

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE VETERINÁRIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS**

**FUNGOS ANEMÓFILOS EM PORTO ALEGRE, RS**

**ADELINA MEZZARI**

**Porto Alegre**

**2002**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE VETERINÁRIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS**

**FUNGOS ANEMÓFILOS EM PORTO ALEGRE, RS**

**ADELINA MEZZARI**

Tese apresentada como requisito para obtenção do grau de  
Doutor em Ciências Veterinárias na área de Micologia.

Orientador: Prof. Doutor Luiz Antonio Guerra Bernd.

Porto Alegre

2002



*Dedico esta tese ao meu esposo Dino e aos meus filhos Fabricio e Michele, pela compreensão, carinho e apoio presentes em minha formação pessoal e profissional.*

## **AGRADECIMENTOS**

Ao Dr. Luiz Antonio Guerra Bernd, pela orientação, dedicação e ensinamentos que me permitiram elaborar e concluir esta tese.

Aos alunos do curso de Medicina da Fundação Faculdade Federal de Ciências Médicas de Porto Alegre, Christiano Perin e Sidnei Alves Santos Junior, pela preciosa ajuda na coleta dos dados no equipamento.

Ao diretor da Fundação Faculdade Federal de Ciências Médicas de Porto Alegre, Dr. Jorge Lima Hetzel, pelo incentivo ao desenvolvimento científico de sua equipe de docentes.

À funcionária Rosângela Ferlini Agne, da disciplina de Imunologia da Fundação Faculdade Federal de Ciências Médicas de Porto Alegre, pela ajuda na coleta de dados dos pacientes.

Aos doutores Giovani Marcelodi Gesu, Dino Mezzari e aos do ambulatório da Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre, pelo envio dos pacientes para a realização deste trabalho.

Ao Laboratório IMUNO, em especial à doutora Valéria Tremea, pelo apoio técnico na realização dos testes imunológicos.

A toda equipe do Pós-Graduação em Ciências Veterinárias da UFRGS, que sempre esteve pronta e atenciosa para com todas as necessidades surgidas ao longo do curso.

A todos os amigos que de alguma forma contribuíram para que esta tese tivesse este final.

Este trabalho só se concretizou pela colaboração, incentivo e amor daqueles que me cercam.

## SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS .....	8
LISTA DE FIGURAS .....	10
RESUMO .....	11
<i>ABSTRACT</i> .....	12
1 INTRODUÇÃO.....	13
1.1 Coleta e identificação de esporos de fungos anemófilos .....	19
1.2 Fungos e hipersensibilidade .....	24
1.3 Diagnóstico da sensibilização alérgica.....	26
1.4 Fungos anemófilos no Brasil.....	29
1.5 Importância do estudo .....	31
2 OBJETIVOS.....	32
2.1 Objetivo geral.....	32
2.2 Objetivos específicos .....	32
3 MATERIAIS E MÉTODOS.....	33
3.1 Pesquisa dos fungos anemófilos.....	33
3.2 Determinação de anticorpos IgE específicos .....	42
3.2.1 Testes cutâneos .....	42
3.2.2 Testes sorológicos.....	43
4 RESULTADOS .....	45
4.1 Fungos anemófilos .....	45
4.2 Pesquisa da sensibilização alérgica .....	48
4.2.1 Testes cutâneos .....	48
4.2.2 Testes sorológicos.....	56
4.2.3 Comparação entre os testes cutâneos e sorológicos no grupo de pacientes atópicos .....	61
5 DISCUSSÃO.....	62
5.1 Fungos anemófilos .....	62
5.2 Fungos e alergia .....	66

6 CONCLUSÕES .....	69
REFERÊNCIAS .....	71
ANEXO A - FICHA DE IDENTIFICAÇÃO, TERMO DE CONCORDÂNCIA E RESULTADOS DOS TESTES CUTÂNEOS E SOROLÓGICOS DOS PACIENTES.....	75

## LISTA DE TABELAS

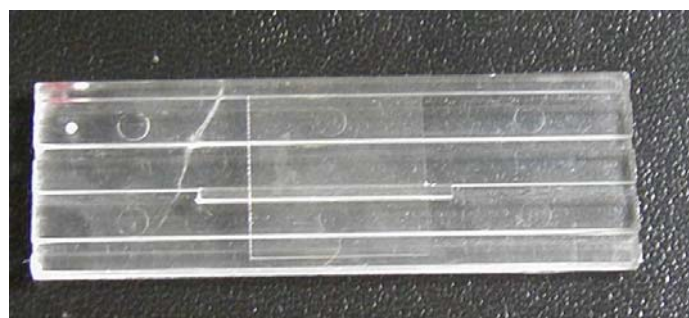
TABELA 1 –	Frequência de positividade de testes cutâneos com alérgenos de fungos anemófilos em pacientes com asma brônquica e rinite alérgica.....	27
TABELA 2 –	Prevalência de sensibilidade a alérgenos inalantes entre indivíduos atópicos de Porto Alegre .....	29
TABELA 3 –	Fungos anemófilos encontrados em Porto Alegre, RS – abril/2000 a março/2001 .....	46
TABELA 4 –	Médias mensais de temperatura, umidade relativa do ar e pressão atmosférica relativas aos dias de coleta em Porto Alegre, RS - abril/2000 a março/2001 .....	47
TABELA 5 –	Fungos encontrados durante as quatro estações do ano em Porto Alegre, RS - abril/2000 a março/2001.....	48
TABELA 6 –	Resultado dos testes cutâneos (média dos diâmetros longitudinal e vertical de pápula e eritema em mm).....	50
TABELA 7 –	Resultado dos testes cutâneos no grupo controle (média dos diâmetros longitudinal e vertical de pápula e eritema em mm) .....	52
TABELA 8 –	Resultado estatístico dos testes cutâneos.....	54
TABELA 9 –	Prevalências de fungo estimadas e intervalos de confiança 95% por tipos de fungo .....	54
TABELA 10–	Estatísticas descritivas para a média dos diâmetros longitudinal e vertical de pápula e eritema .....	55
TABELA 11–	Prevalências estimadas e intervalos de confiança 95% por tipos de alérgenos no grupo controle .....	55
TABELA 12–	Estatísticas descritivas para a média dos diâmetros longitudinal e vertical de pápula e eritema no grupo controle .....	56
TABELA 13–	Resultados dos testes sorológicos (IgE total e específica) .....	57



TABELA 14– Resultado estatístico dos testes sorológicos .....	58
TABELA 15– Prevalências de fungos estimadas e intervalos de confiança 95% por tipos de fungo .....	59
TABELA 16– Distribuição em classes da sensibilização dos pacientes aos alérgenos de fungos .....	59
TABELA 17– Estatísticas descritivas para os alérgenos de fungos utilizados no teste sorológico .....	60
TABELA 18– Estatísticas descritivas para IgE total .....	60
TABELA 19– Comparação entre os resultados dos testes cutâneos e sorológicos .....	61
TABELA 20– Prevalência (%) de fungos anemófilos isolados de algumas cidades brasileiras .....	64

## LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 – Equipamento Rotorod Sampler ® para coleta de esporos de fungos anemófilos.....	21
FIGURA 2 – Haste coletora de esporos de fungos do equipamento Rotorod Sampler ®.	22
FIGURA 3 – Fungos anemófilos em Porto Alegre, RS – abril/2000 a março/2001 .....	46



## RESUMO

O conhecimento dos fungos anemófilos em determinada cidade ou região é importante para o diagnóstico etiológico e o tratamento específico das manifestações alérgicas respiratórias. Várias técnicas quantitativas e qualitativas são preconizadas para coleta e identificação desses fungos na dependência do local estudado. Nesta pesquisa, sobre esporos de fungos do ar, foi utilizado o equipamento Rotorod Sampler®, que retira a amostra do ar através de um bastão de plástico preso a um motor elétrico que o faz girar rapidamente, sendo as partículas suspensas no ar recolhidas pelo bastão. As amostras foram coletadas uma vez por semana, durante 24 horas, correspondendo a um ciclo de coleta. Foram realizadas 52 coletas entre abril de 2000 e março de 2001. Os resultados mostraram prevalência de ascosporos (50,49%), *Cladosporium* (17,86%), *Aspergillus/Penicillium* (15,03%), basidiosporos (3,84%), *rusts* (3,82%), *Helminthosporium* (2,49%), *Botrytis* (1,22%), *Alternaria* (1,19%), *smuts* (0,90%), *Curvularia* (0,87%), *Nigrospora* (0,61%) e *Fusarium* (0,08%). Não foi possível identificar 1,59% dos esporos de fungos coletados no período. O maior número de esporos foi observado nos meses de verão e o menor, durante o outono. Utilizando provas *in vivo* e *in vitro*, avaliou-se a hipersensibilidade a fungos entre 39 pacientes atópicos sofrendo de rinite e ou asma brônquica. Os testes cutâneos identificaram sensibilização em 17,94% dos pacientes, enquanto as provas sorológicas caracterizaram presença de IgE específica em 12,82% dos casos avaliados. A detecção de significativo número de esporos de fungos no ar de Porto Alegre, com muitas espécies comprovadamente alergênicas, e os índices de sensibilização observados em indivíduos atópicos confirmam a importância do estudo dos fungos anemófilos nessa cidade, com vistas a aprimorar o diagnóstico e o manejo de pacientes com manifestações alérgicas respiratórias.

## ABSTRACT

Knowledge of airborne fungi in a given city or region is important for the ecological diagnosis and specific treatment of allergic manifestations induced by inhaled allergens. In order to diagnose the presence of airborne fungi, several qualitative and quantitative techniques are used depending on the study place. This study of fungal air spores was performed with a Rotorod Sampler®, an equipment which samples the air through a plastic rod attached to an electric engine that makes it spin fast enough to collect the particles in the air. The samples were collected once a week for 24 hours using the standard cycle of the manufacturers. A total of 52 samples were obtained from April 2000 through March 2001. The results showed a prevalence of ascosporos (50.49%), *Cladosporium* (17.86%), *Aspergillus/Penicillium* (15.03%), basidiosporos (3.84%), rusts (3.82%), *Helminthosporium* (2.49%), *Botrytis* (1.22%), *Alternaria* (1.19%), *smuts* (0.90%), *Curvularia* (0.87%), *Nigrospora* (0.61%), and *Fusarium* (0.08%). Also, 1.59% of the spores detected here could not be identified by the systematic key used. More fungal spores were observed during the summer, and less during the autumn. Using *in vivo* and *in vitro* tests, the hypersensitivity to anemophilous fungi was assessed in 39 atopic individuals with rhinitis and asthma. The skin tests with airborne fungus allergens showed sensitivity in 17.94% of patients, while serum tests detected the presence of specific IgE in 12.82% of the cases. The occurrence of a great number of fungal spores as observed in this study, with many clearly allergenic species, emphasizes the importance of studying airborne fungus in our city in order to improve the diagnosis and care of patients with respiratory allergies.

## 1 INTRODUÇÃO

Os fungos habitam os mais variados substratos. Em seu habitat natural e em condições ambientais adequadas de temperatura e umidade, eles crescem e se reproduzem sexuada e/ou assexuadamente de acordo com a espécie e as necessidades de seu ciclo de vida. A partir do seu habitat natural, eles se espalham amplamente na natureza, em consequência, principalmente, da grande produção de elementos de disseminação, os propágulos (esporos). As vias de dispersão mais comuns são o ar atmosférico, a água, os insetos, o homem e os animais. Ao atingirem um substrato com condições adequadas, germinam e iniciam um novo ciclo (Al-Doory; Domson, 1984).

A via de dispersão mais utilizada é o ar atmosférico. Os fungos dispersados por esta via, denominados fungos anemófilos, podem ser encontrados como componentes da flora microbiana do homem e de animais domésticos, como contaminantes de alimentos, como deteriorantes de acervos e madeiras, em água doce e salgada, ou ser responsáveis pelo emboloramento. Sua dispersão na natureza é ampla. Assim, os propágulos fúngicos podem ser encontrados em altas concentrações nos mais variados locais, especialmente em ambientes úmidos (Al-Doory; Domson, 1984).

A classificação dos fungos de Wittacker (apud Dixon; Fromthing, 1995), da qual fazem parte os anemófilos, está descrita a seguir:

Super Reino: *Eucariontes*

Reino: *Fungi*

**Filo: Zygomycota** (forma zigosporos)

(continua)

Classe	Ordem	Família	Gênero
<i>Zygomycetes</i>	<i>Entomophthorales</i>	<i>Entomophthoraceae</i>	<i>Basidiobolus</i>
			<i>Conidiobolus</i>
			<i>Absidia</i>
	<i>Mucorales</i>	<i>Mucoraceae</i>	<i>Mortierella</i>
			<i>Mucor</i>
			<i>Rhizomucor</i>
			<i>Rhizopus</i>
			<i>Cunninghamella</i>
			<i>Syncephalastrum</i>
	<i>Cunninghamellaceae</i>	<i>Cunninghamella</i>	
	<i>Sincephalastraceae</i>	<i>Syncephalastrum</i>	

**Filo: Ascomycota** (forma ascosporos)

Classe	Ordem	Família	Gênero
<i>Ascomycetes</i>	<i>Endomycetales</i>	<i>Endomycetaceae</i>	<i>Endomyces</i>
			<i>Leptosphaeria</i>
			<i>Chaetomium</i>
			<i>Venturia</i>
			<i>Kluyveromyces</i>
			<i>Picchia</i>
			<i>Saccharomyces</i>
			<i>Saccharomyces</i>
			<i>Saccharomyces</i>
			<i>Saccharomyces</i>
<i>Loculoascomycetes</i>	<i>Myriangiales</i>	<i>Saccardinulaceae</i>	<i>Piedraia</i>
	<i>Pleosporales</i>	<i>Microascaceae</i>	<i>Pseuallescheria</i>
<i>Plectomycetes</i>	<i>Eurothiales</i>	<i>Gymnoascaceae</i>	<i>Ajellomyces</i>
		<i>Arthroderma</i>	<i>Nannizzia</i>

**Filo: Basidiomycota** (forma basidiosporos)

Classe	Ordem	Família	Gênero
<i>Teliomycetes</i>	<i>Ustilaginales</i>	<i>Filobasidiaceae</i>	<i>Filobasidiella</i>
Heterobasidiomycetes			<i>Rusts</i>
			<i>Smuts</i>

Filo: *Deuteromycota* (estágio sexual ausente)

(continuação)

Classe	Ordem	Família	Gênero	
<i>Blastomycetes</i>			<i>Aureobasidium</i>	
			<i>Cryptococcus</i>	
			<i>Candida</i>	
			<i>Torulopsis</i>	
			<i>Malassezia</i>	
			<i>Pityrosporum</i>	
			<i>Hodotorula</i>	
			<i>Trichosporum</i>	
			<i>Sporobolomyces</i>	
	<i>Hyphomycetes</i>	<i>Moniliales</i>	<i>Moniliaceae</i>	<i>Acremonium/Cephalosporium</i>
				<i>Aspergillus</i>
				<i>Chrysosporium</i>
				<i>Coccidioides</i>
<i>Epidermopnyton</i>				
<i>Geotrichum</i>				
<i>Gliocladium</i>				
<i>Histoplasma</i>				
<i>Microsporum</i>				
<i>Paecilomyces</i>				
<i>Paracoccidioides</i>				
<i>Penicillium</i>				
<i>Sepedonium</i>				
<i>Scopulariopsis</i>				
<i>Sporothrix</i>				
<i>Trichoderma</i>				
<i>Trichophyton</i>				
		<i>Dematiaceae</i>	<i>Alternaria</i>	
			<i>Cladosporium</i>	
			<i>Curvularia</i>	
		<i>Pitomyces</i>	<i>Dreschlera</i>	
		<i>Stemphylium</i>	<i>Exophiala</i>	
		<i>Torula</i>	<i>Fonsecaea</i>	
			<i>Helminthosporium</i>	
			<i>Madurella</i>	
			<i>Nigrospora</i>	
			<i>Phialophora</i>	

**Filo: Deuteromycota** (estágio sexual ausente)

(conclusão)

Classe	Ordem	Família	Gênero
			<i>Rhinocladiella</i>
			<i>Ulocladium</i>
			<i>Wangiella</i>
		<i>Tuberculariaceae</i>	<i>Epicoccum</i>
			<i>Fusarium</i>
<i>Ceolomycetes</i>	<i>Sphaeropsidales</i>		<i>Phoma</i>

**Filo: Mastigomycota** (forma oosporos)

Classe	Ordem	Família	Gênero
<i>Oomycetes</i>	<i>Peronosporales</i>		<i>Pythium</i>

Fonte: Dixon; Fromthing, 1995.

No processo de formação dos esporos, um mesmo fungo, pode produzir diferentes tipos de esporos ao mesmo tempo, em resposta às diferentes condições ambientais. Os esporos são formados pela reprodução sexual mediante divisão nuclear, o que ocorre na fase teleomórfica ou estágio perfeito, ou sem a divisão nuclear, que ocorre no estágio anamórfico ou imperfeito. Os esporos liberados são importantes aeroalérgenos.

Entre os grupos de fungos que comumente liberam esporos no ar e que são importantes como aeroalérgenos estão os das classes *Zygomycetes*, *Ascomycetes*, *Basidiomycetes* e *Hyphomycetes*. Os *Zygomycetes* produzem zigosporos representados pelos *Rhizopus* e *Mucor*. Os *Ascomycetes* liberam ascos (ascosporos) e são representados pelos gêneros *Leptosphaeria*, *Chaetomium* e *Venturia*. Estes liberam grande quantidade de esporos na fase teleomórfica e na anamórfica. Os *Basidiomycetes*, que formam basídios (basidiosporos), têm como representantes fungos patógenos de plantas, os *rusts* e os *smuts*. Por fim, os *Hyphomycetes* têm seus aeroalérgenos representados nos gêneros *Aspergillus*, *Penicillium*, *Alternaria*, *Helminthosporium* e outros (Al-Doory; Domson, 1984; Gambale, 1998).



Os filos *Ascomycota*, *Basidiomycota*, *Zigomycota* e *Deuteromycota* contêm o maior número de gêneros conhecidos como aeroalérgenos envolvidos em reações alérgicas como a rinite e asma (Burge; Levetin; Muilenberg; Solomon, 1996; Mendes, 1989).

O interesse pela flora fúngica do ar iniciou em 1873 a partir das suspeitas de Blakley (apud Gambale; Purchio; Paula, 1983), que relacionou os esporos dos fungos anemófilos a manifestações alérgicas no aparelho respiratório.

A identificação dos principais fungos de uma determinada região pode ser feita pelo isolamento dos mesmos nas vias de dispersão – ar atmosférico, água, homem, animais, insetos ou substratos. As técnicas de isolamento variam de acordo com a via de dispersão pesquisada ou do substrato (Gambale; Purchio; Paula, 1983).

Aspectos importantes da microbiota fúngica do ar incluem o seu conhecimento qualitativo e quantitativo, a periodicidade, a variação sazonal, a altitude, fatores abióticos, radiações solares e outros (Gambale; Purchio; Paula, 1983).

O conhecimento qualitativo da microbiota fúngica do ar inclui a identificação dos gêneros de fungos anemófilos mais freqüentes em determinada área geográfica. O desenvolvimento de estudos qualitativos e quantitativos sobre a microbiota fúngica anemófila permite caracterizar alguns fungos como predominantes universais. Assim, os grupos de fungos *Ascomycetes*, *Basidiomycetes*, *Zigomycetes* e *Deuteromycetes* são os de maior incidência – entre eles, *Alternaria*, *Cladosporium*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Aureobasidium*, *Phoma*, *Trichoderma*, *Fusarium*, *Curvularia*, *Helminthosporium*, *Cryptococcus*, *Rhodotorula*, *Epicoccum*, *Nigrospora*, *Rhizopus*, *Mucor*, *Stemphylium*, *Scopulariopsis*, *Chaetomium*, *Streptomyces*, *Candida* e *Cephalosporium*, bem como *rusts* e *smuts* (patógenos de plantas) e os fragmentos de hifas, que podem pertencer a *Mycelia sterilia*.

Mecanismos ativos da natureza, como a temperatura e a umidade relativa do ar, chuvas e outros, são condicionantes da variação de fungos no ar (Capetti; Popesco; Gheorghiu; Dobre; Natase, 1969). A microbiota fúngica pode ser semelhante ou diferente em cada cidade ou região. Gambale; Purchio; Paula (1983) observaram que a quantidade de colônias de fungos diminuiu com o aumento de temperatura e umidade relativa do ar e com a queda da velocidade dos ventos. Com a elevação da temperatura e umidade relativa do ar, houve maior quantidade de *Epicoccum* e *Aureobasidium*. No entanto, com a elevação apenas da umidade

relativa do ar, houve aumento de *Penicillium* e *Aspergillus* e diminuição de *Cladosporium*. O *Cladosporium*, porém, aumentou com altas temperaturas e baixa umidade relativa do ar. Enquanto alguns autores observaram ausência de relação entre a umidade relativa do ar e a frequência de fungos, outros relatam uma relação positiva com os mesmos (Bartzokas, 1975; Morrow; Meyer; Prince, 1964; Purchio; Gambale; Paula, 1984). Com relação à temperatura também são observadas opiniões discordantes (Bartzokas, 1975; Cammack, 1955; Morrow; Meyer; Prince, 1964; Moustafá; Kamel, 1976; Purchio; Gambale; Paula, 1984). A umidade e a temperatura podem favorecer que os esporos de alguns fungos atinjam as camadas turbulentas de ar. Basidiosporos e ascosporos são ativamente dispersados por estes mecanismos, aumentando quando a umidade é alta. Os basidiosporos aumentam também durante a madrugada quando há condensação do ar, o que favorece a germinação. Os ascosporos diminuem em tempo seco (Burge; Levetin; Muilenberg; Solomon, 1996).

Alguns autores relatam que a maior velocidade dos ventos resulta em aumento no número de esporos no ar, porém outros não identificaram o mesmo efeito (Aller; Rey; Martinez, 1971; Alvarez; Castro, 1951; Frenz, 2000; Moustafá; Kamel, 1976).

A radiação solar tem ação sobre a concentração de esporos de fungos no ar. Alguns gêneros destes fungos são altamente resistentes a esse fator, como *Stemphylium* e *Alternaria*, outros são sensíveis a ele, como *Aspergillus*, *Penicillium* e *Cladosporium*. Isto equivale a afirmar que a radiação solar, ao contrário da temperatura e velocidade dos ventos, tem efeito adverso para os fungos do ar (Morrow; Meyer; Prince, 1964).

As precipitações pluviométricas, segundo Agarwal; Shivpuri; Mukerji (1969) e Griffith (1951), não interferem na frequência dos esporos de fungos no ar. Gambale; Purchio; Paula (1983) encontraram número aumentado de *Fusarium* e *Penicillium* em períodos chuvosos, porém o *Cladosporium* foi encontrado em número aumentado ou diminuído após as chuvas.

Os esporos estão sempre presentes no ar, porém a chuva, a neve, o sol e o vento podem interferir em sua quantidade. Durante os meses de inverno, a quantidade de esporos de fungos diminui, aumentando durante os meses de primavera e verão (Burge; Levetin; Muilenberg; Solomon, 1996). Alguns esporos, no entanto, apresentam um especial aumento ou diminuição em certas horas do dia e à noite, dependendo das condições climáticas. O aumento (pico) ou diminuição desses fungos de dia para dia e de hora para hora durante o dia é conhecido como ritmo padrão diurno. Por alguma razão, certos fungos apresentam ritmo diurno durante todo o

tempo, alguns apenas em certos momentos e outros não parecem apresentar estas características. Alguns apresentam tais picos e queda somente em determinadas regiões e não em outras. Isso indica que a periodicidade diurna destes fungos se correlaciona com as condições climáticas, a vegetação presente ou outros fatores ambientais da região (Gambale; Purchio; Paula, 1981; Burge; Levetin; Muilenberg; Solomon, 1996).

O conhecimento dos fungos anemófilos de determinada cidade ou região, objeto do presente estudo, é importante para o diagnóstico etiológico e o tratamento específico de manifestações alérgicas provocadas por estes alérgenos inalantes.

A intensidade da exposição pode, na verdade, determinar a relevância clínica. Segundo Horner *et al.* (1995), nos Estados Unidos e outros países industrializados 20% da população apresenta doenças alérgicas.

### **1.1 Coleta e identificação de esporos de fungos anemófilos**

Diversas técnicas são preconizadas para coleta e identificação de fungos anemófilos, as quais dependem do local estudado. Em ambientes fechados, empregam-se os métodos qualitativos, como o cultivo em placa ou pesquisa do esporo em lâmina, para a identificação destes fungos. O cultivo em placa, que se baseia nas características de esporulação, não permite identificar os fungos que não se reproduzem em cultura (Horner; Helbling; Salvaggio; Lehrer, 1995). Um dos métodos mais utilizados é o da gravidade, o qual consiste em expor uma lâmina ou uma placa de Petri com meio de ágar Sabouraud, durante algum tempo no ambiente. As partículas se depositam no meio de cultivo, germinam e crescem, formando colônias que podem ser isoladas e identificadas. Esta técnica permite verificar a variação sazonal e os fungos mais frequentes nessa via de dispersão, mas não possibilita quantificá-los (Gambale; Purchio; Paula, 1983).

As placas de cultura têm a desvantagem de poderem ser rapidamente cobertas por contaminantes do ambiente e de as colônias de fungos que nelas se formam não indicarem a quantidade real do número de esporos de fungos por unidade de volume de ar. A exposição tem que ser limitada a poucos minutos. Os resultados obtidos das amostras em cultura

dependem de alguns fatores, como a viabilidade e facilidade de cultivo dos microrganismos, o meio de cultura utilizado e as condições de incubação. A média de temperatura de incubação utilizada fornece uma ampla variedade de condições de crescimento. Alguns esporos de fungos não germinam, sendo necessária sua identificação pela microscopia, caso dos rusts e smuts, que não crescem em meios de cultura; outros fungos somente podem ser identificados pelo seu isolamento em cultura (Emberlin, 2000).

Quando se pretende caracterizar a composição de fungos no ar atmosférico, outras são as formas de coleta. Nesse caso, são utilizados métodos de pesquisa direta em amostra volumétrica de ar (Horner; Helbling; Salvaggio; Lehrer, 1995; Burge; Levetin; Muilenberg; Salomon, 1996; Frenz, 1999). Assim, o estudo da periodicidade dos fungos aéreos requer uso de coleta contínua, a qual permite amostragem de 24 horas ou mais. Há aparelhos que permitem definir a periodicidade dos fungos no ar. Atualmente, as técnicas de identificação de esporos e sua quantificação utilizam principalmente equipamentos como o Burkard® e o Rotorod Sampler®, que permitem identificar, pelas características morfológicas, os esporos dos fungos anemófilos e quantificá-los por metros cúbicos de ar medidos em 24 horas. São ambos instrumentos volumétricos, porém seus princípios de operação e recolhimento de partículas são diferentes (Homburger; Katzmann, 1993).

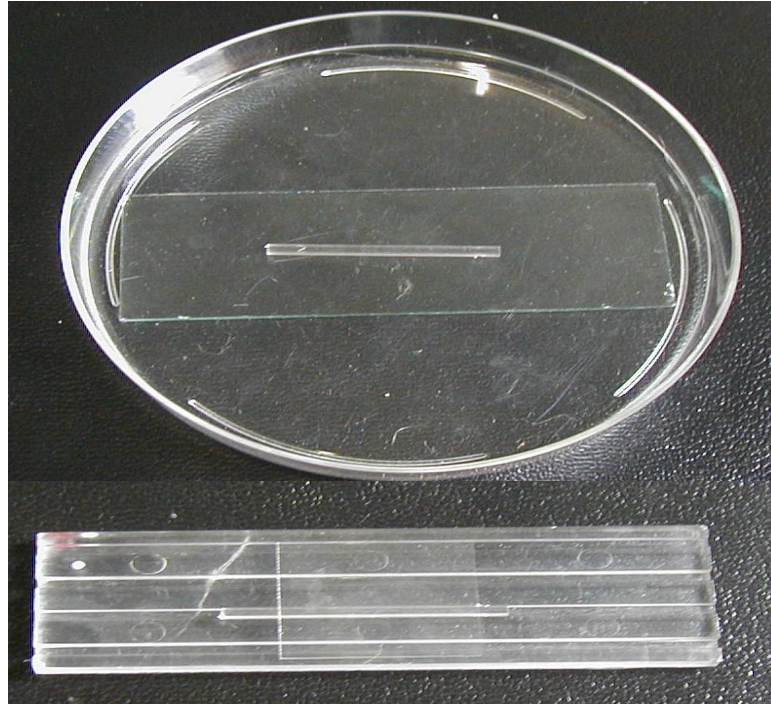
O aparelho Burkard® é orientado pelo vento, e seu princípio básico de coleta é a sucção. Uma fita plástica recebe as partículas suspensas na atmosfera. Após a remoção da fita do equipamento, ela é corada com o corante de Calberla e analisada no microscópio óptico com aumento de 40X ou 100X (imersão). O total de partículas por dia ( $p/m^3$ ) pode ser determinado pelo comprimento da fita (48 mm) examinada. O volume de ar é calculado por um fator normal padrão de 10 litros por minuto ( $1,0 \times 10^{-2} m^3/min$ ). Tal volume de ar corresponde à velocidade de 6 m/s (Frenz, 1999).

O Rotorod Sampler®, ver figura 1, é constituído de um coletador de impacto para colher partículas na superfície de bastões (hastes) presos em um prendedor de metal de aproximadamente 10 cm de comprimento, montado em um pequeno motor. O volume de ar que passa sobre a superfície dos bastões permite o cálculo da média de rotação dos bastões (geralmente em torno de 2 500 rotações por minuto).



**Figura 1 - Equipamento Rotorod Sampler® para coleta de esporos de fungos anemófilos**

O Rotorod Sampler® retira a amostra do ar através do bastão (haste) de plástico, com dimensões de 1,52 mm X 1,52 mm X 32 mm (ver figura 2). Antes de ser fixado no equipamento, o bastão é lubrificado com silicone sólido. A ação de um motor elétrico faz com que ele gire rapidamente. As partículas suspensas na atmosfera são recolhidas por este coletor. Após completar o ciclo definido de coleta, o bastão é retirado, colocado sobre um suporte e corado com o corante de Calberla. Uma lamínula de 22 mm X 22 mm é sobreposta sobre o conjunto, que é, então, observado ao microscópio óptico em aumento de 40X ou 100X (imersão). O número total de esporos dos fungos, que deve corresponder a toda a extensão da lamínula, é posteriormente calculado pelo volume de ar de um determinado período de tempo, conforme o ciclo que foi definido. A concentração é expressa pelo número de partículas por m<sup>3</sup> de ar (p/m<sup>3</sup>).



**Figura 2 - Haste coletora de esporos de fungos do equipamento Rotorod Sampler®**

O volume de ar medido no Rotorod Sampler® pode ser calculado pelas condições padrões do fabricante. Um ciclo de 10% do total equivale a 1 min (60 s) de coleta e 9 min (540 s) de pausa (600 s - 60 s = 540 s), num período de 24 horas de coleta. Para a determinação padrão do volume de ar, é necessário calcular conforme o modelo do equipamento, que pode ser Rotorod Sampler® 20 ou 40. No modelo Rotorod® Sampler 40, adotado no presente trabalho, o volume constante medido, conforme o fabricante, é de 3,12 m<sup>3</sup> de ar. O resultado final será calculado mediante divisão do número de esporos de fungos contados no bastão coletor pelo volume padrão de 3,12 m<sup>3</sup> de ar, o que resultará na quantidade de esporos por m<sup>3</sup> de ar em 24 horas. A amostra assim coletada corresponde ao número de partículas encontradas na atmosfera. A concentração é expressa pelo número de partículas por metro cúbico (p/m<sup>3</sup>). O volume de ar medido pelo equipamento é calculado pelo padrão: 10% do ciclo completo em 24 horas de coleta. Nestas condições e neste equipamento Rotorod 40, o volume corresponde a 3,12 m<sup>3</sup> de ar, como já se viu. O número de esporos é obtido pela seguinte fórmula: número de esporos = n° esporos contados ÷ 3,12 m<sup>3</sup>; o resultado é expresso em número de esporos/m<sup>3</sup> de ar em 24 horas. Os parâmetros padrões fornecidos pelo fabricante podem ser alterados conforme as necessidades da pesquisa. Neste trabalho, optou-se pela adoção dos padrões de coleta e dos cálculos padrões do equipamento Rotorod Sampler® modelo 40.

Ambos os equipamentos, Burkard® e Rotorod Sampler®, são fidedignos em coletar amostras de polens e esporos de fungos no ar. Segundo Frenz (1999), o Burkard® tem se apresentado mais eficiente para detectar partículas menores que 10 µm, ao passo que o Rotorod Sampler® tem sido igual ou superior ao Burkard® em coletar partículas maiores que 10 µm.

A identificação de fungos oferece algumas dificuldades práticas. A observação microscópica dos esporos de fungos nem sempre permite identificá-los pelo gênero ou espécie. A maior parte dos esporos não identificados são basidiosporos, ascosporos, esporos hialinos de fungos anamórficos e os zigosporos.

As características avaliadas para identificar um grupo de esporos de fungos incluem sua cor, tamanho, forma e septação e o aspecto de sua superfície. Quanto à cor, os esporos podem se apresentar como sem cor (hialinos) ou com leve bronzeado, verdes, amarelos, marrons ou pretos. O tamanho dos esporos varia de 1 µm até mais de 100 µm, sendo a média de 7 µm a 12 µm. A maioria dos esporos apresenta forma esférica, oval, elíptica ou cilíndrica. Alguns são em forma de fio (filiformes), espiral, curvados ou apendiculados. Quanto à septação, esta pode estar ausente (não septado) ou haver somente septo transverso ou transverso e longitudinal (moriforme). A superfície dos fungos anemófilos pode ser lisa, pregueada, puntiforme, verrucosa, espinhosa ou reticulada.

Alguns esporos de fungos apresentam morfologia semelhante, o que torna sua identificação inviável em nível de gênero, a exemplo do *Aspergillus sp* e do *Penicillium sp*. Outros esporos são muito pequenos, transparentes ou não têm características individuais que possibilitem sua identificação, caso, por exemplo, de *Phoma sp*, o *Neurospora sp* e a *Candida sp*. Outros esporos, especialmente os ascosporos e basidiosporos, não são identificados como partículas específicas, por pertencerem ao filo *Deuteromycota (Fungi Imperfecti)*, cujas formas liberadas nem sempre apresentam características individuais capazes de serem identificadas (Agarwal; Shivpuri; Mukergi, 1969).

Os esporos também diferem entre si quanto ao tamanho; assim, os do *Aspergillus sp* e *Penicillium sp* têm aproximadamente 2,5 µm, os da *Alternaria sp* entre 20 µm e 63 µm e os do *Helminthosporium sp* cerca de 160 µm. Segundo Emberlin (2000), o mais abundante e ubíquo gênero de fungo anemófilo em todo o mundo é o *Cladosporium*. O tamanho de seu esporo é variável, 10 µm a 25 µm, e sua forma, também variável, pode ser de ovóide a

cilíndrica, “forma de limão” ou irregular. O mesmo autor refere que os esporos de *Alternaria* são os segundos mais abundantes, podendo exceder as concentrações do *Cladosporium* em algumas regiões secas e úmidas. Eles apresentam a forma elíptica ou oval, possuem septos transversais e verticais e medem de 60 µm a 500 µm.

## 1.2 Fungos e hipersensibilidade

A importância do estudo da flora fúngica anemófila baseia-se no fato de que estes fungos podem provocar doenças tanto por colonização tecidual como por indução de quadros de hipersensibilidade (Pinheiro; Neder; Azevedo, 1966).

Os fungos do ar, quando inalados, podem atuar como alérgenos, desencadeando manifestações clínicas típicas de hipersensibilidade (Al-Doory; Domson, 1984; Terho, 1985). As reações alérgicas normalmente ocorrem no ponto de deposição do alérgeno. De modo geral, partículas maiores que 10 micras são depositadas na conjuntiva e nasofaringe, provocando sintomas nasais e oculares característicos da rinoconjuntivite. Partículas menores que 10 micras, especialmente aquelas com menos de 5 micras, podem atingir as vias aéreas inferiores, onde as reações alérgicas tendem a se manifestar como asma (Luo, 1991).

As reações de hipersensibilidade são didaticamente classificadas em quatro tipos (Roitt; Brostoff; Male, 1993). O tipo I compreende as reações provocadas pela produção de anticorpos IgE. A expressão clínica da sensibilização atópica é constituída por manifestações de rinite, asma, eczema e, eventualmente, urticária. A reação alérgica envolve a participação de IgE e a ativação de mastócitos sensibilizados, o que resulta na liberação de mediadores farmacológicos, como histamina, leucotrienos, prostaglandinas e citocinas (Roitt; Brostoff ; Male, 1993).

O efeito da produção de IgE é principalmente local, no ponto de entrada do alérgeno no organismo, ou seja, nas superfícies de mucosas. A sensibilização ocorre após múltiplas exposições a pequenas quantidades de alérgenos depositados na superfície de mucosas. O nível sérico de IgE pode aumentar em indivíduos alérgicos (Roitt; Brostoff ; Male, 1993).

A característica fundamental da sensibilização alérgica é a presença de anticorpos IgE específicos para determinado antígeno. Dessa forma, a identificação de hipersensibilidade tipo



I está baseada na detecção da presença destes anticorpos. Isto pode ser realizado através de provas séricas (identificação de IgE específica no soro) ou pelos testes cutâneos de leitura imediata, identificando a IgE fixada aos mastócitos. A prova clínica clássica para o diagnóstico é o teste cutâneo de leitura imediata (Roitt; Brostoff ; Male, 1993).

Os três outros tipos de hipersensibilidade não têm participação significativa na fase efetora das condições alérgicas objeto deste estudo. A reação citotóxica (tipo II) refere-se à ação de anticorpos contra componentes da membrana celular ou adsorvidos a ela. O tipo III de hipersensibilidade caracteriza as reações por complexos imunes e conseqüente ativação do sistema do complemento. Os mecanismos de hipersensibilidade tardia envolvendo a participação de linfócitos T estão compreendidos no tipo IV.

Aproximadamente 300 espécies de fungos já foram descritos como alergizantes. No mundo, as mais freqüentes espécies são as pertencentes aos gêneros *Alternaria*, *Cladosporium*, *Aspergillus* e *Penicillium* (Horner; Helbling; Salvaggio; Lehrer, 1995).

Existem dificuldades na padronização de alérgenos de fungos para aplicação diagnóstica. Isso ocorre porque os fungos apresentam variabilidade em sua composição bioquímica. Existe dúvida sobre qual a melhor fonte de alérgenos: esporos, conídios ou micélio. Muitos extratos são preparados do micélio, e uma pequena quantidade de esporos. Os extratos de fungos, quando preparados sem esporos, podem ser inadequados se o micélio não contiver os mesmos alérgenos dos esporos. Assim é importante comparar a composição antigênica e alergênica do micélio e dos esporos de diferentes fungos. Atualmente, os extratos alergênicos utilizados para fins diagnósticos são preparados a partir do micélio vegetativo e reprodutivo do fungo, isso porque os elementos de reprodução são formados a partir da modificação do micélio vegetativo. A caracterização dos extratos, no entanto, apresenta dificuldades devido a fatores como: variações entre os extratos da mesma espécie de fungo; alterações nos meios de cultivo; tempo de crescimento; frações do fungo (micélio ou esporos); e determinantes antigênicos comuns entre espécies ou entre gêneros (Al-Doory; Domson, 1984; Einarsson; Aukrust, 1992).

Os extratos fúngicos disponíveis são, em geral, substâncias brutas extraídas do fungo mediante processos simples em que se empregam líquidos extratores (soluções de coca, Evans, Frugoni, soluções bicarbonatadas e outras). Esses extratos alergênicos constituem-se de misturas heterogêneas de diferentes proteínas, carboidratos e outras substâncias não

identificadas (Gompertz; Gambale; Paula; Corrêa, 1999). Nos últimos anos, surgiram preparações padronizadas utilizando antígenos purificados e específicos de cada espécie fúngica, com vistas a obter resultados mais específicos. Existem no mercado alérgenos específicos de fungos possíveis de serem pesquisados através da detecção de IgE específica. Entre eles, *Aspergillus niger*, *A. fumigatus*, *A. oryzae*, *A. terreus*, *A. nidulans*, *A. flavus*, *A. clavatus*, *Penicillium notatum*, *P. brevi-compactum*, *Cladosporium herbarum*, *Helminthosporium halodes*, *Fusarium moniliforme*, *Stemphylium botryosum*, *Rhizopus nigricans*, *Aureobasidium pullulans*, *Phoma betae*, *Epicoccum purpurascens*, *Trichoderma viride*, *Curvularia lunata*, *Pityrosporum orbiculare*, *Barley smut*, *Cephalosporium acremonium*, *Trichosporon pullulans*, *Ulocladium chartarum*, *Trychophyton sp*, *Chaetomium globosum* e *Eurotium* (Benjamini; Leskowitz, 1991; Horner; Helbling; Salvaggio; Lehrer, 1995).

### 1.3 Diagnóstico da sensibilização alérgica

O diagnóstico da sensibilização alérgica a fungos pode ser efetuado através da identificação de IgE específica no soro ou através do teste cutâneo. Os testes sorológicos detectam IgE específica para determinado alérgeno. A IgE participa da defesa contra microrganismos como fungos, vírus, bactérias e parasitas. Isoladamente o nível sérico de IgE não discrimina o indivíduo atópico. Pacientes atópicos podem ter níveis de IgE normais, enquanto indivíduos não atópicos podem apresentar níveis elevados.

No soro, reações imunoenzimáticas são utilizadas para o diagnóstico de doenças fúngicas. O antígeno (Ag) é marcado por substâncias não radioativas, como substâncias fluorescentes, enzimas e outras. O método que utiliza tal reação é denominado ELISA (*enzyme-linked immunosorbent assay*) e é aplicado para dosagem de anticorpo. Com o avanço da tecnologia, o teste de ELISA clássico recebeu um complemento, o ELISA de captura, que é extremamente sensível; por meio dele, é possível detectar e dosar Ac específicos contra um componente antigênico especial. Outros testes utilizados para esse diagnóstico são o contra imunoelectroforese (CIE), o contra rádio imunoelectroforese (CRIE) o *radioallergosorbent test*

(RAST) e o fluorimunoenzimático (Salvaggio; Aukrust, 1981; Nelson, 1983; Roitt; Brostoff; Male, 1993).

Atualmente, o método fluorimunoenzimático está sendo muito utilizado para diagnóstico; ele faz uso de uma pequena cápsula e de uma malha de celulose que prende, covalentemente, anti-IgE (na pesquisa de IgE total) ou o alérgeno de interesse (na pesquisa de IgE específica). A reação é revelada por anti-IgE marcada com a enzima beta-galactosidase, que age sobre o substrato 4-metil-umbeliferil fosfato.

A prevalência de sensibilização a fungos, segundo Gompertz *et al.* (1999), aponta variação entre 5% e 86% dos casos de asma brônquica e ou rinite alérgica. A tabela 1 representa um exemplo. Essa grande diferença de resultados pode ser atribuída à ausência de uniformidade nos estudos realizados.

**Tabela 1 - Frequência de positividade de testes cutâneos com alérgenos de fungos anemófilos em pacientes com asma brônquica e rinite alérgica**

Extrato alergênico	Positivos (%)
<i>Candida</i>	58,6
<i>Aureobasidium</i>	37,1
<i>Penicillium</i>	30,0
<i>Curvularia</i>	28,6
<i>Fusarium, Mucor, Phoma</i>	24,3
<i>Aspergillus, Epicoccum, Pestalotia</i>	22,9
<i>Alternaria, Trichoderma, Helminthosporium</i>	21,4
<i>Cladosporium, Geotrichum, Rhodotorula, Rhizopus, Scopulariopsis</i>	20,0
<i>Chaetomium</i>	18,5
<i>Circinella, Nigrospora</i>	17,1
<i>Neurospora</i>	15,7
<i>Cephalosporium, Paecilomyces</i>	14,3

Fonte: Gambale, 1998.

O teste cutâneo é realizado na face volar do antebraço. A leitura dos resultados é feita em torno de 15 minutos após a aplicação do teste. A presença de anticorpo IgE para o

alérgeno aplicado induz ativação local de mastócitos e liberação de mediadores pré - formados, aumentando a permeabilidade vascular e provocando edema e prurido local, os quais se manifestam na forma de pápula e eritema (Homburguer; Katzmann, 1993). O teste cutâneo é um método simples, rápido, indolor, barato e seguro, de sensibilidade e especificidade elevadas, sendo muito boa a correlação entre o teste cutâneo positivo e sintomas relacionados à exposição a alérgenos inalados. Reações cruzadas com antígenos de espécies diferentes de fungos podem ocorrer (Homburguer; Katzmann, 1993).

As preparações dos extratos de alérgenos para uso em teste cutâneo foram padronizadas pela WHO *International Union of Immunological Societies*, cujos critérios basearam-se na pureza, atividade, esterilidade e estabilidade dos extratos alergênicos. Foi estabelecida uma potência de 100 000 UI (Unidades Internacionais) para uso como teste cutâneo em pacientes alérgicos a fungos (Einarsson; Aukrust, 1992).

Para que o diagnóstico e tratamento das doenças alérgicas provocadas pelos fungos anemófilos sejam adequados, é importante o conhecimento dos alérgenos regionais. No Brasil, as pesquisas têm sido dirigidas para a identificação da microbiota fúngica anemófila das principais cidades e para a aplicação de testes cutâneos para verificação da sensibilização dos indivíduos (Gambale; Purchio; Croce, 1977; Lacaz; Mendes; Pinto; Cardoso; Lucchetti, 1958; Oliveira Lima; Seabra; França; Cukier, 1963; Mendes; Lacaz, 1952; Pinheiro; Neder; Azevedo, 1966; Purchio; Gambale; Paula, 1984). As pesquisas sobre a reatividade cutânea em pacientes com alergia respiratória incluem os gêneros *Aureobasidium*, *Helminthosporium* (*Dreschlera*), *Candida*, *Pestalotia*, *Chaetomium*, *Mucor*, *Curvularia*, *Fusarium*, *Scopulariopsis*, *Circinella*, *Geotrichum*, *Epicoccum* e *Trichoderma* (Gompertz; Gambale; Paula; Corrêa, 1999).

Em um estudo, em Porto Alegre, sobre a reatividade cutânea entre indivíduos atópicos, foi observado que, em 156 indivíduos testados com alérgenos inalantes, 11,5% apresentaram sensibilização por fungos, como mostra a tabela 2.

**Tabela 2 - Prevalência de sensibilidade a alérgenos inalantes entre indivíduos atópicos de Porto Alegre**

Alérgeno	Número	%
<i>D. farinae</i>	127	81,4
<i>B. tropicalis</i>	120	76,9
<i>D. pteronyssinus</i>	105	67,3
<i>S. pontifícia</i>	95	60,8
<i>T. putrescentiae</i>	88	56,4
<i>A. ovatus</i>	40	25,6
Gramíneas	36	23,1
<b>Fungos</b>	<b>18</b>	<b>11,5</b>
Gato	21	13,4
Cão	9	5,76

Fonte: Spalding, 1996.

#### 1.4 Fungos anemófilos no Brasil

São poucas as publicações sobre a prevalência de fungos na atmosfera de cidades brasileiras. Os fungos anemófilos já identificados e com maior frequência pertencem aos gêneros *Cladosporium*, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Rhodotorula*, *Aureobasidium*, *Candida*, *Fusarium*, *Curvularia*, *Rhizopus*, *Helminthosporium* e *Trichoderma* (Gompertz; Gambale; Paula; Corrêa, 1999).

Em Belo Horizonte, Oliveira Lima (1941) concluiu que o número de fungos no ar era muito reduzido e não tinha caráter sazonal. Na mesma época, a maior frequência de fungos anemófilos identificados por Patto (1943) no Rio de Janeiro e Niteroi foi de *Aspergillus* e *Alternaria*. Passarelli; Miranda; Castro (1944) encontraram, no Rio de Janeiro, *Penicillium*, *Cladosporium* e *Aspergillus* como os mais prevalentes e, em 1949, levedos, *Rhodotorula*, *Cladosporium*, *Penicillium*, *Aspergillus* e *Fusarium*. Em São Paulo, Almeida; Fava Neto (1947) identificaram *Cladosporium*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Rhodotorula*, *Rhizopus*, *Neurospora*, *Mucor* e *Candida* como os mais frequentes. No mesmo local, Almeida;

Brandão; Monteiro; Moura (1951) encontraram *Cladosporium*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Rhodotorula*, *Hormiscium*, *Candida*, *Fusarium*, *Monilia sitophila*, *Cephalosporium* e *Rhizopus* como os mais prevalentes. Já em Recife, Alecrim (1955) encontrou *Aspergillus*, *Spondylocladium* e *Beauveria* como os mais freqüentes; posteriormente, em 1958, ele identificou *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Curvularia* e *Monilia* como os mais prevalentes na cidade. Lacaz; Mendes; Pinto; Cardoso; Lucchetti (1958) relataram *Penicillium*, *Cladosporium* e *Rhodotorula* como os fungos mais freqüentes em São Paulo e Santos. Em Porto Alegre, Homrich (1961) achou *Aspergillus*, *Penicillium*, *Rhizopus* e *Mucor* como os mais prevalentes. Buck; Gambale; Gambale; Paula (1985) em Presidente Prudente, São Paulo, relataram *Cladosporium*, *Aspergillus*, *Aureobasidium* e *Neurospora* como os fungos mais freqüentes nesta cidade. Finalmente, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium* e *Cladosporium* foram os fungos mais freqüentes em Natal, segundo Oliveira; Braz; Ribeiro (1993).

É importante ressaltar que existe diferença entre os fungos predominantes no ambiente intra e extradomiciliar. É de esperar que as condições físicas do ambiente intradomiciliar determinam maior ou menor probabilidade de desenvolvimento de colônias de fungos. Em Porto Alegre, Homrich investigou, em 1961, esporos de fungos presentes no interior de moradias da cidade e arredores, encontrando como gênero predominante o *Aspergillus*, e como espécies mais freqüentes *A. niger*, *A. flavus* e *A. glaucus*. Foram encontrados com menor freqüência os gêneros *Penicillium*, *Rhizopus* e *Mucor*; outros gêneros foram encontrados esporadicamente.

A composição fúngica do ar em Porto Alegre não é conhecida. Ao estudarem polens anemófilos nesta cidade, Bernd; Lorscheitter (1992) assinalaram a presença de expressivo número de esporos de fungos em lâminas expostas ao ar atmosférico por 72 horas.

Não existem dados de pesquisas brasileiras que tenham utilizado os equipamentos de coleta volumétrica dos esporos de fungos anemófilos, como o Rotorod Sampler®, Burkard® ou outros, para a pesquisa e quantificação desses alérgenos.

O presente trabalho teve o intuito de avaliar a prevalência, quantidade e sazonalidade dos gêneros mais frequentes de fungos anemófilos no ar atmosférico da cidade de Porto Alegre e avaliar sua importância clínica em pacientes atópicos, utilizando testes cutâneos e sorológicos.

## 1.5 Importância do estudo

Os fungos têm reconhecida participação em quadros de hipersensibilidade do trato respiratório. Apesar disso, as publicações sobre a presença de fungos na atmosfera das cidades brasileiras são reduzidas. O registro da presença de numeroso conteúdo de esporos de fungos no ar de Porto Alegre indica a necessidade de sua identificação e quantificação, bem como a caracterização da sua importância clínica.

Atualmente, há grande dificuldade em caracterizar a participação de alérgenos de fungos em quadros de asma e rinite alérgica. Em parte, isso se deve ao desconhecimento da microbiota fúngica a que a população está exposta.

Em Porto Alegre, aproximadamente 12% dos indivíduos atópicos estão sensibilizados a alérgenos de fungos do ar.

A identificação e quantificação dos esporos de fungos do ar na cidade, aqui propostas, contribuirá para aprimorar o diagnóstico e o tratamento das condições alérgicas respiratórias em nosso meio.

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo geral**

Identificar e caracterizar a frequência e a concentração de esporos de fungos anemófilos em Porto Alegre, bem como determinar a prevalência de sensibilização a estes fungos em indivíduos atópicos.

### **2.2 Objetivos específicos**

1. Identificar os fungos anemófilos presentes no ar de Porto Alegre.
2. Quantificar os fungos do ar dessa cidade.
3. Verificar eventual sazonalidade dos fungos identificados.
4. Relacionar a frequência dos fungos com a temperatura e a umidade relativa do ar.
5. Verificar a relação entre as frequências obtidas com as encontradas em outras cidades brasileiras.
6. Revisar a literatura sobre o assunto.
7. Avaliar a sensibilização a fungos em pacientes atópicos.



### **3 MATERIAIS E MÉTODOS**

#### **3.1 Pesquisa dos fungos anemófilos**

O presente trabalho foi realizado pelo método quantitativo usando coletor aeroscópico Rotorod modelo 40. O equipamento foi colocado no topo do edifício de cinco andares da Fundação Faculdade Federal de Ciências Médicas de Porto Alegre (FFFCMPA) a uma altura de 23 metros do solo. As coletas foram realizadas utilizando o bastão (haste) coletor padrão do equipamento. A haste coletora foi exposta ao ar durante 24 horas, uma vez por semana (das 12 horas da manhã nas segundas-feiras até o mesmo horário das terças - feiras), pelo período de um ano. A coleta no equipamento Rotorod seguiu o padrão definido pelo fabricante. Esse padrão corresponde a um ciclo de 10 minutos (600 segundos). A haste coletora gira por 1 minuto (60 segundos) para coletar a amostra e permanece parada por 9 minutos, até completar as 24 horas de coleta. Esse ciclo equivale a 10% do padrão total do ciclo (60 s divididos por 600 s = 0,10 s ou 10%). Somente uma das superfícies da haste coletora, a do lado de fora, foi usada durante o procedimento. Essa superfície foi marcada para que a haste fosse orientada adequadamente durante a coleta, armazenagem e análise. Antes de ser inserida na base coletora do equipamento, a haste teve sua superfície marcada lubrificada com uma pequena camada de silicone.

Após a exposição, a haste coletora foi corada com o corante de Calberla e examinada ao microscópio óptico para observação, identificação e quantificação dos esporos fúngicos. Para iniciar, a amostra foi colocada em um suporte, de forma que a superfície com silicone ficasse para cima. Uma gota do corante de Calberla foi depositada sobre a lâmina, à qual foi sobreposta uma lamínula (22mm x 22 mm). A lâmina foi deixada em repouso por 5 minutos, aproximadamente. Assim, os grãos de pólen se reidratam e absorvem o pigmento da solução,

tornando-se de cor rosa. Os esporos dos fungos não absorvem o corante de Calberla, o que permite melhor definição.

As amostras foram analisadas no microscópio óptico com aumento de 40X ou 100X (imersão). A contagem foi feita em toda a extensão da lamínula o que corresponde a uma superfície de 1,52 mm de largura (largura do coletor) por 22 mm de comprimento (comprimento da lamínula). O número de partículas contadas nesta superfície foi então relacionado com a quantidade de amostra de ar por m<sup>3</sup> em 24 horas de coleta.

Para a identificação dos esporos dos fungos anemófilos, foi adotada a chave sistemática da *American Academy of Allergy Asthma & Immunology* (AAAAI, 1997), descrita a seguir:

## CHAVE PARA IDENTIFICAÇÃO DE ESPOROS DE FUNGOS

(continua)

Características	Seqüência
1. Não septado (sem septo transversal à parede)	2
1. Septado	35
2. Com alguma cor (mesmo pálida)	3
2. Completamente sem cor	25
<b>não septado/com cor/liso</b>	
3. Superfície lisa	4
3. Superfície rugosa (granular, espinhosa, reticulada, etc.)	13
4. Com poro apical	5
4. Sem poro apical	6
5. Com um simples, assimétrico ponto de ligação (somente um)	
	<b>Basidiosporo</b>
5. Forma de limão, marron-escuro a preto e um poro apical	
	<b>(<i>Chaetomium</i>) = Ascosporo</b>
5. Com um simples, assimétrico ponto de ligação (somente um)	
	<b>Basidiosporo</b>
6. Não com estas combinações de características	7
6. Com uma ou mais cicatrizes de ponto de ligação (torna-se preto com a mudança de foco)	
	<b><i>Cladosporium</i></b>
7. Não com estas combinações de características	8
6. Levemente colorido, parede fina, colapsada, com uma diminuição de espessura no ponto de ligação	
	<b><i>Botrytis</i></b>
8. Não com estas combinações de características	9
6. Curvado, em forma de cachorro quente	
	<b><i>Diatrypella</i> = Ascosporo</b>
9. Não com estas combinações de características	10

(continuação)

<b>Características</b>	<b>Seqüência</b>
6. Globoso ou levemente achatado, marron-escuro a preto, 14-20 µm de diâmetro	<i>Nigrospora</i>
10. Não com estas combinações de características	12
12. Simetria radial ou bilateral, com parede rígida e sem cicatriz no ponto de ligação	<b>Ascosporo</b>
12. Não com as combinações de características acima	<b>Esporo não identificado</b>
<b>não septado/colorido/rugoso/ponto de ligação</b>	
13. Com um apêndice(s) ou cicatriz(es) no ponto de ligação	14
13. Sem apêndice(s) ou cicatriz(es)	18
14. Com uma ou mais cicatrizes que aparecem escuras mudando o foco (refratária)	<i>Cladosporium</i>
14. Com cicatriz, mas não escura	15
15. Grande (>10 µm), com uma parte larga na base de ligação ou uma cicatriz	<b>Rust</b>
15. Não com estas combinações de características	16
16. Pequeno (<7 µm), com um ponto de ligação levemente achatado em uma ou ambas as extremidades	<b>Penicillium/Aspergillus</b>
16. Pouca cor, no ponto de ligação um fragmento de micélio	17
17. Superfície com uma pequena verruga ou espinho <i>puffballs</i>	<b>Basidiosporo</b>
17. Superfície granular ou com um curto espinho (forma não usual)	<i>Pithomyces</i>

(continuação)

**Características****Seqüência**

<b>Características</b>	<b>Seqüência</b>
<b>não septado/colorido/rugoso/sem ponto de ligação</b>	
18. Esférico, marron brilhante, parede rígida, com as bordas largas, verrucosa e uma fenda = “casca de torta”	<b><i>Periconia</i></b>
18. Não com estas combinações de características	19
19. Com uma superfície reticulada (sulcos de tela)	20
19. Outra forma de ornamentação	21
20. Marron-dourado com um retículo grosso e preto	<b><i>Tilletia = Smut</i></b>
20. Pequeno, verde, com um retículo delicado	<b><i>Myxomycete = Outro não identificado</i></b>
21. Com um largo ornamento em forma de xícara, pode ser multicelular	<b><i>Urocystis = Smut</i></b>
21. Não com esta combinação de características	22
22. Pequeno (<7 µm), levemente granular ou espinhoso, freqüentemente esverdeado	<b><i>Penicillium/Aspergillus = Outro não identificado</i></b>
22. Não com esta combinação de características	23
23. Parede grossa e lisa em uma extremidade, fina e rugosa na outra	<b><i>Ustilago avenae = Smut</i></b>
23. Não com esta combinação de características	24
24. Globoso e irregular (10-15 µm), com verrugas pretas, freqüentemente em grandes aglomerados (facilmente confundido com <i>Myxomycetes e Periconia</i> )	<b><i>Ustilago maydis = Smut</i></b>
24. Não com esta combinação de características	<b>Esporo não identificado</b>

(continuação)

<b>Característica</b>	<b>Seqüência</b>
<b>não septado/sem cor/liso</b>	
25. Superfície lisa	26
25. Superfície rugosa (espinhosa, verrucosa, granular, etc)	30
26. Grande, forma de barril, com uma extremidade achatada	
	<i>Erysiphe/Oidium</i>
26. Não com esta combinação de características	27
27. Sem cicatriz de ligação, pequena estrutura ou apêndice	
	<b>Esporo não identificado</b>
27. Com cicatriz de ligação, pequena estrutura ou apêndice	28
28. Pequena estrutura de ligação	<b>Basidiosporo</b>
28. Pequena estrutura de ligação ou cicatriz central	29
29. Grande (20-30 µm)	<i>Peronospora</i>
29. Pequeno (8-14 µm), geralmente sem cor	<i>Botrytis</i>
<b>não septado/sem cor/rugoso</b>	
30. Com zona de ligação em uma ou ambas as extremidades	31
30. Sem nenhuma zona de ligação	34
31. Com zona de ligação assimétrica num ponto basal	
	<b>Basidiosporo</b>
31. Sem nenhuma zona de ligação como acima	32
32. Forma de barril, com áreas levemente achatadas em ambas as extremidades	<i>Erysiphe/Oidium</i>
32. Não com estas combinação de características	33
33. Grande (>20 µm), com uma zona mais larga na extremidade	
	<i>Rusts</i>

(continuação)

<b>Características</b>	<b>Seqüência</b>
33. Pequeno (<10 µm), com zona de ligação em uma ou ambas as extremidades	
	<b><i>Penicillium/Aspergillus</i> = Outro não identificado</b>
34. Pequeno (<10 µm), esférico para oval, geralmente com alguma cor	
	<b><i>Penicillium/Aspergillus</i> = Outro não identificado</b>
34. Não com esta combinação de características	35a
35a. Grande (>20 µm), parede grossa, algumas vezes com conteúdo celular amarelo brilhante	<b><i>Rusts</i></b>
35a Não com esta combinação de características	<b>Esporo não identificado</b>
<b>septo transversal/ sem cor</b>	
35. Com septo transverso somente	36
35. Com ambos os septos transverso e longitudinal	49
36. Parede com alguma cor	39
36. Parede completamente sem cor	37
37. Com cicatriz e uma parte mais larga distintas	<b><i>Cercospora</i></b>
37. Desprovido de cicatriz	38
38. Com uma extremidade celular modificada no ponto de ligação	
	<b><i>Fusarium</i></b>
38. Sem nenhuma cicatriz de ponto de ligação	<b>Ascosporo</b>
<b>septo transversal/colorido</b>	
39. Pelo menos 4X maior do que a parte mais larga, multisseptado com as extremidades distintas, cicatriz e parte mais larga em uma extremidade	<b><i>Cercospora</i></b>
39. Não com esta combinação de características	40

(continuação)

<b>Características</b>	<b>Seqüência</b>
40. Forma de pêra, com cicatriz estreita na extremidade, um septo	<i>Polythrincium</i>
40. Não com esta combinação de características	41
41. Fortemente curvado, com uma extremidade celular semelhante à chama de um isqueiro	<i>Curvularia</i>
41. Não com esta combinação de características	42
42. Com ramificações, apêndice sem cor em uma ou ambas as extremidades	<i>Pestalotia</i>
42. Sem tais apêndices	43
43. Com um fragmento de micélio numa extremidade	44
43. Sem fragmento de micélio e sem cor	45
44. Grande (>30 µm de tamanho), grosso e liso	<i>Rust</i>
44. Pequeno (<30 µm), rugoso	<i>Pithomyces</i>
45. Parede muito grossa, cilíndrica ou cônica no ápice, ocasionalmente curvada	<i>Dreschlera</i>
45. Sem a parede excessivamente grossa	46
46. Concavidade em forma de alfinete, algumas vezes com cicatriz em uma ou ambas as extremidades	<i>Alternaria</i>
46. Não com esta combinação de características	47
47. Constrição profunda, escura, parecendo como uma corrente de células esféricas e rugosas	<i>Torula</i>
47. Não com esta combinação de características	48
48. Com cicatriz de fixação em uma ou ambas as extremidades	<i>Cladosporium</i>
48. Sem cicatriz ou apêndice no ponto de ligação	<i>Ascosporo</i>



(conclusão)

<b>Características</b>	<b>Seqüência</b>
<b>septo transversal e longitudinal</b>	
49. Parede completamente sem cor	<b>Ascosporo</b>
49. Parede com alguma cor	50
50. Mais ou menos globoso, com verrugas escuras, uma parte mais larga na extremidade podendo ser observada na mudança de foco	<b><i>Epicoccum</i></b>
50. Não com esta combinação de características	51
51. Com um fragmento de micélio sem cor em uma extremidade	<b><i>Pithomyces</i></b>
51. Não com esta combinação de características	52
52. Com estruturas grandes em forma de copo sobre a superfície de um esporo não septado	<b><i>Urocystis = Smut</i></b>
52. Não com esta combinação de características	53
53. Concavidade em forma de alfinete, com um bico apical	<b><i>Alternaria</i></b>
53. Não com esta combinação de características	54
54. Oval (reduzida uma extremidade), parede com uma leve saliência entre o septo, superfície freqüentemente rugosa	<b><i>Alternaria</i></b>
54. Não com esta combinação de características	55
55. Fusiforme (ambas as extremidades cônicas), constrição mediana no septo, parede lisa	<b><i>Pleospora = Ascosporo</i></b>
55. Mais ou menos cilíndrico ou redondo nas extremidades, constrição mediana, parede freqüentemente granular ou verrucosa	<b><i>Stemphylium</i></b>

As coletas foram efetuadas no período de abril de 2000 a março de 2001, num total de 52 coletas, observando-se 3 773 esporos de fungos. Durante este período, foram determinadas as temperaturas máximas e mínimas, a umidade relativa do ar e a precipitação atmosférica durante as 24 horas da coleta. Estes dados foram fornecidos pelo Instituto Nacional de Meteorologia do Oitavo Distrito de Meteorologia (INMET), do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA).

### **3.2 Determinação de anticorpos IgE específicos**

#### **3.2.1 Testes cutâneos**

Foram selecionados pacientes com asma e ou rinite alérgica, do ambulatório de Alergia e Imunologia Clínica da Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre, encaminhados ao laboratório da Disciplina de Imunologia, da Fundação Faculdade Federal de Ciências Médicas de Porto Alegre. Os pacientes foram submetidos a testes cutâneos de leitura imediata com extratos alergênicos (IPI ASAC Brasil) dos ácaros domésticos *Dermatophagoides pteronyssinus*, *Dermatophagoides farinae* e *Blomia tropicalis* e dos fungos *Aspergillus fumigatus*, *Penicillium notatum*, *Cladosporium herbarum* e *Alternaria alternata*.

Na ocasião, foram obtidas amostras de sangue para determinação de IgE total e de IgE específica para os fungos *Aspergillus niger*, *Aspergillus fumigatus*, *Penicillium notatum*, *Cladosporium herbarum* e *Helminthosporium halodes*.

Os indivíduos que participaram dos testes não utilizaram anti-histamínicos, corticosteróides sistêmicos ou antidepressivos tricíclicos nos sete dias que precederam a realização dos mesmos. Antes do teste, o paciente forneceu as informações e assinou o termo de consentimento constantes no anexo A.

O teste cutâneo foi aplicado na face volar do antebraço, na qual colocou-se uma gota de cada alérgeno, deixando entre os mesmos um espaço mínimo de 2 cm. Através da gota foi passado o bisel de uma agulha hipodérmica descartável (13 mm X 0,45 mm – 26GX 1/2) e executada uma leve ruptura na camada superficial da pele, evitando-se o sangramento. Após 1

minuto aproximadamente, foi retirado o excesso de líquido com papel absorvente. Procedimento idêntico foi efetuado com o controle positivo da reação (solução de histamina glicerinada fenolada) e com o controle negativo (solução salina glicerinada fenolada)

A leitura foi realizada após 15 minutos, observando-se a formação de pápula e eritema. Nas reações positivas, foi feita a medição do diâmetro da pápula e do eritema. O valor de referência para reação positiva é de 2 mm a 3 mm de diâmetro de pápula. Neste estudo, considerou-se reação positiva a formação de pápula ou eritema com 2 mm ou mais de diâmetro.

Foram também realizados testes cutâneos em um grupo controle de indivíduos saudáveis que não apresentavam asma e ou rinite segundo informação dos mesmos.

### 3.2.2 Testes sorológicos

Para a realização dos testes sorológicos, pesquisa de IgE total e IgE específica, foi utilizado o teste fluorimunoenzimático no sistema CAP (Pharmacia & Upjohn).

#### **A. Pesquisa de IgE total**

O soro do paciente foi colocado em contato com uma cápsula contendo anti-IgE acoplado. A IgE presente na amostra do paciente liga-se ao anti-IgE acoplado à cápsula.

Após lavagem para remover o material não ligado, adicionou-se anti-IgE monoclonal conjugado à enzima beta-galactosidase.

Nova lavagem foi realizada para remover o material não ligado, sendo então adicionado o substrato 4-metil-umbeliferil fosfato, interrompendo, assim, a reação.

Interrompida a reação, a fluorescência do eluato foi medida no fluorômetro, sendo proporcional à concentração de IgE na amostra. O resultado foi obtido relacionando

diretamente os valores obtidos na amostra com os dos calibradores e expresso em unidade internacional por mililitro (UI/mL).

## **B. Pesquisa de IgE específica**

O soro do paciente foi colocado em uma cápsula acoplada ao antígeno. A IgE específica presente na amostra liga-se ao antígeno acoplado à cápsula.

Após lavagem para remover o material não ligado, adicionou-se anti-IgE conjugado à enzima, e nova lavagem foi realizada.

Adicionou-se, então, o substrato, com o que ocorreu a interrupção da reação.

A leitura foi feita usando o cálculo dos resultados da concentração de IgE específica contra o alérgeno e relacionando os valores obtidos na amostra com os valores padrões.

Os resultados são referidos como AUSÊNCIA ou PRESENÇA DE IgE ESPECÍFICA para o alérgeno na amostra analisada. Os níveis deste anticorpo são expressos em unidade internacional por mililitro (UI/mL), seguindo os valores de referência.

Os valores de referência são expressos como:

- Ausência de IgE específica para o alérgeno  $<0,35$  UI/mL = CLASSE 0

- Presença de IgE específica para o alérgeno

em níveis baixos - entre 0,35 UI/mL e 0,7 UI/mL = CLASSE I

em níveis moderados - entre 0,7 UI/mL e 3,5 UI/mL = CLASSE II

em níveis altos - entre 3,5 UI/mL e 17,5 UI/mL = CLASSE III

em níveis muito altos -  $> 17,5$  UI/mL = CLASSE IV

## 4 RESULTADOS

### 4.1 Fungos anemófilos

As amostras foram coletadas e quantificadas em 52 bastões coletores. Foram encontrados 3 773 esporos de fungos durante o período pesquisado (ver tabela 3 e figura 3). Foram identificados 567 (15,03%) esporos de fungos do grupo *Aspergillus/Penicillium*; 45 (1,19%) esporos de *Alternaria sp*; 46 (1,22%) de *Botrytis sp*; 674 (17,86%) de *Cladosporium sp*; 33 (0,87%) de *Curvularia sp*; 94 (2,49%) de *Helminthosporium sp*; 3 (0,08%) de *Fusarium sp*; 23 (0,61%) de *Nigrospora sp*; 144 (3,82%) de *rusts* e 34 (0,90%) de *smuts*. Também foram encontrados 1 905 (50,49%) ascosporos e 145 (3,84%) basidiosporos. Entre os esporos encontrados, 60 (1,59%) não puderam ser identificados. Os ascosporos e basidiosporos encontrados pertencem ao filo *Fungi Imperfecti*; por isso, as características morfológicas individuais dos esporos liberados não puderam ser identificadas.

As médias mensais de temperatura máxima e mínima, bem como a umidade relativa do ar, em porcentagem (%), e a precipitação atmosférica, em hectopascals, estão apresentadas na tabela 4.

Os fungos encontrados durante as quatro estações do ano encontram-se na tabela 5.

Tabela 3 - Fungos anemófilos encontrados em Porto Alegre, RS – abril/2000 a março/2001

Fungos	2000									2001			Total	
	abr.	maio	jun.	jul.	ago.	set.	out.	nov.	dez.	jan.	fev.	mar.	total (n)	total (%) *
<i>Aspergillus/Penicillium</i>	33	40	41	44	28	33	27	70	44	68	35	104	567	15,03
<i>Alternaria</i>	3	1	1	0	6	0	4	11	2	0	1	16	45	1,19
<i>Botrytis</i>	27	5	11	3	0	0	0	0	0	0	0	0	46	1,22
Ascosporos	10	7	30	40	319	51	44	177	19	74	61	1 073	1 905	50,49
<i>Cladosporium</i>	9	2	6	4	315	25	16	116	9	6	4	162	674	17,86
Basidiosporos	2	4	5	4	15	1	6	2	1	1	6	98	145	3,84
<i>Curvularia</i>	1	1	9	2	3	2	2	4	2	2	1	4	33	0,87
<i>Helminthosporium</i>	0	4	9	2	8	2	4	6	2	7	2	48	94	2,49
<i>Fusarium</i>	0	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0,08
<i>Nigrospora</i>	0	0	2	7	2	0	0	1	0	0	1	10	23	0,61
<i>Rusts</i>	3	4	1	4	11	0	3	17	3	7	7	84	144	3,82
<i>Smuts</i>	0	0	0	0	3	1	3	4	2	0	2	19	34	0,90
Não identificados	0	0	0	0	33	0	0	5	0	0	0	22	60	1,59
Total	88	70	116	110	743	115	109	413	84	165	120	1 640	3 773	100

\* (%) = porcentagem dos fungos em relação ao total de esporos contados.

**Figura 3 - Fungos anemófilos em Porto Alegre, RS – abril/2000 a março/2001**

**Tabela 4 - Médias mensais de temperatura, umidade relativa do ar e pressão atmosférica relativas aos dias da coleta em Porto Alegre, RS – abril/2000 a março/2001**

Meses 2000-2001	Temperatura ( °C )			Umidade relativa do ar	Pressão atmosférica (hectopascals)	Contagem total de esporos
	-----					
	mínima	máxima	média			
Abril	10	25	22	07	1 010	00
Maio	13	22	18	78	1 020	70
Junho	10	20	15	73	1 019	116
Julho	4	12	8	65	1 022	110
Agosto	7	21	14	73	1 016	743
Setembro	10	20	15	81	1 017	115
Outubro	13	25	19	72	1 016	109
Novembro	18	27	23	62	1 013	413
Dezembro	18	29	24	65	1 012	84
Janeiro	21	32	27	70	1 014	165
Fevereiro	23	31	27	70	1 014	120
Março	21	32	26	71	1 018	1 640

Fonte: Instituto Nacional de Meteorologia, Oitavo Distrito de Meteorologia, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento.

**Tabela 5 - Fungos encontrados durante as quatro estações do ano em Porto Alegre, RS - abril/2000 a março/2001**

Fungos	Estações			
	Outono	Inverno	Primavera	Verão
<i>Aspergillus/Penicillium</i>	114	105	141	207
<i>Alternaria</i>	5	6	17	17
<i>Botrytis</i>	43	3	0	0
Ascosporos	47	410	240	1 208
<i>Cladosporium</i>	17	344	141	172
Basidiosporos	11	20	9	105
<i>Curvularia</i>	11	8	8	7
<i>Helminthosporium</i>	113	12	12	57
<i>Fusarium</i>	3	0	0	0
<i>Nigrospora</i>	2	9	1	11
<i>Rusts</i>	8	15	23	98
<i>Smuts</i>	0	4	9	21
Não identificados	0	33	5	22
<b>Total</b>	<b>274</b>	<b>968</b>	<b>606</b>	<b>1 925</b>

## 4.2 Pesquisa da sensibilização alérgica

### 4.2.1 Testes cutâneos

A sensibilização a fungos foi investigada através de testes cutâneos de leitura imediata e da pesquisa de anticorpos séricos por meio de ensaio imunoenzimático. Foi avaliada a hipersensibilidade alérgica em 39 pacientes atópicos e em 31 não atópicos (grupo controle) sendo aplicados testes cutâneos com alérgenos de ácaros domésticos, *Dermatophagoides pteronyssinus*, *Dermatophagoides farinae* e *Blomia tropicalis*, e de quatro espécies de fungos



do ar, *Aspergillus niger*, *Penicillium notatum*, *Alternaria alternata* e *Cladosporium herbarum*. Considerou-se como reação positiva a formação de pápula ou eritema com média de diâmetro igual ou maior que 2 mm.

Os testes cutâneos para alérgenos dos ácaros foram positivos em 38 pacientes (97,44%) para o *Dermatophagoides pteronyssinus*, em 28 (71,79%) para o *Dermatophagoides farinae* e em 32 (82,05%) para *Blomia tropicalis*. Em todos os pacientes testados os controles negativo e positivo foram eficazes.

Em relação à reatividade cutânea aos fungos, verificou-se reação a *Aspergillus fumigatus* em 4 pacientes (10,26%), a *Penicillium notatum* em 1 (2,56%), a *Cladosporium herbarum* em 2 (5,12%) e a *Alternaria alternata* em 1 (2,56%). Do total dos 39 pacientes testados, 7 (17,9%) apresentaram reação considerada positiva para os alérgenos de fungos, sendo que em 1 (2,56%) ocorreu reação positiva aos alérgenos do *Aspergillus*, *Penicillium* e *Cladosporium* simultaneamente.

As reações a fungos sempre foram de menor intensidade do que aquelas observadas com os ácaros domésticos, o que era previsível pela maior imunogenicidade de alérgenos de ácaros. Os resultados obtidos, paciente por paciente, encontram-se nas tabelas 6 e 7.

(continua)

**Tabela 6 - Resultados dos testes cutâneos (média dos diâmetros longitudinal e vertical de pápula e eritema em mm)**

Alérgeno	<i>Aspergillus</i>		<i>Penicillium</i>		<i>Cladosporium</i>		<i>Alernaria</i>		<i>D. pteronyssinus</i>		<i>D. farinae</i>		<i>Blomia</i>		controle negativo		controle positivo	
	pápula	eritema	pápula	eritema	pápula	eritema	pápula	eritema	pápula	eritema	pápula	eritema	pápula	eritema	pápula	eritema	pápula	eritema
1	<b>2</b>	<b>30</b>	0	0	0	0	0	0	9	27	7	25	8	25	0	0	6	25
2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	20	2	20	0	0	3	15
3	0	0	<b>2</b>	<b>2</b>	0	0	0	0	2	2	0	0	0	0	0	0	7	20
4	0	0	0	0	0	0	0	0	5	25	3	6	9	27	0	0	5	27
5	0	0	0	0	0	0	0	0	8	7	3	15	5	15	0	0	4	12
6	0	0	0	0	0	0	0	0	16	37	8	25	5	22	0	0	6	25
7	0	0	0	0	0	0	0	0	3	3	2	2	3	3	3	3	6	17
8	0	0	0	0	0	0	0	0	11	27	5	25	8	30	0	0	6	22
9	0	0	0	0	0	0	0	0	2	3	0	0	4	11	0	0	5	20
10	<b>2</b>	<b>13</b>	<b>2</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>12</b>	0	0	4	20	3	15	3	7	0	0	8	25
11	0	0	0	0	0	0	0	0	3	12	0	0	2	3	0	0	6	27
12	0	0	0	0	0	0	0	0	6	30	5	27	8	27	0	0	4	16
13	0	0	0	0	0	0	<b>5</b>	<b>27</b>	3	27	2	3	3	27	0	0	5	25
14	0	0	0	0	0	0	0	0	5	7	0	0	0	0	0	0	5	30
15	0	0	0	0	0	0	0	0	3	3	0	0	2	2	0	0	5	17
16	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2	0	0	3	3	0	0	6	15
17	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2	2	2	3	4	0	0	6	9
18	0	0	0	0	0	0	0	0	6	32	7	30	7	30	0	0	5	27
19	<b>3</b>	<b>3</b>	0	0	0	0	0	0	8	25	6	17	6	17	0	0	5	22

**Tabela 6 - Resultados dos testes cutâneos (média dos diâmetros longitudinal e vertical de pápula e eritema em mm)**

(conclusão)

Alérgeno	<i>Aspergillus</i>		<i>Penicillium</i>		<i>Cladosporium</i>		<i>Alternaria</i>		<i>D. pteronyssinus</i>		<i>D. farinae</i>		<i>Blomia</i>		controle negativo		controle positivo	
	pápula	eritema	pápula	eritema	pápula	eritema	pápula	eritema	pápula	eritema	pápula	eritema	pápula	eritema	pápula	eritema	pápula	eritema
20	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2	0	0	0	0	0	0	4	26
21	0	0	0	0	0	0	0	0	4	11	4	11	5	10	0	0	5	19
22	0	0	0	0	0	0	0	0	4	19	2	9	2	9	0	0	3	22
23	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2	0	0	0	0	0	0	4	11
24	0	0	0	0	0	0	0	0	2	3	0	0	0	0	0	0	4	25
25	0	0	0	0	0	0	0	0	2	8	3	4	3	7	0	0	3	7
26	0	0	0	0	0	0	0	0	5	27	4	10	4	10	0	0	5	22
27	0	0	0	0	0	0	0	0	3	17	4	10	5	27	0	0	4	20
28	0	0	0	0	0	0	0	0	4	24	0	0	0	0	0	0	5	32
29	0	0	0	0	<b>3</b>	<b>4</b>	0	0	4	6	3	8	11	22	0	0	6	20
30	0	0	0	0	0	0	0	0	9	52	10	25	8	27	0	0	4	25
31	0	0	0	0	0	0	0	0	5	9	3	5	5	6	0	0	5	17
32	0	0	0	0	0	0	0	0	3	12	3	17	5	25	0	0	4	16
33	0	0	0	0	0	0	0	0	7	12	8	17	5	8	0	0	7	12
34	0	0	0	0	0	0	0	0	5	32	4	17	6	24	0	0	4	20
35	0	0	0	0	0	0	0	0	3	22	4	20	6	25	0	0	4	17
36	0	0	0	0	0	0	0	0	5	20	3	10	5	15	0	0	6	20
37	0	0	0	0	0	0	0	0	10	37	4	24	9	32	0	0	6	40
38	0	0	0	0	0	0	0	0	11	37	8	30	10	35	0	0	3	22
39	<b>4</b>	<b>12</b>	0	0	0	0	0	0	4	5	0	0	0	0	0	0	6	11

*Aspergillus fumigatus*; *Penicillium notatum*; *Cladosporium herbarum*; *Alternaria alternata*; *Dermatophagoides pteronyssinus*; *Dermatophagoides farinae*; *Blomia tropicalis*

Tabela 7 - Resultado dos testes cutâneos no grupo controle (média dos diâmetros longitudinal e vertical de pápula e eritema em mm) (continua)

Alérgeno	<i>Asp. Fumigatus</i>		<i>Pen. Notatum</i>		<i>Cla. Herbarum</i>		<i>Alt. Alternata</i>		Dpt		Dfa		Btrp		controle negativo		controle positivo	
Paciente	pápula	eritema	pápula	eritema	pápula	eritema	pápula	eritema	pápula	eritema	pápula	eritema	pápula	eritema	pápula	eritema	pápula	eritema
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	20
2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	6	11
3	0	0	0	0	0	0	0	0	5	25	3	15	6	33	0	0	6	24
4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	12
5	0	0	0	0	0	0	0	0	2	15	3	22	3	27	0	0	4	20
6	0	0	0	0	0	0	0	0	3	20	0	0	2	12	0	0	4	20
7	0	0	0	0	0	0	0	0	3	15	0	0	2	7	3	3	7	25
8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	7	30
9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2	0	0	0	0	4	22
10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	7	13
11	0	0	0	0	0	0	0	0	4	27	3	20	3	22	0	0	8	30
12	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	25
13	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5	22
14	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	20
15	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	22
16	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	25
17	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	6	22
18	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	6	20
19	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	5
20	0	0	0	0	0	0	0	0	2	12	2	2	2	2	0	0	6	22

**Tabela 7 - Resultado dos testes cutâneos no grupo controle (média dos diâmetros longitudinal e vertical de pápula e eritema em mm) (conclusão)**

Alérgeno	<i>Asp. Fumigatus</i>		<i>Pen. Notatum</i>		<i>Cla. Herbarum</i>		<i>Alt. Alternata</i>		Dpt		Dfa		Btrp		controle negativo		controle positivo		
	pápula	eritema	pápula	eritema	pápula	eritema	pápula	eritema	pápula	eritema	pápula	eritema	pápula	eritema	pápula	eritema	pápula	eritema	
21	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	5
22	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5	15
23	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5	15
24	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	19	29
25	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5	17
26	0	0	0	0	0	0	0	0	3	15	2	7	0	0	0	0	0	11	16
27	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5	26
28	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	6	17
29	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5	25	6	34	0	0	0	6	25
30	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	22
31	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	6	27

*Asp. Fumigatus* = *Aspergillus fumigatus*; *Pen. Notatum* = *Penicillium notatum*; *Cla herbarum* = *Cladosporium herbarum*; *Alt. Alternata* = *Alternaria alternata*; Dpt = *Dermatophagoides pteronyssinus*; Dfa = *Dermatophagoides farinae*; Btrp = *Blomia tropicalis*

De acordo com os resultados obtidos com os testes cutâneos, estima-se que haja uma prevalência estatística de 17,94% de sensibilização por fungo, considerando que o resultado tenha sido positivo para pelo menos um deles (ver tabela 8).

**Tabela 8 - Resultado estatístico dos testes cutâneos**

<b>Positivo para pelos menos um fungo</b>	<b>Frequência</b>	<b>%</b>
Não	32	82,1
Sim	7	17,9
<b>Total</b>	<b>39</b>	<b>100,0</b>

Para obtenção de uma estimativa para prevalência por intervalo de confiança, foi utilizada a expressão encontrada em Zar (1999) que se baseia no relacionamento existente entre as distribuições de probabilidade F e binomial. Por meio desta expressão, chegou-se ao seguinte resultado: com 95% de confiança, a verdadeira proporção de indivíduos positivos está entre 6,32% e 33,67%.

As prevalências estimadas para cada fungo, bem como os intervalos de confiança, são apresentados na tabela 9.

**Tabela 9 - Prevalências de fungo estimadas e intervalos de confiança 95% por tipos de fungo**

<b>Fungo</b>	<b>Intervalo de confiança 95%</b>		
	<b>Prevalência (%)</b>	<b>Mínimo (%)</b>	<b>Máximo (%)</b>
<i>Aspergillus fumigatus</i>	10,26	2,81	24,24
<i>Penicillium notatum</i>	5,13	0,63	17,36
<i>Cladosporium herbarum</i>	5,13	0,63	17,36
<i>Alternaria alternata</i>	5,13	0,63	17,36

Os diâmetros das pápulas e eritemas dos casos que resultaram positivos são apresentados na tabela 10.

**Tabela 10 - Estatísticas descritivas para a média dos diâmetros longitudinal e vertical e pápula e eritema**

Fungo		Diâmetro (mm)			
		Mín.	Máx.	Média	Desvio-padrão
<i>Aspergillus fumigatus</i>	Pápula	2,0	4,0	2,9	0,9
	Eritema	3,0	30,0	14,8	11,3
<i>Penicillium notatum</i>	Pápula	2,0	3,0	2,3	0,4
	Eritema	2,0	2,0	2,0	0,0
<i>Cladosporium herbarum</i>	Pápula	3,0	3,0	3,0	0,0
	Eritema	4,0	15,0	8,3	6,0
<i>Alternaria alternata</i>	Pápula	4,0	6,0	5,0	-
	Eritema	4,0	30,0	15,8	16,6

As prevalências estimadas para cada fungo no grupo controle e os intervalos de confiança são apresentados na tabela 11.

**Tabela 11 - Prevalências estimadas e intervalos de confiança 95% por tipos de alérgenos no grupo controle**

Alérgeno	Intervalo de confiança 95%		
	Prevalência (%)	Mínimo (%)	Máximo (%)
<i>Aspergillus fumigatus</i>	0,0	0,0	11,25
<i>Penicillium notatum</i>	0,0	0,0	11,25
<i>Cladosporium herbarum</i>	0,0	0,0	11,25
<i>Alternaria alternata</i>	0,0	0,0	11,25
<i>Dermatophagoides pteronyssinus</i>	22,6	9,18	40,36
<i>Dermatophagoides farinae</i>	22,6	9,18	40,36
<i>Blomia tropicalis</i>	22,6	9,18	40,36
Controle negativo	3,2	0,08	16,71
Controle positivo	100,0	88,75	100,00

Os diâmetros longitudinal e vertical das pápulas e eritemas dos casos que resultaram positivos, no grupo controle, são apresentados na tabela 12.

**Tabela 12 - Estatísticas descritivas para a média dos diâmetros longitudinal e vertical de pápula e eritema no grupo controle**

Alérgeno de ácaro		Diâmetro (mm)			
		Min.	Max.	Média	Desvio-padrão
<i>Dermatophagoides pteronyssinus</i>	Pápula	2,00	5,00	3,14	1,07
	Eritema	12,00	27,00	18,43	5,71
<i>Dermatophagoides farinae</i>	Pápula	2,00	5,00	2,86	1,07
	Eritema	2,00	25,00	13,29	9,62
<i>Blomia tropicalis</i>	Pápula	2,00	6,00	3,43	1,81
	Eritema	2,00	34,00	19,57	12,74
Controle negativo	Pápula	3,00	3,00	3,00	--
	Eritema	3,00	3,00	3,00	--
Controle positivo	Pápula	3,00	19,00	5,77	2,93
	Eritema	5,00	30,00	20,13	6,41

#### 4.2.2 Testes sorológicos

Para os testes sorológicos, foram utilizadas amostras de sangue dos 39 pacientes. Efetuou-se a determinação da IgE total sérica e a pesquisa de IgE específica para alérgenos disponíveis, como *Cladosporium herbarum*, *Helminthosporium halodes*, *Penicillium notatum*, *Aspergillus niger* e *Aspergillus fumigatus*.

Os resultados obtidos nos testes sorológicos (IgE total e IgE específica), paciente por paciente, encontram-se na tabela 13.



**Tabela 13 - Resultado dos testes sorológicos (IgE total e específica)**

Paciente	IgE total	<i>Asp. fumigatus</i>	<i>Asp. niger</i>	<i>Clad.herbarum</i>	<i>Hel. halodes</i>	<i>Pen.notatum</i>
1	970,0	<0,35 =classe 0	<0,35 =classe 0	<0,35 =classe 0	<0,35 =classe 0	<0,35 =classe 0
2	156,0	<0,35 =classe 0	<0,35 =classe 0	<0,35 =classe 0	<0,35 =classe 0	<0,35 =classe 0
3	4 388,0	<b>1,79 = classe II</b>	<b>0,44 = classe I</b>	<b>1,02 = classe II</b>	<b>0,43 = classe I</b>	<b>1,37 = classe II</b>
4	278,0	<0,35 =classe 0	<0,35 =classe 0	<0,35 =classe 0	<0,35 =classe 0	<0,35 =classe 0
5	292,0	<0,35 =classe 0	<0,35 =classe 0	<0,35 =classe 0	<0,35 =classe 0	<0,35 =classe 0
6	322,0	<0,35 =classe 0	<0,35 =classe 0	<0,35 =classe 0	<0,35 =classe 0	<0,35 =classe 0
7	132,0	<0,35 =classe 0	<0,35 =classe 0	<0,35 =classe 0	<0,35 =classe 0	<0,35 =classe 0
8	266,0	<0,35 =classe 0	<0,35 =classe 0	<0,35 =classe 0	<0,35 =classe 0	<0,35 =classe 0
9	110,0	<0,35 =classe 0	<0,35 =classe 0	<0,35 =classe 0	<0,35 =classe 0	<0,35 =classe 0
10	77,4	<0,35 =classe 0	<0,35 =classe 0	<0,35 =classe 0	<0,35 =classe 0	<0,35 =classe 0
11	225,0	<0,35 =classe 0	<0,35 =classe 0	<0,35 =classe 0	<0,35 =classe 0	<0,35 =classe 0
12	631,0	<0,35 =classe 0	<0,35 =classe 0	<0,35 =classe 0	<0,35 =classe 0	<0,35 =classe 0
13	16,4	<0,35 =classe 0	<0,35 =classe 0	<b>0,43 = classe I</b>	<b>1,19 = classe II</b>	<0,35 =classe 0
14	31,8	<0,35 =classe 0	<0,35 =classe 0	<0,35 =classe 0	<0,35 =classe 0	<0,35 =classe 0
15	1 004,0	<0,35 =classe 0	<0,35 =classe 0	<b>0,71 = classe II</b>	<b>1,86 = classe II</b>	<0,35 =classe 0
16	143,0	<0,35 =classe 0	<0,35 =classe 0	<0,35 =classe 0	<0,35 =classe 0	<0,35 =classe 0
17	117,0	<0,35 =classe 0	<0,35 =classe 0	<0,35 =classe 0	<0,35 =classe 0	<0,35 =classe 0
18	137,0	<0,35 =classe 0	<0,35 =classe 0	<0,35 =classe 0	<0,35 =classe 0	<0,35 =classe 0
19	311,0	<b>0,66 = classe I</b>	<0,35 =classe 0	<0,35 =classe 0	<0,35 =classe 0	<0,35 =classe 0
20	12,2	<0,35 =classe 0	<0,35 =classe 0	<0,35 =classe 0	<0,35 =classe 0	<0,35 =classe 0
21	1 501,0	<0,35 =classe 0	<0,35 =classe 0	<0,35 =classe 0	<0,35 =classe 0	<0,35 =classe 0
22	493,0	<0,35 =classe 0	<0,35 =classe 0	<0,35 =classe 0	<0,35 =classe 0	<0,35 =classe 0
23	61,7	<0,35 =classe 0	<0,35 =classe 0	<0,35 =classe 0	<0,35 =classe 0	<0,35 =classe 0
24	177,0	<0,35 =classe 0	<0,35 =classe 0	<0,35 =classe 0	<0,35 =classe 0	<0,35 =classe 0
25	215,0	<b>0,81 = classe II</b>	<0,35 =classe 0	<0,35 =classe 0	<0,35 =classe 0	<0,35 =classe 0
26	615,0	<0,35 =classe 0	<0,35 =classe 0	<0,35 =classe 0	<0,35 =classe 0	<0,35 =classe 0
27	35,5	<0,35 =classe 0	<0,35 =classe 0	<0,35 =classe 0	<0,35 =classe 0	<0,35 =classe 0
28	653,0	<0,35 =classe 0	<0,35 =classe 0	<0,35 =classe 0	<0,35 =classe 0	<0,35 =classe 0
29	191,0	<0,35 =classe 0	<0,35 =classe 0	<0,35 =classe 0	<0,35 =classe 0	<0,35 =classe 0
30	181,0	<0,35 =classe 0	<0,35 =classe 0	<0,35 =classe 0	<0,35 =classe 0	<0,35 =classe 0
31	509,0	<0,35 =classe 0	<0,35 =classe 0	<0,35 =classe 0	<0,35 =classe 0	<0,35 =classe 0
32	68,0	<0,35 =classe 0	<0,35 =classe 0	<0,35 =classe 0	<0,35 =classe 0	<0,35 =classe 0
33	654,0	<0,35 =classe 0	<0,35 =classe 0	<0,35 =classe 0	<0,35 =classe 0	<0,35 =classe 0
34	533,0	<0,35 =classe 0	<0,35 =classe 0	<0,35 =classe 0	<0,35 =classe 0	<0,35 =classe 0
35	2 856,0	<0,35 =classe 0	<0,35 =classe 0	<0,35 =classe 0	<0,35 =classe 0	<0,35 =classe 0
36	1 547,0	<0,35 =classe 0	<0,35 =classe 0	<0,35 =classe 0	<0,35 =classe 0	<0,35 =classe 0
37	281,0	<0,35 =classe 0	<0,35 =classe 0	<0,35 =classe 0	<0,35 =classe 0	<0,35 =classe 0
38	267,0	<0,35 =classe 0	<0,35 =classe 0	<0,35 =classe 0	<0,35 =classe 0	<0,35 =classe 0
39	68,9	<0,35 =classe 0	<0,35 =classe 0	<0,35 =classe 0	<0,35 =classe 0	<0,35 =classe 0

*Aspergillus fumigatus*; *Aspergillus niger*; *Cladosporium herbarum*; *Helminthosporium halodes*; *Penicillium notatum*

Identificação de anticorpos IgE ocorreu em cinco amostras. A análise do paciente 3 detectou anticorpos IgE para todos os alérgenos de fungos avaliados. É possível que tenha ocorrido uma reação falsa positiva nesse paciente, visto que ele apresentava nível muito elevado de IgE total (4 388 UI/mL). O nível de anticorpos IgE específicos para os fungos pode ser considerado baixo em todas os resultados obtidos. A ausência de correlação entre teste cutâneo e os testes sorológicos é compreensível, pela diferente origem dos reagentes e pela ausência de padronização de alérgenos de fungos.

De acordo com os resultados obtidos com os testes sorológicos, estima-se que haja uma prevalência de 12,82% de sensibilização por fungo, considerando que o resultado tenha sido positivo para pelo menos um deles (ver tabela 14).

**Tabela 14 - Resultado estatístico dos testes sorológicos**

<b>Positivo para pelo menos um fungo</b>	<b>Frequência</b>	<b>%</b>
Não	34	87,2
Sim	5	12,8
Total	39	100,0

Utilizando a expressão encontrada em Zar (1999), obteve-se a verdadeira proporção de casos positivos, que está entre 4,30% e 27,41%, com 95% de confiança. Verificando a prevalência por fungo, chegou-se aos resultados apresentados na tabela 15.

**Tabela 15 - Prevalências de fungo estimadas e intervalos de confiança 95% por tipos de fungo**

Fungo	Intervalo de confiança 95%		
	Prevalência (%)	Mínimo (%)	Máximo (%)
<i>Aspegillus fumigatus</i>	7,69	1,61	20,91
<i>Aspergillus niger</i>	2,56	0,07	13,44
<i>Cladosporium herbarum</i>	7,69	1,61	20,91
<i>Helminthosporium halodes</i>	7,69	1,61	20,91
<i>Penicillium notatum</i>	2,56	0,07	13,44

A sensibilização dos pacientes mediante a presença de anticorpos expressos em classes é apresentada a seguir na tabela 16.

**Tabela 16 - Distribuição em classes da sensibilização dos pacientes aos alérgenos de fungos**

Fungo	Classes			Total
	Classe 0	Classe I	Classe II	
<i>Aspergillus fumigatus</i>	36	1	2	39
<i>Aspergillus niger</i>	38	1	0	39
<i>Cladosporium herbarum</i>	36	1	2	39
<i>Helminthosporium halodes</i>	36	1	2	39
<i>Penicillium notatum</i>	38	0	1	39

A estatística para os alérgenos de fungos utilizados no teste sorológico é apresentada na tabela 17.

**Tabela 17 - Estatísticas descritivas para os alérgenos de fungos utilizado no teste sorológico**

Alérgeno do fungo	Quantidade (UI/mL)			
	Mín.	Máx.	Média	Desvio-Padrão
<i>Aspergillus fumigatus</i>	0,66	1,79	1,09	0,61
<i>Aspergillus niger</i>	0,44	0,44	0,44	-
<i>Cladosporium herbarum</i>	0,43	1,02	0,72	0,30
<i>Helminthosporium halodes</i>	0,43	1,86	1,16	0,72
<i>Penicillium notatum</i>	1,37	1,37	1,37	-

A tabela 18, a seguir, apresenta as estatísticas descritivas para o IgE total nos casos positivos, negativos e para o total.

**Tabela 18 - Estatísticas descritivas para IgE total**

Resultado do teste sorológico	IgE total (UI/mL)				
	n	Min.	Max.	Média geométrica	Desvio-Padrão
Negativos	34	12,20	2 856,00	238,84	568,43
Positivos	5	16,40	4 388,00	344,20	1 827,73
Total	39	12,20	4 388,00	250,30	833,66

Percebe-se que a variabilidade do IgE é muito grande dentre os cinco casos que resultaram positivos no teste sorológico, razão pela qual as médias entre negativos e positivos são tão diferentes entre si.

#### 4.2.3 Comparação entre os testes cutâneos e sorológicos no grupo de pacientes atópicos

Para comparar os resultados dos testes cutâneos e sorológicos (positivo ou negativo), foi construída uma tabela cruzada, onde se verifica que há uma concordância nos resultados de 33 casos dos 39 pacientes investigados. Para quantificar a concordância entre os resultados dos dois testes, recorreu-se ao coeficiente de Kappa. De acordo com Everitt (1992), trata-se de uma medida no intervalo de 0 a 1 que mede o grau de concordância entre duas classificações organizadas na forma de uma tabela cruzada simétrica. Nesse caso, o coeficiente resultou em 0,412 (tabela 19), considerado “Moderado” segundo a escala de Landis; Koch (1977).

**Tabela 19 - Comparação entre os resultados dos testes cutâneos e sorológicos**

Resultado do teste cutâneo	Resultado do teste sorológico				Total	
	Negativo		Positivo		n	%
	n	%	n	%	n	%
Negativo	30	76,9	2	5,1	32	82,1
Positivo	4	10,3	3	7,7	7	17,9
Total	34	87,2	5	12,8	39	100,0

Coeficiente de concordância Kappa = 0,412

O banco de dados foi organizado no Microsoft Excel e a Análise estatística foi realizada no SPSS versão 8.0. Foram utilizadas técnicas de estatística descritiva como tabelas de frequência, medidas de tendência central e de variabilidade (médias aritmética, geométrica e desvio - padrão) e o coeficiente de concordância de Kappa. No campo referencial, foram construídos intervalos de confiança para prevalência. Não foram utilizados testes de hipóteses, mas sim intervalos de confiança.

## 5 DISCUSSÃO

### 5.1 Fungos anemófilos

A identificação de esporos de fungos é tarefa difícil, uma vez que alguns fungos, por terem formas similares, não possibilitam a identificação em nível de gênero, caso do *Aspergillus* e do *Penicillium*. Outros esporos são muito pequenos e suas características individuais, como a transparência, impedem a identificação, a exemplo de *Phoma*, *Candida* e outros (Burge; Levetin; Muilenberg; Solomon, 1996).

A temperatura e a umidade relativa do ar são consideradas importantes condicionantes da frequência de fungos no ar atmosférico (Gambale; Purchio; Paula, 1983; Bartzokas, 1975; Cammack, 1955). Neste estudo (ver tabela 4), a temperatura esteve baixa no mês de julho, aumentou de agosto a março. A umidade relativa do ar manteve-se sempre muito elevada, entre 60% e 80%, ao longo do período, fator que pode favorecer maior proliferação de fungos. A pressão atmosférica não apresentou variação importante ao longo do período. A quantidade de esporos encontrada não apresentou relação com temperatura, umidade relativa do ar e pressão atmosférica.

Nos dias de chuva, os esporos de fungos tendem a diminuir no ar atmosférico, o que, naturalmente, não ocorre dentro das moradias. Quando o sol reaparece, a concentração de esporos aumenta gradualmente (Agarwal; Shivpuri; Mukerji, 1969). Cabe lembrar que a precipitação pluviométrica não foi levada em consideração no presente trabalho.

Os dados obtidos registraram uma menor quantidade de fungos no outono e uma incidência maior no verão (ver tabela 5). Segundo Burge; Levetin; Muilenberg; Solomon

(1996) a formação do esporo, principal forma de disseminação dos fungos, ocorre nos períodos em que as condições climáticas são adversas, ou seja, nas estações secas.

Devido a sua importância em quadros de natureza alérgica, a presença de fungos anemófilos foi objeto de numerosas pesquisas em várias partes do mundo.

Morrow; Meyer; Prince (1964) realizaram investigações em várias regiões dos Estados Unidos da América (EUA), tendo registrado alta prevalência de *Alternaria*, *Cladosporium*, *Pullularia*, *Aspergillus* e *Penicillium*.

No mesmo país, Griffith (1951) isolou em Savannah, Geórgia, *Alternaria*, *Aspergillus* e *Cladosporium* como os mais freqüentes quando realizado o cultivo, e *Alternaria*, *Cladosporium* e *Aspergillus* quando da pesquisa dos esporos.

Em Havana (Cuba), Alvarez; Castro (1951) verificaram que a quantidade de fungos é maior à noite do que durante o dia.

Moustafá; Kamel (1976), no Kuwait, encontraram *Alternaria*, *Aspergillus*, *Penicillium* e *Cladosporium* como os mais freqüentes.

Em Atenas, Bartzokas (1975) encontrou *Alternaria*, *Aspergillus* e *Penicillium* como os mais freqüentes. Os esporos tiveram maior prevalência no outono e no inverno do que na primavera e no verão.

Em estudo realizado em Porto Alegre, Homrich (1961) encontrou no ambiente intradomiciliar maior freqüência de *Aspergillus*, *Penicillium*, *Rhizopus* e *Mucor*.

Os resultados de pesquisas qualitativas dos fungos anemófilos mais freqüentes no Brasil estão apresentados na tabela 20. Trata-se de dados provenientes de pesquisas em cultura ou lâmina que não foram realizadas nos mesmos padrões aqui adotados e que, de modo geral, constaram de pequeno número de observações. Desta forma, sua comparação com o presente estudo é válida somente para a freqüência relativa dos gêneros dos fungos isolados.

**Tabela 20 - Prevalência (%) de fungos anemófilos isolados de algumas cidades brasileiras**

Gênero	Cidades										
	NA	RE	BE	RJ	BH	SP	PP	BS	PI	CR	PA
<i>Aspergillus</i>	65,0	58,8	63,8	10,0	58,6	23,3	55,8	23,7	43,7	43,4	46,6
<i>Penicillium</i>	50,0	41,4	36,6	20,0	64,7	41,7	17,9	51,1	62,3	43,1	-
<i>Fusarium</i>	20,8	19,6	14,5	-	24,7	14,0	26,9	17,4	-	-	-
<i>Cladosporium</i>	17,5	20,8	17,5	15,0	90,3	64,8	74,3	48,8	-	32,9	-
<i>Curvularia</i>	15,8	18,9	68,3	-	33,3	-	10,2	10,5	-	-	-
<i>Rhizopus</i>	14,1	-	-	-	-	-	26,9	10,1	18,1	10,5	-
<i>Rhodotorula</i>	10,8	-	-	10,0	28,0	48,9	22,4	-	12,5	14,5	-
<i>Neurospora</i>	7,5	-	-	-	-	-	35,9	-	-	-	-
<i>Dreschlera</i>	6,6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Aureobasidium</i>	5,0	10,8	-	-	31,9	19,9	37,2	15,5	-	-	-

Fonte: Oliveira *et al.*, 1993.

NA=Natal; RE=Recife; BE=Belém; RJ=Rio de Janeiro; BH=Belo Horizonte; SP=São Paulo; PP=Presidente Prudente; BS=Baixada Santista; PI=Piracicaba; CR=Curitiba; PA=Porto Alegre.

A coleta padronizada dos aeroalérgenos, segundo Chapman (2000), permite efetuar comparações de ano para ano e de uma estação de coleta para outra em várias regiões do país. Dados assim obtidos podem ajudar a definir padrões de surgimento de esporos e estabelecer os períodos em que eles ocorrem. A aplicação de métodos padronizados de coleta também torna possível identificar dias de pico de esporulação e quantificar o número de esporos durante a estação e o ano.

Os aparelhos Burkard® e Rotorod Sampler® obtêm dados fidedignos na coleta de amostras de polens e esporos de fungos no ar. O Burkard® tem-se mostrado melhor em detectar partículas menores que 10 µm, ao passo que o Rotorod Sampler® tem sido similar ou superior ao Burkard® em coletar partículas maiores que 10 µm. Os esporos maiores que 6 µm



são retidos pelas narinas. Os menores que 0,1  $\mu\text{m}$  não são depositados nas vias respiratórias e são expelidos com o ar expirado (Frenz, 1999; Homrich, 1961).

Neste trabalho, foram identificados 3 773 esporos de fungos em 52 amostras coletadas durante o período de abril de 2000 a março de 2001. Foram identificados com frequência significativa, mas sem características sazonais, esporos dos fungos *Cladosporium* (17,86%) e *Aspergillus/Penicillium* (15,03%) (ver tabela 3). Os demais fungos foram identificados ocasionalmente: a frequência total de *rusts* foi de 3,82%, de *Helminthosporium*, 2,49%, de *Botrytis*, 1,22%, de *Alternaria*, 1,19%, de *smuts*, 0,90%, de *Curvularia*, 0,87%, de *Nigrospora*, 0,61%, e de *Fusarium*, 0,08%.

Aproximadamente 1,59% dos esporos de fungos não puderam ser identificados pela chave sistemática utilizada. Esta dificuldade de identificação é inerente à pesquisa de fungos, por causa da morfologia semelhante de alguns esporos pertencentes a diferentes gêneros de fungos. Tal semelhança impossibilita a identificação das características individuais dos esporos.

Os fungos foram identificados em gênero quando possível, em grupo de gêneros, caso do *Aspergillus/Penicillium*, ou somente pela forma do esporo, caso dos ascosporos e basidiosporos. As frequências foram calculadas em relação ao total dos esporos quantificados durante o período estudado. Os esporos de ascosporos correspondem a 50,49% do total dos esporos quantificados, e os basidiosporos a 3,84%.

A frequência dos fungos anemófilos em Porto Alegre apresentou-se de forma irregular ao longo dos meses estudados (ver tabela 3). Ocorreram três picos, nos meses de agosto, novembro e março, ou seja, no final do inverno, meados da primavera e final do verão (ver figura 3).

Dos 3 773 esporos de fungos quantificados e identificados, todos, com exceção do *Fusarium*, *Botrytis*, *Nigrospora* e *smuts*, foram encontrados em todas as estações do ano. *Fusarium* e *Botrytis* não foram encontrados no inverno, primavera e verão. A *Nigrospora* e o *smuts*, por sua vez, não foram encontrados no outono. Alguns fungos não ocorreram em determinados meses. Assim, *Alternaria* não foi encontrada nos meses de julho, setembro e janeiro, *Botrytis* não ocorreu de agosto a março, *Fusarium* somente esteve presente nos meses

de maio e junho, *Helminthosporium* não foi encontrado em abril, *Nigrospora* em abril, maio, setembro, outubro, dezembro e janeiro, e o *smuts* em abril, maio, junho, julho e janeiro.

De modo geral, os fungos mais freqüentes identificados no estudo, *Cladosporium*, *Penicillium/Aspergillus*, também foram os mais prevalentes em outras cidades brasileiras (ver tabela 20), mesmo com pesquisa qualitativa (Lacaz; Mendes; Pinto; Cardoso; Cucchetti, 1958; Oliveira Lima; Seabra; França; Cukier, 1963; Mendes; Lacaz, 1952; Oliveira; Braz; Ribeiro, 1993; Pinheiro; Neder; Azevedo, 1966).

## 5.2 Fungos e alergia

Alérgenos em suspensão no ar representam os principais agentes de sensibilização entre os indivíduos atópicos. É bem conhecida a associação entre sensibilização a aeroalérgenos e desenvolvimento de doenças como asma e rinite alérgicas. No Brasil, os ácaros domésticos representam a principal fonte de alérgenos nas manifestações alérgicas das vias respiratórias. A ubiquidade e a potente imunogenicidade intrínseca de antígenos de ácaros talvez sejam os responsáveis por esta predominância.

Cada indivíduo se expõe a locais com maior e menor quantidade de aeroalérgenos. Em relação aos esporos de fungos, a exposição do indivíduo não pode ser determinada pela simples observação da coleta em uma localidade, mas também deve considerar amostras pessoais coletadas em sua casa ou trabalho. A contagem dos esporos pode variar em mais de 1 000 vezes em alguns locais. Tal dado, no entanto, geralmente não é avaliado.

A presença de determinado alérgeno em alta concentração nem sempre está associada à relevância clínica do mesmo. Esporos de *Cladosporium* aparecem em grande número nos Estados Unidos e em outros locais, mas parecem ser menos sensibilizantes que os polens de gramíneas encontrados em baixas concentrações (Chapman, 2000).

Os esporos de fungos, embora abundantes no ar, não apresentam a mesma proporção de manifestações clínicas de asma e ou rinite como os alérgenos de ácaros e de polens.

Sensibilização a alérgenos de fungos é encontrada em 20% a 30% dos atópicos. De modo geral, não se identifica uma “estação fúngica”, como ocorre habitualmente com os polens. Este constitui um fator adicional na dificuldade de diagnóstico de sensibilidade a fungos e da interpretação da importância desta na indução de quadros respiratórios alérgicos. Além disso, certas atividades estão associadas a maior contato com fungos, como jardinagem, trabalho em campos não cultivados, etc.

Ao lado disso, existe grande dificuldade na caracterização de alérgenos de fungos. Em consequência, não se dispõe de extratos alergênicos padronizados para teste cutâneo. Da mesma forma, os alérgenos utilizados nas provas laboratoriais podem não ter a mesma composição dos extratos para testes cutâneos. Conseqüentemente, não é incomum que os resultados de provas *in vivo* e *in vitro* sejam discordantes.

Estudos realizados em São Paulo, Mohovic; Gambale; Croce (1988) pesquisaram a positividade cutânea em pacientes com alergia respiratória utilizando 42 extratos alergênicos de fungos anemófilos encontrados na cidade de São Paulo e obtiveram 34,8% de reação positiva ao utilizar um extrato polivalente destes fungos e quando submetidos ao extrato individual de cada fungo, 74,3% desses pacientes foram positivos para um ou mais extratos alergênicos. Gambale; Croce; Costa-Manso; Croce; Sales (1993) investigaram em livrarias da Universidade de São Paulo os fungos do ar ali presentes e sua relação com a alergia respiratória em indivíduos que ali trabalhavam. Realizaram pesquisa cutânea nesses trabalhadores e encontraram 19,5% dos sintomáticos e 9% dos assintomáticos com reação positiva aos fungos do ar presentes nesse ambiente.

A identificação de sensibilização reagínica, no presente estudo, teve o caráter ilustrativo de demonstrar a importância da presença de fungos no ar. Embora a amostra estudada tenha sido pequena, os testes cutâneos identificaram hipersensibilidade a pelo menos um dos fungos em sete pacientes. Ressalte-se que estes indivíduos foram selecionados porque apresentavam manifestações persistentes e eram alérgicos aos ácaros domésticos. O percentual de 17,38 % de reação a fungos é similar aos dados obtidos em estudos anteriores em Porto Alegre. Bernd (1990) encontrou reação a extrato contendo mistura de fungos do ar em 14% dos pacientes com rinite e/ou asma alérgicas. Spalding (1996), estudando a sensibilidade de indivíduos atópicos, detectou reatividade a fungos do ar em 11,5 % deles. No estudo aqui relatado, não se

usou mistura de fungos, mas extratos isolados de várias espécies de fungos. Este fato pode ter aumentado a eficácia na detecção de pacientes sensíveis, verificada pela maior prevalência de testes cutâneos positivos.

A detecção de anticorpos IgE por imunoenensaio revelou a presença de sensibilização em cinco pacientes (12,82% da amostra). É importante salientar que a detecção *in vitro* não correspondeu resultado semelhante na prova *in vivo*. É provável que isso tenha ocorrido em virtude da ausência de padronização dos extratos alergênicos disponíveis para aplicação diagnóstica.

Os números obtidos demonstram a importância dos alérgenos de fungos nos atópicos avaliados e estão em concordância com levantamentos anteriores realizados em Porto Alegre. Embora se reconheça que a sensibilização a alérgenos de ácaros seja preponderante universalmente, não resta dúvida de que os esporos de fungos representam fator alergênico adicional em significativo número de pacientes atópicos. Os resultados aqui apresentados demonstram a necessidade de se melhorar a qualidade dos extratos alergênicos para que se possa aprimorar a capacidade diagnóstica de hipersensibilidade aos fungos do ar.

Este estudo foi o primeiro passo para a padronização e conhecimento da flora anemófila de Porto Alegre.

Além disso faltam dados específicos da flora do ambiente em que vivem os pacientes com asma e ou rinite em Porto Alegre

A investigação proposta neste estudo apenas iniciou. É necessário dar continuidade a ela para obter-se o domínio da efetiva frequência dos fungos anemófilos em nossa cidade, bem como sua ação nos indivíduos atópicos.

## 6 CONCLUSÕES

Este estudo demonstrou a presença de grande número de esporos de fungos no ar de Porto Alegre no período de abril de 2000 a março de 2001, com distribuição irregular durante as estações do ano, bem como registrou um número apreciável de fungos alergógenos. Os resultados mostram presença e prevalência de ascosporos (50,49%), *Cladosporium* (17,86%), *Aspergillus/Penicillium* (15,03%), basidiosporos (3,84%), *rusts* (3,82%), *Helminthosporium* (2,49%), *Botrytis* (1,22%), *Alternaria* (1,19%), *smuts* (0,90%), *Curvularia* (0,87%), *Nigrospora* (0,61%) e *Fusarium* (0,08%).

Não foi possível identificar 1,59% dos esporos de fungos coletados no período.

O maior número de esporos foi observado nos meses de verão e o menor, durante o outono.

A quantidade de esporos encontrada não apresentou relação com a temperatura e a umidade relativa do ar.

O perfil dos fungos encontrados nas coletas em Porto Alegre é similar ao demonstrado em outras cidades brasileiras. Não se pode, porém, comparar resultados aqui obtidos com os verificados nas outras localidades, em virtude das diferenças nos métodos de coleta adotados. O equipamento utilizado neste levantamento fornece dados quantitativos, o que não ocorreu nas análises em outras localidades.

A hipersensibilidade a fungos em indivíduos atópicos sofrendo de rinite e ou asma alérgica revelou sensibilização em 17,94% na prova *in vivo* (teste cutâneo) e em 12,82% *in vitro* (prova sorológica).

A relativamente alta frequência de sensibilização a alérgenos de fungos registrada indica que estes aeroalérgenos podem apresentar importância na etiopatogenia de doenças alérgicas do aparelho respiratório. Resultados mais acurados poderão ser obtidos à medida que se tornarem disponíveis extratos alergênicos padronizados.

## REFERÊNCIAS

- AGARWAL, M.K.; SHIVPURI, D.N.; MUKERGI, K.G. Studies on the allergenic fungal spores of Delhi, India metropolitan area. **The Journal Allergy**, v. 44, p.193-203, oct.1969.
- AL-DOORY, Youssef; DOMSON, J.F. **Mould allergy**. Philadelphia: Lea e Febigh, 1984.
- ALECRIM, I. Taxonomia de alguns fungos do ar. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA PROGRESSO DA CIÊNCIA, 7., 1955, Recife. **Annais.....** Recife: SBPC, 1955.
- ALMEIDA, F.; FAVA NETTO, C. Observações sobre a flora micológica do ar na cidade de São Paulo. **Ficha Terapêutica Laborfarma**, v.9, n.1, 1947.
- ALMEIDA, F.; BRANDÃO, C.H.; MONTEIRO, E.L.; MOURA, R.A. Flora micológica do ar: sua significação e importância. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v.11, n.5, 1951.
- ALVAREZ, José C.; CASTRO, Javier F. Quantitative studies of airborne fungi of Havana in each of the twenty four hours of the day. **Journal Allergy**, v. 23, p. 259-264, nov.1951.
- ALLER, B.; REY, M.; MARTINEZ, R. Estudio de la incidencia de los hongos en el aire de Leon durante un año. **Revista Clinica Española**, v.121, n.5, p. 457-460, jun. 1971.
- AMERICAN ACADEMY ALLERGY ASTHMA & IMMUNOLOGY (AAAAI). **Aeroallergen identification course**. San Francisco: AAAAI, 1997.
- BARTZOKAS, C.A. Relationship between the meteorological conditions and the air-borne fungal flora of the Athenas metropolitan area. **Mycopathologia**, v.57, p.35-38, 1975.
- BENJAMINI, E.; LESKOWITZ, S. **Immunology: a short course**. 2th ed. New York: Wiley-Liss, 1991.
- BERND, Luiz A G.; LORSCHHEITER, Maria L. Polens aéreos em Porto Alegre: estudo da chuva polínica e relação com manifestações clínicas. **Revista AMRIGS**, Porto Alegre, v.36, p. 230-235, out./dez.1992.
- BERND, Luiz A.G. Alergia a inalantes no Rio Grande do Sul (RS). **Revista Brasileira Alergia Imunopatologia**, v. 13, n.4, p. 171, 1990.

BUCK, Nelson; GAMBALE, Valdemir; GAMBALE, Walderez; PAULA, Claudete R. Microbiota fúngica anemófila da cidade de Presidente Prudente, Estado de São Paulo, Brasil. **Revista Microbiologia**, v.16, n.1, p. 9-14, 1985.

BURGE, H.A; LEVETIN, E.; MUILENBERG, M.L.; SOLOMON, W.R. **Fungus spore identification**. San Francisco: American Academy Allergy Asthma & Immunology, 1996.

CAMMACK, R.H. Seasonal changes in three common constituents of the air spora of Southern Nigeria. **Nature**, v.176, p.1270-1271, dec.1955.

CAPETTI, E.; POPESCO, I.G.; GHEORGHIU, T.; DOBRE, I.; NATASE, G. Contribution à l'étude du pollen et des moisissures atmosphériques des villes de B. et de G.B. (region souscarpatique meridionale de la Roumania). **Acta allergol.**, v.24, p. 39-48, 1969.

CHAPMAN, Jean A. How relevant are pollen and mold spore counts to clinical practice? **Annals of Allergy Asthma & Immunology**, v. 84, p. 467-468, may 2000.

DIXON, D.M.; FROMTHING, R.A. Morfologia, taxonomy and classification of the fungi. In: MURRAY, P. *et al.* **Manual of clinical microbiology**. 6 th ed. Washington, DC: American Society for Microbiology, 1995. p. 699-708.

EINARSSON, R.; AUKRUST, L. Allergens of the fungi imperfecti. **Clinical Reviews Allergy**, v.10, p.165-190, 1992.

EMBERLIN, Jean C. Aerobiology. In: BUSSE, William W.; HOLGATE, Stephen T. (Eds). **Asthma and rhinitis**. 2. ed. Oxford:Blackwell Science, 2000. p.1083-1106.

EVERITT, Brian S. **The analysis of contingency tables**. 2 th ed. London: Chapman & Hall, 1992. p. 148.

FRENZ, David A. The effect of windspeed on pollen and spore counts collected with the Rotorod Sampler and Burkard spore trap. **Annals of Allergy, Asthma & Immunology**, v.85, p.392-394, 2000.

FRENZ, David A. Comparing pollen and spore counts collected with de Rotorod® Sampler and Burkard® spore trap. **Annals of Allergy, Asthma & Immunology**, v.83, p.341-349, 1999.

GAMBALE, Walderez. Fungos contaminantes. In: ZAITZ, Clarissa *et al.* **Compêndio de micologia médica**. Rio Janeiro: Medsi, 1998. p. 113-121.

GAMBALE, Walderez; CROCE, J. COSTA-MANSO, E.; CROCE, M.S.; SALES, M. Library fungi at the University of São Paulo and their relationship with respiratory allergy. **J Investig Allergol Clin Immunol**. 3:45-50, 1993.

GAMBALE, Walderez; PURCHIO, Adhemar; CROCE, Julio. Flora fúngica anemófila da Grande São Paulo. **Revista Microbiologia**, São Paulo, v. 8, n. 3, p.74-79, jul./set.1977.



GAMBALE, Walderez; PURCHIO, Adhemar; PAULA, Claudete R. Periodicidade diária de fungos anemófilos na cidade de São Paulo, Brasil. **Revista Microbiologia**, São Paulo, v. 12, n.4, out./dez. 1981.

GAMBALE, Walderez; PURCHIO, Adhemar; PAULA, Claudete R. Influência de fatores abióticos na dispersão aérea de fungos na cidade de São Paulo, Brasil. **Revista Microbiologia**, São Paulo, v.14, n. 3, p. 204-214, jul./set. 1983.

GOMPertz, Olga F.; GAMBALE, Walderez; PAULA, Claudete R.; CORRÊA, Benedito. Fungos e alergia. In: TRABULSI, Luiz R. *et al.* **Microbiologia**. 3. ed., São Paulo: Atheneu, 1999. p. 421-422.

GRIFFITH, B.T. Mycological studies in the Savannah Area-1950. **Journal Allergy**, v. 22, p. 461-465, jan./mar./may/july/sept./nov. 1951.

HOMBURGER, H.H.; KATZMANN, J. A. Method in laboratory immunology: principles and interpretation of laboratory tests of allergy. In: MIDDLETON JR, E.; REED, C. E.; ELLIS, E. I.; ADKINSON JR, N. F.; YUNGINGER, J.W.; BUSSE, W. **Allergy principles and practice**. 4 th ed., Chicago: Mosby-Year Book INC., 1993. p. 554-572.

HOMRICH, M.H. Observações sobre a ocorrência de fungos alergógenos no ar de Porto Alegre e arredores. **Revista Brasileira Biologia**, Rio de Janeiro, v. 21, n.2, p. 149-153, ago. 1961.

HORNER, W.E.; HELBLING, A; SALVAGGIO, J.E.; LEHRER, S.B. Fungal Allergens. **Clinical Microbiology Reviews**, American Society for Microbiology, v. 8, n.2, p. 161-179, apr.1995.

LACAZ, Carlos S.; MENDES, Ernesto; PINTO, Raymundo J.R.; CARDOSO, Terezinha; LUCCHETTI, Lilia C.H. Fungos anemófilos nas cidades de São Paulo e Santos (Brasil): inquérito preliminar com extratos de fungos em pacientes com alergia do trato respiratório. **Revista Hospital Clínicas São Paulo**, São Paulo, v. 13, p.187, maio/jun. 1958.

LANDIS, J.R.; KOCH, G.G. The measurements of observer agreement for categorical data. **Biometrics**, v. 33, p. 159-174, 1977.

LUO, W. Deposition of large particles in the nose and mouth. **Grana**, v. 30, p. 79- 81, 1991.

MENDES, Ernesto Alérgenos inalantes. In: \_\_\_\_ . **Alergia no Brasil, alérgenos regionais e imunoterapia**. São Paulo: Manole, 1989. p. 33-93.

MENDES, Ernesto; LACAZ, Carlos S. Fungos anemófilos da cidade de São Paulo. **Revista Paulista Medicina**, São Paulo, v. 41, p. 270, 1952.

MOHOVIC, Jussara; GAMBALE, Walderez; CROCE, Júlio. Cutaneous positivity in patients with respiratory allergies to 42 allergenic extracts of airborne fungi isolated in São Paulo, Brazil. **Allergol Immunopathol.** (Madr). 16:397-402, 1988.

MORROW, Marie B.; MEYER, George H.; PRINCE, Horner E. A summary of airborne mold surveys. **Annals Allergy**, v. 22, p. 575-587, nov. 1964.

MOUSTAFÁ, A F.; KAMEL, Susan M. A study of fungal spore populations in the atmosphere of Kuwait. **Mycopathologia**, v. 59, p. 29-35, 1976.

NELSON, Harold. Diagnostic procedures in allergy I: allergy skin testing. **Annals of Allergy**, v. 51, p. 411-417, 1983.

OLIVEIRA Lima A; SEABRA, Oswaldo; FRANÇA, Alfeu T.; CUKIER, Jacob. Incidência de fungos na atmosfera de algumas cidades brasileiras. **O Hospital**, Rio de Janeiro, v. 63, n.5, p. 93-102, maio 1963.

OLIVEIRA Lima Antonio. Os fungos do ar em alergia respiratória: os esporos de *Alternaria* e *Helminthosporos* na cidade de Belo Horizonte. **Britchs. Medicine**, v. 45, p.759, 1941.

OLIVEIRA, Maria T.B.; BRAZ, Regina F.S.; RIBEIRO, Maria A.G. Airborne fungi isolated from Natal, state of Rio Grande do Norte-Brazil. **Revista Microbiologia**, São Paulo, v. 24, n.3, p. 198-202, 1993.

PASSARELLI, N.; MIRANDA, M.P.; CASTRO, C. A study of the incidence of airborne fungi in the city of Rio de Janeiro. **Annals Allergy**, v.7, p.334, 1949.

PASSARELLI, N.; MIRANDA, M.P.; CASTRO, C. Cogumelos do ar na cidade do Rio de Janeiro. **Revista Médica Cirúrgica do Brasil**, v. 52, p. 173, 1944.

PATTO, O. **Iniciação à alergia**, Rio de Janeiro: **Ed. Guanabara**, 1943.

PINHEIRO, Luiz F.L.; NEDER, Rahme N.; AZEVEDO, Lupio. Flora micológica e bacteriana do ar na cidade de Piracicaba. **O Hospital**, Rio de Janeiro, v. 69, n.3, p. 223-229, mar. 1966.

PURCHIO, Adhemar; GAMBALE, Walderez; PAULA, Claudete R. Airborne fungi of Baixada Santista, state of São Paulo, Brazil. **Revista Microbiologia**, São Paulo, v. 15, n.4, p. 258-265, out./dez. 1984.

ROITT, I.M.; BROSTOFF, J.; MALE, D. K. **Imunologia**. 3. ed. São Paulo: Manole, 1993.

SALVAGGIO, John; AUKRUST, L. Mold induced asthma. **Journal Allergy Clinical of Immunology**, v. 68, p. 327-346, 1981.

SPALDING, Silvia M. **Avaliação *in vivo* e *in vitro* da sensibilização a seis espécies de ácaros em indivíduos atópicos e sadios de Porto Alegre, RS**. 1996. Dissertação (Mestrado em Parasitologia) Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

TERHO, E. O. Diseases due to allergen exposure. **Allergy**, v. 40 (supl.3), 1985.

ZAR, Jerrold H. **Biostatistical analysis**. 4 th ed. Uper Saddle River, New Jersey: Prentice Hall, 1999. p. 527-529.

**ANEXO A - FICHA DE IDENTIFICAÇÃO, TERMO DE CONCORDÂNCIA E  
RESULTADOS DOS TESTES CUTÂNEOS E SOROLÓGICOS DOS PACIENTES**

**FUNDAÇÃO FACULDADE FEDERAL DE CIÊNCIAS MÉDICAS DE PORTO ALEGRE  
TESE: FUNGOS ANEMÓFILOS EM PORTO ALEGRE, RS, BRASIL**

**DOCTORANDA: ADELINA MEZZARI**

**ORIENTADOR: Dr LUIZ ANTONIO GUERRA BERND**

**IDENTIFICAÇÃO**

Nome: \_\_\_\_\_ Sexo: (M) (F) Idade: \_\_\_\_\_

Profissão: \_\_\_\_\_ Endereço: \_\_\_\_\_

Tel: \_\_\_\_\_ Local de trabalho: \_\_\_\_\_ Data: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_

**HISTÓRICO PESSOAL DE ASMA**

Há quanto tempo apresenta ASMA? \_\_\_\_\_

Já teve algum episódio no ano corrente? \_\_\_\_\_

Usa medicação? \_\_\_\_\_ Qual? \_\_\_\_\_

**ANTECEDENTES PESSOAIS ALÉRGICOS**

Apresenta alguma outra manifestação?  Sim  Não Qual? \_\_\_\_\_

As manifestações são perenes  ou sazonais

Usa medicação?  Sim  Não Qual? \_\_\_\_\_

Existem pessoas alérgicas na família?  Sim  Não Quem? \_\_\_\_\_

**TERMO DE CONCORDÂNCIA**

Concordo em realizar teste cutâneo e retirar amostra de sangue para participar desta pesquisa, não havendo qualquer ônus por este procedimento.

Assinatura: \_\_\_\_\_

**TESTES CUTÂNEOS**

Teste	Pápula (mm)			Eritema (mm)		
			Média			Média
<i>Aspergillus</i>						
<i>Penicillium</i>						
<i>Cladosporium</i>						
<i>Alternaria</i>						
Dpt						
Dfa						
Btrp						
Controle negativo						
Histamina (Contr. +)						

**DETERMINAÇÕES SÉRICAS**

IgE total: \_\_\_\_\_

IgE específica: As \_\_\_\_\_; Pen \_\_\_\_\_; Cla \_\_\_\_\_; Hel \_\_\_\_\_