidade de Hyderabad, na Índia, onde foram analisadas 131 amostras de fungos isoladas de pacientes com úlcera de córnea, sendo os principais agentes isolados *Aspergillus* spp. com 56 (42,74%) casos e *Fusarium* spp. com 43 (32,82%) casos, outros fungos filamentosos e leveduriformes foram responsáveis por 24% dos episódios.

Em um estudo conduzido por Saha, Das (2006) em Delhi, na Índia, foram analisadas 74 amostras de fungos isoladas de episódios de ceratite micótica entre janeiro de 2000 a dezembro de 2004. Entre as amostras identificadas, espécies do gênero *Aspergillus* foram as mais freqüentemente isoladas, responsáveis por 43 (55,84%) casos, seguidos de *Fusarium* spp. com 6 (7,79%) episódios. Fungos demáceos e leveduriformes foram responsáveis por 36,37% dos casos.

Qiu *et al* (2005) conduziram um estudo, na China, entre setembro de 2002 a julho de 2004, avaliando a eficácia de antifúngicos frente a 61 isolados de ceratites micóticas. As principais espécies envolvidas nessa casuística foram 33 (54,1%) espécies de *Fusarium* spp., 09 (14,8%) de *Aspergillus* spp., 03 (4,9%) de *Alternaria* spp. Outros fungos filamentosos como *Curvularia* spp., *Trichophyton*

spp., *Acremonium* spp. e *Scedosporium* spp. foram responsáveis por 26,2% dos casos envolvidos neste estudo.

Ainda na China, Xuguang e colaboradores (2007) realizaram estudo no Beijing Institute of Ophthalmology entre os anos de 2001 e 2004 onde avaliaram a positividade de 681 amostras isoladas de episódios de ceratites. *Fusarium* spp. foi o agente responsável por 57,86% dos episódios, seguido por *Aspergillus* spp. com 17,03%. Outros agentes fúngicos como *Alternaria* spp., *Penicillium* spp. e *Acremonium* spp. entre outros foram responsáveis por cerca de 25% dos casos.

Na Europa, em estudo conduzido por Rondeau *et al* (2002) na cidade de Paris, França, foram observados 19 casos de ceratites fúngicas atendidas no Centre Hospitalier National d'Ophtalmologie XV-XX, onde as espécies mais isoladas foram *Candida* spp. (58%), seguida por *Fusarium* spp. (21%) e *Aspergillus* spp. (4,2%).

Em estudo realizado por Tanure *et al* (2000) na cidade de Filadélfia, Estados Unidos, foram investigados 24 casos de ceratomicoses atendidos no Wills Eye Hospital entre janeiro de 1982 e março de 1999. As espécies mais isoladas foram *Candida albicans* (45,8%), seguida por *Fusarium* spp. (25%), *Scedosporium apiospermum* (8,3%), *Alternaria* spp. (4,2%), *Aspergillus* spp. (4,2%) e *Penicillium* spp. (4,2%). Outros fungos representaram 8,3% nesta casuística.

É importante mencionar o estudo de Chang *et al* (2006) que relata um grande surto de ceratite causada por *Fusarium* em usuários de lentes de contato dos Estados Unidos, de Cingapura e de Hong Kong, na China. Este surto foi associado ao uso de uma solução para limpeza de lentes de contato da marca Baush & Lomb e chamou a atenção da comunidade científica em todo o mundo. Entre junho de 2005 e julho de 2006 foram diagnosticados 164 casos confirmados de ceratites micóticas causadas por *Fusarium* e relacionadas ao uso da solução de limpeza. Os principais complexos de espécies isolados nesse importante surto foram *solani* e *oxysporum*.

A variabilidade dos agentes etiológicos encontrados em casos de ceratomicoses publicados em diferentes partes do globo são, provavelmente, reflexo de aspectos de ordem social, como a dificuldade de obtenção de instrumental de proteção apropriado para o trabalho na agricultura, assim como de questões geoclimáticas que interferem na prevalência ambiental de diferentes gêneros de fungos filamentosos (Thomas *et al*, 2003; Godoy *et al*, 2004A; Saha, Das, 2006; Chang *et al*, 2006).

1.2.2 Onicomicoses

Onicomicose ou infecção das unhas é provocada por patógenos primários que invadem a lâmina ungueal sadia e, eventualmente, por outros agentes que a atingem secundariamente podendo chegar às unhas por diversos

mecanismos inclusive auto-inoculação. A onicomicose é considerada uma das principais onicopatias do homem (Badillet *et al*, 1998; Haneke *et al*, 1991).

As micoses das unhas podem ser causadas por três tipos de fungos: dermatófitos, leveduras e fungos filamentosos não dermatófitos. Porém existem diferenças geográficas na epidemiologia e etiologia das onicomicoses, especialmente na frequência em que cada grupo se apresenta como responsável pela infecção (Mercantini *et al*, 1996; Arrese *et al*, 2005).

Alguns fatores de risco favorecem o surgimento de onicomicoses, entre eles estão certas enfermidades crônicas como diabetes, infecções cutâneas como psoríase, fatores genéticos, infecções micóticas de pele e imunodeficiências (Arrese *et al*, 2005).

Casos de onicomicoses causados por espécies do gênero *Fusarium* quase sempre são diagnosticadas nas unhas dos pés, afetadas por traumas, distrofias ou quando já há um quadro de infecção causado por dermatófitos. Alguns fatores favorecem a onicomicose causada por *Fusarium* como, por exemplo, o contato direto com solo infectado por este microrganismo, o hábito de andar com os pés descalços e uso de sandálias (Calado *et al*, 2006).

Infecções das unhas causadas por *Fusarium* spp. requerem uma atenção redobrada, devido ao potencial invasivo deste fungo o qual pode-se manifestar quando o hospedeiro apresentar uma imunodepressão. Há relatos de

casos onde a fungemia por *Fusarium* em pacientes com câncer teve a sua origem a partir de celulite periungueal, relacionada à *Fusarium* (Girmenia *et al*, 1992; Nucci, Anaissie, 2002; Guilhermetti *et al*, 2007).

1.2.3 Infecções cutâneas e sistêmicas

O gênero *Fusarium* também está presente em casos de micoses cutâneas sendo identificado em duas situações diferentes como o agente causador da doença: como o sítio primário de infecção, ou então como o sítio de metástase decorrente de fungemia. As lesões podem apresentar-se como lesões localizadas ou disseminadas, formando nódulos, eczema grangrenoso, celulites ou úlceras em pacientes imunocompetentes ou imunocomprometidos (Nucci, Anaissie, 2002; Nucci, Anaissie, 2007).

Na literatura, foram descritos também vários casos de micetoma associado à *Fusarium solani* e *Fusarium oxysporum* (De Hoog *et al*, 1993; Nakar *et al*, 2001; Tomimori-Yamashita *et al*, 2002; Yera *et al*, 2003).

Infecções invasivas têm sido progressivamente descritas em pacientes imunocomprometidos, podendo apresentar-se como quadros de doença invasiva localizada ou disseminada. Casos de infecção localizada por *Fusarium* spp. incluem osteomielite (Bader *et al*, 2003; Moschovi *et al*, 2004; Sierra-Hoffman *et al*, 2005), artrite por inoculação do fungo por trauma (Jackle *et al*, 1983; Kumashi *et al*, 2006), assim como quadro de peritonites em pacientes em

programa de diálise contínua (Flynn *et al*, 1996; Giacchino *et al*, 1997; Bibashi *et al*, 2002).

As infecções invasivas por *Fusarium* spp. constituem a segunda causa de infecção invasiva por fungos filamentosos em pacientes com câncer e/ou submetidos a transplante de medula óssea (Nucci, Anaissie, 2007). A maioria dos pacientes com fusariose disseminada apresenta envolvimento do trato respiratório e fungemia com lesões múltiplas de pele. O prognóstico da infecção disseminada por *Fusarium* spp. é bastante desfavorável, sendo a mortalidade muita elevada, da ordem de 70 a 80% apesar da terapêutica antifúngica (Musa *et al*, 2000; Nucci *et al*, 2003; Nucci, Anaissie, 2007).

As manifestações clínicas da infecção disseminada por *Fusarium* são parecidas às observadas na infecção por *Aspergillus* (Vartivariam *et al*, 1993). Os órgãos e tecidos mais afetados são: pele, sangue, pulmão. Eventualmente pode afetar outros órgãos e estruturas como seios nasais, rins, coração, olho, cérebro e articulações (Guarro, Gené, 1995; Cocuroccia *et al*, 2003; Dignani, Anaissie, 2004; Sidrim, Rocha, 2004).

A via de entrada de *Fusarium* spp. é incerta. Alguns autores sugerem que o acesso do fungo é por via respiratória e posteriormente dissemina-se por via hematogênica afetando outros órgãos (Neumeister *et al*, 1992). Outros autores propõem que o acesso é por via do trato gastrintestinal por ingestão de alimentos contaminados pelo fungo (Anaissie, Rinaldi, 1990; Martino *et al*, 1994; Jensen *et*

al, 2004). Richardson *et al* (1988) descreveram quatro casos de infecção disseminada por *Fusarium* cuja via de entrada foi a colonização do cateter. Outros autores como Girmenia *et al* (1992) já descreveram um caso de onicomicose como a possível via de entrada para uma infecção disseminada num paciente imunocomprometido.

Nucci *et al* (2004) caracterizaram a história natural da infecção por *Fusarium* spp. em pacientes submetidos a transplante de medula óssea. Segundo os autores, a incidência de fusariose entre receptores alogênicos foi entre 4,2 e 5,0 casos por 1000 considerando o antígeno leucocitário humano (HLA) como relacionado e de 20,19 casos por 100 em pacientes com HLA não relacionado. O prazo médio entre transplante e diagnóstico de fusariose foi de 48 dias. Entre os receptores do transplante foi observada uma distribuição trimodal; um primeiro pico antes do transplante, um segundo pico com uma mediana de 62 dias pós-transplante e um terceiro pico com 1 ano pós-transplante. A sobrevida dos pacientes foi de 13% (mediana de 13 dias).

1.3 Reservatórios de infecções por *Fusarium* spp. no ambiente hospitalar

Embora a maioria das infecções hospitalares tenham como agente causal as bactérias, o número de infecções por fungos anemófilos em pacientes hospitalizados tem aumentado nos últimos anos. Os avanços na medicina nas duas últimas décadas levaram ao surgimento de drogas eficazes na indução de

imunossupressão em pacientes transplantados. Esta imunossupressão está associada a um aumento no número de infecções fúngicas. Vários trabalhos têm sido publicados relatando casos de infecções por fungos oportunistas em pacientes transplantados, portadores de leucemia, linfoma e pacientes em quimioterapia. Da mesma forma, pacientes internados em unidades de queimados, unidades de terapia intensiva, bem como aqueles em pós-operatório de grandes cirurgias também estão susceptíveis a desenvolver infecções por fungos oportunistas (Gerson *et al*, 1984; Rotstein *et al*, 1985; Mousa *et al*, 1999 Tavora *et al*, 2003).

Os fungos filamentosos podem entrar nos recintos hospitalares pelo ar externo utilizando os sistemas de ventilação, sistemas de ar condicionado ou podem proliferar no interior dos recintos em vasos de flores, plantas e arbustos colocados em áreas inapropriadas, materiais inanimados como madeira, sintéticos e carpetes podem atuar como reservatório de fungos filamentosos e colocar em risco pacientes imunodeprimidos (Denning, 1997A).

A prevenção das infecções nosocomiais nas unidades de transplante de medula óssea depende principalmente de sistemas que filtrem o ar externo, com filtros absolutos (HEPA), e/ou sistemas de fluxo laminar (SFL). Estes sistemas reduzem o número de propágulos fúngicos suspensos no ar (Anaissie *et al*, 2003; Warris *et al*, 2003). Outras medidas de prevenção são as relacionadas ao paciente, como o aumento da resposta imune natural utilizando fatores de

crescimento recombinantes e quimioprofilaxia utilizando drogas antifúngicas (Nemunaitis *et al*, 1993; Behre *et al*, 1995; Oren *et al*, 2001).

Recentemente investigações realizadas por diversos pesquisadores demonstraram que os sistemas de distribuição de água e reservatórios dos hospitais podem ser colonizados por fungos patogênicos como *Aspergillus* spp. e *Fusarium* spp e concluíram também que os sistemas de água podem ser considerados como a fonte de contaminação do ar por fungos filamentosos, ampliando a possibilidade de ocorrência de surtos (Arvanitodou *et al*, 1999; Anaissie *et al*, 2003; Warris *et al*, 2003).

Os reservatórios dos fungos filamentosos no ambiente hospitalar não são completamente conhecidos. A identificação de tais reservatórios é fundamental para implantar medidas de controle de infecção hospitalar mais efetivas (Anaissie *et al*, 2001).

Anaissie *et al* (2001), realizaram uma investigação durante um período de 10 anos no sistema de distribuição de água de um hospital terciário da cidade de Houston (USA). No estudo, os fungos isolados foram identificados como *Fusarium solani* e *Fusarium oxysporum*. Este estudo demonstrou que as espécies do gênero *Fusarium* podem colonizar sistemas de distribuição de água de hospitais em concentrações de cloro livre residual de 0,3 ppm e confirmou utilizando técnicas moleculares que as espécies de *Fusarium* podem permanecer no sistema durante anos.

Estes dados sugerem que fungos filamentosos são freqüentemente isolados de sistemas de distribuição de água de hospitais, ainda na presença de concentrações elevadas de cloro livre residual, podendo constituir fonte de infecção para hospedeiros imunocomprometidos.

1.4 Teste de susceptibilidade a antifúngicos pelo método de microdiluição em caldo

Com o aumento na incidência das infecções fúngicas sistêmicas e um crescente surgimento de novas opções de drogas antifúngicas, houve também um aumento no interesse da comunidade científica em estabelecer e aperfeiçoar métodos laboratoriais para orientar a seleção de terapia antifúngica, principalmente com ensaios envolvendo leveduras (Rex *et al*, 2001; Pfaller *et al*, 2002; Bedout *et al*, 2003).

No final da década de 80, como parte da estratégia para obter um método de alta reprodutibilidade na terapia antifúngica, o National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS), atualmente denominado Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) designou um Subcomitê para Testes de Susceptibilidade a agentes antifúngicos. Como resultado, o CLSI publicou a Norma M27 "Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeast", estabelecendo parâmetros para a realização de ensaios com leveduras (Pfaller *et al*, 1988; Pfaller *et al*, 1990; Espinel-Ingroff *et al*, 1992; Fromtling *et al*,

1993; Pfaller, Rinaldi, 1993; Rex *et al*, 1993; Rex *et al*, 2001; CLSI, anteriormente denominado NCCLS, 2002A).

Os parâmetros para a realização de testes de susceptibilidade de leveduras a antifúngicos foram adaptados aos ensaios com fungos filamentosos. Em estudos multicêntricos conduzidos pelo grupo da pesquisadora Espinel-Ingroff demonstrou-se haver boa performance e reprodutibilidade quando utilizados meios de cultivo, tamanho de inóculo e temperatura apropriados (Espinell-Ingroff *et al*, 1995; Espinell-Ingroff *et al*, 1997).

A partir destes estudos o CLSI estabeleceu a utilização do meio de cultura RPMI-1640 com L-glutamina, sem bicarbonato e tamponado com ácido morfolinopropanosulfônico (MOPS) com pH 7,0 ±1,0; o tamanho do inóculo de 0,4 x 10⁴ a 5 x 10⁴ UFC/mL utilizando espectrofotometria, a temperatura de incubação de 35°C, sem agitação, com períodos variando de 21 a 26 horas para placas contendo espécies de *Rhizopus*, 46 a 50 horas para a grande maioria de fungos filamentosos oportunistas incluindo, *Fusarium spp.*, *Aspergillus spp.* e *Sporothrix schenkkii*, e 70 a 74 horas para placas contendo *Pseudallescheria boydii* (CLSI [NCCLS], 1998; CLSI [NCCLS], 2002B; CSLI, 2008).

Em 1998, o CLSI lançou a primeira proposta para testes de susceptibilidade dos fungos filamentosos, a norma M38-P. Em 2002 a norma foi aprovada e publicada com algumas reformulações (M38-A) e mais recentemente, em 2008, foi lançada uma atualização, o documento M38-A2, que serve como

norma atualizada para ensaios com os seguintes gêneros: *Aspergillus*, *Fusarium*, *Rhizopus*, *Pseudallescheria* (*Scedosporium*), *Sporothrix* e outros gêneros de fungos filamentosos oportunistas, assim como os três gêneros de dermatófitos. Vale mencionar que segundo consta esta norma a leitura dos cultivos deve ser realizada com base na inibição total de crescimento visível, seja para anfotericina B ou triazólicos (CLSI [NCCLS], 1998; CLSI [NCCLS], 2002; CLSI, 2008).

O maior desafio e principal objetivo dos testes de susceptibilidade a antifúngicos é apresentar uma boa correlação clínico-laboratorial. Esta determinação com a metodologia do CLSI não é perfeita, particularmente em pacientes portadores de micoses invasivas. Infelizmente, múltiplos fatores interferem nesta correlação tais como o sítio da infecção, o grau de imunidade do hospedeiro, farmacocinética ou biodisponibilidade da droga e envolvimento de materiais prostéticos ou cateteres (Rex, Pfaller, 2002; Loeffler, Stevens, 2003; Hospenthal *et al*, 2004).

Até o presente momento, não foram estabelecidos os “breakpoints” ou os “pontos de corte” para a interpretação dos resultados nos testes com fungos filamentosos, sendo que a aplicabilidade clínica dos testes de susceptibilidade com esse grupo de fungos patógenos continua incerta (CSLI, 2008).

2. OBJETIVOS

2. OBJETIVOS

1. Avaliar de forma descritiva as características fenotípicas de 157 cepas de *Fusarium* spp. isoladas de episódios de ceratites, micoses superficiais, subcutâneas e sistêmicas e coletas ambientais (ar, água e superfícies de ambientes hospitalares).
 2. Descrever a prevalência de diferentes espécies de *Fusarium* encontradas nas amostras clínicas e ambientais.
 3. Definir o perfil de susceptibilidade dessas cepas utilizando o método de microdiluição em caldo descrito no documento M38-A2 publicado pelo Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI), frente aos antifúngicos Anfotericina B, Fluconazol, Itraconazol, 5-fluorocitosina e Voriconazol.
-

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Seleção das Amostras

Foram incluídas nesse estudo 157 cepas identificadas originalmente como pertencentes ao gênero *Fusarium*. Destas cepas, 126 (80,2%) isolados são provenientes de episódios de micoses superficiais, subcutâneas e sistêmicas e 31 (19,8%) cepas são provenientes de coletas ambientais (ar, água e superfícies de ambiente hospitalar).

Todas as cepas foram coletadas entre os anos de 1996 e 2008 e foram mantidas no banco de microrganismos do Laboratório Especial de Micologia (LEMI) da Universidade Federal de São Paulo – UNIFESP/EPM a uma temperatura de -70°C em meio GPYA (Ágar Dextrose Peptona Extrato de Levedura) com glicerol a 60%, por diferentes períodos de tempo.

Com relação às amostras ambientais, é importante mencionar que tais amostras foram obtidas a partir de investigações de rotina para aferir a qualidade do ar e água em ambientes hospitalares de risco, tendo sido coletadas seguindo normas e metodologias de monitoramento ambiental utilizando equipamentos apropriados para coletas desta natureza.

3.2 Verificação da viabilidade e pureza das amostras armazenadas no LEMI

Previamente aos experimentos, as amostras foram submetidas à verificação de sua pureza e viabilidade sendo cultivadas a uma temperatura de 25°C em meio Ágar Sabouraud Dextrose contendo cloranfenicol, por 7 a 15 dias, com pelo menos um repique prévio, a fim de que os testes fossem realizados com culturas puras e recentes.

3.3 Identificação fenotípica das amostras

3.3.1 Análise macromorfológica

Cada cepa foi semeada, com o auxílio de uma alça de platina em L em ponto central de uma placa de petri (90 X 15mm) contendo Ágar Batata Dextrose com cloranfenicol (PDA). As placas foram incubadas a uma temperatura de 25°C durante 7 a 15 dias.

Após o período de incubação das placas, foram analisadas de forma descritiva as características macromorfológicas dos cultivos, levando em consideração os seguintes aspectos: textura, cor da colônia, presença de pigmentação, presença de esporodóquios e diâmetro da colônia.

3.3.2 Análise micromorfológica

Cada cepa foi semeada, com o auxílio de uma alça de platina em L ou agulha de níquel cromo, nas extremidades de blocos (1,0 X 1,0cm) de PDA em placas de petri (90 X 15mm). Cada bloco foi coberto com uma lamínula esterilizada e em seguida as placas foram incubadas a 25°C durante 7 a 15 dias. Decorrido o período de incubação foi montada a lâmina de cada cultivo pingando-se uma gota de lactofenol azul de algodão na lâmina e em seguida cobrindo-a com a lamínula incubada.

Cada lâmina foi observada em microscópio de luz com lentes objetivas de 10X, 40X e 100X, onde foram analisadas as características das estruturas do micélio vegetativo e reprodutivo como: hifas, presença e disposição de conídios (microconídios, mesoconídios, macroconídios e clamidoconídios) e conidióforos (fiálides).

Foi utilizada a chave de classificação sugerida por De Hoog *et al* (2000) para identificar todos os isolados – ANEXO I.

3.4 Avaliação do Perfil de Susceptibilidade aos Antifúngicos.

A avaliação da susceptibilidade aos antifúngicos foi realizada utilizando o método de microdiluição em caldo, de acordo com as normas de padronização publicadas no documento M38-A2 do Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2008).

3.4.1 Preparo do meio de cultura

Foi utilizado o meio de cultivo sintético RPMI-1640 (Roswell Park Memorial Institute; Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, EUA) com L-glutamina sem bicarbonato de sódio e tamponado com MOPS (ácido 2-[N-morfolino]-propanossulfônico; Sigma) 0,165M, sendo o pH ajustado para 7,0. Este meio de cultivo, adquirido comercialmente sob a forma de pó, foi preparado com água mili-q e esterilizado por filtração a vácuo, utilizando-se filtro biológico de 0,22µm (Millipore) e acondicionado em frascos com capacidade para 500mL sendo conservado em refrigerador a 4°C até o momento de uso.

3.4.2 Preparo das drogas antifúngicas

As drogas antifúngicas utilizadas nos experimentos foram Anfotericina B (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, EUA), Fluconazol (Pfizer

Incorporated, New York, NY, EUA), Itraconazol (Janssen Pharmaceutica, Titusville, NJ, EUA), Voriconazol (Pfizer incorporated, New York, NY, EUA) e 5-fluorocitosina (Pfizer Incorporated, New York, NY, EUA).

O Pó puro para análise de diferentes antifúngicos foi obtido diretamente com o fabricante. Soluções-estoque de cada droga antifúngica foram preparadas a partir do sal puro dissolvido em dimetilsulfóxido (DMSO - Sigma Chemical Co. St. Louis, MO, EUA) em concentrações dez vezes maiores que a maior concentração a ser testada. Estas soluções-estoque foram mantidas a -20°C até sua utilização.

3.4.3 Preparo das placas para os ensaios de microdiluição em caldo

Previamente à realização dos ensaios, os antifúngicos testados foram diluídos em dez diferentes concentrações seriadas a saber: anfotericina B, itraconazol e voriconazol – de 0,0313 a 16,0µg/mL; fluconazol e 5-fluorocitosina – de 0,125 a 64,0µg/mL.

A partir da solução-estoque de cada droga, foram preparadas soluções contendo dez vezes a concentração final desejada para os antifúngicos testados.

As dez diferentes concentrações dos antifúngicos foram diluídas a 1:5 em RPMI-1640 e alíquotas de 100µL destas concentrações foram dispensadas seqüencialmente em placas plásticas de microtitulação de fundo chato contendo 96 poços (Corning Inc. Costar) com auxílio de pipeta multicanal.

A distribuição de drogas nas placas foi realizada de maneira a permitir que os poços pertencentes às colunas numeradas de dois a onze tivessem alíquotas referentes as 10 diferentes concentrações de cada antifúngico a ser testado. A coluna número 01 foi designada para o controle negativo e a coluna 12 foi designada para controle positivo, onde foram adicionados, respectivamente, apenas 100µL de RPMI-1640 puro ou 100µL de RPMI-1640 com o inóculo.

As placas foram preparadas com antecedência e congeladas a uma temperatura de -70°C, por não mais que 3 semanas, até serem utilizadas.

3.4.4 Preparo do inóculo

Para induzir a formação de conídios, as cepas foram inicialmente incubadas durante 48 horas a uma temperatura de 35°C e depois por mais 5 dias a 25°C, em meio PDA.

Nos tubos contendo os cultivos de 7 dias, foram adicionadas alíquotas de 2mL de solução salina esterilizada. Esta solução foi homogeneizada delicadamente.

A suspensão resultante foi transferida para outro tubo esterilizado que permaneceu em repouso por 3 a 5 minutos para sedimentação das partículas mais pesadas. A seguir foi retirado o sobrenadante e transferido para outro tubo esterilizado, este foi submetido à agitação mecânica com vórtex por 15 segundo.

A suspensão foi então aferida em espectrofotômetro a um comprimento de onda de 530nm (nanômetros), com densidade óptica variando de 0,15 a 0,17.

Após essa padronização, a suspensão foi diluída a 1:50 em meio RPMI-1640 resultando em um inóculo final, contendo aproximadamente $0,4 \times 10^4$ a 5×10^4 UFC/mL (unidades formadoras de colônia) requeridas para o ensaio.

O ajuste final foi obtido no momento da distribuição do inóculo aos diferentes poços da placa de microtitulação, contendo o volume de 100 μ L do meio com a droga antifúngica anteriormente dispensada na placa.

O controle de qualidade do inóculo foi realizado semeando-se 10 μ L da preparação final de inóculo em Ágar Sabouraud Dextrose e incubando a 25°C até que as colônias se tornassem visíveis e pudessem ser quantificadas.

3.4.5 Realização dos ensaios de susceptibilidade aos 05 antifúngicos

Para a realização dos testes, as placas de microdiluição preparadas conforme procedimentos descritos anteriormente foram retiradas do freezer e mantidas em estufa a 35°C, por 30 minutos para descongelamento.

Subseqüentemente, alíquotas de 100µL da solução do inóculo padrão foram dispensadas nos poços enumerados de 2 a 12 contendo os 100µL das diferentes concentrações dos antifúngicos testados. O poço 1 foi reservado para controle de esterilidade do meio, como mencionado anteriormente.

Além dos isolados clínicos, foram incluídas em cada dia de ensaio quatro organismos-controle: *Candida parapsilosis* ATCC 22019, *Candida krusei* ATCC 6258, *Aspergillus flavus* ATCC 204304 e *Fusarium solani* ATCC 62877. Estes isolados permitiram o controle da qualidade na verificação da perfeita diluição dos antifúngicos, uma vez que são previamente conhecidas as CIMs destes isolados frente aos antifúngicos que foram testados (CSLI, 2008).

Ao final, as placas foram transferidas para uma estufa a 35°C e leituras dos testes foram realizadas após 24, 48 e 72 horas de incubação.

3.4.6 Leitura dos ensaios

Para realizar a leitura dos testes, as placas foram colocadas em suporte contendo espelho, permitindo a observação clara do reverso das mesmas. Conforme previamente mencionado, foram realizadas três leituras visuais, após 24, 48 e 72h de incubação.

Foi definida como CIM (concentração inibitória mínima) a menor concentração de droga capaz de inibir qualquer crescimento discernível (100 % de inibição) dos fungos filamentosos a serem testados (CSLI, 2008).

3.4.7 Descrição dos resultados do teste de susceptibilidade obtidos com as diferentes drogas testadas

Foi avaliada de forma descritiva a distribuição dos valores de CIMs para os 05 antifúngicos, sob 4 critérios:

1º) Variação dos valores, representando os limites inferior e superior das CIMs de cada antifúngico;

2º) CIM₅₀, definida como a concentração inibitória mínima de antifúngico capaz de inibir o crescimento de 50% das amostras testadas;

3º) CIM₉₀, definida como a concentração inibitória mínima de antifúngico capaz de inibir o crescimento de 90% das amostras testadas.

4º) Porcentagem de cepas que apresentaram valores de CIMs acima daqueles habitualmente esperados para sucesso terapêutico:

- Anfotericina B, valor de CIM $\geq 2,0\mu\text{g/mL}$ (Lass-Flori *et al*, 1998);
 - Itraconazol e Voriconazol, valor de CIM $\geq 4,0\mu\text{g/mL}$ (Denning *et al*, 1997B; Denning *et al*, 1997C; Espinel-Ingroff *et al*, 2001);
 - Fluconazol e 5-fluorocitosina, valor de CIM $>64,0\mu\text{g/mL}$ (CLSI, 2008).
-

4. RESULTADOS

4.1 Microrganismos

Foram selecionados para o estudo 157 isolados clínicos e ambientais de fungos filamentosos, originalmente identificados como pertencentes ao gênero *Fusarium*. Estas amostras foram encaminhadas ao LEMI, Disciplina de Infectologia da UNIFESP, durante o período de abril de 1996 até julho de 2008.

As amostras clínicas estão representadas por 126 cepas obtidas de diversos sítios biológicos, a saber: amostras oculares, sangue, seios da face, urina, fezes, biopsia e escamas de pele e interdigital, grãos de micetoma e secreção de ferida cirúrgica. Estas cepas foram provenientes de pacientes internados e pacientes ambulatoriais do Hospital São Paulo, do Instituto de Oncologia Pediátrica e da Casa de Saúde Santa Marcelina.

Em relação às amostras ambientais, foram estudadas 31 cepas obtidas de coletas ambientais realizadas no Instituto de Oncologia Pediátrica e no Hospital do Rim e Hipertensão. Os sítios de isolamento dessas amostras foram: ar, água e superfícies internas do ambiente hospitalar.

Todas as cepas foram descongeladas e semeadas em ágar Sabouraud Dextrose com cloranfenicol e incubadas a 25°C por 7 a 15 dias, para, a partir daí, ser realizado o processo de “re-identificação” das amostras obedecendo aos critérios pré-estabelecidos nas chaves de identificação fenotípica descritas por De Hoog *et al* (2002).

4.2 Caracterização morfológica dos isolados de *Fusarium* spp.

Após a verificação da viabilidade e pureza as cepas foram semeadas em PDA para a realização da análise macro e micromorfológica.

4.2.1 Análise macromorfológica e micromorfológica das 157 cepas de *Fusarium* spp – Identificação dos complexos de espécies

Para a realização da identificação das 157 cepas em estudo foi utilizada a chave de classificação publicada por De Hoog *et al* (2000), onde foram observadas as características macro e micromorfológicas dos isolados.

A caracterização macromorfológica das 157 cepas de *Fusarium* spp. foi realizada a partir da observação de características de cultivos repicados em 05 pontos de placas de petri (90X15mm) com PDA e incubados a uma temperatura de 25°C por, pelo menos, 07 dias.

Foi observada alta variabilidade macromorfológica entre as cepas isoladas, principalmente, com relação à cor da colônia. As cores observadas nos cultivos foram: branca, lilás, bege, laranja, rosa, amarela, avermelhada e acinzentada, sendo que algumas cepas apresentavam a borda branca e o centro pigmentado e outras, ainda, apresentavam o centro pigmentado e a borda branca (Figuras 1A a 5B).

Em relação à textura da colônia, a grande maioria dos isolados (90,4%) apresentou a formação de micélio aéreo denso com aspecto algodinoso, porém algumas cepas (9,5%) apresentaram o micélio raro com aspecto mais úmido, menos volumoso e com bordas mais circunscritas e delimitadas, chegando a apresentar aspecto leveduriforme.

A presença de esporodóquios foi visualizada em 65 (41,4%) cepas. Os esporodóquios são estruturas fúngicas constituídas de conídios, que formam pequenas massas nas colônias. Todas as colônias apresentaram diâmetro maior que 4,0cm após 7 dias de incubação.

Em relação à micromorfologia das espécies de *Fusarium* spp. foram analisados o tamanho do conidióforo e a presença, tamanho e número de septos de macroconídios, mesoconídios e/ou microconídios.

A partir, da visualização das estruturas micromorfológicas já mencionadas e correlacionando os caracteres da macromorfologia verificou-se que entre as 157 cepas em estudo, 143 (91,1%) isolados foram classificados como pertencentes ao complexo de espécies *Fusarium solani*. Estes isolados apresentaram em comum a presença de monofiálides medindo entre 90µm a 150µm de comprimento, microconídios medindo entre 2µm a 5µm de comprimento e macroconídios com 3 a 9 septos e medindo entre 4µm a 20µm de comprimento (Figuras 1A, 1B, 1C e 1D).

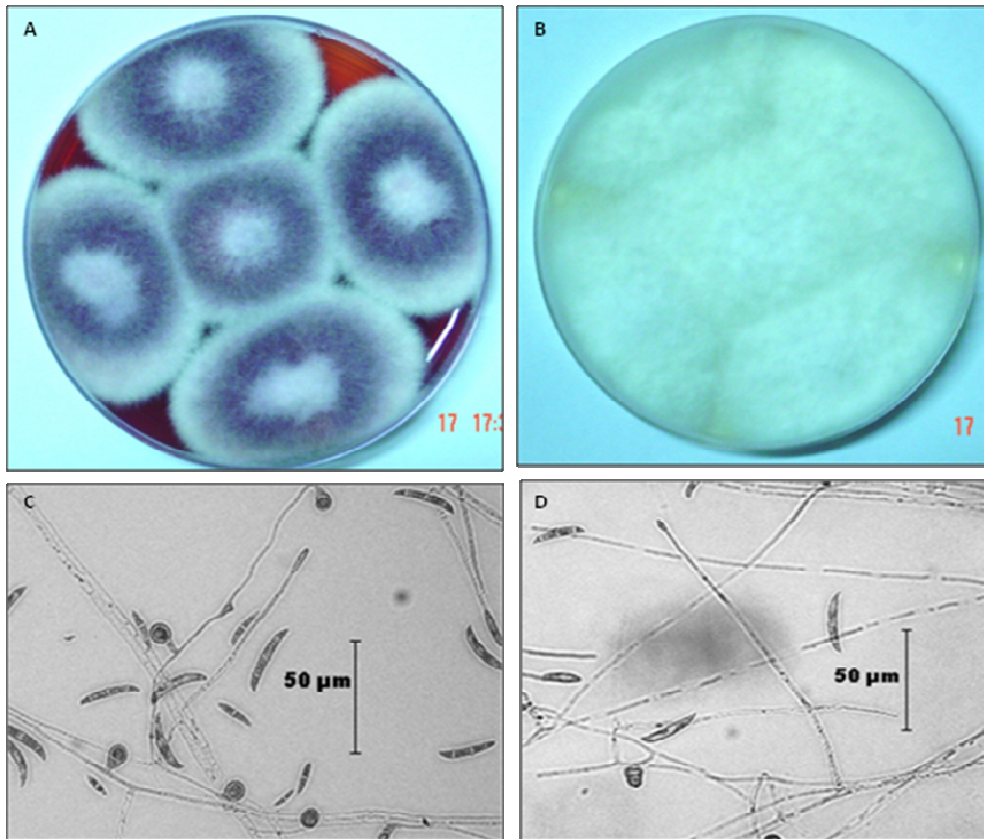


Figura 1. Caracterização de cepas do complexo *Fusarium solani*. (A) Colônias com textura algodosa e coloração lilás. (B) Colônias com textura algodosa e coloração branca. (C) e (D) Monofialides longas (80 a 100µm), microconídios, macroconídios e clamidoconídios (40X).

Sete (4,5%) isolados foram classificados como pertencentes ao complexo de espécies *Fusarium dimerum*. A principal característica micromorfológica observada entre esses isolados foi a presença de mesoconídios com até 01 septo medindo entre 6µm a 15µm de comprimento (Figuras 2A e 2B). Todos os isolados classificados como pertencentes ao complexo *Fusarium dimerum* apresentaram colônias de cor laranja.

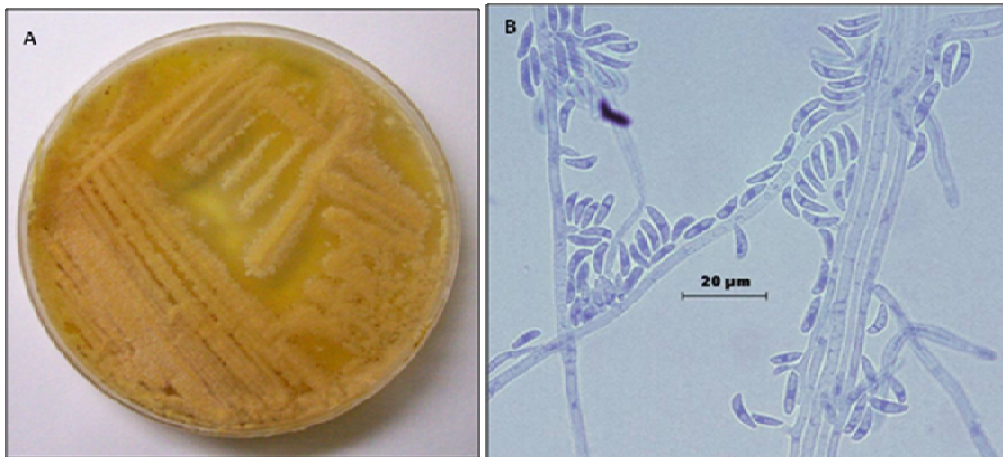


Figura 2. Caracterização de cepas do complexo *Fusarium dimerum*. (A) Colônias com textura lisa e micélio aéreo raro, coloração alaranjada. (B) Mesoconídios (100X).

Quatro (2,5%) cepas foram classificadas como pertencentes ao complexo de espécies *Fusarium incarnatum*, também conhecido como complexo de espécies *Fusarium semitectum*. Estes isolados apresentaram colônias em tons amarelados, presença de esporodóquios, ausência de microconídios e presença de macroconídios com 3 a 9 septos medindo de 7µm a 45µm de comprimento (Figuras 3A e 3B).

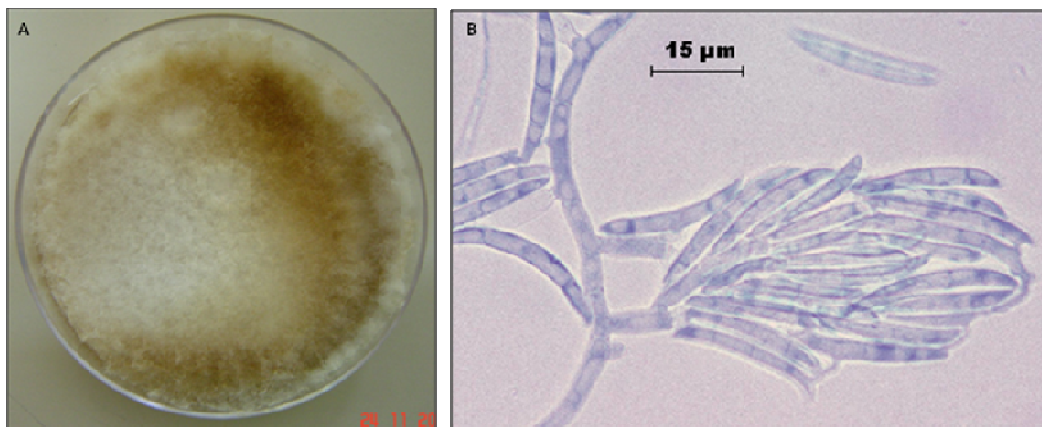


Figura 3. Caracterização de cepas do complexo *Fusarium incarnatum*. (A) Colônias com textura algodosa e coloração amareladas. (B) Presença de polifialides e macroconídios (100X).

Duas (1,3%) cepas foram classificadas como pertencentes a espécie *Fusarium verticillioides*. Estas cepas apresentaram microconídios unicelulares e macroconídios com 3 a 7 septos, medindo de 25 μ m a 60 μ m de comprimento (Figura 4A e 4B).

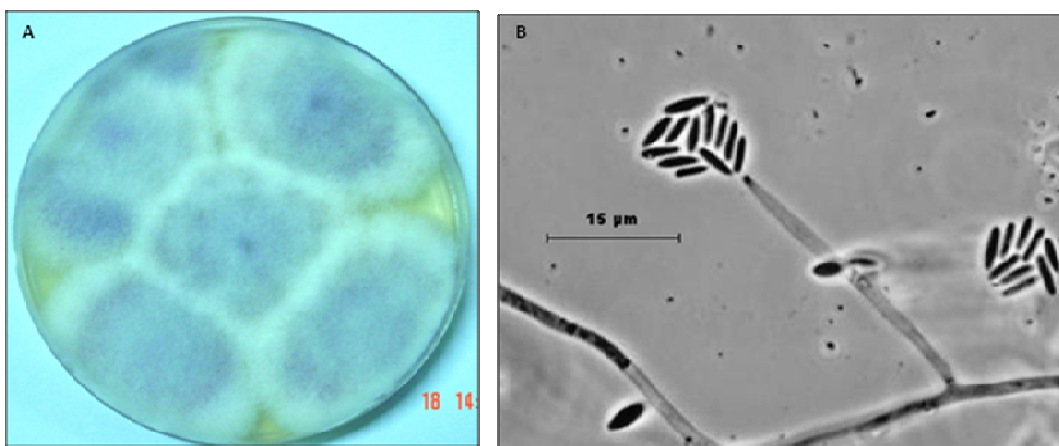


Figura 4. Caracterização de cepas de *Fusarium verticillioides*. (A) Colônias com textura algodosa e coloração levemente lilás. (B) Fiálides e microconídios unicelulares (40X).

Finalmente, 01 (0,6%) isolado foi caracterizado como pertencente ao complexo de espécies *Fusarium oxysporum*. Este isolado apresentou fiálides curtas medindo até 15 μ m de comprimento, microconídios medindo de 2 μ m a 7 μ m de comprimento e macroconídios com 3 a 5 septos medindo de 15 a 55 μ m de comprimento (Figura 5A e 5B).

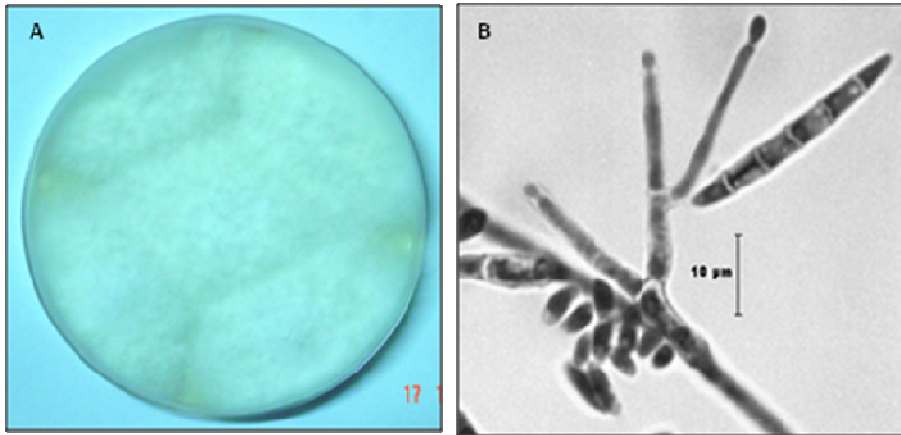


Figura 5. Caracterização de cepas do complexo *Fusarium oxysporum*. (A) Colônias com textura algodonosa e coloração levemente lilás. (B) Fiálides curtas e ramificadas, microconídios e macroconídios (40X).

4.3 Distribuição geral das espécies de *Fusarium* spp. de acordo com o material clínico ou ambiental

A distribuição de espécies do total de 157 cepas avaliadas neste estudo incluiu: 143 cepas do complexo de espécies *Fusarium solani* (91,1%), 07 do complexo de espécies *Fusarium dimerum* (4,5%), 04 do complexo de espécies *Fusarium incarnatum* (2,5%), 02 *Fusarium verticillioides* (1,3%) e 01 do complexo de espécies *Fusarium oxysporum* (0,6%) – Tabela 1.

Tabela 1. Distribuição de espécies das 157 cepas clínicas e ambientais de *Fusarium* spp.

Complexos de espécies	Amostras Clínicas	Amostras Ambientais	Total N (%)
<i>Fusarium solani</i>	118	25	143 (91,1)
<i>Fusarium dimerum</i>	04	03	07 (4,5)
<i>Fusarium incarnatum</i>	01	03	04 (2,5)
<i>Fusarium verticillioides</i>	02	00	02 (1,3)
<i>Fusarium oxysporum</i>	01	00	01 (0,6)
Total	126	31	157 (100)

A distribuição de espécies de *Fusarium* das cepas clínicas isoladas de diferentes materiais biológicos encontra-se detalhada na Tabela 2.

De forma geral, pode-se observar o predomínio dos isolados do complexo *Fusarium solani* em todos os sítios biológicos analisados. Os outros agentes fúngicos, com exceção dos isolados do complexo *Fusarium verticillioides* e *Fusarium incarnatum* que também foram isolados de sangue, se mantiveram

restritos a isolamentos de amostras oculares provenientes de episódios de ceratites micóticas (Tabela 2).

Tabela 2. Distribuição de espécies das amostras clínicas de *Fusarium* spp. segundo o sítio biológico de isolamento.

Complexos de espécies (N)	Sítios Biológicos de Isolamento das cepas <i>Fusarium</i> spp.									
	Oc*	Sg*	Sef*	Ur*	Fz*	Bxp*	Esp*	Esin*	Grm*	Sfc*
<i>F. solani</i> (118)	93	12	02	01	02	01	02	02	02	01
<i>F. dimerum</i> (04)	04	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>F. incarnatum</i> (01)	-	01	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>F. verticillioides</i> (02)	01	01	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>F. oxysporum</i> (01)	01	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Total (126)	99	14	02	01	02	01	02	02	02	01

* Amostras biológicas obtidas dos seguintes sítios: Oc = oculares, Sg = Sangue, Sef = Seios da face, Ur = Urina, Fz = fezes, Bxp = Biopsia de pele, Esp = Escamas de pele, Esin = Escamas de interdígital, Grm = Grãos de micetoma, Sfc = Secreção de ferida cirúrgica.

A distribuição de espécies de *Fusarium* das cepas ambientais isoladas de ar, água e superfícies dos ambientes hospitalares encontra-se detalhada na Tabela 3. Assim como ocorreu entre os isolados clínicos, pode-se observar, novamente, o predomínio dos isolados do complexo de espécies *Fusarium solani* em todos os sítios ambientais analisados.

Cepas do complexo *Fusarium dimerum* foram isoladas da água (02 isolamentos) e da pia de um dos banheiros analisados, enquanto que o complexo *Fusarium incarnatum* foi isolado apenas da água. Os outros agentes, *Fusarium verticillioides* e *Fusarium oxysporum* não foram isolados nas coletas ambientais.

Tabela 3. Distribuição das espécies das amostras ambientais de *Fusarium* spp. segundo o sitio de isolamento.

Complexo de espécies (N)	Sítios Ambientais de Isolamentos de <i>Fusarium</i> spp.						
	Ar	Água	Swabs de Superfícies Hospitalares				
			Sab*	Sbc*	Scaq*	Spb*	Srb*
<i>F. solani</i> (25)	09	06	04	01	02	01	02
<i>F. dimerum</i> (03)	-	02	-	-	-	01	-
<i>F. incarnatum</i> (03)	03	-	-	-	-	-	-
Total (31)	12	08	04	01	02	02	02

* Amostras ambientais obtidas dos seguintes sítios: Sab = Swab do azulejo do banheiro, Sbc = Swab do bocal do chuveiro, Scaq = Swab da caldeira de água quente, Spb = Swab da pia do banheiro e Srb = Swab do ralo do banheiro.

4.4 Análise do perfil de susceptibilidade das 157 cepas de *Fusarium* spp. frente aos 05 antifúngicos testados pelo método de microdiluição em caldo.

As concentrações inibitórias mínimas (CIMs) de anfotericina B, fluconazol, itraconazol, 5-fluorocitosina e voriconazol foram determinadas a partir da metodologia de microdiluição em caldo de acordo com a norma M38-A2 padronizada pelo Clinical Laboratory Standard Institute (CLSI) publicada em 2008.

4.4.1 Controle de qualidade dos ensaios de microdiluição em caldo com os 05 antifúngicos testados contra os organismos controle.

Em todos os dias de ensaio foram incluídas entre as cepas em estudo 04 organismos-controle da American Type Culture Collection (ATCC), representados por *Candida parapsilosis* ATCC 22019, *Candida krusei* ATCC 6258, *Aspergillus flavus* ATCC 204304 e *Fusarium solani* ATCC 62877.

A variação dos valores de CIMs de *Candida parapsilosis* ATCC 22019 foi entre 0,25µg/mL a 1,0µg/mL para anfotericina B, 0,25µg/mL a 2,0µg/mL para fluconazol e 5-fluorocitosina, 0,03µg/mL a 0,125µg/mL para itraconazol e 0,03µg/mL a 0,125µg/mL para voriconazol.

A variação dos valores de CIMs de *Candida krusei* ATCC 6258 foi entre 1,0µg/mL a 2,0µg/mL para anfotericina B, 16,0µg/mL a 64,0µg/mL para fluconazol, 0,06µg/mL a 1,0µg/mL para itraconazol e voriconazol. Não houve variação de CIM para 5-fluorocitosina, o valor permaneceu constante em 32µg/mL.

A variação dos valores de CIMs de *Aspergillus flavus* ATCC 204304 foi entre 0,5µg/mL e 2,0µg/mL para anfotericina B, 0,06µg/mL a 0,5µg/mL para itraconazol e 0,5µg/mL a 2,0µg/mL para voriconazol, 32,0µg/mL a >64,0µg/mL para 5-fluorocitosina e >64,0µg/mL para fluconazol.

A variação dos valores de CIMs de *Fusarium solani* ATCC 62877 foi de 1,0µg/mL a 2,0µg/mL para anfotericina B e 2,0µg/mL a 8,0µg/mL para voriconazol. Os valores de CIMs para fluconazol, itraconazol e 5-fluorocitosina não variaram sendo >64,0µg/mL, >64,0µg/mL e >16,0µg/mL, respectivamente para todos os dias de ensaios. O detalhamento da variação dos valores de CIMs segundo os três diferentes períodos de leitura encontram-se na tabela 4.

Tabela 4. Variação dos valores de CIMs ($\mu\text{g/mL}$) apresentados pelos organismos controle frente a anfotericina B, fluconazol, itraconazol, 5-fluorocitosina e voriconazol.

Organismos-controle Antifúngico – Período de incubação	ATCC 22019 <i>C. parapsilosis</i>	ATCC 6258 <i>C. krusei</i>	ATCC 204304 <i>A. flavus</i>	ATCC 62877 <i>F. solani</i>
Anfotericina B				
24h	0,25 – 1,0	1,0 – 2,0	0,5 – 2,0	1,0 – 2,0
48h	0,25 – 1,0	1,0 – 2,0	0,5 – 2,0	1,0 – 2,0
72h	0,5 – 1,0	1,0 – 2,0	0,5 – 2,0	1,0 – 2,0
Fluconazol				
24h	0,25 – 2,0	16,0 – 32,0	>64,0	>64,0
48h	1,0 – 2,0	32,0	>64,0	>64,0
72h	1,0 – 2,0	32,0 – 64,0	>64,0	>64,0
Itraconazol				
24h	0,03 – 0,125	0,06 – 0,25	0,06 – 0,5	>16,0
48h	0,125	0,125 – 0,5	0,125 – 0,5	>16,0
72h	0,125	0,125 – 0,5	0,125 – 0,5	>16,0
5-Fluorocitosina				
24h	0,25 – 1,0	32,0	32,0 – >64,0	>64,0
48h	1,0 – 2,0	32,0	>64,0	>64,0
72h	1,0 – 2,0	32,0	>64,0	>64,0
Voriconazol				
24h	0,03 – 0,06	0,06 – 0,5	0,5 – 1,0	2,0 – 8,0
48h	0,03 – 0,125	0,5 – 1,0	0,5 – 2,0	4,0 – 8,0
72h	0,03 – 0,125	0,5 – 1,0	0,5 – 2,0	4,0 – 8,0

Vale mencionar que em todos os ensaios realizados, os valores de CIMs obtidos para diferentes combinações de drogas-microrganismos-controle estiveram dentro dos limites esperados.

4.4.2 Análise da variação de valores de concentrações inibitórias mínimas (CIMs), CIM₅₀ e CIM₉₀ apresentados pelas 157 cepas clínicas e ambientais de *Fusarium* spp. frente aos 05 antifúngicos testados.

Foram analisados 785 resultados de CIMs referentes aos 05 antifúngicos testados contra 157 cepas clínicas e ambientais de fungos filamentosos do gênero *Fusarium*.

Foram realizadas leituras após 24h, 48h e 72h de incubação em todos os ensaios. Para 5-fluorocitosina não houve variação nos valores de CIMs nos três períodos de leitura, onde permaneceu o valor de CIM >64,0µg/mL para todos os isolados.

O detalhamento da análise geral do perfil de susceptibilidade dos 157 isolados testados pode ser visualizado na Tabela 5.

Em relação às leituras realizadas após 24h de incubação, a variação dos valores de CIMs para as 157 cepas clínicas e ambientais de *Fusarium* spp. foi de 0,25µg/mL a >16,0µg/mL para anfotericina B, 16,0µg/mL a >64,0µg/mL para fluconazol, 0,5µg/mL a >16,0µg/mL para itraconazol, 0,5µg/mL a 16,0µg/mL para voriconazol.

Em relação às leituras realizadas após 48h de incubação, a variação dos valores de CIMs para as 157 cepas testadas foi de 0,25µg/mL a >16,0µg/mL para anfotericina B, 32,0µg/mL a >64,0µg/mL para fluconazol, 0,5µg/mL a >16,0µg/mL para itraconazol e 0,5µg/mL a > 16,0µg/mL para voriconazol.

Em relação às leituras realizadas após 72h de incubação, a variação dos valores de CIMs para as 157 cepas testadas foi de 0,5µg/mL a >16,0µg/mL para anfotericina B, 32,0µg/mL a >64,0µg/mL para fluconazol, 0,5µg/mL a >16,0µg/mL para itraconazol e 0,5µg/mL a >16,0µg/mL para voriconazol.

Os valores de CIM₅₀ e CIM₉₀ para todos os 157 isolados também foram avaliados nos três períodos de leitura em todas as drogas testadas.

Em relação aos antifúngicos fluconazol, itraconazol e 5-fluorocitosina os valores de CIM₅₀ e CIM₉₀ foram os mesmos nos três diferentes períodos de leitura, sendo >64,0µg/mL para fluconazol e 5-fluorocitosina e >16,0µg/mL para itraconazol.

Em relação às leituras realizadas após 24 horas de incubação o valor de CIM₅₀ e CIM₉₀ para anfotericina B foram de 2,0µg/mL e 4,0µg/mL respectivamente e para voriconazol estes valores foram 4,0µg/mL e 8,0µg/mL respectivamente.

Com relação às leituras realizadas após 48 horas de incubação o valor de CIM₅₀ e CIM₉₀ foram 2,0µg/mL e 4,0µg/mL para anfotericina B e 8,0µg/mL e 8,0µg/mL para voriconazol.

Com relação às leituras realizadas após 72 horas o valor de CIM₅₀ e CIM₉₀ foram 4,0µg/mL e 8,0µg/mL para anfotericina B e 8,0µg/mL e 16,0µg/mL para voriconazol.

Tabela 5. Variação dos valores de Concentração Inibitória Mínima (CIM), CIM₅₀ e CIM₉₀ apresentados pelas 157 cepas clínicas e ambientais de *Fusarium* spp.

Antifúngico / Período de incubação	Variação de CIM (µg/mL)	CIM ₅₀ (µg/mL)	CIM ₉₀ (µg/mL)
Anfotericina B			
24h	0,25 - >16,0	2,0	4,0
48h	0,25 - >16,0	2,0	4,0
72h	0,5 - >16,0	4,0	8,0
Fluconazol			
24h	16,0 - >64,0	>64,0	>64,0
48h	32,0 - >64,0	>64,0	>64,0
72h	32,0 - >64,0	>64,0	>64,0
Itraconazol			
24h	0,5 - >16,0	>16,0	>16,0
48h	0,5 - >16,0	>16,0	>16,0
72h	0,5 - >16,0	>16,0	>16,0
5-fluorocitosina			
24h	*	>64,0	>64,0
48h	*	>64,0	>64,0
72h	*	>64,0	>64,0
Voriconazol			
24h	0,5 - 16,0	4,0	8,0
48h	0,5 - >16,0	8,0	8,0
72h	0,5 - >16,0	8,0	16,0

* Não houve variação de valores CIM para 5-fluorocitosina.

4.4.3 Análise do perfil de susceptibilidade de 126 amostras clínicas de *Fusarium* spp. em relação a 05 antifúngicos.

4.4.3.1 Perfil de susceptibilidade a anfotericina B

Entre os 05 complexos de espécies estudados foi verificado amplo espectro de variação nos valores de CIMs para anfotericina B. Devido ao reduzido número de cepas de outras espécies, os valores de CIM₅₀ e CIM₉₀ foram analisados somente para os isolados do complexo *Fusarium solani* (Tabela 6A).

Tabela 6A. Variação dos valores de Concentração Inibitória Mínima (CIM), CIM₅₀ e CIM₉₀ apresentados pelas 126 cepas clínicas de *Fusarium* spp. contra anfotericina B.

Complexos de Espécie (n)	Variação de valores de CIMs ^a (µg/mL)			CIM ₅₀ (µg/mL)			CIM ₉₀ (µg/mL)		
	24h	48h	72h	24h	48h	72h	24h	48h	72h
Todos os isolados (126)	0,25 - >16,0	0,5 - >16,0	1,0 - >16,0	2,0	2,0	4,0	4,0	8,0	8,0
<i>F. solani</i> (118)	0,25 - 16,0	0,5 - 16,0	1,0 - >16,0	2,0	2,0	4,0	4,0	8,0	8,0
<i>F. dimerum</i> (04)	1,0 - >16,0	1,0 - >16,0	1,0 - >16,0	NA ^b	NA	NA	NA	NA	NA
<i>F. verticillioides</i> (02)	1,0 - 2,0	2,0 - 4,0	4,0 - 8,0	NA	NA	NA	NA	NA	NA
<i>F. incarnatum</i> (01)	NH ^c	NH	NH	NA	NA	NA	NA	NA	NA
<i>F. oxysporum</i> (01)	NH	NH	NH	NA	NA	NA	NA	NA	NA

^aCIM's = Concentrações Inibitórias Mínimas

^bNA = não avaliado

^cNH = não houve variação nos valores de CIMs

No geral, a maioria dos isolados (61,9% a 96,1%) apresentou valores de CIM $\geq 2,0\mu\text{g/mL}$ nos três diferentes períodos de leitura. Apesar disso, é interessante mencionar que o único isolado do complexo *Fusarium incarnatum* e 01 dos 04 isolados do complexo *Fusarium dimerum* apresentaram valor de CIM igual a $1,0\mu\text{g/mL}$ nas leituras realizadas após 48h de incubação.

Entre os 118 isolados clínicos do complexo *Fusarium solani* 44 (37,3%) apresentaram valores de CIM $\leq 1,0\mu\text{g/mL}$ nas leituras realizadas após 24h de incubação, sendo que esse número diminuiu para 17 (14,4%) nas leituras após 48h e 08 (6,8%) nas leituras após 72h.

O único isolado do complexo *Fusarium oxysporum* apresentou valor de CIM igual a $16,0\mu\text{g/mL}$ na leitura após 48h de incubação (Tabela 6B).

Tabela 6B. Perfil de susceptibilidade de 126 cepas clínicas de *Fusarium* spp. testadas contra anfotericina B, de acordo com 03 diferentes períodos de leitura.

Complexos de Espécies (n)	CIM ^a $\leq 1,0\mu\text{g/mL}$ N (%)			CIM $\geq 2,0\mu\text{g/mL}$ N (%)		
	24h	48h	72h	24h	48h	72h
Todos os isolados (126)	48 (38,1)	19 (15,1)	10 (7,9)	78 (61,9)	107 (84,9)	116 (92,1)
<i>F. solani</i> (118)	44 (37,3)	17 (14,4)	08 (6,8)	74 (62,7)	101 (85,6)	110 (93,2)
<i>F. dimerum</i> (04)	02 (50)	01 (25)	01 (25)	02 (50)	03 (75)	03 (75)
<i>F. verticillioides</i> (02)	01 (50)	-	-	01 (50)	02 (100)	02 (100)
<i>F. incarnatum</i> (01)	01 (100)	01 (100)	01 (100)	-	-	-
<i>F. oxysporum</i> (01)	-	-	-	01 (100)	01 (100)	01 (100)

^aCIM = Concentração Inibitória Mínima.

A Tabela 6C ilustra o perfil de susceptibilidade dos isolados clínicos de acordo com o percentual cumulativo de valores de CIMs apresentados para anfotericina B.

Tabela 6C. Perfil de susceptibilidade de 126 cepas clínicas de *Fusarium* spp. testadas contra anfotericina B, de acordo com os valores de CIMs apresentados nos 03 períodos de leitura.

Complexos de Espécies / Períodos de Leitura	Percentual cumulativo de isolados que apresentaram valores de CIMs ^a (µg/mL) de:						
	0,25	0,5	1,0	2,0	4,0	8,0	≥16,0
Todos os isolados (126)							
24 horas	0,8	15,3	38,1	85,7	94,4	98,4	100
48 horas	-	1,6	15,1	57,9	86,5	90,5	100
72 horas	-	-	7,9	45,2	77,8	90,5	100
<i>Fusarium solani</i> (118)							
24 horas	0,8	15,2	37,3	86,4	94,9	99,2	100
48 horas	-	1,7	14,4	58,5	88,1	92,4	100
72 horas	-	-	6,8	46,6	79,7	92,4	100
<i>Fusarium dimerum</i> (04)							
24 horas	-	-	50	75	-	-	100
48 horas	-	-	25	50	-	-	100
72 horas	-	-	25	-	50	-	100
<i>Fusarium verticillioides</i> (02)							
24 horas	-	-	50	100	-	-	-
48 horas	-	-	-	50	100	-	-
72 horas	-	-	-	-	50	100	-
<i>Fusarium incarnatum</i> (01)							
24 horas	-	-	100	-	-	-	-
48 horas	-	-	100	-	-	-	-
72 horas	-	-	100	-	-	-	-
<i>Fusarium oxysporum</i> (01)							
24 horas	-	-	-	-	100	-	-
48 horas	-	-	-	-	-	-	100
72 horas	-	-	-	-	-	-	100

^aCIMs = Concentrações Inibitórias Mínimas

4.4.3.2 Perfil de susceptibilidade a fluconazol

Em relação à fluconazol houve pouca variação nos valores de CIM, sendo o valor de CIM₅₀ e CIM₉₀ >64,0µg/mL nos 03 diferentes períodos de leitura em todos os isolados clínicos testados (Tabela 7A).

Tabela 7A. Variação nos valores de Concentrações Inibitórias Mínimas (CIMs), CIM₅₀ e CIM₉₀ apresentados pelas 126 cepas clínicas de *Fusarium* spp. contra fluconazol.

Complexos de Espécies (n)	Variação nos valores CIMs ^a (µg/mL)			CIM ₅₀ (µg/mL)			CIM ₉₀ (µg/mL)		
	24h	48h	72h	24h	48h	72h	24h	48h	72h
Todos os isolados (126)	16 - >64,0	32 - >64,0	NH ^b	>64,0	>64,0	>64,0	>64,0	>64,0	>64,0
<i>F. solani</i> (118)	16 - >64,0	32 - >64,0	NH	>64,0	>64,0	>64,0	>64,0	>64,0	>64,0
<i>F. dimerum</i> (04)	NH	NH	NH	NA ^c	NA	NA	NA	NA	NA
<i>F. verticillioides</i> (02)	NH	NH	NH	NA	NA	NA	NA	NA	NA
<i>F. incarnatum</i> (01)	NH	NH	NH	NA	NA	NA	NA	NA	NA
<i>F. oxysporum</i> (01)	NH	NH	NH	NA	NA	NA	NA	NA	NA

^aCIMs = Concentrações Inibitórias Mínimas

^bNH = Não houve variação nos valores de CIM

^cNA = Não avaliado

Nenhum dos isolados apresentou valor de CIM ≤8,0µg/mL nas leituras realizadas após 24h de incubação. Das 126 cepas clínicas de *Fusarium* spp. testadas contra o antifúngico fluconazol, 120 (95,2%) apresentaram valor de CIM >64,0µg/mL nas leituras realizadas após 24h de incubação, sendo que esse número aumentou para 124 (98,4%) nas leituras após 48h e chegou a 100% nas leituras realizadas após 72h de incubação (Tabela 7B).

Tabela 7B. Perfil de susceptibilidade de 126 cepas clínicas de *Fusarium* spp. testadas contra fluconazol, de acordo com 03 diferentes períodos de leitura.

Complexos de Espécies (n)	CIM ≤32,0µg/mL N (%)			CIM ≥64,0µg/mL N (%)		
	24h	48h	72h	24h	48h	72h
Todos os isolados (126)	06 (4,8)	02 (1,6)	-	120 (95,2)	124 (98,4)	126 (100)
<i>F. solani</i> (118)	05 (4,2)	02 (1,7)	-	113 (95,8)	116 (98,3)	118 (100)
<i>F. dimerum</i> (04)	-	-	-	04 (100)	04 (100)	04 (100)
<i>F. verticillioides</i> (02)	-	-	-	02 (100)	02 (100)	02 (100)
<i>F. incarnatum</i> (01)	01 (100)	-	-	-	01 (100)	01 (100)
<i>F. oxysporum</i> (01)	-	-	-	01 (100)	01 (100)	01 (100)

^aCIM = Concentração Inibitória Mínima

4.4.3.3 Perfil de susceptibilidade à itraconazol

Os valores de CIM₅₀ e CIM₉₀ também foram altos para itraconazol, se mantendo >16,0µg/mL nos 03 diferentes períodos de leituras (Tabela 8A).

Tabela 8A. Variação nos valores de Concentrações Inibitórias Mínimas (CIMs), CIM₅₀ e CIM₉₀ apresentados pelas 126 cepas clínicas de *Fusarium* spp. contra itraconazol.

Complexos de Espécies (n)	Variação nos valores CIMs ^a (µg/mL)			CIM ₅₀ (µg/mL)			CIM ₉₀ (µg/mL)		
	24h	48h	72h	24h	48h	72h	24h	48h	72h
Todos os isolados (126)	0,5 - >16,0	1,0 - >16,0	1,0 - >16,0	>16,0	>16,0	>16,0	>16,0	>16,0	>16,0
<i>F. solani</i> (118)	1,0 - >16,0	2,0 - >16,0	NH ^b	>16,0	>16,0	>16,0	>16,0	>16,0	>16,0
<i>F. dimerum</i> (04)	NH	NH	NH	NA ^c	NA	NA	NA	NA	NA
<i>F. verticillioides</i> (02)	NH	NH	NH	NA	NA	NA	NA	NA	NA
<i>F. incarnatum</i> (01)	NH	NH	NH	NA	NA	NA	NA	NA	NA
<i>F. oxysporum</i> (01)	NH	NH	NH	NA	NA	NA	NA	NA	NA

^aCIM = Concentração Inibitória Mínima

^bNH = Não houve variação nos valores de CIM

^cNA = Não avaliado

Apenas o isolado do complexo *Fusarium incarnatum* apresentou valor de CIM igual a 1,0µg/mL nas 03 leituras. Cinco isolados clínicos do complexo *Fusarium solani* apresentaram valor de CIM igual a 1,0µg/mL na leitura após 24h

de incubação, sendo que na leitura de 48h de incubação apenas 01 isolado desse complexo apresentou valor de CIM igual a 2,0µg/mL. Todas outras espécies apresentaram valor de CIM superior a 4,0µg/mL em todas as 03 leituras (Tabela 8B).

Tabela 8B. Perfil de susceptibilidade de 126 cepas clínicas de *Fusarium* spp. testadas contra itraconazol, de acordo com 03 diferentes períodos de leitura.

Complexos de Espécies (n)	CIM ^a ≤1µg/mL N (%)			CIM 2,0µg/mL N (%)			CIM ≥4,0µg/mL N (%)		
	24h	48h	72h	24h	48h	72h	24h	48h	72h
Todos os isolados (126)	06 (4,8)	01 (0,8)	01 (0,8)	-	01 (0,8)	-	120 (95,2)	124 (98,4)	125 (99,2)
<i>F. solani</i> (118)	05 (4,2)	-	-	-	01 (0,9)	-	113 (95,8)	117 (99,1)	118 (100)
<i>F. dimerum</i> (04)	-	-	-	-	-	-	04 (100)	04 (100)	04 (100)
<i>F. verticillioides</i> (02)	-	-	-	-	-	-	02 (100)	02 (100)	02 (100)
<i>F. incarnatum</i> (01)	01 (100)	01 (100)	01 (100)	-	-	-	-	-	-
<i>F. oxysporum</i> (01)	-	-	-	-	-	-	01 (100)	01 (100)	01 (100)

^aCIM = Concentração Inibitória Mínima

4.4.3.4 Perfil de susceptibilidade a 5-fluorocitosina

Não houve variação de valores de CIM e o valor de CIM₅₀ e CIM₉₀ também foi >64,0µg/mL para todos os isolados em todas as leituras. Todos os isolados clínicos apresentaram valores de CIMs >64,0µg/mL para 5-fluorocitosina em todos os 03 diferentes períodos de leitura (Tabela 9).

Tabela 9. Perfil de susceptibilidade de 126 cepas clínicas de *Fusarium* spp. testadas contra 5-fluorocitosina, de acordo com 03 diferentes períodos de leitura.

Complexos de Espécies (n)	CIM ^a ≤32,0µg/mL N (%)			CIM ≥64,0µg/mL N (%)		
	24h	48h	72h	24h	48h	72h
Todos os isolados (126)	-	-	-	126 (100)	126 (100)	126 (100)
<i>F. solani</i> (118)	-	-	-	118 (100)	118 (100)	118 (100)
<i>F. dimerum</i> (04)	-	-	-	04 (100)	04 (100)	04 (100)
<i>F. verticillioides</i> (02)	-	-	-	02 (100)	02 (100)	02 (100)
<i>F. incarnatum</i> (01)	-	-	-	01 (100)	01 (100)	01 (100)
<i>F. oxysporum</i> (01)	-	-	-	01 (100)	01 (100)	01 (100)

^aCIM = Concentração Inibitória Mínima

4.4.3.5 Perfil de susceptibilidade a voriconazol

Houve amplo espectro de variação nos valores de CIM para voriconazol. O valor de CIM₅₀ foi 4,0µg/mL nas leituras após 24h e 8,0µg/mL nas leituras após 48 e 72 horas. Em relação aos valores de CIM₉₀, nas leituras após 24h o valor foi 8,0 e nas leituras após 48 e 72h esse valor subiu para 16,0µg/mL (Tabela 10A).

Tabela 10A. Variação nos valores de Concentrações Inibitórias Mínimas (CIMs), CIM₅₀ e CIM₉₀ apresentados pelas 126 cepas clínicas de *Fusarium* spp. contra voriconazol.

Complexos de Espécies (n)	Variação nos valores CIMs ^a (µg/mL)			CIM ₅₀ (µg/mL)			CIM ₉₀ (µg/mL)		
	24h	48h	72h	24h	48h	72h	24h	48h	72h
Todos os isolados (126)	0,5 - >16,0	1,0 - >16,0	1,0 - >16,0	4,0	8,0	8,0	8,0	16,0	16,0
<i>F. solani</i> (118)	0,5 - >16,0	1,0 - >16,0	1,0 - >16,0	4,0	8,0	8,0	8,0	16,0	16,0
<i>F. dimerum</i> (04)	2,0 - 8,0	4,0 - 8,0	4,0 - 8,0	NA ^b	NA	NA	NA	NA	NA
<i>F. verticillioides</i> (02)	1,0 - 2,0	NH ^c	NH	NA	NA	NA	NA	NA	NA
<i>F. incarnatum</i> (01)	NH	NH	NH	NA	NA	NA	NA	NA	NA
<i>F. oxysporum</i> (01)	NH	NH	NH	NA	NA	NA	NA	NA	NA

^aCIM = Concentração Inibitória Mínima

^bNH = Não houve variação nos valores de CIM

^cNA = Não avaliado

No geral, a maioria dos isolados clínicos (58,7% a 91,3%) apresentaram valores de CIM $\geq 4,0\mu\text{g/mL}$ nos 03 diferentes períodos de leitura (Tabela 10B).

Entre os 118 isolados do complexo *Fusarium solani* apenas uma (0,8%) cepa apresentou valor de CIM $\leq 1,0\mu\text{g/mL}$ e 08 (6,8%) cepas apresentaram valor de CIM igual a $2,0\mu\text{g/mL}$ nos 03 diferentes períodos de leitura.

Os 02 isolados do complexo *Fusarium verticillioides* mantiveram valor de CIM igual a $2,0\mu\text{g/mL}$ nas leituras realizadas após 48 e 72 horas de incubação.

O único isolado do complexo *Fusarium oxysporum* apresentou valor de CIM igual a $2,0\mu\text{g/mL}$ nas leituras realizadas após 24 e 48 horas de incubação e CIM igual a $4,0\mu\text{g/mL}$ na leitura após 72 horas. Já o isolado do complexo *Fusarium incarnatum* apresentou valor de CIM superior a $\geq 4,0\mu\text{g/mL}$ em todas as leituras.

Tabela 10B. Perfil de susceptibilidade de 126 cepas clínicas de *Fusarium* spp. testadas contra voriconazol, de acordo com 03 diferentes períodos de leitura.

Complexos de Espécies (n)	CIM ^a $\leq 1,0\mu\text{g/mL}$			CIM $2,0\mu\text{g/mL}$			CIM $\geq 4,0\mu\text{g/mL}$		
	N (%)			N (%)			N (%)		
	24h	48h	72h	24h	48h	72h	24h	48h	72h
Todos os isolados (126)	07(5,5)	01(0,8)	01(0,8)	45(35,7)	13(10,3)	10(7,9)	74(58,8)	112(88,9)	115(91,3)
<i>F. solani</i> (118)	06(5,1)	01(0,8)	01(0,8)	41(34,7)	10(8,5)	08(6,8)	71(60,2)	107(90,7)	109(92,4)
<i>F. dimerum</i> (04)	-	-	-	02(50)	-	-	02(50)	04(100)	04(100)
<i>F. verticillioides</i> (02)	01(50)	-	-	01(50)	02(100)	02(100)	-	-	-
<i>F. incarnatum</i> (01)	-	-	-	-	-	-	01(100)	01(100)	01(100)
<i>F. oxysporum</i> (01)	-	-	-	01(100)	01(100)	-	-	-	01(100)

^aCIM = Concentração Inibitória Mínima

A Tabela 10C ilustra o perfil de susceptibilidade dos isolados clínicos de acordo com o percentual cumulativo de valores de CIMs apresentados para voriconazol.

Tabela 10C. Perfil de susceptibilidade de 126 cepas clínicas de *Fusarium* spp. testadas contra voriconazol, de acordo com os valores de CIMs apresentados nos 03 períodos de leitura.

Complexos de Espécies / Períodos de Leitura	Percentual cumulativo de isolados que apresentaram valores de CIMs ^a (µg/mL) de:					
	0,5	1,0	2,0	4,0	8,0	≥16,0
Todos os isolados (126)						
24 horas	0,8	5,5	41,3	76,2	98,4	100
48 horas	-	0,8	11,1	45,2	84,1	100
72 horas	-	0,8	8,7	37,3	77	100
<i>Fusarium solani</i> (118)						
24 horas	0,8	5,1	39,8	75,4	98,3	100
48 horas	-	0,8	9,3	42,4	83,1	100
72 horas	-	0,8	7,6	34,7	75,4	100
<i>Fusarium dimerum</i> (04)						
24 horas	-	-	50	75	100	-
48 horas	-	-	-	75	100	-
72 horas	-	-	-	75	100	-
<i>Fusarium verticillioides</i> (02)						
24 horas	-	50	100	-	-	-
48 horas	-	-	100	-	-	-
72 horas	-	-	100	-	-	-
<i>Fusarium incarnatum</i> (01)						
24 horas	-	-	-	100	-	-
48 horas	-	-	-	100	-	-
72 horas	-	-	-	-	100	-
<i>Fusarium oxysporum</i> (01)						
24 horas	-	-	100	-	-	-
48 horas	-	-	100	-	-	-
72 horas	-	-	-	100	-	-

^aCIMs = Concentrações Inibitórias Mínimas.

4.4.4 Análise do perfil de susceptibilidade de 31 amostras ambientais de *Fusarium* spp. em relação a 05 antifúngicos.

4.4.4.1 Perfil de susceptibilidade a anfotericina B

A Tabela 11A ilustra a variação de valores de CIMs e os valores de CIM₅₀ e CIM₉₀ apresentados pelas 31 cepas ambientais de *Fusarium* spp.

Tabela 11A. Variação dos valores de Concentração Inibitória Mínima (CIM), CIM₅₀ e CIM₉₀ apresentados pelas 31 cepas de *Fusarium* spp. contra anfotericina B.

Complexos de Espécies (n)	Variação nos valores CIMs ^a (µg/mL)			CIM ₅₀ (µg/mL)			CIM ₉₀ (µg/mL)		
	24h	48h	72h	24h	48h	72h	24h	48h	72h
Todos os isolados (31)	0,25 - >16,0	0,25 - >16,0	0,5 - >16,0	2,0	4,0	4,0	4,0	4,0	8,0
<i>F. solani</i> (25)	0,5 - >16,0	1,0 - >16,0	1,0 - >16,0	2,0	4,0	4,0	4,0	4,0	8,0
<i>F. dimerum</i> (03)	2,0 - 4,0	NH ^b	4,0 - 8,0	NA ^c	NA	NA	NA	NA	NA
<i>F. incarnatum</i> (03)	0,25 - 2,0	0,25 - 4,0	0,5 - 4,0	NA	NA	NA	NA	NA	NA

^aCIMs = Concentrações Inibitórias Mínimas

^bNH = Não houve variação nos valores de CIMs

^cNA = Não avaliado

Entre as 31 cepas ambientais de *Fusarium* spp. testadas contra anfotericina B 08 (25,8%) apresentaram valores de CIM ≤1,0µg/mL nas leituras realizadas após 24h de incubação, diminuindo para 06 (19,3%) cepas nas leituras após 48h e 03 (9,7%) nas leituras após 72h de incubação (Tabela 11B).

Todos os isolados do complexo *Fusarium dimerum* apresentaram valores de CIMs ≥2,0µg/mL nos 03 diferentes períodos de leitura.

Entre os 03 isolados do complexo *Fusarium incarnatum* 01 (33,3%) apresentou valor de CIM <1,0µg/mL nos 03 períodos de leitura.

Oitenta por cento dos isolados ambientais do complexo *Fusarium solani* apresentaram valores de CIMs $\geq 2,0\mu\text{g/mL}$ nas leituras realizadas após 48h de incubação, sendo que esse percentual para 92 (23 cepas) nas leituras realizadas após 72h.

Tabela 11B. Perfil de susceptibilidade de 31 cepas ambientais de *Fusarium* spp. testadas contra anfotericina B, de acordo com 03 diferentes períodos de leitura.

Complexos de Espécies (n)	CIM ^a $\leq 1,0\mu\text{g/mL}$ N (%)			CIM $\geq 2,0\mu\text{g/mL}$ N (%)		
	24h	48h	72h	24h	48h	72h
Todos os isolados (31)	08 (25,8)	06 (19,3)	03 (9,7)	23 (74,2)	25 (80,7)	28 (90,3)
<i>F. solani</i> (25)	07 (28)	05 (20)	02 (8)	18 (72)	20 (80)	23 (92)
<i>F. dimerum</i> (03)	-	-	-	03 (100)	03 (100)	03 (100)
<i>F. incarnatum</i> (03)	01 (33,3)	01 (33,3)	01 (33,3)	02 (66,7)	02 (66,7)	02 (66,7)

^aCIM = Concentração Inibitória Mínima

A Tabela 11C ilustra o perfil de susceptibilidade dos isolados ambientais de acordo com o percentual cumulativo de valores de CIMs apresentados para anfotericina B.

Tabela 11C. Perfil de susceptibilidade de 31 cepas ambientais de *Fusarium* spp. testadas contra anfotericina B, de acordo com os valores de CIMs apresentados nos 03 períodos de leitura.

Complexos de Espécies / Períodos de Leitura	Percentual cumulativo de isolados que apresentaram valores de CIMs ^a (µg/mL) de:						
	0,25	0,5	1,0	2,0	4,0	8,0	≥16,0
Todos os isolados (31)							
24 horas	3,2	12,9	25,8	83,9	96,8	-	100
48 horas	3,2	-	19,3	45,2	96,8	-	100
72 horas	-	3,2	9,7	29,1	83,9	96,8	100
<i>Fusarium solani</i> (25)							
24 horas	-	12	28	84	96	-	100
48 horas	-	-	20	48	96	-	100
72 horas	-	-	8	32	84	96	100
<i>Fusarium dimerum</i> (03)							
24 horas	-	-	-	66,7	100	-	-
48 horas	-	-	-	-	100	-	-
72 horas	-	-	-	-	66,7	100	-
<i>Fusarium incarnatum</i> (03)							
24 horas	33,3	-	-	100	-	-	-
48 horas	33,3	-	-	66,7	100	-	-
72 horas	-	33,3	-	-	100	-	-

^aCIMs = Concentrações Inibitórias Mínimas.

4.4.4.2 Perfil de susceptibilidade a fluconazol

Os valores de CIM₅₀ e CIM₉₀ foram >64,0µg/mL nos 03 períodos de leituras conforme ilustra a Tabela 12A.

Tabela 12A. Variação nos valores de Concentrações Inibitórias Mínimas (CIMs), CIM₅₀ e CIM₉₀ apresentados pelas 31 cepas ambientais de *Fusarium* spp. contra fluconazol.

Complexos de Espécies (n)	Variação nos valores CIMs ^a (µg/mL)			CIM ₅₀ (µg/mL)			CIM ₉₀ (µg/mL)		
	24h	48h	72h	24h	48h	72h	24h	48h	72h
Todos os isolados (31)	16,0 - >64,0	32,0 - >64,0	32,0 - >64,0	>64,0	>64,0	>64,0	>64,0	>64,0	>64,0
<i>F. solani</i> (25)	16,0 - 64,0	32,0 - >64,0	32,0 - >64,0	>64,0	>64,0	>64,0	>64,0	>64,0	>64,0
<i>F. dimerum</i> (03)	NH ^b	NH	NH	NA ^c	NA	NA	NA	NA	NA
<i>F. incarnatum</i> (03)	16,0 - >64,0	32,0 - >64,0	NH	NA	NA	NA	NA	NA	NA

^aCIMs = Concentrações Inibitórias Mínimas

^bNH = Não houve variação nos valores de CIMs

^cNA = Não avaliado

Entre as 31 cepas ambientais de *Fusarium* spp. somente 01 isolado do complexo *Fusarium solani* e 02 isolados do complexo *Fusarium incarnatum* apresentaram valores de CIMs entre $\leq 32,0 \mu\text{g/mL}$ em pelo menos duas leituras. Todos os outros 28 isolados apresentaram valores de CIMs $> 64,0 \mu\text{g/mL}$ em todas as leituras (Tabela 12B).

Tabela 12B. Perfil de susceptibilidade de 31 cepas ambientais de *Fusarium* spp. testadas contra fluconazol, de acordo com 03 diferentes períodos de leitura.

Complexos de Espécies (n)	CIM $\leq 32,0 \mu\text{g/mL}$ N (%)			CIM $\geq 64,0 \mu\text{g/mL}$ N (%)		
	24h	48h	72h	24h	48h	72h
Todos os isolados (31)	03 (9,7)	03 (9,7)	01 (3,2)	28 (90,3)	28 (90,3)	30 (96,8)
<i>F. solani</i> (25)	01 (4)	01 (4)	01 (4)	24 (96)	24 (96)	24 (96)
<i>F. dimerum</i> (03)	-	-	-	03 (100)	03 (100)	03 (100)
<i>F. incarnatum</i> (03)	02 (66,7)	02 (66,7)	-	01 (33,3)	01 (33,3)	03 (100)

^aCIM = Concentração Inibitória Mínima

4.4.4.3 Perfil de susceptibilidade a itraconazol

A Tabela 13A ilustra a variação dos valores de CIMs, bem como, os valores de CIM₅₀ e CIM₉₀ apresentados pelas 31 cepas ambientais frente a itraconazol.

Tabela 13A. Variação nos valores de concentrações inibitórias mínimas (CIMs), CIM₅₀ e CIM₉₀ apresentados pelas 31 cepas ambientais de *Fusarium* spp. contra itraconazol.

Complexos de Espécies (n)	Variação nos valores CIMs ^a ($\mu\text{g/mL}$)			CIM ₅₀ ($\mu\text{g/mL}$)			CIM ₉₀ ($\mu\text{g/mL}$)		
	24h	48h	72h	24h	48h	72h	24h	48h	72h
Todos os isolados (31)	0,5 ->16,0	0,5 ->16,0	0,5 ->16,0	>16,0	>16,0	>16,0	>16,0	>16,0	>16,0
<i>F. solani</i> (25)	0,5 ->16,0	0,5 ->16,0	0,5 ->16,0	>16,0	>16,0	>16,0	>16,0	>16,0	>16,0
<i>F. dimerum</i> (03)	NH ^b	NH	NH	NA ^c	NA	NA	NA	NA	NA
<i>F. incarnatum</i> (03)	1,0 ->16,0	1,0 ->16,0	1,0 ->16,0	NA	NA	NA	NA	NA	NA

^aCIMs = Concentrações Inibitórias Mínimas

^bNH = Não houve variação nos valores de CIMs

^cNA = Não avaliado

Entre as 31 cepas ambientais apenas 01 (3,2%) cepa do complexo *Fusarium solani* apresentou valor de CIM igual a 0,5µg/mL nas 03 leituras realizadas. Uma das 03 cepas do complexo *Fusarium incarnatum* apresentou valor de CIM >16,0µg/mL e as outras 02 cepas apresentaram valor de CIM inferior a 2,0µg/mL nas 03 leituras. Todos os isolados do complexo *Fusarium dimerum* apresentaram valores de CIMs >16,0µg/mL (Tabela 13B).

Tabela 13B. Perfil de susceptibilidade de 31 cepas ambientais de *Fusarium* spp. testadas contra itraconazol, de acordo com 03 diferentes períodos de leitura.

Complexos de Espécies (n)	CIM ^a ≤1,0µg/mL N (%)			CIM 2,0µg/mL N (%)			CIM ≥4,0µg/mL N (%)		
	24h	48h	72h	24h	48h	72h	24h	48h	72h
Todos os isolados (31)	03 (9,7)	03 (9,7)	02 (6,4)	-	-	01 (3,2)	30 (96,8)	30 (96,8)	30 (96,8)
<i>F. solani</i> (25)	01 (4)	01 (4)	01 (4)	-	-	-	24 (96)	24 (96)	24 (96)
<i>F. dimerum</i> (03)	-	-	-	-	-	-	03 (100)	03 (100)	03 (100)
<i>F. incarnatum</i> (03)	02 (66,7)	02 (66,7)	01 (33,3)	-	-	01 (33,3)	01 (33,3)	01 (33,3)	01 (33,3)

^aCIM = Concentração Inibitória Mínima

4.4.4.4 Perfil de susceptibilidade a 5-fluorocitosina

Assim como ocorreu entre os isolados clínicos, todos os 31 isolados ambientais de *Fusarium* spp. apresentaram valores de CIMs >64,0µg/mL nos 03 diferentes períodos de leitura, ou seja, não houve variação nesses valores. A Tabela 14 ilustra o detalhamento do perfil de susceptibilidade apresentados para esta droga.

Tabela 14. Perfil de susceptibilidade de 31 cepas ambientais de *Fusarium* spp. testadas contra 5-fluorocitosina, de acordo com 03 diferentes períodos de leitura.

Complexos de Espécies (n)	CIM ^a ≤32,0µg/mL N (%)			CIM ≥64,0µg/mL N (%)		
	24h	48h	72h	24h	48h	72h
Todos os isolados (31)	-	-	-	31 (100)	31 (100)	31 (100)
<i>F. solani</i> (25)	-	-	-	25 (100)	25 (100)	25 (100)
<i>F. dimerum</i> (03)	-	-	-	03 (100)	03 (100)	03 (100)
<i>F. incarnatum</i> (03)	-	-	-	03 (100)	03 (100)	03 (100)

^aCIM = Concentração Inibitória Mínima

4.4.4.5 Perfil de susceptibilidade a voriconazol

A Tabela 15A ilustra a variação dos valores de CIMs, bem como, os valores de CIM₅₀ e CIM₉₀ apresentados nos 03 períodos de leitura.

Tabela 15A. Variação nos valores de concentrações inibitórias mínimas (CIMs), CIM₅₀ e CIM₉₀ apresentados pelas 31 cepas ambientais de *Fusarium* spp. contra voriconazol.

Complexos de Espécies (n)	Variação nos valores CIMs ^a (µg/mL)			CIM ₅₀ (µg/mL)			CIM ₉₀ (µg/mL)		
	24h	48h	72h	24h	48h	72h	24h	48h	72h
Todos os isolados (31)	0,5 - 8,0	0,5 - 16,0	0,5 - 16,0	4,0	8,0	8,0	8,0	8,0	16,0
<i>F. solani</i> (25)	16,0 - >64,0	32,0 - >64,0	32,0 - >64,0	4,0	8,0	8,0	8,0	8,0	16,0
<i>F. dimerum</i> (03)	NH ^b	NH	NH	NA ^c	NA	NA	NA	NA	NA
<i>F. incarnatum</i> (03)	16,0 - >64,0	32,0 - >64,0	NH	NA	NA	NA	NA	NA	NA

^aCIMs = Concentrações Inibitórias Mínimas

^bNH = Não houve variação nos valores de CIMs

^cNA = Não avaliado

Entre os 25 isolados ambientais do complexo *Fusarium solani* 15 (60%) apresentaram valores de CIMs ≥4,0µg/mL na leitura realizada após 24h de incubação, aumentando para 21 (84%) cepas após 48h e 23 (92%) cepas após 72h de incubação (Tabela 15B).

Entre os 03 isolados do complexo *Fusarium dimerum* 01 (33,3%) apresentou valor de CIM igual a 2,0µg/mL na leitura realizada após 48h de incubação, sendo que as outras 02 cepas apresentaram valores de CIMs $\geq 4,0\mu\text{g/mL}$ nas diferentes leituras realizadas.

Em relação aos 03 isolados do complexo *Fusarium incarnatum* 02 (66,7%) apresentaram valores de CIMs inferiores a 1,0µg/mL e 01 (33,3%) isolado apresentou valor de CIM superior a 4,0µg/mL.

Tabela 15B. Perfil de susceptibilidade de 31 cepas de *Fusarium* spp. testadas contra voriconazol, de acordo com 03 diferentes períodos de leitura.

Complexos de Espécies (n)	CIM ^a $\leq 1,0\mu\text{g/mL}$ N (%)			CIM 2,0µg/mL N (%)			CIM $\geq 4,0\mu\text{g/mL}$ N (%)		
	24h	48h	72h	24h	48h	72h	24h	48h	72h
Todos os isolados (31)	05(16,8)	03(9,7)	03(9,7)	09(29,1)	04(12,9)	01(3,2)	17 (54,8)	24 (77,4)	27 (87,1)
<i>F. solani</i> (25)	03(12)	01(4)	01(4)	07(28)	03(12)	01(4)	15 (60)	21 (84)	23 (92)
<i>F. dimerum</i> (03)	-	-	-	02(66,7)	01(33,3)	-	01 (33,3)	02 (66,7)	02 (66,7)
<i>F. incarnatum</i> (03)	02(66,7)	02(66,7)	02(66,7)	-	-	-	01 (33,3)	01 (33,3)	01 (33,3)

aCIM = Concentração Inibitória Mínima

A Tabela 15C ilustra o perfil de susceptibilidade dos isolados ambientais de acordo com o percentual cumulativo de valores de CIMs apresentados para voriconazol.

Tabela 15C. Perfil de susceptibilidade de 31 cepas ambientais de *Fusarium* spp. testadas contra voriconazol, de acordo com os valores de CIMs apresentados nos 03 períodos de leitura.

Complexos de Espécies / Períodos de Leitura	Percentual cumulativo de isolados que apresentaram valores de CIMs ^a (µg/mL) de:					
	0,5	1,0	2,0	4,0	8,0	≥16,0
Todos os isolados (31)						
24 horas	9,7	16,1	45,2	87,1	100	-
48 horas	6,4	9,7	22,6	45,2	93,5	100
72 horas	6,4	9,7	12,9	29,0	67,7	100
<i>Fusarium solani</i> (25)						
24 horas	4	12	40	84	100	-
48 horas	4	-	16	36	92	100
72 horas	4	-	8	20	60	100
<i>Fusarium dimerum</i> (03)						
24 horas	-	-	66,7	100	-	-
48 horas	-	-	33,3	66,7	100	-
72 horas	-	-	-	66,7	100	-
<i>Fusarium incarnatum</i> (03)						
24 horas	66,7	-	-	100	-	-
48 horas	33,3	66,7	-	100	-	-
72 horas	33,3	66,7	-	-	100	-

^aCIMs = Concentrações Inibitórias Mínimas

4.4.5 Análise do perfil de susceptibilidade das 143 cepas do complexo *Fusarium solani* em relação às 14 cepas de outras espécies de *Fusarium* frente à anfotericina B

A Tabela 16 ilustra o perfil de susceptibilidade das 143 cepas do complexo *Fusarium solani* e das 14 cepas de *Fusarium* spp frente a anfotericina B. Nas leituras realizadas após 48h de incubação 56,6% das cepas do complexo *Fusarium solani* foram inibidas a uma concentração $\leq 2,0\mu\text{g/mL}$ de anfotericina B, enquanto que entre as 14 cepas de *Fusarium* spp. 21,4% foram inibidas a esta mesma concentração de droga.

Tabela 16. Perfil de susceptibilidade das 143 cepas do complexo *Fusarium solani* e de 14 cepas de *Fusarium* spp. frente anfotericina B.

Agentes (N)	CIM $\leq 2,0\mu\text{g/mL}$ N (%)			CIM $\geq 4,0\mu\text{g/mL}$ N (%)		
	24h	48h	72h	24h	48h	72h
<i>Fusarium solani</i> (143)	51 (35,7)	81 (56,6)	10 (7)	92 (64,3)	62 (43,4)	133 (93)
<i>Fusarium</i> spp. (14)	05 (35,7)	03 (21,4)	03 (21,4)	09 (64,3)	11 (78,6)	11 (78,6)

4.4.6 Análise do perfil de susceptibilidade das 143 cepas do complexo *Fusarium solani* em relação às 14 cepas de outras espécies de *Fusarium* frente à voriconazol

A Tabela 17 ilustra o perfil de susceptibilidade das 143 cepas do complexo *Fusarium solani* e das 14 cepas de *Fusarium* spp frente a voriconazol. Nas leituras realizadas após 48h de incubação 10,5% das cepas do complexo *Fusarium solani* foram inibidas a uma concentração $\leq 2,0\mu\text{g/mL}$ de voriconazol, enquanto que entre as 14 cepas de *Fusarium* spp. 42,9% foram inibidas a esta mesma concentração de droga.

Tabela 17. Perfil de susceptibilidade das 143 cepas do complexo *Fusarium solani* e de 14 cepas de *Fusarium* spp. frente voriconazol.

Agentes (N)	CIM $\leq 2,0\mu\text{g/mL}$ N (%)			CIM $\geq 4,0\mu\text{g/mL}$ N (%)		
	24h	48h	72h	24h	48h	72h
<i>Fusarium solani</i> (143)	57 (39,9)	15 (10,5)	11 (7,7)	86 (60,1)	128 (89,5)	132 (92,3)
<i>Fusarium</i> spp. (14)	09 (64,3)	06 (42,9)	04 (28,6)	05 (35,7)	08 (57,1)	10 (71,4)

5. DISCUSSÃO

O presente estudo representa a maior série já publicada sobre a caracterização do perfil de espécies e do padrão de susceptibilidade *in vitro* à antifúngicos de isolados clínicos e ambientais de *Fusarium* spp. no Brasil.

Fusarium spp. representa um fitopatógeno de grande importância econômica no Brasil e no mundo. Este gênero, além de ser um importante produtor de micotoxinas, é considerado o maior causador de murchas e apodrecimentos em diversos vegetais como banana, tomate, milho, batata etc. Uma das mais importantes doenças em vegetais causadas por *Fusarium* é o chamado Mal-do-Panamá, termo utilizado para designar doença causadora de murcha e apodrecimento de caule e frutos de uma espécie de banana (*Musa acuminata*) e que está disseminada em todas as regiões produtoras de banana do mundo, esta doença, quando presente, causa perdas de até 100% na produção (O'Donnell *et al*, 1998; O'Donnell, 2000).

Nos seres humanos pode causar diversos tipos de doenças, incluindo desde infecções superficiais, como ceratites, onicomicoses e infecções cutâneas em pacientes imunocompetentes, até infecções mais graves como as fungemias e infecções disseminadas em pacientes imunocomprometidos, particularmente em portadores de doenças malignas hematológicas (Dignani, Anaissie, 2004; Córdoba *et al*, 2008).

A prevalência de infecções por *Fusarium* é variável de acordo com a forma clínica. Ceratites e onicomicoses ocorrem em maior frequência, sendo as

formas invasivas mais incomuns. Apesar da baixa prevalência das fusariose invasivas, estas infecções *Fusarium* constituem problema relevante devido às altas taxas de mortalidade que variam de 50 a 80% (Nucci, Anaissie, 2002; Nucci *et al*, 2004; Dignani, Anaissie, 2004; Raad *et al*, 2006; Nucci, Anaissie, 2007).

Outro aspecto a ser mencionado é que o gênero *Fusarium* representa um dos principais agentes isolados em ambientes hospitalares, o que contribui com a disseminação de propágulos infectantes e o aumento no número de infecções invasivas nosocomiais em pacientes imunodeprimidos (Anaissie *et al*, 2001; Anaissie, Costa, 2001).

Infelizmente, poucos são os estudos que têm avaliado a distribuição de espécies de *Fusarium* relacionadas a infecções no homem, sejam elas invasivas ou não, principalmente, devido às limitações encontradas em reconhecer e identificar as espécies desse gênero (Healy *et al*, 2005; Azor *et al*, 2008).

Ainda assim, aproximadamente 12 diferentes espécies de *Fusarium* já foram descritas causando infecções em seres humanos, das quais agentes do complexo *Fusarium solani* são os mais freqüentemente isolados em casuísticas de diferentes partes do mundo, não só em episódios de infecções invasivas, como também em episódios de infecções superficiais e cutâneas (Nucci, Anaissie, 2007; Xie *et al*, 2008; Alastruey-Izquierdo *et al*, 2008). Entre os complexos de espécies

de *Fusarium* não-*solani* mais citados na literatura mundial estão *Fusarium oxysporum* e *Fusarium verticillioides* (Seiferte *et al*, 2003; Nucci, Anaissie, 2007).

Em nossa casuística, 17 (13,5%) amostras foram coletadas de pacientes com doença hematológica isoladas de sítios biológicos considerados invasivos, sendo 14 de sangue, 02 de seios da face e 01 de biopsia de pele. O complexo *Fusarium solani* foi o mais freqüentemente isolado entre as amostras dessa natureza, responsável por 15 (87%) casos, seguido de *Fusarium verticillioides* e pelo complexo *Fusarium incarnatum* que responderam por um caso cada.

Em 1995 os pesquisadores, Guarro & Gené, publicaram uma importante revisão sistemática com 83 casos de fusarioses disseminadas ocorridas em diferentes regiões do globo, entre 1973 (ano em que o primeiro caso de fusariose invasiva foi publicado) e 1994. Nesta revisão em 27 (32,5%) casos as cepas isoladas não foram identificadas em nível de espécie. Entre os 56 casos com identificação de espécies o complexo *Fusarium solani* foi o mais prevalente responsável por 48,3% dos episódios, seguido por *Fusarium verticillioides* (21,5%), complexo *Fusarium oxysporum* (19,6%), complexo *Fusarium proliferatum* (5,3%). Os complexos *Fusarium chlamydosporum*, *Fusarium napiforme* e *Fusarium dimerum* foram responsáveis por um episódio cada um, totalizando 5,3% dos casos.

Em séries históricas publicadas na Europa e nos Estados Unidos é possível avaliar o perfil de distribuição de espécies de *Fusarium* associadas a episódios de infecções invasivas em pacientes com doença hematológica.

Krcmery *et al* (1997) conduziram um dos primeiros estudos relatando 05 casos de fungemias causadas pelo gênero *Fusarium* em pacientes com câncer atendidos no National Câncer Institute, na República Eslovaca. Nesta casuística, o complexo *Fusarium solani* foi responsável por 60% dos casos, o complexo *Fusarium oxysporum* e o complexo *Fusarium dimerum* foram responsáveis por 20% dos casos cada um.

Hennequin *et al* (1997) avaliaram 31 casos de fusariose invasiva diagnosticados entre 1984 e 1993 por membros do French Group d'Etudes des Mycoses Opportunies. Os complexos *Fusarium solani*, *Fusarium oxysporum* e *Fusarium verticillioides* foram responsáveis por 22,6% dos casos cada um, o complexo *Fusarium dimerum* foi responsável por 01 (3,2%) caso e em 09 (29%) casos a espécie de *Fusarium* não foi estabelecida.

No estudo conduzido por Tortorano *et al* (2008) na Universidade de Milão, na Itália, foi avaliado o perfil de susceptibilidade de 75 cepas de *Fusarium* spp. provenientes de micoses superficiais e invasivas. Entre as 49 (65%) cepas oriundas de episódios de fusariose invasivas em pacientes com doença hematológica, *Fusarium verticillioides* foi o agente mais isolado responsável por 57,1% dos casos, seguido pelo complexo *Fusarium proliferatum* (16,3%),

complexo *Fusarium solani* (14,3%), complexo *Fusarium oxysporum* (4,1%), complexo *Fusarium dimerum* e *Fusarium subglutinas* (2% cada um) e *Fusarium* spp. (4,1%). Importante destacar que nesta casuística, diferentemente de todos os estudos já publicados na literatura, *Fusarium verticillioides* foi o principal agente isolado entre as cepas provenientes de episódios de fusariose invasiva, responsável por 28 isolamentos.

Analisando os 03 estudos europeus verificamos que há uma alta variabilidade na freqüência e na distribuição de espécies de *Fusarium* associadas a doenças malignas, visto que o complexo *Fusarium solani* foi responsável por 14 a 60% do total de casos, *Fusarium verticillioides* por 22 a 57% e os complexos *Fusarium oxysporum* e *Fusarium dimerum* foram responsáveis por 2 a 22% dos casos (Krcmery *et al*, 1997; Hannequin *et al*, 1997; Tortorano *et al*, 2008). Esta variabilidade na freqüência das espécies pode estar associada a fatores geográficos ou estar relacionada aos problemas de identificação fenotípica já mencionados anteriormente no presente estudo.

Boutati & Anaissie (1997) avaliaram 43 casos de fusariose em pacientes com doença hematológica atendidos entre os anos de 1986 a 1995 no Anderson Câncer Center, no Texas. Neste estudo, apenas 22 casos tiveram a identificação de espécie realizada. O complexo de espécie mais prevalente foi *Fusarium solani* com 56% dos casos, seguido por *Fusarium verticillioides* (18%) e pelo complexo *Fusarium oxysporum* (10%). Os complexos *Fusarium dimerum*,

Fusarium proliferatum, *Fusarium incarnatum* e *Fusarium equiseti* foram responsáveis por um total 16% dos casos, com um isolado cada um.

Bodey *et al* (2002) conduziram um estudo na Universidade do Texas que avaliou 23 pacientes com câncer e lesões de pele, onde foram isolados fungos do gênero *Fusarium*. Entre os principais complexos de espécies identificados estão: *Fusarium solani* (65%), *Fusarium verticillioides* (13%), *Fusarium oxysporum* (9%), *Fusarium proliferatum* (4,3%), *Fusarium dimerum* (4,3%) e *Fusarium incarnatum*(4,3%).

Em um estudo retrospectivo, realizado no Brasil e nos Estados Unidos, Nucci *et al* (2003) avaliaram fatores prognósticos em 84 pacientes com fusariose e doença hematológica. Nesse estudo foram identificadas as espécies de *Fusarium* em apenas 30 pacientes, das quais o complexo *Fusarium solani* foi o mais frequentemente isolado (60%), seguido por *Fusarium verticillioides* e pelo complexo *Fusarium oxysporum* responsáveis por 13,4% cada um. Os complexos *Fusarium dimerum*, *Fusarium proliferatum*, *Fusarium semitectum* e *Fusarium equiseti* foram responsáveis por 3,3% dos casos, cada um.

Avaliando a distribuição de espécies relacionadas nos 3 estudos americanos citados acima, é possível afirmar que há diferenças entre os dados publicados nos estudos europeus e que há menor variabilidade na frequência das espécies do gênero *Fusarium* associadas a episódios de infecções invasivas em pacientes imunocomprometidos, visto que o complexo *Fusarium solani* foi

freqüente em 56 a 65% dos casos, *Fusarium verticillioides* (13 a 18%), o complexo *Fusarium oxysporum* (9 a 13%) e o complexos *Fusarium dimerum* e *Fusarium incarnatum* (3 a 4%).

De forma geral, tanto os dados europeus quanto os dados de estudos americanos diferem de nossos achados, visto que o complexo *Fusarium solani* foi responsável por 87% dos isolamentos em pacientes com doenças invasivas, taxa esta significativamente maior do que a observada na literatura. Além disso, diferentemente dos estudos de outros pesquisadores, em nossa avaliação, não verificamos a ocorrência de cepas do complexo *Fusarium oxysporum* proveniente de sítios invasivos ou de pacientes com doença hematológica, enquanto que em outros estudos esta espécie aparece como um dos principais agentes. A menor ocorrência de cepas do complexo *Fusarium oxysporum* em pacientes, no Brasil, deve ser confirmada por estudos envolvendo maior número de isolados de *Fusarium* obtidos de pacientes com formas invasivas desta micose.

Naiker, Odhav (2004) avaliaram a distribuição de espécies de *Fusarium* isoladas de 29 episódios de ceratites atendidos no King Edward VIII Hospital Eye Clinic, na África do Sul. O complexo *Fusarium solani* foi o mais freqüente (72,4%), o complexo *Fusarium dimerum* e *Fusarium verticillioides* foram responsáveis por 6,9% dos casos cada um e o complexo *Fusarium incarnatum*, *Fusarium chlamydosporum* e *Fusarium lateritium* foram responsáveis por 3,4% dos casos cada um.

Gaujoux *et al* (2008) em um estudo retrospectivo relataram a distribuição de espécies de *Fusarium* isoladas de 17 casos de ceratites micóticas atendidos entre os anos de 2004 e 2006 no Departamento de Oftalmologia do Centre Hospitalier National d'Ophtalmologie des Quinze-Vingts, em Paris. O complexo *Fusarium solani* foi isolado em 50% dos casos, seguido pelo complexo *Fusarium oxysporum* responsável por 39% dos casos. Os complexos *Fusarium verticillioides* e *Fusarium dimerum* foram responsáveis por 5,5% dos casos cada um.

Em estudo conduzido por Xie *et al* (2008) foi avaliada a frequência de espécies de *Fusarium* envolvidas em episódios de ceratites atendido no Shandong Eyes Institute, na China, entre os anos de 2001 e 2006. Entre as espécies identificadas estão: o complexo *Fusarium solani*, responsável por 37,3% dos casos, *Fusarium verticillioides* (30%), *Fusarium oxysporum* (28%), *Fusarium nivale* (3%) e *Fusarium sporotrichioides* (0,5%). Outras espécies não mencionadas no estudo responderam por 1,2% dos casos.

A partir dessa breve revisão sobre a frequência das principais espécies de *Fusarium* isoladas de episódios de ceratites, parece evidente afirmar que cepas do complexo *Fusarium solani* não são tão predominantes em micoses superficiais como são nos episódios de micoses invasivas, visto que há grande variação na frequência de isolados deste complexo de espécies (37 a 72%).

Também foi observada alta variação na distribuição de espécies do complexo *Fusarium oxysporum* (28 a 39%) e de *Fusarium verticillioides* (5 a 30%).

Confrontando os dados apresentados na literatura, mais uma vez verificamos que nossas taxas de prevalência de diferentes espécies de *Fusarium* isoladas de episódios de ceratites apresentam peculiaridades. Entre 126 cepas clínicas estudadas, 99 (78,6%) foram provenientes de episódios de ceratites e novamente o complexo *Fusarium solani* foi o agente mais freqüente, responsável por 94% dos isolamentos, taxa esta também muito superior do que a apresentada na literatura. O complexo *Fusarium dimerum* foi responsável por 4% dos casos, *Fusarium verticillioides* por 1% e o complexo *Fusarium oxysporum* foi responsável por 1% do total de cepas isoladas de episódios de ceratites.

De forma geral, o complexo *Fusarium dimerum* foi o segundo principal agente isolado em nosso trabalho responsável por 04 (4%) isolamentos de amostras clínicas. Todas as 04 cepas clínicas foram oriundas de episódios de ceratites micóticas não relacionadas à imunodepressão por parte do paciente, porém, este complexo já foi associado diversas vezes a quadros clínicos de endocardites, fungemias e infecções disseminadas em pacientes com câncer (Krcmery *et al*, 1997; Camin *et al*, 1999; Austen *et al*, 2001; Letscher-Bru *et al*, 2002; Vismer *et al*, 2002; Bigley *et al*, 2004).

Agentes do complexo *Fusarium incarnatum* são reconhecidamente produtores de micotoxinas e já foram relacionados ocasionalmente como agentes causadores de infecções graves em pacientes imunocomprometidos (Bodey *et al*, 2002; Nucci *et al*, 2003; González *et al*, 2008). Conforme já mencionado, foi isolada 01 cepa do complexo *Fusarium incarnatum* proveniente de episódio de fungemia em paciente com leucemia. Até recentemente, este agente era denominado, na literatura, como *Fusarium semitectum*, porém sua nomenclatura foi alterada para *Fusarium incarnatum* (Leslie, Summerell, 2006).

Fusarium verticillioides, agente pertencente ao complexo de espécies *Gibberella fujikuroi*, é considerado o principal produtor de fumonisinas (micotoxinas produzidas por espécies do gênero *Fusarium*) e também um fitopatógeno primário em plantações de milho causando perdas econômicas importantes na indústria de grãos e cereais (Bullerman, 1996; Jurjevic *et al*, 2005; Leslie, Summerell, 2006; Azor *et al*, 2008). Este agente vem sendo investigado em diversos casos de infecções em humanos e está associado a síndromes clínicas que vão desde micoses superficiais (onicomicoses e ceratites micóticas) até infecções invasivas e disseminadas em pacientes imunocomprometidos (Bodey *et al*, 2002; Nucci *et al*, 2003; López *et al*, 2008; Gaujoux *et al*, 2008). Em nosso estudo isolamos apenas 02 cepas de *Fusarium verticillioides*, uma proveniente de episódio de ceratite micótica e outra oriunda de episódio de fungemia em paciente com doença hematológica.

No presente trabalho, isolamos apenas 01 cepa do complexo *Fusarium oxysporum*, associada a um caso de ceratite micótica causada por trauma com vegetais. O complexo *Fusarium oxysporum* é o causador de doenças em diversas espécies de banana e tomate. Este fungo é considerado a espécie de *Fusarium* com maior importância econômica na agricultura (Leslie, Summerell, 2006). Na micologia médica, este complexo de espécies está associado, principalmente, a casos de onicomicoses em pacientes imunocompetentes, mas também já foi isolado em casos de ceratites e fungemias em pacientes imunocomprometidos (Godoy *et al*, 2004B; López *et al*, 2008).

Em relação às cepas ambientais, mais uma vez, o complexo *Fusarium solani* foi o mais isolado, responsável por 80,6% do total de cepas avaliadas, seguido pelos complexos *Fusarium dimerum* e *Fusarium incarnatum*, responsáveis por 9,7% do total de cepas cada um. Não obtivemos nenhum isolamento de *Fusarium verticillioides* ou de *Fusarium oxysporum* entre as cepas ambientais estudadas. Estes dados são compatíveis com os achados de outros autores (Anaissie *et al*, 2001; Teixeira *et al*, 2005).

Ainda no do presente estudo, avaliamos o perfil de susceptibilidade aos antifúngicos das cepas de *Fusarium* spp. isoladas de diversos sítios clínicos e ambientais no Brasil. Em avaliação de publicações brasileiras, não encontramos qualquer estudo semelhante, sendo este o primeiro trabalho realizado em nosso meio a caracterizar o perfil de susceptibilidade de amostras de *Fusarium* spp. frente a anfotericina B e triazólicos.

Apesar dos ensaios de susceptibilidade com fungos filamentosos não terem ainda consolidados os pontos de corte (“breakpoints”) para interpretação clínica dos valores de CIMs, eles permitem uma avaliação sobre o potencial terapêutico de drogas antifúngicas em relação a diferentes patógenos (Espinell-Ingroff *et al*, 1997; Espinel-Ingroff *et al*, 2005; Espinel-Ingroff *et al*, 2007A; Espinell-Ingroff *et al*, 2007B; CLSI, 2008).

No presente trabalho, a fim de nos assegurarmos da reprodutibilidade dos resultados obtidos, decidimos incluir 04 organismos-controle listados entre os organismos da American Type Culture Collection (ATCC): *Candida parapsilosis* ATCC 22019, *Candida krusei* ATCC 6258, *Aspergillus flavus* ATCC 204304, *Fusarium solani* ATCC 62877. Os resultados gerados por estes organismos-controle ao longo de todos os experimentos realizados foram compatíveis com os já publicados na literatura e estavam dentro do limites sugeridos pelo documento M38-A2 do CLSI. Estes dados confirmam que a metodologia preconizada pelo CLSI, quando aplicada de forma correta, gera resultados reprodutíveis. Da mesma forma, confirmamos que os ensaios realizados ao longo deste estudo observaram os padrões de qualidade esperados.

A recomendação do CLSI, no documento M38-A2, é de que para isolados de *Fusarium* spp. sejam realizadas leituras após 46 a 50h de incubação. Para efeito da investigação do impacto do tempo de incubação nos valores de

CIMs, decidimos incluir em nosso protocolo, além das leituras realizadas após 24, 48 e 72h de incubação.

Em nossa investigação, a grande maioria das cepas testadas (98,4% a 100%) apresentou valor de CIM $>64,0\mu\text{g/mL}$ frente à fluconazol e 5-fluorocitosina. Para itraconazol, este perfil de susceptibilidade também foi semelhante, visto que 96% das cepas foram inibidas somente com concentrações de droga $>16,0\mu\text{g/mL}$. Este padrão é compatível com o resultado de outros autores que sugerem baixas taxas ou nenhuma atividade antifúngica das drogas acima mencionadas contra espécies de *Fusarium* (Cuenca-Estrella *et al*, 2006; Alastruey-Izquierdo *et al*, 2008). Vale mencionar que houve pequena variação nas leituras de 24, 48 e 72h de incubação nos ensaios realizados com estes antifúngicos.

Em relação a anfotericina B e voriconazol verificamos que, entre as 157 amostras clínicas e ambientais testadas, houve aumento substancial no percentual de cepas com valores de CIMs $\geq 2,0\mu\text{g/mL}$ nas leituras realizadas após 48/72h de incubação (Tabelas 6C, 10C, 11C e 15C).

Outros autores também observaram a relação direta existente entre período de incubação e aumento nos resultados de valores de CIMs com

triazólicos e anfotericina B. Paphitou *et al* (2002) avaliaram os valores de CIMs apresentados por 18 cepas do complexo *Fusarium solani* e 04 cepas do complexo *Fusarium oxysporum* em 03 diferentes períodos de incubação: 24, 48 e 72h. Estes autores sugerem que os menores valores de CIMs (até 2,0µg/mL) obtidos nas primeiras leituras de ensaios, realizadas após 24h de incubação, podem representar os resultados que tenham maior correlação clínico-laboratorial. Esta afirmação deve ser vista com cautela uma vez que não foi baseada em qualquer estudo animal ou de correlação com dados clínicos colhidos ao longo do estudo, mas apenas referem-se a resultados de sucesso terapêutico obtidos por outros estudos onde pacientes com fusariose foram tratados com os mesmos antifúngicos (Reis *et al*, 2000; Consigny *et al*, 2003; Durand-Joly *et al*, 2003; Rodriguez *et al*, 2006; Vincent *et al*, 2003; Cudillo *et al*, 2006; Maramatsu *et al*, 2006).

Gomez-Lopez *et al* (2005) têm uma outra perspectiva sobre o efeito do período de incubação em relação ao resultado de valores de CIMs obtidos com fungos filamentosos. Estes pesquisadores testaram cepas de *Aspergillus* spp. à diferentes concentrações de inóculo e diferentes períodos de incubação e como resultado também verificaram um aumento de duas a seis diluições nos valores de CIMs obtidos entre leituras realizadas após 24h e 48h de incubação. A principal consideração destes autores sobre este achado é de que somente após 48h de incubação é que são exibidos crescimentos detectáveis de leitura visual para a maioria das cepas de fungos filamentosos. Sendo assim, permanece a dúvida

sobre como conduzir estes ensaios de forma a gerar resultados que tenham maior aplicabilidade clínica.

No presente estudo, em leituras realizadas após 24h de incubação, verificamos que todas as 157 cepas estudadas apresentavam crescimento visual substancial e detectável no poço-controle de crescimento e por isso decidimos manter esse período de leitura. Neste sentido, é possível afirmar que os problemas de crescimento de *Aspergillus* spp mencionados por Gomez-Lopez e cols. não parecem ocorrer com amostras de *Fusarium*.

Embora seja evidente que inúmeros fatores relacionados ao status imunológico do hospedeiro auxiliem no delineamento do sucesso ou do fracasso terapêutico, conforme já mencionado, temos disponível na literatura, diversos relatos de casos de fusarioses tratados com sucesso com anfotericina B ou voriconazol.

Analisando os valores de CIMs apresentados pelas 126 cepas clínicas testadas frente à voriconazol, verificamos que após 24 horas de incubação, 41% das amostras exibem valores de CIMs $\leq 2,0\mu\text{g/mL}$, enquanto que na leitura realizada após 48h de incubação esse percentual cai para 11%. Em relação à anfotericina B, a proporção de cepas clínicas com valores de CIMs

$\leq 2,0\mu\text{g/mL}$ em leituras realizadas após 24h é da ordem de 86%, já nas leituras realizadas após 48h de incubação esse percentual caiu para 58%. Tomando como base resultados de estudos clínicos envolvendo voriconazol (Reis *et al*, 2000; Consigny *et al*, 2003; Vincent *et al*, 2003; Maramatsu *et al*, 2006) e anfotericina B (Durand-Joly *et al*, 2003; Cudillo *et al*, 2006; Rodrigues *et al*, 2006; Selleslag, 2006) é possível advogar que resultados obtidos após 24h de incubação sejam mais relevantes para o tratamento com voriconazol e resultados obtidos após 48h de incubação sejam mais compatíveis para o tratamento com anfotericina B.

A maioria das publicações que avaliam o perfil de susceptibilidade de isolados de *Fusarium* spp. apresenta um número reduzido de cepas, muito inferior ao número avaliado em nosso estudo. Apesar destas limitações, espécies de *Fusarium* são relativamente resistentes à maioria dos antifúngicos e, segundo alguns autores, diferentes espécies apresentam padrões diferentes de susceptibilidade aos antifúngicos, sendo que cepas do complexo *Fusarium solani* são consideradas as mais resistentes (Nucci, Anaissie, 2007; Tortorano *et al*, 2008).

Os estudos de teste de susceptibilidade a antifúngicos disponíveis na literatura e abordados nesse trabalho foram realizados seguindo as normas do documento do CLSI e, portanto, relatam os resultados de valores de CIMs obtidos

após 48h de incubação e este será o período de leitura considerado na discussão de nossos resultados.

Alastruey-Izquierdo *et al* (2008) avaliaram o perfil de susceptibilidade de 67 isolados clínicos de *Fusarium* spp. contra anfotericina B e triazólicos. Os autores reportaram os valores de CIMs através do cálculo de média geométrica. O valor da média geométrica das 22 cepas do complexo *Fusarium solani* foi 1,33µg/mL para anfotericina B e >8,0µg/mL para voriconazol; para as 13 cepas de *Fusarium verticillioides* a média geométrica dos valores de CIMs B foi 1,53µg/mL para anfotericina e 8,0µg/mL para voriconazol. Já para as 14 cepas do complexo *Fusarium oxysporum* o valor da média geométrica foi 0,78µg/mL para anfotericina B e 4,0µg/mL para voriconazol. Estes autores sugerem que o padrão de susceptibilidade de cepas de *Fusarium* spp. não é apenas “espécie-dependente” e sim “isolado-dependente”, visto que algumas cepas da mesma espécie apresentaram padrão de susceptibilidade completamente diferentes.

Esta variabilidade de CIMs “isolado-dependente” mencionada no artigo anterior, em nossa experiência, ocorreu com cepas do complexo *Fusarium dimerum* e *Fusarium incarnatum*. Entre as 04 cepas clínicas do complexo *Fusarium dimerum* analisadas em nosso estudo, 02 apresentaram valor de CIM >16,0µg/mL para anfotericina B, enquanto que as outras 02 cepas apresentaram valor de CIM ≤2,0µg/mL nas leituras realizadas após 48h de incubação. Entre as

04 cepas do complexo *Fusarium incarnatum* o único isolado clínico analisado apresentou valor de CIM igual a 1,0µg/mL para anfotericina B, enquanto que entre as 03 cepas ambientais estudadas, 02 apresentaram valor de CIM ≤4,0µg/mL e 01 cepa apresentou CIM igual a 0,25µg/mL para anfotericina B.

No estudo conduzido por Tortorano *et al* (2008) foi avaliado o perfil de susceptibilidade de 75 cepas de *Fusarium* spp. contra anfotericina B e voriconazol incluindo 31 (41,3%) pertencentes a espécie *Fusarium verticillioides*, 19 (25,3%) ao complexo *Fusarium solani*, 10 (13,3%) ao complexo *Fusarium proliferatum*, 09 (12%) ao complexo *Fusarium oxysporum* e 06 (8%) aos complexos *Fusarium dimerum*, *Fusarium subglutinans* e *Fusarium* spp. Para anfotericina B 100% (19) dos isolados do complexo *Fusarium solani* e 49 (87,5%) cepas de *Fusarium* spp. apresentaram valores de CIMs ≤2,0µg/mL. Já para voriconazol, somente 02 (10,5%) cepas do complexo *Fusarium solani* e 69,6% das cepas de *Fusarium* spp. apresentaram valores de CIMs ≤2,0µg/mL.

Iqbal *et al* (2008) avaliaram o perfil de susceptibilidade de 85 cepas clínicas de *Fusarium* spp. isoladas de episódios de ceratites micóticas testadas contra anfotericina B e voriconazol. Entre as 85 cepas testadas, 57 (67,1%) pertenciam ao complexo *Fusarium solani*, 21 (24,7%) ao complexo *Fusarium oxysporum*, 05 (5,8%) ao complexo *Giberella fujikuroi*, 01 (1,2%) ao complexo *Fusarium incarnatum-equiseti* e 01 (1,2%) ao complexo *Fusarium dimerum*. Este estudo não apresentou o percentual de cepas inibidas a baixas concentrações das

drogas testadas, porém apresentou o valor de CIM₅₀ que para anfotericina B foi de 2,0µg/mL para todas as espécies testadas, e para voriconazol CIM₅₀ foi >8,0µg/mL para todas as cepas testadas.

Em nosso estudo, anfotericina B foi o antifúngico que apresentou maior atividade *in vitro* entre as 143 cepas do complexo *Fusarium solani* testadas. Destas, 81 (56,6%) foram inibidas com concentrações ≤2,0µg/mL. Este percentual está compatível com os registrados em estudos recentes que apresentam valores na ordem de 50% a 100% das cepas desta espécie sendo inibidas a baixas concentrações desta droga (Alastruey-Izquierdo *et al*, 2008; Iqbal *et al*, 2008; Tortorano *et al*, 2008).

Avaliando em conjunto o perfil de susceptibilidade de todas as cepas de *Fusarium* não-*solani* estudadas, verificamos que voriconazol foi o antifúngico que apresentou maior atividade *in vitro*. Entre as 14 cepas de *Fusarium* não-*solani* 49,9% foram inibidas em concentrações de voriconazol ≤2,0µg/mL, enquanto que das 143 cepas do complexo *Fusarium solani* apenas 10,5% foram inibidas quando submetidas às mesmas concentrações mencionadas. Este dado também é compatível com o estudo de Tortorano *et al* (2008), já mencionado, onde entre as cepas de *Fusarium* não-*solani* analisadas 69,6% foram inibidas a baixas concentrações de voriconazol.

Avaliando isoladamente os resultados do teste de susceptibilidade das cepas ambientais não observamos diferença no perfil apresentado em relação às cepas clínicas. Esse padrão também foi observado no estudo de Teixeira *et al* (2005) que avaliaram o perfil de susceptibilidade de fungos filamentosos ambientais e agentes colonizantes em pacientes imunocomprometidos.

Ao final deste estudo, pudemos observar que a literatura registra uma grande variabilidade na distribuição de espécies de *Fusarium* segundo a região geográfica e o sítio biológico de isolamento (micoses superficiais e sistêmicas). No Brasil, verificamos que há predomínio de cepas do complexo *Fusarium solani* tanto em amostras de micoses invasivas como em micoses não-invasivas. Entretanto, não obtivemos nenhuma cepa do complexo *Fusarium oxysporum* isolada de amostras invasivas e a literatura evidencia este agente como uma das principais espécies de *Fusarium não-solani* causadoras de micoses invasivas em pacientes com doença hematológica maligna.

Em relação aos ensaios de susceptibilidade aos antifúngicos pudemos concluir que para voriconazol leituras realizadas após 24h de incubação, ao invés de leituras após 48h de incubação, geram resultados mais semelhantes às taxas de sucesso terapêutico descritas em séries abertas tratadas com este medicamento.

Finalmente, tendo em vista os dados do perfil de susceptibilidade obtidos *in vitro*, anfotericina B apresenta maior atividade que voriconazol contra as cepas do complexo *Fusarium solani* e o oposto é observado entre as cepas de *Fusarium* não-*solani* avaliadas neste estudo.

6. CONCLUSÕES

Mediante nossos achados, concluímos que:

1. Entre as amostras clínicas de *Fusarium* spp. houve predomínio de cepas provenientes de episódios de ceratites micóticas (78,6%);
 2. O complexo *Fusarium solani* foi o agente mais prevalente (91,1%) tanto em amostras clínicas (infecções superficiais e invasivas) como em amostras ambientais;
 3. Entre as cepas de *Fusarium* não-*solani* mais prevalentes encontramos cepas do complexo *Fusarium dimerum* (4,5%) e do complexo *Fusarium incarnatum* (2,5%);
 4. O protocolo de teste de susceptibilidade *in vitro* a antifúngicos publicado pelo CLSI em 2008, para ensaios com fungos filamentosos, mostrou ser técnica de alta reprodutibilidade nos testes com *Fusarium* spp.;
 5. A maioria dos isolados (98 a 100%) apresentou baixa ou nula susceptibilidade a fluconazol, itraconazol e 5-fluorocitosina, independente dos períodos de incubação dos ensaios;
 6. Nos testes de susceptibilidade *in vitro* para anfotericina B e voriconazol foi documentado a existência de aumento substancial nos valores de CIMs
-

quando comparadas as leituras realizadas após 24h *versus* leituras após 48h/72h de incubação.

7. Anfotericina B foi o agente mais efetivo entre as 143 cepas do complexo *Fusarium solani*, visto que 56,6% das cepas foram inibidas a concentrações de droga $\leq 2,0\mu\text{g/mL}$, enquanto que para voriconazol somente 10,5% das cepas deste complexo de espécies foram inibidas a esta mesma concentração;
 8. Voriconazol foi o agente mais efetivo entre as 31 amostras de *Fusarium* spp., visto que 42,9% das cepas foram inibidas a concentrações de droga $\leq 2,0\mu\text{g/mL}$, enquanto que para anfotericina B somente 21,4% destas cepas foram inibidas a esta mesma concentração.
-

7. ANEXOS

ANEXO 1. Chave de Identificação de *Fusarium* spp. (De Hoog *et al*, 2000) - tradução.

- 1a. Colônias com crescimento lento (menos que 2cm de diâmetro em 7 a 10 dias); macroconídio geralmente com 1 a 2 septos **2**
- 1b. Colônias com crescimento rápido (mais de 2cm, geralmente, 4 a 8cm em 7 a 10 dias) **4**
- 2a. Macroconídios maiores que 55µm de comprimento; clamidoconídios ausentes *Fusarium aquaeductuum*
- 2b. Macroconídios menores que 25µm de comprimento; clamidoconídios presentes ou ausentes **3**
- 3a. Macroconídios extremamente curvos e pontiagudos no ápice; clamidoconídios presentes *Fusarium dimerum*
- 3b. Macroconídios extremamente curvos e menos pontiagudos no ápice; clamidoconídios ausentes *Plectosporium tabacinum*
- 4a. Microconídios raros ou ausentes; colônia bege a marrom; células conidiogênicas poliblasticas abundantes..... *Fusarium incarnatum*
- 4b. Microconídios abundantes **5**
- 5a. Microconídios em cadeia **6**
- 5b. Microconídios sem formar cadeia **9**
- 6a. Microconídios exclusivamente em monofiálides **7**
- 6b. Microconídios desenvolvendo-se a partir de poli- ou monofiálides **8**
- 7a. Presença de microconídios napiformes ou limoniformes .. *Fusarium napiforme*
- 7b. Ausência de microconídios napiformes ou limoniformes .. *Fusarium verticillioides*
- 8a. Clamidoconídios ausentes *Fusarium proliferatum*
- 8b. Clamidoconídios presentes e abundantes *Fusarium nygamai*
- 9a. Célula conidiogênica poliblastica freqüente **10**
- 9b. Célula conidiogênica poliblastica ausente **13**
-

Continuação.

- 10a. Colônias vermelhas; clamidoconídios abundantes;
blastocónídios predominantes *Fusarium chlamydosporum*
- 10b. Colônia rosa a violeta; clamicoconídios ausentes;
blastocónídios menos freqüentes **11**
- 11a. Microconídios produzidos por conidióforos prostrados
sobre hifas, crescendo horizontalmente sobre a
superfície do ágar; comumente asseptado, ovóide a
levemente elipsoidal *Fusarium sacchari*
- 11b. Microconídios produzidos por conidióforos eretos **12**
- 12a. Microconídio piriforme presente *Fusarium anthophilum*
- 12b. Microconídio piriforme ausente *Fusarium subglutinans*
- 13a. Microconídios em fiálides curtas e laterais; célula-pé não
distinta; colônias brancas a púrpuras ou alaranjadas na
presença de esporodóquios *Fusarium oxysporum*
- 13b. Microconídios em longas monofiálides; macroconídios
com célula-pé; colônias brancas, beges etc., e
esverdeadas ou azuladas na presença de
esporodóquios..... *Fusarium solani*
-

Anexo 2. Tabela com os valores de concentrações inibitórias mínimas (CIMs), expressados em µg/mL, obtidos dos 157 isolados de *F. spp.* frente a 05 antifúngicos.

Nº Seq.	Nº do Banco	Tipo de Amostra	Sítio de Isolamento	Identificação	Anfotericina B			Fluconazol			Itraconazol			5-fluorocitosina			Voriconazol		
					24H	48H	72H	24H	48H	72H	24H	48H	72H	24H	48H	72H	24H	48H	72H
1	BAMB - 001	Ambiental	água	<i>F. solani</i>	1	1	2	>64	>64	>64	>16	>16	>16	>64	>64	>64	4	8	8
2	BAMB - 010	Ambiental	água	<i>F. solani</i>	0,5	1	1	>64	>64	>64	>16	>16	>16	>64	>64	>64	4	8	8
3	BAMB - 013	Ambiental	água	<i>F. solani</i>	2	2	4	>64	>64	>64	>16	>16	>16	>64	>64	>64	4	8	8
4	BAMB - 014	Ambiental	água	<i>F. solani</i>	>16	>16	>16	>64	>64	>64	>16	>16	>16	>64	>64	>64	2	2	4
5	BAMB - 015	Ambiental	ar	<i>F. solani</i>	0,5	1	1	>64	>64	>64	>16	>16	>16	>64	>64	>64	4	8	8
6	BAMB - 016	Ambiental	ar	<i>F. solani</i>	0,5	1	2	>64	>64	>64	>16	>16	>16	>64	>64	>64	4	8	16
7	BAMB - 036	Ambiental	água	<i>F. dimerum</i>	4	4	8	>64	>64	>64	>16	>16	>16	>64	>64	>64	4	8	8
8	BAMB - 038	Ambiental	ar	<i>F. solani</i>	4	4	4	>64	>64	>64	>16	>16	>16	>64	>64	>64	2	4	8
9	BAMB - 042	Ambiental	ar	<i>F. solani</i>	1	1	2	16	32	32	0,5	0,5	0,5	>64	>64	>64	0,5	0,5	0,5
10	BAMB - 043	Ambiental	água	<i>F. solani</i>	2	2	4	>64	>64	>64	>16	>16	>16	>64	>64	>64	8	8	16
11	BAMB - 044	Ambiental	ar	<i>F. incarnatum</i>	2	2	4	32	32	64	1	1	2	>64	>64	>64	0,5	0,5	0,5
12	BAMB - 046	Ambiental	água	<i>F. solani</i>	4	4	8	>64	>64	>64	>16	>16	>16	>64	>64	>64	2	4	4
13	BAMB - 059	Ambiental	ar	<i>F. solani</i>	2	4	4	>64	>64	>64	>16	>16	>16	>64	>64	>64	8	16	16
14	BAMB - 082	Ambiental	ar	<i>F. incarnatum</i>	0,25	0,25	0,5	16	32	>64	1	1	1	>64	>64	>64	0,5	1	1
15	BAMB - 099	Ambiental	ar	<i>F. incarnatum</i>	2	4	4	>64	>64	>64	>16	>16	>16	>64	>64	>64	4	4	8
16	BAMB - 103	Ambiental	ar	<i>F. solani</i>	2	4	4	>64	>64	>64	>16	>16	>16	>64	>64	>64	4	8	16
17	BAMB - 208	Ambiental	ar	<i>F. solani</i>	2	4	4	>64	>64	>64	>16	>16	>16	>64	>64	>64	1	8	8
18	BFF - 001	clínica	ocular	<i>F. solani</i>	1	2	2	>64	>64	>64	>16	>16	>16	>64	>64	>64	4	8	8
19	BFF - 020	clínica	ocular	<i>F. solani</i>	1	2	2	>64	>64	>64	>16	>16	>16	>64	>64	>64	2	4	4
20	BFF - 021	clínica	ocular	<i>F. solani</i>	1	1	1	>64	>64	>64	>16	>16	>16	>64	>64	>64	8	8	8
21	BFF - 022	clínica	ocular	<i>F. solani</i>	2	2	2	>64	>64	>64	>16	>16	>16	>64	>64	>64	4	8	8
22	BFF - 023	clínica	ocular	<i>F. solani</i>	1	1	1	>64	>64	>64	>16	>16	>16	>64	>64	>64	4	8	8
23	BFF - 027	clínica	ocular	<i>F. solani</i>	0,5	1	2	>64	>64	>64	>16	>16	>16	>64	>64	>64	4	8	8
24	BFF - 028	clínica	ocular	<i>F. solani</i>	0,5	1	2	>64	>64	>64	>16	>16	>16	>64	>64	>64	8	16	16
25	BFF - 031	clínica	ocular	<i>F. solani</i>	4	4	8	>64	>64	>64	>16	>16	>16	>64	>64	>64	8	8	8
26	BFF - 034	clínica	sangue	<i>F. solani</i>	2	2	4	>64	>64	>64	>16	>16	>16	>64	>64	>64	0,5	2	2
27	BFF - 035	clínica	urina	<i>F. solani</i>	2	2	4	>64	>64	>64	>16	>16	>16	>64	>64	>64	2	8	8
28	BFF - 047	clínica	g. micetoma	<i>F. solani</i>	2	4	4	>64	>64	>64	>16	>16	>16	>64	>64	>64	8	8	16
29	BFF - 065	clínica	ocular	<i>F. solani</i>	1	2	2	>64	>64	>64	>16	>16	>16	>64	>64	>64	4	16	16
30	BFF - 071	clínica	ocular	<i>F. oxysporum</i>	4	16	16	>64	>64	>64	>16	>16	>16	>64	>64	>64	2	2	4
31	BFF - 075	clínica	ocular	<i>F. verticillioides</i>	2	2	4	>64	>64	>64	>16	>16	>16	>64	>64	>64	2	2	2
32	BFF - 081	clínica	ocular	<i>F. dimerum</i>	1	1	1	>64	>64	>64	>16	>16	>16	>64	>64	>64	4	4	4

Nº Seq.	Nº do Banco	Tipo de Amostra	Sítio de Isolamento	Identificação	Anfotericina B			Fluconazol			Itraconazol			5-fluorocitosina			Voriconazol		
					24H	48H	72H	24H	48H	72H	24H	48H	72H	24H	48H	72H	24H	48H	72H
33	BFF - 082	clínica	ocular	<i>F. solani</i>	1	2	4	>64	>64	>64	>16	>16	>16	>64	>64	>64	1	4	4
34	BFF - 083	clínica	ocular	<i>F. solani</i>	0,25	2	4	>64	>64	>64	>16	>16	>16	>64	>64	>64	4	8	8
35	BFF - 084	clínica	ocular	<i>F. solani</i>	0,5	1	2	>64	>64	>64	>16	>16	>16	>64	>64	>64	8	16	16
36	BFF - 085	clínica	ocular	<i>F. solani</i>	2	4	4	>64	>64	>64	>16	>16	>16	>64	>64	>64	4	8	8
37	BFF - 086	clínica	ocular	<i>F. solani</i>	2	4	4	>64	>64	>64	>16	>16	>16	>64	>64	>64	16	16	16
38	BFF - 087	clínica	ocular	<i>F. solani</i>	2	2	2	>64	>64	>64	>16	>16	>16	>64	>64	>64	2	4	4
39	BFF - 088	clínica	ocular	<i>F. solani</i>	2	4	4	>64	>64	>64	>16	>16	>16	>64	>64	>64	4	8	16
40	BFF - 089	clínica	ocular	<i>F. solani</i>	0,5	2	2	>64	>64	>64	>16	>16	>16	>64	>64	>64	2	4	4
41	BFF - 090	clínica	ocular	<i>F. solani</i>	2	2	2	>64	>64	>64	>16	>16	>16	>64	>64	>64	2	4	4
42	BFF - 091	clínica	ocular	<i>F. solani</i>	0,5	1	2	16	>64	>64	1	>16	>16	>64	>64	>64	2	4	4
43	BFF - 092	clínica	ocular	<i>F. solani</i>	1	2	2	>64	>64	>64	>16	>16	>16	>64	>64	>64	4	8	8
44	BFF - 093	clínica	ocular	<i>F. solani</i>	2	2	2	>64	>64	>64	>16	>16	>16	>64	>64	>64	4	8	8
45	BFF - 094	clínica	ocular	<i>F. solani</i>	1	2	2	>64	>64	>64	>16	>16	>16	>64	>64	>64	2	4	4
46	BFF - 095	clínica	ocular	<i>F. solani</i>	1	2	2	>64	>64	>64	>16	>16	>16	>64	>64	>64	4	8	8
47	BFF - 096	clínica	ocular	<i>F. solani</i>	1	2	2	>64	>64	>64	>16	>16	>16	>64	>64	>64	2	4	4
48	BFF - 097	clínica	ocular	<i>F. solani</i>	2	4	4	>64	>64	>64	>16	>16	>16	>64	>64	>64	4	4	4
49	BFF - 098	clínica	ocular	<i>F. solani</i>	2	2	2	>64	>64	>64	>16	>16	>16	>64	>64	>64	4	4	4
50	BFF - 099	clínica	ocular	<i>F. solani</i>	0,5	0,5	1	32	>64	>64	1	2	>16	>64	>64	>64	2	8	8
51	BFF - 100	clínica	ocular	<i>F. solani</i>	2	2	2	>64	>64	>64	>16	>16	>16	>64	>64	>64	2	2	2
52	BFF - 101	clínica	ocular	<i>F. solani</i>	0,5	2	2	>64	>64	>64	>16	>16	>16	>64	>64	>64	2	2	2
53	BFF - 102	clínica	ocular	<i>F. solani</i>	2	2	4	>64	>64	>64	>16	>16	>16	>64	>64	>64	2	4	4
54	BFF - 103	clínica	ocular	<i>F. solani</i>	1	2	2	>64	>64	>64	>16	>16	>16	>64	>64	>64	2	2	2
55	BFF - 104	clínica	ocular	<i>F. solani</i>	2	4	4	>64	>64	>64	>16	>16	>16	>64	>64	>64	2	4	4
56	BFF - 105	clínica	ocular	<i>F. solani</i>	1	2	2	>64	>64	>64	>16	>16	>16	>64	>64	>64	2	4	4
57	BFF - 106	clínica	ocular	<i>F. solani</i>	2	4	4	>64	>64	>64	>16	>16	>16	>64	>64	>64	4	8	16
58	BFF - 107	clínica	ocular	<i>F. solani</i>	1	2	2	>64	>64	>64	>16	>16	>16	>64	>64	>64	2	2	2
59	BFF - 108	clínica	ocular	<i>F. solani</i>	1	2	2	>64	>64	>64	>16	>16	>16	>64	>64	>64	4	16	16
60	BFF - 109	clínica	ocular	<i>F. solani</i>	8	16	16	>64	>64	>64	>16	>16	>16	>64	>64	>64	8	8	8
61	BFF - 110	clínica	ocular	<i>F. solani</i>	2	8	8	>64	>64	>64	>16	>16	>16	>64	>64	>64	4	4	8
62	BFF - 111	clínica	ocular	<i>F. solani</i>	2	2	4	>64	>64	>64	>16	>16	>16	>64	>64	>64	2	8	8
63	BFF - 112	clínica	ocular	<i>F. solani</i>	2	2	2	>64	>64	>64	>16	>16	>16	>64	>64	>64	2	4	4
64	BFF - 114	clínica	ocular	<i>F. solani</i>	2	4	8	>64	>64	>64	>16	>16	>16	>64	>64	>64	2	4	4
65	BFF - 115	clínica	ocular	<i>F. solani</i>	1	4	4	>64	>64	>64	>16	>16	>16	>64	>64	>64	2	4	8
66	BFF - 116	clínica	ocular	<i>F. solani</i>	2	2	4	>64	>64	>64	>16	>16	>16	>64	>64	>64	2	2	4

Nº Seq.	Nº do Banco	Tipo de Amostra	Sítio de Isolamento	Identificação	Anfotericina B			Fluconazol			Itraconazol			5-fluorocitosina			Voriconazol		
					24H	48H	72H	24H	48H	72H	24H	48H	72H	24H	48H	72H	24H	48H	72H
67	BFF - 117	clínica	ocular	<i>F. solani</i>	2	4	8	>64	>64	>64	>16	>16	>16	>64	>64	>64	4	8	8
68	BFF - 118	clínica	ocular	<i>F. solani</i>	4	4	4	>64	>64	>64	>16	>16	>16	>64	>64	>64	4	4	8
69	BFF - 121	clínica	ocular	<i>F. solani</i>	2	4	4	>64	>64	>64	>16	>16	>16	>64	>64	>64	2	4	8
70	BFF - 122	clínica	ocular	<i>F. solani</i>	2	4	4	>64	>64	>64	>16	>16	>16	>64	>64	>64	4	8	8
71	BFF - 123	clínica	ocular	<i>F. solani</i>	2	2	4	>64	>64	>64	>16	>16	>16	>64	>64	>64	4	4	8
72	BFF - 124	clínica	ocular	<i>F. solani</i>	2	2	2	>64	>64	>64	>16	>16	>16	>64	>64	>64	2	4	4
73	BFF - 125	clínica	ocular	<i>F. solani</i>	2	4	4	>64	>64	>64	>16	>16	>16	>64	>64	>64	2	4	4
74	BFF - 126	clínica	ocular	<i>F. solani</i>	2	4	4	>64	>64	>64	>16	>16	>16	>64	>64	>64	2	>16	>16
75	BFF - 127	clínica	ocular	<i>F. solani</i>	1	2	2	>64	>64	>64	>16	>16	>16	>64	>64	>64	2	4	4
76	BFF - 128	clínica	ocular	<i>F. solani</i>	2	4	4	>64	>64	>64	>16	>16	>16	>64	>64	>64	2	4	16
77	BFF - 129	clínica	ocular	<i>F. solani</i>	4	4	8	>64	>64	>64	>16	>16	>16	>64	>64	>64	8	16	16
78	BFF - 130	clínica	ocular	<i>F. solani</i>	0,5	2	2	>64	>64	>64	>16	>16	>16	>64	>64	>64	2	4	4
79	BFF - 131	clínica	ocular	<i>F. solani</i>	0,5	2	2	>64	>64	>64	>16	>16	>16	>64	>64	>64	4	8	16
80	BFF - 143	clínica	ocular	<i>F. solani</i>	2	2	4	>64	>64	>64	>16	>16	>16	>64	>64	>64	2	8	8
81	BFF - 145	clínica	ocular	<i>F. solani</i>	1	2	2	>64	>64	>64	>16	>16	>16	>64	>64	>64	2	4	4
82	BFF - 148	clínica	ocular	<i>F. solani</i>	4	4	4	>64	>64	>64	>16	>16	>16	>64	>64	>64	8	8	8
83	BFF - 153	clínica	ocular	<i>F. solani</i>	4	4	8	>64	>64	>64	>16	>16	>16	>64	>64	>64	8	8	8
84	BFF - 156	clínica	ocular	<i>F. solani</i>	0,5	1	2	>64	>64	>64	>16	>16	>16	>64	>64	>64	8	16	16
85	BFF - 160	clínica	ocular	<i>F. solani</i>	2	2	2	>64	>64	>64	>16	>16	>16	>64	>64	>64	4	8	8
86	BFF - 161	clínica	ocular	<i>F. solani</i>	2	2	2	>64	>64	>64	>16	>16	>16	>64	>64	>64	1	4	4
87	BFF - 162	clínica	ocular	<i>F. dimerum</i>	2	2	4	>64	>64	>64	>16	>16	>16	>64	>64	>64	8	8	8
88	BFF - 163	clínica	ocular	<i>F. solani</i>	1	2	2	>64	>64	>64	>16	>16	>16	>64	>64	>64	2	4	4
89	BFF - 165	clínica	ocular	<i>F. solani</i>	4	16	16	>64	>64	>64	>16	>16	>16	>64	>64	>64	8	8	16
90	BFF - 168	clínica	ocular	<i>F. solani</i>	4	16	16	>64	>64	>64	>16	>16	>16	>64	>64	>64	4	8	8
91	BFF - 169	clínica	ocular	<i>F. solani</i>	2	16	16	>64	>64	>64	>16	>16	>16	>64	>64	>64	4	8	8
92	BFF - 170	clínica	ocular	<i>F. solani</i>	0,5	1	2	>64	>64	>64	>16	>16	>16	>64	>64	>64	8	16	16
93	BFF - 184	clínica	ocular	<i>F. solani</i>	8	16	16	>64	>64	>64	>16	>16	>16	>64	>64	>64	4	8	8
94	BFF - 186	clínica	sangue	<i>F. solani</i>	2	4	8	>64	>64	>64	>16	>16	>16	>64	>64	>64	8	16	16
95	BFF - 187	clínica	ocular	<i>F. solani</i>	2	2	4	>64	>64	>64	>16	>16	>16	>64	>64	>64	4	4	8
96	BFF - 189	clínica	ocular	<i>F. solani</i>	1	2	2	>64	>64	>64	>16	>16	>16	>64	>64	>64	2	2	4
97	BFF - 190	clínica	ocular	<i>F. solani</i>	8	16	16	>64	>64	>64	>16	>16	>16	>64	>64	>64	8	16	16
98	BFF - 191	clínica	ocular	<i>F. solani</i>	8	16	16	>64	>64	>64	>16	>16	>16	>64	>64	>64	4	8	8
99	BFF - 192	clínica	sangue	<i>F. solani</i>	2	8	8	>64	>64	>64	>16	>16	>16	>64	>64	>64	2	4	8
100	BFF - 198	clínica	ocular	<i>F. solani</i>	0,5	1	2	>64	>64	>64	>16	>16	>16	>64	>64	>64	4	8	8

Nº Seq.	Nº do Banco	Tipo de Amostra	Sítio de Isolamento	Identificação	Anfotericina B			Fluconazol			Itraconazol			5-fluorocitosina			Voriconazol		
					24H	48H	72H	24H	48H	72H	24H	48H	72H	24H	48H	72H	24H	48H	72H
101	BFF - 204	clínica	ocular	<i>F. solani</i>	2	2	2	>64	>64	>64	>16	>16	>16	>64	>64	>64	8	16	16
102	BFF - 212	Ambiental	ar	<i>F. solani</i>	1	2	2	>64	>64	>64	>16	>16	>16	>64	>64	>64	2	8	16
103	BFF - 213	Ambiental	ar	<i>F. solani</i>	1	2	2	>64	>64	>64	>16	>16	>16	>64	>64	>64	4	8	16
104	BFF - 214	Ambiental	swab azulejo	<i>F. solani</i>	2	4	4	>64	>64	>64	>16	>16	>16	>64	>64	>64	4	4	8
105	BFF - 215	Ambiental	swab azulejo	<i>F. solani</i>	2	2	2	>64	>64	>64	>16	>16	>16	>64	>64	>64	4	8	16
106	BFF - 216	Ambiental	swab pia	<i>F. solani</i>	2	4	4	>64	>64	>64	>16	>16	>16	>64	>64	>64	4	4	8
107	BFF - 217	Ambiental	swab ralo	<i>F. solani</i>	2	4	4	>64	>64	>64	>16	>16	>16	>64	>64	>64	2	2	2
108	BFF - 218	Ambiental	swab azulejo	<i>F. solani</i>	2	4	4	>64	>64	>64	>16	>16	>16	>64	>64	>64	1	2	4
109	BFF - 219	Ambiental	swab azulejo	<i>F. solani</i>	2	2	4	>64	>64	>64	>16	>16	>16	>64	>64	>64	2	8	8
110	BFF - 220	Ambiental	swab ralo	<i>F. solani</i>	2	4	4	>64	>64	>64	>16	>16	>16	>64	>64	>64	2	4	8
111	BFF - 221	Ambiental	swab boc.chuv.	<i>F. solani</i>	2	2	4	>64	>64	>64	>16	>16	>16	>64	>64	>64	8	8	16
112	BFF - 222	clínica	sangue	<i>F. solani</i>	1	1	1	>64	>64	>64	>16	>16	>16	>64	>64	>64	4	16	16
113	BFF - 223	clínica	sangue	<i>F. solani</i>	1	1	1	>64	>64	>64	>16	>16	>16	>64	>64	>64	4	4	4
114	BFF - 224	clínica	sangue	<i>F. solani</i>	2	2	2	>64	>64	>64	>16	>16	>16	>64	>64	>64	2	2	2
115	BFF - 225	clínica	seios da face	<i>F. solani</i>	4	8	8	>64	>64	>64	>16	>16	>16	>64	>64	>64	8	8	8
116	BFF - 226	clínica	sangue	<i>F. solani</i>	4	4	4	>64	>64	>64	>16	>16	>16	>64	>64	>64	8	8	16
117	BFF - 227	clínica	fezes	<i>F. solani</i>	1	2	2	>64	>64	>64	>16	>16	>16	>64	>64	>64	4	8	8
118	BFF - 228	Ambiental	swab caldeira	<i>F. solani</i>	2	4	8	>64	>64	>64	>16	>16	>16	>64	>64	>64	4	8	16
119	BFF - 230	clínica	escamas pele	<i>F. solani</i>	2	2	4	>64	>64	>64	>16	>16	>16	>64	>64	>64	1	2	2
120	BFF - 231	clínica	fezes	<i>F. solani</i>	2	4	8	>64	>64	>64	>16	>16	>16	>64	>64	>64	4	8	16
121	BFF - 232	clínica	ocular	<i>F. solani</i>	2	4	4	>64	>64	>64	>16	>16	>16	>64	>64	>64	8	8	8
122	BFF - 236	clínica	g. micetoma	<i>F. solani</i>	1	4	4	>64	>64	>64	>16	>16	>16	>64	>64	>64	4	4	4
123	BFF - 237	clínica	interdigital	<i>F. solani</i>	2	4	4	>64	>64	>64	>16	>16	>16	>64	>64	>64	2	8	8
124	BFF - 238	clínica	interdigital	<i>F. solani</i>	2	4	4	>64	>64	>64	>16	>16	>16	>64	>64	>64	2	16	16
125	BFF - 239	clínica	sangue	<i>F. solani</i>	2	2	2	>64	>64	>64	>16	>16	>16	>64	>64	>64	1	1	1
126	BFF - 258	clínica	ocular	<i>F. solani</i>	1	1	2	>64	>64	>64	>16	>16	>16	>64	>64	>64	4	8	8
127	BFF - 301	clínica	ocular	<i>F. solani</i>	2	2	2	>64	>64	>64	>16	>16	>16	>64	>64	>64	4	4	4
128	BFF - 310	clínica	ocular	<i>F. solani</i>	2	2	4	>64	>64	>64	>16	>16	>16	>64	>64	>64	8	16	16
129	BFF - 311	clínica	ocular	<i>F. solani</i>	2	4	4	>64	>64	>64	>16	>16	>16	>64	>64	>64	16	16	16
130	BFF - 312	clínica	ocular	<i>F. solani</i>	2	2	2	>64	>64	>64	>16	>16	>16	>64	>64	>64	4	4	8
131	BFF - 316	clínica	ocular	<i>F. solani</i>	2	4	8	>64	>64	>64	>16	>16	>16	>64	>64	>64	8	8	16
132	BFF - 319	clínica	ocular	<i>F. dimerum</i>	>16	>16	>16	>64	>64	>64	>16	>16	>16	>64	>64	>64	2	4	4
133	BFF - 320	clínica	ocular	<i>F. solani</i>	2	4	4	>64	>64	>64	>16	>16	>16	>64	>64	>64	8	16	16
134	BFF - 321	clínica	ocular	<i>F. solani</i>	2	4	4	>64	>64	>64	>16	>16	>16	>64	>64	>64	8	8	8

Nº Seq.	Nº do Banco	Tipo de Amostra	Sítio de Isolamento	Identificação	Anfotericina B			Fluconazol			Itraconazol			5-fluorocitosina			Voriconazol		
					24H	48H	72H	24H	48H	72H	24H	48H	72H	24H	48H	72H	24H	48H	72H
135	BFF - 322	clínica	ocular	<i>F. solani</i>	0,5	2	2	>64	>64	>64	>16	>16	>16	>64	>64	>64	1	2	2
136	BFF - 338	Ambiental	swab pia	<i>F. dimerum</i>	2	4	4	>64	>64	>64	>16	>16	>16	>64	>64	>64	2	2	4
137	BFF - 357	Ambiental	água	<i>F. dimerum</i>	2	4	4	>64	>64	>64	>16	>16	>16	>64	>64	>64	2	4	4
138	BFF - 361	clínica	sangue	<i>F. solani</i>	2	4	4	>64	>64	>64	>16	>16	>16	>64	>64	>64	2	4	4
139	BFF - 372	Ambiental	swab caldeira	<i>F. solani</i>	4	4	8	>64	>64	>64	>16	>16	>16	>64	>64	>64	8	16	16
140	BFF - 375	clínica	ocular	<i>F. solani</i>	0,5	0,5	1	16	>64	>64	1	4	>16	>64	>64	>64	2	4	4
141	BFF - 376	clínica	ocular	<i>F. solani</i>	2	2	4	>64	>64	>64	>16	>16	>16	>64	>64	>64	4	4	4
142	BFF - 382	clínica	ocular	<i>F. solani</i>	0,5	1	1	>64	>64	>64	>16	>16	>16	>64	>64	>64	2	16	>16
143	BFF - 386	clínica	ocular	<i>F. solani</i>	2	2	2	>64	>64	>64	>16	>16	>16	>64	>64	>64	4	8	8
144	BFF - 387	clínica	ocular	<i>F. solani</i>	2	8	8	>64	>64	>64	>16	>16	>16	>64	>64	>64	4	8	8
145	BFF - 389	clínica	sec.ferida	<i>F. solani</i>	0,5	1	2	>64	>64	>64	>16	>16	>16	>64	>64	>64	4	8	8
146	BFF - 394	clínica	ocular	<i>F. solani</i>	1	2	4	>64	>64	>64	>16	>16	>16	>64	>64	>64	2	8	8
147	BFF - 403	clínica	sangue	<i>F. solani</i>	16	16	>16	>64	>64	>64	>16	>16	>16	>64	>64	>64	8	8	8
148	BFF - 407	clínica	ocular	<i>F. solani</i>	1	1	1	16	32	>64	1	8	>16	>64	>64	>64	4	4	4
149	BFF - 425	clínica	escamas pele	<i>F. solani</i>	8	16	16	>64	>64	>64	>16	>16	>16	>64	>64	>64	4	16	16
150	BFF - 430	clínica	ocular	<i>F. solani</i>	2	8	8	>64	>64	>64	>16	>16	>16	>64	>64	>64	8	8	8
151	BFF - 434	clínica	ocular	<i>F. dimerum</i>	1	16	16	>64	>64	>64	>16	>16	>16	>64	>64	>64	2	4	4
152	BFF - 435	clínica	sangue	<i>F. verticillioides</i>	1	4	8	>64	>64	>64	>16	>16	>16	>64	>64	>64	1	2	2
153	LEMI 3267A	clínica	biopsia pele	<i>F. solani</i>	0,5	4	4	>64	>64	>64	>16	>16	>16	>64	>64	>64	8	16	16
154	LEMI 3267B	clínica	sangue	<i>F. solani</i>	2	4	8	>64	>64	>64	>16	>16	>16	>64	>64	>64	8	8	8
155	LEMI 3267C	clínica	sangue	<i>F. solani</i>	4	4	8	>64	>64	>64	>16	>16	>16	>64	>64	>64	8	8	8
156	TMO - 009	clínica	seios da face	<i>F. solani</i>	2	2	2	>64	>64	>64	>16	>16	>16	>64	>64	>64	2	4	4
157	TMO - 022	clínica	sangue	<i>F. incarnatum</i>	1	1	1	32	>64	>64	0,5	1	1	>64	>64	>64	4	4	8

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Alastruey-Izquierdo A, Cuenca-Estrella M, Monzón A, Mellado E, Rodríguez-Tudela JL. 2008. Antifungal susceptibility profile of clinical *Fusarium* spp. isolates identified by molecular methods. J Antimicrob Chemother. 61 (4): 805-9.

Anaissie EJ, Rinaldi MG. 1990. *Fusarium* and the immunocompromised host: liaisons dangerousness. Journal of Medicine. 12: 586-7.

Anaissie EJ, Kuchar RT, Rex JH, Francesconi A, Kasai M, Muller FCC, Lozano-Chiu M, Summerbell RC, Dignani MC, Chanock SJ, Walsh TJ. 2001A. Fusariosis associated with pathogenic *Fusarium* species colonization of a hospital water system: a new paradigm for the epidemiology of opportunistic mold infections. Clin Infect Dis. 33: 1871-8.

Anaissie EJ, Costa SF. 2001. Nosocomial aspergillosis is waterborne. Clin Infect Dis 33 (9):1546-8.

Anaissie EJ, Stratton SL, Dignani MC, Lee CK, Summerbell RC, Rex JH, Monson TP, Walsh TJ. 2003. Pathogenic molds (including *Aspergillus* species) in hospital water distribution system: a 3-year prospective study and clinical implications for patients with hematologic malignancies. Blood, 101 (7): 2542-6.

Arrese JE, Valverde JC, Pierard GE. 2005. Revisiting the epidemiology of onychomycoses. Rev Iberoam Micol. 22 (3): 163-6.

Arvatinidou M, Kanellou K, Constantinides TC, Katsouyannopoulos V. 1999. The occurrence of fungi in Hospital and community potable waters. Lett Appl Microbiol. 29: 81-4.

Austen B, McCarthy H, Wilkins B, Smith A, Duncombe A. 2001. Fatal disseminated *Fusarium* infection in acute lymphoblastic leukemia in complete remission. J Clin Pathol. 54 (6): 488-90.

Azor M, Gené J, Cano J, Sutton DA, Fothergill AW, Rinaldi MG, Guarro J. 2008. In vitro antifungal susceptibility and molecular characterization of clinical isolates of *Fusarium verticillioides* (*F. moniliforme*) and *Fusarium thapsinum*. *Antimicrob Agents Chemother.* 52 (6): 2228-31.

Baayen RP, O'Donnell K, Bonants PJ, Cigelnik E, Kroon LP, Roebroek EJ, Waalwijk C. 2000. Gene Genealogies and AFLP Analyses in the *Fusarium oxysporum* Complex Identify Monophyletic and Nonmonophyletic Formae Speciales Causing Wilt and Rot Disease. *Phytopathology.* 90 (8): 891-900.

Bader M, Jafri AK, Krueger T, Kumar V. 2003. *Fusarium* osteomyelitis of the foot in a patient with diabetes mellitus. *Scand J Infect Dis.* 35 (11-12): 895-6.

Badillet G, Traore F, Boniatsi L, N'Dir O. 1988. Flore fongique de la pulpe des doigts des ongles des mains chez les teigneux. *Bull Soc Fr Mycol Méd.* 17 (1): 155-8

Bedout C, Ayabaca J, Vega R, Méndez M, Santiago AR, Pabón ML, Tabares A, Arango M, Restrepo A, Newel V. 2003. Evaluation of *Candida* species susceptibility to fluconazole with the disk diffusion method. *Biomédica.* 23: 31-7.

Behre GF, Schwartz S, Lenz K, Ludwig WD, Wandt H, Schilling E, Heinemann V, Link H, Trittin A, Boenisch O, et al. 1995. Aerosol amphotericin B inhalations for prevention of invasive pulmonary aspergillosis in neutropenic cancer patients. *Ann Hematol.* 71 (6): 287-91.

Bibashi E, Kokolina E, Sigler L, Sofianou D, Tsakiris D, Visvardis G, Papadimitriou M, Memmos D. 2002. Three cases of uncommon fungal peritonitis in patients undergoing peritoneal dialysis. *Perit Dial Int.* 22 (4): 523-5.

Bigley VH, Duarte RF, Gosling RD, Kibbler CC, Seaton S, Potter M. 2004. *Fusarium dimerum* infection in a stem cell transplant recipient treated successfully with voriconazole. Bone Marrow Transplant. 34 (9): 815-7.

Bodey GP, Boktour M, Mays S, Duvic M, Kontoyiannis D, Hachem R, Raad I. 2002. Skin lesions associated with *Fusarium* infection. J Am Acad Dermatol. 47 (5): 659-66.

Booth C. 1971. The Genus *Fusarium*. Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, England, 103pp.

Booth C. 1975. The present status of *Fusarium* Taxonomy. Commonwealth Mycological Institute, Annual Reviews, 13: 83-93.

Boutati EI, Anaissie EJ. 1997. *Fusarium*, a significant emerging pathogen in patients with hematologic malignancy: ten years' experience at a cancer center and implications for management. Blood, 90 (3): 999-1008.

Bullerman LB. 1996. Occurrence of *Fusarium* and fumonisins on food grains and in foods. Adv Exp Med Biol. 392: 27-38.

Burguess LW. 1981. General ecology of the *Fusaria*. In: Nelson PE, Tousson TA, Cook RJ (eds), *Fusarium: disease, biology and taxonomy*. Pensilvania, State University Press, 474pp.

Calado NB, Sousa F Jr, Gomes NO, Cardoso FR, Zaror LC, Milan EP. 2006. *Fusarium* nail and skin infection: a report of eight cases from Natal, Brazil. Mycopathologia. 161 (1): 27-31.

Camin AM, Michelet C, Langanay T, de Place C, Chevrier S, Guého E, Guiguen C. 1999. Endocarditis due to *Fusarium dimerum* four years after coronary artery bypass grafting. Clin Infect Dis. 28 (1): 150.

Chander J, Chakrabarti A, Sharma A, Saini JS, Panigarhi D. 1993. Evaluation of Calcofluor staining in the diagnosis of fungal corneal ulcer. Mycoses. 36 (7-8): 243-5.

Chang DC, Grant GB, O'Donnell K, Wannemuehler KA, Noble-Wang J, Rao CY, Jacobson LM, Crowell CS, Sneed RS, Lewis FM, Schaffzin JK, Kainer MA, Genese CA, Alfonso EC, Jones DB, Srinivasan A, Fridkin SK, Park BJ; *Fusarium* Keratitis Investigation Team. 2006. Multistate outbreak of *Fusarium* keratitis associated with use of a contact lens solution. JAMA. 296 (8): 953-63.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE (CLSI). 2008. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of filamentous fungi. Approved standard – Second Edition. M38-A2. Wayne, Pa.

Cocuroccia B, Gubinelli E, Fazio M, Girolomoni G. 2003. Primary cutaneous actinomycosis of the forehead. J Eur Acad Dermatol Venereol. 17 (3): 331-3.

Consigny S, Dhedin N, Datry A, Choquet S, Leblond V, Chosidow O. 2003. Successful voriconazole treatment of disseminated *Fusarium* infection in an immunocompromised patient. Clin Infect Dis. 37 (2): 311-313.

Córdoba S, Rodero L, Vivot W, Abrantes R, Davel G, Vitale RG. 2008. *In vitro* interactions of antifungal agents against clinical isolates of *Fusarium* spp. Int J Antimicrob Agents. 31 (2): 171-4.

Cudillo L, Tendas A, Picardi A, Dentamaro T, Del Principe MI, Amadori S, de Fabritiis P. 2006. Successful treatment of disseminated fusariosis with high dose

liposomal amphotericin-B in a patient with acute lymphoblastic leukemia. *Ann Hematol.* 85(2):136-8.

Cuenca-Estrella M, Gomez-Lopez A, Mellado E, Buitrago MJ, Monzon A, Rodriguez-Tudela JL. 2006. Head-to-head comparison of the activities of currently available antifungal agents against 3,378 Spanish clinical isolates of yeasts and filamentous fungi. *Antimicrob Agents Chemother.* 50 (3): 917-21.

De Hoog GS, Buiting A, Tan CS, Stroebel AB, Kettering C, De Boer EJ, Naaf B, Brimicombe R, Nohlmans-Paulsen MKE, Fabius GTJ, Klokke AH, Visser LG. 1993. Diagnostic problems with imported cases of mycetoma in the Netherlands. *Mycoses.* 36: 81-7.

De Hoog GS, Guarro J, Gené J, Figueras MJ. 2000. *Atlas of Clinical Fungi*, 2nd ed, vol. 1. Centraalbureau voor Schimmelcultures, Utrecht, The Netherlands. 1126pp.

Denning DW, Evans EG, Kibbler CC, Richardson MD, Roberts MM, Rogers TR, Warnock DW, Warren RE. 1997A. Guidelines for the investigation of invasive fungal infections in haematological malignancy and solid organ transplantation. British Society for Medical Mycology. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 16 (6): 424-36.

Denning DW, Venkateswarlu K, Oakley KL, Anderson MJ, Manning NJ, Stevens DA, Warnock DW, Kelly SL. 1997B. Itraconazole resistance in *Aspergillus fumigatus*. *Antimicrob Agents Chemother.* 41 (6): 1364-8.

Denning DW, Radford SA, Oakley KL, Hall L, Johnson EM, Warnock DW. 1997C. Correlation between in-vitro susceptibility testing to itraconazole and in-vivo outcome of *Aspergillus fumigatus* infection. *J Antimicrob Chemother.* 40 (3): 401-14.

Dignani MC, Anaissie E. 2004. Human fusariosis. *Clin Microbiol Infect*, 10 (1): 67-75.

Durand-Joly I, Alfandari S, Benchikh Z, Rodrigue M, Espinel-Ingroff A, Catteau B, Cordevant C, Camus D, Dei-Cas E, Bauters F, Delhaes L, De Botton S. 2003. Successful outcome of disseminated *Fusarium* infection with skin localization treated with voriconazole and amphotericin B-lipid complex in a patient with acute leukemia. *J Clin Microbiol*. 41 (10): 4898-4900.

Dyavaiah M, Ramani R, Chu DS, Ritterband DC, Shah MK, Samsonoff WA, Chaturvedi S, Chaturvedi V. 2007. Molecular characterization, biofilm analysis and experimental biofouling study of *Fusarium* isolates from recent cases of fungal keratitis in New York State. *BMC Ophthalmol*. 30 - 7:1.

Espinel-Ingroff A, Kish CW Jr, Kerkering TM, Fromtling RA, Bartizal K, Galgiani JN, Villareal K, Pfaller MA, Gerarden T, Rinaldi MG, et al. 1992. Collaborative comparison of broth macrodilution and microdilution antifungal susceptibility tests. *J Clin Microbiol*. 30 (12): 3138-45.

Espinel-Ingroff A, Dawson K, Pfaller M, Anaissie E, Breslin B, Dixon D, Fothergill A, Paetznick V, Peter J, Rinaldi M, et al. 1995. Comparative and collaborative evaluation of standardization of antifungal susceptibility testing for filamentous fungi. *Antimicrob Agents Chemother*. 39 (2): 314-9.

Espinel-Ingroff A, Bartlett M, Bowden R, Chin NX, Cooper C Jr, Fothergill A, McGinnis MR, Menezes P, Messer SA, Nelson PW, Odds FC, Pasarell L, Peter J, Pfaller MA, Rex JH, Rinaldi MG, Shankland GS, Walsh TJ, Weitzman I. 1997. Multicenter evaluation of proposed standardized procedure for antifungal susceptibility testing of filamentous fungi. *J Clin Microbiol*.,35 (1): 139-43.

Espinel-Ingroff A, Bartlett M, Chaturvedi V, Ghannoum M, Hazen KC, Pfaller MA, Rinaldi M, Walsh TJ. 2001. Optimal susceptibility testing conditions for detection of azole resistance in *Aspergillus* spp.: NCCLS collaborative evaluation. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Antimicrob Agents Chemother. 45 (6): 1828-35.

Espinel-Ingroff A, Fothergill A, Ghannoum M, Manavathu E, Ostrosky-Zeichner L, Pfaller M, Rinaldi M, Schell W, Walsh T. 2005. Quality control and reference guidelines for CLSI broth microdilution susceptibility method (M 38-A document) for amphotericin B, itraconazole, posaconazole, and voriconazole. J Clin Microbiol. 43 (10): 5243-6.

Espinel-Ingroff A, Arthington-Skaggs B, Iqbal N, Ellis D, Pfaller MA, Messer S, Rinaldi M, Fothergill A, Gibbs DL, Wang A. 2007A. Multicenter evaluation of a new disk agar diffusion method for susceptibility testing of filamentous fungi with voriconazole, posaconazole, itraconazole, amphotericin B, and caspofungin. J Clin Microbiol. 45 (6):1811-20.

Espinel-Ingroff A, Fothergill A, Ghannoum M, Manavathu E, Ostrosky-Zeichner L, Pfaller MA, Rinaldi MG, Schell W, Walsh TJ. 2007B. Quality control and reference guidelines for CLSI broth microdilution method (M38-A document) for susceptibility testing of anidulafungin against molds. J Clin Microbiol. 45 (7): 2180-2.

Fischer NL, Burgess LW, Toussoun TA, Nelson PE. 1982. Carnation leaves as a substrate and for preserving cultures of *Fusarium* species. Phytopathology. 72: 151-3.

Flynn JT, Meislich D, Kaiser BA, Polinsky MS, Baluarte HJ. 1996. *Fusarium* peritonitis in a child on peritoneal dialysis: case report and review of the literature. Pert. Dial. Int., 16(1):52-7.

Fromtling RA, Galgiani JN, Pfaller MA, Espinel-Ingroff A, Bartizal KF, Bartlett MS, Body BA, Frey C, Hall G, Roberts GD. 1993. Multicenter evaluation of a broth macrodilution antifungal susceptibility test for yeasts. *Antimicrob Agents Chemother.* 37 (1): 39-45.

Gams W, Nirenberg HI. 1989. A contribution to the genetic definitions of *Fusarium*. *Mycotaxon.* 35: 407-16.

Gaujoux T, Chatel MA, Chaumeil C, Laroche L, Borderie VM. 2008. Outbreak of contact lens-related *Fusarium* keratitis in France. *Cornea.* 27 (9): 1018-21.

Gerson SL, Talbot GH, Hurwitz S, Strom BL, Lusk EJ, Cassileth PA. 1984. Prolonged granulocytopenia: the major risk factors for invasive pulmonary aspergillosis in patients with acute leukemia. *Ann Intern Med.* 100: 345-51.

Giacchino F, Belardi P, Merlino C, Aimino M, Garneri G, Cuffini AM, Tullio V. 1997. Treatment of *Fusarium* peritonitis in a peritoneal dialysis patient. *Perit Dial Int.* 17 (4): 403-4.

Girmenia C, Arcese W, Micozzi A, Martino P, Bianco P, Morace G. 1992. Onychomycosis as a possible origin of disseminated *Fusarium solani* infection in a patient with severe aplastic anemia. *Clin Infect Dis.* 14: 1167.

Godoy P, Cano J, Gene J, Guarro J, Hofling-Lima AL, Lopes Colombo A. 2004A. Genotyping of 44 isolates of *Fusarium solani*, the main agent of fungal keratitis in Brazil. *J Clin Microbiol.* 42 (10): 4494-7.

Godoy P, Nunes E, Silva V, Tomimori-Yamashita J, Zaror L, Fischman O. 2004B. Onychomycosis caused by *Fusarium solani* and *Fusarium oxysporum* in São Paulo, Brazil. *Mycopathologia.* 157 (3): 287-90.

Gomez-Lopez A, Aberkane A, Petrikkou E, Mellado E, Rodriguez-Tudela JL, Cuenca-Estrella M. 2005. Analysis of the influence of Tween concentration, inoculum size, assay medium, and reading time on susceptibility testing of *Aspergillus* spp. J Clin Microbiol. 43 (3): 1251-5.

González HH, Moltó GA, Pacin A, Resnik SL, Zelaya MJ, Masana M, Martínez EJ. 2008. Trichothecenes and mycoflora in wheat harvested in nine locations in Buenos Aires province, Argentina. Mycopathologia. 165 (2): 105-14.

Guadet J, Julien J, Lafay JF, Brygoo Y. 1989. Phylogeny of some *Fusarium* species, as determined by large-subunit rRNA sequence comparison. Mol Biol Evol. 6 (3): 227-42.

Guilhermetti E, Takahachi G, Shinobu CS, Svidzinski TI. 2007. *Fusarium* spp. as agents of onychomycosis in immunocompetent hosts. Int J Dermatol. 46 (8): 822-6.
Guarro J, Gené J. 1992. *Fusarium* infections. Criteria for the identification of the responsible species. Mycoses. 35: 109-14.

Guarro J, Gené J. 1995. Opportunistic Fusarial infections in humans. Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. 14: 741-54.

Haneke E. 1991. Fungal infections of the nail: nail disease. Semin Dermatol. 10: 41-51.

Healy M, Reece K, Walton D, Huong J, Frye S, Raad II, Kontoyiannis DP. 2005. Use of the Diversi Lab System for species and strain differentiation of *Fusarium* species isolates. J Clin Microbiol. 43 (10): 5278-80.

Hennequin C, Lavarde V, Poirot JL, Rabodonirina M, Datry A, Aractingi S, Dupouy-Camet J, Caillot D, Grange F, Kures L, Morin O, Lebeau B, Bretagne S, Guigen C, Basset D, Grillot R. 1997. Invasive *Fusarium* infections: a retrospective survey of

31 cases. The French 'Groupe d'Etudes des Mycoses Opportunistes' GEMO. J. Med. Vet. Mycol. 35 (2): 107-14.

Höfling-Lima AL. 2003. In: Atualização Terapêutica. Manual prático de diagnóstico e tratamento. Por um grupo de colaboradores especializados. 21 ed, São Paulo. Ed. Artes Médicas. 1134-1136pp.

Hospenthal DR, Murray CK, Rinaldi MG. 2004. The role of antifungal susceptibility testing in the therapy of candidiasis. Diagn Microbiol Infect Dis. 48 (3): 153-60.

Iqbal NJ, Boey A, Park BJ, Brandt ME. 2008. Determination of in vitro susceptibility of ocular *Fusarium* spp. isolates from keratitis cases and comparison of Clinical and Laboratory Standards Institute M38-A2 and E test methods. Diagn Microbiol Infect Dis. 62 (3): 348-50.

Jackle C, Leek JC, Olson DA, Robbins DL. 1983. Septic arthritis due to *Fusarium solani*. J Rheum, 10: 151-3.

Jensen TG, Gahrn-Hansen B, Arendrup M, Bruun B. 2004. *Fusarium* fungaemia in immunocompromised patients. Clin Microbiol Infect. 10 (6): 499-501.

Jurjevic Z, Wilson DM, Wilson JP, Geiser DM, Juba JH, Mubatanhema W, Widstrom NW, Rains GC. 2005. *Fusarium* species of the *Gibberella fujikuroi* complex and fumonisin contamination of pearl millet and corn in Georgia, USA. Mycopathologia. 159 (3): 401-6.

Keay L, Edwards K, Naduvilath T, Taylor HR, Snibson GR, Forde K, Stapleton F. 2006. Microbial keratitis predisposing factors and morbidity. Ophthalmology. 113 (1): 109-16.

Klotz SA, Penn CC, Negvesky GJ, Butrus SI. 2000. Fungal and parasitic infections of the eye. *Clin Microbiol Rev.* 13 (4): 662-85.

Krcmery VJ, Jesenska S, Spanik S, Gyarfás J, Nogova J, Botek R, Mardiak J, Sufliarsky J, Sisolakova J, Vanickova M, Kunova A, Studena M, Trupl J. 1997. Fungaemia due to *Fusarium* spp. In cancer patients. *J Hosp. Infect.* 36:223-228.

Kumashi PR, Safdar A, Chamilos G, Chemaly RF, Raad II, Kontoyiannis DP. 2006. Fungal osteoarticular infections in patients treated at a comprehensive cancer centre: a 10-year retrospective review. *Clin Microbiol Infect.* 12 (7): 621-6.

Kuriakose T, Thomas PA. 1991. Keratomycotic malignant glaucoma. *Indian Journal of Ophthalmology.* 39: 118-21,

Lacaz CS, Porto C, Martins JEC. 1998. Guia para Identificação. Fungos, Actinomicetos e Algas, Editora Sarvier, São Paulo.

Lass-Flörl C, Kofler G, Kropshofer G, Hermans J, Kreczy A, Dierich MP, Niederwieser D. 1998. In-vitro testing of susceptibility to amphotericin B is a reliable predictor of clinical outcome in invasive aspergillosis. *J Antimicrob Chemother.* 42 (4): 497-502.

Leslie JF, Summerell BA. 2006. The *Fusarium* Laboratory Manual. First Edition. Library of Congress Cataloging-in-Publication Data. Iowa. 378pp.

Leslie JF, Anderson LL, Bowden RL, Lee YW. 2007. Inter- and intra-specific genetic variation in *Fusarium*. *Int J Food Microbiol.* 119 (1-2): 25-32.

Letscher-Bru V, Campos F, Waller J, Randriamahazaka R, Candolfi E, Herbrecht R. 2002. Successful outcome of treatment of a disseminated infection due to *Fusarium dimerum* in a leukemia patient. *J Clin Microbiol.* 40 (3): 1100-2.

Lewis RE, Wiederhold N, Klepser ME. 2005. *In Vitro* Pharmacodynamics of Amphotericin B, Itraconazole and Voriconazole against *Aspergillus*, *Fusarium* and *Scedosporium* spp. *Antimicrob. Agents. Chemoter.* 49 (3): 945-51.

Loeffler J, Stevens DA. 2003. Antifungal drug resistance. *Clin Infect Dis.* 36 (1): S31-41.

López NC, Casas C, Sopo L, Rojas A, Del Portillo P, Cepero de García MC, Restrepo S. 2008. *Fusarium* species detected in onychomycosis in Colombia. *Mycoses. In press.*

Manicom BQ, Bar-Joseph M, Rosner A, Vigodsky-Haas H, Kótze JM. 1987. Potential applications of random DNA probes and restriction fragment length polymorphisms in the taxonomy of the *Fusaria*. *Phytopathology.* 77: 669-72.

Martino P, Donato V, Girmenia C. 1994. Pulmonary mycosis in patients with hematologic malignancies. *Rays.* 19 (4): 460-4.

Muramatsu T, Ueki T, Ohashi K, Negishi K, Suzuki T, Shitara M, Honma M, Ito T, Sakai M, Yamashita T, Akiyama H, Sakamaki H. 2006. Successful treatment with voriconazole for disseminated cutaneous and visceral infection by *Fusarium solani* in a patient with acute myeloid leukemia. *Rinsho Ketsueki.* 47 (8): 753-757.

Mercantini R, Marsella R, Moretto D. 1996. Onychomycosis in Rome, Italy. *Mycopathologia.* 136 (1): 25-32.

Moschovi M, Trimis G, Anastasopoulos J, Kanariou M, Raftopoulou A, Tzortzatou-Stathopoulou F. 2004. Subacute vertebral osteomyelitis in a child with diabetes mellitus associated with *Fusarium*. *Pediatr Int.* 46 (6): 740-2.

Mousa HAL, Al-Bader SM, Hassan DA. 1999. Correlation between fungi isolated from burn wound and burn care units. *Burns* 25: 145-7.

Musa MO, Al Eisa A, Halim M, Sahovic E, Gyger M, Chaudhri N, al Mohareb F, Seth P, Aslam M, Aljurf M. 2000. The spectrum of *Fusarium* infection in immunocompromised patient with haematological malignancies and in non-immunocompromised patients: a single institution experience over 10 years. Br J Haematol. 108 (3): 544-8.

Naiker S, Odhav B. 2004. Mycotic keratitis: profile of *Fusarium* species and their mycotoxins. Mycoses 47:50-56.

NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS (NCCLS). 1998. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of conidium-forming filamentous fungi. Proposed standard NCCLS document M38-P, Wayne, Pa.

NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS (NCCLS). 2002A. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts. Approved standard M27-A2, 2a ed., Vilanova, Pa.

NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS (NCCLS). 2002B. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of filamentous fungi. Approved standard M38-A. Wayne, Pa.

Nakar C, Livny G, Levy I, Samra Z, Linder N, Ashkenazi S, Livne P, Sirota L. 2001. Mycetoma of the renal pelvis caused by *Fusarium* species. Pediatr Infect Dis J. 20 (12): 1182-3.

Nelson PE, Dignani MC, Anaissie EJ. 1994. Taxonomy, biology and clinical aspects of *Fusarium* species. Clin. Microbiol Rev. 7: 479-504.

Nemunaitis J, Shannon-Dorcy K, Appelbaum FR, Meyers J, Owens A, Day R, Ando D, O'Neill C, Buckner D, Singer J. 1993. Long-term follow-up of patients with

invasive fungal disease who received adjunctive therapy with recombinant human macrophage colony-stimulating factor. *Blood*. 82 (5): 1422-7.

Neumeister B, Bartmann P, Gaedicke G, Marre R. 1992. A fatal infection due to *Fusarium oxysporum* in a child with Wilms' tumor. Case report and review of the literature. *Mycoses*. 35: 115-19.

Nucci M, Anaissie E. 2002. Cutaneous infection by *Fusarium* species in healthy and immunocompromised hosts: implications for diagnosis and management. *Clin Infect Dis*. 35: 909-20.

Nucci M, Anaissie EJ, Queiroz-Telles F, Martins CA, Trabasso P, Solza C, Mangini C, Simões BP, Colombo AL, Vaz J, Levy CE, Costa S, Moreira VA, Oliveira JS, Paraguay N, Duboc G, Voltarelli JC, Maiolino A, Pasquini R, Souza CA. 2003. Outcome predictors of 84 patients with hematologic malignancies and *Fusarium* infection. *Câncer*. 98 (2): 315-9.

Nucci M, Marr KA, Telles FQ, Martins CA, Trabasso P, Costa S, Voltarelli JC, Colombo AL, Imhof A, Pasquini R, Maiolino A, Souza CA, Anaissie E. 2004. *Fusarium* infection in hematopoietic stem cell transplant recipients. *Clin Infect Dis*. 38: 1237-42.

Nucci M, Anaissie E. 2007. *Fusarium* infections in immunocompromised patients. *Clin Microbiol Rev*. 20 (4): 695-704.

O'Donnel K, Gray EL. 1995. Phylogenetic relationships of the soybean sudden death syndrome pathogen *Fusarium solani* f. sp. *phaseoli* inferred from rDNA sequence data and PCR primers for ITS identification. *Molecular Plant Microbe Interactions*. 8: 709-716.

O'Donnell K, Kistler HC, Cigelnik E, Ploetz RC. 1998. Multiple evolutionary origins of the fungus causing Panama disease of banana: concordant evidence from nuclear and mitochondrial gene genealogies. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 95 (5): 2044-2049.

O'Donnell K. 2000. Molecular phylogeny of the *Nectria haematococca-Fusarium solani* species complex. *Mycologia.* 92 (5): 919-938.

O'Donnell K, Sutton DA, Rinaldi MG, Magnon KC, Cox PA, Revankar SG, Sanche S, Geiser DM, Juba JH, van Burik JH, Padhye A, Robinson JS. 2004. Genetic Diversity of Human Pathogenic Members of the *Fusarium oxysporum* Complex Inferred from Gene Genealogies and AFLP Analyses: Evidence for the Recent Dispersion of a Geographically Widespread Clonal Lineage and Nosocomial Origin. *J. Clin. Microbiol.* 42: 5109-20.

O'Donnell K, Sutton DA, Fothergill A, McCarthy D, Rinaldi MG, Brandt ME, Zhang N, Geiser DM. 2008. Molecular phylogenetic diversity, multilocus haplotype nomenclature, and in vitro antifungal resistance within the *Fusarium solani* species complex. *J Clin Microbiol.* 46 (8): 2477-90.

Oren I, Haddad N, Finkelstein R, Rowe JM. 2001. Invasive pulmonary in neutropenic patients during hospital construction: before and after chemoprophylaxis and institution of HEPA filters. *Am J Hematol.* 66: 257-62.

Paphitou NI, Ostrosky-Zeichner L, Paetznick VL, Rodriguez JR, Chen E, Rex JH. 2002. In vitro activities of investigational triazoles against *Fusarium* species: effects of inoculum size and incubation time on broth microdilution susceptibility test results. *Antimicrob Agents Chemother.* 46 (10): 3298-300.

Pfaller MA, Preston T, Bale M, Koontz FP, Body BA. 1988. Comparison of the Quantum II, API Yeast Ident, and AutoMicrobic systems for identification of clinical yeast isolates. *J Clin Microbiol.* 26 (10): 2054-8.

Pfaller MA, Rinaldi MG, Galgiani JN, Bartlett MS, Body BA, Espinel-Ingroff A, Fromtling RA, Hall GS, Hughes CE, Odds FC, et al. 1990. Collaborative investigation of variables in susceptibility testing of yeasts. *Antimicrob Agents Chemother.* 34 (9): 1648-54.

Pfaller MA, Rinaldi MG. 1993. Antifungal susceptibility testing. Current state of technology, limitations, and standardization. *Infect Dis Clin North Am.* 7 (2): 435-44.

Pfaller MA, Messer SA, Hollis RJ, Jones RN, Diekema DJ. 2002. In vitro activities of ravuconazole and voriconazole compared with those of four approved systemic antifungal agents against 6.970 clinical isolates of *Candida* spp. *Antimicrob Agents Chemother.* 46 (6): 1723-7.

Power EGM. 1996. RAPD typing in microbiology - A technical review. *J Hosp Infect.* 34: 247-65.

Qiu WY, Yao YF, Zhu YF, Zhang YM, Zhou P, Jin YQ, Zhang B. 2005. Fungal spectrum identified by a new slide culture and *in vitro* drug susceptibility using Etest in fungal keratitis. *Curr Eye Res.* 30 (12): 1113-20.

Raad II, Hachem RY, Herbrecht R, Graybill JR, Hare R, Corcoran G, Kontoyiannis DP. 2006. Posaconazole as salvage treatment for invasive fusariosis in patients with underlying hematologic malignancy and other conditions. *Clin Infect Dis.* 42 (10): 1398-403.

Reis A, Sundmacher R, Tintelnot K, Agostini H, Jensen HE, Althaus C. 2000. Successful treatment of ocular invasive mould infection (fusariosis) with the new antifungal agent voriconazole. *Br J Ophthalmol*, 84 (8): 932-933.

Rex JH, Pfaller MA, Walsh TJ, Chaturvedi V, Espinel-Ingroff A, Ghannoum MA, Gosey LL, Odds FC, Rinaldi MG, Sheehan DJ, Warnock DW. 2001. Antifungal susceptibility testing: practical aspects and current challenges. *Clin Microbiol Rev*. 14 (4): 643-58.

Rex JH, Pfaller MA. 2002. Has antifungal susceptibility testing come of age? *Clin Infect Dis*. 35 (8): 982-9.

Richardson SE, Bannantyne RM, Summerbell RC, Milliken J, Gold R, Weitzmen SS. 1988. Disseminated fusarial infection in the immunocompromised host. *Rev Infect Dis*. 10: 1171-81.

Rodriguez CA, Luján-Zilbermann J, Woodard P, Andreansky M, Adderson EE. 2003. Successful treatment of disseminated fusariosis. *Bone Marrow Transplant*. 31 (5): 411-412.

Rondeau N, Bourcier T, Chaumeil C, Borderie V, Touzeau O, Scat Y, Thomas F, Baudouin C, Nordmann JP, Laroche L. 2002. Fungal keratitis at the Centre Hospitalier National D'Ophtalmologie des Quinze-Vingts: retrospective study of 19 cases. *J Fr Ophtalmol*. 25 (9): 890-6.

Rotstein C, Cummings KM, Tidings J, Killion K, Powell E, Gustafson TL, Higby D. 1985. An outbreak of invasive aspergillosis among allogenic bone marrow transplants: a case – control study. *Infect Control*. 6 (9): 347-55.

Saha R, Das S. 2006. Mycological profile of infectious Keratitis from Delhi. *Indian J Med Res*. 123 (2): 159-64.

Salera CM, Tanure MAG, Lima WTM, Campos CM, Trindade FC, Moreira JA. 2002. Perfil das ceratites fúngicas no Hospital São Geraldo Belo Horizonte – MG. Arq Bras Oftalmol. 65: 9-13.

Samson RA, Von Reenen-Hoekstra ES. 1995. Introduction to Food Borne Fungi. 3.ed., Baarn, Delft. Centralbureau voor Schimmelculturs. 299pp.

Sharples GJ, Lloyd RG. 1990. A novel repeated DNA sequence located in the intergenic regions of bacterial chromosomes. Nucleic Acids Research. 18 (22): 6503-08.

Seifert KA, Aoki T, Baayen RP, Brayford D, Burgess LW, Chulze S, Gams W, Geiger D, De Gruyter J, Leslie JF, Logrieco A, Marasas WFO, Nirenberg HI, O'Donnell K, Rheeder J, Samuels GJ, Summerell BA, Thrane U, Waalwijk C. 2003 The name *Fusarium moniliforme* should no longer be used. Mycol Res. 107: 643-4.

Selleslag D. 2006. A case of fusariosis in an immunocompromised patient successfully treated with liposomal amphotericin B. Acta Biomed. 77 Suppl 2: 32-5.

Sierra-Hoffman M, Paltiyevich-Gibson S, Carpenter JL, Hurley DL. 2005. *Fusarium* osteomyelitis: case report and review of the literature. Scand J Infect Dis. 37 (3): 237-40.

Sidrim JJC, Rocha MFG. 2004. Micologia Médica À Luz de Autores Contemporâneos. Ed Guanabara-Koogan, Rio de Janeiro, 408pp.

Snyder, WC, Hansen, HN, Oswald, JW. 1957. Cultivars of the fungus, *Fusarium*. J. Madras Univ. 27:25.

Soll DR. 2000. The ins and outs of DNA fingerprinting the infectious diseases. Clin Microbiol Rev. 13 (2): 332-70.

Swaminathan B, Matar GM. 1994. Molecular typing methods. In Swaminathan B, Matar GM, eds. Diagnostic Molecular Biology, ASM press, Washington DC, 26-50pp.

Tanure MAG, Cohen EJ, Sudesh S, Rapuano CJ, Laibson. 2000. Spectrum of fungal keratitis at Wills Eye Hospital, Philadelphia, Pennsylvania. *Córnea*. 19 (3): 307-12.

Távora LGF, Gambale W, Heins-Vaccari EM, Arriagada GLH, Lacaz CS, Santos CR, Levin AS. 2003. Comparative performance of two air samplers for monitoring airborne fungal propagules. *Braz J med Biol Res*. 36 (5): 613-6.

Taylor JW, Geiser DM, Burt A, Koufopanou V. 1999. The evolutionary biology and population genetics underlying fungal strain typing. *Clin Microbiol Rev*. 12 (1): 126-46.

Teixeira AB, Silva M, Lyra L, Luz EA, Uno J, Takada H, Miyaji M, Nishimura K, Schreiber AZ. 2005. Antifungal susceptibility and pathogenic potential of environmental isolated filamentous fungi compared with colonizing agents in immunocompromised patients. *Mycopathologia*, 160 (2): 129-135.

Thomas PA, Rutherford MA, Brigde PD; 1994. Molecular differentiation of two races of *Fusarium oxysporum* special form cubense. *Letters Applied Microbiol*. 18:193-6.

Thomas PA. 2003. Current perspectives on ophthalmic mycoses. *Clin Microbiol Rev*. 16: 730-97.

Tomimori-Yamashita J, Ogawa MM, Hirata SH, Fischman O, Michalany NS, Yamashita HK, Alchorne M. 2002. Mycetoma caused by *Fusarium solani* with osteolytic lesions on the hand: case report. *Mycopathologia*. 153 (1):11-4.

Torres HA, Raad II, Kontoyiannis DP. 2003. Infections caused by *Fusarium* species. J Chemother.15 (2): 28-35.

Tortorano AM, Prigitano A, Dho G, Esposto MC, Gianni C, Grancini A, Ossi C, Viviani MA. 2008. Species distribution and in vitro antifungal susceptibility patterns of 75 clinical isolates of *Fusarium* spp. from northern Italy. Antimicrob Agents Chemother. 52 (7): 2683-5.

Vemuganti GK, Garg P, Gopinathan U, Naduvilath TJ, John RK, Buddi R, Rao GN. 2002. Evaluation of agent and host factors in progression of mycotic keratitis: a histologic and microbiologic study of 167 corneal buttons. Ophthalmology. 109 (8): 1538-46.

Vincent AL, Cabrero JE, Greene JN, Sandin RL. 2003. Successful voriconazole therapy of disseminated *Fusarium solani* in the brain of a neutropenic cancer patient. Cancer Control. 10 (5): 414-419.

Vismer HF, Marasas WF, Rheeder JP, Joubert JJ. 2002. *Fusarium dimerum* as a cause of human eye infections. Med Mycol. 40 (4): 399-406.

Voss A, Pfaller MA, Hollis RJ, Rhine-Chalberg J, Doebbeling BN. 1995. Investigation of *Candida albicans* transmission in a surgical intensive care unit cluster by using genomic DNA typing methods. J Clin Microbiol. 33: 576-80.

Xie L, Zhai H, Zhao J, Sun S, Shi W, Dong X. 2008. Antifungal susceptibility for common pathogens of fungal keratitis in Shandong Province, China. Am J Ophthalmol. 146 (2): 260-5.

Xuguang S, Zhixin W, Zhiqun W, Shiyun L, Ran L. 2007. Ocular fungal isolates and antifungal susceptibility in northern China. Am J Ophthalmol. 143 (1): 131-3.

Yera H, Bougnoux ME, Jeanrot C, Baixench MT, De Pinieux G, Dupoy-Camet J. 2003. Mycetoma of the foot caused by *Fusarium solani*: identification of the etiologic agent by DNA sequencing. J Clin Microbiol. 41(4): 1805-8.

Warris A, Klaassen CH, Meis JF, De Ruyter MT, De Valk HA, Abrahamsen TG, Gaustad P, Verweij PE. 2003. Molecular epidemiology of *Aspergillus fumigatus* isolates recovered from water, air, and patients shows two clusters of genetically distinct strains. J Clin Microbiol. 41 (9): 4101-6.

Wollenweber HW, Reinking OA. 1935. Die Fusarien. Berlin, P. Imprinta. 355p.

Zhang S, Ahearn DG, Noble-Wang JA, Stulting RD, Schwam BL, Simmons RB, Pierce GE, Crow SA Jr. 2006. Growth and survival of *Fusarium solani*-*F. oxysporum* complex on stressed multipurpose contact lens care solution films on plastic surfaces in situ and in vitro. Cornea. 25 (10): 1210-6.

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)