ALY GULAMHUSSEN SALIM GINA

INFEÇÕES POR ZIGOMICETOS DA ORDEM MUCORALES: PATOGÉNESE, EPIDEMIOLOGIA E TERAPÊUTICA

Orientador: Professor Doutor João Perdigão

Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias

Escola de Ciências e Tecnologias da Saúde

Lisboa

2021

ALY GULAMHUSSEN SALIM GINA

INFEÇÕES POR ZIGOMICETOS DA ORDEM MUCORALES: PATOGÉNESE, EPIDEMIOLOGIA E TERAPÊUTICA

Dissertação defendida em provas públicas na Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias no dia 28/10/2021, perante o júri, nomeado Despacho de Nomeação nº 277/2021, de 07/10/2021 com a seguinte composição:

Presidente: Prof. Doutor Luís Monteiro Rodrigues
Arguente: Profª. Doutora Carla Cerqueira da Silva
Orientador: Prof. Doutor João Perdigão

Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias
Escola de Ciências e Tecnologias da Saúde

Lisboa

2021

Agradecimentos

Todas as dissertações representam o culminar de um percurso académico e, por isso, é necessário agradecer a todos os que fizeram parte deste percurso.

Agradeço ao Professor João Perdigão pela orientação, esclarecimento, disponibilidade e simpatia durante a elaboração desta dissertação.

Agradeço à minha família por todo apoio que me deu, pela paciência, pelos desabafos e pelo apoio que me ajudou nos momentos mais difíceis durante este percurso académico.

Agradeço aos amigos de longa data que perdoaram todas as minhas ausências que me apoiaram inexcedivelmente durante este percurso.

Aos meus companheiros e companheiras de guerra, que durante este percurso nunca me abandonaram e igualmente me apoiaram em tudo que precisei.

Agradeço ainda à Associação de Estudantes de Ciências Farmacêuticas da Universidade Lusófona (AECFUL) e à Associação Portuguesa de Estudantes de Farmácia (APEF) a todos os seus dirigentes e colaboradores com quem tive o privilégio de trabalhar, pelos momentos fantásticos que passámos e pelas experiências maravilhosas que tivemos.

Agradeço também ao "PROGRAMA TROCA DE SERINGAS" dos Serviços Partilhados do Ministério da Saúde (SPMS) bem como a todos seus colaboradores pela ajuda e auxílio durante estes anos com o qual tive o prazer de privar e partilhar momentos e experiências incríveis onde nos destacamos pelo auxílio à sociedade que infelizmente por escolhas menos positivas ao longo do seu percurso de vida se encontram marginalizados.

Por fim, um especial agradecimento à Farmácia Várzea por toda a ajuda, auxílio e aprendizagem durante o meu período de Estágio.

A todos que contribuíram para esta maravilhosa experiência, muito obrigado!

Resumo

A mucormicose caracteriza-se por uma infeção fúngica cujos agentes patogénicos têm um rápido crescimento e uma patogenicidade bastante acentuada, causando uma elevada taxa de mortalidade. Por este motivo, torna-se crucial conhecer as diversas características relacionadas com esta patologia.

Conhecer a taxonomia, patogénese e a resposta imunitária pode ajudar a determinar qual a melhor terapêutica, apesar de ser cada vez mais difícil, uma vez que, esta infecção fúngica assenta sobretudo em indivíduos cuja imunidade já se encontra bastante compremetida.

Devido à heterogeneidade e às diversas formas clínicas que a doença apresenta, a terapêutica apresenta uma enorme dificuldade, onde o seu diagnóstico torna-se extremamente importante.

Esta dissertação, tem como base em reunir dados epidemiológicos e clínicos acerca deste tipo de micoses, com base nos fatores de risco, nas novas opções e esquemas terapêuticos realçando esta problemática na saúde pública e a nível clínico, uma vez que, apresenta uma elevada taxa de mortalidade.

O mundo tem estado em constante desenvolvimento e área da saúde não é uma exepção, por este motivo, conclui-se que é bastante importante termos um conhecimento profundo acerca deste tipo de patologias, com o intuito de desenvolvermos novas estratégias de prevenção e de terapêutica.

Palavras – chave: Mucormicose; Taxonomia; Patogenicidade; Imunidade Inata, Imunidade Adaptativa; Tratamento; Apresentação Clínica; Epidemiologia.

Abstract

Mucormycosis is characterized by a fungal infection whose pathogens are fast-growing and highly pathogenic, causing a high mortality rate. For this reason, it is crucial to know the different characteristics related to this pathology.

Knowing the taxonomy, pathogenesis and immune response can help to determine the best therapy, although it is increasingly difficult, since this fungal infection is mainly based on individuals whose immunity is already quite compromised.

Due to the heterogeneity and the different clinical forms that the disease presents, the therapy presents an enormous difficulty, where its diagnosis becomes extremely important.

This dissertation is based on gathering epidemiological and clinical data about this type of mycoses, based on risk factors, new options and therapeutic schemes highlighting this problem in public health and at the clinical level, since it presents a high rate of mortality.

The world has been in constant development and the health area is no exception, for this reason, it is very important to have a deep knowledge about this type of pathologies, in order to develop new prevention and therapeutic strategies.

Keywords: Mucormycosis; Taxonomy; Pathogenicity; Innate immunity, Adaptive immunity; Treatment; Clinical Presentation; Epidemiology.

Siglas e acrónimos

AMB - Anfotericina B

CMI - Concentração mínima inibitória

DNA - Ácido desoxrribonucleico

EUA - Estados Unidos da América

GM-CSF - Agrupamento de colónias de granulócitos e macrófagos

IFN-γ - Interferão gama

IL - Interleucina

LAMB - Anfotericina lipossomal

MP - Mucormicose Pulmonar

NK - Células Natural Killer

PD-1 - Expressão da morte programada das células T

RNA - Ácido ribonucleico

RMN - Ressonância magnética nuclear

TC - Tomografia computorizada

TH - Células (linfócitos) T auxiliares

TNF- α - Fator de necrose Tumoral

VIH - Vírus da imunodeficiência humana

Índice Geral

Agradecimentos ii

Resumo iii

Abstract iv

Siglas e acrónimos v

Índice Geral vi

Índice de Figuras viii

Índice de Tabelas ix

1. Introdução e Objetivo 10

2. Mucormicetos: Diversidade e Taxonomia 12

2.1. Taxonomia Clássica e Atual 13

3. Epidemiologia das mucormicoses 18

4. Mucormicoses: Patogénese e Resposta Imunitária 21

4.1. Patógenese 21

4.1.1. Absorção de Ferro 21

4.1.2. Diabetes, Hiperglicémia e Cetoacidose 22

4.2. Resposta Imunitária (Imunidade Inata e Adaptativa) 24

4.2.1. Imunidade Inata 24

4.2.2. Interação das células dendríticas com Mucorales 25

4.2.3. Plaquetas 26

4.2.4. Células Natural – Killer 27

4.2.5. Interação com o Endotélio 27

4.2.6. Resposta das células T - Imunidade Adaptativa 28

5. Fatores de Risco e Cormobilidades 30

6. Formas de Apresentação Clínica das mucormicoses 38

6.1. Mucormicose Pulmonar 40

6.2. Mucormicose Rinocerebral 41

6.3. Mucormicose Cutânea 43
6.4. Mucormicose Gastrointestinal 44
6.5. Mucormicose disseminada 45
6.6. Mucormicose Não Comum 46
6.7. Mucormicose Renal 46
7. Abordagem Terapêutica às mucormicoses 48
7.1. Dificuldades no desenvolvimento das estratégias no seu tratamento 48
7.2. Princípio do tratamento da mucormicose 48
7.3. Terapia antifúngica para a mucormicose 49
7.4. Triazóis 51
7.4.1. Posaconazol 51
7.4.2. Isavuconazol 52
7.5. Terapia Combinada 54
7.6. Tratamento Cirúrgico 55
7.7. Terapia Adjuvante 56
7.8. Novas alternativas terapêuticas 58
8. Conclusão 60
Bibliografia 63

Índice de Figuras

Figura 1 – Crescimento da espécie *Rhizopus microsporus,* mostrando o rápido crescimento deste fungo partindo da germinação dos esporos..... 12
Figura 2 – Filogenia dos fungos determinado nas pequenas subunidades sequenciais de RNA. 13
Figura 3 – Árvore filogenética do Reino Fungi..... 14
Figura 4 – Classificação anterior e posterior do Reino Fungi..... 15
Figura 5 – Diagrama representação de mucormicetos com as células endoteliais durante a sua disseminação..... 24
Figura 6 – Resposta inata das plaquetas contra a espécie de Mucorales 27
Figura 7 – Reconhecimento das hifas Mucorales por parte das células dendríticas..... 29
Figura 8 – Número de casos de mucormicose associados a transplante renal desde 1970 33
Figura 9 – Imagem de mucormicose pulmonar com o auxílio de uma tomografia computorizada 41
Figura 11 – Imagem tri – dimensional através de TC..... 43
Figura 10 – Marca necrotica facial de mucormicose rinocerebral 43
Figura 12 – Mucormicose do tipo cutâneo no membro superior direito..... 44
Fig 13 A: Presença de hifas fúngicas no tecido renal. B: Presença de massa amarelada no rim..... 47

Índice de Tabelas

Tabela 1 – Classificação clínica dos fungos antes denominados de zigomicetos 16
Tabela 2 – Nomenclatura da Mucormicose e Entoftoromicose. 17
Tabela 3 – Tipos de mucormicose em transplantados renais. 35
Tabela 4 – Mucormicetos relatados nos doentes deste estudo. 36
Tabela 5 – Apresentação dos dados da terapêuticos dos 174 doentes. 37
Tabela 6 – Métodos de diagnóstico 39
Tabela 7 – Sintomas dos diversos tipos de mucormicose. 40

1. Introdução e Objetivo

A nível global, as infeções fúngicas ou micoses têm vindo a apresentar uma incidência crescente em casos críticos, estando igualmente associadas a uma crescente taxa de morbilidade e de mortalidade. Entre as micoses emergentes ao longo da última década encontram-se as mucormicoses, também designadas anteriormente por zigomicoses. É importante destacar que o termo de zigomicose abranje todas as mucormicoses enquanto o inverso não é verdade.(G Petrikkos, Skiada, & Drogari-Apiranthitou, 2014; Yasmeen, Waqas, Munir, Sultan, & Hameed, 2017)

As mucormicoses são micoses cujo agente etiológico pertence à ordem Mucorales e que se tratam geralmente de espécies fúngicas com potencial invasivo , cuja incidência tem vindo a aumentar durante os últimos dez anos. (Yasmeen *et al*., 2017) Estima-se que seja a terceira causa mais comum de infecções fúngicas invasivas, sendo apenas superada pela candidíase e pela aspergilose. Os agentes patogénicos da mucormicose encontram-se na natureza e são manifestados maioritariamente em matérias orgânicas em estado de decomposição. (Anna Skiada, Pavleas, & Drogari-apiranthitou, 2017)

Do ponto de vista epidemiológico, este tipo de micoses regista, ao longo dos anos, cada vez mais agentes causadores bem como a população se tem tornado mais susceptível a esta patologia. Este aumento observa-se sobretudo no continente asiático. No que diz respeito, à variabilidade epidemiológica das espécies pode-se constatar que as mesmas se encontram diversificadas ao nível do globo. São exemplos de espécies *Apophysomyces variabilis* predominante na Ásia e *Lichtheimia spp.* na Europa enquanto o *Rhizopus arrhizus* é o agente mais comum isolado em todo o mundo e portanto com ampla distribuição cosmopolita. (Prakash & Chakrabarti, 2019)

Este tipo de infeções fúngicas de *Mucorales* que incluí também os géneros *Mucor, Rhizopus, Rhizomucor, Lichteimia, Apophysomyces, Cunningghamella, Saksenaea, Cokeromyces, Actinomucor* e *Syncephalastrum*. Podemos conferir aos géneros *Mucor, Rhizopus e Lichteimia* a principal causa da doença devido ao elevado número de infeções reportadas em casos de mucormicose, sendo que *Rhizopus oryzae* é considerado o agente etiológico mais comum deste tipo de micoses. Seguido, por ordem consecutiva pelas espécies *Mucor circinelloides* e *Lichteimia corymbifera,* que coletivamente representam 70% das infecções. (Persichino, Can, Van, Matthews, & Filler, 2018)

Os principais fatores de risco (fatores Major), associados às mucormicoses estão interligados com o imunocomprometimento do hospedeiro, como a existência das seguintes cormobilidades: Diabetes *mellitus* não controlada e cetoacidose diabética, transplantação, doença maligna (hematológica e de tumores de órgãos sólidos), neutropenia e terapia com corticosteróides.(Baldin & Ibrahim, 2017; Ghuman & Voelz, 2017; Persichino *et al*., 2018; BMJ Best Practice, 2016)

Tratam-se ainda de micoses que incidem no sexo masculino com faixa etária superior a 40 anos que, concomitantemente apresentam na sua maioria os fatores de risco anteriormente mencionados.(Martin, Smith, Lobo, & Paramesh, 2017)

No que diz respeito aos tipos de mucormicose existentes podem ser classificados quanto ao seu local de infeção e consequente manifestação clínica. Deste modo, a mucormicose associada à doença sinusal (rinocerebral) é a mais comum (39%), seguida por infeção a nível pulmonar (24%), cutânea (19%), cerebral (9%), gastrointestinal (7%) e por fim em outros locais (9%). (Al-Tarrah *et al.*, 2016)

A infeção fúngica invasiva está associada a uma elevada taxa de mortalidade que varia entre 17% a 66% dependendo dos fatores de risco, anteriormente citados. (Al-Tarrah *et al*., 2016). Um dos principais motivos a que deve esta elevada taxa de mortalidade prende-se pelo facto que a eficácia terapêutica de antifúngicos ser baixa (aproximadamente 60% a 70%). Por esta razão, é primordial a emergência de novas perspectivas terapêuticas bem como novos modelos de tratamento. (Anna Skiada, Pavleas, & Drogari-apiranthitou, 2017)

Assim, o objetivo primordial desta dissertação tem como base reunir dados epidemiológicos e clínicos acerca deste tipo particular de micoses com base nas novas opções e esquemas terapêuticos bem como factores de risco, realçando esta problemática a nível clínico e de saúde pública, uma vez que, por se apresentar essencialmente em doentes imunocomprometidos faz com que a sua taxa de mortalidade sejam bastante elevada.

Assim, torna-se importante aprofundar o conhecimento acerca desta infeção,a identificação de novos alvos terapêuticos, bem como o desenvolvimento de novas estratégias de prevenção e respectiva terapêutica.

2. Mucormicetos: Diversidade e Taxonomia

Os mucormicetos constituem um grupo de espécies fúngicas provenientes da ordem *Mucorales* que causam uma panóplia de infecções devastadoras e de elevado espectro clínico. (Anna Skiada, Pavleas, & Drogari-apiranthitou, 2017)

Os respectivos esporangiósporos assexuados, enquanto partículas infecciosas causadoras da mucormicose, encontram-se de forma universal no meio ambiente e são parte integrante de um ciclo de vida bastante rápido. Tal, deve-se ao aumento de volume bem como à sua rápida capacidade de germinação e produção de micélio (Figura 1) que no hospedeiro está na base de uma rápida penetração destes fungos em camadas profundas do tecido do órgão atingido e levando à trombose a nível vascular bem como necrose a nível tecidular. (Ibrahim & Voelz, 2017a)

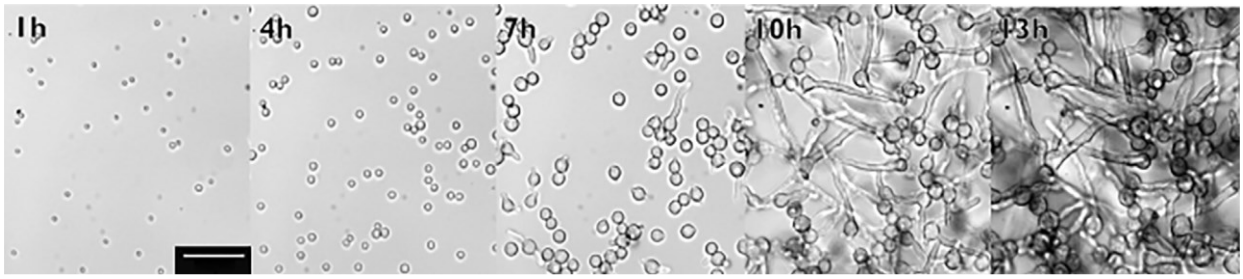


Figura 1 – Crescimento da espécie *Rhizopus microsporus,* mostrando o rápido crescimento deste fungo partindo da germinação dos esporos. (Ibrahim & Voelz, 2017a)

2.1. Taxonomia Clássica e Atual

A mucormicose tem apresentado um grupo bastante diversificado, cuja classificação se encontra em constante alteração. (Binder, Maurer, & Lass-Flörl, 2014)

A classificação taxonómica fúngica tradicional assenta nas similaridades morfológicas, as estruturas sexuais e reprodutivas, reconhecendo assim três classes: *Ficomycetos, Ascomycetos* e *Basidiomycetos*. Assim, as espécies que apenas se reproduziam por espóros na sua forma assexuada foram incluídas no grupo dos *Deuteromycetos* na classe de Fungi *Imperfecti*. (Kwon-Chung, 2012)

A primeira grande alteração taxonómica no filo *Zigomycota* foi realizada em 2001, onde os autores construíram uma árvore filogenética a partir de uma análise de ácido ribonucleico (RNA) ribossómico fúngico, de pequena sub-unidade 5.8S, colocando este filo num grupo monofilético (Figura 2). (Kwon-Chung, 2012; Schwarzott & Walker, 2001)

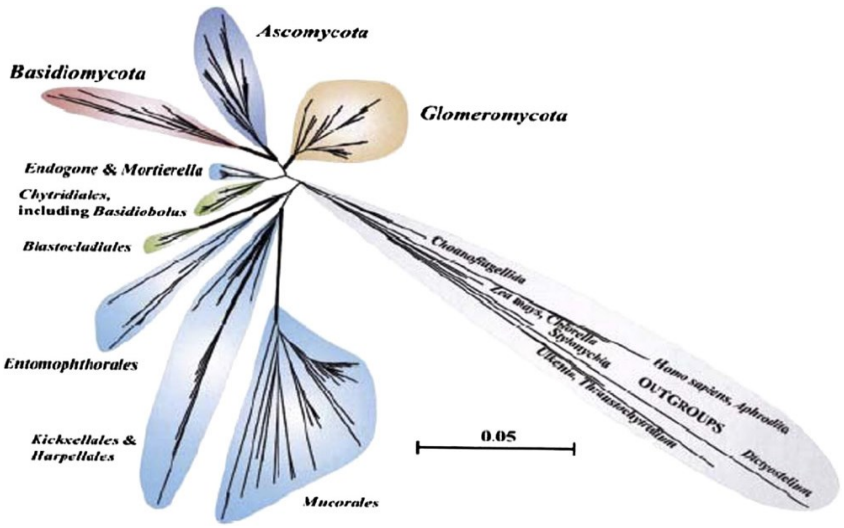


Figura 2 – Filogenia dos fungos determinado nas pequenas subunidades sequenciais de RNA. (Kwon-Chung, 2012; Schwarzott & Walker, 2001)

A organização taxonómica dos zigomicetos, tem beneficiado da crescente disponibilidade de dados moleculares e que estudos recentes que compreendem a análise da sequência nucleotídica de nove regiões génicas demonstram que se trata de um filo que abrange diversos grupos monofiléticos. Esta análise, resulta da caracterização molecular dos genes que codificam para três subunidades do RNA ribossomal (subunidade grande, média e pequena) , duas RNA polimerases (RPB1 e RPB2), um fator de alongamento (EF1α), a tubulina nas suas formas α e β e o ácido desoxrribonucleico (DNA) das subunidades

pequenas das mitocôndrias.Os dados obtidos, demonstraram que o filo zigomicota abrange diversos grupos monofiléticos. (James *et al*., 2006; Kwon-Chung, 2012)

Posteriormente, os Zigomicotas foram sofrendo outras alterações taxonómicas. Hibbett, em conjunto com outros 66 taxonomistas fúngicos, publicaram uma classificação filogenética abrangente do reino Fungi sustentado em grupos monofiléticos. (Hibbett *et al.*, 2007) Através deste estudo, propôs-se eliminar a denominação Zigomicota, pois o filo encontrado seria polifilético, sugerindo-se uma alteração de nomenclatura das ordens *Ascomycota,Basidyomicota,Glomeromycota,Blastocladiomycota,Neocllimastigomycota, Chitridiomycota* passando a ser denominadas: *Mucormicotyna, Entomoftoromycotina; Kickxellomycotina e a Zoopagomycotina* (Hibbett *et al*., 2007) Portanto, determinou-se que a classe *Zigomycota* seria considerada como polifilética, enquanto a *Mucoromycotina*, *Entomofthomycotina* seriam considerados dois clades diferentes (Figura 3).(Hibbett *et al*., 2007; Kwon-Chung, 2012)

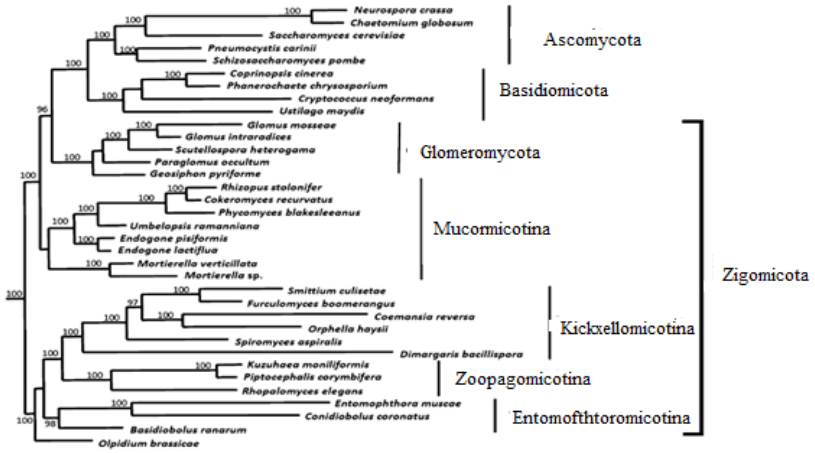


Figura 3 – Árvore filogenética do Reino Fungi, (adaptado de Hibbett et al., 2007)

Mais recentemente e aceite até à década passada, a divisão do Reino Fungi era dividida pelos filos *Chytridiomicota, Zygomycota, Ascomycota e Basidiomycota* (Figura 4). Esta classificação filo Zigomicota (filo fúngico na organização dos zigomicotas) continha a ordem Mucorales, Entomoftorales e outras ordens. Constatava-se que estes fungos não causavam a patogenicidade em humanos. Mais tarde, verificou-se que destes sub-filos fúngicos os que seriam considerados de importância médica/clínica seriam apenas as *Mucormycotina* e as *Entomofthoromycotina*. (Kwon-Chung, 2012)

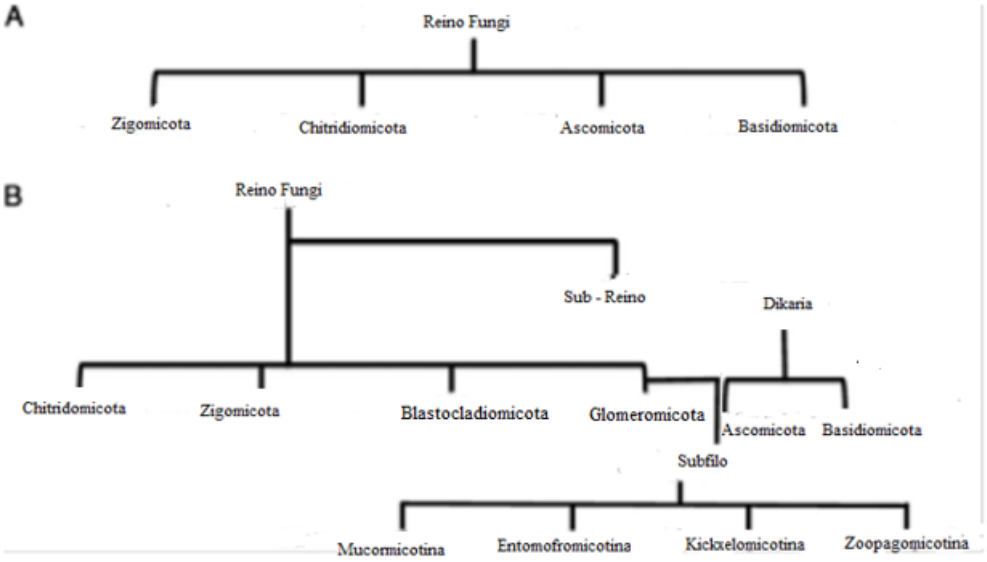


Figura 4 – Classificação anterior e posterior do Reino Fungi, adaptado de (Kwon-Chung, 2012)

A – Antiga classificação do Reino Fungi aceite até ao ínicio do século XXI
B – Nova classificação aceite do Reino Fungi baseada em grupos monofiléticos.

Inicialmente, utilizou-se o termo de mucormicose, devido ao patologista americano R.D. Baker (1955) para micoses causadas por certos membros provenientes da ordem de Mucorales. (Kwon-Chung, 2012; Mucormycosis, 1955)

Mais tarde, nomeadamente em 1968, Clark utilizou a designação de "mucormicose" para doenças causadas pela espécie da ordem Mucorales com o intuito de distinguir patologias associadas a nível subcutâneo as quais mais tarde seriam denominadas como Entomoftoromicoses. (Clark BM, 1968; Kwon-Chung, 2012)

Desta forma, com o intuito de se uniformizar esta taxonomia, em 1976, por parte de Alejo *et al*, propuseram que o nome ideal desta infeção fúngica seria "Zigomicose". (Kwon-Chung, 2012)

Esta designação, seria concordante para doenças causadas por qualquer tipo de micoses Mucorales onde incluíam os géneros *Rhizopus, Mucor, Absidia, Lichteimia corymbifera* e *Saksenеae*, enquanto os géneros causadores de micoses da ordem *Entomophthoftorales* seriam: *Basidiobolus* e *Conidiobolus*. É importante destacar que os géneros *Rhizomucor, Apophymices e Cunninghamella* seriam os géneros patogénicos da ordem Mucorales que produziam doença invasiva em humanos.(Kwon-Chung, 2012; Ribes, Vanover-Sams, & Baker, 2000)

No que diz respeito, aos subfilos da *Mucormycotina* e da *Entomophoromycotina* encontram-se na natureza na sua forma principal em matérias orgânicas no seu estado de decomposição, onde têm um rápido crescimento e uma rápida capacidade de germinação produzindo assim uma habilidade de formar hifas podendo ser septadas ou não. (Binder *et al*., 2014)

Na tabela abaixo (Tabela 1), pode - se visualizar os diversos géneros patogénicos para o ser humano.

Tabela 1 – Classificação clínica dos fungos antes denominados de zigomicetos. Adaptado de, (Binder *et al*., 2014)

Subfilo	Género	Espécies isoladas
Mucomycotina	*Apophysomices*	*A. variabilis*
	Cunnigamella	*C. berthofletiae*
	Lichtemia	*L. corymbifera* *L. ramosa*
	Mucor	*M. circineloides*
	Rhizopus	*R. orrhizus* *R. microsporus*
Entomofthoromycotina	*Rhizomucor*	*R. pusillus*
	Saksenaea	*S. vasiformis*
	Basidiobolus	*B. ranarum*
	Canidiobolus	*C. coronatus*

Apesar do termo zigomicose ter sido amplamente utilizado pela comunidade científica, posteriormente foram utilizadas várias designações para estas infeções (Tabela 2) até à substituição pelo termo mucormicose. (Binder *et al*., 2014; Kwon-Chung, 2012)

Tabela 2 – Nomenclatura da mucormicose e entoftoromicose. Adaptado de (Kwon-Chung, 2012)

Nome da Patologia	Autor	Data de Publicação
Micose mucorina	Paultauf	1885
Mucormicose	Baker	1957
Ficomicose	Kian Joe *et al*	1959
Mucormicose Entomoftoromicose	Clark	1968
Zigomicose	Ajello *et al*	1976
Mucormicose Entomoftoromicose	Kwon Chung e Bennett	1992

Logo, podemos constatar que os nomes de mucormicose e entomoftoromicose são mais adequados para a comunidade científica do que o termo de zigomicose pois verificamos uma maior estabilidade para a sua nomenclatura não sendo alterado pela sua taxonomia. (Binder et al., 2014; Hibbett et al., 2007)

3. Epidemiologia das mucormicoses

Tem se constatado, uma alteração epidemiológica desta infecção fúngica ao longo dos anos e um número crescente de espécies descritas enquanto agentes etiológicos. A população tem-se tornado mais susceptível a esta infeção. Este aumento, tem sido observado na sua maioria no continente asiático, nomeadamente na Índia e na China. No que diz respeito à epidemiologia das espécies e a sua prevalência verifica-se uma distribuição geográfica variável. A *Apophysomyces variabilis* é predominante em países da Ásia e a *Lichtheimia* da Europa enquanto o *Rhizopus arrhizus* é o agente comum em todo o mundo. O continente asiático para além da elevada incidência de *Apophysomyces variabilis* também tem tido casos de novos agentes causadores de mucormicose, tais como, *Rhyzopus homothallicus, Mucor irregularis, e Thamnostylum lucknowense*. (Prakash & Chakrabarti, 2019)

Um estudo realizado na Índia, demonstrou um aumento de casos de mucormicose de 24 casos por ano (1990-2007) para 89 casos por ano (2013-2015) num único meio hospitalar. (Prakash & Chakrabarti, 2019; Prakash *et al*., 2019) Também no continente europeu se tem vindo a registar uma tendência crescente. (Prakash & Chakrabarti, 2019)

Um estudo, realizado em Espanha demonstrou uma prevalência de mucormicose em 0,43 casos por milhão de habitantes ano e 0,62 casos por 100.000 admissões hospitalares. Outro estudo no mesmo país, documentou o aumento da prevalência de mucormicose de 1,2 casos por 100.000 admissões (1988 a 2006) para 3,3 casos por 100.000 admissões (2007 a 2015) (Guinea *et al*., 2017)

Em França, o aumento de casos de mucormicose foi relatado com base num estudo de base populacional, com taxa de prevalência de 0,7 casos por milhão em 1997 e que aumentou para 1,2 por milhão em 2006. (Bitar *et al*., 2009; Prakash & Chakrabarti, 2019)

Outro estudo realizado através de autópsias nos Estados Unidos da América (EUA), documentou um aumento na incidência de mucormicose em pacientes com doença hematológica maligna de 0.006 casos por 100 autópsias entre 1989-1993 para 0.018 casos em 2004-2008. (Prakash & Chakrabarti, 2019)

A incidência e prevalência das mucormicoses pode, no entanto, ser mais elevada, isto acontece porque o seu diagnóstico (recolha de tecido e posterior analise por microscópio)

torna-se praticamente inacessível, isto acontece devido à dificuldade da recolha da amostra do tecido. Os meios hospitalares com condições precárias, podem contaminar estas amostras, tal como, os seus testes de diagnóstico podem também apresentar uma baixa sensibilidade. Por estes motivos, estes estudos epidemiológicos contêm um elevado grau de incerteza. (Prakash & Chakrabarti, 2019) Este factor é preocupante, uma vez que, a prevalência anual da mucormicose poderá ter em conta cerca de 10 000 casos, se de facto se incluir a Índia o cenário será cada vez mais catastrófico subindo para os 910 000 casos. (Bongomin, Gago, Oladele, & Denning, 2017; Chakrabarti & Dhaliwal, 2013; Prakash & Chakrabarti, 2019)

No que respeita aos fatores de risco, observa-se uma alteração do contraste desta infeção fúngica entre o oriente (região asiática, nomeadamente a Índia e China) e o ocidente (EUA e Europa), isto deve-se ao grande número de incidências na região asiática onde os equipamentos hospitalares não se encontram em perfeitas condições, dificultando o seu diagnóstico e posterior tratamento. A diabetes *mellitus* é o fator de risco de maior preponderância da mucormicose na Índia. Paralelamente, na Europa e nos EUA o fator de risco mais influente é a malignidade hematológica. (Kontoyiannis *et al*., 2016; Prakash & Chakrabarti, 2019)

Um estudo realizado na Índia, relatou que 57% de seus pacientes tinham diabetes *mellitus* descontrolada com cetoacidose diabética de 10%, e diabetes como um fator de risco foi significativamente maior no norte da Índia em comparação com o sul. (Prakash *et al*., 2019) Outro estudo, do mesmo país relatou 35 casos de mucormicose em 22316 diabéticos indicando que destes 35 casos a percentagem 23% a 43% deve -se à maioria da população não ter acesso a um check-up de saúde regular.(Bhansali *et al.*, 2004)

Neoplasias de órgãos sólidos e transplante de órgãos sólidos, são também factores de risco a ter em conta. Em transplantados, os casos de mucormicose têm uma incidência entre (2-15%). Esta incidência de mucormicose, pode variar dependendo dos tipos de transplante: em receptores renais , em receptores de fígado , em receptores de coração e no pulmão. Entre os receptores de transplante, os doentes com insuficiência renal (58%), diabetes mellitus (38%) e sujeitos a profilaxia antifúngica como, por exemplo, o voriconazol são mais propensos a desenvolver mucormicose. (Prakash & Chakrabarti, 2019)

Quanto à distribuição geográfica das espécies, as suas diversificações são as seguintes: infecções causadas por espécies *Lichtheimia* são comuns na Europa.(Prakash & Chakrabarti, 2019) *Apophysomyces variabilis* é a segunda causa mais comum de mucormicose na Índia e é responsável por aproximadamente 60% dos casos documentados de mucormicose. (Jeong *et al*., 2019; Prakash & Chakrabarti, 2019). Além de *Apophysomyces variabilis*, infecções causadas por *Rhizopus microsporus* e *Rhizopus homothallicus* encontram-se em crescimento na Índia. (Prakash & Chakrabarti, 2019) Enquanto que, um único caso de infecção pulmonar fatal devido à *Rhizopus homothallicus* foi relatado em França. (Compain *et al*., 2017) Infecções causadas por espécies da ordem de Mucorales como *Cokeromyces recurvatus*, espécies *Syncephalastrum*, e as *Saksena*ea raramente são relatados. A espécies *Mucor irregularis* encontraram-se relatadas na China e na Índia. (Jeong *et al*., 2019). Um caso de mucormicose rinocerebral, devido á espécie *Thamnostylum lucknowense* foi reportado na Índia (Xess *et al*., 2012)

Por se tratar, de uma doença rara e que não é de notificação obrigatória, pode-se verificar que, os dados epidemiológicos são escassos. Estes dados recolhidos, representam algumas estimativas feitas para avaliar o impacto dessa infeção a nível clínico. Desta forma, pelos dados disponíveis, pode-se constatar que a epidemiologia desta infeção é pouco conhecida. Em Portugal, ainda não existem dados concretos sobre a epidemiologia desta doença, ao contrário, do que acontece em outros países do continente europeu.

Também, a falta de recursos para o diagnóstico pode ser um problema nos países em vias de desenvolvimento, contudo o facto desta doença não ter notificação obrigatória e de ser rara, faz com que os dados existentes sejam mais localizados a nível hospitalar o que dificulta uma análise epidemiológica global e aprofundada.

4. Mucormicoses: Patogénese e Resposta Imunitária

As espécies da ordem de Mucorales apresentam diversas características que contribuem para a patogenicidade desta infeção fúngica. Destacam-se o crescimento rápido, a termotolerância inata, a capacidade de se ligar à superfície das células endoteliais e de obter ferro do organismo hospedeiro, a regulação de genes de defesa do hospedeiro implicado no reconhecimento de organismos patogénicos, a inibição da expressão do interferão (IFN-γ). (Schmidt *et al*., 2013) Os esporos fúngicos, são facilmente dispersos sob a forma de aerossol, podendo infiltrar-se no organismo por inalação, inoculação local ou pela ingestão de alimentos (nível gastrointestinal).(Farmakiotis & Kontoyiannis, 2016; Lewis & Kontoyiannis, 2013) Deste modo, independentemente do local inicial da infeção o desenvolvimento da mucormicose necessita de um conjunto de características para a inoculação dos esporos no tecido do hospedeiro. Também, a fagocitose ineficaz pelos macrófagos e neutrófilos, a desregulação dos níveis de glicémia e cetoacidose diabética, os níveis elevados de concentração férrica e neutropenia podem agravar a doença. Os fatores que contribuem para o controlo da infecção e a sua interação com fatores que promovem a progressão para uma fase clínica serão abordados de seguida.

4.1. Patógenese

4.1.1. Absorção de Ferro

Este ião apresenta uma importância primordial para o desenvolvimento do micélio fúngico, cuja ausência desencadeia um mecanismo de morte celular programada semelhante à apoptose.(Shirazi, Kontoyiannis, & Ibrahim, 2015) Desta forma, as elevadas concentrações de ferro contribuem para o crescimento fúngico. Paralelamente, elevadas concentrações de ferro também induzem a diminuição da função fagocítica por lesarem a função dos fagócitos diminuindo assim a secreção de *IFN*- γ . As espécies da ordem de Mucorales, conseguem adquirir ferro do hospedeiro através de dois mecanismos: sideróforos (quelantes de ferro, que podem ser intrínsecos, como por exemplo a rizoferrina, ou extrínsecos como por exemplo os xenosideróforo) e pelas permeases de ferro de elevada afinidade. A sequenciação do genoma de *Rhizopus oryzae* revelou a presença de duas cópias do grupo heme oxigenase, sugerindo um terceiro mecanismo de absorção de ferro (a hemoglobina). A deferoxamina, um agente quelante do ferro que é utilizado em doentes com risco aumentado de sobredosagem férrica (terapia renal e

múltiplas transfusões) aumenta a susceptibilidade à mucormicose. É importante também referir que as espécies provenientes da ordem de Mucorales utilizam a ferrioxamina (forma mais rica em ferro da deferoxamina) como xenosideróforo com o intuito de se obter ferro. (George Petrikkos & Tsioutis, 2018) Em certos estudos, constatou-se que a terapia quelante de ferro com deferasirox ou deferiprona teve um comportamento benéfico em casos de mucormicose e cetoacidose em modelos murinos, pois esta terapia torna as espécies *Rhizopus* incapazes de absorver ferro sob forma de xenosideróforo melhorando assim taxa de sobrevivência. (Spellberg *et al*., 2009) Para além disso, a utilização desta terapia reverteu o efeito prejudicial do ferro na quimiotaxia dos neutrófilos. A mucormicose, é responsável pelo transporte de receptores específicos de ferrioxamina (Fob1 e Fob2), que facilita a absorção fúngica de ferro apenas pela ferrioxamina. Existem dois mecanismos possíveis de obtenção de ferro por parte da ferrioxamina: um deles dependente de energia, através da atividade de uma redutase que liberta ferro férrico de deferoxamina a nível extracelular, convertendo-o mais tarde em ferro solúvel; o outro é realizado através da captação intracelular de ferrioxamina. (George Petrikkos & Tsioutis, 2018)

Em modelos murinos, tem se verificado a importância de FTR1, uma permease de ferro de elevada afinidade, sendo a mesma expressa em condições de depleção de ferro em ambientes ricos em ferro. Desta forma, esta permease pelo seu comportamento, como anteriormente mencionado, sugeriu-se a sua utilização com o intuito de se facilitar o transporte intracelular de ferro a partir de um grupo heme. Assim, o seu valor como alvo de tratamento encontra-se destacado por um estudo que demonstrou o efeito protector dos anticorpos anti-FTR1.(Ibrahim *et al.*, 2010)

4.1.2. Diabetes, Hiperglicémia e Cetoacidose

A diabetes, como referido anteriormente, apresenta-se como um fator preponderante para a mucormicose, uma vez que, doentes com diabetes não controlada, nomeadamente doentes com historial de hiperglicemia e cetoacidose diabética, são considerados bastante susceptíveis e têm como principal mecanismo a disfunção fagocitária (mecanismo de patogenese), provocando um aumento de susceptibilidade à mucormicose, bem como uma expressão acentuada da GRP78. Pode-se definir a GRP78, como uma proteína de choque térmico que se encontra principalmente no retículo endoplasmático e actua também como um receptor celular. A cetoacidose (alteração metabólica aguda da diabetes

caracterizada por hiperglicemia, hipercetonemia e acidose metabólica) em particular é uma agravante significativa, pois afecta substancialmente diversas funções fagocíticas, como a quimiotaxia e fagocitose, levando assim a uma neutropenia. Para além disso, este fator também induz a expressão dos receptores CotH (proteínas homólogas com revestimento dos esporos) e GRP78, provocando um aumento à ligação endotelial do fungo, pela absorção de ferro, levando a cabo uma libertação de proteínas de ligação de ferro (por exemplo a transferrina). Esta libertação de proteínas de ligação de ferro, provoca um fator que contribui para a disseminação da infeção em condições com cetoacidose (sistema ativo de redutase de cetona), isto constata-se nas espécies de Rhizopus. É de extrema importância, referir que estes fenómenos podem ser reversíveis após a correcção do pH pelo que uma monitorização adequada da cetoacidose no doente com vista à sua rápida reversão, é da maior importância para a susceptibilidade do doente à mucormicose. Posto isto, pode constatar-se que factores como os elevados níveis de glicose, ferro e de β- hidroxibutirato promovem a propagação do fungo, induzindo a expressão de GRP78 e da CotH, que com a sua expressão acentuada provocará lesão do endotélio. Deste modo, a acidose relacionada à β-hidroxibutirato exerce um efeito direto na expressão das GRP78 e da CotH e um efeito indirecto ao comprometer a capacidade da transferrina ao quelar o ferro, uma vez que, este fenómeno em associação com a reversão do pH protagonizado pelo bicarbonato de sódio torna-se ineficiente na protecção das células endoteliais a lesões e invasões por parte das espécies causadoras da mucormicose (*Rhizopus*). Portanto, é de extrema importância ressalvar que em murganhos com cetoacidose, tratados com β-hidroxibutirato, possuem um nível de pH sanguíneo mais acidificado, uma vez que, na sua corrente sanguínea existe um nível de ferro sérico disponível mais elevado, expressando mais GRP78 nos seus órgãos alvo (como por exemplo pulmões) sendo assim extremamente susceptíveis à mucormicose. Assim, como anteriormente referido, as interações das proteínas GRP78 e CotH aliadas a um aumento do nível da glicémia (hiperglicemia) e doentes com cetoacidose explicam a susceptibilidade associada à mucormicose (Figura 5). (Baldin & Ibrahim, 2017)

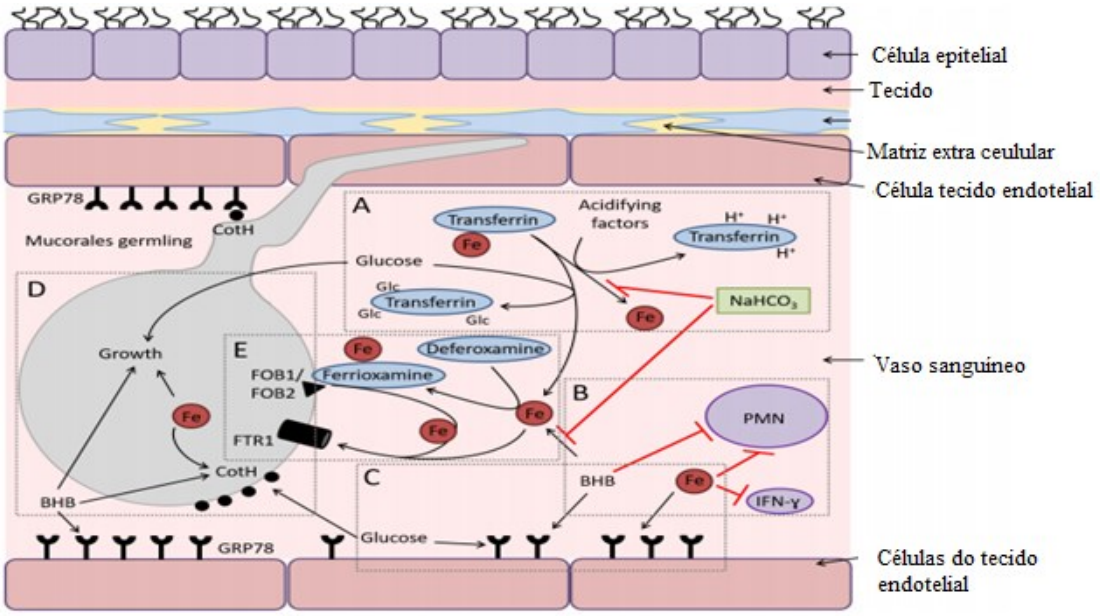


Figura 5 – Diagrama representação de mucormicetos com as células endoteliais durante a sua disseminação, Adaptado de (Baldin & Ibrahim, 2017)

4.2. Resposta Imunitária (Imunidade Inata e Adaptativa)

4.2.1. Imunidade Inata

A linha de defesa mais importante do hospedeiro contra esta infeção fúngica é composta por células mononucleares, macrófagos, neutrófilos, monócitos e as células natural killer. Esta "barreira" de imunidade inata é composta por dois processos no que diz respeito à patologia: os macrófagos tecidulares facilitam o processo de fagocitose dos esporos, no entanto os esporos, têm a capacidade de ludibriarem o sistema imunitário levando assim ao seu processo de germinação das hifas que posteriormente levam ao processo de quimiotaxia dos neutrófilos, estabelecendo-se o processo citotóxico oxidativo. (George Petrikkos & Tsioutis, 2018; Roilides, Kontoyiannis, & Walsh, 2012) Estas células, devido à função anteriormente referida têm a capacidade de facilitar o processo fagocitário dos esporos e hifas através da produção e libertação de metabolitos reativos de oxigénio, péptidos catiónicos e enzimas antimicrobianas. Para além disso, também são capazes de produzir citocinas pró- inflamatórias como o fator de necrose tumoral (TNF- α), IFN-γ e interleucina (IL)-1b. As mesmas, facilitam a activação e o recrutamento de outras células imunes, que a ocorrer numa fase demasiado precoce poderá levar num processo rápido de destruição dos tecidos e desta forma à doença disseminada. (Georgios Chamilos, Lewis, & Kontoyiannis, 2008) Esta resposta precoce, acontece através de diversos padrões moleculares associados aos agentes patogénicos, uma vez que, os fungos

dispondo de padrões moleculares associados a agentes patogénicos ligam-se aos receptores de factores de reconhecimento de padrões de fagocitose desencadeando a activação de cascatas de sinalização intracelular. Um exemplo, são os receptores são os *Toll - like*, especificamente os receptores do tipo II que desempenham um papel de extrema importância nesta resposta inflamatória precoce. (G. Chamilos, Lewis, Lamaris, Walsh, & Kontoyiannis, 2008; George Petrikkos & Tsioutis, 2018)

Além destes factores, existem outros que concomitantemente contribuem para uma evolução clínica desfavorável para o hospedeiro mas provindo diretamente deste. Constituem alguns exemplos: a neutropenia (imunossupressão e a utilização de corticosteróides), hiperglicémia, acidose e sobredosagem férrica que dificultam o processo fagócitico e possibilitam uma maior facilidade de penetração e disseminação dos agentes causadores da mucormicose. (Binder *et al*., 2014; George Petrikkos & Tsioutis, 2018) De facto, em murganhos a utilização de corticosteróides induz a uma deterioração dos macrófagos alveolares permitindo a germinação dos esporangiósporos.(Lionakis & Kontoyiannis, 2003) Igualmente demonstrado é o papel da cetoacidose como factor impeditivo da ação citotóxica inerente aos processos fagocitários com consequente promoção do crescimento de *Rhizopus oryzae*, tendo sido realizado num estudo *in vivo.* (Gebremariam *et al*., 2016)

4.2.2. Interação das células dendríticas com Mucorales

As células dendríticas, desempenham um papel fundamental na protecção do hospedeiro contra a invasão das espécies da ordem Mucorales, sendo esta a principal célula apresentadora de antigénios no desencadeamento do sistema imunológico adaptativo.(LeBlanc, Barousse, & Fidel, 2006) Num indivíduo saudável, ao fazer o reconhecimento de organismos patogénicos, estas libertam citocinas pró-inflamatórias, apresentando antigénios patogénicos aos linfócitos T e B. (Price & Tarbell, 2015)

No que diz respeito a interacção das mesmas com as espécies da ordem Mucorales, a mesma demonstrou *in vitro* que não apresenta respostas aos esporos de *Rhizopus,* mas apenas às hifas com consequente libertação de IL-23, que induz uma resposta das células T auxiliares (Th)-1 mediada por células Th-17 e síntese de TNF- α (Figura 7) . (Georgios Chamilos *et al*., 2010)

Desta forma, a actividade deste tipo de células é semelhante à dos macrófagos e neutrófilos, porém a sua resposta difere significativamente dependendo do estadio de germinação dos esporangiósporos de Mucorales, sendo também por isso consideradas um dos principais mecanismos impulsionadores da resposta imune adaptiva.(Ghuman & Voelz, 2017)

4.2.3. Plaquetas

As plaquetas têm um papel de enorme importância na imunidade do hospedeiro. Após a exposição das mesmas a um agente patogénico apresentam diversas funções antifúngicas e antimicrobianas, tais como, secreções de grânulos que contêm na sua estrutura citocinas e quimiocinas proinflamatórias e anti-inflamatórias, como o fator de crescimento transformina – β e trombocidinas com propriedades antifúngicas (Speth, Rambach, & Lass-Flörl, 2014), permitindo a expressão de moléculas ligadas à membrana, como por exemplo, a CD154 e receptores *Toll-like* plaquetários, que permitem a ligação plaquetária e a activação de diversas células (a ligação às células endoteliais ativa a molécula de adesão intercelular e a molécula de adesão vascular). A ligação dos monócitos promove a diferenciação em macrófagos, permitindo às células dendríticas induzir a ligação e respectiva maturação dos linfócitos B e T e estabelecer a ligação aos esporos e às hifas destas espécies patogénicas. Este acontecimento, permite a activação plaquetária formando coágulos que causam danos a nível fúngico, pelo crescimento da supressão da hifa. (Ibrahim & Voelz, 2017b; Schulze *et al*., 2017)

A agregação plaquetária e a sua posterior ligação à parede dos fungos podem prevenir a disseminação dos fungos. (Ghuman & Voelz, 2017) O aparecimento de áreas necróticas em órgãos onde não ocorreu crescimento fúngico, constatado em um caso uma isquémia trombótica devido à activação das plaquetas. Um estudo *in vitro* demonstrou a atividade das plaquetas na ligação aos esporos e às hifas destas espécies fúngicas da ordem de Mucorales,demonstrando a génese da activação plaquetária e libertação de grânulos. Deste modo, a interacção plaquetária apresenta uma acção inibitória relativamente à germinação dos esporos retardando o crescimento de *Rhizopus, Mucor, Lichthemia* e *Rhizomucor hyphal*.(Figura 6). (Perkhofer *et al*., 2009)

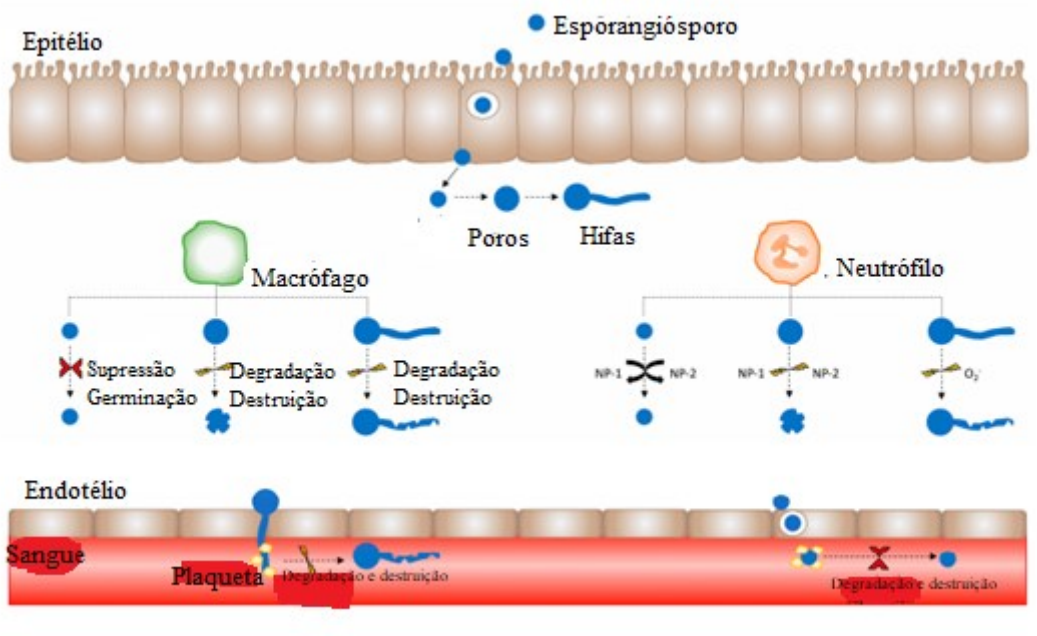


Figura 6 – Resposta inata das plaquetas contra a espécie de Mucorales, Adaptado de (Ghuman & Voelz, 2017; Perkhofer *et al*., 2009)

4.2.4. Células Natural – Killer

Apesar de as células natural killer (NK), serem consideradas parte do sistema imune inato e terem capacidade citotóxica direta e indirecta, as mesmas libertam quimiocinas e citocinas, como o IFN – γ , TNF-α, afectando igualmente a atividade de outras células imunitárias.(Schmidt, Tramsen, & Lehrnbecher, 2017) Deste modo, as células NK podem danificar as hifas das espécies da ordem *Mucorales*, contudo não afectam os esporangiósporos. Além deste facto, os danos causados pelas mesmas encontra-se inversamente relacionado com a quantidade de biomassa fúngica, porém é independente das espécies fúngicas. (Schmidt, Schneider, Demir, Lass-Flörl, & Lehrnbecher, 2016) Todavia, em estudos *in vitro* constatou- se que o efeito imunossupressor de *Rhizopus oryzae* suprime a libertação de quimiocinas como o IFN – γ , entre outras, por parte das células NK. Desta forma, o uso das células NK em doentes com transplante hematopoiético poderá ser útil para o tratamento da mucormicose a nível invasivo. (Schmidt *et al*., 2013)

4.2.5. Interação com o Endotélio

As espécies da ordem de Mucorales, possuem a capacidade de aderir às células endoteliais através da expressão de proteínas com revestimento dos esporos (CotH),

exclusivamente encontradas nestas espécies. Tratam-se de proteínas com capacidade de ligação ao recetor endotelial do hospedeiro GRP78 que tem como função levar à endocitose dos fungos. Quando as células endoteliais se encontram expostas a acidoses, a elevados níveis de glucose (casos de hiperglicemia e cetoacidose) e de concentrações férricas elevadas a expressão da GRP78 bem como a de CotH aumentam. (George Petrikkos & Tsioutis, 2018)

Verificou-se igualmente que além dos elevados níveis de concentração férrica, a acidose proveniente do β-hidroxibutirato (corpo cetónico) são os principais factores responsáveis pelo aumento de CotH e de GRP78. Para além disso, também se pode constatar que o uso de bicarbonato de sódio contrariou o efeito da acidose em ratos com β-hidroxibutirato. Assim, permitiu-se como anteriormente mencionado, contrariar o efeito da acidose estabelecendo-se como uma medida de tratamento em doentes com cetoacidose e mucormicose. (Gebremariam *et al*., 2016)

Noutro estudo realizado, verificou-se que a utilização de anticorpos anti-CotH conseguiram bloquear quase pela sua totalidade a invasão endotelial de *Rhizopus oryzae*. (Liu *et al*., 2010)

4.2.6. Resposta das células T - Imunidade Adaptativa

As Th, desempenham um papel fundamental contra os fungos patogénicos, sendo este processo mediado pela secreção de diversas citocinas. As células Th-1 são produtoras do IFN- γ que confere protecção contra os fungos, por outro lado a resposta das Th-2 aumenta susceptibilidade a infecções fúngicas. As células Th-17 devem o seu nome à produção de IL-17, tratando-se esta de uma interleucina bastante importante na protecção contra bactérias e fungos extracelulares, através da capacidade de recrutar neutrófilos ao local de infecção (Figura 7). (Ghuman & Voelz, 2017)

Num estudo, que teve como base a investigação das células T em doentes com mucormicose, verificou-se que este tipo de células nomeadamente a CD4+ e CD8+ estavam presentes durante a infeção. Deste modo, foi possível observar que células T específicas para Mucorales, tais como, IL-4 (Th-2), IFN – γ e IL-10 (Th-1) são produzidas de uma forma bastante abundante, seguidas pela IL-17. (Potenza *et al.*, 2011)

Presentemente, existem enormes lacunas no conhecimento acerca dos mecanismos de interacção entre as células T e espécies fúngicas pelo que se torna primordial a realização

de estudos adicionais que procurem esclarecer os mecanismos subjacentes à resposta imune adaptativa mediada por células T. (Ghuman & Voelz, 2017)

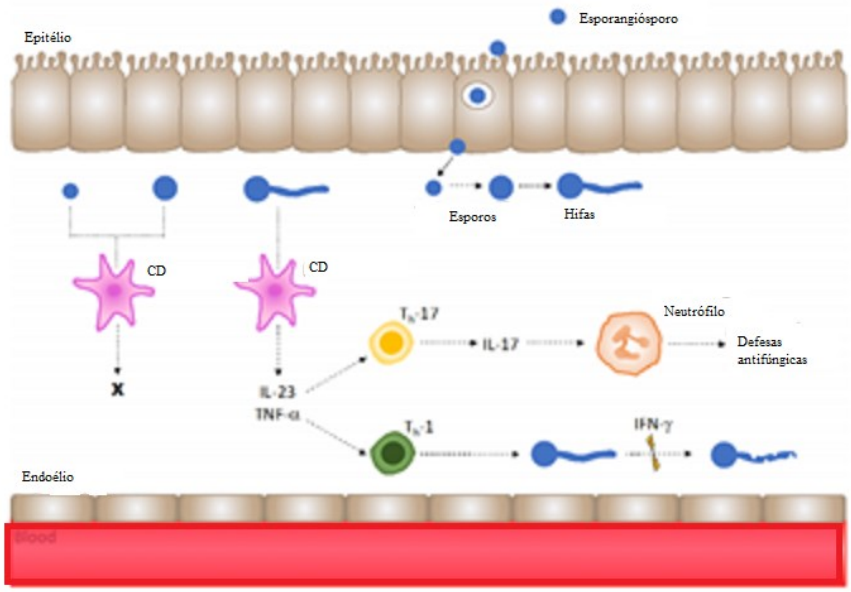


Figura 7 – Reconhecimento das hifas Mucorales por parte das células dendríticas, Adaptado de (Ghuman & Voelz, 2017)

5. Fatores de Risco e Cormobilidades

Enquanto doença de natureza maioritariamente oportunista, a mucormicose e respectiva taxa de mortalidade é promovida por diversos fatores de risco que a existirem alteram a interação do fungo com o hospedeiro. (Crabol & Lortholary, 2014)

Esta infeção fúngica encontra-se preferencialmente em indivíduos imunocomprometidos, nomeadamente em pessoas com neoplasias a nível hematológico, receptores de órgãos (indivíduos transplantados), entre outras e demais patologias que se encontram na génese de um estado imunodeficiente, como por exemplo, a diabetes *mellitus.* (Crabol & Lortholary, 2014) No que diz respeito a este último ponto esta infeção fúngica poderá manifestar-se em doentes cuja patologia se encontra mal controlada, essencialmente em casos de cetoacidose.(Binder *et al*., 2014). Nos indivíduos com cetoacidose, os elevados níveis de ferro existentes no sangue são causados por uma libertação de ferro das proteínas de ligação, como por exemplo a transferrina, devido ao nível de pH reduzido no organismo. A disfunção do metabolismo da glicose e do ferro bem como a sua deficitária regulação, resulta na diminuição da função fagocítica das células em eliminar as espécies causadoras de mucormicose, como é o caso do *Rhizopus oryzae*. (Adam Moser, Kevin Range, 2008; Binder *et al.*, 2014)

Outro fator de risco associado às mucormicoses, encontra-se relacionado em doentes que contenham quantidades reduzidas de fagócitos polimorfonucleares e mononucleares que inibem o crescimento e germinação de esporos em indivíduos saudáveis, pois esta doença perturba a função das células fagocitícas. Este grupo de doentes inclui aqueles que possuam neoplasias a nível hematológico, transplantados e em indivíduos submetidos terapêutica com elevadas doses de corticosteróides. (Binder *et al*., 2014)

A neutropenia prolongada e severa, constitui também um fator de risco, uma vez que, afeta a quimiotaxia dos neutrófilos. Nas situações em que a neutropenia é causada por níveis elevados de ferro, a mesma pode ser evitada através da aplicação de um quelante de ferro, como é o caso do deferasirox. No entanto, a terapia com deferoxamina (quelantes de ferro) poderá ser prejudicial, já que este fármaco atua como xenosideroféro após ligação com o ferro livre, ao contrário do que acontece com outros fármacos deste grupo como é o caso do deferasirox e a deferriprona que não atuam como xenosideróforos e não

aumentam assim o risco de se desenvolver esta patologia. *(Binder et al., 2014; Ibrahim et al*., 2007)

As lesões a nível cutâneo, nomeadamente no que diz respeito á barreira cutânea e tecidos moles, provocadas por trauma local ou então queimaduras também podem ser consideradas um fator de risco ao desenvolvimento de mucormicose. Em alternativa, a mucormicose cutânea pode dever-se à utilização de pensos, compressas e agulhas contaminadas. Este tipo de patologia também se encontra em indivíduos saudáveis, pois poderá ser adquirida através de picadas de insectos e em intervenções cirúrgicas. (Binder *et al.*, 2014; Paes De Oliveira-Neto *et al*., 2006)

A utilização do Voriconazol, em doentes de alto risco poderá ser um fator de predisposição da mucormicose, quer seja utilizado em regime profiláctico quer em regime terapêutico de outras infecções fúngicas, uma vez que, é ineficaz contra as espécies de Mucorales em ensaios *in vit*ro. (Binder *et al.*, 2014) Através de recentes dados epidemiológicos a nível clínico, observou-se que existe um aumento do risco em contrair mucormicose após a exposição com este antifúngico. Esta terapia encontrava-se prescrita para a profilaxia em doentes de alto risco, no entanto o mesmo é inactivo contra as espécies da ordem de Mucorales. Embora, não exista uma relação causal direta da utilização deste antifúnigco com o aparecimento de mucormicoses. Diversos estudos, têm todavia, procurado explorar e verificar os possíveis mecanismos pelos quais se podem associar o uso do antifúngico com o aumento de virulência das espécies de ordem de Mucorales.(George Petrikkos & Tsioutis, 2018) De facto constatou-se, num estudo realizado em murinos que a exposição ao voriconazol induziu o aparecimento de estirpes virulentas de espécies de *Mucor* e *Rhizopus* no modelo murino tendo como resultado um aumento de carga fúngica a nível pulmonar e com consequentemente aumento de mortalidade. Após a suspensão de terapia com este antifúngico, as espécies virulentas foram dissipando-se. (Lamaris *et al*., 2009) Noutro estudo, novamente realizado em murinos verificou-se que a pré-exposição dos esporos fúngicos ao voriconazol, provocaram diversas infecções causadas pelas espécies causadoras da mucormicose, como por exemplo, *Rhizopus oryzae* e têm a capacidade de se elevar o nível resistência a este antifúngico. (Lewis, Liao, Wang, Prince, & Kontoyiannis, 2011)

A terapia associada a uma elevada administração de ferro também constitui um fator de risco pois a utilização de deferoxamina é um fator determinante, aumentando a

disponibilidade de ferro para formar um complexo ferríco sendo que este composto induz o desenvolvimento da mucormicose pelo facto de promover o crescimento de *Rhizopus*. Desta forma, doentes em diálise com esta terapia têm um risco elevado de ter esta patologia. (BMJ Best Practice, 2016; Reyes, Tingle, Fenves, Spiegel, & Burton, 2008)

Factores como a prematuridade à nascença e desnutrição podem ser considerados como factores de risco associado para a mucormicose gastrointestinal. (Binder *et al*., 2014; Lalwani *et al*., 2012)

O vírus da imunodefieciência humana (VIH) não é considerado uma condição predisponente para esta patologia, sendo também bastante rara tal apenas se verifica através do uso concomitante de medicação (corticosteroídes) e medicamentos com elevada concentração de ferro. (George Petrikkos *et al*., 2012a) Num estudo retrospectivo, entre 1984 e 2002 revelou-se que os doentes com o vírus do VIH que apresentaram mucormicose foram bastante baixos, sendo que o surgimento desta patologia se encontra associada à utilização de medicação por via intravenosa. (Guardia, Bourgoignie, & Diego, 2000)

A transplantação, apresenta um importante fator de risco da infeção, sendo um fator preponderante de comorbilidade e mortalidade na população receptora de órgãos. Esta problemática apesar de apresentar um baixo nível de incidência 2% destas infecções fúngicas.(George Petrikkos *et al*., 2012a) Apresenta no entanto, uma elevada taxa de mortalidade, com uma taxa a rondar os 40% a 50%, 90 dias após realizar o transplante. (Abidi *et al.*, 2014). Em relação aos receptores transplantados a mucormicose incide essencialmente numa percentagem entre 0.2% a 1,2% em transplante renais, 0% a 1,6% em transplantes do fígado, 0% a 0,6% em transplantes cardíacos e de 0% a 1,5% e em transplantes do pulmonares. (Lemonovich, 2018; George Petrikkos *et al.*, 2012a)

Relativamente aos casos de mucormicose em doentes submetidos a transplante renal, um estudo inclui indivíduos onde a mucormicose apresentou-se como uma infeção bastante severa e mostrou uma percentagem de aparecimento após realizado o transplante de aproximadamente 2-14%. (Gandhi *et al*., 2005; Song *et al.*, 2017) Deste modo, a mucormicose encontra-se associada em casos de hospitalização durante um largo período de tempo, aliado a um período de mortalidade bastante alto. (Kontoyiannis *et al*., 2010)

Este estudo, teve como objectivo a caracterização das condições demográficas, as condições subjacentes, o local e padrão de infeção, análises microbiológicas e histopatológicas e o desfecho em utentes com transplantados renais com mucormicoses. Portanto, incluiu-se dados como idade, sexo, local anatómico da infeção, métodos de diagnóstico, duração do transplante, possíveis rejeições de transplantes, primeiros sinais de infecções após o seu diagnóstico, exames de cultura fúngica, estratégias de tratamento (uso de antifúngicos, terapia cirúrgica) e resultados. (Song *et al.*, 2017)

Assim, foi contabilizado um total de 174 casos de mucormicose em transplantes renais, entre os anos de 1970-2015 onde se constatou que o número de casos foi aumentando após o ano 2000 e contou com cerca de 134 casos, ou seja, 77% dos casos. Deste modo, através da figura abaixo (Figura 8) pode verificar-se o seu crescimento exponencial ao longo das últimas cinco décadas.

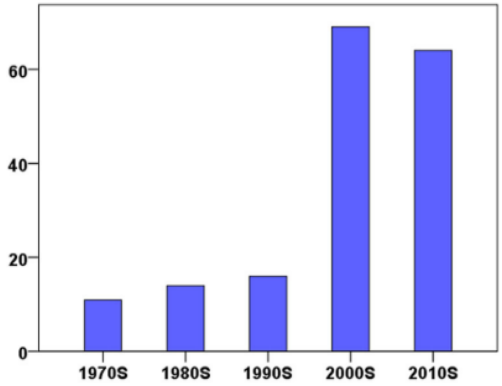


Figura 8 – Número de casos de mucormicose associados a transplante renal desde 1970 (Song *et al*., 2017)

No que diz respeito às suas características demográficas, bem como as suas condições clínicas de transplantados renais com mucormicose os resultados foram os seguintes: a idade média dos doentes foi de 45,9 anos (11-70 anos), onde predominou o sexo masculino (76%), a doença aliada de maior incidência foi a Diabetes *Mellitus* que representou 43,1% dos casos, onde nove doentes apresentaram diabetes do tipo I, 6 do tipo II e 10 apresentaram diabetes após realizado o transplante e a taxa de mortalidade mostrou uma percentagem de 33,3%. Também se verificou outras condições como cirurgia, extracção de dente, VIH, tumores malignos, trauma e o uso da deferoxamina como terapêutica uma taxa de mortalidade de 36,8% em 19 casos verificados. É também importante referir que 30 doentes não obtiveram nenhum tipo de historial clínico para além do transplante renal, sendo que no diz respeito ao período de diagnóstico entre o transplante renal e a mucormicose foi de 2,5 meses (média 2 dias - 20 anos).Com respeito

à população em si, 162 doentes obtiveram o transplante renal enquanto os restantes 12 doentes para além do rim receberam outro transplante (pâncreas, fígado e coração), registou-se uma taxa de mortalidade bastante mais acentuada nos indivíduos que obtiveram transplantes de mais de um órgão em comparação com os transplantados renais (75% *vs* 43,8%). A rejeição aguda de transplantes em indivíduos geneticamente diferentes ocorreu em 52 utentes dos quais 33 receberam terapia de indução, sendo que nenhuns destes factores seriam considerados como factores de risco de mortalidade por mucormicose. (Song *et al*., 2017)

De acordo com a apresentação clínica e a localização anatómica, destacam- se 7 tipos de mucormicose: rinocerebral, pulmonar, cutânea, gastro-intestinal, renal, disseminada (encontrada em locais não contínuos) entre outros locais menos comuns. Sendo que, de acordo com os dados fornecidos a forma mais comum de mucormicose foi a rinocerebral (33,3%), seguida da pulmonar (25,9%), forma disseminada (14,4%), renal (11,5%), cutânea (7,5%), gastro – intestinal (5,7%), peritoneal (1,1%). No que diz respeito, à sua taxa de mortalidade a mesma variava consoante o local de infeção sendo as mais predominantes: 76% com mucormicose do tipo disseminado, 42,2% infeção do tipo pulmonar e 55,6% com infeção renal. O sintoma mais predominante na mucormicose do tipo rinocerebral foi a dor de cabeça (n=33). É importante revelar que neste estudo que a mucormicose do tipo disseminado apresentou uma elevada taxa de mortalidade como se pode verificar na tabela abaixo (Tabela 3). (Song *et al*., 2017)

Tabela 3 – Tipos de mucormicose em transplantados renais. Adaptado de (Song *et al*., 2017)

Tipo de infecção	Nº Casos (%)	Mortalidade (%)
Disseminada	25 (14.4%)	19 (76.0%)
Pulmonar	45 (25.9%)	19 (42.2%)
Gastrointestinal	10 (5.7%)	4 (40%)
Cutânea	13 (7.5%)	3 (23.1%)
Rim	20 (11.5%)	11 (55.6%)
Rinocerebral	58 (33.3%)	18 (31.0%)
Peritoneal	2(1.1%)	0 (0%)
Artéria	1 (0.6%)	0 (0%)
Total	174 (100%)	74 (42.5%)

No que diz respeito, às espécies causadoras da mucormicose pode-se apurar que em 88 casos as mesmas foram identificadas (Tabela 4). Constatou-se que a espécie mais comum foi a *Rhizopus*, seguida pela *Mucor* e por fim pela *Cunninghamella.* (Song *et al*., 2017)

Tabela 4 – Mucormicetos relatados nos doentes do estudo desenvolvido por Song *et al*. Adaptado de (Song *et al*., 2017)

Mucormicetos	Doentes (%)	Mortalidade (%)
Micocladus (Absidia)	4 (4.5%)	2 (50%)
Apophysomices elegans	5 (5.7%)	3 (60%)
Cunninghamella	7 (8.0%)	2 (28.6%)
Mucor species	12 (13.6%)	7 (58.3%)
Rhizomucor species	6 (6.8%)	3 (50%)
Rhizopus species	52 (59.1%)	19 (36.5%)
Não especificado	26 (29.5%)	7 (26.9%)
Rhizopus oryzae	18 (20.5%)	7 (38.9%)
Rhizopus microsporus	5 (5.7%)	4 (80%)
Rhizopus rhizopodiformis	3 (3.4%)	1 (33.3%)
Outros	2 (2.3%)	0 (0%)
Total	88 (100%)	36/88 (40.9%)

A maior parte dos casos verificados em transplantados renais foi observada no sexo masculino (76%). As espécies do género *Aphophysomices elegans, Rhizopus e Rhizomucor* demonstraram a elevada taxa de mortalidade desta infecção fúngica. (Tabela 4). (Song *et al*., 2017)

Em relação à terapia, constatou-se neste estudo que 121 doentes (69,5%) foram sujeitos a uma terapêutica antifúngica e terapia cirúrgica, com uma a taxa de sucesso bastante superior (70,2%) em comparação aos casos que apenas fizeram terapia antifúngica (32,4%) ou então apenas terapia cirúrgica (36,4%). (Song *et al*., 2017)

Deste modo, neste estudo específico, abordando a terapia verificou-se que a taxa de sucesso utilizando o desoxicolato de anfotericina é de (47,4%), e com utilização de anfotericina Lipossomal (LAMB) é de (73,4%) e de posaconazol nos (92,3%) (Tabela 5). (Song *et al*., 2017)

Tabela 5 – Apresentação dos dados da terapêuticos dos 174 doentes. Adaptado de (Song *et al*., 2017)

Terapia	Doentes medicados (%)	Taxa de sucesso (%)
Anfotericina B Formulação	-	-
Deoxicolato	78/174 (44.8%)	37 (47.4%)
Lípidica	64/174 (36.8 %)	47 (73.4%)
Tratamento Antifúngico	34/174 (19.5%)	11 (32.4%)
Posacozazol	13/174 (7.5%)	12 (92.3%)
Itraconazol,voriconazol, fluconazol	19/174 (11%)	4 (21.1%)
Cirurgia	11/174 (6.3%)	4 (36.4%)
Tratamento cirurgico e antifúngico	121/174 (69.5%)	85 (70.2%)
Nenhum	8/174 (4.6%)	0/8 (0%)

Através deste estudo, os autores concluiram que a incidência de mucormicose, por parte de transplantados renais tem vindo a aumentar ao longo das últimas décadas. Este aumento, poderá ser associado à utilização de terapia imunossupressora, ao uso de uma profilaxia prolongada com antifúngicos e ao aumento de incidência de casos de diabetes *mellitus.* (A. Skiada *et al*., 2018)

6. Formas de Apresentação Clínica das mucormicoses

A classificação de mucormicose prende-se com o local anatómico onde se desencadeia a infeção e reflete o local de entrada dos géneros patogénicos, podendo os esporos entrar pela via respiratória, através da lesão do tecido cutâneo ou ingestão de alimentos contaminados. (Binder *et al*., 2014)

Do ponto de vista clínico, é extremamente relevante a forma de apresentação clínica deste tipo de micoses, uma vez que, poderão suscitar diferentes sintomas, meios de diagnóstico e diversos tipos de terapêutica.

O seu diagnóstico, baseia-se na evidência de invasão tecidular nomeadamente em corte de tecidos obtidos através de um procedimento estéril, posteriormente analisados em microscópio, desta forma visualiza-se as características das hifas, onde as áreas de grande inflamação apresentam grânulos de enorme dimensão. Esta análise deste tipo de culturas permitem não só o seu diagnóstico mas também a identificação das espécies causadoras e qual a espécie específica da mucormicose bem como qual o tratamento adequado para esta infeção. A nível microscópico, possuem uma enorme variedade de estruturas e espécies específicas, tais como, rizóides, esporângios, apófises, esporangiósporos. (Anna Skiada, Pavleas, & Drogari-Apiranthitou, 2017)

Porém, esta análise microscópica (histopatologia) apresenta certas desvantagens tais como: o facto amostra (tecido do doente) ser inadequada ou então o seu armazenamento não possuir as condições ideais até à realização do seu exame. (Lass-Flörl, 2009)

Uma alternativa de meio diagnóstico é realizada através do sequenciação através da técnica de Polymerase Chain Reaction (PCR) (Rahn *et al*., 2016), que é uma técnica enzimática simples que permite uma amplificação de uma cadeia de DNA específica a partir de um complexo de DNA, que permite com que a análise continue a ser efectuada mesmo que os testes em cultura permanecam em resultado negativo, no que diz respeito à doença. (Sakthivel *et al*., 2011)

Os métodos de diagnóstico podem ser evidenciados na Tabela abaixo (Tabela 6) .

Tabela 6 – Métodos de diagnóstico (BMJ Best Practice, 2016)

Métodos de diagnóstico	Resultado
Hemograma – avalia a presença de imunospressão. (Kontoyiannis & Lewis, 2006)	Neutropenia, Linfopenia (Kontoyiannis & Lewis, 2006)
Perfil Metabólico Básico – doentes diabéticos (Jiang *et al*., 2016)	Hiperglicémia resultando numa cetoacidose (Jiang *et al*., 2016)
Tomografia computorizada (TC) dos seios nasais cérebro	Espessamento da mucosa nasal, destruição óssea Cérebro presença de abcessos e inchaços
TC do Tórax com contraste luminoso	Condensação do pulmão
Endoscopia nasal	Mucosa necrótica na mucormicose rino–órbito– cerebral
Endoscopia gastrointestinal	Úlceras necróticas
Broncoscopia e biópsia a nível dos brônquios	Hifas Septadas
Biopsia	Procediementos cirurgícos. Ajuda a identificar o fungo
Ressonância magnetica nuclear (RMN)	RMN avalia Comprometimento dos tecidos moles e cerebrais

A sintomatologia, associada a este tipo de micoses encontra-se dependente do local anatómico onde se insere.

Na tabela abaixo (Tabela 7), apresenta um sumário dos diversos sintomas dos principais tipos de mucormicose.

Tabela 7 – Sintomas dos diversos tipos de mucormicose ("Centers for Disease Control and Prevention," 2021)

Tipos de mucormicoses	Sintomas
Rinocerebral	Inchaço Facial, Cefaleia, Congestão Nasal ou Sinusal, Lesões Negras no interior da boca, Febre.
Pulmonar	Febre, Tosse, Dor no peito, Falta de ar.
Cutânea	Dor, calor, vermelhidão excessiva ou inchaço em redor de uma ferida, aparecimento de bolhas ou ulceras, cor negra na área infectada.
Gastrointestinal	Dor abdominal, náuseas, vómitos, sangramento gastrointestinal.
Forma disseminada	Apresentada em pessoas já comprometidas a nível da sua imunidade, daí não apresentar sintomas específicos. No caso de se apresentar apenas no cérebro podem apresentar alterações do seu estado mental ou coma.
Renal	Febre, Hematúria, Oligúria, Leucocitose, Piúria. (Munshi *et al*., 2017)

Assim, principais tipos de mucormicose existentes encontram-se abordados nos parágrafos seguintes.

6.1.Mucormicose Pulmonar

A mucormicose pulmonar (MP) ocorre com maior predominância em doentes com neutropenia associados com doença cancerígena, que normalmente encontram-se submetidos a quimioterapias e a transplantes de células hematopoiéticas. (George Petrikkos *et al*., 2012b) No que diz respeito à sua taxa de mortalidade, é bastante elevada (76%). (Torres-Narbona *et al*., 2007) A sua sintomatologia não é específica, apresentam sinais como uma febre (38ºC) durante largo período de tempo, sendo resistente a antibióticos de alto espectro, tosse seca associada a uma hemoptise é um sintoma comum enquanto a dor torácica pleurítica e dispneia são sintomas menos comuns.(Prakash & Chakrabarti, 2019) A MP poderá alastrar-se para outros órgãos, nomeadamente áqueles que se encontram adjacentes ao pulmão, como a parede torácica e o pericárdio. Nas radiografias a nível pulmonar os sinais de mucormicose também não são específicos e

distinguíveis em relação a outras infecções fúngicas, como por exemplo dos da aspergilose. Os sinais mais específicos incluem infiltrações, consolidações, nódulos, cavitações, atelectasias, espessamento da banda traqueal entre outros. Assim, em indivíduos com imunossupressão acentuada ou fase de doença terminal a mucormicose poderá também apresentar-se como um sintoma de uma pneumonia bacteriana, sendo assim bastante difícil de detectá-la. (George Petrikkos *et al*., 2012b; Wahba, Truong, Lei, Kontoyiannis, & Marom, 2008)

Num estudo, realizado por TC , constatou-se que em 45 doentes com alterações a nível hematológico, apresentavam características muito semelhantes entre a mucormicose pulmonar e a aspergilose. Assim, verificou -se a presença de múltiplos nódulos com um tamanho igual ou superior a dez mm e de derrames a nível da pleura. Neste estudo, observou-se um sinal de um halo invertido, numa área redonda focal rodeada num anel de consolidação como sendo um sinal característico de MP (Figura 9). (Challa *et al*., 2011; Wahba *et al*., 2008)

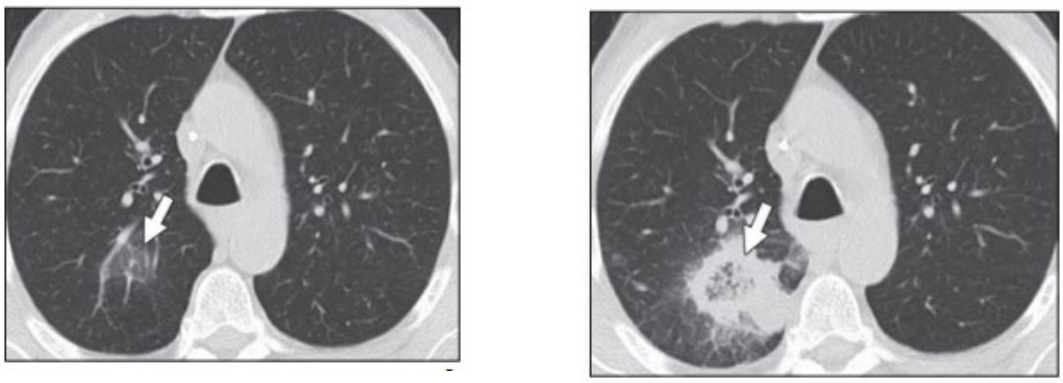


Fig 9 – Imagem de mucormicose pulmonar com o auxílio de uma tomografia computorizada (Wahba *et al*., 2008)

6.2. Mucormicose Rinocerebral

Este tipo de mucormicose é encontrada em doentes com uma patologia específica como é o caso da diabetes *mellitus*, condições de neoplasias malignas, receptores de transplantes de células hematopoiéticas, transplantados, entre outros e demais factores. Este tipo de mucormicose desenvolve-se após uma inalação de esporangiósporos nos seios perinasais, podendo propagar-se de uma forma bastante rápida aos tecidos adjacentes. Após o período germinativo do fungo, este tem a capacidade de se disseminar para outros locais, podendo invadir o palato, de seguida o seio esfenoidal, o seio cavernoso e por fim poderá atingir o cérebro. (George Petrikkos *et al*., 2012b). Os seus sintomas iniciais são bastante

comuns com a sinusite e a celulite periorbital, incluindo a dor ocular, a dormência facial seguida de uma visão turva. (Prakash & Chakrabarti, 2019) Em certos indivíduos e em casos mais graves poderá também incluir outros sinais e sintomas, tais como, uma paralisia de diversos nervos cranianos, dor facial periorbital, inflamação orbital, edema palpebral, blefaroptose, proptose, alterações a nível ocular incluindo a sua motilidade, oftalmoplegia interna ou externa, cefaleias e perda de visão aguda. A presença de uma cicatriz necrótica é um dos principais marcos deste tipo de mucormicose (Figura 10 e 11), porém poderá haver uma ausência da mesma. A presença de febre é variável podendo estar ausente na maioria dos casos. Em doentes que não possuem uma medula óssea danificada o número de glóbulos brancos é tipicamente elevado. O exame através da tomografia computurizada (TC) com contraste, confere uma enorme utilidade para se definir a extensão deste tipo de mucormicose, uma vez que, este tipo de exames permitem verificar o estado da mucosa edemaciada, o preenchimento do fluido dos seios etmoidais e a destruição dos tecidos periorbitários e margens ósseas. Embora este exame seja o mais simples e fácil de verificar o estado desta patologia, a destruição a nível ósseo é apenas visualizada no estadio final desta infecção fúngica onde já se presencia fenómenos de necrose do tecido mole (Figura 11). Desta forma, a ressonância magnética torna-se numa alternativa bastante viável pois permite elaborar a identificação da extensão intradural e intracaniana da mucormicose rinocerebral bem como verificar fenómenos de trombose sinusal e a nível da carótida interna. Esta técnica também permite verificar o estado de disseminação desta infecção, muito embora as evidências de infecção a nível dos tecidos moles orbitários sejam visíveis a nível da TC e da ressonância magnética (técnica mais sensível). (George Petrikkos *et al*., 2012b)

Doentes com mucormicose rinocerebral no seu estado precoce poderão não apresentar anomalias. Através de uma ressonância magnética e de uma TC é possível aos doentes de elevado risco realizar uma cirurgia com o intuito de se executar uma biópsia em áreas suspeitas de conterem infecções. Assim, o diagnóstico correto permite fazer uma recolha de tecido e verificar o estado histopatológico. (Prakash & Chakrabarti, 2019)

Dada a natureza progressiva desta patologia , associada à sua taxa de mortalidade elevada, os doentes com diabetes, alterações visuais e cefaleias tornam-se candidatos para uma avaliação imediata por forma a apurar-se a ocorrência ou não desta infecção.(George Petrikkos *et al*., 2012b; Prakash & Chakrabarti, 2019)



Figura 10 – Marca necrotica facial de mucormicose rinocerebral (George Petrikkos *et al.*, 2012a)



Figura 11 – Imagem tri – dimensional através de TC (George Petrikkos *et al.*, 2012a)

6.3.Mucormicose Cutânea

A mucormicose cutânea, provém directamente da inoculação de esporos fúngicos na pele, podendo levar a uma disseminação desta infeção fúngica, porém há que constatar que esta disseminação é realizada da pele para outros órgãos e não o inverso. Este tipo de mucormicose, é classificado de acordo com a sua extensão. Quando afecta a pele, tecido cutâneo e em casos mais agravados, poderá atingir um nível mais profundo afectando os músculos, ossos e tendões. É denominada de localizada quando envolve outros órgãos contínuos e de disseminada quando ocorre envolvência de órgãos não contínuos. (George Petrikkos *et al.*, 2012b)

No que diz respeito às suas manifestações clínicas, estas poderão manisfestar-se de diversas formas. Inicialmente, esta infeção progride de uma forma gradual, lenta ou fulminante, originando gangrenas. A sua apresentação típica é o aparecimento de uma escoriação necrótica acompanhada de eritemas e endurecimento circunstante. Em indivíduos imunocomprometidos, o aparecimento de uma mancha eritematosa inespecífica poderá induzir a uma manifestação disseminada desta infeção fúngica. (BMJ Best Practice, 2016)

Certos estudos, relataram apresentações menos comuns deste tipo de mucormicose, apresentações como, lesões superficiais com bordas circinadas e escamosas com uma ligeira elevação aparentando-se como uma *tinea corporis*, aparecimento de placas com

bordas eritemáticas externas e centros necróticos enegrecidos, doentes com feridas abertas e lesões com aspecto semelhantes de um cotovelo. (A. Skiada & Petrikkos, 2009)

Em casos de aparecimento de uma escoriação necrótica, estas lesões assemelham-se a uma gangrena bacteriana e a um pioderma gangrenoso que poderá indicar o aparecimento de outras infecções produzidas por bactérias ou fungos (Figura 12) (George Petrikkos *et al*., 2012b)



Figura 12 – Mucormicose do tipo cutâneo no membro superior direito (George Petrikkos *et al*., 2012b)

6.4. Mucormicose Gastrointestinal

A mucormicose gastrointestinal não é comum, sendo que o seu diagnóstico é raro em doentes ainda em vida. Nesses casos, ainda se consegue efectuar o diagnóstico numa fase tardia e a taxa de mortalidade é bastante elevada a rondar a uma percentagem dos 85%. (George Petrikkos *et al.*, 2012b; Prakash & Chakrabarti, 2019) Deste modo, apenas 25 % dos casos deste tipo de mucormicose são diagnosticados antes da morte, sendo que os casos mais relatados foram em recém-nascidos prematuros, em crianças com uma desnutrição elevada e em indivíduos com malignidade hematológica, diabetes *mellitus,* e que recorreram à terapia com corticosteróides.(George Petrikkos *et al*., 2012b)

Esta infeção é adquirida pela ingestão de alimentos contaminados com fungos, tais como leite fermentado e produtos de pão seco. O consumo deste tipo de géneros alimentícios bem como de papas fermentadas, bebidas alcoólicas derivadas do milho poderá desencadear este tipo de patologia. A utilização de medicação homeopática contaminada com esporos provenientes da mucormicose também se encontra relacionado com a mucormicose gastrointestinal. A utilização de material cirúrgico em exames realizados a nível da orofaringe não esterilizados correctamente pode também induzir a este tipo de

mucormicose, pois pode ter na sua constituição esporangiósporos. (George Petrikkos *et al*., 2012b)

No que diz respeito ao local desta infeção, pode ocorrer em qualquer parte do sistema gástrico, no entanto é no estômago onde se encontra com maior predominância, seguindo-se do cólon e do íleo. A infeção de um modo geral, apresenta uma perfuração a nível gástrico que poderá associar-se a um sangramento do trato gastrointestinal. (BMJ Best Practice, 2016)

Para além dos locais anteriormente referidos esta patologia também pode afectar o fígado, baço, as paredes intestinais e posteriormente os seus vasos sanguíneos, resultando assim numa perfuração intestinal, peritonite, sépsis e hemorragia gastrointestinal sendo esta última a causa mais frequente de mortalidade deste tipo de mucormicose. (George Petrikkos *et al*., 2012b)

6.5.Mucormicose disseminada

A mucormicose disseminada tem a capacidade de se poder dispersar em diversos órgãos. (Prakash & Chakrabarti, 2019) O pulmão é o órgão mais afectado pela disseminação. Esta infeção também pode ocorrer por via alimentar e queimaduras a nível cutâneo. Embora o cérebro seja um local comum de disseminação, a mesma pode ocorrer em outros órgãos como fígado, baço, coração, pulmão, estômago, intestino delgado e grosso, rim entre outros e demais órgãos devido à sua capacidade de metastização. (Lemonovich, 2018; George Petrikkos *et al*., 2012b)

Doentes que se encontram sujeitos a uma medicação com deferoxamina (elevada concentração de ferro), em casos de uma imunossupressão profunda (receptores de transplantes de órgãos e de células de tronco, em doentes com uso abusivo de corticosteróides) ou associados a uma neutropenia e leucemia são os grupos que maior risco deste tipo de mucormicoses. (BMJ Best Practice, 2016; Reyes *et al*., 2008)

No que diz respeito aos seus sintomas os mesmos são amplamente variáveis, tendo em conta a sua localização e o seu grau de invasão nos órgãos afectados. O diagnóstico precoce é bastante difícil pois requer um elevado nível de suspeição. Desta forma, o diagnóstico após a morte de doentes com este tipo de mucormicose é bastante usual. No entanto, um importante indício para despistar este tipo de mucormicose, é efectuar um

diagnóstico e detectar o aparecimento de uma lesão cutânea metástica. Assim, sem o tratamento adequado, este tipo de mucormicose é fatal. (George Petrikkos *et al*., 2012b).

6.6.Mucormicose Não Comum

Este tipo de infeção fúngica apresenta também outros tipos de manifestações não comuns, tais como, endocardite, osteomielite, peritonite e pielonefrite. Um dos principais motivos ou factores de risco associado é a utilização de fármacos por via intravenosa. A endocardite ocorre principalmente sobre as válvulas podendo causar tromboses a nível da aorta. A osteomielite poderá ocorrer devido a uma intervenção cirúrgica, como por exemplo, uma operação ao nível do cruzado anterior, num estudo relatou -se casos de osteomielite na tíbia, fémur, escápula, metacarpos, falanges e esterno. No entanto, neste tipo de patologia encontra-se necessário referir que tem uma incidência bastante rara. Em casos de mucormicose relacionadas com o uso de catéteres não esterilizados de uma forma adequada, a sua remoção imediata bem como o uso de uma terapia antifúngica sistémica por um período prolongado torna-se essencial para o seu tratamento. A nível cerebral (nomeadamente nos gânglios da base) é uma forma rara de mucormicose, nomeadamente em doentes com leucemia que se encontram associados à utilização de medicação intravenosa. Por fim, a mucormicose associada na mastóide, mucosa oral, osso, bexiga, traqueia, mediastino e na orelha é também rara. (George Petrikkos *et al*., 2012b)

6.7.Mucormicose Renal

A mucormicose renal, é um tipo raro de mucormicose, que tem sido verificado nomeadamente em casos com forma disseminada, numa percentagem a rondar os 20%. Num estudo, englobou-se 90 casos com mucormicose deste tipo bem como mucormicoses sistémicas. Incluiu-se, 79 homens e 11 mulheres com uma média de idade de 25 anos no caso masculino de 18,2 anos. As suas principais manifestações clínicas são a febre (82%), hematúria (sangue na urina associada com uma dor) e a oligúria (78%), sendo que também se constataram outras características laboratoriais, tais como, leucocitose (73%) e piúria (65%) com evidência macroscópica de hematúria. O seu diagnóstico poderá ser realizado através de uma TC. No que diz respeito à sua taxa de mortalidade esta apresenta uma taxa de 45% , ao contrário do que acontece noutros tipos de mucormicose cuja a taxa de mortalidade atinge entre os 75 e 100%. (Munshi *et al*., 2017)

A mucormicose renal poderá afectar o hospedeiro no seu estado de imunidade comprometida, sendo que se encontra associada à utilização de medicação intravenosa, bem como ao transplante deste órgão requerendo um alto nível de suspeição para o seu diagnóstico e seu posterior tratamento adequado. Devido às suas características clínicas e radiológicas, o diagnóstico requer a identificação do fungo na histopatologia do tecido renal que se visualiza nos tecidos com lesões profundas em doentes com infecções invasivas, como é o caso da mucormicose, o desbridamento, a excisão do tecido, incluindo a nefrectomia poderão possuir uma grande utilidade como técnicas de avaliação. Num estudo veficou-se que a utilização da técnica de nefrectomia associada a robótica. (Munshi *et al*., 2017)

Nas figuras abaixo apresentadas (Figura 13 A e B) pode -se verificar um tecido necrótico ao nível do rim direito , detinha uma massa amarelada bem definida, a mesma se propagou para o fígado que detinha o tecido necrótico com numerosas hifas não septadas características da mucormicose.(Munshi *et al*., 2017)

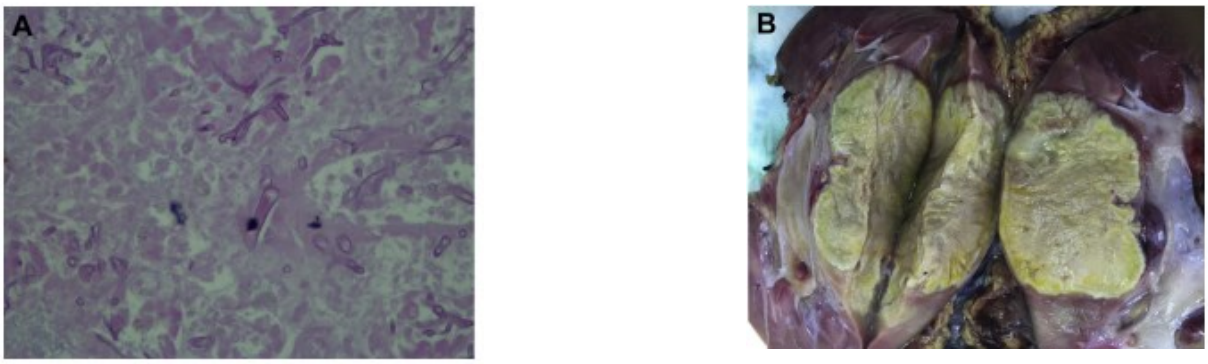


Fig 13 A: Presença de hifas fúngicas no tecido renal. B: Presença de massa amarelada no rim (Munshi *et al*., 2017)

7. Abordagem Terapêutica às mucormicoses

A mucormicose representa uma doença rara, com consequências devastadoras e encontra-se associada a uma elevada taxa de mortalidade anatomicamente localizada entre os 20-50% e na sua forma disseminada numa percentagem entre os 70-90%.(Sipsas, Gamaletsou, Anastasopoulou, & Kontoyiannis, 2018; Zilberberg *et al*., 2014)

Estes valores provenientes do estudo desta infeção prendem-se pelo facto de serem observados em doentes imunodeprimidos, os quais apresentam uma imunidade afectada, resultando assim numa invasão aos tecidos que posteriormente permitirá a sua disseminação. Na sua forma anatómica localizada leva à lesão e necrose tecidular. (Castrejón-pérez, Miranda, & Welsh, 2017)

A heterogeneidade desta doença possui diferentes tipos bem como locais de ação. É de extrema importância que a terapêutica contenha um plano individualizado consoante os fatores de imunossupressão do hospedeiro e onde se inclui as suas cormobilidades (ou seja a existência de duas ou mais patologias), o local da infeção, o seu diagnóstico correto e por fim a utilização do antifúngico (Cornely *et al*., 2014; Tissot *et al*., 2017) adequado a nível farmacológico consoante o tipo desta doença (Sipsas *et al*., 2018)

7.1.Dificuldades no desenvolvimento das estratégias no seu tratamento

O tratamento desta patologia apresenta uma enorme dificuldade. Esta doença é caracterizada pela sua heterogeneidade e pelos seus locais de infeção bem como a sua diversidade. A sua terapêutica, encontra-se baseada em estudos que incluem fatores como uma variabilidade significativa que a doença tem e o facto de se apresentar em doentes imunodeprimidos. Assim, torna-se primordial um diagnóstico fidedigno. (Cornely *et al*., 2014; Tissot *et al*., 2017)

7.2.Princípio do tratamento da mucormicose

O controlo da mucormicose é baseado nos critérios de avaliação do doente (diagnóstico através de exames) e posterior tratamento incluindo inúmeras intervenções cirúrgicas que ocorrem em simultâneo ou então em diferentes tempos e intensidades. Desta forma, o tratamento inclui uma estratificação da gravidade da doença, um diagnóstico clínico e laboratorial precoce e uma introdução de uma terapia antifúngica eficiente (monoterapia ou terapia combinada) em conjunto com uma cirurgia em lesões necróticas. (Walsh,

Gamaletsou, McGinnis, Hayden, & Kontoyiannis, 2012) O tecido ao não ser removido, pode criar uma infeção sendo o processo realizado num bloco operatório cujo procedimento encontra-se sujeito a anestesia geral ou anestesia local bem como um controle das condições médicas subjacentes. (Direção-Geral da Saúde, 2013) Deste modo, como anteriormente citado, o diagnóstico precoce e a intervenção terapêutica imediata podem prevenir uma invasão tecidual progressiva bem como as sequelas inerentes, podendo assim diminuir a necessidade de uma cirurgia extensa e sua subsequente deformidade, permitindo uma maior sobrevivência a esta infeção. (Sipsas *et al*., 2018; Walsh *et al*., 2012)

Num estudo, constatou-se que em 70 doentes com tumores a nível hematológico associado com a infeção fúngica das mucormicoses, a terapia antifúngica anfotericina B (AMB) tardia por um tempo igual ou superior a 6 dias, após o diagnóstico resultou num aumento do dobro na taxa de mortalidade em comparação com o tratamento precoce (82,9% *vs* 48,6%). (Georgios Chamilos *et al*., 2008; Sipsas *et al*., 2018)

Assim, o tratamento cirúrgico e antifúngico tornam-se uma opção fundamental. A sua ausência implica uma mortalidade com proporções enormes. Numa análise efectuada noutro estudo, demonstrou-se que uma terapia antifúngica associada a uma cirurgia conferiu uma taxa de sobrevivência bastante acentuada a rondar os (69%) enquanto em utentes sem qualquer tipo de tratamento a taxa de mortalidade encontrou-se nos valores dos 97% (Georgios Chamilos *et al*., 2008; Sipsas *et al*., 2018)

7.3.Terapia antifúngica para a mucormicose

Apenas a AMB e as suas formulações lipídicas e mais recentemente o isavuconazol são considerados tratamento de primeira linha da mucormicose. (Marty *et al*., 2016) Por outro lado, a terapia com posaconazol terá sido considerada como terapia de segunda linha. Sendo que a AMB, foi testada em ensaios *in vivo* e *in vitro* e em estudos clínicos. (Tissot *et al*., 2017)

No que diz respeito, às suas formulações lipídicas a AMB lipossomal (LAMB) bem como o seu complexo lipídico (ABLC) foram consideradas como melhor índice terapêutico que o desoxicolato de AMB sendo assim nomeados como tratamento de primeira linha. (Sipsas *et al*., 2018)

Tal como em diversos agentes antifúngicos e micoses, a dose óptima de AMB bem como as suas formulações lipídicas para a mucormicose ainda é indeterminada, no entanto segundo as *guidelines* atuais a dosagem sugerida de AMB e LAMB é de 5 mg/kg/dia. (Sipsas *et al*., 2018; Tissot *et al*., 2017)

Desta forma, a atividade *in vitro* de AMB contra as espécies do género de Mucorales é extremamente variável. Num estudo efectuado, observou-se 524 casos isolados de mucormicose em 97,5% dos casos revelou que estes mesmos valores foram diversificados, cuja dosagem ideal com AMB de tratamento seria de 2 µg/ml para a *L. corymbifera*, *M. circinelloides* e *R. microspores* enquanto para *R. arrhizus*, sendo esta a mais patogénica para o humano seria de 4 µg/ml. Estes valores relativamente elevados de AMB de acordo com a sua concentração mínima inibitória (CMI) suportam o uso de uma dose diária mais elevada de AMB para se conseguir a remoção de Mucorales nos tecidos. (Lewis *et al*., 2010) No caso da mucormicose pulmonar verifica-se que o tratamento ideal com esta medicação seria de 10 mg/kg/dia pois provou tornar-se mais eficaz na redução de carga fúngica em comparação com as doses de cinco ou um mg/kg/dia. Logo, com base neste estudo *in vivo e in vitro* pode-se verificar que o tratamento desta patologia com AMB terá que ser efectuado com altas doses (superior a cinco mg/kg/dia) para um melhor índice terapêutico . (Lewis *et al*., 2010; Sipsas *et al*., 2018)

Noutro estudo efectuado, os autores defenderam um uso de uma dose mais elevada com LAMB para o tratamento da mucormicose. Esse estudo, incluiu uma amostra de 40 doentes, sendo que a maior parte detinha uma malignidade a nível hematológico onde 71% foram sujeitos a cirurgia e desbridamento antes do início do tratamento. No que diz respeito, aos resultados obtidos, com este aumento de dose em comparação à dose padrão utilizada, não se obteve uma melhoria significativa nas taxas de mortalidade após 12 semanas de tratamento. (Lanternier *et al*., 2015)

Assim, a terapia da mucormicose com AMB menciona que dosagem ideal é de 5mg/kg/dia apesar de não possuir uma eficácia terapêutica elevada as mesmas podem ser consideradas como nível de tratamento de primeira linha. (BMJ Best Practice, 2016; Cornely *et al*., 2014)

7.4.Triazóis

Os triazóis atuam ao nível da membrana celular fúngica, que têm como principal função de destruir o ergosterol da membrana celular fúngica. Entre os demais antifúngicos triazólicos temos: o fluconazol, o itraconazol e voriconazol que possuem pouca ou nenhuma atividade contra Mucorales. No entanto, existem novos antifúngicos desta classe (posaconazol e isavuconazol) que têm uma melhor atividade *in vitro* contra Mucorales (Marty *et al*., 2016) tal como se pode verificar nos parágrafos seguintes.

7.4.1. Posaconazol

Este fármaco, possui uma atividade *in vitro* variável contra Mucorales consoante a espécie causadora. Num estudo, elaborado de uma amostra de 131 estudos clínicos isolados demonstrou-se que a CMI deste antifúngico para as diversas espécies de mucormicose variava entre os valores de 1-8 μg/ml (Caramalho *et al*., 2015) , onde a maior parte das espécies demonstraram ser sensíveis a este fármaco à excepção de *Rhizopus spp*. Deste modo, os seus autores em casos de mucormicose pulmonar demonstraram que a concentração sérica teria de ser superior a 4000 μg/ml com o intuito de se fazer efeito a esta infeção causada pelo género de *Rhizopus spp.* (Lewis, Albert, & Kontoyiannis, 2014)

Portanto, torna-se preocupante os dados sobre a eficácia clínica deste fármaco. A sua posologia habitual é de 300 mg/dia sob forma de comprimidos de libertação prolongada, e a espécie mais comum causadora da mucormicose é o *Rhizopus*. Observa-se que a eficácia deste fármaco para esta patologia apresenta um resultado diminuto e podemos considerar esta terapia com este antifúngico para doentes que são intolerantes à AMB bem como aos seus derivados. (Sipsas *et al*., 2018)

Num ensaio clínico, que incluiu 24 doentes, utilizou-se o posaconazol como tratamento sob forma de suspensão oral (800 mg dividas em quatro doses). A sua taxa de eficácia demonstrou ser bastante elevada rondando os valores de 70%, porém este antifúngico demonstrou alguns efeitos adversos nomeadamente a nível gastrointestinal.(Greenberg *et al*., 2006)

Num estudo clínico, onde utilizaram este antifúngico como terapia alternativa, em 91 doentes, verificou-se casos de mucormicoses resistentes e a taxa de sucesso foi de 61% enquanto em casos de mucormicose a nível pulmonar foi de 65%. Sendo que, aqueles que

não conseguiram um tratamento eficaz permaneceram no mesmo estadio da doença após 12 semanas de tratamento. (van Burik, Hare, Solomon, Corrado, & Kontoyiannis, 2006)

A terapia com este antifúngico é realizada sob forma de suspensão oral, sendo administrada 3 a 4 vezes por dia, preferencialmente com comida ou com a ingestão de líquidos carbonatados, com o intuito de melhorar a sua biodisponibilidade, no entanto em doentes cujo estado da doença se encontra mais avançado torna -se mais difícil a administração de comida pois os mesmos podem não ser capazes de ingerir ou podem estar enjoados. Deste modo, a absorção sob forma de suspensão oral de posaconazol ficaria aquém do esperado levando a cabo a ineficácia da terapêutica. Com o intuito de superar-se esta limitação farmacocinética desenvolveu-se este fármaco sob forma de comprimidos gastro-resistentes e solução intravenosa. (Dolton *et al*., 2012)

Relativamente à suspensão oral, os comprimidos têm como vantagens o facto de possuírem melhor biodisponibilidade na toma de uma única dose diária sendo que a sua absorção não é dependente da necessidade de alimentos pois não afecta o pH gástrico bem como a sua motilidade, uma menor variabilidade de pessoa para pessoa e concentrações plasmáticas mais previsíveis do que a suspensão.Desta forma, torna-se fundamental ser realizada a monitorização da terapêutica deste sob forma de comprimidos gastro-resistentes, apesar de possuírem uma melhor farmacocinética que a forma de suspensão oral. (Dolton *et al*., 2012; Sipsas *et al*., 2018)

Atualmente, a posologia ideal considerada para o tratamento da mucormicose é de 400 mg duas vezes por dia quando tomada com as refeições e 200 mg quatro vezes por dia sem refeições sendo ambas realizadas sob formulação de suspensão oral. A terapia é apenas realizada em casos onde não seja possível o tratamento com AMB. (Cornely *et al*., 2014; Sipsas *et al*., 2018; Tissot *et al*., 2017)

7.4.2. Isavuconazol

Este fármaco é um novo triazol de amplo espectro sendo um agente biologicamente ativo do pró-fármaco sulfato de isavuconazónio. Foi aprovado nos EUA e na Europa para o tratamento da mucormicose quando não existe a possibilidade do seu tratamento com a AMB. A sua formulação, encontra -se disponível sob forma intravenosa e oral na qual a administração é realizada com uma dose de 200 mg três vezes ao dia num período de dois dias e partir desse momento 200 mg diariamente. O isavuconazol a nível farmacocinético

e de perfil de segurança possui inúmeras vantagens em relação a outros azóis, uma vez que, não necessita de uma monitorização constante, tem menos interacções com outros fármacos, possui uma menor toxicidade especialmente a nível hepático. Assim, não é necessário um ajustamento da dose devido à ausência de efeitos causados no rim e por fim uma excelente biodisponibilidade a nível oral a qual não necessita de uma ingestão de alimento. (Sipsas *et al*., 2018)

O isavuconazol possui uma atividadade *in vitro* variável e dependente da espécie causadora. (Sipsas *et al*., 2018) Num estudo, realizado em murinos com mucormicose com a espécie de *Rhizopus*, indicou que este fármaco apresentou uma eficácia comparável com o tratamento com LAMB para a reduzindo a carga fúngica tecidular, localizada no pulmão e no cérebro, apresentando benefícios ao fim de um tratamento durante 21 dias. (Arendrup, Jensen, & Meletiadis, 2015)

Assim, o isavuconazol, pode ser considerado uma terapêutica alternativa com sucesso em indivíduos cuja imunidade se encontra comprometida. Num estudo, com uma amostra de 37 indivíduos, com mucormicose já comprovada ou sintomatologia associada a esta infeção, de acordo com os critérios elaborados pela Organização de Pesquisa e Tratamento de Cancro/Grupo de Estudo de Micose. Os mesmos foram distribuídos da seguinte forma: indivíduos cujo tratamento inicial foi feito com isavuconazol (n=21); indivíduos onde se utilizou o isovuconazol como terapia alternativa à inicial (n=11) por fim, em indivíduos com intolerância a outros antifúngicos (n=5). É importante destacar que entre estes indivíduos, 13 (35,1%) correspondem a recetores de transplante de células hematopoiéticas e 3 (8,1%) correspondem a receptores de órgãos. (Marty *et al*., 2016)

No que diz respeito à apresentação clínica, verificou- se que a maioria apresentava a nível pulmonar havendo na maior parte envolvimento simultâneo com outros órgãos; seguindo-se a nível da sinusite, parte ocular, sob forma de doença disseminada e a nível do sistema nervoso central. A distribuição das espécies causadoras incluiu *Mucor spp* (n=20*), Rhizopus spp*. (n=9), *Rhizomucor spp*. (n= 5), *Lichttheimia spp*. (n=2) e um caso isolado com *Cunnighamella spp*. Os valores de concentração mínima inibitória deste fármaco variaram de 0,25 a 16 µg/ml. Ao quadragésimo segundo dia, verificou- se que 11% dos indivíduos obtiveram uma resposta parcial ao tratamento com isavuconazol, 43% apresentaram uma estabilidade no que diz respeito à doença e 3% tiveram a progressão da doença. Pode- se destacar que a taxa de mortalidade foi de 38% dos quais dessa

percentagem em questão 33% (7/21) foi para indivíduos que receberam o isavuconazol como tratamento de primeira linha, 46% (5/11) para indivíduos que obtiveram o isavuconazol como medicação secundária e por fim 40% (2/5) para indivíduos intolerantes a outros antifúngicos. É importante destacar que o tempo médio em de tratamento foi 102 dias para os doentes que tiveram este antifúngico como terapia inicial, 33 dias para os que tiveram o isavuconazol como terapia alternativa e por fim 85 dias para os indivíduos intolerantes a outros antifúngicos.(Marty *et al*., 2016)

Deste modo, com o intuito de se comparar a eficácia deste antifúngico, com a AMB realizou-se um estudo com 8 indivíduos com doenças antifúngicas mistas de nível invasivo onde incluíam a mucormicose.A taxa de mortalidade, ao quadragésimo segundo dia foi de 25% (2/8) e no octogésimo quarto dia foi de 38% (3/8). Para análise de caso de controlo, 33 indivíduos foram tratados com AMB. Logo, considerou-se que a taxa de sucesso da medicação ao octogésimo quarto dia foi semelhante entre os utentes tratados com isavuconazol (57%) e os seus casos de controlo com AMB (50%). (Marty *et al*., 2016)

Assim, apesar de este fármaco ser recente para o tratamento da mucormicose pode-se constatar como uma boa alternativa ao tratamento desta infecção fúngica com AMB.

7.5.Terapia Combinada

A terapia da mucormicose em doentes imunocomprometidos com uma combinação de antifúngicos tem se tornado uma prática cada vez mais natural. Esta nova implementação apresenta um efeito sinérgico mais amplo, uma melhor compreensão dos seus possíveis antagonismos, interacções medicamentosas, toxicidade e custo. (Sipsas *et al*., 2018)

Estudos *in vivo* e *in vitro*, demonstram evidências científicas de sinergismo entre polienos e equinocandinas. As equinocandinas embora sejam inactivas contra o género Mucorales, em estudos recentes verificaram-se que esta combinação terapêutica em modelos *in vitro* e *in vivo* têm algum efeito nomeadamente através da degradação de pequenas quantidade da parede celular do fungo, facilitando assim a fagocitose.(Ibrahim et al., 2005) No entanto, esta terapia combinada em utentes com neoplasias hematológicas teve sucesso limitado. Num estudo, elaborado com uma amostra de 106 pessoas com neoplasia a nível hematológico com mucormicose, demonstrou-se que não haveria qualquer tipo de

benefício de terapia combinada em comparação com a monoterapia realizada com AMB. (Gebremariam, Wiederhold, *et al*., 2017)

Num estudo, em indivíduos diabéticos com mucormicose associada a nível sinusal e cerebral, foi feita uma terapia combinada de AMB mais equinocandina na qual obteve-se uma taxa de sucesso de seis em sete doentes, ao contrário com o uso de uma monoterapia utilizando apenas anfotericina lipídica mostrou uma taxa de sucesso de sete em 22 doentes. (Reed *et al*., 2008)

Infelizmente, existem diversos dados e informações sobre o uso da terapia combinada. Alguns exemplos são: uma terapia de combinação entre AMB e Triazol; polienos com posaconazol onde em estudos *in vitro* demonstraram sinergia, no entanto em estudos *in vivo* não conseguiu-se comprovar esta associação. (Sipsas *et al*., 2018) Da mesma forma, que num estudo realizado em murganhos infetados com *Rhizopus oryzae*, verificou-se que a combinação de AMB com posaconazol não conseguiu diminuir a carga fúngica nos órgãos em comparação à terapia apenas realizada com AMB.(Mar Rodríguez *et al*., 2009)

No que diz respeito, a estudos elaborados a humanos pode verificar-se que numa amostra de 32 doentes com neoplasias hematológicas e mucormicose os mesmos seriam tratados numa combinação terapêutica com polieno e posaconazol. Após três meses de tratamento, demonstrou-se que 18 pessoas (56%) tiveram uma melhoria clínica e 9 pessoas (28%) não obtiveram melhoria levando à morte. (Pagano *et al*., 2013)

Assim, o uso da terapia combinada de acordo com estes dados clínicos demonstram que apesar de não haver estudos suficientes em relação à terapia combinada pode considerar-se como uma alternativa credível à terapia da mucormicose.

7.6.Tratamento Cirúrgico

A realização de uma cirurgia dos tecidos necróticos é fundamental para a terapia da mucormicose. (Tissot *et al*., 2017)

Na MP, a realização de uma cirurgia e uma adequada terapia antifúngica demonstra que pode ajudar e muito para o aumento da esperança de vida em indivíduos com mucormicose. Os surtos de explosão sanguínea através da tosse (hemoptise) é uma das indicações de que será necessário realizar um tratamento cirúrgico, onde em certos casos da doença a cirurgia pode ser curativa. (Sipsas *et al*., 2018)

Em doentes com mucormicose do tipo rinocerebral, a ressonância magnética confere um papel fundamental na identificação das lesões. Paralelamente, a remoção dos tecidos necróticos na mucormicose do tipo rinocerebral possui uma extrema importância para o tratamento. (Kontoyiannis *et al*., 2016)

Pelo facto de se tratarem de indivíduos imunocomprometidos, o desfecho do tratamento cirúrgico é difícil de ser definido. Desta forma, uma abordagem endoscópica torna-se preferível em relação a uma cirurgia aberta em doentes onde esta infeção se encontra num estagio prematuro. As cirurgias são preferencialmente utilizadas para uma doença que se encontra a um nível avançado sendo as mais comuns: maxilectomia, exenteração orbital, no entanto não se verificou nenhum benefício para a sobrevivência, pois as mesmas são realizadas em pessoas com expectativa de vida limitadas. (Sipsas *et al*., 2018)

Num estudo, realizado com 22 indivíduos com mucormicose rinocerebral, demonstrou-se o resultado com o tratamento cirúrgico. O mesmo relatou que o controlo do local da doença com cirurgias amplas e repetidas (realizando-se em 45% doentes) foi associado a melhores desfechos. Assim, verificou-se que o local inicial da infeção ficou controlado em 90% dos doentes após uma cirurgia ampla e repetida em contrário de apenas 41,6% dos utentes com cirurgia limitada. (Vironneau *et al*., 2014)

7.7.Terapia Adjuvante

Para além dos factores como uma terapia cirúrgica e a utilização de antifúngicos apropriados numa fase precoce o controlo da imunossupressão apresenta um importante fator na terapia em doentes com mucormicose. A maior parte das pessoas, que são afectadas por esta doença possuem uma recuperação precária da função da medula óssea ou então possuem uma terapia imunossupressora durante tempos prolongados. *(Sipsas et al.*, 2018)

Deste modo, com o intuito de contrariar a neutropenia, ou seja, redução do número de neutrófilos no sangue que caso esteja num estado avançado, poderá levar a um aumento do risco e gravidade de infecções causadas por bactérias e fungos,assim, deverá realizar-se uma terapia utilizando factores de crescimento hematopoiético.

Em indivíduos com doenças auto-imunes, nomeadamente com imunossupressão devido ao uso de corticosteróides deverá ter-se em conta uma terapia não esteróide. Em doentes com VIH, deverá realizar-se uma terapia anti-retroviral, com o intuito de recompor a sua

imunidade. Em casos, que se verifique diabetes *mellitus* não controlada associada à cetoacidose, poderá administrar-se bicarbonato de sódio que tem o efeito de bloquear parcialmente a atividade de *Rhizopus oryzae* de invadir as células endoteliais restabelecendo a função dos neutrófilos. (Gebremariam *et al*., 2016)

Assim, o uso de quelante do ferro como terapia adjuvante tem a capacidade de inibir o crescimento fúngico, pois de reduz o nível de ferro. Estudos realizados em modelos murinos, demonstraram que ocorreu um aumento da taxa de sobrevivência utilizando o deferasirox, sendo este denominado de um quelante que não possui a capacidade sideróforo. (BMJ Best Practice, 2016)

Noutro estudo, aleatorizado verificou-se que em doentes com neoplasias de nível hematológico o uso de terapia combinada entre LAMB com deferasirox esteve associado a um aumento de mortalidade (Spellberg *et al*., 2012). Desta forma, a terapia utilizada com deferasirox apesar de não apresentar benefícios em indivíduos com neoplasias a nível hematológico, apresenta benefícios em outro tipos de doenças associadas às mucormicoses como é o caso da diabetes, especialmente em casos de cetoacidose, onde o pH de valor ácido aumenta os níveis de ferro no tecido, promovendo assim a inibição do crescimento de Mucorales. (Sipsas *et al*., 2018)

É importante relatar que em casos onde possa existir uma ineficiência dos neutrófilos a mesma pode ser tratados com o aumento da pressão de oxigénio hiperbárico que melhora a funcionalidade dos neutrófilos bem como a capacidade de promover a ação da AMB ao reverter a acidose. O tratamento adjuvante com o aumento da pressão de oxigénio inibe o crescimento de fungos bem como permite uma melhor cicatrização das feridas, deste modo, o uso da pressão de oxigénio como terapia adjuvante aliado ao tratamento cirúrgico e antifúngico são uma boa forma de terapia em casos de mucormicose nomeadamente em utentes diabéticos e em mucormicoses associadas a nível cutâneo. (Sipsas *et al*., 2018)

Num estudo, onde se englobou 28 casos, a terapia com aumento de pressão de oxigénio apresentou benefícios em diabéticos (94% de sucesso) ao contrário do que aconteceu em doentes com neoplasias a nível hematológico ou em transplantados apresentando uma taxa de sucesso de 33%. (John, Chamilos, & Kontoyiannis, 2005; Sipsas *et al*., 2018)

Num estudo, constatou-se um caso de um sujeito com mucormicose intratável.O mesmo conseguiu ser tratado com sucesso utilizando a terapia adjuvante com o uso de um

interferão e nivolumab de um anticorpo monoclonal que teve como objetivo diminuir a expressão da morte programada (PD-1) das células T. O interferão teve como principal função em restaurar a função dos monócitos, sendo utilizado como terapia alternativa em infecções fúngicas já num estado agravado, enquanto que o nivulumab se liga a PD-1 bloqueando a interacção das mesmas com os seus ligantes, aumentando assim a inibição da proliferação de células T e consequentemente a produção de citocinas mediada pela via PD-1. (Gamaletsou *et al*., 2012)

Logo, o uso da terapia adjuvante apresenta um benefício relativo para as mucormicoses, no entanto, é necessário ter em conta o seu custo bem como as suas reacções adversas.

7.8.Novas alternativas terapêuticas

As novas terapias alternativas para a mucormicose encontram-se bastante limitadas comparativamente com outras infeções bacterianas e fúngicas. A mucormicose apresenta-se em indivíduos com outras doenças e com a imunidade bastante comprometida o que faz com os mesmos apresentem uma taxa de mortalidade elevada. É primordial encontrar uma terapia antifúngica específica para a mucormicose. As espécies causadoras apresentam uma enorme plasticidade genética, como é o caso de *Rhizopus oryzea*, o que explica o facto de serem bastante resistentes a diversas classes antifúngicas. (Petraitis *et al*., 2013)

Deste modo, torna-se imprescindível ter se novas terapias para o tratamento desta infecção fúngica.

Num recente estudo, constatou-se que o agente VT-1161 sendo um novo inibidor do CYP 51 a nível fúngico possui uma atividade *in vitro* contra Mucorales, *Rhyzopus oryzae, Lichtheimia e Cunnighamella*. Este inibidor demonstrou que em ensaios *in vitro* realizados em murinos com mucormicose causada por *Rhizopus oryzae* a taxa de sobrevivência aumentou quando o VT-1161 foi administrado a nível terapêutico ou profiláctico. (Garvey *et al*., 2017; Gebremariam, Alkhazraji, *et al*., 2017; Sipsas *et al*., 2018)

Uma outra alternativa terapêutica, é a incubação de neutrófilos, monócitos, macrófagos com IFN- γ é o fator estimulante de colónias de granulócitos e macrófagos (GM-CSF). Este provocou um aumento de capacidade de causar nocividades às hifas. Esse efeito aumentou também o efeito de TNF-α o que fez com que se aumentasse também os

factores de necrose tumoral e acompanhou também um aumento de exposição de IFN- γ e de GM-CSF, permitindo assim à sua ação precoce e continua. De acordo, com as guidelines da Terceira Conferência Europeia sobre as infecções em Leucemia sugeriu a utilização de GM-CSF em doentes com neutropenia com mucormicose. Assim, embora sem estudos cientificamente provados, a transfusão de granulócitos em utentes com neutropenia aliada à mucormicose, poderá constituir uma terapia adjuvante adequada, a apenas doentes com neutropenia e mucormicose.(Gil-Lamaignere *et al*., 2005)

8. Conclusão

A mucormicose é uma micose invasiva que tem tido uma elevada preponderância ao longo dos últimos anos. Isto deve- se à sua patogenia e à sua ubiquidade livre sob a forma de esporangiósporos que têm um crescimento rápido, capacidade de resistir a diversas temperaturas, capacidade de interagir com as superfícies das células endoteliais e a de obter ferro do organismo hospedeiro.

O principal objetivo desta monografia é dar a conhecer e reunir dados epidemiológicos e clínicos acerca deste tipo particular de micoses identificando os respectivos fatores de risco e identificar as novas opções e esquemas terapêuticos.

Esta infeção fúngica, tem sofrido inúmeras alterações no que diz respeito á sua designação, isto deve-se às suas alterações de taxonomia que sofreu ao longo do tempo, logo pode-se constatar que os nomes de mucormicose e entomoftoromicose são mais adequados para a comunidade científica do que o termo de zigomicose pois verificamos uma maior estabilidade para a sua nomenclatura.

A mucormicose, encontra-se preferencialmente em indivíduos imunocomprometidos, nomeadamente em pessoas com neoplasias a nível hematológico, receptores de órgãos (indivíduos transplantados) mas sobretudo assenta com grande destaque em doentes que tenham uma diabetes e em casos extremos com cetoacidose.

O diagnóstico laboratorial para a identificação das espécies causadoras é importante não só para identificar as hifas correspondentes das espécies causadoras bem como para o seu tratamento adequado. Esta técnica (diagnóstico) baseia-se na evidência de invasão tecidular nomeadamente em corte de tecidos obtidos através de um procedimento estéril, posteriormente analisados em microscópio.

No que diz respeito à epidemiologia das espécies e a sua prevalência verifica-se uma distribuição geográfica variável. A *Apophysomyces variabilis* é predominante em países da Ásia e a *Lichtheimia* da Europa enquanto o *Rhizopus arrhizus* é o agente comum em todo o mundo. O continente asiático para além da elevada incidência de *Apophysomyces variabilis* também tem tido casos de novos agentes causadores tais como, *Rhyzopus homothallicus, Mucor irregularis, e Thamnostylum lucknowense*. Esta tem apresentado

uma enorme preponderância sobretudo os países em vias de desenvolvimento, cujas condições de hospitalização higiene e sanitárias encontram-se bastante precárias.

Infecções causadas por espécies *Lichtheimia* são comuns na Europa enquanto que *Apophysomyces variabilis* é a segunda causa mais comum de mucormicose na Índia e é responsável por aproximadamente 60% dos casos documentados de mucormicose neste continente.

A classificação de mucormicose prende-se de acordo com o seu local anatómico onde se desencadeia a infeção, reflectindo o local de entrada dos géneros patogénicos, onde os esporos podem entrar pela via respiratória, pela lesão do tecido cutâneo ou pela ingestão de alimentação contaminada. Sendo os seus principais tipos: Rinocerebral, Pulmonar, Cutânea, Gastrointestinal, Forma disseminada e Renal.

O tratamento desta patologia apresenta porém inúmeras dificuldades. A mucormicose é caracterizada pela sua heterogeneidade e pelos seus locais de infeção bem como a sua diversidade. A sua terapêutica, encontra-se baseada em estudos que incluem fatores como uma variabilidade significativa que a doença tem e o facto de se apresentar em doentes imunodeprimidos. A melhor maneira de controlar a mucormicose é através da elaboração de inúmeras intervenções cirúrgicas que ocorrem em simultâneo ou então em diferentes tempos e intensidades aliados a uma medicação eficaz. A anfotericina B (AMB) e as suas formulações lipídicas e mais recentemente o isavuconazol, são considerados tratamento de primeira linha da mucormicose enquanto que a terapia com posaconazol terá sido considerada como terapia de segunda linha.

Apesar de não ser uma patologia conhecida e não apresenta um número significativo de casos e por isso o impacto é menos acentuado é fundamental relatar os problemas que esta pode ter para com os doentes com a imunidade baixa, podendo dar origem a diversos tipos de mucormicoses consoante o local anatómico onde se insere levando na maioria dos casos à sua morte. Onde não existe uma terapia totalmente adequada e dados epidemiológicos totalmente corretos as alternativas terapêuticas encontram-se numa fase embrionária. Por estes motivos o conhecimento da mucormicose torna-se primordial para a melhoria da saúde pública desta população.

Durante a execução desta monografia foi possível entender a importância de conhecer a mucormicose e a forma como ela se manifesta e se propaga em doentes cuja imunidade se encontra bastante comprometida, esta infecção apesar de ser pouco conhecida acarreta uma enorme taxa de mortalidade devido á imunidade totalmente comprometida do próprio doente, ao seu tratamento cirúrgico e antifúngico que esta doença tem. Pelo o facto desta infecção se apresentar em doentes já com a sua imunidade afetada e com um tratamento com uma eficácia que não é totalmente eficiente contribui para que esta patologia possa tornar-se num caso grave de saúde pública, presente à escala mundial.

Também fica claro a importância de conhecer a sua diversidade, etiologia, taxonomia, epidemiologia, patogénese, resposta imunitária, fatores de risco, sintomatologia, apresentação clínica e terapêutica, para que no futuro seja mais acessível o reporte às autoridades de saúde competentes. Isto seria feito, através de diversos estudos desta infecção, em países em vias de desenvolvimento, cujos os meios hospitalares são menos desenvolvidos e os doentes têm escassas condições para o êxito do tratamento, onde seria elaborada uma estratificação da doença de acordo com as cormobilidades associadas e de acordo com a população em estudo. O objetivo seria para que as autoridades de saúde, soubessem os principais agentes etiológicos e por conseguinte conseguiriam aprofundar a epidemiologia, através dos sintomas da doença e os métodos de diagnóstico desta infeção para que fossem capazes de poder prevenir, diagnosticar e tratar, isto seria relevante para a terapêutica pois por se tratarem de doentes cuja imunidade se encontra já comprometida, seria importante fazer o seu tratamento de uma forma competente, rápida e definitiva para que esta infeção seja totalmente curável e para que a sua epidemiologia seja conhecida a nível mundial.

Bibliografia

Abidi, M. Z., Sohail, M. R., Cummins, N., Wilhelm, M., Wengenack, N., Brumble, L., … Walker, R. C. (2014). Stability in the cumulative incidence, severity and mortality of 101 cases of invasive mucormycosis in high-risk patients from 1995 to 2011: A comparison of eras immediately before and after the availability of voriconazole and echinocandin-amphotericin c. *Mycoses*, *57*(11), 687–698. https://doi.org/10.1111/myc.12222

Adam Moser, Kevin Range, and D. M. Y. (2008). 基因的改变NIH Public Access. *Bone*, *23*(1), 1–7. https://doi.org/10.1038/jid.2014.371

Al-Tarrah, K., Abdelaty, M., Behbahani, A., Mokaddas, E., Soliman, H., & Albader, A. (2016). Cutaneous mucormycosis postcosmetic surgery. *Medicine*, *95*, 27 (e4185). https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1097/MD.0000000000004185

Arendrup, M. C., Jensen, R. H., & Meletiadis, J. (2015). In vitro activity of isavuconazole and comparators against clinical isolates of the Mucorales order. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, *59*(12), 7735–7742. https://doi.org/10.1128/AAC.01919-15

Baldin, C., & Ibrahim, A. S. (2017). Molecular mechanisms of mucormycosis — The bitter and the sweet. *PLoS Pathog*, *13*(8), e1006408. https://doi.org/https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1006408

Bhansali, A., Bhadada, S., Sharma, A., Suresh, V., Gupta, A., Singh, P., … Dash, R. J. (2004). Presentation and outcome of rhino-orbital-cerebral mucormycosis in patients with diabetes. *Postgraduate Medical Journal*, *80*(949), 670–674. https://doi.org/10.1136/pgmj.2003.016030

Binder, U., Maurer, E., & Lass-Flörl, C. (2014). Mucormycosis - from the pathogens to the disease. *Clinical Microbiology and Infection*, *20*(6), 60–66. https://doi.org/10.1111/1469-0691.12566

Bitar, D., Van Cauteren, D., Lanternier, F., Dannaoui, E., Che, D., Dromer, F., … Lortholary, O. (2009). Increasing incidence of zygomycosis (mucormycosis), France, 1997-2006. *Emerging Infectious Diseases*, *15*(9), 1395–1401. https://doi.org/10.3201/eid1509.090334

BMJ Best Practice. (2016). Neutropenia febril - A informação clínica correta e disponível exatamente onde é necessária. *BMJ Best Practice*. Retrieved from http://brasil.bestpractice.bmj.com/best-practice/monograph-pdf/950.pdf

Bongomin, F., Gago, S., Oladele, R. O., & Denning, D. W. (2017). Global and multi-national prevalence of fungal diseases—estimate precision. *Journal of Fungi*, *3*(4). https://doi.org/10.3390/jof3040057

Caramalho, R., Maurer, E., Binder, U., Araújo, R., Dolatabadi, S., Lass-Flörl, C., & Lackner, M. (2015). Etest cannot be recommended for In Vitro susceptibility testing of mucorales. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, *59*(6), 3663–3665. https://doi.org/10.1128/AAC.00004-15

Castrejón-pérez, A. D., Miranda, I., & Welsh, O. (2017). Cutaneous mucormycosis*. *Cutaneous Mucormycoses*, *3*, 304–311. https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1590/abd1806-4841.20176614 Abstract:

Centers for Disease Control and Prevention. (2021). Retrieved July 30, 2021, from https://www.cdc.gov/

Chakrabarti, A., & Dhaliwal, M. (2013). Epidemiology of mucormycosis in India. *Current Fungal Infection Reports*, *7*(4), 287–292. https://doi.org/10.1007/s12281-013-0152-z

Challa, S., Uppin, S. G., Uppin, M. S., Paul, R. T., Prayaga, A. K., & Rao, M. T. (2011). Pulmonary zygomycosis: A clinicopathological study. *Lung India*, *28*(1), 25–29. https://doi.org/10.4103/0970-2113.76297

Chamilos, G., Lewis, R. E., Lamaris, G., Walsh, T. J., & Kontoyiannis, D. P. (2008). Zygomycetes hyphae trigger an early, robust proinflammatory response in human polymorphonuclear neutrophils through toll-like receptor 2 induction but display relative resistance to oxidative damage. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, *52*(2), 722–724. https://doi.org/10.1128/AAC.01136-07

Chamilos, Georgios, Ganguly, D., Lande, R., Gregorio, J., Meller, S., Goldman, W. E., … Kontoyiannis, D. P. (2010). Generation of IL-23 producing Dendritic Cells (DCs) by airborne fungi regulates fungal pathogenicity via the induction of TH-17 responses. *PLoS ONE*, *5*(9), 1–10. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0012955

Chamilos, Georgios, Lewis, R. E., & Kontoyiannis, D. P. (2008). Delaying Amphotericin B–Based Frontline Therapy Significantly Increases Mortality among Patients with Hematologic Malignancy Who Have Zygomycosis. *Clinical Infectious Diseases*, *47*(4), 503–509. https://doi.org/10.1086/590004

Clark BM. (1968). No Title. *London: J & A Churchill*, 179–205.

Compain, F., Aït-Ammar, N., Botterel, F., Gibault, L., Le Pimpec Barthes, F., & Dannaoui, E. (2017). Fatal Pulmonary Mucormycosis due to Rhizopus homothallicus. *Mycopathologia*, *182*(9–10), 907–913. https://doi.org/10.1007/s11046-017-0151-7

Cornely, O. A., Arikan-Akdagli, S., Dannaoui, E., Groll, A. H., Lagrou, K., Chakrabarti, A., … Petrikkos, G. (2014). ESCMID and ECMM joint clinical guidelines for the diagnosis and management of mucormycosis 2013. *Clinical Microbiology and Infection*, *20*(S3), 5–26. https://doi.org/10.1111/1469-0691.12371

Crabol, Y., & Lortholary, O. (2014). Invasive Mold Infections in Solid Organ Transplant Recipients. *Scientifica*, *2014*, 1–17. https://doi.org/10.1155/2014/821969

Direção-Geral da Saúde. (2013). *Orientação para a prevenção da infeção na ferida crónica*. 1–10.

Dolton, M. J., Ray, J. E., Chen, S. C. A., Ng, K., Pont, L., & McLachlan, A. J. (2012). Multicenter study of posaconazole therapeutic drug monitoring: Exposure-response

relationship and factors affecting concentration. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, *56*(11), 5503–5510. https://doi.org/10.1128/AAC.00802-12

Farmakiotis, D., & Kontoyiannis, D. P. (2016). Mucormycoses. *Infectious Disease Clinics of North America*, *30*(1), 143–163. https://doi.org/10.1016/j.idc.2015.10.011

Gamaletsou, M. N., Sipsas, N. V., Kontoyiannis, D. P., Tsiakalos, A., Kontos, A. N., Stefanou, I., & Kordossis, T. (2012). Successful salvage therapy of refractory HIV-related cryptococcal meningitis with the combination of liposomal amphotericin B, voriconazole, and recombinant interferon-γ. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, *74*(4), 409–411. https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2012.08.009

Gandhi, B. V., Bahadur, M. M., Dodeja, H., Aggrwal, V., Thamba, A., & Mali, M. (2005). Systemic fungal infections in renal diseases. *Journal of Postgraduate Medicine*, *51*(5), 30–36.

Garvey, E. P., Hoekstra, W. J., Schotzinger, R. J., Patterson, T. F., Filler, S. G., & Ibrahim, S. (2017). *crossm Prophylactic Treatment with VT-1161 Protects Immunosuppressed Mice from*. *61*(9), 17–21.

Gebremariam, T., Alkhazraji, S., Lin, L., Wiederhold, N. P., Garvey, E. P., Hoekstra, W. J., … Ibrahim, A. S. (2017). Prophylactic treatment with VT-1161 protects immunosuppressed mice from rhizopus arrhizus var. Arrhizus infection. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, *61*(9), 7815–7817. https://doi.org/10.1128/AAC.00390-17

Gebremariam, T., Lin, L., Liu, M., Kontoyiannis, D. P., French, S., Edwards, J. E., … Ibrahim, A. S. (2016). Bicarbonate correction of ketoacidosis alters host-pathogen interactions and alleviates mucormycosis. *Journal of Clinical Investigation*, *126*(6), 2280–2294. https://doi.org/10.1172/JCI82744

Gebremariam, T., Wiederhold, N. P., Alqarihi, A., Uppuluri, P., Azie, N., Edwards, J. E., & Ibrahim, A. S. (2017). Monotherapy or combination therapy of isavuconazole and micafungin for treating murine mucormycosis. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, *72*(2), 462–466. https://doi.org/10.1093/jac/dkw433

Ghuman, H., & Voelz, K. (2017). Innate and Adaptive Immunity to Mucorales. *Journal of Fungi*, *3*(48), 1–11. https://doi.org/10.3390/jof3030048

Gil-Lamaignere, C., Simitsopoulou, M., Roilides, E., Maloukou, A., Winn, R. M., & Walsh, T. J. (2005). Interferon-γ and Granulocyte-Macrophage Colony-Stimulating Factor Augment the Activity of Polymorphonuclear Leukocytes against Medically Important Zygomycetes. *The Journal of Infectious Diseases*, *191*(7), 1180–1187. https://doi.org/10.1086/428503

Greenberg, R. N., Mullane, K., Van Burik, J. A. H., Raad, I., Abzug, M. J., Anstead, G., … Hare, R. (2006). Posaconazole as salvage therapy for zygomycosis. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, *50*(1), 126–133. https://doi.org/10.1128/AAC.50.1.126-133.2006

Guardia, J. A., Bourgoignie, J., & Diego, J. (2000). Renal mucormycosis in the HIV

patient. *American Journal of Kidney Diseases : The Official Journal of the National Kidney Foundation*, *35*(5), 1–5. https://doi.org/10.1016/s0272-6386(00)70289-7

Guinea, J., Escribano, P., Vena, A., Muñoz, P., Martínez-Jiménez, M. D. C., Padilla, B., & Bouza, E. (2017). Increasing incidence of mucormycosis in a large Spanish hospital from 2007 to 2015: Epidemiology and microbiological characterization of the isolates. *PLoS ONE*, *12*(6), 1–10. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0179136

Hibbett, D. S., Binder, M., Bischoff, J. F., Blackwell, M., Cannon, P. F., Eriksson, O. E., … Zhang, N. (2007). A higher-level phylogenetic classification of the Fungi. *Mycological Research*, *111*(5), 509–547. https://doi.org/10.1016/j.mycres.2007.03.004

Ibrahim, A. S., Bowman, J. C., Avanessian, V., Brown, K., Spellberg, B., Edwards, J. E., & Douglas, C. M. (2005). Caspofungin inhibits Rhizopus oryzae 1,3-β-D-glucan synthase, lowers burden in brain measured by quantitative PCR, and improves survival at a low but not a high dose during murine disseminated zygomycosis. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, *49*(2), 721–727. https://doi.org/10.1128/AAC.49.2.721-727.2005

Ibrahim, A. S., Gebermariam, T., Fu, Y., Lin, L., Husseiny, M. I., French, S. W., … Spellberg, B. J. (2007). The iron chelator deferasirox protects mice from mucormycosis through iron starvation. *Journal of Clinical Investigation*, *117*(9), 2649–2657. https://doi.org/10.1172/JCI32338

Ibrahim, A. S., Gebremariam, T., Lin, L., Luo, G., Husseiny, M. I., Skory, C. D., … Spellberg, B. (2010). The high affinity iron permease is a key virulence factor required for Rhizopus oryzae pathogenesis. *Molecular Microbiology*, *77*(3), 587–604. https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.2010.07234.x

Ibrahim, A. S., & Voelz, K. (2017a). The mucormycete–host interface. *Current Opinion in Microbiology*, *40*, 40–45. https://doi.org/10.1016/j.mib.2017.10.010

Ibrahim, A. S., & Voelz, K. (2017b). The mucormycete–host interface. *Current Opinion in Microbiology*, *40*, 40–45. https://doi.org/10.1016/j.mib.2017.10.010

James, T. Y., Kauff, F., Schoch, C. L., Matheny, P. B., Hofstetter, V., Cox, C. J., … Vilgalys, R. (2006). Reconstructing the early evolution of Fungi using a six-gene phylogeny. *Nature*, *443*(7113), 818–822. https://doi.org/10.1038/nature05110

Jeong, W., Keighley, C., Wolfe, R., Lee, W. L., Slavin, M. A., Kong, D. C. M., & Chen, S. C. A. (2019). The epidemiology and clinical manifestations of mucormycosis: a systematic review and meta-analysis of case reports. *Clinical Microbiology and Infection*, *25*(1), 26–34. https://doi.org/10.1016/j.cmi.2018.07.011

Jiang, N., Zhao, G., Yang, S., Lin, J., Hu, L., Che, C., … Xu, Q. (2016). A retrospective analysis of eleven cases of invasive rhino-orbito-cerebral mucormycosis presented with orbital apex syndrome initially. *BMC Ophthalmology*, *16*(1), 1–7. https://doi.org/10.1186/s12886-016-0189-1

John, B. V., Chamilos, G., & Kontoyiannis, D. P. (2005). Hyperbaric oxygen as an adjunctive treatment for zygomycosis. *Clinical Microbiology and Infection*, *11*(7),

515–517. https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2005.01170.x

Kontoyiannis, D. P., & Lewis, R. E. (2006). Invasive Zygomycosis: Update on Pathogenesis, Clinical Manifestations, and Management. *Infectious Disease Clinics of North America*, *20*(3), 581–607. https://doi.org/10.1016/j.idc.2006.06.003

Kontoyiannis, D. P., Marr, K. A., Park, B. J., Alexander, B. D., Anaissie, E. J., Walsh, T. J., … Pappas, P. G. (2010). Prospective Surveillance for Invasive Fungal Infections in Hematopoietic Stem Cell Transplant Recipients, 2001–2006: Overview of the Transplant-Associated Infection Surveillance Network (TRANSNET) Database. *Clinical Infectious Diseases*, *50*(8), 1091–1100. https://doi.org/10.1086/651263

Kontoyiannis, D. P., Yang, H., Song, J., Kelkar, S. S., Yang, X., Azie, N., … Spalding, J. R. (2016). Prevalence, clinical and economic burden of mucormycosis-related hospitalizations in the United States: A retrospective study. *BMC Infectious Diseases*, *16*(1), 1–6. https://doi.org/10.1186/s12879-016-2023-z

Kwon-Chung, K. J. (2012). Taxonomy of fungi causing mucormycosis and entomophthoramycosis (zygomycosis) and nomenclature of the disease: Molecular mycologic perspectives. *Clinical Infectious Diseases*, *54*(SUPPL. 1). https://doi.org/10.1093/cid/cir864

Lalwani, S., Govindasamy, M., Gupta, M., Siraj, F., Varma, V., Mehta, N., … Nundy, S. (2012). Gastrointestinal mucormycosis-four cases with different risk factors, involving different anatomical sites. *Indian Journal of Gastroenterology*, *31*(3), 139–143. https://doi.org/10.1007/s12664-012-0215-z

Lamaris, G. A., Ben-Ami, R., Lewis, R. E., Chamilos, G., Samonis, G., & Kontoyiannis, D. P. (2009). Increased Virulence of Zygomycetes Organisms Following Exposure to Voriconazole: A Study Involving Fly and Murine Models of Zygomycosis. *The Journal of Infectious Diseases*, *199*(9), 1399–1406. https://doi.org/10.1086/597615

Lanternier, F., Poiree, S., Elie, C., Garcia-Hermoso, D., Bakouboula, P., Sitbon, K., … Lortholary, O. (2015). Prospective pilot study of high-dose (10 mg/kg/day) liposomal amphotericin B (L-AMB) for the initial treatment of mucormycosis. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, *70*(11), 3116–3123. https://doi.org/10.1093/jac/dkv236

Lass-Flörl, C. (2009). Zygomycosis: Conventional laboratory diagnosis. *Clinical Microbiology and Infection*, *15*(SUPPL. 5), 60–65. https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2009.02999.x

LeBlanc, D. M., Barousse, M. M., & Fidel, P. L. (2006). Role for dendritic cells in immunoregulation during experimental vaginal candidiasis. *Infection and Immunity*, *74*(6), 3213–3221. https://doi.org/10.1128/IAI.01824-05

Lemonovich, T. L. (2018). Mold Infections in Solid Organ Transplant Recipients. *Infectious Disease Clinics of North America*, *32*(3), 687–701. https://doi.org/10.1016/j.idc.2018.04.006

Lewis, R. E., Albert, N. D., & Kontoyiannis, D. P. (2014). Comparative pharmacodynamics of posaconazole in neutropenic murine models of invasive pulmonary aspergillosis and mucormycosis. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, *58*(11), 6767–6772. https://doi.org/10.1128/AAC.03569-14

Lewis, R. E., Albert, N. D., Liao, G., Hou, J., Prince, R. A., & Kontoyiannis, D. P. (2010). Comparative pharmacodynamics of amphotericin B lipid complex and liposomal amphotericin B in a murine model of pulmonary mucormycosis. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, *54*(3), 1298–1304. https://doi.org/10.1128/AAC.01222-09

Lewis, R. E., & Kontoyiannis, D. P. (2013). Epidemiology and treatment of mucormycosis. *Future Microbiology*, *8*(9), 1163–1175. https://doi.org/10.2217/fmb.13.78

Lewis, R. E., Liao, G., Wang, W., Prince, R. A., & Kontoyiannis, D. P. (2011). Voriconazole pre-exposure selects for breakthrough mucormycosis in a mixed model of Aspergillus fumigatus-Rhizopus oryzae pulmonary infection. *Virulence*, *2*(4). https://doi.org/10.4161/viru.2.4.17074

Lionakis, M. S., & Kontoyiannis, D. P. (2003). Glucocorticoids and invasive fungal infections. *Lancet*, *362*(9398), 1828–1838. https://doi.org/10.1016/S0140-6736(03)14904-5

Liu, M., Spellberg, B., Phan, Q. T., Fu, Y., Fu, Y., Lee, A. S., … Ibrahim, A. S. (2010). The endothelial cell receptor GRP78 is required for mucormycosis pathogenesis in diabetic mice. *Journal of Clinical Investigation*, *120*(6), 1914–1924. https://doi.org/10.1172/JCI42164

Mar Rodríguez, M., Javier Pastor, F., Calvo, E., Salas, V., Sutton, D. A., & Guarro, J. (2009). Correlation of in vitro activity, serum levels, and in vivo efficacy of posaconazole against Rhizopus microsporus in a murine disseminated infection. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, *53*(12), 5022–5025. https://doi.org/10.1128/AAC.01026-09

Martin, M. S., Smith, A. A., Lobo, M., & Paramesh, A. S. (2017). Successful Treatment of Recurrent Pulmonary Mucormycosis in a Renal Transplant Patient : A Case Report and Literature Review. *Case Report in Transplantation*, *2017*. https://doi.org/10.1155/2017/1925070

Marty, F. M., Ostrosky-Zeichner, L., Cornely, O. A., Mullane, K. M., Perfect, J. R., Thompson, G. R., … Vehreschild, M. J. G. T. (2016). Isavuconazole treatment for mucormycosis: A single-arm open-label trial and case-control analysis. *The Lancet Infectious Diseases*, *16*(7), 828–837. https://doi.org/10.1016/S1473-3099(16)00071-2

Mucormycosis, P. (1955). *maker,2*. *32*, 287–313.

Munshi, S., Moazin, M., Abu-daff, S., Amin, M., Jamal, O., & Hamad, A. (2017). Urology Case Reports Renal mucormycosis in immunocompromised patient , treated with Robotic Nephrectomy : Case report and review of articles. *Urology Case Reports*, *15*, 53–55. https://doi.org/10.1016/j.eucr.2017.08.007

Paes De Oliveira-Neto, M., Da Silva, M., Cezar Fialho Monteiro, P., Lazera, M., De Almeida Paes, R., Beatriz Novellino, A., & Cuzzi, T. (2006). Cutaneous mucormycosis in a young, immunocompetent girl. *Medical Mycology*, *44*(6), 567–570. https://doi.org/10.1080/13693780600622411

Pagano, L., Cornely, O. A., Busca, A., Caira, M., Cesaro, S., Gasbarrino, C., … Vehreschild, M. J. G. T. (2013). Combined antifungal approach for the treatment of invasive mucormycosis in patients with hematologic diseases: A report from the SEIFEM and FUNGISCOPE registries. *Haematologica*, *98*(10), 127–130. https://doi.org/10.3324/haematol.2012.083063

Perkhofer, S., Kainzner, B., Kehrel, B. E., Dierich, M. P., Nussbaumer, W., & Lass-Flörl, C. (2009). Potential Antifungal Effects of Human Platelets against Zygomycetes In Vitro. *The Journal of Infectious Diseases*, *200*(7), 1176–1179. https://doi.org/10.1086/605607

Persichino, J. G., Can, A. D., Van, T. T., Matthews, M. N., & Filler, S. G. (2018). Invasive pulmonary mucormycosis and aspergillosis in a patient with decompensated hepatic cirrhosis. *Medical Mycology Case Reports*, *21*(February), 12–15. https://doi.org/10.1016/j.mmcr.2018.03.004

Petraitis, V., Petraitiene, R., Antachopoulos, C., Hughes, J. E., Cotton, M. P., Kasai, M., … Walsh, T. J. (2013). Increased virulence of Cunninghamella bertholletiae in experimental pulmonary mucormycosis: Correlation with circulating molecular biomarkers, sporangiospore germination and hyphal metabolism. *Medical Mycology*, *51*(1), 72–82. https://doi.org/10.3109/13693786.2012.690107

Petrikkos, G, Skiada, A., & Drogari-Apiranthitou, M. (2014). Epidemiology of mucormycosis in Europe. *Clinical Microbiology and Infection*, *20*(Suppl.6), 67–73. https://doi.org/10.1111/1469-0691.12563

Petrikkos, George, Skiada, A., Lortholary, O., Roilides, E., Walsh, T. J., & Kontoyiannis, D. P. (2012a). Epidemiology and clinical manifestations of mucormycosis. *Clinical Infectious Diseases*, *54*(SUPPL. 1), 23–34. https://doi.org/10.1093/cid/cir866

Petrikkos, George, Skiada, A., Lortholary, O., Roilides, E., Walsh, T. J., & Kontoyiannis, D. P. (2012b). Epidemiology and clinical manifestations of mucormycosis. *Clinical Infectious Diseases*, *54*(SUPPL. 1), 23–34. https://doi.org/10.1093/cid/cir866

Petrikkos, George, & Tsioutis, C. (2018). Recent Advances in the Pathogenesis of Mucormycoses. *Clinical Therapeutics*, *40*(6), 894–902. https://doi.org/10.1016/j.clinthera.2018.03.009

Potenza, L., Vallerini, D., Barozzi, P., Riva, G., Forghieri, F., Zanetti, E., … Luppi, M. (2011). Mucorales-specific T cells emerge in the course of invasive mucormycosis and may be used as a surrogate diagnostic marker in high-risk patients. *Blood*, *118*(20), 5416–5419. https://doi.org/10.1182/blood-2011-07-366526

Prakash, H., & Chakrabarti, A. (2019). Global epidemiology of mucormycosis. *Journal of Fungi*, *5*(1). https://doi.org/10.3390/jof5010026

Prakash, H., Ghosh, A. K., Rudramurthy, S. M., Singh, P., Xess, I., Savio, J., … Chakrabarti, A. (2019). A prospective multicenter study on mucormycosis in India: epidemiology, diagnosis, and treatment. *Medical Mycology*, *57*(4), 395–402. https://doi.org/10.1093/mmy/myy060

Price, J. D., & Tarbell, K. V. (2015). The role of dendritic cell subsets and innate immunity in the pathogenesis of type 1 diabetes and other autoimmune diseases. *Frontiers in Immunology*, *6*(JUN), 1–12. https://doi.org/10.3389/fimmu.2015.00288

Rahn, S., Schuck, A., Kondakci, M., Haas, R., Neuhausen, N., Pfeffer, K., & Henrich, B. (2016). A novel comprehensive set of fungal Real time PCR assays (fuPCR) for the detection of fungi in immunocompromised haematological patients—A pilot study. *International Journal of Medical Microbiology*, *306*(8), 611–623. https://doi.org/10.1016/j.ijmm.2016.10.003

Reed, C., Bryant, R., Ibrahim, A. S., Edwards, Jr., J., Filler, S. G., Goldberg, R., & Spellberg, B. (2008). Combination Polyene-Caspofungin Treatment of Rhino-Orbital-Cerebral Mucormycosis. *Clinical Infectious Diseases*, *47*(3), 364–371. https://doi.org/10.1086/589857

Reyes, H. M., Tingle, E. J., Fenves, A. Z., Spiegel, J., & Burton, E. C. (2008). Pulmonary Invasive Mucormycosis in a Patient with Secondary Iron Overload Following Deferoxamine Therapy. *Baylor University Medical Center Proceedings*, *21*(4), 378–381. https://doi.org/10.1080/08998280.2008.11928431

Ribes, J. A., Vanover-Sams, C. L., & Baker, D. J. (2000). Zygomycetes in human disease. *Clinical Microbiology Reviews*, *13*(2), 236–301. https://doi.org/10.1128/CMR.13.2.236-301.2000

Roilides, E., Kontoyiannis, D. P., & Walsh, T. J. (2012). Host defenses against zygomycetes. *Clinical Infectious Diseases*, *54*(SUPPL. 1), 61–66. https://doi.org/10.1093/cid/cir869

Sakthivel, J. P., Thangaraj, G., Mascarenhas, M. N., Flaxman, S. R., Boerma, T., Vanderpoel, S., … Zukin, V. (2011). For specific country limitation on "Field of use" contact info@isohelix.com For Swab or DNA Kit information visit www.isohelix.com Isohelix 2015 DNA Swabs and Sample Handling. *Fertility and Sterility*, *2*(1), 1–9. https://doi.org/10.1038/jid.2013.1.Research

Schmidt, S., Schneider, A., Demir, A., Lass-Flörl, C., & Lehrnbecher, T. (2016). Natural killer cell-mediated damage of clinical isolates of mucormycetes. *Mycoses*, *59*(1), 34–38. https://doi.org/10.1111/myc.12431

Schmidt, S., Tramsen, L., & Lehrnbecher, T. (2017). Natural killer cells in antifungal immunity. *Frontiers in Immunology*, *8*(NOV), 1–10. https://doi.org/10.3389/fimmu.2017.01623

Schmidt, S., Tramsen, L., Perkhofer, S., Lass-Flörl, C., Hanisch, M., Röger, F., … Lehrnbecher, T. (2013). Rhizopus oryzae hyphae are damaged by human natural killer (NK) cells, but suppress NK cell mediated immunity. *Immunobiology*, *218*(7), 939–944. https://doi.org/10.1016/j.imbio.2012.10.013

Schulze, B., Rambach, G., Schwartze, V. U., Voigt, K., Schubert, K., Speth, C., & Jacobsen, I. D. (2017). Ketoacidosis alone does not predispose to mucormycosis by Lichtheimia in a murine pulmonary infection model. *Virulence*, *8*(8), 1657–1667. https://doi.org/10.1080/21505594.2017.1360460

Schwarzott, D., & Walker, C. (2001). *Glomeromycota Shubler 2001*. *105*(December), 1413–1421.

Shirazi, F., Kontoyiannis, D. P., & Ibrahim, A. S. (2015). Iron starvation induces apoptosis in rhizopus oryzae in vitro. *Virulence*, *6*(2), 121–126. https://doi.org/10.1080/21505594.2015.1009732

Sipsas, N. V., Gamaletsou, M. N., Anastasopoulou, A., & Kontoyiannis, D. P. (2018). Therapy of Mucormycosis. *Journal of Fungi*, *4*(3), 90. https://doi.org/10.3390/jof4030090

Skiada, A., Lass-Floerl, C., Klimko, N., Ibrahim, A., Roilides, E., & Petrikkos, G. (2018). Challenges in the diagnosis and treatment of mucormycosis. *Medical Mycology*, *56*, S93–S101. https://doi.org/10.1093/mmy/myx101

Skiada, A., & Petrikkos, G. (2009). Cutaneous zygomycosis. *Clinical Microbiology and Infection*, *15*(SUPPL. 5), 41–45. https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2009.02979.x

Skiada, Anna, Pavleas, I., & Drogari-apiranthitou, M. (2017). Rare fungal infectious agents : a lurking enemy [version 1 ; referees : 4 approved] Referee Status : *F1000Research*, *6*((F1000 Faculty Rev)), 1–16. https://doi.org/10.12688/f1000research.11124.1

Skiada, Anna, Pavleas, I., & Drogari-Apiranthitou, M. (2017). Rare fungal infectious agents: A lurking enemy. *F1000Research*, *6*, 1–16. https://doi.org/10.12688/f1000research.11124.1

Song, Y., Qiao, J., Giovanni, G., Liu, G., Yang, H., Wu, J., & Chen, J. (2017). *Mucormycosis in renal transplant recipients : review of 174 reported cases*. 1–6. https://doi.org/10.1186/s12879-017-2381-1

Spellberg, B., Andes, D., Perez, M., Anglim, A., Bonilla, H., Mathisen, G. E., … Ibrahim, A. S. (2009). Safety and outcomes of open-label deferasirox iron chelation therapy for mucormycosis. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, *53*(7), 3122–3125. https://doi.org/10.1128/AAC.00361-09

Spellberg, B., Ibrahim, A. S., Chin-Hong, P. V., Kontoyiannis, D. P., Morris, M. I., Perfect, J. R., … Brass, E. P. (2012). The deferasirox-AmBisome therapy for mucormycosis (Defeat Mucor) study: A randomized, double-blinded, placebo-controlled trial. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, *67*(3), 715–722. https://doi.org/10.1093/jac/dkr375

Speth, C., Rambach, G., & Lass-Flörl, C. (2014). Platelet immunology in fungal infections. *Thrombosis and Haemostasis*, *112*(4), 632–639. https://doi.org/10.1160/TH14-01-0074

Tissot, F., Agrawal, S., Pagano, L., Petrikkos, G., Groll, A. H., Skiada, A., … Herbrecht, R. (2017). ECIL-6 guidelines for the treatment of invasive candidiasis,

aspergillosis and mucormycosis in leukemia and hematopoietic stem cell transplant patients. *Haematologica*, *102*(3), 433–444. https://doi.org/10.3324/haematol.2016.152900

Torres-Narbona, M., Guinea, J., Martínez-Alarcón, J., Muñoz, P., Gadea, I., & Bouza, E. (2007). Impact of zygomycosis on microbiology workload: A survey study in Spain. *Journal of Clinical Microbiology*, *45*(6), 2051–2053. https://doi.org/10.1128/JCM.02473-06

van Burik, J.-A. H., Hare, R. S., Solomon, H. F., Corrado, M. L., & Kontoyiannis, D. P. (2006). Posaconazole Is Effective as Salvage Therapy in Zygomycosis: A Retrospective Summary of 91 Cases. *Clinical Infectious Diseases*, *42*(7), e61–e65. https://doi.org/10.1086/500212

Vironneau, P., Kania, R., Morizot, G., Elie, C., Garcia-Hermoso, D., Herman, P., … Lanternier, F. (2014). Local control of rhino-orbito-cerebral mucormycosis dramatically impacts survival. *Clinical Microbiology and Infection*, *20*(5), O336–O339. https://doi.org/10.1111/1469-0691.12408

Wahba, H., Truong, M. T., Lei, X., Kontoyiannis, D. P., & Marom, E. M. (2008). Reversed Halo Sign in Invasive Pulmonary Fungal Infections. *Clinical Infectious Diseases*, *46*(11), 1733–1737. https://doi.org/10.1086/587991

Walsh, T. J., Gamaletsou, M. N., McGinnis, M. R., Hayden, R. T., & Kontoyiannis, D. P. (2012). Early clinical and laboratory diagnosis of invasive pulmonary, extrapulmonary, and disseminated mucormycosis (zygomycosis). *Clinical Infectious Diseases*, *54*(SUPPL. 1), 55–60. https://doi.org/10.1093/cid/cir868

Xess, I., Mohapatra, S., Shivaprakash, M. R., Chakrabarti, A., Benny, G. L., O'Donnell, K., & Padhye, A. A. (2012). Evidence implicating Thamnostylum lucknowense as an etiological agent of rhino-orbital mucormycosis. *Journal of Clinical Microbiology*, *50*(4), 1491–1494. https://doi.org/10.1128/JCM.06611-11

Yasmeen, S., Waqas, O., Munir, J., Sultan, F., & Hameed, A. (2017). Hepatosplenic mucormycosis post autologous stem cell transplant. *Pak J Med Sci*, *33*(3), 776–778. https://doi.org/https://doi.org/10.12669/pjms.333.12311

Zilberberg, M. D., Shorr, A. F., Huang, H., Chaudhari, P., Paly, V. F., & Menzin, J. (2014). Hospital days, hospitalization costs, and inpatient mortality among patients with mucormycosis: A retrospective analysis of US hospital discharge data. *BMC Infectious Diseases*, *14*(1), 1–10. https://doi.org/10.1186/1471-2334-14-310