

UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE

CENTRO DE EDUCAÇÃO E SAÚDE

UNIDADE ACADÊMICA DE SAÚDE

CURSO DE BACHARELADO EM FARMÁCIA

RHIZOPUS E MUCORMICOSE:

FATORES DE RISCO, PATOGENICIDADE E NOVAS OPÇÕES DE TRATAMENTO

CRISLAINE FLAVIANE MARQUES PAULO

Cuité-PB

2014

CRISLAINE FLAVIANE MARQUES PAULO

RHIZOPUS E MUCORMICOSE:

FATORES DE RISCO, PATOGENICIDADE E NOVAS OPÇÕES DE TRATAMENTO

Monografia apresentada ao CURSO DE BACHARELADO EM FARMÁCIA da Universidade Federal de Campina Grande, para obtenção do grau de Bacharel em Farmácia.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Igara Oliveira Lima

Cuité-PB

2014

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA NA FONTE
Responsabilidade Msc. Jesiel Ferreira Gomes – CRB 15 – 256

P331r Paulo, Crislaine Flaviane Marques.

Rhizopus e mucormicose: fatores de risco, patogenicidade e novas opções de tratamento. / Crislaine Flaviane Marques Paulo. – Cuité: CES, 2014.

48 fl.

Monografia (Curso de Graduação em Farmácia) – Centro de Educação e Saúde / UFCG, 2014.

Orientadora: Igara Oliveira Lima.

1. Rhizopus. 2. Mucormicose. 3. Cetoacidose. I. Título.

CDU 615

CRISLAINE FLAVIANE MARQUES PAULO

RHIZOPUS E MUCORMICOSE:

FATORES DE RISCO, PATOGENICIDADE E NOVAS OPÇÕES DE TRATAMENTO

Monografia apresentada ao CURSO DE BACHARELADO EM FARMÁCIA da Universidade Federal de Campina Grande, para obtenção do grau de Bacharel em Farmácia.

Aprovado em: / / 2014

BANCA EXAMINADORA

Prof.^a Dr.^a Igara Oliveira Lima
Orientadora – UFCG

Prof. Dr. . Fillipe de Oliveira Pereira
Examinador - UFCG

Prof. Dr. Carlos Márcio Moura Ponce de Leon
Examinador - UFCG

A todos aqueles que
contribuíram direta ou indiretamente
para a conclusão deste trabalho.

Aos mestres e aos amigos.

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, meus primeiros professores, responsáveis por moldar meu caráter e minha personalidade, que me ensinaram lições valiosas sobre a vida, agradeço pelo incentivo durante todos os anos de curso.

A todos os professores da Escola Estadual Orlando Venâncio Dos Santos, em especial a Maria Do Socorro Souza Alves e José Pereira Sobrinho, agradeço pelos anos dedicados à formação de meu conhecimento de base, meu senso crítico e meu gosto pela leitura, qualidades que me auxiliaram a aprimorar minha visão de mundo.

Aos professores do curso de Farmácia da Universidade Federal de Campina Grande, agradeço por todo o conhecimento que me foi passado nos últimos cinco anos, conhecimento este que me capacitou para atuar numa profissão tão vasta e interessante.

Ao Prof. Dr. Gecílio Pereira Da Silva, agradeço por ter despertado em mim o interesse pelo estudo da química, que foi de vital importância para meu desenvolvimento acadêmico e consequente formação.

À Prof.^a Dr.^a Igara Oliveira Lima, agradeço pela paciência e orientação sem as quais a conclusão deste trabalho não seria possível.

Por fim, agradeço a todos os colegas do curso de Farmácia pela amizade e companheirismo, em especial a Claudicely Sabino Lima e Cassianne Lins Silva por terem sido, além de colegas, professoras nas horas vagas.

A todos que contribuíram de alguma forma para a conclusão deste trabalho, obrigada.

“Em algum lugar, algo incrível está esperando para ser descoberto.”

Carl Sagan.

RESUMO

A zigomicose é uma infecção provocada por fungos da classe Zygomycetes, que apresenta uma alta taxa de mortalidade. De acordo com a ordem a qual pertence o fungo zigomiceto causador da doença; Mucorales ou Entomophthorales, a zigomicose também pode ser chamada de mucormicose ou entomofotoromicose. Um dos principais gêneros de fungos causadores dessa infecção é o *Rhizopus*, pertencente à ordem Mucorales. As principais formas clínicas da mucormicose provocada por *Rhizopus* spp. são as formas: pulmonar, rinocerebral, cutânea e gastrointestinal. A investigação sobre os principais mecanismos de patogenicidade deste fungo, os principais fatores de risco que o tornam um dos principais causadores de mucormicose e as novas opções de tratamento, foram o objetivo deste trabalho. O material utilizado nesta revisão foi obtido através da busca em bancos de dados gratuitos como Scielo, Pubmed, Bireme, Science Direct, Lilacs, Medline e Medscape. Os principais fatores de risco associados à infecção por *Rhizopus* spp. estão associados a falhas no sistema imunológico, como ocorre em pacientes transplantados, que estão fazendo uso de corticosteroides ou quimioterápicos. O diabetes *mellitus* também demonstrou ser um importante fator de risco na mucormicose. A cetoacidose diabética constitui o mais importante dos fatores de risco, pois acentua características patogênicas do *Rhizopus* spp como a angiomasia e a captação de ferro. O tratamento padrão da mucormicose é feito com anfotericina B que demonstrou ser nefrotóxica. Alguns autores relataram a atividade antifúngica de novas substâncias contra *Rhizopus* spp, como a colistina, quitosana e timol. Outros trabalhos demonstraram eficácia no tratamento utilizando-se combinações de antifúngicos conhecidos. Para tornar possível a elaboração de novas opções terapêuticas faz-se necessário o melhor entendimento sobre os mecanismos de patogenicidade do *Rhizopus* spp e consequente correlação com os fatores relacionados ao hospedeiro.

PALAVRAS-CHAVE: *Rhizopus*, MUCORMICOSE, CETOACIDOSE DIABÉTICA, CAPTAÇÃO DE FERRO.

ABSTRACT

Zygomycosis is an infection caused by fungi from class Zygomycetes, which has a high mortality rate. According to the order which belongs the fungus causing the disease; Mucorales and Entomophthorales, zygomycosis can also named mucormycosis or entomophthoromycosis. One of the main genres of fungi that cause infection are *Rhizopus*, belonging to the order Mucorales. The main clinical forms of mucormycosis caused by *Rhizopus spp.* are the forms: pulmonary, rhinocerebral, cutaneous and gastrointestinal. The research on the key mechanisms of pathogenicity of this fungus, the major risk factors that make a major cause of mucormycosis and new treatment options, was the objective of this work. The material used in this review was obtained by searching in databases free data as SciELO, PubMed, Bireme, Science Direct, Lilacs, Medline and Medscape. The main risk factors associated with infection by *Rhizopus spp.* are associated with failures in the immune system, as occurs in transplant patients, who are making use of corticosteroids or chemotherapy. Diabetes *mellitus* also proved to be an important risk factor for mucormycosis. Diabetic ketoacidosis is the most important risk factor because accentuates pathogenic characteristics of *Rhizopus spp.* as angioinvasion and iron uptake. The standard treatment of mucormycosis is done with amphotericin B was shown to be nephrotoxic. Some authors reported the antifungal activity against *Rhizopus spp.* new substances, such as colistin, chitosan and thymol . Other studies have shown efficacy in the treatment using combinations of known antifungal agents. To make possible the development of new therapeutic options is necessary to better understanding the mechanisms of pathogenicity of *Rhizopus spp.* and subsequent correlation with host risk factors.

KEYWORDS: *RHIZOPUS*, MUCORMYCOSIS, KETOACIDOSIS, IRON UPTAKE.

LISTA DE FIGURAS

| | |
|--|----|
| Figura 01. A) Esporângios contendo esporangióforos de <i>Rhizopus stolonifer</i> . B) Zigósporo de <i>Rhizopus stolonifer</i> . ----- | 17 |
| Figura 02. <i>Rhizopus microsporus</i> ----- | 18 |
| Figura 03. Mecanismos utilizados pela célula fúngica para internalizar o ferro capturado pelo sideróforo (Ibrahim et al., 2008 apud Ramanan et al., 2000; Heymann et al., 2002). ----- | 33 |

LISTA DE TABELAS

Tabela 01. Correlação entre os principais fatores de risco, a forma clínica manifestada e a porta de entrada da infecção. ----- 31

Tabela 02. Novas possibilidades de terapia farmacológica contra mucormicose. -- 37

SUMÁRIO

| | | | |
|-------|---|----------|-----------------------|
| 1. | INTRODUÇÃO | | |
| ----- | | | 11 |
| 2. | OBJETIVOS | | |
| ----- | | | 15 |
| 2.1. | Objetivo Geral | ----- | 15 |
| 2.2. | Objetivos específicos | ----- | 15 |
| 3. | METODOLOGIA | | |
| ----- | | | 16 |
| 4. | REFERENCIAL | | TEÓRICO |
| ----- | | | 17 |
| 4.1. | <i>Rhizopus</i> e mucormicose | ----- | 17 |
| 4.2. | Fatores de Risco | ----- | 19 |
| | 4.2.1. O meio ambiente e a porta de entrada | ----- | 19 |
| | 4.2.2. Fatores relacionados ao hospedeiro | ----- | 21 |
| | 4.2.2.1. Comprometimento do sistema imunológico | ----- | 21 |
| | 4.2.2.2. Diabetes <i>mellitus</i> e cetoacidose diabética | ----- | 22 |
| 4.3. | Patogenicidade | ----- | 22 |
| | 4.3.1. Angioinvasão | ----- | 23 |
| | 4.3.2. Captação de ferro | ----- | 23 |
| | 4.3.3. Termotolerância | ----- | 24 |
| | 4.3.4. Micotoxinas | ----- | 24 |
| 4.4. | Novas opções de tratamento | ----- | 24 |
| 5. | RESULTADOS | E | DISCUSSÃO |
| ----- | | | 27 |
| 6. | CONCLUSÃO | | |
| ----- | | | 40 |
| 7. | REFERÊNCIAS | | BIBLIOGRÁFICAS |
| ----- | | | 41 |

1. INTRODUÇÃO

Dentre os microrganismos patogênicos, os fungos são um grupo pouco entendido pelos microbiologistas. Até a idade média, acreditava-se em forças sobrenaturais como a causa dos males do corpo e da mente. A partir do século XVII, com o advento do microscópio, o mundo invisível dos microrganismos pôde ser observado e muitas descobertas foram feitas sobre diversas doenças (TORTORA; FUNKE; CASE, 2005). Tais descobertas evidenciaram a grande influência de bactérias, protozoários e vírus no surgimento de infecções, entretanto, os fungos representam apenas uma pequena parcela entre os microrganismos causadores de doenças. Poucas espécies do reino Fungi são consideradas patógenos primários, ou seja, capazes de iniciar uma infecção em pacientes imunocompetentes. Contudo, algumas espécies são capazes de infectar indivíduos imunocomprometidos, tais espécies são denominadas patógenos oportunistas (MURRAY; ROSENTHAL; PFALLER, 2010; CHAUMONT et al., 2013).

Apesar de poucas espécies serem patogênicas em humanos, 10% das infecções hospitalares nos últimos dez anos foram provocadas por fungos (TORTORA; FUNKE; CASE, 2005). Isso evidencia a necessidade de um conhecimento mais apurado sobre os patógenos oportunistas, as características que os tornam aptos a provocar infecções, os fatores que tornam o hospedeiro mais susceptível e as melhores formas de evitar ou combater estas infecções.

A zigomicose é uma infecção fúngica oportunista que apresenta várias manifestações clínicas, podendo ocorrer superficialmente ou de forma mais profunda, sendo localizada ou sistêmica. Os fungos causadores da zigomicose

pertencem à classe Zygomycetes; Esta classe abriga duas ordens de fungos responsáveis pela infecção, as ordens Mucorales e Entomophthorales, sendo assim a zigomicose também pode ser denominada mucormicose ou entomoftromicose, de acordo com a ordem a qual pertence o fungo causador (BROOKS et al., 2009).

Em 1885, Richard Paltauf, patologista austríaco, observou lesões disseminadas em um paciente com câncer, este foi um dos primeiros casos descritos de zigomicose. Esta infecção é comum no mundo inteiro e representa cerca de 5% a 12% dos casos de infecções fúngicas em pacientes com algum tipo de comprometimento imunológico (SIDRIM; ROCHA, 2010). A mucormicose é um tipo de zigomicose causado por fungos da ordem *Mucorales* e apresenta um desenvolvimento rápido e alto índice de mortalidade. As manifestações clínicas associadas à mucormicose são determinadas pela combinação de fatores como a quantidade de inóculo, a virulência do microrganismo infectante e a resistência imunológica do hospedeiro. A porta de entrada da infecção também constitui um fator importante para o desenvolvimento da doença. As manifestações clínicas da mucormicose se dividem em cinco tipos; cutânea ou subcutânea, pulmonar, gastrintestinal, rinocerebral e sistêmica (CHAUMONT et al., 2013).

A forma cutânea ou subcutânea ocorre quando os esporos do fungo são inoculados através da pele do hospedeiro, geralmente a partir de uma lesão preexistente ou de qualquer ponto no qual a integridade da pele foi comprometida. A infecção raramente ocorre em pele íntegra. Quando o fungo se desenvolve em uma lesão já existente, ocorre uma resposta inflamatória mais intensa e purulenta, com presença de abscessos, edema e necrose do tecido, podendo ser comprometidos não somente os tecidos cutâneos e subcutâneos como também os tecidos adjacentes à lesão, como músculos e fáscia, podendo também estender-se ao tecido ósseo ou progredir para a forma sistêmica quando o fungo é disseminado através da circulação sanguínea, ocasionando lesões nodulares ou papulosas na pele. A mucormicose cutânea pode estar associada a infecções por outros tipos de microrganismos, aumentando a gravidade e taxa de mortalidade da doença (SIDRIM; ROCHA, 2010).

A mucormicose pulmonar inicia-se através da inalação dos esporos através do ar, partículas de poeira ou gotículas de umidade. O quadro clínico inclui lesões

nodulares isoladas, envolvimento lobular, lesões cavitárias, hemoptise, erosão da artéria pulmonar, trombose de vasos, angioinvasão fúngica e consequentes infartos pulmonares. Lesões no trato respiratório superior também podem ser observadas. A princípio, esta forma de mucormicose pode ser confundida com pneumonia, tornando o diagnóstico correto mais difícil de ser realizado. Também através das vias respiratórias inicia-se a mucormicose rinocerebral. O fungo coloniza os seios nasais após a inalação dos esporos e dá início a um quadro clínico semelhante ao de uma sinusite, manifestando-se através de dor facial unilateral, cefaleia e febre, evoluindo para um quadro mais grave que inclui necrose dos seios paranasais com presença de secreção serosa acompanhada de pus e/ou sangue. Em casos mais graves a infecção pode alcançar o nervo óptico, atingindo o sistema nervoso central. Diversos quadros clínicos podem ser observados de acordo com o nível de comprometimento do tecido; edema periorbital e perda de visão podem ocorrer, assim como também ptose, paralisia facial, confusão mental e coma. A mucormicose rinocerebral é a forma mais comum de zigomicose representando cerca de metade dos casos relatados e também apresenta alta taxa de mortalidade (SIDRIM; ROCHA, 2010).

A mucormicose gastrintestinal é provocada pela ingestão de água ou alimentos contaminados por esporos. Esta forma manifesta-se através de dois quadros clínicos, diferenciados pelo nível de invasão fúngica; mucormicose gástrica invasiva e não invasiva. A forma invasiva é a mais comum, nela observa-se o surgimento de úlceras necróticas no estômago ou intestino podendo haver comprometimento do peritônio. A taxa de mortalidade da mucormicose gástrica invasiva chega a 98%. A forma não invasiva apresenta um quadro mais favorável e uma taxa de mortalidade consideravelmente menor, ocorre colonização fúngica da mucosa, entretanto, as lesões ulceradas são mais superficiais. Apesar da alta taxa de mortalidade da forma invasiva da doença, a mucormicose gastrintestinal é pouco frequente (HOSSEINI; LEE, 1998; SIDRIM; ROCHA, 2010).

A mucormicose sistêmica pode ocorrer através da disseminação do fungo a partir de outras formas clínicas da doença. A forma sistêmica apresenta uma evolução rápida e na maioria das vezes, fatal, o que torna o diagnóstico difícil de ser feito a tempo, fazendo com que a doença seja totalmente esclarecida apenas após a morte do paciente (SIDRIM; ROCHA, 2010).

O diagnóstico da mucormicose é multifatorial e engloba o diagnóstico histopatológico a partir da análise dos tecidos; o diagnóstico micológico, através de meios de cultura, para a identificação do agente causador; o diagnóstico sorológico que investiga a presença de anticorpos específicos e o diagnóstico clínico que avalia as condições do paciente. Assim como o diagnóstico, o tratamento para a mucormicose também depende de vários fatores. Cirurgia, terapia antifúngica e reversão das condições predisponentes são recursos utilizados para tratar a infecção e é importante frisar que o sucesso do tratamento está diretamente ligado à combinação dessas três medidas. O uso de antifúngicos e a correção dos fatores predisponentes são a principal parte do tratamento, sendo a cirurgia recomendada apenas em casos de lesões localizadas (BROOKS et al., 2006; SIDRIM; ROCHA, 2010).

As doenças provocadas por microrganismos são relativamente difíceis de tratar, pois estes estão em constante modificação, adaptando-se da melhor forma possível aos ambientes aos quais se expõem, o que os tornam cada vez mais resistentes aos medicamentos utilizados no tratamento de infecções. Com o objetivo de solucionar este problema, pesquisadores procuram todos os dias novas formas de tratamento para doenças de origem microbiana. Para isso faz-se necessário entender a forma como o microrganismo age, seus mecanismos de patogenicidade e os fatores que tornam o hospedeiro mais predisposto à infecção. A mucormicose requer atenção especial quanto a essa questão, pois se caracteriza como uma doença de rápida evolução e altas taxas de mortalidade, sobretudo pelo fato de acometer especialmente indivíduos hospitalizados.

Atualmente, existem dados na literatura que se reportam ao gênero *Rhizopus*, à sua importância para a clínica médica e suas características como fungo de meio ambiente e como patógeno. Tais informações se encontram armazenadas nos bancos de dados e nos acervos como resultado de diversas pesquisas.

Desde que o homem tornou-se capaz de pensar, adquiriu a habilidade de produzir conhecimento e desde que a humanidade desenvolveu a escrita, este conhecimento passou a ser armazenado. Milhares de anos depois a humanidade evoluiu, assim como a forma de se produzir e armazenar conhecimento.

Uma informação aleatória em lugar e tempo errados de nada serve. Para ser considerado conhecimento, uma informação precisa de uma aplicação. Portanto, o objetivo de uma revisão de literatura é catalogar em um documento informações sobre determinado tema, com a função de passar este conhecimento a quem necessita entender mais sobre tal assunto. Este trabalho reúne informações sobre as principais espécies do gênero *Rhizopus* que causam mucormicose, destacando seus mecanismos de patogenicidade, fatores de risco associados à infecção e novas formas de tratamento utilizadas.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

Realizar uma revisão da literatura sobre o gênero fúngico *Rhizopus*, os aspectos que envolvem sua patogenicidade, os fatores de risco associados ao surgimento de mucormicose em indivíduos imunocomprometidos e as novas opções de terapia para esta infecção.

2.2. Objetivos específicos

- Realizar um estudo mais aprofundado sobre os principais fatores que determinam o desenvolvimento de mucormicose em indivíduos com algum tipo de comprometimento imunológico.
- Analisar de que forma estes fatores afetam a patogenicidade de *Rhizopus spp.*
- Avaliar possíveis novas formas de tratamento para mucormicose.
- Sumarizar dados quem venham a ser úteis para futuras pesquisas sobre *Rhizopus spp.*

3. METODOLOGIA

De acordo com Prestes (2008) a elaboração de uma revisão divide-se em cinco partes: A escolha do tema, a coleta do material, a seleção e organização do material coletado e a redação final do trabalho.

O material utilizado como fonte de pesquisa para este trabalho incluiu livros e artigos científicos publicados em periódicos especializados, obtidos através de portais eletrônicos de dados de acesso gratuito como Scielo, Pubmed, Bireme, Science Direct, Lilacs, Medline e Medscape. O material incluiu artigos publicados desde o ano de 1943 até o ano de 2013. As palavras utilizadas na busca de artigos incluíram os termos: mucormicose pulmonar, mucormicose, mucormicose em imunocompetentes, *Rhizopus oryzae*, mucormicose e fatores de risco, tratamento e mucormicose, *Rhizopus* e patogenicidade, anfotericina B. Os termos foram buscados em inglês e em português.

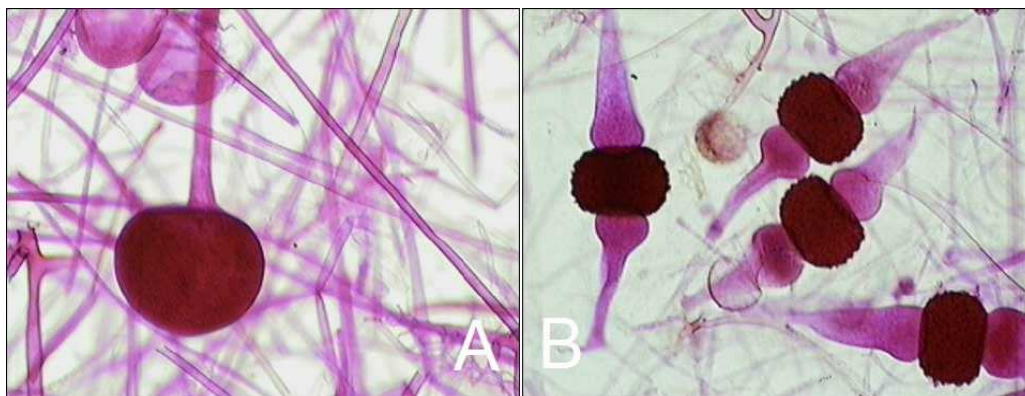
O trabalho foi redigido de forma a explicar os dados de forma clara, direta e concisa, agrupando as informações encontradas de modo a servir como uma fonte de conhecimento de fácil entendimento sobre o tema escolhido.

4. REFERENCIAL TEÓRICO

4.1. *Rhizopus* e mucormicose

A classe dos Zygomycetes engloba fungos que podem ser encontrados em todas as partes do mundo, comumente achados no solo e em matéria orgânica em decomposição. Os Zygomycetes são fungos que apresentam crescimento rápido, são hialinos, produtores de hifas cenocíticas, cuja reprodução assexuada se dá através da produção de esporangiósporos e a reprodução sexuada se dá por via dos zigósporos. Os esporangiósporos são formados por mitose no interior dos esporângios, uma estrutura semelhante a uma bolsa, localizada na extremidade do esporangióforo. Os esporangiósporos se desenvolvem no interior do esporângio e quando maduros são liberados no ambiente. A reprodução assexuada ocorre de forma contínua. A reprodução sexuada se dá através da fusão de hifas gaméticas, formando o zigosporângio, que por sua vez contém o zigósporo (SIDRIM; ROCHA, 2010). As estruturas morfológicas da espécie *Rhizopus stolonifer* podem ser observadas na figura 1.

Figura 1. A) Esporângios contendo esporangióforos de *Rhizopus stolonifer*. B) Zigósporo de *Rhizopus Stolonifer*.

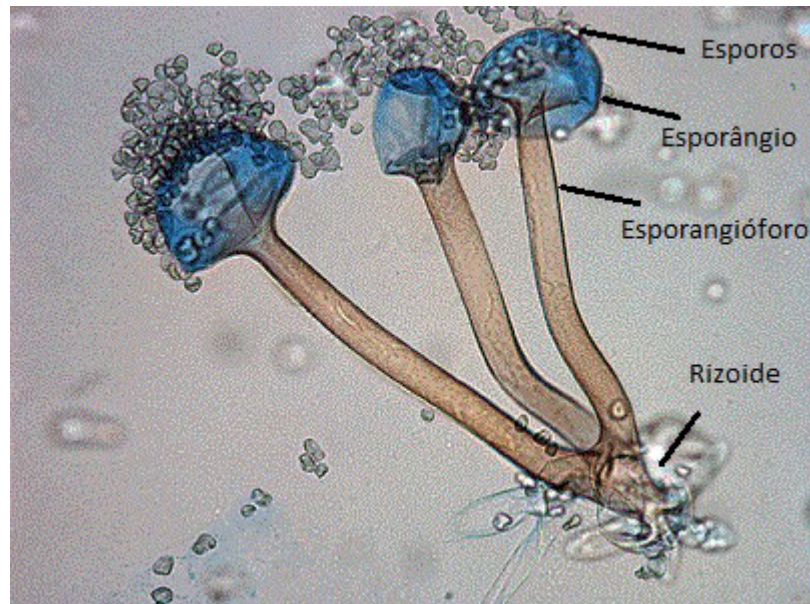


Fonte: Site Microfour.

Disponível em: <<http://microfour.wordpress.com/2012/06/18/taxonomy-images-of-organisms/>>

A classe dos Zygomycetes subdivide-se em duas ordens principais de fungos oportunistas, Mucorales e Entomophthorales. A ordem Mucorales contém diversas famílias, entre elas Cunninghamellaceae, Mortierellaceae, Saksenaceae, Syncephalastraceae, Thamnidaceae e Mucoraceae. A família Mucoraceae contém oito gêneros associados à mucormicose; *Absidia*, *Apophysomyces*, *Rhizomucor*, *Mucor* e *Rhizopus*. Estes dois últimos gêneros abrigam mais da metade das espécies causadoras de mucormicose. No gênero *Rhizopus*, as espécies apontadas como agentes causadores são *Rhizopus oryzae*, *Rhizopus microsporus* (figura 2), *Rhizopus stolonifer*, *Rhizopus azygosporus* e *Rhizopus schipperae*, sendo as duas últimas pouco relatadas como patógenos humanos. O gênero *Rhizopus* mantém características comuns com outros gêneros da ordem Mucorales, incluindo *Mucor*, outro gênero frequentemente relatado como patógeno da mucormicose. Essas características comuns incluem o mesmo habitat, morfologia, reprodução e alguns mecanismos de patogenicidade semelhantes (SPELLBERG; EDWARDS; IBRAHIM, 2005).

Figura 2. *Rhizopus microsporus*.



Fonte: University of Adelaide

Disponível em:

<http://www.mycology.adelaide.edu.au/Fungal_Descriptions/Zygomycetes/Rhizopus/rhizopodiformis.html>

A mucormicose raramente ocorre em indivíduos imunocompetentes, sendo necessária para seu desenvolvimento, uma falha no sistema imunológico do hospedeiro. Esta falha pode advir de diversas origens, havendo vários fatores de risco relacionados à infecção. A mucormicose rinocerebral, por exemplo, está associada à cetoacidose diabética, lesões na pele são o principal fator responsável pelo surgimento da forma cutânea da mucormicose e desnutrição e úlceras gástricas são condições que favorecem o desenvolvimento da forma gastrointestinal. Outros fatores incluem uso prolongado de esteroides, antibióticos e substâncias quelantes de ferro e quimioterapia (TRABULSI; ALTERTHUM, 2008).

Não somente condições relacionadas ao hospedeiro, mas também características relativas ao patógeno são determinantes para o estabelecimento da infecção. A mucormicose é uma infecção oportunista, o que implica dizer que sua principal causa é uma falha no sistema imunológico do hospedeiro, entretanto, os fungos que provocam esta infecção apresentam características patogênicas que tornam ainda mais fácil a invasão ao organismo do indivíduo. Termotolerância,

angioinvasão, produção de metabólitos tóxicos e sideróforos são algumas das características que tornam os fungos da ordem Mucorales aptos a iniciar infecções (SIDRIM; ROCHA, 2010).

4.2. FATORES DE RISCO PARA O DESENVOLVIMENTO DA MUCORMICOSE

4.2.1. O meio ambiente e a porta de entrada

O desencadeamento de uma infecção envolve diversos fatores que influenciam na interação entre microrganismo e hospedeiro. O ambiente no qual patógeno e hospedeiro convivem também apresenta sua parcela de contribuição e a porta de acesso do microrganismo ao hospedeiro é o que molda o quadro clínico da infecção.

Através da via de acesso, o patógeno instala-se no organismo do hospedeiro causando dano aos tecidos e provocando a resposta imunológica. Os fungos causadores de mucormicose apresentam distribuição cosmopolita e habitat próximo a seres humanos, são geralmente encontrados no solo, no ar e contaminando alimentos como pães e frutas, facilitando a ocorrência de infecções (RIBES et al., 2000).

A mucormicose apresenta três portas de entrada principais por onde é iniciada a infecção: vias aéreas, pele e sistema digestório. A via respiratória é a mais comum das portas de entrada. Esta via é o foco inicial de pelo menos duas formas clínicas de mucormicose, a respiratória e a rinocerebral. Após a inalação de esporos, o fungo propaga-se pelo aparelho respiratório e invade o sistema nervoso central. A pele também pode servir de porta de entrada, mesmo que menos frequentemente. A mucormicose cutânea é rara, fungos causadores de micoses oportunistas na pele são geralmente pertencentes à ordem Entomophthorales. (RIBES et al., 2000).

O trato digestório também constitui uma porta de entrada importante, a ingestão de produtos contaminados pode se dar através de várias fontes como leite fermentado, pães embolorados, vegetais, bebidas alcoólicas fermentadas a partir de grãos de milho ou até mesmo medicamentos fitoterápicos e homeopáticos feitos a partir de matéria prima contaminada (LAWSON et al., 1974).

O ambiente que o hospedeiro divide com o patógeno é apenas a primeira variável a ser considerada durante o início de uma infecção, fatores ligados à fisiologia do próprio hospedeiro também contribuem para o desenvolvimento da doença.

4.2.2. Fatores relacionados ao hospedeiro

4.2.2.1. Comprometimento do sistema imunológico

Os fatores de risco relacionados à mucormicose envolvem o comprometimento do sistema imunológico. Em indivíduos imunocompetentes o sistema imunológico é capaz de evitar a infecção através da ativação dos fagócitos que podem destruir os patógenos dentro e fora da célula dependendo da forma como são ativados (ROILDES, 2012).

A ativação dos fagócitos pode ocorrer através da interação entre esporos e hifas com receptores de superfície, como os receptores do tipo Toll, subtipo 2 (TLR2) (RIBES et al., 2000), quando ativados por essa via os fagócitos destroem o

patógeno dentro da célula. A outra forma de ativação é através da resposta ao Interferon- γ liberado pelos linfócitos (CHAMILOS et al., 2008), neste caso a destruição ocorre fora da célula.

Após a ligação entre o patógeno e receptores, os fagócitos são ativados e combatem o invasor através de dois mecanismos; um dependente de oxigênio e outro não dependente. Pela via dependente de oxigênio, os fagócitos produzem superóxido, substância com atividade antimicrobiana, o superóxido é transformado em peróxido de hidrogênio através da superóxido desmutase, o peróxido de hidrogênio então reage, tendo a mieloperoxidase como catalisador o que resulta na produção de hipoclorito e cloraminas que possuem atividade.

Na via não dependente de oxigênio são produzidos elementos que destroem a membrana celular do patógeno, como peptídeos catiônicos e lisozimas. Proteases e lactoferrinas também fazem parte do processo de destruição na via não dependente de oxigênio (GONZÁLEZ-CHAVEZ et al., 2009; ROILDES, 2012).

A destruição extracelular ocorre após a ativação dos fagócitos pelo Interferon- γ . Após ativação, os macrófagos liberam óxido nítrico que possui atividade antimicrobiana, e produzem fatores de necrose tumoral, que estimulam a resposta inflamatória (SCHMIDT et al., 2012).

Toda e qualquer disfunção envolvendo o sistema imunológico caracteriza um fator de risco para aquisição de mucormicose. Condições clínicas como leucemia, diabetes, uso de corticosteroides, quimioterápicos, drogas imunossupressoras, antibióticos ou quelantes de ferro (RIBES et al., 2000).

4.2.2.2. Diabetes *Mellitus* e cetoacidose diabética

A diabetes *mellitus* é uma condição na qual o nível sérico de glicose está aumentado devido à resistência que as células do corpo adquiriram à insulina, hormônio que auxilia a absorção de glicose pelas células. Impedidas de usar a glicose como fonte de energia, as células desencadeiam um processo para utilizar a energia armazenada em forma de gordura. Este processo resulta na liberação de

corpos cetônicos na corrente sanguínea, o que resulta na diminuição do pH sanguíneo, quadro conhecido como cetoacidose diabética (GROSS et al., 2002).

A diabetes é o principal fator de risco para o desenvolvimento da mucormicose (GREGORY et al., 1943 apud RIBES et al., 2000). A cetoacidose diabética causa a diminuição da capacidade fagocítica de macrófagos e a atividade oxidativa de neutrófilos (LANTERNIER; LORTHOLARY, 2009). Isso torna possível não só a proliferação de esporos como também o crescimento de hifas (RIBES et al., 2000).

4.3. PATOGENICIDADE

É a capacidade inerente a um microrganismo de causar dano ao tecido do hospedeiro. O microrganismo causa dano ao hospedeiro não como sendo sua função principal, mas como resultado de sua sobrevivência dentro do hospedeiro. Após a invasão ao organismo do hospedeiro, o patógeno metaboliza nutrientes e se reproduz, gerando metabólitos durante esse processo, que são nocivos ao hospedeiro (BROOKS et al., 2006).

Fungos oportunistas, como *Rhizopus* spp., não são normalmente patogênicos em seres humanos. Entretanto, em situações de comprometimento imunológico, o hospedeiro torna-se susceptível à invasão. Alguns atributos capacitam o microrganismo a invadir um indivíduo sem defesa imunológica eficaz. Esses atributos provêm de vários mecanismos gerando várias formas diferentes de invasão e lesão dos tecidos por parte do patógeno (IBRAHIM et al., 2012; ROILDES et al., 2012).

4.3.1. Angioinvasão

É um recurso utilizado pelo patógeno para se disseminar pelo organismo do hospedeiro. Durante este processo o patógeno adere à superfície das células

endoteliais, a partir de onde pode alcançar quaisquer outros órgãos e tecidos do hospedeiro. Ao chegar a outros tecidos, o microrganismo continua o mesmo processo de dano. A propagação do patógeno através da corrente sanguínea pode desencadear a forma disseminada da infecção (GOEL et al., 2010).

4.3.2. Captação de ferro

O ferro é um elemento essencial ao metabolismo, não apenas do patógeno, mas também do hospedeiro. Para garantir o ferro para si, o organismo do hospedeiro produz proteínas de transporte como a transferrina e lactoferrina que retiram do soro o máximo possível de ferro disponível para o patógeno (GONZÁLEZ-CHÁVEZ et al., 2009).

Em contrapartida, o patógeno desenvolve meios de absorver o ferro do hospedeiro. Um artifício frequentemente utilizado pelo patógeno para sequestrar ferro do hospedeiro é a produção de compostos sideróforos. Estes compostos são substâncias com alta afinidade pelo ferro, capazes de retirá-lo das proteínas carreadoras e transportá-lo para o interior da célula fúngica (TOBIN et al., 1984; SYMEONIDIS, 2009).

4.3.3. Termotolerância

O aumento da temperatura corporal é um dos recursos utilizados pelo hospedeiro para combater o patógeno. O calor é responsável por matar ou inativar alguns microrganismos e assim controlar a infecção. Entretanto, alguns patógenos desenvolveram a habilidade de resistir a variações de temperatura, esses microrganismos são conhecidos como termofílicos ou termotolerantes. Algumas espécies de *Rhizopus* apresentam esta característica (BROOKS et al., 2006).

4.3.4. Micotoxinas

Dentro do hospedeiro, o patógeno continua seu ciclo de vida, realizando processos essenciais para sua nutrição, desenvolvimento e reprodução. Durante esses processos o microrganismo produz metabólitos diversos que são, na maioria das vezes, tóxicos ao hospedeiro. A estes metabólitos, quando produzidos por fungos, dá-se o nome de micotoxinas (TRABULSI; ALTERTHUM, 2008).

4.4. NOVAS OPÇÕES DE TRATAMENTO

O tratamento padrão para mucormicose é feito com anfotericina B, um fármaco do grupo dos polienos, isolado da bactéria *Streptomyces nodosus*. Este fármaco liga-se de forma irreversível ao esterol da membrana plasmática do fungo, alterando sua permeabilidade e fazendo a célula perder nutrientes essenciais (BROOKS et al., 2006).

A anfotericina B apresenta-se sob diversas formas, entre elas: dispersão coloidal, complexo lipídico e em lipossomas (FILIPPIN; SOUZA. 2006). Apesar de ser um antifúngico potente, de larga abrangência, a anfotericina B é altamente tóxica, seu uso pode causar danos renais, alterando a filtração glomerular e causando disfunção tubular (BROOKS et al., 2006). Para solucionar este problema, novas estratégias de tratamento estão sendo buscadas.

Entre as principais novas substâncias estudadas como tratamento da mucormicose estão as equinocandinas, as azasordarinas, a quitosana, a colistina e alguns derivados do óleo essencial do tomilho (*Thymus vulgaris*), um subarbusto da família Lamiaceae (POULOSE; CROTEAU, 1978).

As equinocandinas são uma classe de fármacos que agem inibindo a enzima beta-glicana sintase, impedindo a formação da glicano e obstruindo a integridade da parede celular do fungo. O principal agente desta classe é a caspofungina (BROOKS et al., 2006)..

As azasordarinas são compostos derivados das sordarinas, substâncias que inibem a replicação do DNA fúngico e impedem a divisão celular (DOMINGUEZ et al., 1998).

A quitosana é um derivado da quitina, polissacarídeo presente em crustáceos e insetos (MUZZARELLI, 1978 apud DIAS; QUEIROZ, 2008).

A colistina (polimixina E) é um composto extraído do *Bacillus colistinus*, utilizado como antibiótico. O uso de colistina como antifúngico demonstra que este composto apresenta atividade tanto em células procarióticas como também em células eucarióticas (FALAGAS; KASIAKOU, 2005).

Uma opção alternativa, utilizada em conjunto com a terapia farmacológica é a oxigenoterapia hiperbárica. Neste processo utiliza-se a inalação de oxigênio em pressões maiores que a pressão atmosférica dentro de uma câmara hermeticamente fechada (SILVA, 2006).

Devido à toxicidade apresentada pela anfotericina B, droga de primeira escolha no tratamento da mucormicose, a busca por novas opções de tratamento têm sido realizadas. As novas opções estudadas envolvem em sua maioria, combinações entre fármacos (SPELLBERG et al., 2012).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A mucormicose é uma doença predominantemente oportunista, característica de indivíduos com deficiências no sistema imunológico. No entanto, casos de mucormicose em indivíduos imunocompetentes já foram relatados (PREVOO et al., 1991; SONG et al., 1999; SANTANA et al., 2001; KUMAR et al., 2003; DEBONI et al., 2006; OLIVEIRA et al., 2006; LINEBERRY et al., 2012; HEYDARI et al., 2013;). Até o fechamento deste trabalho, oito relatos de casos foram encontrados e serão descritos a seguir.

Em sete dos oito casos relatados os pacientes apresentaram a forma cutânea da mucormicose, e dos sete, apenas dois ocorreram em homens, como relataram Kumar et al. (2003) e Deboni et al. (2006). Oliveira e colaboradores (2006) descreveram a lesão inicial como sendo avermelhada, de bordas salientes e com presença de placas eritematosas, a descrição foi semelhante também à relatada por Heydari et al. (2013).

Prevo et al. (1991) relataram o início da mucormicose após a picada de um inseto, este tipo de infecção não é comum, mas já foi relatado antes (PILLSBURY; FISCHER, 1977 apud RIBES et al., 2000). Song e colaboradores (1999) relataram um caso de infecção por *R. oryzae* após um acidente de trânsito. O surgimento da mucormicose em decorrência de um trauma mecânico é comum devido ao contato da pele lesionada com fragmentos do solo (RIBES et al., 2000).

Santana e colaboradores (2001) descreveram um caso de mucormicose rinocerebral em uma mulher imunocompetente. A paciente relatou dor no ouvido após a retirada de um inseto. O quadro evoluiu rapidamente para paralisia e edema facial, cefaleia, rigidez na nuca e presença de secreção purulenta.

Os relatos descritos notificam os casos de mucormicose em indivíduos imunocompetentes, entretanto, não se propõem a explicar tal acontecimento. Fatores de risco relacionados à mucormicose cutânea (Tabela 01) incluem o uso de material hospitalar contaminado, o hábito de fazer tatuagens, pele acometida de

queimadoras graves e o uso de drogas injetáveis (ADELMAN et al., 1969; IGELZI et al., 1975; GORDON et al., 1988; FONG et al., 1990 apud RIBES et al., 2000).

O meio ambiente não é influência apenas para a forma cutânea da mucormicose, mas também abriga fatores de risco que podem desencadear as outras manifestações clínicas. A exposição ocupacional dada pela via respiratória é comum entre trabalhadores de madeiras, devido à presença do *R. oryzae* nesses ambientes (WIMANDER et al., 1980; EATON et al., 1994; O'CONNELL et al., 1995 apud RIBES et al., 2000); casos de mucormicose rinocerebral em trabalhadores de construções e escavações já foram relatados e além disso, outra fonte de infecção comum são ares-condicionados com filtros sujos (ENGLAND et al., 1981; MUNCKHOF et al., 1993; LUEG et al., 1996 apud RIBES et al., 2000).

O trato digestório também constitui uma porta de entrada importante (Tabela 01). A ingestão de produtos contaminados pode se dar através de várias fontes como leite fermentado, pães embolorados, vegetais, bebidas alcoólicas fermentadas a partir de grãos de milho ou até mesmo medicamentos fitoterápicos e homeopáticos produzidos a partir de matéria prima contaminada (LAWSON et al., 1974).

O meio ambiente oferece diversos fatores de risco, entretanto o mais importante deles está ligado ao hospedeiro. Apesar dos casos descritos de mucormicose em imunocompetentes, a grande maioria dos casos ocorre em indivíduos que apresentam alguma falha imunológica. Segundo Richardson et al. (2008), os Zygomycetes constituem a segunda maior causa de infecção em pacientes hematológicos graves ou que realizaram transplante de órgãos (LANTERNIER et al., 2012).

Segundo Lanternier et al. (2012), mais da metade dos pacientes transplantados que adquiriram mucormicose apresentam a forma pulmonar da doença, 20% - 40% a forma rinocerebral, 10% - 15% apresentam sério comprometimento do sistema nervoso central, 10% desenvolvem a forma disseminada e 38% - 48% morrem. Doenças hematológicas, uso de corticosteroides, quimioterápicos e fármacos quelantes do ferro também são fatores de risco frequentemente descritos como críticos para o surgimento de uma infecção por *Rhizopus* spp. (NOSARI et al., 2000; VENTO et al., 2003; JAIN et al., 1978; SYMEONIDIS, 2009).

Qualquer condição patológica que afete o sistema imunológico pode ser considerada fator de risco para o desenvolvimento de mucormicose, ainda assim, o diabetes *mellitus* continua sendo o maior de todos, principalmente quando associada à cetoacidose, de acordo com o observado neste trabalho de revisão e na Tabela 01.

Chinn e Diamond. (1982) demonstraram que a hiperglicemia associada à cetoacidose provoca a redução da migração de neutrófilos para o foco da infecção. O experimento de Chinn avaliou a eficiência de neutrófilos contra *R. oryzae* em presença de soro humano, com e sem cetoacidose. No soro normal a atividade metabólica do fungo foi suprimida e o crescimento de hifas foi reduzido. No soro ácido, entretanto, isso não ocorreu. O pH desempenha um papel importante no desempenho dos neutrófilos. Artis et al. (1982), também observaram a influência do pH na inibição do crescimento do *R. oryzae* em soro humano. Neste experimento observou-se o crescimento do fungo tanto em soros de indivíduos com cetoacidose quanto em soros que foram artificialmente acidificados.

Sheldon e Bauer (1959) relataram os resultados da inoculação intranasal de coelhos com o fungo *R. oryzae*. As cobaias dividiram-se em dois grupos; coelhos diabéticos e coelhos saudáveis. Após a inoculação, os coelhos saudáveis apresentaram lesões restritas ao local da inoculação e o crescimento de hifas foi inibido com sucesso pelo sistema imunológico das cobaias. Achados histológicos mostraram rápida migração de leucócitos para o local da inoculação e infiltração nos tecidos infectados, resultando no controle da proliferação do fungo.

Nos coelhos diabéticos, entretanto, a resposta foi mais lenta. A migração de leucócitos para o local da infecção só foi observada somente cerca de duas horas após a inoculação e quatro horas depois apenas um número pequeno de granulócitos foi encontrado nos tecidos inoculados. Enquanto o sistema imunológico dos coelhos saudáveis foi capaz de conter a infecção desde o local de inoculação, nos coelhos diabéticos observou-se a rápida invasão do fungo para outros tecidos, sendo relatadas lesões nos seios nasais e nos pulmões. Em experimento semelhante, também foram relatadas lesões nasais e pulmonares em coelhos diabéticos inoculados com *R. oryzae*, ao passo que os coelhos saudáveis do grupo de controle apresentaram lesão restrita ao tecido inoculado (SHELDON; BAUER, 1959).

Waldorf et al. (1984) conduziram em ratos, experimento semelhante ao que Sheldon e Bauer (1959) realizaram em coelhos. Todos os ratos diabéticos inoculados com *R. oryzae* por via intranasal desenvolveram mucormicose pulmonar, 90% morreram, a maioria em menos de quatro dias. Achados histológicos mostraram necrose do tecido pulmonar e invasão de hifas em estruturas vasculares. O grupo de ratos não diabéticos utilizado como controle não desenvolveu infecção.

Vários estudos têm sido realizados desde a década de 1950 relacionando diabetes e mucormicose. Entretanto, o mecanismo exato correlacionando todos os fatores envolvidos não foi totalmente elucidado (LANTERNIER; LORTHOLARY, 2009).

Devido a essas falhas no sistema imunológico, fungos oportunistas como *Rhizopus* spp. desenvolvem mecanismos para burlar toda e qualquer defesa do hospedeiro e se espalhar pelo seu organismo. Um desses mecanismos é a angioinvasão corresponde à disseminação do patógeno pelos tecidos do hospedeiro através da circulação sanguínea. Para se disseminar através da corrente sanguínea, o fungo precisa inicialmente, aderir às células do endotélio (GOEL et al., 2010).

Ibrahim e colaboradores (2005) conduziram um experimento *in vitro* no qual se testou a capacidade do *R. oryzae* de aderir à células endoteliais da veia umbilical humana (Human Umbilical Vein Endothelial Cells – HUVECs). Como resultado, Ibrahim e seus colaboradores observaram que não apenas o *R. oryzae* aderiu às células endoteliais como também foi fagocitado por elas. Após a fagocitose, o *R. oryzae* provocou dano às células.

Este experimento demonstrou que o fungo precisa ser fagocitado para danificar as células, mas não precisa estar em sua forma viável. Os pesquisadores utilizaram citocalasina D como inibidor da fagocitose e comprovaram a ausência de dano às células que não fagocitaram o fungo. Utilizando amostras inviáveis de *R. oryzae*, os pesquisadores verificaram que mesmo estando morto, o fungo é capaz de danificar as células que o fagocitam. Ibrahim e seus colaboradores acreditam que este fenômeno ocorre devido à produção de uma toxina pelo *R. oryzae*, que danifica as células mesmo após a morte do fungo (IBRAHIM, et al., 2005).

Tendo por base essa informação, Liu e colaboradores (2010) investigaram a relação entre os receptores das células endoteliais e a fagocitose do *R. oryzae*. Testes *in vitro* mostraram certa afinidade do fungo pelo receptor GRP78 (glucose-regulated protein 78), expresso na superfície das células endoteliais, que se ligou ao *R. oryzae* provocando fagocitose. Neste experimento também avaliou-se a relação entre a expressão do receptor GRP78 e três fatores relacionados à cetoacidose diabética: pH sérico baixo, hiperglicemia e concentração alta de ferro sérico.

Através de três testes *in vitro*, os pesquisadores observaram que: quando incubadas em pH ácido, as células endoteliais aumentaram a expressão do receptor GRP78, em comparação com células incubadas em pH próximo ao sanguíneo nas quais não foi observado aumento na expressão do receptor; houve aumento na expressão do receptor quando as células foram incubadas em pH ácido e em presença de ferro; também houve aumento na expressão do receptor quando as células foram incubadas em pH ácido na presença de glicose (LIU et al., 2010).

Acidificação do pH e excesso de glicose e ferro sérico são características de um dos principais fatores de risco para o desenvolvimento de infecção por *R. oryzae*, a cetoacidose diabética. Sendo assim, com base nos resultados obtidos *in vitro*, Liu e colaboradores (2010) teorizaram que os resultados obtidos seriam os mesmos se testados *in vivo*.

Para a conclusão deste experimento, Liu e colaboradores (2010) testaram sua hipótese em ratos cetoacidóticos. Achados histológicos evidenciaram a maior expressão do receptor GRP78 nos ratos cetoacidóticos em comparação com o grupo de ratos saudáveis. Após induzir o bloqueio deste receptor, os ratos cetoacidóticos não desenvolveram mucormicose e o dano tecidual provocado pelo fungo foi reduzido em 40%, o que sugere a possibilidade de usar o bloqueio deste receptor como uma nova estratégia no tratamento da doença.

Este experimento fornece uma hipótese para explicar a maior incidência de mucormicose em indivíduos com cetoacidose diabética, apresentando o receptor endotelial GRP78 como o link entre o *R. oryzae* e fatores como glicemia, pH sanguíneo e concentração de ferro no soro (LIU et al., 2010).

Os três sinais clássicos da cetoacidose diabética incluem hiperglicemia, pH sérico baixo e concentração de ferro mais alta que o normal. Artis et al. (1982) demonstraram experimentalmente que este excesso de ferro sérico é uma consequência da redução do pH. Artis observou em seu experimento que em pH baixo a transferrina proteína transportadora de ferro, tem sua capacidade reduzida, o que aumenta a quantidade de ferro no soro. A alta concentração de ferro sérico não ligado à transferrina significa ferro disponível para o desenvolvimento de patógenos.

Tabela 1. Correlação entre os principais fatores de risco, a forma clínica manifestada e a porta de entrada da infecção.

| PRINCIPAIS FATORES DE RISCO | FORMA CLÍNICA | PORTA DE ENTRADA DA INFECÇÃO | REFERÊNCIA |
|---|---|---|--|
| Contato traumático com solo e matéria orgânica em decomposição, material hospitalar contaminado, tatuagens, uso de drogas injetáveis. | Mucormicose cutânea | Pele lesionada | Adelman et al., (1969); Igelzi et al., (1975); Gordon et al., (1988); Fong et al., (1990). |
| Ingestão de água ou alimentos contaminados. | Mucormicose gastrointestinal. | Trato gastrointestinal | Lawson et al., (1974). |
| Diabetes cetoacidótica. | Mucormicose pulmonar, rinocerebral e sistêmica. | Não requer porta de entrada específica. | Sheldon e Bauer (1959); Waldorf et al. (1984). |
| Uso de deferoxamina. | Mucormicose pulmonar, rinocerebral e sistêmica. | Não requer porta de entrada específica. | Boelaert et al. (1994); Kaneko et al., (1991). |

Os fungos captam o ferro do hospedeiro através de três mecanismos distintos. Em um dos mecanismos, o fungo capta do hospedeiro o ferro (III) e o reduz a ferro (II) através de uma reação catalisada por uma redutase, em seguida internaliza o ferro através de uma permease. Outro mecanismo é a captação de

ferro através da ligação com o grupo heme. Um terceiro mecanismo envolve a produção de compostos de baixo peso molecular com alta afinidade pelo ferro, os sideróforos, ou o uso de outros compostos com afinidade pelo ferro, não produzidos pelo fungo, os xenossideróforos (RAMANAN et al., 2000; HEYMANN et al., 2002 apud IBRAHIM et al. 2008).

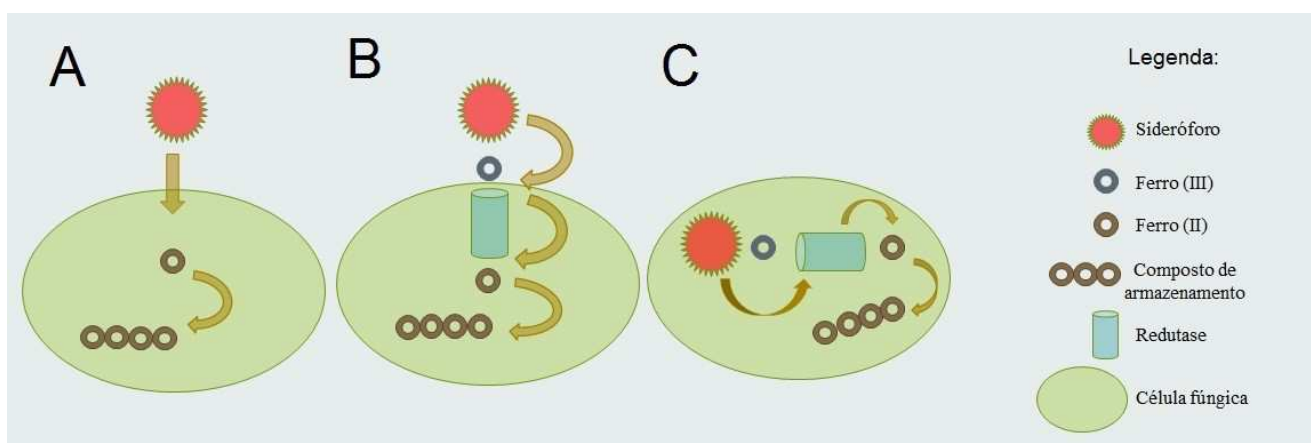
Existem três mecanismos gerais utilizados pelos fungos para internalizar o ferro capturado pelos sideróforos. Em um dos mecanismos, o sideróforo transfere o ferro para um composto de armazenamento interno sem entrar na célula. Em outro mecanismo, o ferro trazido pelo sideróforo é primeiramente reduzido de ferro (III) a ferro (II) e só então internalizado. No terceiro mecanismo, o complexo ferro-sideróforo é totalmente internalizado, dentro da célula o ferro é reduzido e transferido para um composto de armazenamento, em seguida o sideróforo sai da célula para nova captação (WINKELMANN, 1993 apud IBRAHIM et al. 2008).

A rhizoferrina é um exemplo de composto sideróforo produzido pelo *R. microsporus*. Loch e colaboradores (1994) descreveram o mecanismo pelo qual o *R. microsporus* utiliza a rhizoferrina na captação do ferro com o auxílio da deferoxamina, um fármaco quelante de ferro utilizado por pacientes que fazem hemodiálise (Figura 03).

Locht determinou experimentalmente que a rhizoferrina secretada pelo *R. microsporus* sequestra o ferro quelado pela deferoxamina e em seguida o transfere para uma redutase. Após a redução, o ferro é internalizado pela célula fúngica através de uma permease (LOCHT et al., 1994).

O mecanismo descrito por Loch e colaboradores (1994) evidencia a relação entre o uso de fármacos quelantes e o desenvolvimento de infecção por *Rhizopus* spp (Tabela 01). A princípio pode parecer contraditório o fato de uma substância responsável pela diminuição de ferro disponível no soro auxiliar no desenvolvimento de patógenos, entretanto, casos de mucormicose em usuários deste tipo de substância são frequentemente relatados (KANEKO et al., 1991). Boelaert et al. (1994) demonstraram que apesar de ser um composto quelante, a deferoxamina possui menor afinidade com o ferro se comparada à rhizoferrina, sideróforo produzido pelo *R. microsporus*. A maior afinidade da rhizoferrina com o ferro permite que esta o retire da deferoxamina e o leve até a célula fúngica.

Figura 3. A) 1. O sideróforo transfere o ferro para a célula fúngica. 2. O ferro liga-se a um composto de armazenamento interno. B) 1. O ferro (III) trazido pelo sideróforo é transferido para a enzima redutase. 2. O ferro (III) é reduzido a ferro (II). 3. O ferro liga-se ao composto de armazenamento. C) 1. O complexo ferro-sideróforo é internalizado. 2. O sideróforo transfere o ferro para a enzima redutase. 3. O ferro é reduzido. 4. O ferro liga-se ao composto de armazenamento. 5. O sideróforo sai da célula para nova captação (RAMANAN et al., 2000 HEYMANN et al., 2002 apud IBRAHIM et al., 2008).



Outro recurso utilizado pelo patógeno contra as defesas do hospedeiro é a termotolerância, habilidade na qual o microrganismo adquire resistência ao aumento da temperatura dentro do organismo do hospedeiro. Peixoto et al. (2006), Cordova et al. (2003) e Arnthong et al. (2010) afirmam que o *R. microsporus* não só é termotolerante como também é capaz de produzir enzimas termoestáveis.

Chen e Chen (2004) afirmaram que além do *R. microsporus*, o *R. stolonifer* também apresentam termotolerância. Em experimento conduzido pelos pesquisadores, estas espécies foram submetidas a temperaturas maiores que 40° C. Em resposta ao estímulo térmico, os fungos produziram proteínas de choque térmico.

Angioinvasão, captação de ferro e termotolerância são exemplos de artifícios utilizados pelos microrganismos para sobreviver em seu hospedeiro. Tais artifícios causam indiretamente, dano aos tecidos do hospedeiro. A produção de toxinas danifica diretamente o hospedeiro e constitui outra forma de agressão por parte do fungo aos tecidos do hospedeiro. A rhizonina é uma toxina isolada de culturas de *R. microsporus* e durante muito tempo foi descrita como sendo uma micotoxina produzida por este fungo (PARTIDA-MARTINEZ et al. (2006).

Através de estudos filogenéticos, Partida-Martinez et al. (2006) constataram que a rhizonina é na verdade fruto de uma simbiose entre o fungo e uma bactéria do gênero *Burkholderia*. Utilizando-se microscopia eletrônica de transmissão observou-se a presença da bactéria no citosol do fungo. Quando a bactéria foi eliminada através do uso de antibióticos, o fungo tornou-se incapaz de produzir rhizonina. Em contrapartida, quando cultivada isoladamente, a bactéria do gênero *Burkholderia* produziu a toxina.

Os resultados da revisão bibliográfica sobre as novas opções de tratamento para a mucormicose estão resumidos na Tabela 02. O tratamento padrão para mucormicose consiste no uso de anfotericina B e cirurgia quando necessário. Esta terapia, apesar de eficiente, não evita a alta taxa de mortalidade da doença que vem crescendo nos últimos anos (SPELLBERG et al., 2005). Em decorrência disso, novas opções terapêuticas têm sido estudadas.

Bem-Ami e colaboradores (2010), experimentaram a atividade antifúngica da colistina (polimixina E) contra Mucorales *in vitro* e *in vivo*. Neste experimento observou-se atividade da colistina tanto contra esporos quanto contra hifas de espécies de Mucorales (Tabela 02). A espécie *R. oryzae* apresentou um rápido crescimento após a inibição inicial, este crescimento foi evitado combinando-se a colistina com uma dose subinibitória de anfotericina B.

A colistina destrói as membranas plasmáticas e vacuolares do *R. oryzae*, provocando o vazamento de conteúdo celular e levando a célula fúngica à morte. A atividade antifúngica da colistina também foi testada *in vivo*. Ratos imunossuprimidos foram profilaticamente tratados com uma administração intranasal de colistimetato e em seguida inoculados com esporos de *R. oryzae*. A taxa de

mortalidade entre os ratos tratados com colistimetato foi consideravelmente menor que a dos que não foram profilaticamente tratados (BEM-AMI et al., 2010).

Mota e colaboradores (2012) testaram a eficácia do óleo essencial do tomilho (*Thymus vulgaris*) e de seus principais constituintes contra *R. oryzae*. O óleo essencial apresentou atividade tanto fungicida quanto fungistática. O mecanismo de ação proposto envolve uma interação com o ergosterol presente na membrana plasmática do fungo, o que altera a sua permeabilidade e causa o vazamento de nutrientes (Tabela 02). Herreros et al. (2001) atestou uma forte atividade inibitória de diferentes tipos de azosorinas em *R. stolonifer in vitro*.

A atividade antifúngica da quitosana contra *R. stolonifer* também já foi relatada por Ragab et al (2001). Uma solução de carboximetil quitosana em NaOH foi aplicada em tomates. Nas concentrações de 1% e 2%, a solução reduziu o crescimento de *R. stolonifer* em 34.3% e 37.5% respectivamente. Em concentrações a partir de 3%, a solução de carboximetil quitosana inibiu completamente o crescimento de *R. stolonifer* em tomates. O citrato de quitosana também foi avaliado e na concentração de 0.25% reduziu em 59.7% o crescimento do fungo em tomates. Em concentrações a partir de 0.50% houve inibição total do crescimento (Tabela 02).

Outra alternativa para o tratamento da mucormicose é a combinação de fármacos antifúngicos. As principais combinações relatadas como sendo efetivamente eficazes utilizam anfotericina B; caspofungina, uma equinocandina e posaconazol, fármaco que atua inibindo a síntese do ergosterol, lipídeo presente na membrana celular dos Zygomycetes (Tabela 02).

Spellberg e colaboradores (2005) testaram a eficiência da combinação entre anfotericina B complexo lipídico e caspofungina, em ratos com mucormicose disseminada e cetoacidose diabética. O índice de sobrevivência foi maior em ratos tratados com a combinação de fármacos em comparação aos que foram tratados apenas com a anfotericina B. Entretanto, quando utilizada profilaticamente, a combinação apresentou eficácia semelhante à anfotericina B sozinha (Tabela 02).

Reed et al. (2008) testaram essa mesma combinação no tratamento de pacientes com mucormicose rinocerebral. Os resultados encontrados por Reed e colaboradores (2008) foram semelhantes aos encontrados por Spellberg e

colaboradores. O desempenho da combinação de anfotericina B complexo lipídico com caspofungina foi maior do que o desempenho da anfotericina B sozinha (Tabela 02).

Tabela 2. Novas possibilidades de terapia farmacológica contra mucormicose;

| INTERVENÇÃO FARMACOLÓGICA | TESTE <i>IN VITRO</i> | TESTE <i>IN VIVO</i> | ALVO DO TESTE | EFETIVIDADE | REFERÊNCIA |
|---|-----------------------|----------------------|------------------------|--------------|--|
| Colistina (polimixina E) | X | X | Ratos | Positiva | Bem-Ami et al. (2010) |
| Derivados do tomilho (<i>Thymus vulgaris</i>) | X | | <i>Rhizopus oryzae</i> | Positiva | Mota et al. (2012) |
| Quitosana | | X | <i>Rhizopus oryzae</i> | Positiva | Ragab et al. (2001) |
| Anfotericina B + Caspofungina | | X | Ratos | Positiva | Spellberg et al. (2005) |
| Anfotericina B + Caspofungina | | X | Humanos | Positiva | Reed et al. (2008) |
| Posaconazol + Caspofungina | X | | <i>Rhizopus oryzae</i> | Positiva | Guembe et al. (2007) |
| Anfotericina B + Posaconazol. | | X | Ratos | Positiva | Rodriguez et al. (2008) Luo et al. (2013) |
| Anfotericina B + Posaconazol. | X | | <i>Rhizopus oryzae</i> | Positiva | Perkhofer et al. (2008) |
| Anfotericina B + Deferasirox | | X | Humanos | Positiva | Ibrahim et al., (2007) |
| Oxigeno terapia hiperbárica + Anfotericina B | | X | Ratos | Inconclusiva | Barratt et al. (2001) |
| Oxigeno terapia | | | Humanos | Positiva | Lineberry et al. |

hiperbárica + Anfotericina

X

(2012)

B

Guembe et al. (2007) observaram a eficácia do posaconazol em associação com a caspofungina contra fungos Zygomycetes *in vitro*. Segundo os pesquisadores, o posaconazol potencializa o efeito da caspofungina, alterando a permeabilidade da membrana plasmática ligando-se ao ergosterol e facilitando o alcance do sítio de ação da caspofungina (Tabela 02).

Rodriguez e colaboradores (2008) testaram a eficácia da combinação entre anfotericina B e posaconazol em ratos com mucormicose disseminada. Após a administração da combinação, observou-se aumento da sobrevida dos ratos tratados bem como a recuperação dos tecidos lesionados em comparação aos dois fármacos quando administrados separadamente (Tabela 02).

Luo et al. (2013) testaram essa mesma combinação em ratos com mucormicose pulmonar. Este experimento também evidenciou maior sobrevida das cobaias tratadas com a combinação e recuperação dos tecidos lesionados pela infecção. Perkhofer e colaboradores (2008) também verificaram a eficácia da combinação entre posaconazol e anfotericina B contra fungos Zygomycetes *in vitro* (Tabela 02).

Outros dois fármacos que vêm sendo relatados como eficazes no tratamento da mucormicose são deferiprona e deferasirox recém-descobertos quelantes de ferro. De acordo com Ibrahim et al. (2006, 2007), Reed et al. (2006) e Lewis et al. (2011), estes dois fármacos são uma alternativa ao uso de deferoxamina, pois possuem maior afinidade pelo ferro, evitando sua perda para os compostos sideróforos produzidos pelo fungo. Segundo os pesquisadores Ibrahim et al. (2007), estes fármacos também apresentaram atividade fungicida *in vitro* quando associados a anfotericina B.

Segundo Barratt et al. (2001), outra estratégia que vem sendo relatada como bem sucedida no tratamento da mucormicose é o uso adjunto da oxigenoterapia hiperbárica. Uma das características dos fungos causadores de mucormicose é a angiomasia. Este processo resulta em embolismo, trombose e hipóxia dos tecidos

com consequente acidose láctica que por sua vez, favorece o crescimento de fúngico, formando um círculo vicioso.

Desta forma a terapia com oxigênio surge como alternativa para evitar a hipóxia dos tecidos e quebrar o círculo vicioso. Lineberry e colaboradores (2012) relataram o uso bem sucedido da oxigenoterapia hiperbárica como auxiliar no tratamento de um caso de mucormicose cutânea em paciente imunocompetente, numa conduta que também incluiu o uso de anfotericina B lipossomal e cirurgia (Tabela 02).

Barratt e seus colaboradores (2001) avaliaram a eficácia da combinação entre anfotericina B e oxigênio hiperbárico a 2 atm. aplicado duas vezes ao dia em ratos com mucormicose. Não houve diferença significativa entre as cobaias tratadas com essa combinação e as que foram tratadas com anfotericina B e ar, nas mesmas condições. Segundo os pesquisadores, experimentos futuros utilizando oxigênio hiperbárico de forma mais agressiva devem ser feitos para que se possa acatar ou descartar essa hipótese de tratamento.

6. CONCLUSÃO

As micoses oportunistas são ainda hoje a causa de inúmeras mortes entre indivíduos com algum distúrbio no sistema imunológico. O gênero *Rhizopus* em particular, é responsável por grande parte das mortes atribuídas às micoses oportunistas devido à alta taxa de mortalidade atrelada a todas as suas formas de infecção. Os principais fatores de risco associados a esta infecção incluem doenças hematológicas, uso de corticosteroides, quimioterápicos, fármacos quelantes de ferro e principalmente diabetes *mellitus*.

A forma clínica mais grave da mucormicose é a rinocerebral que apresenta rápida evolução com desfecho na maioria das vezes fatal e acomete sobretudo diabéticos. O diabetes é uma afecção de distribuição cosmopolita, o que a torna um fator de risco crucial no desenvolvimento desta infecção, principalmente por ser responsável por parte das características patogênicas do gênero *Rhizopus*. Há indícios de que a ligação entre *Rhizopus* spp. e diabetes esteja ligada ao receptor GRP78, expresso pelas células endoteliais em presença de hiperglicemia. Este receptor seria o responsável por facilitar a endocitose e o dano celular causado por este fungo.

Analisando-se mais profundamente a relação entre o gênero *Rhizopus* e todos os aspectos que o tornam um patógeno oportunista tão perigoso, como seus

mecanismos de patogenicidade e os fatores de risco aos quais seus hospedeiros estão expostos, percebe-se que existem poucos estudos a este respeito. Pesquisas sobre *Rhizopus* spp. remontam da década de 1950, entretanto, detalhes sobre seus mecanismos de patogenicidade ainda estão sendo investigados. A mucormicose é uma doença agressiva e seu tratamento está associado a vários efeitos adversos. Apesar de apresentar toxicidade razoavelmente elevada, a anfotericina B ainda é o fármaco de escolha no tratamento da infecção por *Rhizopus* spp.

Contudo, poucas pesquisas estão sendo realizadas com novas substâncias e as novas opções de tratamento propostas resumem-se a combinações entre antifúngicos já utilizados. Como solução, é necessário maior entendimento sobre a relação entre o patógeno e o hospedeiro.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADELMAN, L. S.; ARONSON, S. M.; The neuropathologic complications of narcotics addiction. **Bulletin of the New York Academy of Medicine**. 45:225–233, 1969.

ARNTHONG, J.; WANITCHAPLOY, B.; SAKAI, K.; SANGLIER, J. KITPREECHAVANIC, V. Statistical screening of factors affecting glucoamylase production by a thermotolerant *Rhizopus microsporus* TISTR 3518 using Plackett-Burman design. **African Journal of Biotechnology**, 43: 7312-7316, 2010.

ARTIS, W.M.; FOUNTAIN, J.A.; DELCHER, H.K.; JONES, H.E. A mechanism of susceptibility to mucormycosis in diabetic ketoacidosis: transferrin and iron availability. **Diabetes**, 31(12): 1109-1114, 1982.

BARRATT, D.M.; VAN METER, K.; ASMAR, P.; NOLAN, T.; TRAHAN, C.; GARCIA-COVARRUBIAS, L.; METZINGER, S.E. Hyperbaric Oxygen as an Adjunct in Zygomycosis: Randomized Controlled Trial in a Murine Model. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, 12: 3601-3602, 2001.

BEN-AMI, R.; LEWIS, R.E.; TARRAND, J.; LEVENTAKOS, K.; KONTOYIANNIS, D.P. Antifungal Activity of Colistin against *Mucorales* Species *In Vitro* and in a Murine Model of *Rhizopus oryzae* Pulmonary Infection. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, 1: 484–490, 2010.

BOELAERT, R.J.; DE LOCHT, M.; VAN CUTSEM, J.; KERRELS, V.; CANTINIEAUX, V.; VERDONOCK, A.; VAN LANDUYT, H.W.; SCHNEIDERT, Y. Mucormycosis during Deferoxamine Therapy Is a Siderophore-mediated Infection. **Journal of Clinical Investigation**, 91: 1979-1986, 1993.

BOELAERT, J.R.; VAN CUTSEM, J.; DE LOCHT, M.; SCHNEIDER, Y.; CRICHTON, R.R. Deferoxamine augments growth and pathogenicity of *Rhizopus*, while

hydroxypyridinone chelators have no effect. **Kidney International**, 45: 667–671, 1994.

BROOKS, G.F.; CARROLL, K.V.; BUTEL, I.S.; MORSE, S.A.; **Microbiologia Médica Lange**, 24^a ed. 2006.

CHAMILOS, G.; LEWIS, R.E.; LAMARIS, G.; WALSH, T.J.; KONTOYIANNIS, D.P. *Zygomycetes* Hyphae Trigger an Early, Robust Proinflammatory Response in Human Polymorphonuclear Neutrophils through Toll-Like Receptor 2 Induction but Display Relative Resistance to Oxidative Damage. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, 2: 722–724, 2008.

CHAUMONT, A.; PIERRET, C.; JANVIER F.; GOUDART, Y.; DE KERANGAL, X.; CHAPUIS, O. Mucormycosis: A rare complication of an amputation. **Annals of Vascular Surgery**, j.avsg. 2013.

CHEN, K.; CHEN, Z. Heat shock proteins of thermophilic and thermotolerant fungi from Taiwan. **Botanical Bulletin of Academia Sinica**, 45: 247-257, 2004.

CHINN, R.Y.; DIAMOND, R.D. Generation of chemotactic factors by *Rhizopus oryzae* in the presence and absence of serum: relationship to hyphal damage mediated by human neutrophils and effects of hyperglycemia and ketoacidosis. **Infection and Immunity**, 38(3): 1123-1129, 1982.

CÓRDOVA; ROUSSOS, S.; BARATTI, J.; NUNGARAY, J.; LOERA, O. Identification of mexican thermophilic and thermotolerant fungal isolates. **Micologia Aplicada Internacional**, 15(2): 37-44, 2003.

DEBONI, M. C. Z.; POZZANI, V. R.; LISBOA, T.; HIRAKI, K.; VIPLICH, R.; NACLÉRIO-HOMEM, M. G.; Mucormycosis in an immunocompetent patient: Follow-up of 1 year after treatment, **Acta Oto-rinolaringológica**, 126 (9): 993-996, 2006.

DIAS, F.S.; QUEIROZ, D.C; Um sistema simples para preparação de microesferas de quitosana. **Química Nova**, 31(1): 160-163, 2008.

DOMINGUEZ, J.M.; KELLY, V.A.; KINSMAN, O.M.; MARRIOTT, M.S.; DE LAS HERAS, F.G.; MARTIN, J.J. Sordarins: A New Class of Antifungals with Selective Inhibition of the Protein Synthesis Elongation Cycle in Yeasts. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, 42(9): 2274–2278, 1998.

ENGLAND, A. C.; WEINSTEIN, M.; ELLNER, J. J.; AJELLO. L.; Two cases of rhinocerebral zygomycosis (mucormycosis) with common epidemiologic and environmental features. **American Review of Respiratory Disease**.124:497–498. 1981.

FALAGAS, M.E.; KASIAKOU, S.K. Colistin: The Revival of Polymyxins for the Management of Multidrug-Resistant Gram-Negative Bacterial Infections. **Clinical Infectious Diseases**, 40: 1333–1341, 2005.

FILIPPIN, F.B.; SOUZA, L.C. Eficiência terapêutica das formulações lipídicas de anfotericina B. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, 42(2), 2006.

FONG, K. M.; SENEVIRATNE, E. M. E.; McCORMACK, J. G.; Mucor cerebral abscess associated with intravenous drug abuse. **Australian and New Zealand Journal of Medicine**. 20:74–77. 1990.

GARCIA-COVARRUBIAS, L.; BARLETT, R.; BARRATT, D.; WASSERMANN, M. Rhino-orbitocerebral Mucormycosis Attributable to *Apophysomyces elegans* in an Immunocompetent Individual: Case Report and Review of the Literature. **Journal of Trauma-Injury**, 50(2): 353-357, 2001.

GOEL, A.; KINI, U.; SHETTY, S. Role of histopathology as an aid to prognosis in rhino-orbito-cerebral zygomycosis. **Indian Journal of Pathology Microbiology**, 53(2): 253-257, 2010.

GONZALEZ-CHAVEZ, S.A.; GALLEGOS, S.A.; RASCON-CRUZ, Q. Lactoferrin: structure, function and applications. **International Journal of Antimicrobial Agents**, 33, 2009.

GORDON, G., INDECK, I. M.; BROSS, J.; DAPOOR, K. A.; BROTMAN, S.; Injury from silage wagon accident complicated by mucormycosis. **Journal of Trauma**. 28:866–867. 1988.

GREGORY, J. E.; GOLDEN, A.; HAYMAKER, W.; Mucormycosis of the central nervous system: a report of three cases. **Bulletin of John's Hopkins Hospital**. 73, 405–419, 1943.

GROSS, J.L.; SILVEIRO, S.P.; CAMARGO, J.L.; REICHELT, A.J.; DE AZEVEDO, M.J. Diabetes Melito: Diagnóstico, Classificação e Avaliação do Controle Glicêmico. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia Metabólica**, 46(1), 2002.

GUEMBE, M.; GUINEA, J.; PELÁEZ, T.; TORRES-NARBONA, M.; BOUZA, E. Synergistic Effect of Posaconazole and Caspofungin against Clinical Zygomycetes. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, 51(9): 3457–3458, 2007.

HERREROS, E.; ALMELA, M.J.; LOZANO, S.; DE LAS HERAS, F.G.; GARGALLO-VIOLA, D. Antifungal Activities and Cytotoxicity Studies of Six New Azasordarins. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, 45(11): 3132–3139, 2001.

HEYDARI, A.A.; FATA, A.; MOITABAVI, M. Chronic Cutaneous Mucormycosis in an Immunocompetent Female. **Iranian Red Crescent Medical Journal**, 15(3): 254-255, 2013.

HOSSEINI, M.; LEE, J. Gastrointestinal Mucormycosis Mimicking Ischemic Colitis in a Patient With Systemic Lupus Erythematosus. **American Journal of Gastroenterology**, 93(8), 1998.

IBRAHIM, A.S.; EDWARDS, J.E.; FU, Y.; SPELLBERG, B. Deferiprone iron chelation as a novel therapy for experimental mucormycosis. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, 58: 1070–1073, 2006.

IBRAHIM, A.; SPELLBERG, B.; AVANESSIAN, V.; FU, Y.; EDWARDS, J.E. *Rhizopus oryzae* Adheres to, Is Phagocytosed by, and Damages Endothelial Cells In Vitro. **Infection And Immunity**, 73(2): 778–783, 2005.

IBRAHIM, A.S.; GEBERMARIAM, T.; FU, Y.; LIN, L.HUSSEINY, M.I.; FRENCH, S.W.; SCHWARTZ, J.; SKORY, C.D.; EDWARDS, J.E.; SPELLBERG, B.J. The iron chelator deferasirox protects mice from mucormycosis through iron starvation. **Journal of Clinical Investigation**, 117: 2649–2657, 2007.

IBRAHIM, A.S.; SPELLBERG, B.J.; WALSH, T.J.; KONTOYIANNIS, D.P. Pathogenesis of Mucormycosis. **Clinical Infectious Diseases**, 54(1): 16–22, 2012.

IFELZI, R. J.; VANDERARK, G. D.; Cerebral mucormycosis following open head trauma: a case report. **Journal of Neurosurgery**. 42:593–596. 1975.

JAIN, J.K.; MARKOWITZ, A.; KHILANANI, P.V.; LAUTER, C.V. Localized mucormycosis following intramuscular corticosteroid. Case report and review of the literature. **American Journal of the Medical Sciences**, 275(2): 1978.

KANEKO, T.; ABE, F.; LTO, M.; HOTCHI, M.; YAMADA, K.; OKADA, Y. Intestinal Mucormycosis in a Hemodialysis Patient Treated with Desferrioxamine. **Pathology International**, 41(7): 561–566, 1991.

KUMAR, A.; KHILNANI, G.C.; AGGARWAL, S.; KUMAR, S.; BANERJEE, U.; XESS, I. Primary Cutaneous Mucormycosis in an Immunocompetent Host: Report of a Case. **Surgery Today**, 33(4): 319–322, 2003.

LANTERNIER, F.; LORTHOLARY, O. Zygomycosis and diabetes *mellitus*. **Clinical Microbiology and Infection**, 15 (5): 21–25, 2009.

LANTERNIER, F.; SUN, H.Y.; RIBAUD, P.; SINGH, N.; KONTOYIANNIS, D.P.; LORTHOLARY, O. Mucormycosis in Organ and Stem Cell Transplant Recipients. **Clinical Infectious Diseases**, 54(11): 1629–1636, 2012.

LAWSON, H.H.; SCHMANAN, A. Gastric phycomycosis, **British Journal of Surgery**, 61(9): 743–746, 1974.

LEWIS, R.E.; PONGAS, G.N.; ALBERT, N.; BEN-AMI, R.; WALSH, T.J.; KONTOYIANNIS, D.P. Activity of Deferasirox in *Mucorales*: Influences of Species and Exogenous Iron. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, 55(1): 411–413, 2011.

LINEBERRY, K. D.; BOETTCHER, A. K.; BLOUNT, A. L.; BURGESS, S. D.; Cutaneous mucormycosis of the upper extremity in an immunocompetent host: case report, **Journal of Hand Surgery**, 37(4): 787–91, 2012.

LIU, M.; SPELLBERG, B.; FAN, Q.Y.; FU, Y.; FU, Y.; LEE, A.S.; EDWARDS, J.E.; FILLER, S.G.; IBRAHIM, A.S. The endothelial cell receptor GRP78 is required for mucormycosis pathogenesis in diabetic mice. **Journal of Clinical Investigation**, 120(6): 1914–1924, 2010.

LOCHT, M.; BOELAERT, J.R.; SCHNEIDER, Y.J. Iron uptake from ferrioxamine and from ferrirhizoferrin by germinating spores of *Rhizopus microsporus*. **Biochemical Pharmacology**, 47(10): 1843-1850, 1994.

LUEG, E.; A.; BALLAGH, R. H.; FORTE, V.; Analysis of the recent cluster of invasive fungal sinusitis at the Toronto Hospital for Sick Children. **Journal of Otolaryngology**. 25:366–370. 1996.

LUO, G.; GEBREMARIAM, T.; LEE, H.; FRENCH, S.W.; WIEDERHOLD, N.P.; PATTERSON, T.F.; FILLER, S.G.; IBRAHIM, A.S. Efficacy of Liposomal Amphotericin B and Posaconazole in Intratracheal Models of Murine Mucormycosis. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, 57(7): 3340–3347, 2013.

MOTA, K.S.L.; PEREIRA, F.O.; OLIVEIRA, W.A.; LIMA, I.O; LIMA, E.O. Antifungal Activity of *Thymus vulgaris* L. Essential Oil and Its Constituent Phytochemicals against *Rhizopus oryzae*: Interaction with Ergosterol. **Molecules**, 17: 14418-14433, 2012.

MUNCKHOF, W.; JONES, R.; TOSOLINI, F. A.; MARZEC, A.; ANGUS, P.; GRAYSON, M. L.; Cure of *Rhizopus* sinusitis in a liver transplant recipient with liposomal amphotericin B. **Clinical Infectious Diseases**. 16:183. 1993;

MURRAY, P. R.; ROSENTHAL, K. S.; PFALLER, M. A.; **Microbiologia Médica**, 6^a ed, São Paulo, 2010.

MUZARELLI, R. A. A.; Chitin, 1^a ed., Pergamon Press Ltd: Oxford, 1978.

NOSARI, A.; ORESTE, P.; MONTILLO, M.; CARRAFIELLO, G.; DRAISCI, M.; MUTI, G.; MOLTENI, A.; MORRA, E. Mucormycosis in hematologic malignancies: an emerging fungal infection. **Haematology Journal**, 85(10): 1068-1071, 2000.

OLIVEIRA NETO, M.; SILVA, M.; MONTEIRO, P.; LAZERA, M.; PAES, R.; NOVELLINO, A.; CUZZI, T. Cutaneous mucormycosis in a young, immunocompetent girl. **Medical Micology**, 44(6): 567-570, 2006.

PARTIDA-MARTINEZ, L.P.; LOOß, C.F.; ISHIDA, K.; ,ISHIDA, M.; ROTH, M.; BUDER, K.; HERTWECK, C. **Applied and Environmental Microbiology**, 73(3): 793-797, 2006.

PEIXOTO, S.C.; JORGE, J.E.; TERENCEI, H.F.; POLIZELI, M.L.T.M. *Rhizopus microsporus* var. *rhizopodiformis*: a thermotolerant fungus with potential for production of thermostable amylases. **International Microbiology**, 6: 269–273, 2006.

PERKHOFER, S.; LOCHER, M.; CUENCA-ESTRELLA, M.; RUCHEL, R.; WURZNER, R.; DIERICH, M.P.; LASS-FLOR, C. Posaconazole Enhances the Activity of Amphotericin B against Hyphae of Zygomycetes In Vitro. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, 52(7): 2636–2638, 2008.

PETRIKKOS, G.; SKIADA, A.; LORTHOLARY, O.; ROILDES, E.; WALSH, T.J.; KONTOYIANNIS, D.P. Epidemiology and Clinical Manifestations of Mucormycosis. **Clinical Infectious Diseases**, 54(1): 23–34, 2012.

POULOSE, A.J.; CROTEAU, R. Biosynthesis of aromatic monoterpenes: Conversion of γ -terpinene to *p*-cymene and thymol in *Thymus vulgaris* L. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, 187(2): 307–314, 1978.

PREVOO, R.; STARINK, T.; HAAN, P. Primary cutaneous mucormycosis in a healthy young girl: *Report of a case caused by Mucor hiemalis* Wehmer. **Journal of the American Academy of Dermatology**, 24: Pages 882–885, 1991.

RAGAB, M.M.; MONA, M.M.; RAGAB, M.A.; EL-NAGAR, N.A.; FARRAG, S.E. Effect of chitosan and its derivatives as an antifungal and preservative agent on storage of tomato fruits. **Egypt Journal of Phytopathology**, 29(2): 107-116, 2001.

REED, C.; IBRAHIM, A.; EDWARDS, J.E.; WALOT, I.; SPELLBERG, B. Deferasirox, an Iron-Chelating Agent, as Salvage Therapy for Rhinocerebral Mucormycosis. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, 50(11): 3968–3969, 2006.

REED, C.; IBRAHIM, A.; BRYANT, R.; EDWARDS, J.E.; FILLER, S.G.; GOLDBERG, R.; SPELLBERG, B. Combination Polyene-Caspofungin Treatment of Rhino-Orbital-Cerebral Mucormycosis. **Clinical Infectious Diseases**, 47: 364–71, 2008.

RIBES, J.A.; VANOVER-SAMS, C.L.; BAKER, D.J. Zygomycetes in Human Disease. **CLINICAL MICROBIOLOGY REVIEWS**, 13(2): 236–301, 2000.

RODRIGUEZ, M.M.; SERENA, C.; MARINE, M.; PASTOR, F.J.; GARRO, J.; Posaconazole Combined with Amphotericin B, an Effective Therapy for a Murine Disseminated Infection Caused by *Rhizopus oryzae*. **ANTIMICROBIAL AGENTS AND CHEMOTHERAPY**, 52(10): 3786–3788 2008.

ROILDES E.; KONTOYIANNIS, D.P.; WALSH, T.J. Host Defenses Against Zygomycetes. **Clinical Infectious Diseases**, 54(1):61–66, 2012.

SANTANA, N.; PINHEIRO, G.; KHERLE, H.; FARIA, I.; ESTRELLA, C. Mucormicose de seios paranasais e órbitas em paciente imunocompetente: relato de caso e revisão de literatura. **Revista Brasileira de Otorrinolaringologia**, 67(5), 2001.

SCHMIDT, S.; TRAMSEN, L.; PERKHOFER, S.; LASS-FLOR, C.; ROGER, F.; SCHIBERT, R.; LEHMBECHER, T. Characterization of the Cellular Immune Responses to *Rhizopus oryzae* With Potential Impact on Immunotherapeutic Strategies in Hematopoietic Stem Cell Transplantation. **Journal of Infectious Diseases**, 206: 135–139, 2012.

SIDRIM, J. J. C.; ROCHA, M. F. G.; **Micologia Médica À Luz De Autores Contemporâneos**, Rio De Janeiro, Guanabara Koogan, 2010.

SILVA, P.; **Farmacologia**. Guanabara, 7^a ed. 2006.

SHELDON, W.H.; BAUER, H. The development of the acute inflammatory response to experimental cutaneous mucormycosis in normal and diabetic rabbits. **Journal of Experimental Medicine**; 110(6): 845–852, 1959.

SONG, W. K.; PARK, H. J.; CINN, Y. W.; RHEEM, I.; PAI, H.; SHIN, J. H., Primary cutaneous mucormycosis in a trauma patient, **The Journal of Dermatology**, 26(12): 825-828, 1999.

SPELLBERG, B.; EDWARDS, J.; IBRAHIM, A. Novel Perspectives on Mucormycosis: Pathophysiology, Presentation and Management. **CLINICAL MICROBIOLOGY REVIEWS**, 18(3): 556–569, 2007.

SPELLBERG, B.; EDWARDS, J.; IBRAHIM, A.; FU, Y. Combination Therapy with Amphotericin B Lipid Complex and Caspofungin Acetate of Disseminated Zygomycosis in Diabetic Ketoacidotic Mice. **ANTIMICROBIAL AGENTS AND CHEMOTHERAPY**, 49(2): 830–832, 2005.

SPELLBERG, B.; IBRAHIM, A.; ROILDES, E.; LEWIS, R.E.; LORTHOLARY, O.; PETRIKKOS, G.; KONTOUIANNIS, D.P.; WALSH, T.J. Combination Therapy for Mucormycosis: Why, What, and How? **Clinical Infectious Diseases** 2012;54(S1):S73–8.

SYMEONIDIS, A.S.; The role of iron and iron chelators in zygomycosis. *European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 1469-1691.2009.

TOBIN, J.M.; COOPER, D.G.; NEUFELD, R.J.; Uptake of Metal Ions by *Rhizopus arrhizus* Biomass. **APPLIED AND ENVIRONMENTAL MICROBIOLOGY**, 47(4): 821-824, 1984.

TORTORA, G.J.; FUNKE, B.R.; CASE, C.L.; **Microbiologia**, Porto Alegre, 8^a ed. 2005.

TRABULSI, L. R.; ALTERTHUM, F.; **Microbiologia**, 5^a ed, São Paulo, Atheneu, 2008.

VENTO, S.; CAINELLI, F.; TEMESGEN, Z. Lung infections after cancer chemotherapy. **The Lancet Oncology**, 9 (10): 982–992, 2008.

WALDORF, A.R.; RUDERMAN, N.; DIAMOND, R.D. Specific Susceptibility to Mucormycosis in Murine Diabetes and Bronchoalveolar Macrophage Defense against *Rhizopus*. **Journal of Clinical Investigation**, 74: 150-160, 1984.