

Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Faculdade de Medicina
Programa de Pós-Graduação em Ciências Pneumológicas

Isabel Cristina Espíndola Cardoso

**Aspectos clínicos, epidemiológicos e etiológicos de 82 casos de
rinossinusite fúngica no Rio Grande do Sul**

Porto Alegre, 2016

Isabel Cristina Espíndola Cardoso

**Aspectos clínicos, epidemiológicos e etiológicos de 82 casos de
rinossinusite fúngica no Rio Grande do Sul**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Pneumológicas, Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Ciências (área do conhecimento: Ciências Pneumológicas)

Orientador: Prof^o Dr. Luiz Carlos Severo

Coorientador: Dr. Flávio de Mattos Oliveira

Porto Alegre, 2016

CIP - Catalogação na Publicação

Isabel Cristina Espindola, CARDOSO
Aspectos clínicos, epidemiológicos e etiológicos de
82 casos de rinosinusite fúngica no Rio Grande do
Sul / CARDOSO Isabel Cristina Espindola. -- 2016.
119 f.

Orientador: Luiz Carlos Severo.

Coorientador: Flavio de Mattos Oliveira.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal do Rio
Grande do Sul, Faculdade de Medicina, Programa de Pós-
Graduação em Ciências Pneumológicas, Porto Alegre, BR-RS,
2016.

1. Rinosinusite fúngica. 2. Sinusite. 3.
Aspegillus sp. 4. Não *Aspergillus* sp. 5. *Trichoderma*
asperellum. I. Severo, Luiz Carlos, orient. II. de
Mattos Oliveira, Flavio, coorient. III. Título.

Isabel Cristina Espíndola Cardoso

**Aspectos clínicos, epidemiológicos e etiológicos de 82 casos de
rinossinusite fúngica no Rio Grande do Sul**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Pneumológicas, Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Ciências (área do conhecimento: Ciências Pneumológicas)

Porto Alegre, 31 de março de 2016.

A Comissão examinadora, abaixo assinada, aprova a tese “**Aspectos clínicos, epidemiológicos e etiológicos de 82 casos de rinossinusite fúngica no Rio Grande do Sul**”, elaborada por Isabel Cristina Espíndola Cardoso, como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor em Ciências Pneumológicas.

Comissão examinadora:

Profº Dr. Laerte Ferreiro - UFRGS

Profº Dr. Sydney Hartz Alves - UFSM

Profº Dr. José da Silva Moreira - UFRGS

Profº Dr. Luiz Carlos Severo – UFRGS (Orientador)

Dr. Flávio de Mattos Oliveira – UFRGS (Coorientador)

***Depois de escalar uma montanha muito alta,
descobrimos que há muitas outras montanhas para escalar.***

Nelson Mandela

AGRADECIMENTOS

Ao Profº Luiz Carlos Severo, por ter me dado à honra de concluir este trabalho, pela compreensão inestimável, e, principalmente, por não ter desistido de mim, embora todos os problemas que surgiram e quase impediram a finalização desta tese.

Ao meu coorientador Flávio, pela preocupação, pelo incentivo constante, me fazendo acreditar que era possível, não medindo esforços para que eu chegasse até aqui.

A Cecília e a Luciana, pela força, pela amizade, e por contribuírem na confecção dos artigos desta tese e pelos trabalhos apresentados no exterior

A Jacqueline, Ilva, Rosicler, Aline pelo incentivo, carinho e amizade, contribuindo de alguma forma para essa conquista.

A minha “amadinha” Antonella, por ouvir minhas angústias, por se preocupar comigo, pela amizade incondicional, e por sua contribuição na leitura e sugestões deste trabalho.

Ao Marco Aurélio, pelas ajudas, socorros e, principalmente, pela amizade de longo caminho.

A Nailê, Scheila, e todos os funcionários dos arquivos médicos da Santa Casa, pela ajuda na revisão dos prontuários médicos.

A minha “mãezona do coração” Verinha, pela torcida e incentivo.

A família Cardoso e a família Crestani, por todo apoio incondicional.

Aos meus pais “in memorian”, e ao meu irmão por toda a sua “doidice” alegre....como diz ele: “Tamo junto”....!!!

Por fim, ao meu companheiro de jornada, meu amigo, meu amor....obrigada pela paciência, compreensão, pelo “colinho” nos momentos difíceis, e que não foram poucos...por me ajudar a andar pelos caminhos da bondade, do amor, da fraternidade.....meu respeito e admiração.....te amo!!!

RESUMO

CARDOSO, Isabel Cristina Espíndola. **Aspectos clínicos, epidemiológicos e etiológicos de 82 casos de rinossinusite fúngica no Rio Grande do Sul.** 2016. Tese (Doutorado) – Programa de Pós-Graduação em Ciências Pneumológicas. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil.

Descrição: A rinossinusite fúngica (RSF) é uma infecção oportunística, caracterizada pela inflamação da mucosa nasal e dos seios paranasais. É considerada um problema emergente na clínica médica diária, com prevalência aumentada nas últimas décadas, com etiologia nos mais diversos fungos ubíquos. **Objetivos:** Este trabalho objetivou analisar todos os casos de RSF pertencentes ao banco de dados do Laboratório de Micologia da Irmandade da Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre, no período de 28 anos (1986-2014), relacionando-os com as características clínicas e epidemiológicas. **Materiais e métodos:** O estudo foi retrospectivo observacional, resultando em uma série de 82 casos, confirmados histopatologicamente e pelos exames micológicos para identificação de fungos, comparados-os com os achados nas imagens radiológicas. **Resultados:** Foram identificados 54 casos de RSF por aspergilose, com predominância do agente etiológico *Aspergillus fumigatus* (14/54), e 27 casos de RSF por fungos diferentes do gênero *Aspergillus*, com superioridade de isolamento de agentes responsáveis por hialohifomicoses (12/27). Configurado, nestes achados, o ineditismo de três casos em nosso meio, com destaque para o primeiro caso de RSF e infecção humana por *Trichoderma asperellum*. **Conclusões:** Estes achados representam a maior casuística brasileira identificada, podendo contribuir para uma melhor compreensão epidemiológica, melhorando os critérios de suspeição médica, refletindo na efetividade dos tratamentos, principalmente, no diagnóstico dos casos de RSF invasiva, com altas taxas de mortalidade.

Palavras chaves: rinossinusite fúngica, sinusites, seios paranasais, bola fúngica, aspergilose, rinossinusite não aspergilar.

ABSTRACT

CARDOSO, Isabel Cristina Espíndola. **Clinical, epidemiological and etiological aspects of 82 cases of fungal rhinosinusitis in Rio Grande do Sul.** 2016. Thesis (Doctorate) – Postgraduate Program in Respiratory Sciences. Federal University of Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil.

Description: The fungal rhinosinusitis (FRS) is an opportunistic infection characterized by inflammation of the nasal mucosa and sinuses. It is considered an emerging problem in daily medical practice, with prevalence increased in recent decades, with etiology in diverse ubiquitous fungi. **Objectives:** This study aimed to analyze all cases of RSF belonging to the Mycology Laboratory of the database of the Brotherhood of the Santa Casa of Misericórdia Porto Alegre during the period of 28 years (1986-2014), relating them with the clinical and epidemiological characteristics. **Methods:** The study was observational retrospective, resulting in a series of 82 cases confirmed by histopathological and mycological examinations for identification of fungi, compared them with the findings on radiographs. **Results:** We identified 54 cases of aspergillosis by RSF, especially the etiologic agent *Aspergillus fumigatus* (14/54), and 27 cases of RSF different fungi *Aspergillus*, with insulation superiority of agents responsible for hyalohyphomycosis (12/27). Configured, these findings, the three cases unprecedented in our country, especially the first case of human infection with RSF and *Trichoderma asperellum*. **Conclusions:** These findings represent the largest identified Brazilian series and can contribute to a better epidemiological understanding, improving clinical suspicion criteria, reflecting the effectiveness of treatments, mainly in diagnosing cases of invasive RSF, with high mortality rates.

Key words: fungal rhinosinusitis, sinusitis, paranasal sinuses, fungus ball, aspergillosis, non-*Aspergillus* rhinosinusitis.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABPA – Aspergilose broncopulmonar alérgica

AFS – *Allergic fungal rhinosinusitis*

AIDS – Síndrome da imunodeficiência adquirida

BF – Bola fúngica

°C – Graus Celsius

CDC – *Center for Disease Control and Prevention*

CMV – *Cytomegalovirus*

COPD – *Chronic obstructive pulmonar disease*

CT – *Computed tomography*

ELISA – *Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay*

EUA – Estados Unidos da América

F – *Female*

FAPERGS - Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul

FRS - Fungal rhinosinusitis

GM – Galactomanana / *Galactomannan*

GMS – Gomori Grocott / *Gomori's methenamine-silver*

HE / H&E – Hematoxilina-eosina / *Hematoxylin and eosin*

HIV – Vírus da imunodeficiência humana / *Human immunodeficiency virus*

IFS – *Invasive fungal rhinosinusitis*

IgE – Imunoglobulina E

ISCMPA – Irmandade da Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre

KOH – *Potassium hydroxide*

M – *Male*

NI – *No information*

PAS – *Ácido periódico de Schiff / Periodic acid Schiff*

PCR – *Reação em cadeia da polimerase*

PCR-RLB - *Polymerase chain reaction - reverse line blot*

PIBIC – *Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica*

RM – *Ressonância magnética*

RS – *Rinossinusite*

RSC – *Rinossinusite crônica*

RSF – *Rinossinusite fúngica*

RSFA – *Rinossinusite fúngica alérgica*

RSFE – *Rinossinusite fúngica eosinofílica*

SAM – *Sinobronchial allergic mycosis*

SLE – *Systemic lúpus erythematosus*

T2 – *Tesla 2*

TC – *Tomografia computadorizada*

TCLE – *Termo de Consentimento Livre e Esclarecido*

UFCSPA – *Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre*

UFRGS – *Universidade Federal do Rio Grande do Sul*

USA - *United States of America*

VD3 – *Vitamina D3*

LISTA DE FIGURAS

Artigo 1	Sphenoid sinus fungus ball by filaments of actinomycetes and <i>Aspergillus fumigatus</i>.....	25
Figure 1	Sinonasal CT scan shows that the sphenoid sinus is full of soft tissue.....	29
Figure 2	Wet mount slide of aspirated material obtained from the sphenoid sinus showing entangled hyphae and conidial heads of <i>A. fumigatus</i> (x200, arrows).....	29
Figure 3	Aspirated material obtained from sphenoid sinus. Gram stain smear showing delicate filaments of actinomycetes (x400).....	30
Artigo 2	Aspergillosis of the nose and paranasal sinuses: a review of 54 cases.....	33
Figure 1	Image of an <i>A. niger</i> fungal ball.....	40
Figure 2	Invasive sinusitis - Axial contrast-enhanced CT images show complete opacification of the right nasal cavity, which is a common presentation for acute invasive fungal disease of the paranasal sinuses. Both left nasal cavity and right maxillary sinus contents have attenuation values higher than those of simple fluid. Also, CT scan demonstrated right nasal and anterior septal soft-tissue thickening and enhancement.....	41
Figure 3	Invasive sinusitis - Microscopic examination of a sinus mucosa biopsy showing septate and dichotomous branching hyphae of <i>Aspergillus</i> (calcofluor white).....	42

Artigo 3	Non-<i>Aspergillus</i> fungal rhinosinusitis at a tertiary care hospital and the first report of human infection by <i>Trichoderma asperellum</i>.....	47
Figure 1	CT scan of the head of a patient with <i>P. boydii</i> fungus ball demonstrating opacified left maxillary sinus and clear right maxillary sinus.....	61
Figure 2	Tissue section of a fungus ball taken through an endoscope, showing profuse growth of septate, branched hyphae and three pyriform annelloconidia (arrows) of <i>P. boydii</i> (H&E, x400).....	61
Figure 3	<i>S. commune</i> rhinosinusitis. CT scan showing soft tissue mass in ethmoid and sphenoid cavities.....	62
Figure 4	CT scan of the patient in Figure 3 after endoscopic treatments. Notice that the cavities were normal.....	62
Figure 5	Axial view on CT scan in patient with <i>T. asperellum</i> rhinosinusitis showing soft tissue material in the sphenoid and ethmoid cavities	63
Figure 6	<i>T. asperellum</i> rhinosinusitis middle meatal antrostomy and sphenoidotomy shows a yellow-brown material that was allergic mucus.....	63

LISTA DE TABELAS

Artigo 3	Non-<i>Aspergillus</i> fungal rhinosinusitis at a tertiary care hospital and the first report of human infection by <i>Trichoderma asperellum</i>.....	47
Table 1	Organisms causing non- <i>Aspergillus</i> paranasal sinusitis in 27 patients.....	54
Table 2	Overview of 27 cases of fungal rhinosinusitis and associated fungal etiology.....	56
Apêndice C	Tabelas informativas da casuística incluída no estudo.....	83
Tabela 1	Características clínicas-epidemiológicas dos 54 pacientes com rinossinusite fúngica aspergilar e associações concomitantes.....	83
Tabela 2 (Parte 1)	Dados clínicos-epidemiológicos dos 27 pacientes com diagnóstico de RSF não aspergilar.....	88
Tabela 2 (Parte 2)	Dados clínicos-epidemiológicos dos 27 pacientes com diagnóstico de RSF não aspergilar.....	91

SUMÁRIO

AGRADECIMENTOS	VI
RESUMO.....	VII
ABSTRACT.....	VIII
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS.....	IX
LISTA DE FIGURAS.....	XI
LISTA DE TABELAS.....	XIII
1 INTRODUÇÃO.....	1
1.1 Rinossinusite.....	1
1.1.1 Conceito e terminologia.....	1
1.2 Rinossinusite fúngica.....	2
1.2.1 Aspectos gerais.....	2
1.2.2 Classificação.....	4
1.2.3 Diagnóstico e tratamento.....	8
2 REVISÃO DA LITERATURA.....	11
2.1 Perspectivas históricas.....	11
2.2 Epidemiologia e casuística mundial.....	13
2.3 Casuística no Brasil.....	16
3 JUSTIFICATIVA.....	20
4 OBJETIVOS.....	21
4.1 Objetivo geral.....	21
4.2 Objetivos específicos.....	21

5 MATERIAIS E MÉTODOS.....	22
5.1 Delineamento e período do estudo.....	22
5.2 Local do estudo.....	22
5.3 Aspectos éticos.....	22
5.4 Critérios de inclusão.....	23
5.5 Diagnóstico laboratorial.....	23
5.6 Colheita de dados.....	24
6 ARTIGOS COMPLETOS.....	25
6.1 Artigo 1: Sphenoid sinus fungus ball by filaments of actinomycetes and <i>Aspergillus fumigatus</i>	25
6.2 Artigo 2: Aspergillosis of the nose and paranasal sinuses: a review of 54 cases.....	33
6.3 Artigo 3: Non-Aspergillus fungal rhinosinusitis at a tertiary care hospital and the first report of human infection by <i>Trichoderma asperellum</i>	47
7 CONCLUSÃO.....	69
8 PERSPECTIVAS.....	71
9 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	72
10 APÊNDICES.....	81
10.1 Apêndice A: Termo de confidencialidade encaminhado ao Comitê de Ética em Pesquisa da ISCMPA.....	81
10.2 Apêndice B: Ficha padrão utilizada para colheita de informações clínicas e epidemiológicas dos prontuários médicos de cada paciente.....	82
10.3 Apêndice C: Tabelas informativas da casuística incluída no estudo.....	83

10.3.1 Tabela 1: Características clínicas-epidemiológicas dos 54 pacientes com rinosinusite fúngica aspergilar e associações concomitantes.....	83
10.3.2 Tabela 2 (Parte 1) – Dados clínicos-epidemiológicos dos 27 pacientes com diagnóstico de RSF não aspergilar.....	88
10.3.3 Tabela 2 (Parte 2) - Dados clínicos-epidemiológicos dos 27 pacientes com diagnóstico de RSF não aspergilar.....	91
10.4 Apêndice D: Produção científica - Trabalhos referentes à tese..	96
10.4.1 Trabalho 1: Rinosinusite fúngica invasiva aguda com etiologia por <i>Aspergillus flavus</i>	96
10.4.2 Trabalho 2: Aspergillosis of the nose and paranasal sinuses: a review of 54 cases.....	98
10.4.3 Trabalho 3: Non- <i>Aspergillus</i> fungal rhinosinusitis at a tertiary-care hospital and the first report of human infections by <i>Trichoderma asperellum</i>	100
11 ANEXOS.....	102
11.1 Anexo 1: Casuística já publicada em períodos indexados.....	102
11.1.1 Série RSF aspergilar e associações concomitantes.....	102
11.1.2 Série RSF não aspergilar.....	103

1 INTRODUÇÃO

1.1 Rinossinusite

1.1.1 Conceito e terminologia

A rinossinusite (RS) é caracterizada pela inflamação da mucosa nasal e dos seios paranasais (constituídos pelos seios frontais, etmoidais, maxilares e esfenoidais). É uma das afecções mais prevalentes das vias aéreas superiores, decorrente de processos infecciosos virais, bacterianos e fúngicos (Meltzer *et al.*, 2004; Araújo *et al.*, 2008; Badiie *et al.*, 2015). Com um custo financeiro elevado para a sociedade, causa grandes alterações na qualidade de vida destes pacientes (Kaliner *et al.*, 1997; Araújo *et al.*, 1999; Chatterjee e Chakrabarti, 2009; Crombruggen *et al.*, 2010; Anselmo-Lima *et al.*, 2015). Por sua alta prevalência, a RS é reconhecida e tratada por um grande número de profissionais médicos, além dos otorrinolaringologistas, desde generalistas que trabalham na atenção primária, bem como pediatras, pneumologistas, imunologistas, infectologistas e muitos outros.

No Brasil, desde 1999, com a publicação do primeiro Consenso Brasileiro sobre Rinossinusites, e em consonância com a Sociedade Brasileira de Rinologia, tem-se dado preferência ao termo RS em detrimento de sinusite, até então mais comumente utilizado. Essa nomenclatura segue a tendência mundial, em conformidade com a *American Academy of Otolaryngology and Head and Neck Surgery*, *European Academy of Allergy and Clinical Immunology* e a *European Rhinologic Society*, pois dificilmente ocorre a inflamação dos seios paranasais sem o acometimento da mucosa nasal (Lanza

e Kennedy, 1997; Araújo *et al.*, 1999 e 2008; Ferguson, 2000; Dall'Igna, 2004; Thomas *et al.*, 2008; Fokkens *et al.*, 2005, 2007 e 2012). No entanto, os termos rinite e rinosinusite são duas entidades diferentes e não devem ser confundidas (Chakrabarti *et al.*, 2009).

1.2 Rinosinusite fúngica

1.2.1 Aspectos gerais

Os fungos estão presentes na maior parte dos ecossistemas, existindo mais de 20.000 espécies já identificadas. Nas duas últimas décadas a medicina foi testemunha do aumento das infecções fúngicas em humanos, causadas por mais de 250 espécies diferentes, em decorrência do aumento do uso de drogas imunossupressoras para o tratamento do câncer e para o controle da rejeição de órgãos transplantados, das infecções pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV), do diabetes melito, do uso de cateteres vasculares e urinários e do emprego de antibióticos de largo espectro. Desde uma comum candidose até uma mortal aspergilose, as micoses estão, frequentemente, presentes em todos os níveis da prática médica diária (Dall'Igna *et al.*, 2005).

A rinosinusite fúngica (RSF) é referida na literatura médica há mais de dois séculos. Entretanto, somente nas últimas décadas vem recebendo a devida atenção, decorrente do aumento da suspeição diagnóstica e melhora das técnicas laboratoriais de detecção dos fungos (Dalla'Igna *et al.*, 2005). É considerada uma doença rara, mas nos últimos anos vem sendo relatada com frequência no mundo todo (Pereira *et al.*, 1997; Prateek *et al.*, 2013). É

observada, principalmente, em pacientes com um sistema imunológico comprometido, embora possa ser diagnosticada em pessoas imunocompetentes (DeShazo *et al.*, 1997; Chakrabarti *et al.*, 2009; Kasapoglu *et al.*, 2010; Chen *et al.*, 2011; Badiie *et al.*, 2015).

A patogenia da doença deve-se a dois aspectos: as características do fungo e os fatores do hospedeiro que facilitam a sua invasão. As micoses oportunistas dos seios paranasais têm como agentes principais fungos filamentosos, que podem ser constituídos por hifas hialinas (hialohifomicoses) ou demáceas (feohifomicoses), de distribuição universal (Ajello, 1986; Rossmann *et al.*, 1996; Pereira *et al.*, 1997; Araújo *et al.*, 1999 e 2008; Michaels *et al.*, 2000; Dall'Igna *et al.*, 2005; Revankar, 2006; Badiie *et al.*, 2015).

Com relação à imunodepressão (corticosteroide, neutropenia, doença linfoproliferativa, defeitos na fagocitose), é ampla a etiologia fúngica. Os pacientes neutropênicos, incluindo transplantados, especialmente receptores de medula óssea, frequentemente, apresentam infecção por *Aspergillus* sp., *Fusarium* sp. e *Scedosporium apiospermum* (teleomorfo *Pseudallescheria boydii*), ou ainda, estes pacientes podem apresentar casos, considerados raros, de RSF invasiva com etiologia em fungos dimórficos (criptococose e histoplasnose) (Prendiville *et al.*, 2000; Alves *et al.*, 2011). Nos pacientes com cetoacidose diabética os fungos mais encontrados pertencem à ordem dos *Mucorales* (gênero *Rhizopus*, *Mucor*, *Lichtheimia* (*Absidia*), entre outros, desencadeando mucormicose rinocerebral). A característica fulminante da

micose é consequência da acidofilia dos zigomicetos (Pereira *et al.*, 1997; Schmidt e Poublon, 1998; Araújo *et al.*, 1999; Xavier *et al.*, 2004; Severo *et al.*, 2010; Kasapoglu *et al.*, 2010; Deus *et al.*; 2015). Ainda, a mucormicose pode acometer os seios paranasais evoluindo, concomitantemente, com *Aspergillus* sp., em pacientes imunocompetentes (Severo *et al.*, 1989).

Outras comorbidades importantes estão implicadas, como fatores predisponentes, no desenvolvimento da RSF com etiologia variada, como: asma, rinite alérgica, aspergilose broncopulmonar alérgica (ABPA), alterações no transporte mucociliar (discinesia ciliar primária), alterações anatômicas (obstrução dos óstios, hipertrofia de corneto médio e inferior, concha bolhosa, desvio de septo), fibrose cística (Kang *et al.*, 2015), polipose nasal e cirurgias prévias (Dalla'Igna, 2004).

1.2.2 Classificação

A RSF é uma doença complexa, possuindo diversos esquemas de classificação, gerando muitas controvérsias. Em decorrência dessa situação, a *International Society for Human and Animal Mycology* convocou um grupo de estudos em 2008, na Índia, para criar uma uniformidade de informações, que foram relatadas por Chakrabarti e colaboradores em 2009, resultando numa classificação atualizada.

O sistema atual divide a RSF como doença de caráter invasivo e não invasivo, com base nas evidências histopatológicas de invasão dos tecidos.

Ainda existe uma distinção entre RSF aguda (tempo de duração da doença menos de um mês), subaguda (duração entre um e três meses), e crônica (duração por mais de três meses).

A doença invasiva compreende: a) RSF invasiva aguda; b) RSF invasiva granulomatosa e c) RSF invasiva crônica. Já a doença não invasiva inclui: a) RSF por colonização fúngica; b) RSF por bola fúngica e c) RSF eosinofílica que inclui a RSF alérgica (RSFA).

- RSF invasiva aguda – a doença é descrita por um curso de tempo menor do que quatro semanas com invasão vascular predominante, ocorrendo em pacientes imunocomprometidos, desencadeando uma pansinusite. A histopatologia demonstra hifas com invasão de vasos sanguíneos, que podem incluir as carótidas e seio cavernoso, vasculite com trombose, hemorragia, infarto de tecidos e infiltrados agudos neutrofílicos. Pacientes com malignidades hematológicas, diabetes melito descontrolada, hemocromatose, transplantados ou aqueles submetidos à quimioterapia antineoplásica são especialmente suscetíveis.
- RSF invasiva granulomatosa – apresenta um curso de tempo de mais de 12 semanas com uma ampliação de massa na bochecha, órbita, nariz e seios paranasais em pacientes imunocompetentes. Proptose é, muitas vezes, uma característica proeminente. Histopatologicamente é vista uma resposta granulomatosa com fibrose considerável, granuloma não

caseoso com corpo estranho ou tipo células gigantes de Langerhans, por vezes com vasculite, proliferação vascular, e fibrose perivascular.

- RSF invasiva crônica - é um processo lentamente progressivo e destrutivo, afetando os seios etmoidal e esfenoidal, mas pode envolver qualquer um dos seios paranasais. A doença tem, tipicamente, um curso de tempo de mais de 12 semanas. No entanto, em contraste com a RSF invasiva granulomatosa, é caracterizada com um denso acúmulo de hifas, a presença ocasional de invasão vascular, e reação inflamatória escassa. Geralmente, é diagnosticada em pacientes com síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS), e diabetes melito.
- RSF por colonização fúngica - colonização assintomática da mucosa da cavidade nasal por fungos saprófitas. Muitas vezes ocorre em pacientes que foram submetidos à cirurgia anterior. A possibilidade de prorrogação desse crescimento que conduz à formação de bola fúngica.
- RSF por bola fúngica – presença de acúmulo não invasivo de uma densa conglomeração de hifas na cavidade do seio maxilar, embora possa afetar outros seios ou, raramente, múltiplos. É caracterizada por uma massa de restos fúngicos endurecidos e muco, com crescimento progressivo na cavidade sinusal, sem envolvimento da mucosa subjacente, com evidência radiológica de opacificação dos seios com ou sem heterogeneidade. Bolas fúngicas foram erroneamente classificadas, no passado, como micetomas ou aspergilomas. Em aproximadamente

70% das bolas fúngicas, o diagnóstico é feito exclusivamente pela histologia ou microscopia, e as culturas são negativas.

- RSF eosinofílica que inclui RSFA - acredita-se que os alérgenos dos fungos suscitam a mediação alérgica da imunoglobulina E (IgE), possivelmente, do tipo III (complexo imune), quando indivíduos sensibilizados são expostos a um ambiente com elevado número de conídios fúngicos. Estes indivíduos apresentam aumento significativo das vias aéreas superiores e/ou inferiores devido à inflamação da mucosa nasal em combinação com a mucina alérgica contendo eosinófilos e muitos cristais de Charcot-Leyden, que obstruem a via normal de drenagem. Se a resposta imune não for bloqueada pode ser destrutiva, expandindo-se para os seios adjacentes com erosão óssea, perda visual aguda, dismorfia facial, ou obstruções nasais completas, inclusive com possibilidade de mortalidade em decorrência da proximidade e envolvimento com estruturas neurovasculares (Vashishth, 2015). Este tipo de RSF é identificado em pacientes com ABPA, recebendo a denominação de síndrome SAM (Venarske e DeShazo, 2002), um acrônimo para micose alérgica sinubrônquica (Chakrabarti *et al.*, 2009).

1.2.3 Diagnóstico e tratamento

A suspeita diagnóstica da RSF engloba os seguintes aspectos:

- comprometimento isolado de um seio paranasal (maxilar ou esfenóide) ou assimétrico (percentual significativo de doenças unilaterais), com velamento e calcificação em seu interior e/ou densidades diferentes na tomografia computadorizada (TC), e com hipossinal na secreção e hipersinal na mucosa em imagens de ressonância magnética (RM) em tesla 2 (T2);
- dor facial com exacerbações, sinais e sintomas inespecíficos (congestão, cefaléia, rinorréia, etc.), edema nariz e face;
- secreção de aspecto amarronzada espessa (mucina) e/ou caseosa em endoscopia diagnóstica ou durante ato cirúrgico;
- áreas isquêmicas ou necróticas à endoscopia;
- exame direto da secreção com visualização de eosinófilos em degranulação e/ou necróticos (presença de cristais de Charcot-Leyden);
- presença de fungos no exame direto (hifas), se negativo, cultura positiva (*Sabouraud/Mycose!*®), se ambos negativos, com teste de reação em cadeia da polimerase (PCR) positivo (diante dos achados clínicos e radiológicos acima).
- revestimento mucoso com inflamação inespecífica, se fungos presentes no epitélio, submucosa e/ou osso, considerar quadro invasivo (correlacionar com achados clínicos e estado imune do paciente).
- presença de fungos em exame direto, cultura e/ou PCR pode ser encontrado em indivíduos hígidos (Osguthorpe, 2001; Araújo *et al.*, 2008; Dall'igna *et al.*, 2005; Chen *et al.*, 2011; Deus *et al.*, 2015).

O diagnóstico e o manejo da RSF podem ser difíceis, quando baseados exclusivamente na história clínica. Os dois métodos objetivos de avaliação mais utilizados pelo otorrinolaringologista são a endoscopia nasal e a TC dos seios paranasais (Mukherji *et al.*, 1998; Dall'Igna *et al.*, 2005; Geminiani *et al.*, 2007; Fokkens *et al.*, 2012).

Além dos exames de imagens, são necessários, para comprovação etiológica, os exames micológicos e sorológicos de pesquisa para fungos (direto, cultivo, imunodifusão, imunofluorescência, prova do látex), da análise histopatológica (técnicas de coloração por hematoxilina-eosina (HE), ácido periódico de Schiff (PAS), Fontana Masson, Gomori Grocott (GMS) (Pereira *et al.*, 1997; Schell, 2000; Araújo *et al.*, 2008; Cabral *et al.*, 2015), e ainda, se necessário, da identificação molecular através de PCR (Willinger *et al.*, 2003; Xavier *et al.*, 2009; Badiie *et al.*, 2015). Embora apresente algumas limitações, na RSF invasiva com etiologia no gênero *Aspergillus*, existe outro recurso disponível que é o teste de detecção sérica do antígeno galactomanana (GM) (Kauffmann-Lacroix *et al.*, 2001; Aquino *et al.*, 2007; Xavier *et al.*, 2009; Chen *et al.*, 2011; Kang *et al.*, 2012).

O tratamento da RSF é sempre cirúrgico, variando a técnica conforme a gravidade do caso. Diversos procedimentos cirúrgicos têm sido descritos, como o método tradicional proposto por Caldwell-Luc, ou os métodos cirúrgicos endoscópicos funcionais modernos (Araújo *et al.*, 2007; Pagella *et al.*, 2007). O uso de antimicóticos sistêmicos está indicado nos casos de RSF invasiva, nos quais se utiliza a anfotericina B em associação com voriconazol quando se

conhece a espécie de *Aspergillus* (Deus *et al.*, 2015). Nos demais tipos de RSF recomendado o uso de itraconazol, e o cetoconazol no tratamento dos casos de etiologia leveduriforme. A correta identificação do fungo é essencial para o tratamento adequado, proporcionando, assim, um desfecho favorável, particularmente, nos casos de RSF invasiva (Eckburg *et al.*, 1999; Araújo *et al.*, 1999; Chakrabarti e Sharma, 2000; Kang *et al.*, 2012; Bosi *et al.*, 2012; Krishnan *et al.*, 2015). O prognóstico em pacientes imunocomprometidos é ruim, e a taxa de mortalidade relatada tem variado de 50% a 80%, pois muitas vezes a doença é negligenciada ou mal diagnosticada (Chakrabarti *et al.*, 2009; Kasapoglu *et al.*, 2010; Chen *et al.*, 2011; Badiee *et al.*, 2015).

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Perspectivas históricas

O primeiro caso de doença fúngica sinusal (tumor fúngico no seio maxilar) foi descrito na literatura francesa por Plaignaud, em 1791, em um soldado de 22 anos. Schubert, em 1885, relatou na literatura alemã o primeiro caso de infecção sinusal por *A. fumigatus*, mas Mackenzie, em 1894 na Inglaterra, relatou o que provavelmente foi o primeiro caso de sinusite fúngica não invasiva (Pagella *et al.*, 2007).

Uma infecção no seio esfenoidal causada por uma espécie de *Aspergillus*, onde a lesão estendeu-se para o cérebro, através de uma erosão óssea, foi descrita por Oppe em 1897. Baker e colaboradores, em 1957, relataram pela primeira vez RSF invasiva aguda (fulminante), com etiologia nos zigomicetos, em dez pacientes imunocomprometidos. No entanto, foi somente em 1965 que Hora reconheceu as duas categorias de sinusite fúngica: uma com comportamento não invasivo, e outra invasiva, onde a infecção resultou em uma massa maligna corroendo o osso e espalhando-se para o tecido adjacente.

No Sudão, em 1969, Milosev e colaboradores reconheceram o primeiro caso de RSF invasiva granulomatosa. Em 1972, Finby e Begg fizeram a documentação de um caso de bola fúngica ou micetoma sinusal (Chatterjee e Chakrabarti, 2009).

Safirstein, em 1976, registrou uma combinação de polipose nasal com edema grave de mucosa e cultura positiva para *Aspergillus* sp, com semelhança clínica de resultados compartilhados com ABPA (Safirstein, 1976).

Em 1980, McGill *et al.* relataram um outro tipo de RSF em pacientes imunocomprometidos, uma forma rápida e fulminante de curso maligno (Chakrabarti *et al.*, 2009).

Millar e colaboradores, em 1981, e Katzenstein e colaboradores, em 1983, independentemente, reconheceram uma semelhança fisiopatológica entre alguns casos de rinossinusite crônica (RSC) e os sintomas de ABPA (mucina alérgica com presença de eosinófilos, cristais de Charcot-Leyden e hifas fúngicas). Katzenstein classificou um dos achados como sinusite alérgica por *Aspergillus* sp., porém mais tarde, renomeou para RSF alérgica, devido a etiologia por outros fungos (Millar *et al.*, 1981; Katzenstein *et al.*, 1983). Ponikau *et al.*, em 1999, usando novas técnicas de diagnóstico, demonstrou a presença de fungos e eosinófilos na mucina alérgica em 96% dos casos de RSC, com e sem polipose nasal, mudando a terminologia de RSFA, para rinossinusite fúngica eosinofílica (RSFE) (Ponikau *et al.*, 1999). Se as suas conclusões são verdadeiras, isto significa efetivamente que quase todos os pacientes com RSC têm uma etiologia fúngica.

O interesse crescente no campo da RSC e RSF estimulou uma cooperação internacional para discutir o tema, e a *First American Academy of Otolaryngology Head and Neck Surgery* e outras sociedades relacionadas,

através de um workshop, tentaram um consenso de definição e classificação, sugerindo estratégias de pesquisas clínicas para pacientes com RS.

Em 2008, a *International Society for Human and Animal Mycology* convocou um grupo de trabalho atualizando as definições e classificações sobre RSF vigentes (Chatterjee e Chakrabarti, 2009).

2.2 Epidemiologia e casuística mundial

A maioria das formas de RSF é encontrada no sexo masculino, mas a razão exata para esta predisposição é desconhecida. No entanto, RSF por bola fúngica é relatada em mulheres. A forma aguda invasiva de RSF é comum em idosos, possivelmente devido aos fatores de risco como diabetes e câncer, comum nesta faixa etária. Em alguns estudos, no Sudão e norte da Índia, foram descritos casos de RSFA em jovens do sexo masculino que vivem na área rural, por outro lado, no continente africano, RSFA está associada à classe sócio-econômica pobre e a raça (Chatterjee e Chakrabarti, 2009).

A localização geográfica é, provavelmente, um determinante importante da incidência de RSFA e RSF invasiva granulomatosa. A RSFA ocorre, mais comumente, na Índia, África do Norte, Oriente Médio, e no sul e sudoeste dos EUA (Ferguson *et al.*, 2000). Uma pesquisa com 20 práticas em otorrinolaringologia, nos EUA, descobriu que 23% de todos os pacientes, em Memphis e Tennessee, que foram encaminhados para procedimentos de sinusite, tiveram diagnóstico de RSFA. Da mesma forma, outras práticas

clínicas identificaram, no Alabama, Georgia e Texas, uma frequência de pelo menos 10% de achados de RSF. Acredita-se que o clima quente e seco, especificamente, norte da Índia, Sudão, Arábia Saudita e Arizona influenciem no elevado número de casos. Já RSF invasiva granulomatosa foi vista, exclusivamente, no Sudão, Índia, Paquistão, e raramente nos EUA (Chakrabarti *et al.*, 1992; Ponikau *et al.*, 1999; DeShazo, 2009).

A RSF por bola fúngica também pode ter restrição geográfica, até certo ponto, devido ao grande número de casos relatados na França, Itália e Taiwan. Cerca de 30 casos de RSF por bola fúngica, por ano, são relatados em Poitiers e em Toulouse, na França. Em um único centro, em Poitiers, foram relatados 173 casos no período de 14 anos (1989-2002). Na Itália a doença também é endêmica, pois foram descritos 81 casos em um centro de Pavia, no período de 1994 a 2005 (Pagella *et al.*, 2007), e outro, com 160 casos diagnosticados, no departamento de otorrinolaringologia da Universidade de Bréscia, num período de 1990 a 2006, e que foram tratados unicamente com abordagem endoscópica (Nicolai *et al.*, 2009). Na Ásia, a RSF por bola fúngica foi diagnosticada em 126 pacientes, em um único centro de Taiwan, durante um período de oito anos (1995-2003), já na Universidade Nacional de Chonbuk, Coreia do Sul, outro estudo constatou que 245 pacientes apresentaram RSF por bola fúngica, num período de 15 anos (1996 a 2010), sendo que 160 destes casos ocorreram em mulheres (Kim *et al.*, 2015). Entre abril e novembro de 2012, na China, um estudo com 80 pacientes foi desenhado para investigar a microbiologia de RSF por bola fúngica. Este estudo detectou que em 69 casos a baciloscopia foi positiva para infecção mista bacteriana e fúngica, e quando

foi observada a presença de *Pseudomonas aeruginosa* notou-se que o crescimento fúngico foi significativamente menor, sugerindo que a bactéria inibiria a patogênese fúngica, impedindo a filamentização (Zhang *et al.*, 2015).

Entre 1995 e 2009, e um hospital de Taiwan, China, foram acompanhados 600 pacientes com doença hematológica maligna, sendo que 46 pacientes apresentaram quadro de RSF invasiva, e 64 de RSF não invasiva (Chen *et al.*, 2011).

Um estudo realizado em Chennai, Índia (entre 2010 e 2011), com 52 pacientes com suspeita de RSC, identificou que em 44% destes casos ocorreu prevalência de RSFA, sendo que em 52% a etiologia foi *A.flavus* (Krishnan *et al.*, 2015). Em outro trabalho realizado em Uttar Pradesh, Índia, em 2013, com 100 pacientes com suspeita de doença nasossinusal fúngica, também constatou a presença de RSFA, por *A.flavus*, em 21 pacientes (Prateek *et al.*, 2013).

Em um Hospital Universitário da Pensilvânia, EUA, um estudo recente fez uma classificação em um grupo de 400 pacientes com diagnóstico de RSF. A ocorrência foi classificada como RSF invasiva (87,5%) e não invasiva (12,5%). Os agentes etiológicos identificados foram *Aspergillus* sp., *Alternaria* sp., *Curvularia* sp., *Paecilomyces* sp., *Scedosporium* sp., *Penicillium* sp., e *Candida albicans* nos casos de RSF não invasiva, enquanto que *Aspergillus* sp., seguido de *Rhizopus* sp., em pacientes com diagnóstico de RSF invasiva (Montone *et al.*, 2012).

Outro estudo atual de caso-controle prospectivo, realizado na Universidade de Ain Shams, Cairo/Egito, com 75 pacientes, divididos em quatro grupos: grupo A - 25 pacientes com RSFA; grupo B -15 pacientes com RSC com polipose nasal; grupo C - 15 pacientes com RSC sem polipose nasal; e grupo D - 19 casos controle; mensurou os níveis séricos de vitamina D3 (VD3) nestes pacientes. Os achados demonstraram que houve uma diferença estatisticamente significativa nos níveis de VD3 entre os grupos A e B, em comparação com os grupos C e D, concluindo que pacientes com esta deficiência vitamínica são mais suscetíveis as doenças nassosinusais. Futuramente, este controle de VD3 no organismo, pode constituir uma opção profilática eficaz e de baixo custo no tratamento das RSFA e RSC (Mostafa *et al.*, 2015).

2.3 Casuística no Brasil

Na revisão da literatura brasileira foram encontrados escassos estudos sobre RSF, que descreveremos a seguir, ocorrendo o predomínio de relatos específicos individuais. Os maiores ensaios clínicos são direcionados para pesquisa de identificação de microrganismos bacterianos na RSC, contudo alguns agentes fúngicos são isolados, mas sem relevância para os estudos.

Pereira e colaboradores publicaram estudo realizado em dois hospitais de Porto Alegre, com 518 pacientes, entre 1989 e 1995, com sinais clínicos de sinusopatia crônica. Comprovados, por exames de imagem, micológico e histopatológico, que em 15 casos ocorreu o desenvolvimento de RSF, e que

87% dos casos foram diagnosticados como hialohifomicose, e enquadrados como sinusite por bola fúngica (9/15), sinusite alérgica (4/15), e sinusite extramucosa ou lentamente invasiva (2/15) (Pereira *et al.*, 1997).

No Hospital de Base do Distrito Federal, em 2001, foi relatado caso de mucormicose rinocerebral em uma paciente imunocompetente, com foco inicial nos seios paranasais, com progressão moderada para órbita direita e faringe, com comprovação obtida pelo exame anatomopatológico (Santana *et al.*, 2001). Diferentemente em 2004, Xavier *et al.* descreveram, na Santa Casa de São Paulo, outro caso de mucormicose rinocerebral em uma mulher com descompensação diabética hiperosmolar, onde o processo inflamatório primário foi identificado no seio etmoidal e maxilar esquerdo, evoluindo rapidamente para abscesso orbital e cerebrite, com confirmação positiva do anatomopatológico (Xavier *et al.*, 2004).

Um estudo de coorte, com 890 indivíduos portadores de RSC e submetidos a tratamento cirúrgico endoscópico, realizado no Hospital de Clínicas de Porto Alegre (1988-2002), por Dall'Igna e colaboradores, constatou que 62 pacientes apresentaram quadro de RSF, classificados da seguinte forma: 33 casos de RSF por bola fúngica, 24 casos de RSFA, 03 de RSF indolente e 02 casos de RSF por fungos saprófitas. Os isolados predominantes foram o gênero *Aspergillus*, seguido de *Candida*, *Penicillium* e *Alternaria* (Dalla'Igna *et al.*, 2005).

Estudo transversal analítico, realizado de janeiro de 2007 a dezembro de 2009 em um serviço de otorrinolaringologia de Salvador, identificou 15 casos de RSF por bola fúngica, sendo que 80% dos pacientes eram do sexo feminino. Em um total de 12 casos, a comprovação foi baseada unicamente na análise de imagens tomográficas, e nos outros três casos houve a comprovação etiológica de *Aspergillus* sp., conforme análise do resultado do exame micológico de pesquisa para fungos (Marambaia *et al.*, 2010).

Outro estudo com 32 pacientes, realizado na divisão de otorrinolaringologia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, revelou a alta taxa de mortalidade e morbidade de pacientes imunodeprimidos, por doenças hematológicas graves, que desenvolveram RSF invasiva aguda no decorrer do tratamento. Os fungos isolados foram *Aspergillus* sp. (13/32), *Mucorales* (11/32), *Fusarium* sp. (2/32), e nos seis casos restantes não foi possível a identificação. O óbito foi registrado em 46% (6/13) dos pacientes que apresentaram RSF invasiva aguda pelo gênero *Aspergillus*, e em 60% (7/11), nos casos de mucormicose, mas também associado às doenças subjacentes (Valera *et al.*, 2011).

No serviço de infectologia de um hospital universitário de Porto Alegre, registrado caso de sinusite aguda, por histoplasmosse, em um paciente que apresentava grave disfunção imune, devido a um quadro de leucemia linfocítica crônica. Os achados na TC revelaram sinusite aguda com opacificação completa dos seios paranasais, e na técnica de coloração pela prata, identificado inúmeros organismos compatíveis com *H. capsulatum*. Após

administração de Anfotericina B, ocorreu regressão da histoplasmose, constatada pelos exames de imagens da região nasossinusal (Alves *et al.*, 2011).

3 JUSTIFICATIVA

Poucas pesquisas abordam, de maneira sistemática, a RSF no Brasil, mas por ser um problema emergente na clínica médica diária, com prevalência aumentada nas últimas décadas, merece a devida atenção. Nosso trabalho representa a maior casuística brasileira identificada em um único centro hospitalar universitário de referência, apoiado nos resultados dos exames de imagens e laboratoriais atualizados. Pretendemos, com este estudo, ajudar na compreensão epidemiológica local, auxiliando no entendimento da doença, e contribuindo para o melhoramento dos critérios de suspeição médica. Estes critérios são pontos fundamentais para a efetividade dos tratamentos, repercutindo no aumento das taxas de sucesso de cura para a população em geral, mas, principalmente, para aqueles pacientes que apresentam quadros de imunossupressão acentuados, com desenvolvimento de episódios graves de RSF invasiva, com altas taxas de mortalidade.

4 OBJETIVOS

4.1 Objetivo geral

Analisar todos os casos de RSF pertencentes à casuística do Laboratório de Micologia da Irmandade da Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre (ISCOMPA), no período de 28 anos, relacionando-os com as características clínicas e epidemiológicas encontradas.

4.2 Objetivos específicos

- Separar a casuística em dois grandes grupos, de acordo com a etiologia fúngica, identificado-a por ocorrência de *Aspergillus* sp. e associações concomitantes, e por outros fungos diferentes do gênero *Aspergillus*;
- Classificar os episódios da doença como invasiva e não invasiva e seus subgrupos, dentro de cada uma das séries e de acordo com a classificação atual descrita na literatura, identificando os aspectos clínicos e epidemiológicos e relacionando-os com os exames de imagens disponíveis;
- Descrever os achados sobre RSF na literatura mundial e brasileira.

5 MATERIAIS E MÉTODOS

5.1 Delineamento e período do estudo

O estudo foi retrospectivo observacional, compreendendo todos os casos de RSF confirmados, no período de setembro 1986 a agosto de 2014, no Laboratório de Micologia da ISCMPA, através dos exames micológicos, sorológicos e histopatológicos, em comparação com os exames de imagens endoscópicos e radiológicos dos seios paranasais, de cada paciente, totalizando 82 casos.

5.2 Local do estudo

A ISCMPA é um complexo hospitalar de atendimento terciário, composto por sete hospitais, que ao todo somam mais de 1.100 leitos, sendo que 60% desses leitos são destinados a pacientes do Sistema Único de Saúde, e o restante aos pacientes particulares e conveniados. Segundo o último relatório anual de 2014, a Instituição realizou 50.501 internações e 790.547 consultas ambulatoriais no período. É uma Instituição com 212 anos de existência, servindo como hospital-escola à Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre.

5.3 Aspectos éticos

Este trabalho foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da ISCMPA, em acordo com a Resolução 196/96 e seus complementares (protocolo nº 64705/12), com dispensa do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE). Foi exigido, pelo respectivo Comitê, um Termo de

Confidencialidade (Apêndice A), para garantir o nosso compromisso com o anonimato dos sujeitos incluídos na pesquisa.

5.4 Critérios de inclusão

- Consideradas as amostras clínicas de cultivos positivos dos seios paranasais e/ou amostras de biópsia demonstrando a presença de hifas fúngicas, com base nos resultados dos exames micológicos, sorológicos e histopatológicos;
- Para a classificação dos tipos de RSF foi usado o seguinte critério:
RSFA - presença de mucina alérgica na cavidade nasal com presença de eosinófilos e cristais de Charcot-Leyden, elementos fúngicos, e ausência de invasão dos tecidos subjacentes;
RSF invasiva – evidência histopatológica de hifas fúngicas dentro da cavidade nasal com invasão de mucosa e submucosa;
RSF por bola fúngica – estudo dos exames de imagem demonstrando opacificação dos seios paranasais, acentuando a aglomeração de hifas com ausência de invasão da mucosa nasal.

5.5 Diagnóstico laboratorial

Como este é um estudo retrospectivo observacional, não foram colhidas amostras clínicas dos pacientes envolvidos na pesquisa, estas já faziam parte da casuística do Laboratório de Micologia da ISCMPA. Estas amostras foram extraídas pelo médico responsável pelo procedimento nasossinusal, através de técnicas endoscópicas ou por procedimento de Caldwell-Luc, e foram encaminhadas anteriormente, a este serviço, onde foram submetidas a exame

micológico e sorológico de identificação para fungos (direto, cultivo, imunodifusão, imunofluorescência, Isolator®, prova do látex e GM), e a técnicas de coloração histopatológicas, como HE, PAS, Fontana Masson e Gomori Grocott, respeitando as normas técnicas laboratoriais e o sítio de colheita, seguindo critérios laboratoriais já estabelecidos. Algumas amostras foram direcionadas, para outros centros laboratoriais, para identificação do agente fúngico por técnica de PCR.

5.6 Colheita de dados

Primeiramente foi realizado o levantamento de todos os resultados dos exames micológicos, sorológicos e histopatológicos dos 82 pacientes diagnosticados com RSF no período, pertencentes ao banco de dados do Laboratório de Micologia da ISCMPA. Na sequência foram analisados os dados clínicos e epidemiológicos de todos os indivíduos incluídos na pesquisa, obtidos através da revisão do prontuário médico, e executado após a devida liberação do Comitê de Ética em Pesquisa da ISCMPA, utilizando-se uma ficha padrão (Apêndice B), para colheita das seguintes informações: idade, sexo, presença de doença(s) predisponente(s) e/ou associada(s), grau de imunossupressão, terapia empregada e laudo das imagens endoscópicas e radiológicas (Raios X, TC, RM). Após a compilação dos dados anteriores, foi realizada revisão da literatura, com embasamento em artigos científicos selecionados por meio das bases médicas MEDLINE e da Biblioteca Virtual em Saúde – Bireme (base de dados: Lilacs, SciELO, COCHRANE), cruzando as palavras: *fungal rhinosinusitis*, *sinusitis*, *paranasal sinuses*, *fungus ball*, *Aspergillosis*, *non-Aspergillus rhinosinusitis*, rinossinusite fúngica, sinusites.

6. ARTIGOS COMPLETOS

6.1 Artigo 1

“Sphenoid sinus fungus ball by filaments of actinomycetes and *Aspergillus fumigatus*”

Artigo publicado, em 2015, na revista *Mycopathologia*, volume 179 (5-6), páginas 471 a 473 - DOI 10.1007/s11046-015-9867-4

**Sphenoid Sinus Fungus Ball by Filaments of Actinomycetes
and *Aspergillus fumigatus***

Isabel Cristina Espíndola Cardoso •

Flávio de Mattos Oliveira • Bruno Hochegger •

Luiz Carlos Severo

Received: 9 December 2014 / Accepted: 27 January 2015 / Published online: 5 February 2015
©Springer Science+Business Media Dordrecht 2015

I. C. E. Cardoso

Programa de Pós-Graduação em Ciências Pneumológicas,
Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS),
Porto Alegre, Brazil

F. de Mattos Oliveira - L. C. Severo

Laboratório de Micologia, Hospital Santa Rita,
Irmandade Santa Casa de Misericórdia Porto Alegre (ISCMPA),
Annes Dias 285, Porto Alegre, RS 90020-090, Brazil

e-mail: severo@santacasa.tche.br;

severo@pesquisador.cnpq.br

B. Hochegger

Serviço de Radiologia, ISCMPA, Porto Alegre, RS, Brazil

L. C. Severo

Professor do Pós-Graduação em Ciências Pneumológicas, UFRGS,
Porto Alegre, Brazil

Abstract

We present a case of sphenoid sinus fungus ball caused by *Aspergillus fumigatus* associated with actinomycosis. This case represents the first known reported infection caused by this rare association.

Keywords: Aspergillosis, Actinomycosis, Sphenoid fungus ball, *Aspergillus fumigatus*

Introduction

Isolated sphenoid sinusitis is rare, and it is caused by fungal infection [1]. *Aspergillus* is the most common fungus to involve the paranasal sinuses. *A. fumigatus* and *A. flavus* are the most common pathogens [2, 3] but other species and even other moulds have been implicated [4, 5]. The two extramucosal forms of paranasal aspergillosis are allergic sinusitis and fungus ball (aspergilloma). *Aspergillus* fungus ball is sometimes found in the sphenoid sinus [6].

Here we report a case of sphenoid sinus fungus ball due to *A. fumigatus* associated with actinomycosis. To the best of our knowledge, the present case is the first report of *A. fumigatus* fungus ball associated with actinomycosis within the sphenoid sinus.

Case Report

A 32-year-old woman was referred to the outpatient ear, nose and throat department with a chief complaint of nasal congestion and headache. Of note in the patient's past, medical history was right-sided otorrhea. She underwent a right radical mastoidectomy. Her otorrhea improved after taking empirical systemic and otic antibiotics.

The computerised tomography (CT) scan of the sinuses showed evidence of intrasinus hyperattenuating tissue in sphenoid sinus, suggesting chronic fungal sinusitis (Fig. 1).

She underwent endoscopic exploration and drainage of the sphenoid sinus. The sinus epithelium was intact and without erosion. Microscopic examination of the biopsied mass showed entangled hyphae and conidiophore vesicles, and features characteristic of the *A. fumigatus* group (Fig. 2). Gram-positive actinomycotic filaments and hyphae were also present (Fig. 3). Cultures of this material were negative.

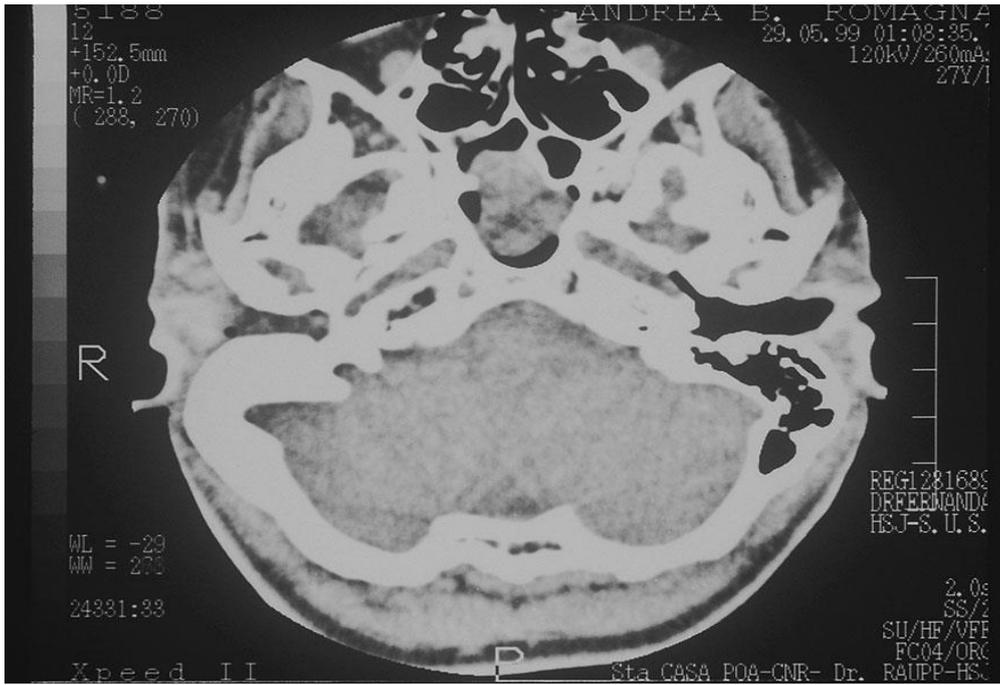


Fig. 1 Sinonasal CT scan shows that the sphenoid sinus is full of soft tissue

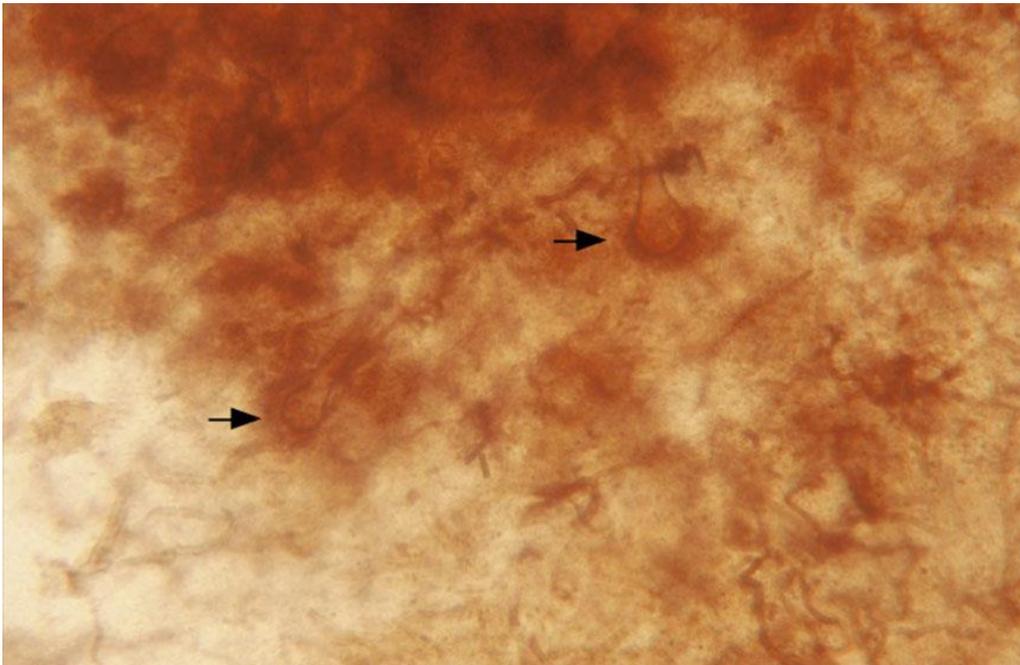


Fig. 2 Wet mount slide of aspirated material obtained from the sphenoid sinus showing entangled hyphae and conidial heads of *A. fumigatus* (x200, arrows)

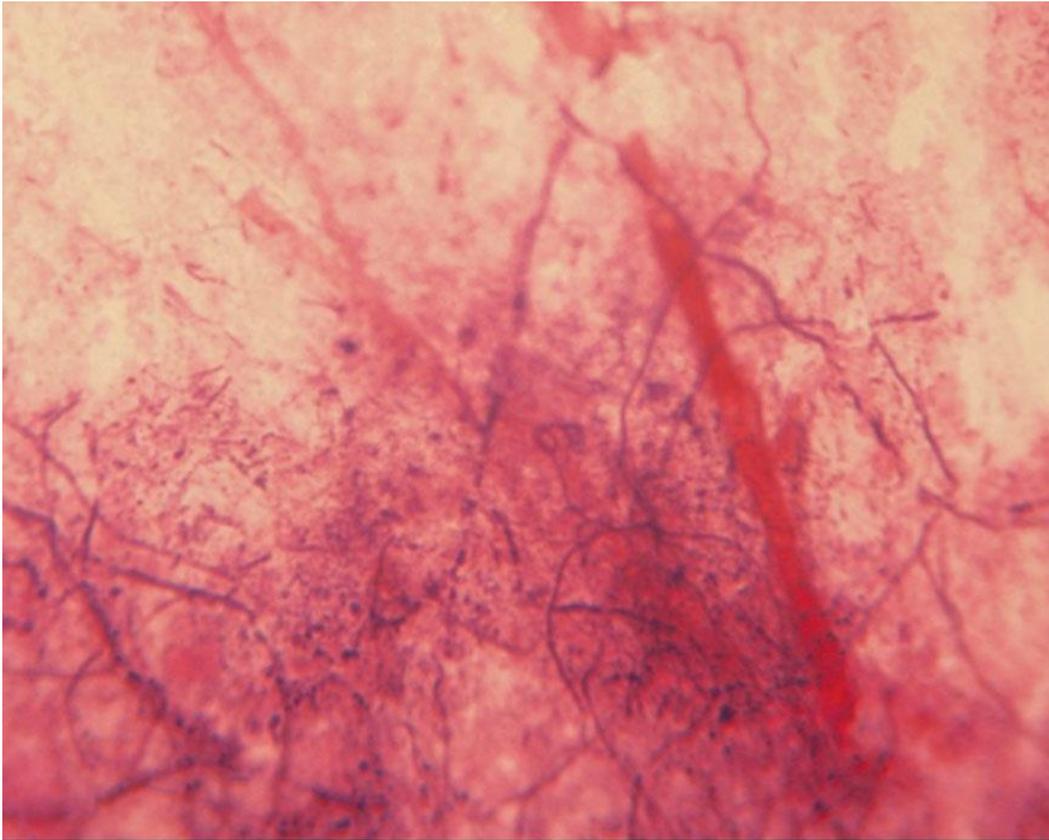


Fig. 3 Aspirated material obtained from sphenoid sinus. Gram stain smear showing delicate filaments of actinomycetes (x400)

Discussion

We report for the first time in the literature a case of simultaneous actinomycosis with aspergillosis due to *A. fumigatus* in the sphenoid sinus. The hyaline moulds are identified at the genus and species levels largely on the basis of the morphology of their reproductive structures. But on some occasions the organisms can be specifically identified by direct microscopy because they possess a distinctive morphology, e.g. if aspergillus fruiting bodies (conidial heads, phialides and conidia) develop from mycelia in areas of high oxygen tension, such as the lung or sinus cavities, as observed in our case (Fig. 2).

In the literature, only one previous case involving the maxillary sinus with simultaneous actinomycosis with 'aspergillosis' has been described [7]. The case presented is very important because it describes a simultaneous actinomycosis and fungal sinusitis. In the above-mentioned report, it states 'septate hyphae with 45° angled branches, which are consistent with aspergillosis' (Fig. 3) but it is not necessarily a case of aspergillosis [8]. Ajello [9] has proposed that all hyaline fungi causing infection be grouped in the category hyalohyphomycosis. Agents of hyalohyphomycosis included in this group are *Acremonium*, *Fusarium*, *Paecilomyces*, *Penicillium* and *Scopulariopsis*; 36 different moulds, classified in 17 genera, have been incriminated.

Aspergillus hyphae are typically hyaline, septate and dichotomously branched at acute angles. However, it is important to note that a number of pathogenic moulds (agents of hyalohyphomycosis) will be virtually identical in appearance to *Aspergillus* species by histopathology. In conclusion, culture of the infected tissue remains the gold standard for diagnosis of saprophytic moulds from the respiratory tract.

Conflict of interest We have no conflict of interest.

Ethical Standard The study was approved by the Ethics Committee of the Hospital (64705/2012), and the patient gave written consent to publication.

References

1. Martin TJ, Smith TL, Smith MM, Loehrl TA. Evaluation and surgical management of isolated sphenoid sinus disease. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg.* 2002;128:1413–9.
2. They A, Espitalier F, Cassagnau E, Durand N, Malard O. Clinical features and outcome of sphenoid sinus aspergillosis: a retrospective series of 15 cases. *Eur Ann Otorhinolaryngol Head Neck Dis.* 2012;129:179–84.
3. Bowaman J, Panizza B, Gandhi M. Sphenoid sinus fungal balls. *Ann Otol Rhinol Laryngol.* 2007;116:514–9.
4. Grosjean P, Weber R. Fungus balls of the paranasal sinuses: a review. *Eur Arch Otorhinolaryngol.* 2007;264:461–70.
5. Ferreiro JA, Carlson BA, Cody DT III. Paranasal sinus fungus balls. *Head Neck.* 1997;19:481–6.
6. Pagella F, Pusateri A, Matti E, Giourgos G, Cavanna C, De Bernardi F, Bignami M, Castelnuovo P. Sphenoid sinus fungus ball: our experience. *Am J Rhinol Allergy.* 2011;25:276–80.
7. Won HR, Park JH, Kim KS. Simultaneous actinomycosis with aspergillosis in maxillary sinus. *Br J Oral Maxillofac Surg.* 2013;51:e51–3.
8. Shah AA, Hazen KC. Diagnosis accuracy of histopathologic and cytopathologic examination of *Aspergillus* species. *Am J Clin Pathol.* 2013;139:55–61.
9. Ajello L. Hyalohyphomycosis and phaeohyphomycosis: two global disease entities of public health importance. *Eur J Epidemiol.* 1986;2:243–51.

6.2 Artigo 2

“Aspergillosis of the nose and paranasal sinuses: a review of 54 cases”

Artigo publicado, em 2015, na Revista de Patologia Tropical, volume 44 (1), páginas 13 a 19, período jan-mar - doi:10.5216/rpt.v44i1.34819

**ASPERGILLOSIS OF THE NOSE
AND PARANASAL SINUSES: A REVIEW OF 54 CASES**

Isabel Cristina Espíndola Cardoso(1), Flávio de Mattos Oliveira(2), Cecília Bittencourt Severo(2 e 3), Mariana Lunardi Spader(4), Elizabeth Araújo(5), Bruno Hochhegger(6), Klaus Loureiro Irion(7) and Luiz Carlos Severo(2)

1. Programa de Pós-Graduação em Ciências Pneumológicas, Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Brasil.
2. Laboratório de Micologia, Hospital Santa Rita, Irmandade Santa Casa de Misericórdia (ISCMPA), Porto Alegre, RS, Brasil.
3. Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre (UFCSPA).
4. Bolsista de Iniciação Científica PIBIC-FAPERGS-UFRGS
5. Coordenadora do Núcleo de Otorrinolaringologia do Hospital Moinhos de Vento, Porto Alegre, RS, Brasil.
6. Serviço de Radiologia, ISCMPA, RS, Brasil.
7. Department of Tropical Medicine, Liverpool Heart and Chest Hospital, Liverpool University, United Kingdom.

Adress for letters: Dr. Luiz Carlos Severo, Laboratório de Micologia, Hospital Santa Rita, Irmandade Santa Casa de Misericórdia Porto Alegre, Annes Dias 285, 90020-090 Porto Alegre, RS, Brasil. E-mail: severo@santacasa.tche.br; severo@pesquisador.cnpq.br

Received for publication: 27/1/2015. Reviewed: 11/3/2015. Accepted: 19/3/2015.

ABSTRACT**Aspergillosis of the nose and paranasal sinuses: a review of 54 cases**

Aspergillus species are considered opportunistic fungi of increasing clinical importance. Information regarding extrapulmonary involvement is scarce. The aim of this study was to isolate the different species of *Aspergillus* from patients with rhinosinusitis. A retrospective study was conducted in a university hospital in Porto Alegre, Brazil (1986–2014). For mycological diagnoses, paranasal tissue obtained at surgery was subjected to histopathology examination and sent for fungal cultures. Of the 54 samples analyzed, 32 were diagnosed positive by culture. The underlying causes of immunodeficiency were: six with transplantation (three bone marrow, two lung, one kidney) and two with hematological disease (one bone marrow neoplasia and two leukemia). In the present study, the clinical manifestations of rhinosinusitis aspergillosis were: 20 allergic reactions, 20 fungus balls, and 14 acute invasive cases. The species isolated from the 54 samples were: *Aspergillus fumigatus* (n=14); *A. flavus* (n=6); *A. niger* (n=2); *A. terreus* (n=1); *A. fischeri* (n=1); and *Aspergillus* sp., (n=3). Two concomitant species of *Aspergillus* were observed in two patients: *A. fumigatus* and *A. flavus*; and *A. fumigatus* and *A. niger*. In four patients, *Aspergillus* was associated with other fungi. These were: *A. flavus* and *Fusarium*, *A. fumigatus* and *Rhizopus*, *A. flavus* and *Mucorales*, and *Aspergillus* sp. and *Mucorales*. The most common species of *Aspergillus* that were responsible for paranasal sinus infections were *A. fumigatus*, *A. flavus*, and *A. niger*.

KEY WORDS: Paranasal sinuses; *Aspergillus*; Mycology; Aspergillosis.

RESUMO

Aspergilose nasal e dos seios paranasais: revisão de 54 casos

Espécies de *Aspergillus* são considerados fungos oportunistas de crescente importância clínica. Informações sobre o envolvimento extrapulmonar é escassa. O objetivo deste estudo foi isolar as diferentes espécies de *Aspergillus* em pacientes com rinosinusite. Um estudo retrospectivo foi realizado em um hospital universitário em Porto Alegre, Brasil (1986-2014). Para diagnóstico micológico, tecido paranasais obtido no momento da cirurgia foi submetido a exame histopatológico e encaminhados para cultivos de fungos. Das 54 amostras analisadas, 32 foram diagnosticados pelo cultivo positivo. As causas subjacentes da imunodeficiência foram: seis com transplante (medula óssea, três, pulmão, dois; rim, um) e dois com doenças hematológicas (neoplasia osso estriado, um; leucemia, duas). No presente estudo, as manifestações clínicas de rinosinusite aspergilar foram: alérgica, 20; bolas fúngica, 20; e aguda invasiva, 14. As espécies fúngicas isoladas foram: *Aspergillus fumigatus*, 14; *A. flavus*, seis; *A. niger*, dois; *A. terreus*, um; *A. fischeri*, um; e *Aspergillus* sp., três. Duas espécies de *Aspergillus* concomitantes foram observadas em dois pacientes: *A. fumigatus* e *A. flavus*; e *A. fumigatus* e *A. niger*. Em quatro pacientes, *Aspergillus* foi associado com outros fungos: *A. flavus* e *Fusarium*, um; *A. fumigatus* e *Rhizopus*, um; *A. flavus* e *Mucorales*, um; e *Aspergillus* sp. e *Mucorales*, um. Os isolados mais comuns de *Aspergillus* que são responsáveis por infecções dos seios paranasais são *A. fumigatus*, *A. flavus* e *A. niger*.

DESCRITORES: Seios paranasais; *Aspergillus*; micologia; aspergilose.

INTRODUCTION

In aspergillosis, the most frequent site of human infection is the lung, although many other sites may be involved, including the paranasal sinuses.

There are four categories of paranasal sinus aspergillosis, classified based on the host's immune response to the fungus: chronic indolent sinusitis (invasive), fulminant sinusitis (invasive), fungal balls (noninvasive), and allergic sinusitis (noninvasive) (12).

Allergic *Aspergillus* sinusitis is analogous to allergic bronchopulmonary aspergillosis. The disease appears in patients with an atopic background, and nasal polyposis may be present (7). The diagnostic criteria include the presence of allergic mucin and fungal hyphae within a sinus. One of the characteristic pathological features of allergic fungal sinusitis is the presence of many Charcot-Leyden crystals. In localized noninvasive aspergillosis, there is an extra mucosal ball of tangled fungal mycelium (fungal balls), frequently (and inappropriately) referred to as mycetoma or aspergilloma, a dense conglomeration of fungal hyphae that form a mass within a sinus cavity without invading the surrounding host tissue. Invasive *Aspergillus* sinusitis is characterized by the spread of fungal mycelium from sinus air spaces into adjacent structures, with tissue necrosis, chronic inflammation, and fibrosis. Chronic invasive sinusitis is a slowly progressive syndrome that occurs in patients with relatively subtle defects in immunity (e.g., low-dose corticosteroid use and diabetes). Acute invasive sinusitis occurs in profoundly immunocompromised patients and is characterized by a rapidly destructive pansinusitis that spreads to contiguous structures (2, 3, 11, 12).

This paper reports 54 cases of aspergillosis of the nose and paranasal sinuses. We also describe the use of direct fluorescent antibody staining, immunodiffusion, and galactomannan (GM) serology tests for the diagnosis of these infections.

PATIENTS AND METHODS

We reviewed the medical records of patients who had been diagnosed with nasal and paranasal aspergillosis at the Santa Casa Hospital Complex of Porto Alegre, RS, Brazil. The study was carried out with the permission of the Medical Research Ethics Committee of Santa Casa (Protocol number 64705/12).

Over a 28-year period, 54 patients with confirmed aspergillosis of the nose and paranasal sinuses were evaluated. Clinical specimens were processed routinely by light microscopy and stained with hematoxylin and eosin (H&E). Special staining for organisms was also performed with calcofluor white and Gomori's methenamine-silver stain (GMS). Antibiotics were added to clinical specimens, aiming to reduce bacterial contamination, as is done in dermatology (10). The diagnosis was confirmed either histologically and/or by culture. Necrotic tissue was obtained by the Caldwell-Luc procedure or the endoscopic technique.

Patient ages ranged between 15 and 72 years old, with a mean of 46.8 years (32 females, 22 males). At presentation, all patients showed symptoms of chronic sinusitis refractory to medical management (multiple courses of antibiotics).

In addition to basic radiographs, serial computed tomography (CT) was obtained for 27 patients.

Immunodiffusion (Ouchterlony's method) in agar gel double diffusion was used for detection of antibodies against *Aspergillus fumigatus*, *A. flavus* and *A. niger* (Immy - Immuno Mycologics®, USA) and antigen was detected by direct detection of GM (galactomannan) non competitive double sandwich ELISA (Platelia, Bio-Rad, Marnes-la-Coquette, France).

RESULTS

In this series, nine patients were immunocompromised. The underlying causes of immunodeficiency were: six with transplantation (three bone marrow, two lung, one kidney) and three with hematological disease (one case of bone marrow neoplasia and two of leukemia).

In the present study, the clinical manifestations were: 20 allergic reactions, 20 fungal balls (Figure 1) and 14 acute invasive cases (Figures 2 and 3). All patients underwent basic sinus roentgenograms for the confirmation of diagnosis, and because this was a retrospective study over a 28-year period, only 27 of the 54 patients underwent sinus CT scan. The radiological findings demonstrated unilateral lesions in 38 cases; bilateral lesions were found in 16 cases, all of whom showed pansinus disease, and 26 patients demonstrated more than one sinus disease. CT scan findings showed high-attenuation areas coupled with surrounding soft tissue in 25 patients (Figure 1). Also, we found periosteal (bone) sclerosis in 26 patients. The maxillary sinus complex was

most frequently involved (92%), followed by the ethmoid (83%), frontal (71%) and sphenoid (67%) sinuses.

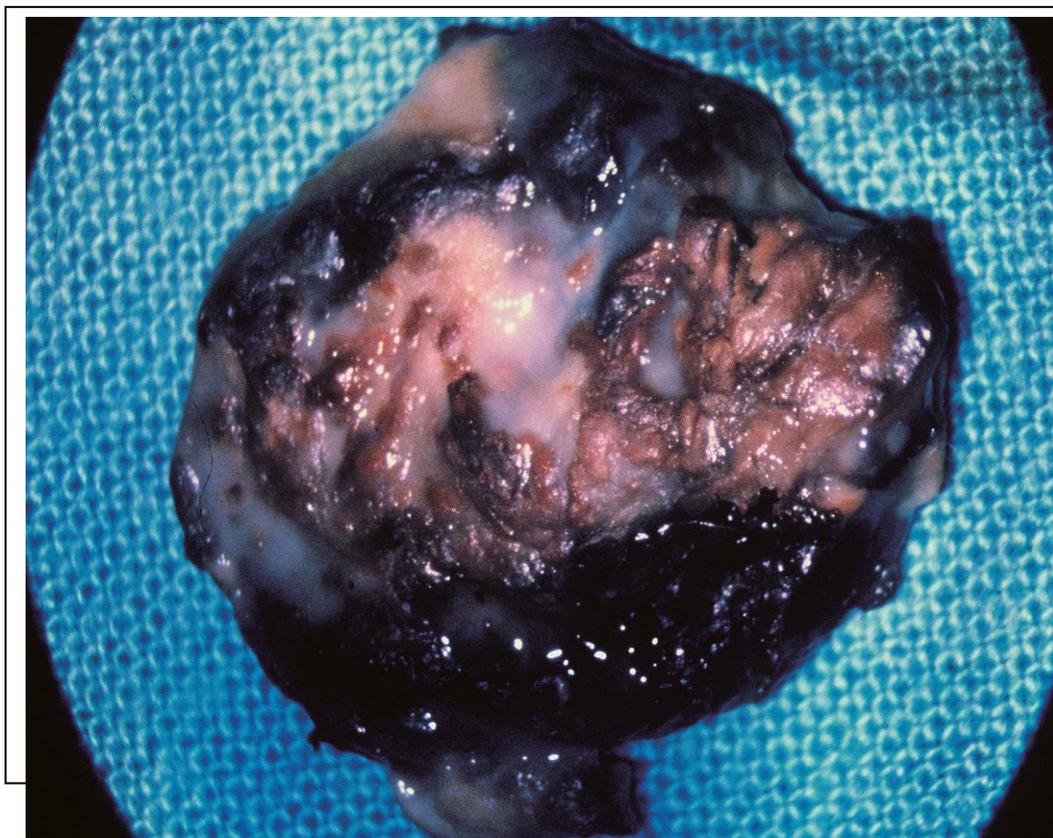


Figure 1. Image of an *A. niger* fungal ball.

In 32 cases, the diagnosis was made by direct examination and culture, and in 22 patients the diagnosis was made exclusively by histology with the visualization of the *Aspergillus* conidiophore. In one patient, the diagnosis was by direct fluorescent antibody staining (*Aspergillus* and *Mucor*, CDC 84 057261), as previously published (15). The species isolated in those 32 patients were: *A. fumigatus* (n=14); *A. flavus* (n=6); *A. niger* (n=2); *A. terreus* (n=1); *A. fischeri* (n=1); and *Aspergillus* sp. (n=3). Two concomitant species of *Aspergillus* were observed in two patients: *A. fumigatus* and *A. flavus*; and *A.*

fumigatus and *A. niger*. In four patients, *Aspergillus* was associated with other fungi: *A. flavus* and *Fusarium*; *A. fumigatus* and *Rhizopus*; *A. flavus* and *Mucorales*; and *Aspergillus* sp. and *Mucorales*. Three cases had been previously published: *A. niger* (14), *A. flavus* (16), and *Aspergillus* and *Mucorales* (15).

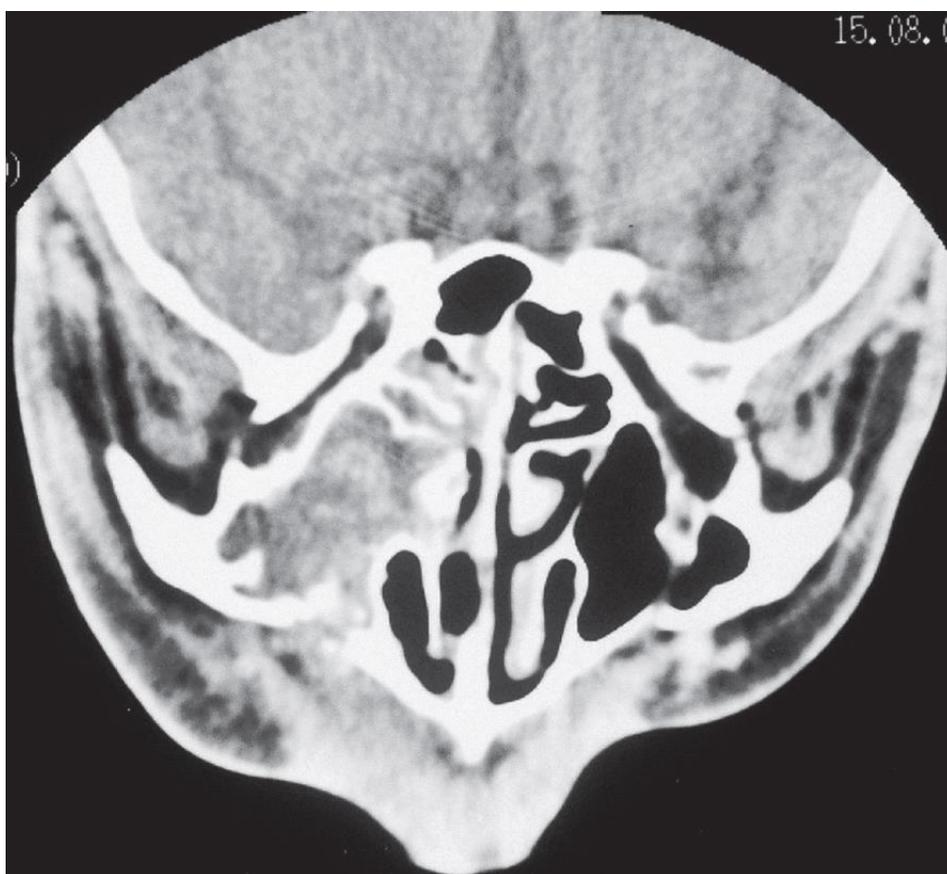


Figure 2. Invasive sinusitis - Axial contrast-enhanced CT images show complete opacification of the right nasal cavity, which is a common presentation for acute invasive fungal disease of the paranasal sinuses. Both left nasal cavity and right maxillary sinus contents have attenuation values higher than those of simple fluid. Also, CT scan demonstrated right nasal and anterior septal soft-tissue thickening and enhancement.

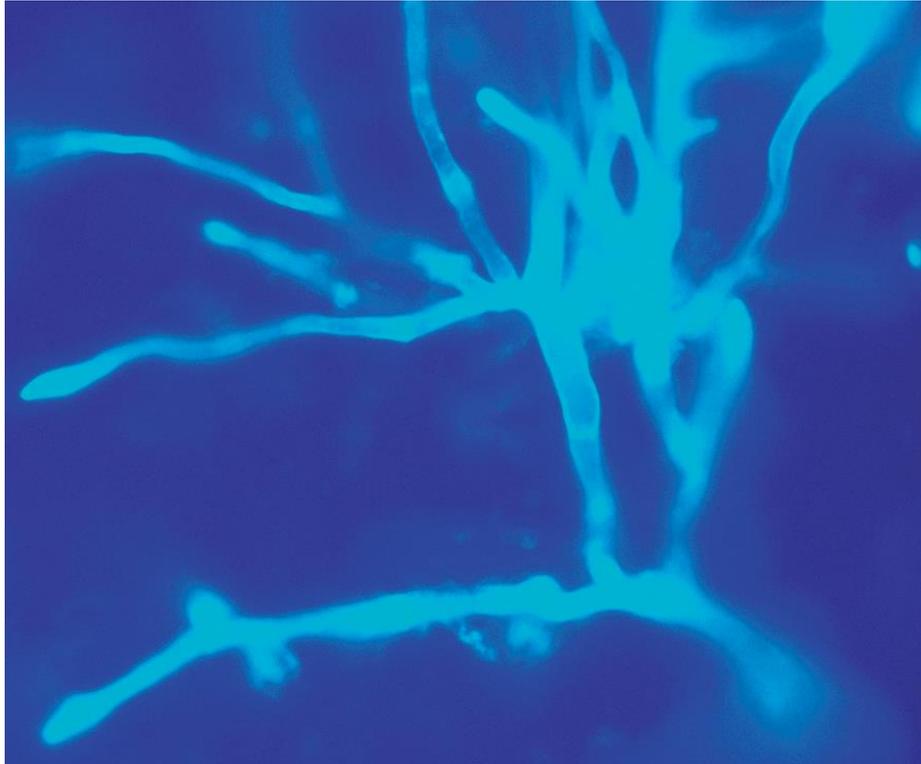


Figure 3. Invasive sinusitis - Microscopic examination of a sinus mucosa biopsy showing septate and dichotomous branching hyphae of *Aspergillus* (calcofluor white).

Immunodiffusion is helpful for the diagnosis of allergic bronchopulmonary aspergillosis and *Aspergillus* fungal balls in the lung. However, in the present cases immunodiffusion for all three species of *Aspergillus* (*A. fumigatus*, *A. flavus*, *A. niger*) was not positive in all five patients tested with paranasal aspergillosis. Conversely, GM, a component of fungal cell walls, is released during tissue invasion by *Aspergillus* hyphae and can be detected in body fluids; in the two cases where GM was performed, patients with invasive rhinosinusitis, serum GM was positive.

DISCUSSION

Fungal infection of the nose and paranasal sinuses is rare, although it has been reported more frequently in recent years.

The finding of sinusitis on sinus roentgenograms of one or more paranasal sinuses is among the diagnostic criteria for allergic *Aspergillus* rhinosinusitis (6). Haziness or clouding of the sinus is the most common feature. Frequently, more than one sinus is opacified, in contrast to the fungal ball manifestation, where most cases show only a single sinus affected. Bilateral involvement has been observed in up to 83% of cases reported (13), contrary to our series, which showed that the vast majority of cases presented unilateral infection of the maxillary sinus (38/54, 70.4%).

In the literature, other manifestations include mucosal thickening and various degrees of bony sclerosis and/or destruction. However, these findings are non-specific because they may also be seen in chronic and/or infective rhinosinusitis or malignancies of the paranasal sinuses.

Currently, CT has emerged as the imaging modality of choice. The characteristic feature of CT is the occurrence of heterogeneous densities, signifying opacification of the sinuses, with serpiginous areas of increased attenuation on non-contrast scans (9). These hyperdense areas are due to the presence of "allergic mucin." The presence of calcium and ferromagnetic elements (iron and manganese) produced by the fungi is said to be responsible for the densities.

In fungal infections of the nose and paranasal sinuses, *Aspergillus* and

Mucorales are the most commonly implicated fungal organisms (3,15). The species *A. fumigatus*, the most common isolate, belongs to a complex, which is in fact a section of a group complexes of cryptic species, with the same morphology but different genetic composition. Currently, diagnosis of fungal rhinosinusitis depends on histopathology and recovery of the fungal agent in culture, but, in one of our cases, only formalin-fixed tissue specimens were sent to the laboratory.

GM has played an important role in the non-culture-based diagnosis of invasive aspergillosis. Although GM testing has been widely used for confirmation of the indirect evidence of *Aspergillus* infection (1), experience with GM in patients with rhinosinusitis is limited (4, 5, 8). However, there have been few studies on the use of serum GM assay in patients with nose and paranasal rhinosinusitis. Thus, in the two cases where GM was performed, patients with invasive rhinosinusitis, serumy GM was positive. Chen et al. reported 64% sensitivity of serum GM antigen testing and 60% specificity for the detection of invasive *Aspergillus* rhinosinusitis (4).

CT is capable of precisely defining the extent of the disease process (Figure 2), information that is essential to therapeutic planning. The two cases of *A. flavus* invasive rhinosinusitis presented herein reinforce the importance of performing biopsies (Figure 3) and cultures to identify pathogens. In the present series, all patients were managed with the Caldwell-Luc surgical procedure and, most recently, with conservative endoscopic surgery.

Finally, in cases with negative cultures of paraffin-embedded tissue, the fluorescent antibody technique (15) and the PCR/RLB assay (17) detected mixed infection by *Aspergillus* and *Mucorales* in a single clinical specimen.

REFERENCES

1. Aquino VR, Goldani LZ, Pasqualotto AC. Update on the contribution of galactomannan for the diagnosis of invasive aspergillosis. *Mycopathologia* 163: 191-202, 2007.
2. Aribandi M, McCoy VA, Bazan 3rd C. Imaging features of invasive and noninvasive fungal sinusitis: a review. *Radiographics* 27: 1283-1296, 2007.
3. Carpentier JP, Ramamurthy L, Denning DW, Taylor PH. An algorithmic approach to aspergillus sinusitis. *J Laryngol Otol* 108: 314-318, 1994.
4. Chen CY, Sheng WH, Cheng A, et al. Invasive fungal sinusitis in patients with hematological malignancy: 15 years experience in a single university hospital in Taiwan. *BMC Infect Dis* 11: 250, 2011.
5. Chua JLL, Cullen JF. Fungal pan-sinusitis with severe visual loss in uncontrolled diabetes. *Ann Acad Med Singapore* 37: 964-967, 2008.
6. de Shazo RD, Swain RE. Diagnostic criteria for allergic fungal sinusitis. *J Allergy Clin Immunol* 96: 24-35, 1995.
7. Katzenstein ALA, Sale SR, Greenberger PA. Allergic *Aspergillus* sinusitis: a newly recognized form of sinusitis. *J Allergy Clin Immunol* 72: 89-93, 1983.
8. Kauffmann-Lacroix C, Goujon JM, Klossek JM. Detection of galactomannan for diagnosis of fungal rhinosinusitis. *J Clin Microbiol* 39: 4593-4594, 2001.
9. Mukherji SK, Figueroa RE, Ginsberg LE, Zeifer BA, Marple BF, Alley JG, Cooper LL, Nemzek WR, Yousem DM, Jones KR, Kupferberg SB, Castillo M. Allergic fungal sinusitis: CT findings. *Radiology* 207: 417-422, 1998.
10. Raubitschek F. Antibiotics and their action on pathogenic fungi. *J Invest Dermatol* 20: 401-403, 1953.
11. Richardson MD, Hope W. *Aspergillus*. In: Anaissie EJ, McGinnis MR, Pfaller MA. *Clinical mycology*. Churchill Livingstone, Elsevier, New York, 2009.
12. Ryan MW, Marple BF. *Aspergillus* sinusitis. In: Pasqualotto AC. *Aspergillosis: from diagnosis to prevention*. Springer, London, 2010.

13. Shah A, Panchal N, Agarwal AK. Concomitant allergic bronchopulmonary aspergillosis and allergic *Aspergillus* sinusitis: a review of an uncommon association. *Clin Exp Allergy* 31: 1896-1905, 2000.
14. Saffer M, Severo LC, Nunes MN. Aspergilose nasal com imagem radiológica de corpo estranho metálico. *Rev Bras Otorrinol* 52: 32-39, 1986.
15. Severo LC, Guindani C, Geyer GR. Chronic sinusitis caused by zygomycosis and aspergillosis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 8: 317-318, 1989.
16. Xavier MO, Oliveira FM, Almeida V, Prolla G, Severo LC. Invasive *Aspergillus flavus* sinusitis: case report in a patient with biphenotypic acute leukemia. *Rev Inst Med Trop S Paulo* 51: 57-58, 2009.
17. Zhao Z, Li L, Wan Z, Chen W, Liu H, Li R. Simultaneous detection and identification of *Aspergillus* and *Mucorales* species in tissues collected from patients with fungal rhinosinusitis. *J Clin Microbiol* 49: 1501-1507, 2011.

6.3 Artigo 3

“Non-*Aspergillus* fungal rhinosinusitis at a tertiary care hospital and the first report of human infection by *Trichoderma asperellum*”

Artigo publicado, em 2015, na Revista de Patologia Tropical volume 44 (4), páginas 395 a 408, período out-dez - doi: 10.5216/rpt.v44i4.39232

NON-*Aspergillus* FUNGAL RHINOSINUSITIS AT A TERTIARY CARE HOSPITAL AND THE FIRST REPORT OF HUMAN INFECTION BY *Trichoderma asperellum*

Isabel Cristina Espíndola Cardoso(1), Cecília Bittencourt Severo(2,3), Flávio de Mattos Oliveira(2), Elizabeth Araújo(4), Bruno Hochhegger(5), Klaus Loureiro Irion(6) and Luiz Carlos Severo(7)

-
1. Programa de Pós-Graduação em Ciências Pneumológicas, Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Brazil.
 2. Laboratório de Micologia, Hospital Santa Rita, Irmandade Santa Casa de Misericórdia Porto Alegre (ISCOMPA), RS, Brazil.
 3. Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre (UFCSPA), Porto Alegre, Brazil.
 4. Núcleo de Otorrinolaringologia do Hospital Moinhos de Vento, Porto Alegre, Brazil.
 5. Serviço de Radiologia, ISCOMPA, RS, Brazil.
 6. Department of Tropical Medicine, Liverpool Heart and Chest Hospital, Liverpool University, United Kingdom.
 7. Departamento de Ciências Pneumológicas, UFRGS, Porto Alegre, Brazil.

Adress for letters: Dr. Luiz Carlos Severo, Laboratório de Micologia, Hospital Santa Rita, Irmandade Santa Casa de Misericórdia, Annes Dias 285, CEP 90020-090 Porto Alegre, RS, Brazil. E-mail: severo@santacasa.tche.br; severo@pesquisador.cnpq.br

Received for publication: 17/7/2015. Accepted: 22/11/2015.

ABSTRACT

We describe 27 cases of fungal rhinosinusitis, which were caused by agents other than *Aspergillus*, diagnosed at our institution during a 24-year period. Particular focus was on defining the causal fungi and the predisposing factors. Fungal cultures were obtained from 20 cases and there was no growth in seven cases. Classification of mycotic disease of the nose and paranasal sinuses as invasive and noninvasive is based on clinical, radiological, and histopathological factors. The most common pathogens were *Histoplasma capsulatum* (n=4), *Scedosporium apiospermum* (n=2), *Alternaria alternata* (n=2), *Schizophyllum commune* (n=2), *Pseudallescheria boydii* (n=1), *Penicillium* sp. (n=1), *Lichtheimia (Absidia) corymbifera* (n=1), *Xylaria enteroleuca* (n=1), *Trichoderma asperellum* (n=1), *T. harzianum* (n=1), *T. viride* (n=1), *Fusarium solani* (n=1), *Cladosporium* sp. (n=1), and *Cryptococcus neoformans* (n=1). From the ones that revealed no growth, four were classified as hyalohyphomycosis and three were mucormycosis by the histopathological findings. In addition, we describe the first well-documented case of rhinosinusitis and human infection by *T. asperellum*.

KEY WORDS: Sinus; sinusitis; non-*Aspergillus* rhinosinusitis; *Trichoderma asperellum*.

RESUMO

Rinossinusite fúngica não aspergilar em um hospital terciário e relato do primeiro caso de infecção humana por *Trichoderma asperellum*

Descrevemos 27 casos de rinossinusite fúngica causada por agentes não aspergiliares diagnosticados em nossa instituição durante um período de 24 anos. O foco do estudo foi o agente causal e fatores predisponentes. Em 20 casos foi isolado o agente fúngico e, em 7, não houve crescimento. A rinossinusite foi classificada em invasiva e não invasiva com base em avaliação clínica, radiológica e histopatológica. Os agentes patogênicos mais comuns foram *Histoplasma capsulatum* (n = 4), *Scedosporium apiospermum* (n = 2), *Alternaria alternata* (n = 2), *Schizophyllum commune* (n = 2), *Pseudallescheria boydii* (n = 1), *Penicillium* sp. (n=1), *Lichtheimia (Absidia) corymbifera* (n = 1), *Xylaria enteroleuca* (n = 1), *Trichoderma asperellum* (n = 1), *T. harzianum* (n = 1), *T. viride* (n = 1), *Fusarium solani* (n = 1), *Cladosporium* sp. (n = 1) e *Cryptococcus neoformans* (n = 1). Os casos em que não ocorreu crescimento foram classificados, com base nos achados histopatológicos, como hialohifomicose (n = 4) e mucormicose (n = 3). Além disso, descrevemos o primeiro caso de rinossinusite humana pelo *T. asperellum*.

DESCRITORES: Seio nasal; sinusite; rinosinusite não *Aspergillus*; *Trichoderma asperellum*.

INTRODUCTION

Fungal infections of the paranasal sinuses may occur in immunocompetent and immunocompromised individuals. In immunocompetent individuals, disease is usually a localized infection of the paranasal sinuses without bone and soft-tissue invasion. However, in immunocompromised individuals, disease usually results in disseminated fungal infection and may cause bone erosion.

Three types of non-*Aspergillus* fungal infections may affect the paranasal sinuses: (I) allergic fungal rhinosinusitis, (II) invasive fungal rhinosinusitis (acute and chronic forms), and (III) fungus ball (5, 6).

Acute invasive fungal rhinosinusitis is a rapidly progressive disease occurring in patients with poorly controlled diabetes (mucormycosis) or immunosuppressed patients (e.g., histoplasmosis and cryptococcosis). In patients with noninvasive mycelial diseases of the paranasal sinuses, there are two clinical forms of rhinosinusitis: fungus ball and allergic fungal rhinosinusitis (AFS). There is no fungal invasion in the local soft tissue or bone in either of these two forms (7). They are typically caused by *Aspergillus* or *Scedosporium apiospermum/Pseudallescheria boydii*, although a number of additional fungal species are responsible for sporadic cases (e.g., pigmented and hyaline molds). We adopted nomenclature based on the genus of the fungus involved, dividing the fungal rhinosinusitis in two groups: hyalohyphomycosis and phaeohyphomycosis (1). The groups are distinguished by the presence of septate hyphal filaments without (hyalohyphomycosis) or (phaeohyphomycosis)

with pigmented hyphae due to the presence of melanina in the inner aspect of the fungal cell wall and sometimes in the host tissues.

We describe a cohort of 27 fungal rhinosinusitis cases caused by fungi other than *Aspergillus*, which have been diagnosed at our institution during a 24-year period, with a particular emphasis on their etiologic agent and the predisposing factors. Furthermore, in this series, we report the first case of rhinosinusitis and human infection by *Trichoderma asperellum*.

MATERIALS AND METHODS

This study is a retrospective analysis of 27 patients with fungal rhinosinusitis at the Mycology Laboratory of Santa Casa, Porto Alegre, RS, from 1989 to 2013. The study was conducted with the permission of the Medical Research Ethics Committee of Santa Casa (Protocol number 64705/12). The inclusion criteria for this study were as follows: positive nasal sinus cultures and/or biopsy specimens demonstrating fungal hyphae.

Clinical presentation

Criteria for the diagnosis of the type of fungal rhinosinusitis:

Allergic fungal rhinosinusitis (AFS): Presence of allergic mucin of the nasal cavity with eosinophils, Charcot-Leyden crystals, fungal elements, and absence of fungal invasion of tissue.

Invasive fungal rhinosinusitis (IFS): Histopathological evidence of hyphal forms within the sinus and invasion of mucosa and submucosa.

Fungus ball: Radiological studies demonstrating sinus opacification and tissue section demonstrating agglomeration of hyphae and absence of fungal invasion of mucosa.

Materials: A portion of the paranasal tissue obtained at surgery (Caldwell-Luc or endoscopic) was placed in 10% formalin for histopathological examination. The remaining portion of the specimen was sent to the Mycology Laboratory for fungal culture.

Methods: A portion of the biopsy tissue was mounted in 10% KOH for direct microscopic examination. The remaining tissue was inoculated on Sabouraud's dextrose agar with chloramphenicol and Mycosel agar and incubated at 25°C and 37°C, respectively. Histological examination of the specimens was done using hematoxylin and eosin (H&E), Gomori methenamine silver (GMS), and Fontana-Masson stains.

RESULTS

A total of 27 cases of non-*Aspergillus* fungal rhinosinusitis were studied. These are summarized in Table 1, listed by species in order of decreasing frequency of isolation. A total of 14 (51.9%) of the 27 cases were women, and 13 cases (48.2%) were men. The mean age of the patients was 45.3 years (range: 6-76 years).

Conventional sinus radiographs demonstrated significant opacification of the involved sinuses in 15 patients. Computed tomography (CT) scans of the

sinuses of 20 patients were reviewed. The imaging studies of the other two cases were not retrievable.

Table 1. Organism causing non-Aspergillus paranasal sinusitis in 27 patients

Disease manifestation	Fungus	No. of patients (%)
Invasive		
	<i>Histoplasma capsulatum</i>	4 (14.8)
	<i>Mucorales</i>	3 (11.1)
	<i>Cryptococcus neoformans</i>	1 (3.7)
	<i>Lichtheimia corymbifera</i>	1 (3.7)
Fungus ball		
	<i>Pseudallescheria boydii</i>	1 (3.7)
Allergic sinusitis with unusual fungi		
Hyalohyphomycosis		
	Unidentified fungal species	4 (14.8)
	<i>Schizophyllum commune</i>	2 (7.4)
	<i>Xylaria enteroleuca</i>	1 (3.7)
	<i>Trichoderma asperellum</i>	1 (3.7)
	<i>T. harzianum</i>	1 (3.7)
	<i>T. viride</i>	1 (3.7)
	<i>Fusarium solani</i>	1 (3.7)
	<i>Penicillium</i> sp	1 (3.7)
Scedosporiosis	<i>Scedosporium apiospermum</i>	2 (7.4)
Phaeohyphomycosis		
	<i>Alternaria alternata</i>	2 (7.4)
	<i>Cladosporium</i> sp	1 (3.7)

Of the 27 patients, nine were found to have evidence of invasive disease, one presented fungus ball due to *P. boydii* (Figures 1 and 2), and the remaining patients were found to have evidence of AFS. The primary symptoms, predisposing diseases, and associated risk factors, such as other information relating to the 27 cases, are detailed in Table 2.

Microbiology: Fungi recovered from biopsy material included *Histoplasma capsulatum* (n=4), *S. apiospermum* (n=2), *Alternaria alternata* (n=2), *Schizophyllum commune* (n=2) (Figures 3 and 4), *P. boydii* (n=1), *Penicillium* sp. (n=1), *Lichtheimia corymbifera* (n=1), *Xylaria enteroleuca* (n=1), *T. asperellum* (n=1), *T. harzianum* (n=1), *T. viride* (n=1), *Fusarium solani* (n=1), *Cryptococcus neoformans* (n=1), and *Cladosporium* sp. (n=1). Secondary bacterial colonization and/or lack of viable fungus was accompanied by negative cultures in seven cases (Fontana-Masson stain ranked four of these cases as hyalohyphomycosis, and the other three were classified as mucormycosis by direct examination).

Table 2: Overview of 27 cases of fungal rhinosinusitis and associated fungal etiology

Case	Age Sex	Material	Direct	Culture	Main Symptoms	Predisposing conditions/associated	Examinations Image	Treatment
1	25 /F	Secretion maxillary sinuses	Septate hyaline hyphae branched	<i>Schizophyllum commune</i>	Headache, nasal obstruction	Corticosteroid therapy, chronic sinusitis, sinonasal polyps	NI	NI
2	74 /F	Secretion maxillary sinuses	Septate hyaline hyphae branched	<i>Fusarium solani</i>	Nasal congestion, facial pain, headache, fever	SLE, COPD, immunosuppression (methylprednisone), pancytopenia, corticosteroid	X-ray/TC: paranasal sinuses: complete opacification left maxillary sinus, metallic density image.	Fluconazole Voriconazole
3	50 /M	Right maxillary sinus secretion	Fragment of septate hyphae in fungal ball arrangement	<i>Penicillium</i> sp.	Productive cough with purulent sputum	Bronchial asthma, chronic allergic rhinitis (8 years), corticoid	X-ray paranasal sinuses: complete opacification of the right maxillary sinus, metallic image	Ketoconazole
4	44 /F	Secretion ethmoid and sphenoid sinuses	Presence of septate hyaline hyphae	<i>Trichoderma asperellum</i>	Postnasal flashing green and purulent nasal congestion, rhinorrhea	Asthma, chronic allergic rhinitis, sinonasal polyps	CT sinuses: opacification of the left ethmoid and sphenoid sinuses with erosion of bony walls. Soft mass involving the left nasal cavity with obliteration of the left middle meatus.	Polypectomy Ethmoidectomy Sphenoidectomy
5	06 /M	Secretion sinuses	Non-septate broad hyphae 90° angle (mucormycosis)	<i>Lichtheimia corymbifera</i>	Fever, fatigue, epistaxis, nasal obstruction (death)	Bone marrow aplasia	X-ray: opacity of the maxillary sinus and ethmoid cells	Amphotericin B
* 6	25 /M	Fragment nasal septum	Non-septate broad hyphae 90° angle compatible with mucormycosis	Negative	Fever, nasal congestion, facial pain, seborrheic dermatitis on the face	Diabetes mellitus, HIV, alcoholic, smoking, right eye enucleation	CT: Right retro-orbital lesion with bone invasion, ipsilateral ethmoid-frontal inflammatory process, expansive process intraorbital right medial to the eyeball	Amphotericin B
* 7	62 /F	Bone fistula face	Non-septate broad hyphae 90° angle compatible with mucormycosis	Negative	Epistaxis, bradypsychism, incoordination, dislalia, impaired gait deviation to the right labial commissure, alcoholic, embolic occlusion of the ophthalmic artery	Diabetes mellitus, hepatitis, HIV	NI	NI

8	38 / F	Maxillary sinus secretion	Hyphae septate fungal ball in arrangement	<i>Alternaria alternata</i>	Hyperthermia, bilateral nasal obstruction, purulent rhinorrhea bilateral	Lung transplant	X-ray paranasal sinuses: bilateral thickening greater than 6mm	NI
9	57 / F	Maxillary sinus secretion	Septate hyaline hyphae arrangement fungal ball (hyalohyphomycosis)	Negative	Productive cough, nasal obstruction, purulent rhinorrhea for 6 months, mitral valve prolapse	Lung transplant	X-ray/CT: paranasal sinuses: complete opacification of the right maxillary sinus, metallic density image.	NI
10	32 / M	Maxillary sinus secretion	Septate hyaline hyphae arrangement in fungal ball (hyalohyphomycosis)	Negative	Productive cough, nasal obstruction, purulent rhinorrhea	User drug (cocaine)	X-ray/CT paranasal sinuses: complete opacification of the right maxillary sinus, metallic density image; thickness greater than 6mm left maxillary sinus	NI
11	50 / F	Maxillary sinus secretion	Septate hyaline hyphae branched arrangement in fungal ball (hyalohyphomycosis)	Negative	Productive cough, nasal obstruction	Pneumonia (two months), chronic antibiotic therapy	X-ray/CT sinuses, sinus opacification of the left maxillary, metallic density image; metallic image, cells left ethmoid opacification	NI
12	74 / M	Right secretion frontal sinus	Septate hyaline hyphae branched, presence of crystals of calcium oxalate	<i>Cladosporium</i> sp.	Nasal congestion, facial pain, headache	Diabetes mellitus, chronic steroid therapy and antibiotics, former smoker	X-ray/CT breasts face: right maxillary sinus opacification opacified, with right lateral frontal sinus anterior wall erosion, ethmoid mucocoele frontal maxillary and ethmoid labyrinth with thickened mucosa	Ethmoid sinusectomy
13	49 / M	Maxillary sinus secretion	Septate hyaline hyphae arrangement fungal ball (hyalohyphomycosis)	Negative	Cough productive recurrent chronic, nasal obstruction, postnasal drip	Pneumonia (6 months)	X-ray/CT paranasal sinuses: complete opacification of the right maxillary sinus, metallic image.	NI
14	14 / 10 67 F	Left maxillary sinus secretion	Septate hyaline hyphae branched (hyalohyphomycosis)	<i>Scedosporium apiospermum</i>	Nasal congestion, facial pain, headache, cough with yellow sputum	Pneumonia repetition (2 to 3x year), corticosteroids fungal sinusitis (surgery / 03)	CT sinuses: "bullous" middle turbinates, obstruction of the ostium of the left maxillary sinus with mucous secretion, calcified granules.	Itraconazole Sinusotomy ethmoid and maxillary

15	38 / M	Secretion maxillary sinuses	Negative	<i>T. viride</i>	Headache, facial edema, purulent productive cough, facial pain (death)	Kaposi's sarcoma, HIV, CMV, pansinusitis	X-ray/CT paranasal sinuses: mucosal thickening of the maxillary, right with nearly complete opacification and breasts. Reduced transparency of the right frontal sinus and bilateral ethmoid, retention without bone invasion	Itraconazole Amphotericin B
16	29 / F	Fragment nasal mucosa	Non-septate broad hyphae 90° angle compatible with mucormycosis	Negative	Necrotic lesion on the nose (mucormycosis), respiratory dysfunction, fever, facial pain, nasal congestion (death)	Myelodysplasia, severe sepsis, pancytopenia, immunosuppression, antibiotic therapy	X-ray/CT paranasal sinuses: complete opacification, metallic image.	Micafungin
17	76 / M	Left sphenoid sinus secretion	Septate hyaline hyphae branched	<i>S. apiospermum</i>	Chronic headache, nasal congestion, facial pain	Septum deviation	X-ray/CT paranasal sinuses: complete opacification of the left maxillary sinus, metallic image.	Septoplasty sinusectomy ethmoid / sphenoid
18	54 / M	Mucosa nasal septum	Negative	<i>A. alternata</i>	Nasal congestion, facial pain, headache	Apical periodontitis, chronic rhinitis	X-ray paranasal sinuses: left maxillary sinus opacification, metallic image	Sinusectomy maxillary
19	29 / M	Shaved nasal lesion	Small oval yeast cells compatible with <i>Histoplasma capsulatum</i>	Negative	Nasal obstruction, nasal congestion, facial pain, cough, rhinorrhea fetid purulent nasal septum lesion, chronic headache	Sarcoidosis, tuberculosis (antibiotic treatment 6 months), smoking	CT sinuses: tortuosity of the nasal septum to the left, especially the right, by bulging soft tissue partial obstruction of the nasal passages. Normally pneumatized frontal sinuses. Possible opacification of the ethmoid cells.	Ketoconazole Septoplasty
20	31 / F	Nasal secretion	Small oval yeast cells compatible with <i>H. capsulatum</i>	<i>H. capsulatum</i> (Isolator)	Nasal obstruction, nasal discharge, facial pain, nasal congestion, headache, fever	Rhinoplasty, HIV	CT paranasal sinus: thickened and opaque mucosa, inflammatory sinus disease	Amphotericin B
21	42 / M	Fragment nasal septum	Small oval yeast cells compatible with <i>H. capsulatum</i>	Negative	Nasal obstruction (6 years), rhinorrhea, headache, nasal septum lesion	COPD, smoking, valvulopathy mitral	CT sinuses, thickened mucous, opacification, metallic image	Itraconazole

22	40 / F	Fragment lesion right maxillary sinus	Negative	<i>H. capsulatum</i>	Nasal congestion, purulent discharge, facial pain, headaches, mass maxillary region	HIV, nasal polyps, pansinusitis, cervical lymphadenopathy, neurosyphilis	CT sinuses: ostiomeatal units occluded with nasal septum in normal position. Maxillary sinuses, frontal, sphenoid and ethmoid labyrinth c / thickened and opaque mucosa, sinusitis	Itraconazole Amphotericin B
23	44 / F	Sphenoid sinus secretion	Missshapen hyphae branched septate with large numbers of crystals	<i>T. harzianum</i>	Left nasal obstruction and postnasal discharge, eliminating green discharge with dark lumps, decrease of smell, headache	Altered glucose curve, sulfia allergy, chronic rhinitis, bronchial hyperreactivity, polyposis nasosinusal	CT sinuses: maxillary opacification, ethmoid and sphenoid left with areas of attenuation in the sphenoid sinus and left ethmoid cells. Areas of demineralization of bone ethmoid and sphenoid walls of the cavities.	NI
24	41 / F	Secretion maxillary sinus and sphenoid	Hyphae septate and branched large number of Charcot-Leyden crystals	<i>S. commune</i>	Nasal congestion, headache, nasal obstruction, rhinorrhea hyaline	Allergic rhinitis, nasal polyposis	CT sinuses, mucosal thickening, sinus opacification jaws, metallic image	Ethmoid and sphenoid sinusectomy
25	42 / F	Maxillary sinus secretion	Septate hyaline hyphae branched	<i>Xylaria enteroleuca</i>	Nasal congestion, productive cough with dark sputum, facial pain, pulmonary secretions, fever	Lung transplantation, immunosuppression, renal insufficiency	CT sinuses: secretion in the sinuses, liquid level sphenoid sinuses, ethmoid partially crossed. There is no inner calcification or bone thickening	Fluconazole, amphotericin B sinusectomy maxillary
**26	66 / M	Maxillary sinus secretion	Tangle of branching septate hyphae and many anelloconidia suggestive of fungal ball <i>S. aptospermum</i>	<i>Pseudallescheria boydii</i>	Cough chronic (8 years) productive purulent, nasal congestion, facial pain, recurrent respiratory infection	Corticosteroid therapy, antibiotic therapy, chronic rhinitis, septum deviation	CT paranasal sinus: inflammatory changes of the maxillary, ethmoid and sphenoid sinuses left, post-inflammatory hyperplasia remaining paranasal sinuses, bilateral rhinitis	Septoplasty Sinusectomy maxillary
27	36 / M	Secretion maxillary sinuses	Encapsulated yeast fungal elements	<i>Cryptococcus neoformans</i>	Productive cough, chest pain, headache, facial pain, lesions in the nasal vestibule	HIV, Hepatitis A, CMV	X-Ray: no abnormalities	Fluconazole, Amphotericin B

CMV: cytomegalovirus; COPD: chronic obstructive pulmonary disease; F: female; HIV: human immunodeficiency virus M: male; NI: No information; SLE: systemic lupus erythematosus; CT: computerized tomography; * Cases previously reported (16); ** Cases previously reported (17).

Case report of a new causative agent of AFS: A 44-year-old woman with a history of asthma, chronic rhinosinusitis, and allergic rhinitis since childhood was admitted to our hospital. For approximately 10 years before admission, the patient presented intermittent green, purulent post-nasal discharge and nasal congestion. She was treated, without success, with several antibiotics, vaccines, and homeopathy. Family history revealed a brother with allergic rhinitis. Axial and coronal CT scan without contrast medium showed opacification of the entire sphenoid and left ethmoid sinuses, with erosion of the bony walls (Figure 5). Soft tissue mass involving the left nasal fossa, with obliteration of the osteomeatal complex and opacification of the left maxillary sinus, was observed. Nasal endoscopy revealed polypous swelling of the mucosa in the left middle meatus. Endoscopic polypectomy, ethmoidectomy, and sphenoidectomy were performed (Figure 6). Histopathological study of tissues stained with H&E revealed edematous respiratory mucosa containing chronic inflammatory infiltrate with submucosal eosinophilia in the ethmoidal and sphenoidal sinuses. There was no evidence of fungal invasion in the sections stained with GMS. Stained sections (H&E) of inspissated mucus recovered from both sinuses revealed eosinophils and Charcot-Leyden crystals. Scattered fungal hyphae (dichotomous branching with septation) were identified by GMS staining in the mucin. Fungal culture on Sabouraud's dextrose agar (at 25°C) produced a white colony that became green. The fungal mold was identified in microslide culture on potato agar as *Trichoderma*.

The isolated sample was sent to the Fungus Testing Laboratory, Department of Pathology, University of Texas Health Science Center at San

Antonio, Texas, for confirmation. The *Trichoderma* was identified as *T. asperellum* (UTHSC #: R-3055).



Figure 1. CT scan of the head of a patient with *P. boydii* fungus ball demonstrating opacified left maxillary sinus and clear right maxillary sinus.

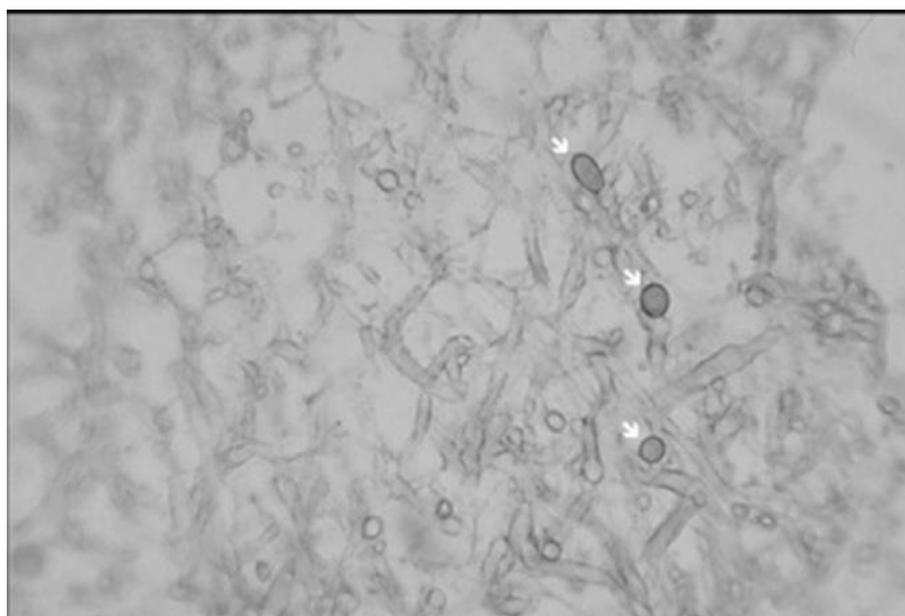


Figure 2. Tissue section of a fungus ball taken through an endoscope, showing profuse growth of septate, branched hyphae and three pyriform annelloconidia (arrows) of *P. boydii* (H&E, x400).



Figure 3. *S. commune* rhinosinusitis. CT scan showing soft tissue mass in ethmoid and sphenoid cavities.



Figure 4. CT scan of the patient in Figure 3 after endoscopic treatments. Notice that the cavities were normal.



Figure 5. Axial view on CT scan in patient with *T. asperellum* rhinosinusitis showing soft tissue material in the sphenoid and ethmoid cavities.

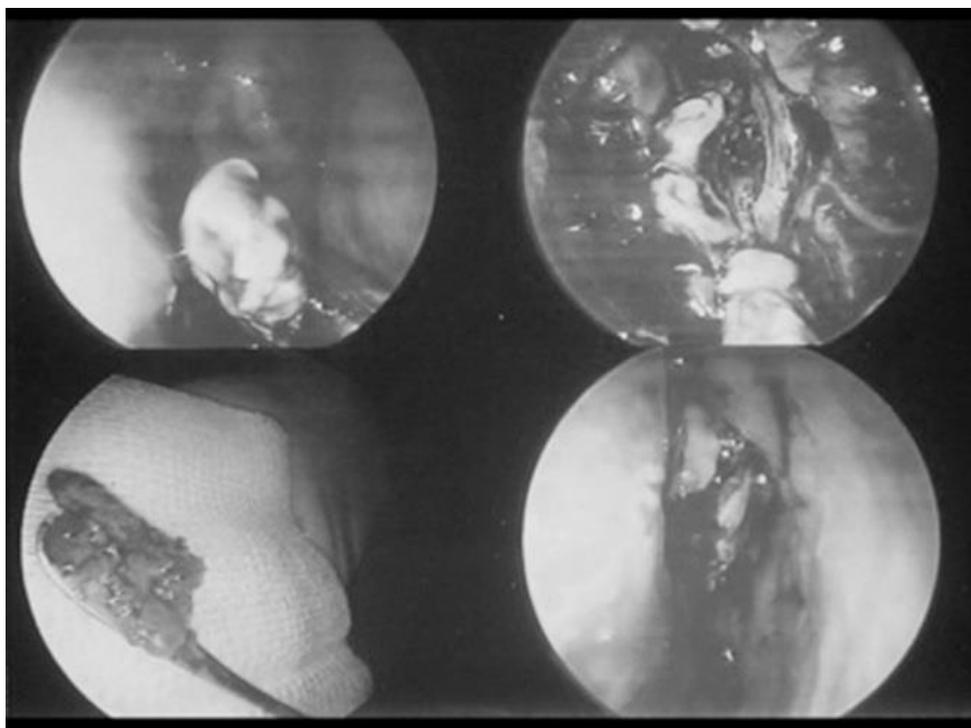


Figure 6. *T. asperellum* rhinosinusitis middle meatal antrostomy and sphenoidotomy shows a yellow-brown material that was allergic mucus.

DISCUSSION

Fungal infection of the paranasal sinuses is an uncommon disease, although it has been reported more frequently in recent years. *Aspergillus* and *Mucor* are the most commonly implicated fungal organisms in invasive rhinosinusitis. Nevertheless, numerous fungi may colonize the paranasal sinuses, and it is not surprising that many of them can cause symptomatic infections.

Based on the clinical presentation, mucormycosis may be divided into five categories: rhinocerebral, pulmonary, cutaneous, gastrointestinal, and disseminated. Rhinocerebral mucormycosis is the most common form of the disease. Three of our patients presented acute invasive Mucorales rhinosinusitis, one due to *L. corymbifera*. The initial presentation is often consistent with rhinosinusitis, including facial pain, unilateral headache, occasional proptosis, soft tissue swelling, and serosanguineous nasal discharge.

Classifying the disease as phaeohyphomycosis and hyalohyphomycosis may be considered a poor classification, since it is not a specific taxonomic classification. Important human pathogens included in the hyalohyphomycosis group are *Fusarium*, *Schizophyllum*, and *Trichoderma* species. Two pathogens were observed for the first time as the agent of rhinosinusitis and human infection (*X. enteroleuca* (10) and *T. asperellum*, present report). The role of *Trichoderma* species remains to be elucidated. This species is emerging as an opportunistic pathogen that rarely causes disease in humans. Few reports causing rhinosinusitis have been published, with *T. longibrachiatum* as the

species most often involved causing allergic or invasive disease. The treatments used in the few cases were debridement of the lesion with antifungal association (12, 18).

The spectrum of clinical presentation by *Fusarium* species includes those seen in both the healthy and the immunocompromised hosts. Allergic fungal sinusitis caused by *F. solani* in an immunocompetent patient has been previously reported (11). Filamentous basidiomycetes are uncommon causes of human and animal disease. In our series, we found one case of AFS caused by *F. solani* in the immunocompetent group. The most frequently reported clinically important pathogen is *S. commune*, recognized as a significant cause of allergic rhinosinusitis, and we observed two cases in our cohort.

Scedosporiosis includes *S. apiospermum* and *P. boydii* infections that have been regarded as having an anamorph-teleomorph connection. However, this has been disproved based on nucleic acid sequence analysis. The taxonomy of this genus is rather complex (8, 9). In our series, we identified two cases of *S. apiospermum* causing AFS and a fungus ball, caused by *P. boydii*.

Although infections caused by dematiaceous fungi are rare, they are increasingly being recognized as the cause of human disease (15). The term phaeohyphomycosis is based on the characteristics of the fungi, as seen in infected tissue (dark-walled). Our cohort includes three cases classified as phaeohyphomycosis, two of them caused by *A. alternata* and another by *Cladosporium* sp.

Other slowly progressive infections may be less commonly caused by dimorphic fungi such as *H. capsulatum* or encapsulated yeast cells of *C. neoformans*. We only isolated these agents in our immunocompromised group:

histoplasmosis (n=4) and cryptococcosis (n=1). There is a wide spectrum of clinical manifestations of histoplasmosis, ranging from a transient pulmonary infection to more widespread disseminated disease. Mucosal ulcers are found in > 60% of these patients (14). The oropharynx is often affected; however, lesions also occur on the lip and nose (2, 3, 4). It has been stated that cryptococcosis affecting the paranasal sinuses is rare (13). In our series, we describe the second case of cryptococcal sinusitis in an immunocompromised (AIDS) male.

AFS is the most common form of fungal rhinosinusitis, and diagnosis is often missed in cases of unexplained chronic rhinosinusitis. For this reason, clinicians should include AFS in the differential diagnosis of patients with chronic rhinosinusitis refractory for standard therapy. In addition, we believe that documentation of histological evidence is preferable to positive culture only because culture carries an inherent risk of contamination.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors thank Dr. Michael G Rinaldi (*Trichoderma viride*, *T. harzianum*, and *Schizophyllum commune*), Dr. Josep Guarro (*Xylaria enteroleuca*) and Dr. Helgard Nirenberg (*T. asperellum*) for their help in the etiological confirmation of the cases.

REFERENCES

1. Ajello L. Hyalohyphomycosis and phaeohyphomycosis: two global disease entities of public health importance. *Eur J Epidemiol* 2: 243-251, 1986.
2. Alves MD, Pinheiro L, Manica D, Fogliatto LM, Fraga C, Goldani LZ. *Histoplasma capsulatum* sinusitis: case report and review. *Mycopathologia* 171: 57-59, 2011.
3. Antonello VS, Zaltron VF, Vial M, Oliveira FM, Severo LC. Oropharyngeal histoplasmosis: report of eleven cases and review of the literature. *Rev Soc Bras Med Trop* 44: 26-29, 2011.
4. Butt AA, Carreon J. *Histoplasma capsulatum* sinusitis. *J Clin Microbiol* 35: 2649-2650, 1997.
5. Chakrabarti A, Denning DW, Ferguson BJ, Ponikau J, Buzina W, Kita H, Marple B, Panda N, Vlamincck S, Kauffmann-Lacroix C, Das A, Singh P, Taj-Aldeen SJ, Kantarcioglu AS, Handa KK, Gupta A, Thungabathra M, Shivaprakash MR, Bal A, Fothergill A, Radotra BD. Fungal rhinosinusitis: a categorization and definitional schema addressing current controversies. *Laryngoscope* 119: 1809-1818, 2009.
6. Chakrabarti A, Sharma SC. Paranasal sinus mycoses. *Indian J Chest Dis Allied Sci* 42: 293-304, 2000.
7. Corey JP, Delsupehe KG, Ferguson BJ. Allergic fungal rhinosinusitis: allergic, infectious, or both? *Otolaryngol Head Neck Surg* 113: 110-119, 1995.
8. Cortez KJ, Roilides E, Quiroz-Telles F, Meletiadis J, Antachopoulos C, Knudsen T, Buchanan W, Milanovich J, Sutton DA, Fothergill A, Rinaldi MG, Shea YR, Zaoutis T, Kottitil S, Walsh TJ. Infections caused by *Scedosporium* spp. *Clin Microbiol Rev* 21: 157-197, 2008.
9. Gilgado F, Cano J, Gené J, Sutton DA, Guarro J. Molecular and phenotypic data supporting distinct species statuses for *Scedosporium apiospermum* and *Pseudallescheria boydii* and the proposed new species *Scedosporium dehoogii*. *J Clin Microbiol* 46: 766-771, 2008.

10. Guarro J1, Severo LC, Gené J, de Mattos Oliveira F, Cano J, Franche G, Cantarelli VV, Schell WA. Sinusitis caused by the fungus *Xylaria enteroleuca* in a lung transplant recipient. *Diagn Microbiol Infect Dis* 56: 207-212, 2006.
11. Kurien M, Anandi V, Raman R, Brahmadathan KN. Maxillary sinus fusariosis in immunocompetent hosts. *J Laryngol Otol* 106: 733-736, 1992.
12. Molnár-Gábor E, Dóczy I, Hatvani L, Vágvölgyi C, Kredics L. Isolated sinusitis sphenoidalis caused by *Trichoderma longibrachiatum* patient with headache. *J Med Microbiol* 62: 1249-1252, 2013.
13. Prendiville S, Bielasowicz SA, Hawrych A, Deeb ZE. Isolated cryptococcal sphenoid sinusitis with septicemia, meningitis, and subsequent skull base osteomyelitis in an immunocompetent patient. *Otolaryngol Head Neck Surg* 123: 277- 279, 2000.
14. Rocha MM, Severo LC. Histoplasmosse disseminada em pacientes com síndrome de imunodeficiência adquirida (SIDA). Estudo de 25 casos. *Rev Inst Med Trop São Paulo* 36:167-170, 1994.
15. Rossmann SN, Cernoch PL, Davis JR. Dematiaceous fungi are an increasing cause of human disease. *Clin Infect Dis* 22: 73-80, 1996.
16. Severo LC, Oliveira FM, Dreher R, Teixeira PZ, Porto NS, Londero AT. Zygomycosis: a report of eleven cases and a review of the Brazilian literature. *Rev Iberoam Micol* 19: 52-66, 2002.
17. Severo LC, Oliveira FM, Irion K. Respiratory tract intracavitary colonization due to *Scedosporium apiospermum*. Report of four cases. *Rev Inst Med Trop São Paulo* 46: 43-46, 1996.
18. Tang P, Mohan S, Sigler L, Witterick I, Summerbell R, Campbell I, Mazzulli T. Allergic fungal sinusitis associated with *Trichoderma longibrachiatum*. *J Clin Microbiol* 41: 5333-5336, 2003.

7 CONCLUSÃO

- Nos últimos 28 anos foram diagnosticados 82 casos de RSF na ISCMPA. A divisão desta casuística, em dois grupos, resultou em 55 casos com etiologia por *Aspergillus* sp. e associações concomitantes, e 27 por outros agentes fúngicos não aspergilares.

- No grupo de pacientes classificados com RSF por aspergilose e associações, a idade média foi de 46,8 anos, com predomínio do sexo feminino (32/54). Os achados, através dos exames de imagens, confirmaram acometimento unilateral dos seios paranasais (38/54), resultando numa classificação de RSF não invasiva em 40 casos, onde 20 pacientes desenvolveram RSFA, e outros 20, RSF por bola fúngica. As causas subjacentes de imunodeficiência, que contribuíram para o quadro clínico de RSF invasiva, foram transplantes e doenças hematológicas. O agente etiológico, predominante, isolado foi *A. fumigatus* (14/54), e na associação simultânea, a etiologia foi creditada a classe dos *Mucorales*.

- Na série de casos de RSF não aspergilar 51,9% ocorreu em mulheres, e a média de idade do grupo foi de 45,3 anos (variação 6 - 76 anos). A ocorrência de RSF invasiva foi constatada em nove pacientes imunocomprometidos, com superioridade de isolamento do agente fúngico *H. capsulatum* (4/27), seguido de *Mucorales* (3/27), *C. neoformans* (1/27), e *L. corymbifera* (1/27). Neste

grupo, também, ocorreu o predomínio de casos de RSF não invasiva (18/27), preponderando RSFA por hialohifomicose (12/27).

- Como os relatos de RSF no Brasil são escassos, conseguimos configurar o ineditismo de três achados em nosso meio. A etiologia por *X. enteroleuca* (já publicado anteriormente), *T. asperellum*, e uma associação de *A. fumigatus* e actinomicose, sendo que este dois últimos registrados no período deste trabalho.

8 PERSPECTIVAS

A infecção da mucosa nasal e dos seios paranasais é uma das doenças mais prevalentes das vias áreas superiores, e quando esse processo decorre de etiologia fúngica, torna-se ainda mais complexa a suspeição médica. Em consequência desta situação, faz-se necessária à ampliação de novas pesquisas com embasamento metodológico científico, para fortalecer o entendimento epidemiológico da RSF em nosso meio, o que incidirá na melhora da qualidade de vida da população envolvida.

9 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Ajello L. **Hyalohyphomycosis e feohifomicose: duas entidades de doença globais de importância para a saúde pública.** European Journal of Epidemiology, v. 2(4), p.243-251, 1986.

Alves MD, Pinheiro L, Manica D *et al.* **Histoplasma capsulatum Sinusitis: Case Report and Review.** Mycopathologia, v.171(1), p.57–59, 2011.

Anselmo-Lima WT, Sakano E, Tamashiro E *et al.* **Rhinosininitis: evidence and experience. A summary.** Brazilian Journal of Otorhinolaryngology, v.81(1), p.8-18, 2015.

Aquino VR, Goldani LZ, Pasqualotto AC. **Update on the contribution of galactomannan for the diagnosis of invasive aspergillosis.** Mycopathologia, v.163(4), p.191–202, 2007.

Araújo E, Anselmi F, Leiria TLL *et al.* **Sinusite fúngica: uma análise clínica em nosso meio.** Revista do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, 19(2), p.177-185, 1999.

Araújo E, Sakano E, Weckx LLM *et al.* **I Consenso Brasileiro Sobre Rinossinusite.** Revista Brasileira de Otorrinolaringologia, v.65(3), p.6-30, 1999.

Araujo E, Dall C, Cantarelli V *et al.* **Microbiologia do meato médio na rinossinusite crônica.** Revista Brasileira de Otorrinolaringologia, v.73(4), p.549-555, 2007.

Araújo E, Sakano E, Voegels R *et al.* **Diretrizes Brasileiras de Rinossinusites.** Revista Brasileira de Otorrinolaringologia, v.74(2), p.1-59, 2008.

Badiee P, Gandomi B, Sabz G *et al.* **Evaluation of nested PCR in diagnosis of fungal rhinosinusitis.** Iranian Journal of Microbiology, v.7(1), p.62-66, 2015.

Bosi GR, Braga GL, Almeida TS *et al.* **Bola fúngica dos seios paranasais: Relato de dois casos e revisão de literatura.** International Archives of Otorhinolaryngology, v.16(2), p.286-290, 2012.

Cabral RM, Pimentel J, V. Oliveira V *et al.* **Fungal Rhinossinusitis: a 8 year review study.** Mycoses, v.58(5), p.88-89, 2015.

Chakrabarti A, Sharma SC, Chandler J. **Epidemiology and pathogenesis of paranasal sinus mycoses.** Otolaryngology--head and Neck Surgery, v.107(6), p.745-750, 1992.

Chakrabarti A, Sharma SC. **Paranasal sinus mycoses.** Indian Journal of Chest Diseases & Allied Sciences, v.42(4), p.293-304, 2000.

Chakrabarti A, Das A, Panda NK. **Controversies surrounding the categorization of fungal sinusites.** Medical Mycology, v.47(1), p.299-308, 2009.

Chakrabarti A, Denning DW, Ferguson BJ *et al.* **Fungal Rhinosinusitis: A Categorization and Definitional Schema Addressing Current Controversies.** Laryngoscope, v.119(9), p.1809–1818, 2009.

Chatterjee SS, Chakrabarti A. **Epidemiology and Medical Mycology of Fungal Rhinosinusitis.** Otorhinolaryngology Clinics: An International Journal, v.1(1), p.1-13, 2009.

Chen CY, Sheng WH, Cheng A *et al.* **Invasive fungal sinusitis in patients with hematological malignancy: 15 years experience in a single university hospital in Taiwan.** BMC Infectious Diseases, v.11(1), p.250-259, 2011.

Crombruggen KV, Bruaene NV, Holtappels G *et al.* **Chronic sinusitis and rhinitis: Clinical terminology “Chronic Rhinosinusitis” further supported.** *Rhinology*, v.48(1), p.54-58, 2010.

Dall’Igna C. **Rinossinusite fúngica em pacientes com doença nasossinusal crônica.** Tese (Doutorado em Medicina) – Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2004.

Dall’Igna C, Palombini BC, Anselmi F *et al.* **Rinossinusite fúngica em pacientes com infecção nasossinusal crônica.** *Revista Brasileira de Otorrinolaringologia*, v.71(6), p.712-720, 2005.

DeShazo RD, Chapin K, Swain RE. **Current Concepts: Fungal Sinusitis.** *The New England Journal of Medicine*, v.337(4), p.254-259, 1997.

DeShazo RD. **Syndromes of invasive fungal sinusitis.** *Medical Mycology*, v.47(1), p.309-314, 2009.

Deus JC, Pereira M, Dores L *et al.* **Protocolo de detecção precoce de rinossinusite fúngica invasiva aguda.** *Revista Portuguesa de Otorrinolaringologia e Cirurgia Cérvico-facial*, v.53(1), p.5-12, 2015.

Eckburg PB, Zolopa AR, Montoya JG. **Invasive Fungal Sinusitis Due to *Scedosporium apiospermum* in a Patient with AIDS.** *Clinical Infectious Diseases*, v.29(1), p.212–213, 1999.

Ferguson BJ. **Definitions of Fungal Rhinosinusitis.** *Otolaryngologic Clinics of North America*, v.33(2), p.227-235, 2000.

Ferguson BJ, Barnes L, Bernstein JM *et al.* **Geographic variation in allergic fungal rhinosinusitis.** *Otolaryngologic Clinics of North America*, v.33(2), p.441-449, 2000.

Fokkens W, Lund V, Bachert C *et al.* **EAACI Position Paper on Rhinosinusitis and Nasal Polyps Executive Summary.** Allergy, v.60(5), p.583-601, 2005.

Fokkens WJ, Lund VJ, Mullol J *et al.* **European Position Paper on Nasal Polyps 2007.** Rhinology, v.45(20), p1-139, 2007.

Fokkens WJ, Lund VJ, Mullol J *et al.* **European Position Paper on Rhinosinusitis and Nasal Polyps 2012.** Rhinology, v.50(23), p.1-298, 2012.

Geminiani RJ, Vitale RF, Mazer AB *et al.* **Comparação entre Tomografia Computadorizada e Endoscopia Nasal no Diagnóstico de Rinossinusite Crônica.** Arquivo Internacional de Otorrinolaringologia/ International Archives of Otorhinolaryngology, v.11(4), p.402-405, 2007.

Guarro J, Severo LC, Gene J *et al.* **Sinusitis caused by the fungus *Xylaria enteroleuca* in a lung transplant recipient.** Diagnostic Microbiology and Infectious Disease, v.56(2), p.207–212, 2006.

Kaliner MA, Osguthorpe JD, Fireman P *et al.* **Sinusitis: Bench to bedside: Current findings, future directions.** Otolaryngology – Head and Neck Surgery, v.116(6), p.1-20, 1997.

Kang SH, Migliavacca RO, Piltcher OB. **Rinossinusite fúngica invasiva aguda com desfecho favorável.** Revista do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, v.32(3), p.348-353, 2012.

Kang SH, Dalcin PTR, Piltcher OB *et al.* **Rinossinusite crônica e polipose nasossinusal na fibrose cística: atualização sobre diagnóstico e tratamento.** Jornal Brasileiro de Pneumologia, v.41(1), p.65-76, 2015.

Kasapoglu F, Coskun H, Ozmen AO *et al.* **Acute invasive fungal rhinosinusitis: Evaluation of 26 patients treated with endonasal or open**

surgical procedures. Otolaryngology - Head and Neck Surgery, v.143(5), p.614-620, 2010.

Katzenstein ALA, Sale SR, Greenberger PA. **Allergic Aspergillus sinusitis: a newly recognized form of sinusites.** Journal of Allergy and Clinical Immunology, v.72(1), p.89-93, 1983.

Kauffmann-Lacroix C, Rodier MH, Jacquemin JL. **Detection of Galactomannan for Diagnosis of Fungal Rhinosinusitis.** Journal of Clinical Microbiology, v.39(12), p.4593–4594, 2001.

Kim JS, So SS, Kwon SH. **The increasing incidence of paranasal sinus fungus ball: A retrospective cohort study in two hundred forty-five patients for fifteen years.** Clinical Otolaryngology, 17 nov 2015 (doi: 10.1111/coa12588).

Krishnan K, Agatha D, Selvi R. **Fungal rhinosinusitis: A clinicomycological perspective.** Indian Journal of Medical Microbiology, v. 33(1), p.120-124, 2015.

Lanza D, Kennedy D. **Adult rhinosinusitis defined.** Otolaryngology - Head and Neck Surgery, v.117(3), p.1-7, 1997.

Marambaia PP, Marambaia O, Gomes AM *et al.* **Bola fúngica dos seios paranasais: diagnóstico e manejo.** ACTA ORL Técnicas em Otorrinolaringologia, v.28(4), p.22-26, 2010.

Meltzer E, Hamilos D, Hadley J *et al.* **Rhinosinusitis: Establishing definitions for clinical research and patient care.** The Journal of Allergy and Clinical Immunology, v.114(6), p.155-212, 2004.

Michaels L, Lloyd G, Phelps P. **Origin and spread of allergic fungal disease of the nose and paranasal sinuses.** Clinical Otolaryngology, v.25(6), p.518-525, 2000.

Millar JW, Johnston A, Lamb D. **Allergic aspergillosis of the maxillary sinuses.** *Thorax*, v.36(9), p.710, 1981.

Montone KT, Livolsi VA, Feldman MD *et al.* **Fungal Rhinosinusitis: A Retrospective Microbiologic and Pathologic Review of 400 Patients at a Single University Medical Center.** *International Journal of Otolaryngology*, fev 2012 (doi:10.1155/2012/684835).

Mostafa BE, Taha MS, Hamid TA *et al.* **Evaluation of vitamin D levels in allergic fungal sinusitis, chronic rhinosinusitis, and chronic rhinosinusitis with polyposis.** *International Forum of Allergy & Rhinology*, dez 2015 (doi:10.1002/alr.21585).

Mukherji SK, Figueroa RE, Ginsberg LE *et al.* **Allergic fungal sinusitis: CT findings.** *Radiology*, v.207(2), p.417-422, 1998.

Nicolai P, Lombardi D, Tomenzoli D *et al.* **Fungus ball of the paranasal sinuses: Experience in 160 patients treated with endoscopic surgery.** *Laryngoscope*, v.119(11), p.2275-2279, 2009.

Osguthorpe JD. **Adult Rhinosinusitis: Diagnosis and Management.** *American Family Physician*, v.63(1), p.69-76, 2001.

Pagella F, Matti E, De Bernardi F *et al.* **Paranasal sinus fungus ball: diagnosis and management.** *Mycoses*, v.50(6), p.451–456, 2007.

Pereira EA, Stolz DP, Palombini BC, Severo LC. **Atualização em Sinusites Fúngica: relato de 15 casos.** *Revista Brasileira de Otorrinolaringologia*, v.63(1), p.48-54, 1997.

Ponikau JU, Sherris DA, Kern EB *et al.* **The Diagnosis and Incidence of Allergic Fungal Sinusitis.** *Mayo Clinic Proceedings*, v.74(9), p.877-884, 1999.

Prateek S, Banerjee G, Gupta P *et al.* **Fungal rhinosinusitis: A prospective study in a University Hospital of Uttar Pradesh.** Indian Journal of Medical Microbiology, v.31(3), p.266-269, 2013.

Prendiville S, Bielamowicz SA, Hawrych A *et al.* **Isolated cryptococcal sphenoid sinusitis with septicemia, meningitis, and subsequent skull base osteomyelitis in an immunocompetent patient.** Otolaryngology - Head and Neck Surgery, v.123(3), p.277-279, 2000.

Revankar SG. **Phaeohyphomycosis.** Infectious Disease Clinics of North America, v.20(3), p.609-620, 2006.

Rossmann SN, Cernoch PL, Davis JR. **Dematiaceous Fungi Are an Increasing Cause of Human Disease.** Clinical Infectious Diseases, v.22(1), p.73-80, 1996.

Safirstein BH. **Allergic bronchopulmonary aspergillosis with obstruction of the upper respiratory tract.** Chest, v.70(6), p.788-790, 1976.

Santana NOR, Pinheiro GB, Kehrle HM *et al.* **Mucormicose de seios paranasais e órbitas em paciente imunocompetente: relato de caso e revisão de literatura.** Revista Brasileira de Otorrinolaringologia, v.67(5), p. 727-730, 2001.

Schell WA. **Histopathology of Fungal Rhinosinusitis.** Otolaryngologic Clinics of North America, v.33(2), p.251-276, 2000.

Schmidt JM, Poublon RML. **Rhinocerebral mycosis in immunocompromised patients. A case report and review of the literature.** Rhinology, v.36(2), p.90–93, 1998.

Severo LC, Guindani C, Geyer GR. **Chronic Sinusitis Caused by Zygomycosis and Aspergillosis.** European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases, v.8(4), p.317-318, 1989.

Severo LC, Oliveira FM, Dreher R *et al.* **Zygomycosis: A report of eleven cases and a review of the Brazilian literature.** Revista Iberoamericana de Micologia, v.19(1), p.52-56, 2002.

Severo LC, Oliveira FM, Klaus Irion K. **Respiratory tract intracavitary colonization due to scedosporium apiospermum. Report of four cases.** Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo, v.46(1), p.43-46, 2004.

Severo CB, Guazzelli LS, Severo LC. **Curso de Atualização em Micoses: Capítulo 7 – Zigomicoses.** Jornal Brasileiro de Pneumologia, v.36(1), p.134-141, 2010.

Thomas M, Yawn BP, Price D *et al.* **EPOS Primary Care Guidelines: European Position Paper on the Primary Care Diagnosis and Management of Rhinosinusitis and Nasal Polyps 2.** Primary Care Respiratory Journal, v.17(2), p.79-89, 2008.

Valera FCP, Lago T, Tamashiro E *et al.* **Prognosis of acute invasive fungal rhinosinusitis related to underlying disease.** International Journal of Infectious Diseases, v.15(12), p.841–844, 2011.

Vashishth A. **Extensive Allergic Fungal Rhinosinusitis: Ophthalmic and Skull Base Complications.** Indian Journal of Otolaryngology and Head & Neck Surgery, v.67(3), p.227–233, 2015.

Venarske DL, DeShazo RD. **Sinobronchial allergic mycosis: the SAM syndrome.** Chest Journal, v.121(5), p.1670–1676, 2002.

Willinger B, Obradovic A, Selitsch B *et al.* **Detection and Identification of Fungi from Fungus Balls of the Maxillary Sinus by Molecular Techniques.** Journal of Clinical Microbiology, v.41(2), p.581–585, 2003.

Xavier MO, Oliveira FM, Almeida V *et al.* **Invasive *Aspergillus flavus* sinusitis: case report in a patient with biphenotypic acute leucemia.** Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo, v.51(1), p.57-58, 2009.

Xavier MO, Oliveira FM, Severo LC. **Curso de Atualização em Micoses: Capítulo 1 - Diagnóstico laboratorial das micoses pulmonares.** Jornal Brasileiro de Pneumologia, v.35(9), p.907-919, 2009.

Xavier SD, Korn GP, Granato L. **Mucormicose rinocerebral: apresentação de caso com sobrevida e revisão de literatura.** Revista Brasileira de Otorrinolaringologia, v 70(5), p.710-714, 2004.

Zhang J, Li Y, Lu X *et al.* **Analysis of fungal ball rhinosinusitis by culturing fungal clumps under endoscopic surgery.** International Journal of Clinical and Experimental Medicine's, v.8(4), p.5925-5930, 2015.

10 APÊNDICES

10.1 Apêndice A: Termo de confidencialidade encaminhado ao Comitê de Ética em Pesquisa da ISCMPA

TERMO DE CONFIDENCIALIDADE

Título do projeto: Aspectos clínicos, epidemiológicos e etiológicos da rinossinusite fúngica

O presente estudo é exclusivamente epidemiológico, não envolvendo a realização de qualquer intervenção terapêutica. Todas as informações clínico-epidemiológicas necessárias para o estudo serão obtidas através da revisão de prontuários, não havendo qualquer contato direto entre investigadores e pacientes. A pesquisa tem interesse meramente científico.

As informações referentes aos pacientes serão mantidas em completo sigilo; os autores firmam compromisso com a confidencialidade garantindo sigilo quanto à identificação dos pacientes incluídos no estudo.

O projeto será enviado ao Comitê de Ética em Pesquisa da Irmandade da Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre / RS. Certificamos que o estudo observará todos os padrões éticos estabelecidos pela Instituição.

Sem mais, colocamo-nos à disposição para qualquer informação adicional.

Profº Dr. Luiz Carlos Severo
Micologista e Pneumologista, Doutor em Medicina
Professor Associado (Nível 02), Faculdade de Medicina, UFRGS
Pesquisador 1B do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico

Flávio de Mattos Oliveira
Químico
Doutor em Ciências Pneumológicas – Micologia Clínica

Isabel Cristina Espíndola Cardoso
Bióloga
Curso de Pós-Graduação em Ciências Pneumológicas, UFRGS

10.2 Apêndice B: Ficha padrão utilizada para colheita de informações clínicas e epidemiológicas dos prontuários médicos de cada paciente.

Ficha para Colheita de Dados

Dados de identificação

Nome: Registro:.....
 Data internação:..... Idade:..... Sexo: () M () F
 Hospital..... N° caso:.....

Condições predisponentes

Diabete melito () Sim () Não () Não informado
 Insuficiência renal () Sim () Não () Não informado
 HIV () Sim () Não () Não informado
 Drogas injetáveis () Sim () Não () Não informado
 Neutropênico () Sim () Não () Não informado
 Sepses bacteriana () Sim () Não () Não informado
 Neoplasia Qual:.....
 Transplante Qual:..... Tempo:.....
 Outros: Qual:.....
 Óbito: () sim () Não

Dados clínicos

Motivo internação:.....
 Unidade internação () Clínica () Cirúrgica
 Cateter () venoso central () arterial
 NPT () Sim () Não () Não informado N° de dias:.....
 Terapia intensiva () Sim () Não () Não informado
 Ventilação mecânica () Sim () Não () Não informado

Avaliação clínica de cada episódio de sinusite

N° cultivos positivos:.....
 Isolamento do mesmo microorganismo de outros sítios () Sim () Não Qual(is):.....
 () Dor facial () Edema face () Obstrução nasal () Rinorréia purulenta
 () Cefaléia () Febre () Tosse produtiva
 Outros:.....

Terapia antimicrobiana

Fluconazol () Sim () Não () Não informado Há quanto tempo:.....
 Anfotericina B () Sim () Não () Não informado Há quanto tempo:.....
 Itraconazol () Sim () Não () Não informado Há quanto tempo:.....
 Voriconazol () Sim () Não () Não informado Há quanto tempo:.....
 Outros:.....

Laudo dos exames de imagem (TC / RN / Raio X/ endoscopia / outros):.....

10.3 Apêndice C: Tabelas informativas da casuística incluída no estudo

10.3.1 Tabela 1: Características clínicas-epidemiológicas dos 54 pacientes com rinossinusite fúngica aspergilar e associações concomitantes

Caso	Idade/ Sexo	Condição associada/doença predisponente	Material	Imagem	Microscopia	Cultivo
1	34 F	Obstrução nasal, cefaléia, edema nasal	Secreção seio maxilar D	Não informado	hsr em arranjo de BF	<i>Aspergillus</i> sp.
2	58 M	Obstrução nasal, tosse crônica, Parkinson-Akineton	Secreção seio maxilar	Sinusoscopia: secreção purulenta, BF, mucosa hiperplásica TC: opacificação completa com imagem metálica	Negativo	<i>A. fumigatus</i>
3	60 F	Obstrução nasal bilateral, tosse, cefaléia, uso crônico de vasoconstritor tópico	Seio maxilar D/E	Rx: opacificação maxilar bilateral, com imagem metálica TC: opacificação maxilar bilateral, opacificação células etmoidais bilateral Sinusoscopia: grumos de pus, BF, hiperplasia	Negativo	<i>Aspergillus</i> sp.
4	37 M	ABPA, asma, rinite alérgica, corticóide	Seio maxilar D	Rx: opacificação seio maxilar D TC: opacificação completa seio maxilar D, opacificação parcial células etmoidais anterior Sinusoscopia: secreção purulenta, mucosa hiperplásica	hsr	Não realizado
5	NI F	Não informado	Secreção seio maxilar	Não informado	hsr em arranjo de BF	Não realizado
6	40 M	Obstrução nasal, edema nasal, rinite alérgica	Secreção seio maxilar	Não informado	hsr e cristais de <i>Charcot- Leyden</i>	<i>Aspergillus</i> sp
7	NI M	Não informado	Fragmento seio maxilar	Não informado	hsr em arranjo de BF	Negativo
8	NI F	Não informado	Secreção seio maxilar	Não informado	Hifas septadas	Negativo
9	57 F	Obstrução nasal, edema nasal, cefaléia, pólipos nasal, desvio de septo	Secreção seio maxilar D	Não informado	hsr em arranjo de BF e cristais de oxalato de cálcio	Negativo
10	69 F	Obstrução meato médio, desvio de septo, hipertrofia de cornetos, edema nasal, cefaléia	Secreção seio maxilar D	Não informado	hsr	<i>A. flavus</i>

11	15 M	Imunodeprimido (neoplasia medula óssea)	Fragmento septo nasal posterior	TC: opacificação completa em seio maxilar D e E	hsr	<i>A. flavus</i> e <i>A. fumigatus</i>
12	28 M	Edema facial, obstrução nasal, sinusopatia crônica	Secreção seio maxilar E	TC: opacificação completa em seio maxilar E	hsr em arranjo de BF	<i>A. fumigatus</i>
13	59 M	Dor facial, desvio de septo, obstrução nasal, hipertrofia cornetos nasais, Tx. Cornea	Fragmento seio maxilar D	TC: opacificação completa em seio maxilar D	hsr em arranjo de BF	Não realizado
*14	70 M	Não informado	Secreção seio maxilar D	TC: opacificação seio maxilar D	hsr em arranjo de BF	<i>A. fumigatus</i>
*15	47 F	Não informado	Fragmento nasal	Rx e TC: opacificação bilateral	hsr e conídios	<i>A. flavus</i>
16	NI F	Não informado	Secreção seio maxilar E	Não informado	hsr em arranjo de BF	Não realizado
17	NI F	Não informado	Secreção seio maxilar E	Não informado	hsr em arranjo de BF	Não realizado
18	67 M	Tx pulmão por fibrose pulmonar e enfisema, diabetes mellitus, CMV +, ex-tabagista	Secreção nasal E	TC: opacificação seio maxilar D e E ÓBITO	Não realizado	<i>A. fumigatus</i> e <i>A. niger</i>
19	58 F	Tumor nasal benigno, cefaléia, congestão nasal, dor facial	Fragmento seio maxilar E	Não informado	hsr	Negativo
20	NI F	Não informado	Secreção seio maxilar E	Não informado	hsr	Negativo
21	59 M	Inflamação crônica, desvio de septo, congestão nasal, obstrução nasal	Secreção seio maxilar E	TC: opacificação completa em seio maxilar E	Negativo	<i>A. fumigatus</i>
22	44 F	Congestão nasal, desvio de septo, dor facial, pólipos nasal	Secreção seio maxilar E	TC: oclusão de fossa nasal E, com opacificação do seio maxilar, esfenoidal, frontal e labirinto etmoidal, polipose	hsr e cristais de oxalato de cálcio	<i>A. fumigatus</i>
**23	66 M	Tx pulmão, BF em pulmão transplantado	Swab nasal D	TC seios paranasais: infiltração parenquimatosa difusa bilateral	Não realizado	<i>A. fumigatus</i>
24	17 M	Edema facial, dor facial, congestão nasal, dor intensa nos olhos, asma	Secreção seio maxilar D	TC: seio paranasal D opacificado, aumento de corneto médio e inferior D. Protusão de globo ocular D / ÓBITO	Negativo	<i>A. flavus</i>
25	54 M	Congestão nasal, dor facial, edema nasal, etilista	Secreção seio maxilar E	Não informado	Negativo	<i>A. terreus</i>
26	19 F	Obstrução nasal, cefaléia, dor facial	Secreção nasal	Não informado	hsr	<i>A. niger</i>

27	NI F	Não informado	Secreção seio maxilar	Não informado	hsr com frutificação característica de <i>Aspergillus</i> sp.	Negativo
28	61 F	Tosse crônica, congestão nasal, obstrução nasal, cefaléia	Secreção seio maxilar E	TC: Sinusopatia maxilar D, com calcificação. Possibilidade de proc. granulomatoso	frutificação característica de <i>A. niger</i>	Negativo
29	58 F	Cefaléia frontal, rinite alérgica crônica, dor facial	Secreção seio maxilar D	Não informado	hsr em arranjo de BF e cristais de oxalato de cálcio	Negativo
30	72 M	Congestão nasal, dor facial, cefaléia	Secreção seio maxilar	Não informado	hsr	<i>A. fumigatus</i>
31	41 F	Obstrução nasal, secreção nasal, pólipos nasal	Biópsia seio maxilar D	TC: Meatos médios ocluidos com pólipos e nível líquido em seios maxilares	hsr	Negativo
32	35 F	Tosse crônica, congestão nasal, dor facial, cefaléia	Secreção seio maxilar E	Não informado	hsr em arranjo de BF	Negativo
**33	50 F	Linfoma não Hodking, Tx. medula óssea, congestão nasal, dor facial, dor intra-ocular	Corneto nasal fossa D	TC seios da face: opacificação completa de seios paranasais Ecografia ocular: lesão vítrea sugestiva de infecção fúngica em olho D	hsr em ângulo de 90° e conídios fusiformes	<i>A. flavus</i> e <i>Fusarium</i> sp
34	36 M	Cefaléia, edema importante em hemiface D, tosse, congestão nasal, dor facial, insuficiência renal	Secreção seio maxilar D	TC: destruição óssea dos seios da face	hsr	<i>A. fumigatus</i>
35	46 F	Obstrução naso E, congestão nasal, dor maxilar E	Secreção seio maxilar E	Não informado	hsr em arranjo de BF e cristais de oxalato de cálcio	Negativo
36	31 M	Tx. medula óssea	Secreção seio maxilar	TC: sinusopatia crônica bilateral	hsr	<i>A. fumigatus</i>
37	59 M	Cefaléia, dor facial com edema	Secreção seio maxilar E	Não informado	hsr em arranjo de BF	<i>A. fumigatus</i>
38	63 F	Edema grave em mucosa nasal D, dor facial, cefaléia, neoplasia de tireóide	Secreção seio maxilar D	TC: opacificação completa SMD	hsr com cabeça aspergilar	<i>A. fumigatus</i>

39	65 F	Desvio de septo nasal, obstrução nasal, cefaléia, dor facial com edema	Secreção seio maxilar D	TC: velamento subtotal do seio maxilar D, obliteração parcial do complexo óstio meatal deste lado, o seio frontal D apresenta espessamento mucoso	hsr em arranjo de BF	Negativo
40	40 F	Asma, rinite, dor facial, lesão mucosa nasal e seio paranasal E, leucemia linfocítica aguda	Secreção meato médio E	TC: sinusopatia crônica bilateral	Não realizado	<i>A. flavus</i>
41	26 F	Cirurgia neoplasia hipófise, secreção e obstrução nasal, dor facial	Fragmento esfenóide	Não informado	hsr e conídios em arranjo de BF	Negativo
42	64 F	Pólipo em seio paranasal D, edema seio maxilar D, tabagista	Secreção seio maxilar D	Não informado	hsr em arranjo de BF	Negativo
43	38 M	Tx medula óssea, obstrução e congestão nasal, dor facial	Fragmento abscesso nasal	TC: obstrução completa bilateral	hsr	<i>A. flavus</i>
***44	39 F	Cirurgia Caldwell-Luc Cefaléia, dor facial, fistula gengival	Seio maxilar esquerdo	Rx: o quadro radiológico é sugestivo de sinusite maxilar (Sinusite crônica)	hsr com cristais de oxalato de cálcio	<i>Aspergillus</i> sp. e <i>Mucorales</i>
*45	17 M	LAB, proptose olho D, edema facial, imunossupressão, pansinusite invasiva	Secreção seio maxilar D	TC: opacificação completa seios paranasais c/ erosão óssea ÓBITO	hsr (GM)	<i>A. flavus</i>
46	23 F	Cefaléia, obstrução nasal D, secreção purulenta, polipose D, Cirurgia Caldwell-Luc	Seio maxilar direito	Rx: opacificação seio maxilar D, edema de mucosa, sinusite maxilar	hsr em arranjo de BF com cristais de oxalato de cálcio	<i>A. niger</i>
47	52 F	Tx renal	Seio maxilar esquerdo	Não informado	Inúmeras hsr	<i>A. fumigatus</i>
48	27 M	Tosse crônica, enfisema, bronquiectasias bilaterais, dor facial, congestão nasal, Obstrução nasal	Secreção seio da face	TC: opacificação complete dos seios da face	hsr	Negativo
49	47 F	Pólipos inflamatórios de mucosa respiratória alta, hipertrofia de corneto nasal, edema mucosa	Secreção meato médio	TC: Presença de material semelhante a tecidos moles e/ou líquido espesso no interior e junto as paredes de ambos os seios maxilares	hsr	Não realizado

50	68 F	Congestão e obstrução nasal, cefaléia, dor facial, edema	Fragmento seio maxilar	Não informado	hsr	<i>A. fischeri</i> (<i>Neosartorya fischeri</i>)
51	NI M	Não informado	Secreção meato médio	TC: opacificação bilateral	Negativo	<i>A. fumigatus</i> e <i>Rhizopus</i>
52	29 M	Não informado	Secreção nasal	Não informado	Hifas	<i>A. flavus</i> e <i>Mucorales</i>
53	NI F	Não informado	Fossa nasal	Não informado	hsf em arranjo de BF	<i>A. fumigatus</i>
54	53 F	Congestão e obstrução nasal, dor facial, edema facial	Secreção seio maxilar E	TC: opacificação completa de seio maxilar E	Negativo	<i>A.fumigatus</i>

ABPA: aspergilose broncopulmonar alérgica; BF: bola fúngica, D: direito; E: esquerdo; F: feminino; GM: galactomanana; hsr: hifas septadas e ramificadas; M: masculino; NI: não informado; LAB: leucemia aguda bifenotípica; Rx: raiosX; TC: tomografia computadorizada; TX: transplante. * Imunodifusão para aspergilose (*A. fumigatus*, *A. flavus* e *A. niger* negativas) ELISA-galactomanana positivo; ** Terapia com voriconazol; *** Estudos de anticorpos fluorescentes forneceram evidências de uma infecção mista devido a *Aspergillus* sp. e *Mucorales*

10.3.2 Tabela 2 (Parte 1) – Dados clínicos-epidemiológicos dos 27 pacientes com diagnóstico de RSF não aspergilar

Caso	Idade Sexo	Material	Direto	Cultivo	Patologia
1	25 F	Secreção seios maxilares	Hifas hialinas septadas ramificadas	<i>Schizophyllum commune</i>	Fragmento de lesão da mucosa nasal e pólipos com hifas
2	74 F	Secreção seios maxilares	Hifas hialinas septadas ramificadas	<i>Fusarium solani</i>	Fragmento de lesão da mucosa nasal necrótico com exsudato fibrino leucocitário contendo inúmeras hifas hialinas, raramente septadas, compatíveis com hialo-hifomicose
3	50 M	Secreção seio maxilar D	Fragmento de hifas septadas em arranjo de bola fúngica	<i>Penicillium</i> sp.	Processo inflamatório crônico
4	44 F	Secreção seios etmoidal e esfenoidal	Presença de hifas hialinas septadas	<i>Trichoderma asperellum</i>	Mucina contendo eosinófilos e cristais de Charcot-Leyden. Grocott – presença de hifas septadas ramificadas
5	06 M	Secreção seios da face	Hifas largas não-septadas em ângulo de 90° compatível com Mucormicose	<i>Lichtheimia corymbifera</i>	Não informado
6	25 M	Fragmento septo nasal	Hifas largas não-septadas em ângulo de 90° compatível com Mucormicose	Negativo	Biópsia do septo nasal com inflamação supurativa e necrose de osso e mucosa
7	62 F	Fístula osso face	Hifas largas não-septadas em ângulo de 90° compatível com Mucormicose	Negativo	Não informado
8	38 F	Secreção seio maxilar	Hifas septadas em arranjo de bola fúngica	<i>Alternaria alternata</i>	Inflamação aguda e crônica em mucosa respiratória com edema
9	57 F	Secreção seio maxilar	Hifas hialinas septadas em arranjo de bola fúngica (hialo-hifomicose)	Negativo	Inflamação supurativa crônica em mucosa respiratória de tipo sinusal
10	32 M	Secreção seio maxilar	Hifas hialinas septadas ramificadas em arranjo de bola fúngica (hialo-hifomicose)	Negativo	Seios maxilares com inflamação supurativa crônica em mucosa respiratória

11	50 F	Secreção seio maxilar	Hifas hialinas septadas ramificadas em arranjo de bola fúngica (hialo- hifomicose)	Negativo	Não informado
12	74 M	Secreção seio frontal D	Hifas hialinas septadas ramificadas, presença de cristais de oxalato de cálcio	<i>Cladosporium</i> sp. (PCR)	Não informado
13	49 M	Secreção seio maxilar	Hifas hialinas septadas em arranjo de bola fúngica (hialo-hifomicose)	Negativo	Não informado
14	67 F	Secreção seio maxilar E	Hifas hialinas septadas ramificadas	<i>Scedosporium apiospermum</i>	Mucosa do trato respiratório superior com infiltrado inflamatório crônico
15	38 M	Secreção seios maxilares	Negativo	<i>T. viride</i>	Presença de infiltrado eosinofílico
16	29 F	Fragmento mucosa nasal	Hifas largas não- septadas em ângulo de 90° compatível com Mucormicose	Negativo	Mucosa do trato respiratório superior ulcerada com inflamação crônica supurativa
17	76 M	Secreção seio esfenoidal E	Hifas hialinas septadas ramificadas	<i>S. apiospermum</i>	Presença de infiltrado inflamatório crônico
18	54 M	Mucosa septo nasal	Negativo	<i>A. alternata</i>	Mucosa do septo nasal escamosa ulcerada com tecido de granulação exuberante e exudato fibrino leucocitário
19	29 M	Raspado lesão nasal	Pequenas células leveduriformes ovais compatível com <i>Histoplasma capsulatum</i>	Negativo	Lesão granulomatosa em face anterior E do septo nasal, granuloma tuberculóide com necrose caseosa
20	31 F	Secreção nasal	Pequenas células leveduriformes ovais compatível com <i>H. capsulatum</i>	<i>H. capsulatum</i> (Isolator)	Mucosa nasal ulcerada com inflamação crônica supurativa
21	42 M	Fragmento septo nasal	Pequenas células leveduriformes ovais compatível com <i>H. capsulatum</i>	Negativo	MTRS ulcerada, inflamação crônica supurativa e esboços de granuloma. Grocott – elementos leveduriformes unibrotantes ovalados peq. sugestivos de <i>H. capsulatum</i>

22	40 F	Fragmento lesão seio maxilar D	Negativo	<i>H. capsulatum</i>	Grocott – elementos leveduriformes unibrotantes ovalados pequenos sugestivos de <i>H.</i> <i>capsulatum</i>
23	44 F	Secreção seio esfenoidal	Hifas septadas ramificadas disformes com grande número de cristais	<i>T. harzianum</i>	Presença de infiltrado eosinofílico moderado. Presença de cristais de Charcot-Leyden
24	41 F	Secreção seio maxilar e esfenoidal	Hifas septadas ramificadas e grande número de cristais de Charcot-Leyden	<i>S. commune</i>	Presença de grande número de cristais de Charcot-Leyden
25	43 F	Secreção seio maxilar	Hifas hialinas septadas ramificadas	<i>Xylaria enteroleuca</i> (PCR)	Não informado
26	66 M	Secreção seio maxilar	Emaranhado de hifas septadas ramificadas e grande número de aneloconídios sugestivos de bola fúngica por <i>S. apiospermum</i>	<i>Pseudallescheria boydii</i> (PCR)	Presença de inflamação crônica
27	36 M	Secreção seios maxilares	Elementos fúngicos leveduriformes encapsulados	<i>Cryptococcus neoformans</i>	Fragmentos da mucosa nasal com lesão erosada

D: direito; E: esquerdo; F: feminino; M: masculino; MTRS: mucosa do trato respiratório superior;
PCR: reação em cadeia da polimerase

10.3.3 Tabela 2 (Parte 2) - Dados clínicos-epidemiológicos dos 27 pacientes com diagnóstico de RSF não aspergilar

Caso	Idade Sexo	Principais sintomas	Doença predisponente e/ou condição associada	Exames de Imagem	Tratamento
1	25 F	Cefaléia, obstrução nasal	Corticoterapia, sinusite crônica, polipose nasossinusal	NC	NC
2	74 F	Congestão nasal, dor facial, cefaléia, febre	LES, DPOC, Imunossupressão (metilprednisona), pancitopenia, corticoterapia	Rx seios paranasais: opacificação completa SME, imagem densidade metálica. TC seios paranasais: opacificação completa SME, imagem densidade metálica	Fluconazol Voriconazol
3	50 M	Tosse produtiva c/ expectoração purulenta	Asma brônquica, rinite alérgica crônica (8a), corticoterapia	Rx seios paranasais: opacificação completa SMD, imagem metálica	Cetoconazol
4	44 F	Congestão nasal intermitente verde e purulenta pós-nasal, rinorréia	Asma, rinite alérgica crônica, polipose nasossinusal	TC seios paranasais: opacificação dos seios esfenoidal e etmoidal E, com erosão de paredes ósseas. Massa mole envolvendo a cavidade nasal E c/ obliteração de meato médio E. Sinusoscopia: Presença de pólipos na cavidade nasal E, edema da mucosa e meato médio	Polipectomia Etmoidectomia Esfenoidec- tomia
5	06 M	Febre, fadiga, epistaxe, obstrução nasal	Aplasia de medula óssea ÓBITO	Rx: opacidade do seio maxilar e células etmoidais	Anfotericina B
6	25 M	Febre, congestão nasal, dor facial, dermatite seborreica na face	Diabetes mellitus, HIV, tabagista, etilista, enucleação ocular D	TC: Lesão retro-orbital D com invasão óssea, processo inflamatório etmoidal-frontal homolateral, processo expansivo intra-orbitário D medial ao globo ocular	Anfotericina B
7	62 F	Epistaxe, bradipsiquismo, descoordenação motora, dislalia, dificuldade de marcha, desvio de comissura labial à D, etilista, oclusão embólica de artéria oftálmica	Diabete mellitus, hepatite, HIV	NC	NC

8	38 F	Hipertermia, obstrução nasal bilateral, rinorréia purulenta bilateral	Transplante pulmão	Rx seios paranasais: espessamento maior que 6mm bilateral Sinusoscopia: presença de secreção purulenta e mucosa hiperplásica	NC
9	57 F	Tosse produtiva, obstrução nasal, rinorréia purulenta há 6m, prolapso válvula mitral	Transplante pulmão	Rx seios paranasais: opacificação completa SMD, imagem densidade metálica. TC seios paranasais: opacificação completa SMD, imagem densidade metálica	NC
10	32 M	Tosse produtiva, obstrução nasal, rinorréia purulenta	Usuário de drogas (cocaína)	Rx seios paranasais: opacificação completa SMD, imagem densidade metálica; espessamento maior que 6mm SME TC seios paranasais: opacificação completa SMD, imagem densidade metálica; espessamento maior que 6mm SME, opacificação células etmoidais bilateral Sinusoscopia: SMD secreção purulenta, caseosa, concreções fúngicas, mucosa hiperplásica; SME secreção purulenta, mucosa hiperplásica	NC
11	50 F	Tosse produtiva, obstrução nasal	Pneumonia (2m), antibioticoterapia crônica	Rx seios paranasais: opacificação SME, imagem metálica, opacificação células etmoidais TC seios paranasais: opacificação SME, imagem densidade metálica; imagem metálica, opacificação céls etmoidais Sinusoscopia: mucosa hiperplásica, secreção caseosa grumosa	NC
12	74 M	Congestão nasal, dor facial, cefaléia	Diabetes mellitus, corticoterapia e antibioticoterapia crônicas, ex-tabagista	TC seios face: velamento SMD, seio frontal opacificado c/ erosão parede antero lateral D, mucocele fronto etmoidal seios maxilares e labirinto etmoidal c/ mucosa espessa Rx seios face: velamento seio frontal e SMD	Sinusectomia etmoidal

13	49 M	Tosse crônica recorrente produtiva, obstrução nasal, gotejamento pós-nasal	Pneumonia (6m)	Rx seios paranasais: opacificação completa SMD, imagem metálica. TC seios paranasais: opacificação completa SMD, imagem densidade metálica Sinusoscopia: mucosa hiperplásica, secreção purulenta, concreções fúngicas	NC
14	67 F	Congestão nasal, dor facial, cefaléia, tosse produtiva c/ expectoração amarelada	Pneumonia repetição (2 a 3x ano), corticoterapia, sinusopatia fúngica (cirurgia 2003)	TC seios paranasais: cornetos médios "bolhosos", obstrução de óstio de SME c/ secreção mucóide, grânulos calcificados	Itraconazol Sinusectomia maxilar e etmoidal
15	38 M	Cefaléia, edema facial, tosse produtiva purulenta, dor facial	Sarcoma de Kaposi, HIV, CMV, pansinusite ÓBITO	Rx seios paranasais: espessamento mucoso dos seios maxilares, D c/ velamento quase total e formação de nível líquido. Redução transparência do seio frontal D e células etmoidais bilaterais TC seios paranasais: retenção de secreção s/ invasão óssea	Anfotericina B Itraconazol
16	29 F	Lesão necrótica no nariz (mucormicose), disfunção respiratória, febre, dor facial, congestão nasal	Mielodisplasia, sepse grave, pancitopenia, imunossupressão, antibioticoterapia (Pipetazo) ÓBITO	Rx seios paranasais: opacificação completa, imagem metálica. TC seios paranasais: opacificação completa, imagem densidade metálica	Micafungina
17	76 M	Cefaléia crônica, congestão nasal, dor facial	Desvio de septo	Rx seios paranasais: opacificação completa SME, imagem metálica. TC seios paranasais: opacificação completa SME, imagem densidade metálica	Septoplastia Sinusectomia etmoidal/ esfenoidal
18	54 M	Congestão nasal, dor facial, cefaléia	Lesão perirradicular, rinite crônica	Rx seios paranasais: opacificação SME, imagem metálica Sinusoscopia: presença de secreção purulenta e mucosa hiperplásica	Sinusectomia maxilar

19	29 M	Obstrução nasal, congestão nasal, dor facial, tosse produtiva, rinorréia fétida purulenta, lesão septo nasal, cefaléia crônica	Sarcoidose, tuberculose (tto antibiótico 6m), tabagista	Rx seios paranasais: mínimo espessamento da mucosa dos seios maxilares. TC seios paranasais: tortuosidade do septo nasal à E, obstrução parcial das fossas nasais, especialmente D, por abaulamento de partes moles. Seios frontais normalmente pneumatizados. Possível velamento das células etmoidais	Cetoconazol Septoplastia
20	31 F	Obstrução nasal, secreção nasal, dor facial, congestão nasal, cefaléia, febre	Rinoplastia, HIV	TC seios paranasais: mucosa espessada, sinusopatia inflamatória	Anfotericina B
21	42 M	Obstrução nasal, rinorréia, cefaléia, lesão septo nasal	DPOC, tabagista, valvulopatia mitral	Rinoscopia: desvio de septo nasal posterior importante TC seios paranasais: mucosa espessada, opacificação, imagem metálica	Itraconazol
22	40 F	Congestão nasal, secreção purulenta, dor facial, cefaléia, massa em região maxilar	HIV, polipose nasossinusal, pansinusite, adenopatia cervical, neurosifilis	TC seios paranasais: unidades ostio-meatais ocluídas c/septo nasal em posição normal. Seios maxilares, frontal, esfenoidal e labirinto etmoidal c/ mucosa espessada, sinusopatia inflamatória	Anfotericina B Itraconazol
23	44 F	Obstrução nasal e pós-nasal E, eliminação de secreção verde c/ grumos escuros, diminuição do olfato, cefaléia	Curva glicêmica alterada, alergia sulfas, rinite crônica, hiperreatividade brônquica, polipose nosossinusal	TC seios paranasais: opacificação maxilar, etmoidal e esfenoidal E c/ áreas de atenuação no seio esfenoidal e células etmoidal E. Áreas de desmineralização das paredes ósseas das cavidades etmoidais e esfenoidais.	NC
24	41 F	Congestão nasal, cefaléia, obstrução nasal, rinorréia hialina	Rinite alérgica, polipose nasossinusal	TC seios paranasais: espessamento de mucosa, opacificação seios maxilares, imagem metálica	Sinusectomia etmoidal e esfenoidal

25	43 F	Congestão nasal, tosse produtiva c/ escarro escuro, dor facial, secreção pulmonar, febre, obstrução nasal	Transplante pulmão, imunossupressão, insuficiência renal ÓBITO	TC seios paranasais: secreção em seios paranasais, nível líquido seios esfenoidais, etmóides parcialmente cruzados. Não há calcificação de permeio ou espessamento ósseo	Fluconazol Anfotericina B Sinusectomia maxilar
26	66 M	Tosse crônica, produtiva purulenta, congestão nasal, dor facial, infecções respiratórias de repetição	Corticoterapia, antibioticoterapia, rinite crônica, desvio de septo	Rx seios paranasais: normal TC seios paranasais: alterações inflamatórias dos seios maxilar, etmoidal e esfenoidal D, hiperplasia pós-inflamatórias demais cavidades paranasais. Rinite bilateral	Septoplastia Sinusectomia maxilar
27	36 M	Tosse produtiva, dor torácica, cefaléia, dor facial, lesões no vestíbulo nasal	HIV, Hepatite A, CMV	Rx sem anormalidades	Fluconazol, Anfotericina B

CMV: citomegalovírus; D: direito; DPOC: doença pulmonar obstrutiva crônica; E: esquerdo; F: feminino; HIV: vírus da imunodeficiência humana; LES: lupus eritematoso sistêmico; M: masculino; NC: nada consta; Rx: raiosX; SMD: seio maxilar direito; SME: seio maxilar esquerdo; TC: tomografia computadorizada

10.4 Apêndice D: Produção científica - Trabalhos referentes à tese

10.4.1 Trabalho 1

“Rinossinusite fúngica invasiva aguda com etiologia por *Aspergillus flavus*“

Este trabalho foi apresentado em formato de Pôster, e publicado nos resumos do **VII Congresso Internacional de Bioanálises, X Congresso Sulbrasileiro de Biomedicina e XIV Semana Gaúcha de Biomedicina**, realizado na Universidade Feevale, entre os dias 10 a 13 de setembro de 2014, em Novo Hamburgo / RS.

RINOSSINUSITE FÚNGICA INVASIVA AGUDA COM ETIOLOGIA POR *ASPERGILLUS FLAVUS*

Isabel Cristina Espíndola Cardoso¹, Flávio de Mattos Oliveira², Luiz Carlos Severo³

Introdução: Rinossinusite (RS) é processo inflamatório da mucosa de revestimento da cavidade nasal e seios paranasais (com quatro pares de cavidades: maxilar, etmoidal, frontal e esfenoidal). Essa resposta inflamatória representa reação a um agente físico, químico ou biológico, ou decorrente de mecanismos alérgicos. Essa nomenclatura segue a tendência mundial, já que rinite e sinusite são doenças em continuidade. A maioria das micoses oportunistas dos seios paranasais é causada pelo gênero *Aspergillus*, fungo filamentoso de distribuição universal. A classificação de RS fúngica invasiva aguda é caracterizada pela presença de sintomas por até quatro semanas, e ocorre, principalmente, em pacientes imunocomprometidos. **Objetivo:** Relatar caso de RS fúngica invasiva aguda em paciente imunodeprimido com diagnóstico de neoplasia hematológica. **Metodologia:** Relato de caso: mulher, 40 anos, diagnosticada com leucemia linfocítica aguda, submetida à quimioterapia, evoluiu para um quadro de pancitopenia, foi internada em set/2006 em hospital de Porto Alegre. Paciente foi atendida pelo setor de otorrinolaringologia, com quadro febril, dor facial, histórico de rinite e asma, insuficiência respiratória das vias aéreas superiores, onde foi identificada lesão na mucosa nasal e em seio paranasal esquerdo. Paciente iniciou tratamento com antibiótico de amplo espectro sem sucesso. Realizada sinusotomia frontal, etmoidal e esfenoidal com biópsia, sendo que o material foi encaminhado para o Laboratório de Micologia da Irmandade da Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre, para realização de exame direto e cultivo. **Resultados:** O exame direto evidenciou a presença de hifas hialinas ramificadas. No cultivo isolou-se fungo filamento, onde a macroscopia da colônia apresentou textura de aspecto aveludado e cor verde-amarelada, e a microscopia revelou conidióforo hialino ampuliforme, com fiáides produzindo conídios esféricos, compatível com *Aspergillus flavus*. Paciente iniciou terapia antifúngica com Anfotericina B e Voriconazol, com evolução satisfatória. A ressonância magnética nuclear dos seios paranasais e mastóides não evidenciou alterações, recebendo alta hospitalar em nov/2006. **Conclusão:** A suspeição médica de rinossinusite fúngica, devido ao quadro de imunodepressão da paciente e fatores predisponentes associados, aliados a um diagnóstico laboratorial eficaz e correta conduta cirúrgica e medicamentosa, resultou em excelente evolução clínica do caso. **Palavras-chave:** Rinossinusite; Sinusite; *Aspergillus*; *A. flavus*.

¹ Doutoranda do Programa de Pós Graduação em Ciências Pneumológicas, UFRGS

² Laboratório de Micologia, Hospital Santa Rita, Irmandade da Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre/RS

³ Pesquisador CNPq 1B, Docente do Programa de Pós Graduação em Ciências Pneumológicas, UFRGS

10.4.2 Trabalho 2:

“Aspergillosis of the nose and paranasal sinuses: a review of 54 cases”

Este trabalho foi apresentado no **7th Trends In Mycology**, realizado de 09 a 12 de outubro de 2015, em Lisboa, Portugal, em formato de Pôster (código P238), e publicado na revista *Mycoses*, volume 58 (Suplemento 4), página 140, em 2015.

P238

Aspergillosis of the nose and paranasal sinuses: A review of 54 casesC. B. Severo,¹ I. E. Cardoso,² L. S. Guazzelli,³ F. M. Oliveira,³ and L. C. Severo³

¹Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, Porto Alegre, Brazil; ²Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil and ³Irmãdade Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre, Porto Alegre, Brazil

Introduction *Aspergillus* species are considered opportunistic fungi of increasing clinical importance. Information regarding extrapulmonary involvement is scarce.

Objective The aim of this study was to isolate the different species of *Aspergillus* in patients with rhinosinusitis.

Methods A retrospective study was conducted in a university hospital in Porto Alegre, Brazil (1986–2014). For mycological diagnoses, paranasal tissue obtained at surgery was subjected to histopathology examination and sent for fungal cultures.

Results Of the 54 samples analyzed, 34 the diagnosis was made by direct examination and culture and in 19 patients, the diagnosis was made exclusively by histology with the visualization of the *Aspergillus* conidiophore. In one patient, the diagnosis was by direct fluorescent antibody staining (*Aspergillus* and *Mucor*). The underlying causes of immunodeficiency were: six with transplantation (bone marrow, three; lung, two; kidney, one) and two with hematological disease (bone marrow neoplasia, one; leukemia, two). In the present study, the clinical manifestations of rhinosinusitis aspergillosis were: allergic, 20; fungus balls, 20; and acute invasive, 14. The strains isolated were: *Aspergillus fumigatus*, 14; *A. flavus*, six; *A. niger*, two; *A. terreus*, one; *A. fischeri*, one; and *Aspergillus* sp., three. Two concomitant species of *Aspergillus* were observed in two patients: *A. fumigatus* and *A. flavus*; and *A. fumigatus* and *A. niger*. In four patients, *Aspergillus* was associated with other fungi: *A. flavus* and *Fusarium*, one; *A. fumigatus* and *Rhizopus*, one; *A. flavus* and *Mucorales*, one; and *Aspergillus* sp. and *Mucorales*, one. The most common strains of *Aspergillus* that are responsible for paranasal sinus infections are *A. fumigatus*, *A. flavus*, and *A. niger*. **Conclusions** Fungal infection of the nose and paranasal sinuses is rare, although it has been reported more frequently in recent years, it is important to report this vast series on the theme, highlighting the main clinical, etiological and diagnostics findings, to alert clinicians as this pathological condition.

10.4.3 – Trabalho 3

“Non-*Aspergillus* fungal rhinosinusitis at a tertiary-care hospital and the first report of human infections by *Trichoderma asperellum*”

Este trabalho foi apresentado no **7th Trends In Mycology**, realizado de 09 a 12 de outubro de 2015, em Lisboa, Portugal, em formato de Pôster (código P284), e publicado na revista *Mycoses*, volume 58 (Suplemento 4), páginas 153 a 154, em 2015.

P284

Non-*Aspergillus* fungal rhinosinusitis at a tertiary-care hospital and the first report of human infections by *Trichoderma asperellum*

L. S. Guazzelli,¹ C. B. Severo,² I. E. Cardoso,³ F. M. Oliveira¹ and L. C. Severo¹

¹*Irmandade Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre, Porto Alegre, Brazil;*

²*Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, Porto Alegre, Brazil and* ³*Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil*

Objective Describe a cohort of 27 cases of fungal rhinosinusitis caused fungi other than *Aspergillus*, which have been diagnosed at university hospital in Porto Alegre, Brazil during a 24-year period, with a particular emphasis on their etiologic agent and the predisposing factors. In this series we also report the first case of rhinosinusitis and human infection by *T. asperellum*.

Methods A retrospective study was conducted in our institution (1989–2014). For mycological diagnoses, paranasal tissue obtained at surgery was subjected to histopathology examination and sent for fungal cultures, patients must have fulfilled the following criteria: positive nasal sinus cultures and/or biopsy specimens demonstrating fungal hyphae.

Results Fungal cultures were obtained in 20 cases and showed no growth in 07 cases. Classification of mycotic disease of the nose and paranasal sinuses in invasive (9) and non-invasive (18) based on clinical, radiological, and histopathological. A total of 14 of 27 cases were in women, and 13 cases were in men. The mean age of patients was 45.26 years. The most common pathogens were *Histoplasma capsulatum* (n = 4), *Scedosporium apiospermum* (n = 2), *Alternaria alternata* (n = 2), *Schizophyllum commune* (n = 2), *Pseudallescheria boydii* (n = 1), *Penicillium* sp (n = 1), *Absidia corymbifera* (n = 1), *Xylaria enteroleuca* (n = 1), *Trichoderma asperellum* (n = 1), *T. harzianum* (n = 1), *T. viride* (n = 1), *Fusarium solani* (n = 1), *Cladosporium* sp (n = 1) and *Cryptococcus neoformans* (n = 1). From the ones that have non-growth, four was classified as hyalohyphomycosis and three mucormycosis by the histopathological findings. In addition, we describe the first well-documented case of rhinosinusitis and human infection by *T. asperellum*, in a 44-year-old woman, with a history of asthma, chronic rhinosinusitis, and allergic rhinitis since childhood.

Conclusions Fungal infection of the paranasal sinuses is an uncommon disease. *Aspergillus* and *Mucor* are the most commonly implicated fungal organisms in invasive rhinosinusitis. Nevertheless, numerous fungi can colonize the paranasal sinuses, and it is not surprising that many them can cause symptomatic infections, but rarely documented. It is important to report this series of non-*aspergillus*.

11 ANEXOS

11.1 Anexo 1 – Casuística já publicada em períodos indexados

11.1.1 Série RSF aspergilar e associações concomitantes

- **CASO 44**

Publicado, em 1989, no artigo **Chronic Sinusitis Caused by Zygomycosis and Aspergillosis** do periódico *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*, volume 8 (4), páginas 317 e 318, de autoria de L. C. Severo, C. Guindani e G. R. Geyer.

- **CASO 45**

Publicado, em 2009, no artigo **Invasive *Aspergillus flavus* sinusitis: case report in a patient with biphenotypic acute leucemia** da *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, volume 51(1), páginas 57 e 58, tendo como autores Melissa Orzechowski Xavier, Flávio de Mattos Oliveira, Valdir de Almeida, Gabriel Prolla e Luiz Carlos Severo.

- **CASO 46**

Publicado, em 1986, no artigo **Aspergilose nasal com imagem radiológica de corpo estranho metálico** do *BJORL - Brazilian Journal of Otorhinolaryngology*, volume 52 (3), páginas 32 a 39, autores Moacyr Saffer, Luiz Carlos Severo e Mirian Namir Nunes.

11.1.2 Série RSF não aspergilar

- **CASO 5 / CASO 6 / CASO 7**

Publicados, em 2002, no artigo **Zygomycosis: A report of eleven cases and a review of the Brazilian literature** da Revista Iberoamericana de Micologia, volume 19 (1), páginas 52 a 56, tendo como autores de Luiz Carlos Severo, Flávio de Mattos Oliveira, Rodrigo Dreher, Paulo Zimmermann Teixeira, Nelson da Silva Porto e Alberto Thomaz Londero.

- **CASO 25**

Publicado, em 2006, no artigo **Sinusitis caused by the fungus Xylaria enteroleuca in a lung transplant recipient** do periódico Diagnostic Microbiology and Infectious Disease, volume 56 (2), páginas 207 a 212, tutelado por Josep Guarro, Luiz Carlos Severo, Josepa Gené, Flavio de Mattos Oliveira, Josep Cano, Guilherme Franche, Vlademir Vicente Cantarelli, Wiley A. Schell.

- **CASO 26**

Publicado, em 2004, no artigo **Respiratory tract intracavitary colonization due to scedosporium apiospermum. Report of four cases** da Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo, volume 46 (1), páginas 43 a 46, de autoria de Luiz Carlos Severo, Flávio de Mattos Oliveira e Klaus Irion.