

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

**PROSPECÇÃO “*IN VITRO*” DE ASSOCIAÇÕES
ANTIFÚNGICAS SINÉRGICAS PARA *Fusarium* spp.**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Tarcieli Pozzebon Venturini

**Santa Maria, RS, Brasil
2010**

**PROSPECÇÃO “*IN VITRO*” DE ASSOCIAÇÕES
ANTIFÚNGICAS SINÉRGICAS PARA *Fusarium* spp.**

por

Tarcieli Pozzebon Venturini

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Área de Concentração em Análises Clínicas e Toxicológicas, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para a obtenção do grau de **Mestre em Ciências Farmacêuticas**.

Orientador: Prof. Sydney Hartz Alves

Santa Maria, RS, Brasil

2010

**Universidade Federal de Santa Maria
Centro de Ciências da Saúde
Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas**

A Comissão Examinadora, abaixo assinada,
aprova a Dissertação de Mestrado

**PROSPECÇÃO “*IN VITRO*” DE ASSOCIAÇÕES ANTIFÚNGICAS
SINÉRGICAS PARA *Fusarium spp.***

elaborada por
Tarcieli Pozzebon Venturini

como requisito parcial para obtenção do grau de
Mestre em Ciências Farmacêuticas

COMISSÃO EXAMINADORA:

Sydney Hartz Alves, Dr.
(Presidente/Orientador)

Janio Moraes Santurio, Dr. (UFSM)

Luiz Carlos Severo, Dr. (UFRGS)

Santa Maria, 26 de março de 2010.

DEDICATÓRIA

Aos meus pais e minha irmã,

Tarcisio Luiz Venturini
Rita Helena Pozzebon Venturini
Talita Pozzebon Venturini

por seu amor, incentivo e apoio,

compartilho esta conquista com vocês.

“Talvez meio caminho andado seja a gente acreditar no que faz. Mas acima de tudo, o que mais nos incentiva, que mais nos valoriza e também mais nos torna conscientes de nossa responsabilidade, é saber que os outros crêem em nós. E não há palavras que descrevam o que sentimos ao saber dos sacrifícios a que eles se impõem por crerem não apenas em nós, mas também no que cremos.”

Albert Einstein

AGRADECIMENTOS

A Deus, por ter me proporcionado saúde e coragem para alcançar meus objetivos pelo caminho mais correto.

Aos meus pais, Tarcisio e Rita Helena, pelo amor incondicional, pela dedicação, pela compreensão, pelas lições, pelo apoio em todos os momentos da minha vida e por acreditarem na minha capacidade. Amo vocês.

À minha irmã, Talita, por todo seu amor, amizade e cumplicidade nesta caminhada. Agradeço, de todo coração, por não me deixar desanimar nos momentos mais difíceis e pela presença contínua em minha vida. Te amo maninha.

Ao meu orientador, Prof. Sydney Hartz Alves, ser humano e pesquisador que admiro muito: obrigada pela acolhida em 2007 quando me aceitou como aluna de iniciação científica, pela paciência e pelos ensinamentos. Agradeço a compreensão, o carinho e amizade; principalmente quando enfrentei um período muito difícil da minha vida durante esta jornada.

A todos os colegas do LAPEMI, pela receptividade, pelo apoio, pelo coleguismo e pela amizade, que contribuíram muito para a conclusão deste trabalho. Em especial, agradeço a minha bolsista e amiga, Luana, por sua motivação, empenho e seriedade no acompanhamento experimental deste estudo. Muito obrigada!

Aos meus amigos, que estiveram ao meu lado durante este período me dando força, carinho e incentivo.

Ao Prof. Janio Morais Santurio, pela acolhida, pelos ensinamentos, pela amizade e bom-humor que muito me auxiliaram para o desenvolvimento deste trabalho.

A Sandra, técnica do laboratório, pelo auxílio, pelo carinho, pela amizade e companheirismo.

Enfim, obrigada a todos que de alguma forma colaboraram para o desenvolvimento da minha pesquisa, que torceram por mim e acreditaram na minha capacidade.

“Suba o primeiro degrau com fé.
Não é necessário que você veja toda a escada.
Apenas dê o primeiro passo.”

Martin Luther King

RESUMO

Dissertação de Mestrado
Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas
Universidade Federal de Santa Maria

PROSPECÇÃO “*IN VITRO*” DE ASSOCIAÇÕES ANTIFÚNGICAS SINÉRGICAS PARA *Fusarium spp.*

Autora: Tarcieli Pozzebon Venturini

Orientador: Sydney Hartz Alves

Data e Local da Defesa: Santa Maria, 26 de março de 2010.

O gênero *Fusarium* é caracterizado por fungos filamentosos hialinos que causam um amplo espectro de infecções predominantemente em pacientes imunocomprometidos. Estas micoses evidenciam elevados índices de morbidade e mortalidade e são de difícil diagnóstico, prevenção e tratamento. A marcante resistência primária deste gênero aos antifúngicos impõe a busca por novas possibilidades terapêuticas. Uma tentativa é a combinação entre fármacos com diferentes mecanismos de ação. Este estudo objetivou avaliar a suscetibilidade *in vitro* do gênero *Fusarium* a antifúngicos convencionais (anfotericina B, itraconazol e voriconazol) e associações destes com fármacos não antifúngicos (azitromicina, ciprofloxacina, fluvastatina, ibuprofeno, metronidazol e rifampicina) frente a 27 isolados de *Fusarium spp.*, incluindo as espécies: *F. chlamydosporum* (3), *F. nygamai* (1), *F. oxysporum* (6), *F. proliferatum* (2), *F. solani* (11), *F. sporotrichoides* (1) e *F. verticillioides* (3). Com base no protocolo M38-A2 (CLSI, 2008) empregou-se a técnica de “checkerboard” para a avaliação das associações. Isoladamente, as CIMs para a anfotericina B variaram de 0,125 - 4 µg/ml; para o voriconazol variaram de 1 - >16 µg/ml e, para o itraconazol todos os isolados evidenciaram CIMs > 16 µg/ml. Todas as combinações com anfotericina B demonstraram interações sinérgicas, sendo que as mais eficazes foram: anfotericina B + ibuprofeno (44,4%), anfotericina B + metronidazol (40,7%) e anfotericina B + ciprofloxacina (37%). Não foram observadas interações antagônicas para as associações com anfotericina B. Similarmente, todas as associações com voriconazol demonstraram sinergismos; sendo que as associações mais significativas foram: voriconazol + ciprofloxacina (33,3%) e voriconazol + metronidazol (33,3%). O antagonismo foi observado em todas as associações com voriconazol frente a *F. verticillioides*. As associações com itraconazol evidenciaram interações indiferentes para 100% dos isolados testados. Estes resultados demonstram que a atividade antifúngica *in vitro* de fármacos combinados evidenciaram melhores resultados do que isolados, exceto para as associações com itraconazol. As associações mais relevantes com anfotericina B e voriconazol merecem avaliação *in vivo*, a fim de verificar o potencial das mesmas no tratamento da fusariose.

Palavras chaves: *Fusarium spp.*; suscetibilidade; associações; antifúngicos; não antifúngicos.

ABSTRACT

Dissertação de Mestrado
Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas
Universidade Federal de Santa Maria

IN VITRO PROSPECTION OF SYNERGISTIC ANTIFUNGAL ASSOCIATIONS FOR *Fusarium* spp.

Autora: Tarcieli Pozzebon Venturini

Orientador: Sydney Hartz Alves

Data e Local da Defesa: Santa Maria, 26 de março de 2010.

The genus *Fusarium* is characterized by hyaline filamentous fungi that cause a wide spectrum of infections predominantly in immunocompromised patients. These fungal infections show high rates of morbidity and mortality and are difficult to diagnosis, to prevent and to treat. The remarkable primary resistance to antifungal agents of this genus requires the search for new therapeutic possibilities. An attempt is a combination of drugs with different mechanisms of action. This study aimed to evaluate the *in vitro* susceptibility of *Fusarium* to conventional antifungal agents (amphotericin B, itraconazole, and voriconazole) and their combinations with no antifungal drugs (azithromycin, ciprofloxacin, fluvastatin, ibuprofen, metronidazole, and rifampicin) against 27 isolates of *Fusarium* spp. including the species: *F. chlamydosporum* (3), *F. nygamai* (1), *F. oxysporum* (6), *F. proliferatum* (2), *F. solani* (11), *F. sporotrichoides* (1), and *F. verticillioides* (3). Based on the protocol M38-A2 (CLSI, 2008) the technique of “checkerboard” was used for the assessment of associations. Alone, the MICs for amphotericin B ranged from 0.125 - 4 µg/ml; for voriconazole they ranged from 1 - >16 µg/ml, and for itraconazole all isolates showed MICs > 16 µg/ml. All combinations with amphotericin B showed synergistic interactions, and the most effective were amphotericin B plus ibuprofen (44.4%), amphotericin B plus metronidazole (40.7%), and amphotericin B plus ciprofloxacin (37%). No antagonistic interactions were observed for associations with amphotericin B. Similarly, all associations with voriconazole showed synergism, and the most significant associations were voriconazole plus ciprofloxacin (33.3%) and voriconazole plus metronidazole (33.3%). The antagonism was observed in all associations with voriconazole against *F. verticillioides*. The associations with itraconazole showed indifferent interactions for 100% of the isolates tested. These results demonstrate that the *in vitro* antifungal activity of the drug combination showed better results than the isolated one, except for associations with itraconazole. The most significant associations with amphotericin B and voriconazole deserve *in vivo* evaluations in order to verify their potential in the treatment of fusariosis.

Keywords: *Fusarium* spp., susceptibility, associations, antifungal, no antifungal.

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - Suscetibilidade <i>in vitro</i> de <i>Fusarium</i> spp. frente a anfotericina B.....	48
TABELA 2 - Suscetibilidade <i>in vitro</i> de <i>Fusarium</i> spp. frente ao voriconazol.....	49
TABELA 3 - Suscetibilidade <i>in vitro</i> de <i>Fusarium</i> spp. frente ao itraconazol.....	49
TABELA 4 – Percentuais das interações obtidas pelas combinações de anfotericina B com fármacos diversos frente a <i>Fusarium</i> spp.	53
TABELA 5 – Percentuais das interações obtidas pelas combinações de voriconazol com fármacos diversos frente a <i>Fusarium</i> spp.	56
TABELA 6 – Percentuais das interações obtidas pelas combinações de itraconazol com fármacos diversos frente a <i>Fusarium</i> spp.	58

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1 - A. Macroconídios multicelulares em forma de meia lua com 3 ou mais septos,
B. Microconídios unicelulares de forma ovóide sem, ou com até 3 septos, C.

Clamidoconídio.....	19
QUADRO 1 - Distribuição das espécies de acordo com o número.....	42
QUADRO 2 - Combinações de anfotericina B com os agentes não antifúngicos.....	43
QUADRO 3 - Combinações de azólicos com os agentes não antifúngicos.....	44
QUADRO 4 - Faixa de concentração testada para cada fármaco.....	44

LISTA DE APÊNDICES

APÊNDICE A – Concentração inibitória mínima ($\mu\text{g/ml}$) para os antifúngicos testados.....	98
APÊNDICE B - Concentração inibitória mínima ($\mu\text{g/ml}$) para fármacos diversos.....	99
APÊNDICE C – Atividades combinadas de anfotericina B e azitromicina contra <i>Fusarium</i> spp.	100
APÊNDICE D - Atividades combinadas de anfotericina B e rifampicina contra <i>Fusarium</i> spp.	102
APÊNDICE E - Atividades combinadas de anfotericina B e fluvastatina contra <i>Fusarium</i> spp.	104
APÊNDICE F - Atividades combinadas de anfotericina B e ibuprofeno contra <i>Fusarium</i> spp.	106
APÊNDICE G - Atividades combinadas de anfotericina B e ciprofloxacina contra <i>Fusarium</i> spp.	108
APÊNDICE H - Atividades combinadas de anfotericina B e metronidazol contra <i>Fusarium</i> spp.	110
APÊNDICE I - Atividades combinadas de voriconazol e azitromicina contra <i>Fusarium</i> spp.	112
APÊNDICE J - Atividades combinadas de voriconazol e fluvastatina contra <i>Fusarium</i> spp.	114
APÊNDICE K - Atividades combinadas de voriconazol e ibuprofeno contra <i>Fusarium</i> spp.	116
APÊNDICE L - Atividades combinadas de voriconazol e ciprofloxacina contra <i>Fusarium</i> spp.	118
APÊNDICE M - Atividades combinadas de voriconazol e metronidazol contra <i>Fusarium</i> spp.	120

APÊNDICE N - Atividades combinadas de itraconazol e azitromicina contra <i>Fusarium</i>	
spp.	122
APÊNDICE O - Atividades combinadas de itraconazol e fluvastatina contra <i>Fusarium</i>	
spp.	124
APÊNDICE P - Atividades combinadas de itraconazol e ibuprofeno contra <i>Fusarium</i>	
spp.	126
APÊNDICE Q - Atividades combinadas de itraconazol e ciprofloxacina contra <i>Fusarium</i>	
spp.	128
APÊNDICE R - Atividades combinadas de itraconazol e metronidazol contra <i>Fusarium</i>	
spp.	130

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	16
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	18
2.1	O gênero <i>Fusarium</i>.....	18
2.2	Epidemiologia.....	19
2.3	Fatores de risco.....	20
2.4	Fatores de virulência.....	22
2.5	Patogênese.....	23
2.6	Manifestações clínicas.....	24
2.6.1	Ceratites.....	24
2.6.2	Endoftalmites.....	25
2.6.3	Onicomicoses.....	26
2.6.4	Infecções cutâneas.....	26
2.6.5	Sinusites.....	27
2.6.6	Pneumonias.....	28
2.6.7	Peritonite após diálise peritoneal ambulatorial contínua (CAPD).....	29
2.6.8	Cateter associado a fungemias.....	29
2.6.9	Fungemias.....	29
2.6.10	Infecção disseminada.....	30
2.6.11	Outras infecções.....	31
2.7	Diagnóstico.....	32
2.8	Tratamento.....	34
2.9	Antifúngicos e associações.....	35
2.9.1	Associações de antifúngicos contra <i>Fusarium</i> spp.	37

2.9.2	Associações de antifúngicos com agentes não antifúngicos.....	39
3	OBJETIVOS.....	41
3.1	Objetivo geral.....	41
3.2	Objetivos específicos.....	41
4	MATERIAIS E MÉTODOS.....	42
4.1	Microrganismos.....	42
4.2	Agentes antifúngicos e não antifúngicos.....	43
4.3	Combinações testadas.....	43
4.4	Testes de suscetibilidade.....	44
4.4.1	Preparação do inóculo.....	45
4.4.2	Determinação das concentrações inibitórias mínimas (CIMs).....	45
4.5	Avaliação das combinações.....	46
5	RESULTADOS.....	47
5.1	Suscetibilidade <i>in vitro</i> a anfotericina B.....	47
5.2	Suscetibilidade <i>in vitro</i> ao voriconazol.....	48
5.3	Suscetibilidade <i>in vitro</i> ao itraconazol.....	49
5.4	Atividade <i>in vitro</i> das associações com anfotericina B.....	50
5.4.1	Combinações de anfotericina B com agentes antimicrobianos.....	50
5.4.2	Combinações de anfotericina B com fluvastatina.....	51
5.4.3	Combinações de anfotericina B com ibuprofeno.....	51
5.5	Atividade <i>in vitro</i> das associações com voriconazol.....	54
5.5.1	Combinações de voriconazol com agentes antimicrobianos.....	54
5.5.2	Combinações de voriconazol com fluvastatina.....	55
5.5.3	Combinações de voriconazol com ibuprofeno.....	55
5.6	Atividade <i>in vitro</i> das associações com itraconazol.....	57
6	DISCUSSÃO.....	59
6.1	Insucesso terapêutico.....	59
6.2	Suscetibilidade de <i>Fusarium</i> spp. a anfotericina B, voriconazol e itraconazol	60
6.3	Combinações de agentes antifúngicos com agentes não antifúngicos.....	62
6.3.1	Combinações de antifúngicos com azitromicina.....	62

6.3.2	Combinações de antifúngicos com ciprofloxacina.....	63
6.3.3	Combinações de antifúngicos com fluvastatina.....	64
6.3.4	Combinações de antifúngicos com ibuprofeno.....	66
6.3.5	Combinações de antifúngicos com metronidazol.....	67
6.3.6	Combinações de anfotericina B com rifampicina.....	68
6.4	Considerações finais.....	69
7	CONCLUSÕES.....	71
8	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	74
9	APÊNDICES.....	98
10	ANEXOS.....	132
10.1	Anexo 1 - Preparação dos meios de cultura.....	132
10.2	Anexo 2 - Preparação da solução salina.....	133

1 INTRODUÇÃO

O gênero *Fusarium* é caracterizado como fungos filamentosos hialinos (TORTORANO et al, 2008) saprobióticos comum no solo e importantes patógenos em vegetais (DIGNANI & ANAISSIE, 2004), ocasionalmente, podem causar infecções em animais (EVANS et al, 2004). No homem, as espécies de *Fusarium* causam um amplo espectro de infecções, incluindo superficiais localizadas (ceratites e onicomicoses), subcutâneas ou infecções disseminadas, estas ocorrendo predominantemente em pacientes imunocomprometidos (NUCCI & ANAISSIE, 2002).

Atualmente, este gênero é considerado um oportunista emergente, com significativo aumento de casos relatados, em pacientes imunocomprometidos, incluindo aqueles com malignidades hematológicas, transplantados de medula óssea, transplantados de órgãos sólidos, sob quimioterapia e naqueles com queimaduras graves (NUCCI et al, 2004; LATENSER, 2003). A resposta imunológica celular é responsável pela defesa do hospedeiro frente aos fungos. A existência de doenças imunossupressoras com diminuição de linfócitos T é responsável pela pré-disposição a infecções oportunistas. Atualmente o gênero é considerado um dos principais patógenos fúngicos causadores de infecções invasivas em pacientes com doenças hematológicas malignas, perdendo somente para as espécies de *Aspergillus* (PONTÓN et al, 2000; NUCCI & ANAISSIE, 2002).

Mais de 50 espécies de *Fusarium* têm sido identificadas, incluindo patógenos de plantas e animais (NUCCI & ANAISSIE, 2002). Mais de 20 espécies pertencentes ao gênero *Fusarium* têm sido implicadas em infecções humanas, todavia a mais freqüente é o *Fusarium solani* (ZHANG et al, 2006). Esta espécie é responsável por aproximadamente metade das infecções relatadas, seguida por *Fusarium oxysporum*, *Fusarium verticillioides* e *Fusarium proliferatum* (DIEKEMA et al, 2003; LETSCHER et al, 2002).

Baseado em dados de modelos animais (MAYAYO et al, 1999), a maior incidência de infecção por *F. solani* pode refletir um aumento da virulência desta espécie (TORRES & KONTTOYIANIS, 2003). *F. solani* é também o mais frequente patógeno em ceratites causadas por *Fusarium* (DOEZI et al, 2004), enquanto que, a maioria dos casos de onicomicoses são causadas por *F. oxysporum* (BRILHANTE et al, 2005; GODOY et al, 2004; NINET et al, 2005).

A incidência de infecções oportunistas causadas por fungos filamentosos tem aumentado, e essas infecções podem ser graves e de difícil tratamento, especialmente em pacientes imunocomprometidos (MORRISON et al, 1994; VARTIVARIAN et al, 1993).

As espécies de *Fusarium* destacam-se pela sua resistência a maioria dos antifúngicos, sendo *F. solani* a espécie mais resistente (NUCCI & ANAISSIE, 2007). Devido a essa resistência, as infecções por *Fusarium* são temidas pelas elevadas taxas de mortalidade em decorrência do insucesso terapêutico (BOUTATI & ANAISSIE, 1997; NUCCI et al, 2004).

Por outro lado, há poucos estudos sobre a suscetibilidade das diferentes espécies de *Fusarium* frente a antifúngicos poliênicos, equinocandinas e aos novos triazólicos.

A atividade dos antifúngicos no tratamento de diversas infecções fúngicas ainda permanece limitada. Uma tentativa de se superar a resistência fúngica e as altas taxas de mortalidade destes pacientes é a combinação entre duas classes de antifúngicos, sobretudo aquelas com diferentes mecanismos de ação. A terapia combinada pode promover o sinergismo entre os fármacos, com redução da toxicidade a partir da administração de doses mais baixas, redução do tempo relativo à resposta ao tratamento e diminuição da sua duração, redução do tempo de hospitalização, aumento do espectro de ação e redução da aquisição de resistência fúngica aos antimicrobianos (JOHNSON et al, 2004). Além disso, associações de antifúngicos com fármacos de várias classes têm demonstrado sinergismo para fungos como *Candida* spp., *Cryptococcus* spp. e *Aspergillus* spp., incluindo isolados resistentes a azólicos ou anfotericina B.

A atividade destas combinações sobre o gênero *Fusarium* é ainda desconhecida, requerendo, portanto, urgente avaliação.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 O gênero *Fusarium*

Atualmente, DE HOOG ET AL. (2000) classifica o gênero *Fusarium* como pertencente ao Reino *Eumycota*, Divisão *Ascomycota*, Classe *Euascomycetes*, Ordem *Hipocreales*, Família *Hypocreaceae*, Gênero *Fusarium* devido a capacidade deste fungo em produzir estruturas sexuadas que caracterizam estas subdivisões.

Fusarium spp. são agentes de hialohifomicoses juntamente com outros fungos como *Penicillium* spp., *Scedosporium* spp., *Acremonium* spp., *Paecilomyces* spp., *Aspergillus* spp., *Scopulariopsis* spp. entre outros (DIAGNANI, KIWAN & ANAISSIE, 2003). Hialohifomicose é um termo usado para designar infecções fúngicas causadas por fungos hialinos, com hifas ramificadas ou não, ocasionalmente torulóides, e sem pigmento na sua parede (AJELLO, 1986).

As colônias deste gênero evidenciam crescimento rápido a 25°C em meios de cultivo sem cicloheximida, que é inibitório. As colônias inicialmente possuem coloração branca com ou sem, posterior desenvolvimento de coloração rosa, roxa, cinza ou amarela com superfície algodonosa. Os meios de cultivo utilizados para a identificação das espécies são meios pobres em nutrientes como o ágar folha-de-cravo (CLA), ágar aveia (OAT) e ágar batata (PDA), todos com objetivo de estimular a conidiogênese (ST-GERMAIN & SUMMERBELL, 1996).

Microscopicamente, as hifas de *Fusarium* spp. nos tecidos, se assemelham as de *Aspergillus* spp.; os filamentos são hialinos, septados e possuem 3-8 µm de diâmetro (ST-GERMAIN & SUMMERBELL, 1996). Também são observados conidióforos, fiálides, macroconídios e microconídios. Os macroconídios se apresentam em forma de fuso, septados e com extremidades afiladas. Os microconídios são pequenos, geralmente de forma elipsóide ou piriforme, podendo apresentar um septo (GUARRO & GENÉ, 1995). Além disso, algumas espécies como *F. chlamyosporum*, *F. napiforme*, *F. oxysporum*, *F. semitectum*, *F. solani* e *F. sporotrichoides* são capazes de produzir clamidoconídios. Os clamidoconídios podem estar isolados ou agrupados em cadeias de paredes grossas e de localização apical, intercalar ou terminal (Figura 1) (SAMSON & REENEN-HOEKSTRA, 1995).

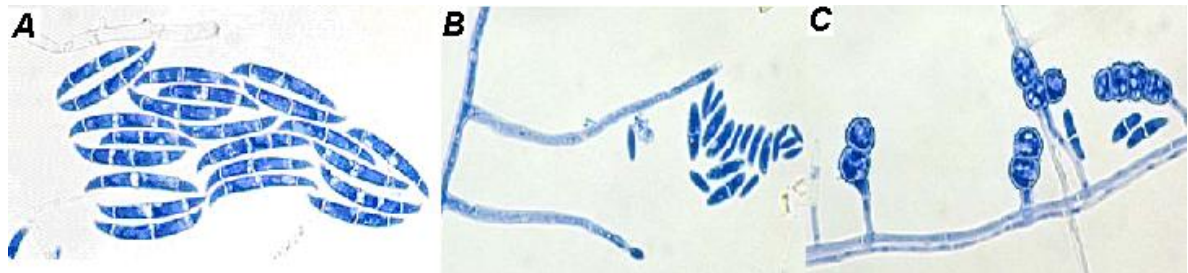


Figura 1- A. Macroconídios multicelulares em forma de meia lua com 3 ou mais septos, B. Microconídios unicelulares de forma ovóide sem, ou com até 3 septos, C. Clamidoconídio (Doctorfungus Corporation, 2003).

A biópsia da lesão, cultura e o exame histológico permanecem como ferramentas importantes para acompanhamento e diagnóstico da infecção fúngica. Em pacientes imunocompetentes, a positividade da cultura pode ser decorrente de contaminação, porém em paciente imunocomprometidos, a presença do fungo em cultivo está correlacionada com doença invasiva (HORVATH & DUMMER, 1996). Outras formas de diagnósticos já estão sendo utilizadas, como a radiografia, a tomografia computadorizada (MAROM et al, 2008) e os métodos sorológicos. Estes últimos baseiam-se na pesquisa de antígenos fúngicos auxiliando na obtenção de um diagnóstico precoce, porém, testes falso-positivos e reações cruzadas têm sido frequentes (PATTERSON et al, 1995). Os ensaios com base na amplificação do DNA fúngico, como a reação em cadeia da polimerase (PCR), evidenciam sensibilidade de acordo com a extensão da doença, tendo maior positividade nas doenças invasivas do que nas localizada (YAMAKAMI et al, 1998).

2.2 Epidemiologia

As espécies do gênero *Fusarium* estão amplamente distribuídas no solo, nas plantas e no ar. Este gênero é comum em regiões tropicais e temperadas, mas também é encontrado no deserto, em áreas montanhosas e regiões polares (NELSON, DIGNANI & ANAISSIE, 1994). Em uma pesquisa realizada nos Estados Unidos sobre espécies de fungos anemófilos, espécies de

Fusarium são mais comumente encontradas no ar do que *Aspergillus* spp. (CAPLIN & UNGER, 1983).

As espécies do gênero *Fusarium* são a causa mais comum de ceratites fúngicas no mundo. Em 391 casos de ceratoconjuntivite infecciosa na Tailândia, 12% eram causadas por fungos e *Fusarium* spp. foi o fungo mais incidente (BOONPASART et al, 2002). Outro estudo com 1352 casos de ceratite fúngica na Índia confirmou a maior prevalência de *Fusarium* spp. (DIGNANI & ANAISSIE, 2004).

Dois recentes surtos de ceratoconjuntivite provocados por *Fusarium* spp. foram relatados nos Estados Unidos (164 casos) e Cingapura (66 casos). Nesses casos a ceratoconjuntivite esteve mais relacionada a pacientes que usaram uma solução específica para lentes de contato (CHANG et al, 2006; SAW et al, 2007).

Em pacientes imunocomprometidos, este fungo pode causar doença disseminada e tem recentemente emergido como o segundo fungo oportunista mais comum (depois de *Aspergillus* spp.) com alto risco para pacientes com malignidades hematológicas, receptores de órgãos sólidos (SAMPATHKUMAR & PAYA, 2001) e transplantados de medula óssea (MARR et al, 2002). Um levantamento das infecções causadas por *Fusarium* spp. em pacientes com leucemia aguda na Itália revelou uma incidência de 0,06% (GIRMENIA et al, 2000). Embora a incidência na Europa tenha se mantido estável nos últimos 20 anos, um estudo realizado em um centro de referência de câncer nos Estados Unidos relatou que infecções invasivas causadas por *Fusarium* spp. em pacientes com malignidades hematológicas, num período de 10 anos, aumentaram de 0,5 para 3,8 casos por ano (BOUTATI & ANAISSIE, 1997). Em outra instituição nos Estados Unidos, 31 casos de fusariose invasiva foram documentados entre 5589 receptores de transplante de células-tronco (0,55%), durante um período de 14 anos, com um aumento no número desses pacientes durante a década de 1990 (MARR et al, 2002).

2.3 Fatores de risco

Entre imunocompetentes, as ceratites e onicomicoses são as infecções mais comuns. Menos frequentemente, a infecção pode ocorrer como resultado da ruptura da pele, em

queimaduras e feridas (NUCCI & ANAISSIE, 2002), ou pela presença de corpos estranhos, tais como ceratite em usuários de lentes de contato (DOEZI et al, 2004). Casos de peritonite têm sido descritos em pacientes que recebem diálise peritoneal ambulatorial contínua (CAPD) (FLYNN et al, 1996; KERR et al, 1983; RIPPON et al, 1988). Outras infecções em imunocompetentes incluem sinusites (KURIEN et al, 1992), pneumonias (MADHAVAN et al, 1992; SANDER, BEYER & AMBERG, 1998), tromboflebitis (MURRAY, BECKIUS & MCALLISTER, 2003), fungemias com ou sem envolvimento de órgãos (NUCCI & ANAISSIE, 2002; STURM, GRAVE & KWEE, 1989), endoftalmite (GABRIELE & HUTCHINS, 1996; PFLUGFELDER et al, 1988), artrite séptica (JAKLE et al, 1983) e osteomielite (BOURGUIGNON et al, 1976).

A principal porta de entrada para *Fusarium* spp. são as vias aéreas, seguido da pele no local do dano ao tecido, e possivelmente, as membranas mucosas (NUCCI & ANAISSIE, 2007).

A fusariose pode ser adquirida pela inalação de conídios justificando a ocorrência de sinusite e pneumonia. O papel da pele como porta de entrada é apoiado pelo desenvolvimento de infecção após a degradação da pele devido a acidentes (traumas), queimaduras ou onicomicoses em pacientes normais (NUCCI & ANAISSIE, 2002), e o desenvolvimento da celulite (normalmente em locais de degradação dos tecidos, como pés e dedos), que pode permanecer localizada ou levar à infecção disseminada em pacientes imunocomprometidos (BOUTATI & ANAISSIE, 1997; NUCCI et al, 2003).

A fusariose disseminada entre indivíduos saudáveis pode se desenvolver no estabelecimento de uma queimadura grave (ABRAMOWSKY et al, 1974; WHEELER et al, 1981).

Os pacientes imunocomprometidos com alto risco de fusariose são aqueles com neutropenia prolongada e profunda e/ou grave imunodeficiência de células T (BOUTATI & ANAISSIE, 1997). A fusariose nesses pacientes é geralmente invasiva e disseminada (NUCCI & ANAISSIE, 2002). Em um estudo com 84 pacientes com doenças hematológicas, a infecção ocorreu mais frequentemente em pacientes com leucemia aguda (56%), e a maioria dos pacientes (83%) apresentavam neutropenia no momento do diagnóstico (NUCCI et al, 2003).

Em recente revisão sobre infecções fúngicas invasivas foi relatado que pacientes receptores de transplante de células-tronco, pacientes com mieloma múltiplo, e pacientes que receberam enxerto estiveram significativamente associados ao desenvolvimento de infecções causadas por *Fusarium* spp. (MARR et al, 2002).

2.4 Fatores de virulência

As espécies de *Fusarium* possuem vários fatores de virulência, incluindo a habilidade de produzirem micotoxinas, como tricotecenos, fumonisinas e deoxynivalenol. A produção de micotoxinas pode provocar doenças através da ingestão de alimentos, como pão, farinhas e massas, contaminados por toxinas (NELSON, DIGNANI & ANAISSIE, 1994). As micotoxinas são responsáveis pela supressão da resposta imunológica humoral e celular, hemorragias, vômitos e distúrbios intestinais, assim como podem causar choque circulatório e morte (ALEXOPOULOS & MIMS, 1996).

Além disso, as espécies de *Fusarium* têm a habilidade de se aderir a materiais protéticos e produzir proteases e collagenases (KRÁTKÁ & KOVÁCIKOVÁ, 1979).

Fusarium solani é a espécie mais virulenta, como demonstrado no modelo de fusariose em animais imunocompetentes. Neste estudo, 13 isolados pertencentes a 4 espécies de *Fusarium* foram injetados por via intravenosa em camundongos imunocompetentes. Cinco cepas de *F. solani* causaram a morte em todos os animais testados. Em oposição, 100% dos animais infectados por *F. oxysporum*, *F. verticillioides* ou *F. proliferatum* sobreviveram (MAYAYO, PUJOL & GUARRO, 1999).

Os determinantes genéticos da virulência de *F. oxysporum* têm sido recentemente estudados em camundongos imunocomprometidos. Nesses camundongos foram inoculados microconídios de um isolado patogênico para tomateiro o que resultou em infecção disseminada e morte. A inoculação de cepas com mutações nos genes que codificam três fatores de virulência conhecidos para plantas (tomateiro) conduziu a resultados discrepantes em relação a patogenicidade em plantas e animais. O gene para proteína quinase, que é essencial para a virulência de fungos fitopatógenos, não foi necessário para a virulência de *F. oxysporum* neste modelo de camundongos. Inversamente, o gene para um fator de transcrição ligado a pH foi necessário para a virulência em animais, mas não para a virulência em plantas. Os camundongos infectados com isolados mutantes para o gene quitina sintetase (classe V) morreram dentro de 24 horas. Em oposição, os camundongos que foram infectados com o isolado não mutante apresentaram uma sobrevivência de 5 a 12 dias. Estudos pós-morte sugerem que os animais morreram de insuficiência respiratória, provavelmente como resultado de graves danos nos pulmões, e não

pelo padrão habitual de lesões generalizadas visto em outros experimentos. Este incomum efeito de morte pode ser devido à presença de numerosos conídios grandes (30-25 μm) entre os mutantes, que causam obstrução física nos capilares pulmonares. As alterações morfológicas nos conídios mutantes para quitina sintetase (classe V) são causadas por defeitos na integridade da parede celular (ORTONEDA et al, 2004 (b)).

2.5 Patogênese

Embora poucas informações estejam disponíveis a respeito da defesa do hospedeiro contra espécies de *Fusarium*, a fusariose invasiva partilha muitas características com a aspergilose invasiva e outras infecções filamentosas invasivas, incluindo pacientes que recebem altas doses de corticosteróides e aqueles com prolongada neutropenia. A importância da imunidade na patogênese da fusariose está apoiada pelos estudos experimentais *in vitro* e *in vivo* (GAVIRIA et al, 1999; LEGRAND et al, 1991; ROMANI, 2004; WINN et al, 2005), na suscetibilidade de pacientes imunocomprometidos com fusariose disseminada (BOUTATI & ANAÏSSIE, 1997) e na forte correlação entre a reconstituição imune e recuperação da doença (NUCCI et al, 2003).

A imunidade inata representa o papel principal na defesa contra infecções filamentosas (SHOHAM & LEVITZ, 2005). Macrófagos e neutrófilos danificam as hifas de *Fusarium*, e estes efeitos são mediados por interferon gama, fator estimulador de colônias de granulócitos (G-CSF), fator estimulador de colônias de granulócitos-macrófagos (GM-CSF) (GAVIRIA et al, 1999) e interleucina-15 (WINN et al, 2005). O efeito da interleucina -15 é mediado pela liberação de interleucina-8 e pela estimulação direta da hifa danificada. Mais recentemente, o papel dos receptores Toll-like no reconhecimento do fungo pela imunidade inata tem sido reconhecida (ROMANI, 2004). Apesar de que pouco é sabido sobre fusariose e receptores Toll-like, este sistema provavelmente seja importante também para a fusariose invasiva (NUCCI & ANAÏSSIE, 2007).

Modelos animais de fusariose têm sido desenvolvidos para estudos de patogenicidade das espécies de *Fusarium*. Camundongos imunocompetentes e neutropênicos foram expostos à

conídios de *F. solani*. A mortalidade está correlacionada com as espécies e com o tamanho do inóculo. Em camundongos não neutropênicos a infecção foi caracterizada por abscessos necrozantes com hifas, hemorragia e infiltrado de neutrófilos e macrófagos. Em contraste, camundongos neutropênicos não exibiram uma reação inflamatória celular e possuíam uma carga de hifas significativamente elevada (LEGRAND et al, 1991).

A importância das células T na defesa contra *Fusarium* spp. é ilustrada pela ocorrência de fusariose disseminada em pacientes transplantados de células tronco hematopoiéticas (HSCT) (NUCCI et al, 2004). Estes pacientes possuem imunodeficiência de células T causada por múltiplas terapias para doenças subjacentes e para doença do enxerto (GvHD). A corticoterapia está relacionada a elevadas taxas de mortalidade por *Fusarium*, o que revela a importância da imunidade celular (células T e fagócitos) no controle da micose (NUCCI et al, 2003).

2.6 Manifestações clínicas

As manifestações clínicas da fusariose dependem da porta de entrada da infecção, bem como da intensidade e duração da imunossupressão. Espécies de *Fusarium* causam um amplo espectro de infecções em seres humanos, incluindo superficiais, invasivas localizadas e disseminadas. As infecções disseminadas ocorrem predominantemente entre pacientes imunocomprometidos. Em oposição, as infecções localizadas, ocorrem geralmente em pacientes que possuem a função imunológica preservada (NUCCI & ANAÏSSIE, 2007).

2.6.1 Ceratites

Espécies do gênero *Fusarium* são uma causa freqüente de danos a córnea nos países tropicais (LECK et al, 2002) e também a causa mais freqüente de ceratites causadas por fungos nos Estados Unidos (JONES, FORSTER & REBELL, 1972).

Dentre os principais fatores predisponentes estão o trauma ocular, devido a implantação de vegetais ou de solo (GOPINATHAN et al, 2002; MINO DE KASPAR et al, 1991; VENUGOPAL et al, 1989), e a presença de patologias da córnea concomitante com corticoterapia tópica associada a antibióticos (DIGNANI & ANAISSIE, 2004). O uso tópico da natamicina é o tratamento de escolha, devido a sua excelente atividade antifusarial, penetração na córnea e perfil de segurança, mas a anfotericina B também pode ser usada (HIROSE et al, 1997; RONDEAU et al, 2002). Outra opção é a clorexidina por ser de baixo custo para o tratamento tópico das ceratites fúngicas (RAHMAN et al, 1998).

O tratamento antifúngico sistêmico pode ser usado em casos de ceratite micótica grave. Além disso, a cirurgia pode ser necessária em infecções refratárias ou na eminência de graves complicações (DIGNANI & ANAISSIE, 2004).

A ceratite causada por *Fusarium* spp. pode ocorrer em usuários de lentes de contato; o fungo pode penetrar na matriz das lentes gelatinosas e aumentar o crescimento bacteriano em lentes com alto teor de água (SIMMONS et al, 1986). O tratamento, muitas vezes, exige a remoção das lentes e tratamento tópico com natamicina, porém, em situações refratárias ao tratamento, as cirurgias podem ser requeridas (CHOI et al, 2001; FOROOZAN, EAGLE & COHEN, 2000).

2.6.2 Endoftalmites

As endoftalmites causadas por *Fusarium* spp. podem desenvolver-se entre 2 a 22 duas semanas após o início da ceratoconjuntivite fusarial ou após trauma cirúrgico ou não cirúrgico (PFLUGFELDER et al, 1988). Enquanto a endoftalmite fusarial em indivíduos imunocompetentes geralmente ocorre como uma complicação da ceratite avançada (DURSUN et al, 2003), ou cirurgia ocular, como extração da catarata (FERRER et al, 2005), a endoftalmite em indivíduos imunocomprometidos é comumente resultado da disseminação hematogênica do fungo (REZAI et al, 2005; TIRIBELLI et al, 2002).

2.6.3 Onicomicoses

Fusarium spp. pode invadir as unhas, após contaminação do solo, principalmente em indivíduos que têm o hábito de andar descalços ou que fazem uso de calçados abertos. As manifestações clínicas mais comuns incluem onicomicose subungueal proximal com ou sem paroníquia e onicomicose superficial branca (PONTES et al, 2002; TOSTI, PIRACCINI & LORENZI, 2000). A onicomicose subungueal distal também pode ocorrer após trauma ou infecção por dermatófitos (BABEL, 1997).

Apesar da onicomicose causada por *Fusarium* spp. geralmente se comportar como uma infecção localizada em imunocompetentes, pode também representar a porta de entrada para doença disseminada em pacientes imunocomprometidos (GIRMENIA et al, 1992; NELSON, DIGNANI & ANAISSIE, 1994; NUCCI & ANAISSIE, 2002).

2.6.4 Infecções cutâneas

Em indivíduos imunocompetentes, as infecções cutâneas localizadas podem desenvolver-se a partir da colonização inicial, pela presença de excesso de umidade ou por trauma, incluindo queimaduras. As lesões de pele podem variar, entre granulomas, úlceras, nódulos, micetomas, necrose, paniculite e intertrigos (NELSON, DIGNANI & ANAISSIE, 1994; ROMANO, MIRACCO & DIFONZO, 1998).

O envolvimento da pele na fusariose pode representar um local preliminar da infecção, geralmente celulite em um dos dedos do pé, ou uma manifestação de infecção metastática em pacientes com fusariose disseminada (NUCCI & ANAISSIE, 2007).

Um estudo relatou que o envolvimento da pele estava presente em 181 pacientes (70%) entre os 259 casos publicados de fusariose (232 imunocomprometidos e 27 imunocompetentes) (NUCCI & ANAISSIE, 2002).

Entre os pacientes imunocompetentes, as lesões costumam ser localizadas (13 de 14 pacientes) e ocorrem após a ruptura da pele (trauma ou onicomicose preexistente). Três pacientes

apresentaram lesões ulceradas lembrando cromoblastomicose. O único caso de lesão cutânea disseminada metastática ocorreu em uma criança com doença subjacente que desenvolveu febre, infiltrado pulmonar, múltiplas pápulas eritematosas e nódulos, com cultura de sangue positiva para *Fusarium* spp. (NUCCI & ANAISSIE, 2002). Dois casos de micetomas causados por *Fusarium* spp. foram também relatados (TOMIMORI-YAMASHITA et al, 2002; YERA et al, 2003).

Entre os pacientes imunocomprometidos, as lesões de pele também podem ser localizadas, como resultado da ruptura de pele por trauma, podendo levar à infecção disseminada. Entre 16 pacientes com lesões metastáticas, 11 apresentaram uma história recente de celulite no local da onicomomicose, 3 com trauma local e 2 relataram picada de inseto (NUCCI & ANAISSIE, 2002). Pacientes com fusariose disseminada tipicamente evidenciam múltiplas lesões eritematosas papulosas ou nodulares, dolorosas, frequentemente com necrose central (NUCCI & ANAISSIE, 2007).

As lesões de pele provocadas por *Fusarium* spp. podem envolver qualquer sítio anatômico, com predominância pelas extremidades. Lesões em diferentes estágios de evolução (pápulas, nódulos e necrose) podem estar presentes em um terço dos pacientes; concomitantemente mialgias (sugerindo envolvimento muscular) foram descritas em 15% dos casos. As lesões cutâneas foram a única fonte de diagnóstico na maioria dos pacientes com tais lesões (55%) (NUCCI & ANAISSIE, 2007).

2.6.5 Sinusites

Nos indivíduos imunocompetentes, *Fusarium* sp pode causar sinusite alérgica (WICKERN, 1993) ou sinusite crônica invasiva ou não-invasiva (KURIEN et al, 1992; STAMMBERGER, 1995). Em contrapartida, a sinusite sempre é invasiva em pacientes imunocomprometidos (LOPES, DE MELLO & KLOCK, 1995; SEGAL et al, 1998; VALENSTEIN & SCHELL, 1986). Nucci et al (2003) relataram que cinquenta e quatro dos 294 casos notificados de fusariose (18%) apresentavam envolvimento dos seios paranasais, mais comumente entre os pacientes com leucemia aguda e prolongada neutropenia.

As manifestações clínicas das sinusites causadas por *Fusarium* spp. são indistinguíveis daquelas causadas por *Aspergillus* spp., com corrimento nasal e obstrução; necrose das mucosas é típico sendo uma consequência da natureza angioinvasiva destas micoses (NUCCI et al, 2003).

2.6.6 Pneumonias

Segundo a revisão de Nucci & Anaissie (2007) o envolvimento pulmonar é comum na fusariose invasiva (38,8% dos casos) e quase sempre ocorre em imunocomprometidos com infecção disseminada (95,6% dos casos). Estes autores relataram pneumonia em 14 pacientes (11 imunocomprometidos), manifestando-se como lesões nodulares e cavitárias. O envolvimento pulmonar está sempre associado com maior mortalidade, mesmo após controle do estado imune dos pacientes (NUCCI & ANAISSIE, 2007).

Em uma série de 84 pacientes com fusariose e doença hematológica, infiltrados pulmonares (devido à fusariose) estavam presentes em 54% dos pacientes, e como na aspergilose, tais infiltrados eram intersticiais, nodulares ou cavitários. A apresentação clínica foi inespecífica, com quadro clínico semelhante a aspergilose invasiva, com tosse seca, dor torácica pleurítica e falta de ar (NUCCI et al, 2003).

Arney et al (1997) relatou um caso de envolvimento pulmonar primário, causado por *F. solani*, em um paciente de 53 anos após transplante de pulmão. A tomografia computadorizada de tórax revelou múltiplas cavidades no ápice esquerdo. Segundo os autores, os pulmões do paciente foram colonizados por *F. solani* antes do transplante, e a invasão ocorreu devido a imunossupressão após o transplante. A infecção pode ter sido adquirida pela inalação de microconídios de *F. solani*, já que o paciente exercia atividade de jardinagem. Outro caso de infecção pulmonar causada por *Fusarium* spp. foi relatada por Zach et al (1987) em uma criança imunocomprometida que residia em uma fazenda. Esses autores atribuíram o desenvolvimento da infecção a inalação de grande inóculo de *Fusarium* spp. durante a época da colheita de outono, que precedeu o surgimento dos sintomas.

2.6.7 Peritonite após diálise peritoneal ambulatorial contínua (CAPD)

A apresentação clínica é geralmente insidiosa, com febre, dor abdominal e diminuição da drenagem pelo cateter peritoneal. As espécies de *Fusarium*, assim como outros fungos filamentosos, podem ocluir ou invadir o cateter. O tratamento geralmente exige a remoção do cateter e terapia antifúngica sistêmica (BIBASHI et al, 2002; KERR et al, 1983).

2.6.8 Cateter associado a fungemias

Embora raro, espécies do gênero *Fusarium* podem ocluir ou invadir a parede de um cateter venoso central e levar a fungemia (KIEHN et al, 1985; VELASCO, MARTINS & NUCCI, 1995). O tratamento inclui a remoção do cateter e terapia antifúngica sistêmica (DIGNANI & ANAISSIE, 2004).

2.6.9 Fungemias

Uma característica marcante da fusariose, em oposição a aspergilose, é a alta frequência de hemoculturas positivas, principalmente no contexto da doença disseminada. Num estudo de 294 casos de fusariose, as culturas de sangue resultaram em positividade para 41% dos pacientes. Ocasionalmente, a fungemia é a única manifestação da fusariose. Esta situação ocorre, na ausência de neutropenia, entre os pacientes com cateter venoso central. O tratamento antifúngico e a remoção do cateter resultam em cura na maioria dos casos (AMMARI, PUCK & MCGOWAN, 1993; CASTAGNOLA et al, 1993; ELJASCHEWITSCH et al, 1996; KIEHN et al, 1985; MUSA et al, 2000; RAAD & HACHEM, 1995; VELASCO, MARTINS & NUCCI, 1995).

2.6.10 Infecção disseminada

A doença disseminada é a mais freqüente e desafiadora forma clínica da fusariose em pacientes imunocomprometidos, representando cerca de 70% dos casos de fusariose nesta população. Pacientes com risco de fusariose disseminada incluem aqueles com leucemia aguda e prolongada, profunda neutropenia e pacientes submetidos a transplante (NUCCI & ANAISSIE, 2007). Ocasionalmente, pode ocorrer em pacientes com queimaduras extensas (BOUTATI & ANAISSIE, 1997).

O primeiro caso de fusariose disseminada foi relatado em 1973 em uma criança leucêmica que apresentava neutropenia prolongada, febre, lesões cutâneas disseminadas com posterior evolução fatal (CHO et al., 1973).

As espécies de *Fusarium* que mais comumente causam infecções em humanos incluem *F. solani*, *F. oxysporum*, *F. verticillioides (moliniiforme)*, e menos comumente, *F. anthophilum*, *F. chlamydosporum*, *F. dimerum*, *F. equiseti*, *F. lichenicola*, *F. napiforme*, *F. proliferatum* e *F. semitecum* (BOUTATI & ANAISSIE, 1997; KRCMERY et al, 1997; MELCHER et al, 1993; RODRIGUEZ-VILLALOBOS et al, 2003).

O padrão mais freqüente de doença disseminada é uma combinação de lesões cutâneas e hemoculturas positivas, com ou sem envolvimento de outros sítios (seios paranasais, pulmões e outros). A apresentação clínica típica é de um paciente com prolongada (> 10 dias), profunda neutropenia (100/mm³), e febre persistente (NUCCI & ANAISSIE, 2007).

Outras características presentes são sinusite e/ou infecção rinocerebral, lesões de pele dolorosas, celulite no local da ruptura da pele, endoftalmite, pneumonia, miosite e infecções no sistema nervoso central (BOUTATI & ANAISSIE, 1997; ANAISSIE et al, 1988).

Quase todos os órgãos podem estar envolvidos, mas o mais acometido é a pele (70-90%), seguido do pulmão e seios paranasais (70-80%). Dor pleurítica, febre, tosse e hemoptise ocorrem em pacientes com envolvimento pulmonar e são indistinguíveis da aspergilose pulmonar. Na verdade, as características clínicas dos pacientes com infecção disseminada causada por *Fusarium* spp. são semelhantes em muitos aspectos com a aspergilose disseminada (BOUTATI & ANAISSIE, 1997). No entanto, ao contrário da aspergilose, a infecção causada por *Fusarium* spp. está associada a alta incidência de lesões de pele e hemoculturas positivas (BOUTATI &

ANAISSIE, 1997; ANAISSIE et al, 1988; NUCCI & ANAISSIE, 2002; ANAISSIE et al, 1992; CAUX et al, 1993).

Entre os pacientes submetidos a transplante de órgãos sólidos, infecções fusariais tendem a ser mais localizadas, ocorrendo mais tardiamente, após o transplante. Além disso, estes pacientes apresentam melhores resultados que pacientes com malignidades hematológicas ou transplantados de medula óssea (SAMPATHKUMAR & PAYA, 2001).

Como esperado, a taxa de mortalidade é maior entre os pacientes com doença disseminada, mesmo após o controle da neutropenia, da doença de base ou do envolvimento de órgãos (NUCCI & ANAISSIE, 2007).

2.6.11 Outras infecções

Menos frequentemente, *Fusarium* spp. também pode causar osteomielite, artrite, otite e abscesso cerebral. Este fungo foi a causa de 1% dos 83 casos de otites micóticas, no Gabão (KOMBILA et al, 1989). Quatro entre cinco casos de osteomielite provocada por *Fusarium* spp. foram notificados em indivíduos saudáveis após cirurgia ou trauma (BOURGUIGNON et al, 1976; MASCARÓ et al, 1992).

O acometimento ósseo causado por *Fusarium* spp. pode ocorrer na doença disseminada (BRINT et al, 1992); artrite séptica causada por este fungo foi relatada em dois pacientes após trauma, os quais responderam ao tratamento com anfotericina B (GRADON, LERMAN & LUTWICK, 1990; JAKLE et al, 1983). Também foi relatado um abscesso cerebral por *Fusarium* isolado em um paciente com síndrome de mononucleose infecciosa crônica (STEINBERG et al, 1983).

2.7 Diagnóstico

O diagnóstico da fusariose depende da forma clínica da doença. O diagnóstico da ceratite é bastante difícil pelas semelhanças clínicas apresentadas com outros agentes etiológicos (bactérias ou fungos). A cultura do raspado da córnea, ou biópsia de tecido geralmente são necessárias para o diagnóstico definitivo (NUCCI & ANAISSIE, 2007).

Em pacientes imunocomprometidos, a suspeita de fusariose disseminada é levantada quando fungemia por fungo filamentoso é detectada, ou quando o paciente apresenta lesões cutâneas ou subcutâneas (HENNEQUIN et al, 1997).

A pele é um sítio anatômico muito importante para o diagnóstico. Há relatos onde em 55% dos pacientes as lesões de pele eram a única fonte de diagnóstico para infecções causadas por *Fusarium* spp. Na maioria dos casos, a fungemia é precedida por lesões de pele, em média cinco dias antes; porém, há casos em que as lesões desenvolveram-se após o diagnóstico de fungemia. O exame histopatológico de lesões de pele mostra hifas hialinas septadas invadindo a pele e estendendo-se até os vasos sanguíneos, com trombose e necrose em pacientes com lesões metastáticas (NUCCI & ANAISSIE, 2002).

Em contraste com a aspergilose disseminada, a fusariose disseminada pode ser diagnosticada através de hemocultura em 40% dos pacientes (BOUTATI & ANAISSIE, 1997; HENNEQUIN et al, 1997). Isto acontece, possivelmente, porque as espécies de *Fusarium* produzem estruturas semelhantes a leveduras (esporulação) que facilitam a disseminação e crescimento no sangue (LIU et al, 1998). A taxa de hemoculturas positivas aumenta para 60% na presença de lesões cutâneas disseminadas. Porém, a fungemia é rara em pacientes com lesões cutâneas localizadas (NUCCI & ANAISSIE, 2002).

Como acontece na aspergilose, os achados radiológicos de infecção pulmonar demonstram infiltrados, lesões nodulares ou cavitárias (DIGNANI & ANAISSIE, 2004).

O diagnóstico definitivo da fusariose requer o isolamento de *Fusarium* spp. a partir de espécimes clínicos (sangue, pele, seios, pulmões e outros). A identificação da cultura é muito importante, pois existem semelhanças histopatológicas entre *Fusarium* spp. e outros gêneros causadores de hialohifomicoses e também porque há diferentes perfis de suscetibilidade aos antifúngicos entre esses patógenos (NELSON, DIGNANI & ANAISSIE, 1994; BOUTATI &

ANAISSE, 1997). Na ausência de crescimento fúngico, o exame histopatológico pode auxiliar na confirmação da infecção. Embora as hifas de *Fusarium* spp. e de *Aspergillus* spp. sejam muito semelhantes (filamentos hialinos septados que normalmente dicotomizam-se em ângulos agudos) nos tecidos, o achado de hifas e estruturas semelhantes a leveduras em conjunto é altamente sugestivo de fusariose (HAYDEN et al, 2003).

O diagnóstico da fusariose a partir de tecidos pode ser realizado através de colorações imuno-histopatológicas, utilizando reagentes fluorescentes com anticorpo policlonal, a fim de distinguir de *Aspergillus* spp. (KAUFMAN et al, 1997). A hibridização *in situ* também pode auxiliar a distinção entre *Fusarium* spp., *Aspergillus* spp. e *Pseudoallescheria* spp. com 100% de valor preditivo positivo (HAYDEN et al, 2003).

O teste da 1,3- β -D-glucana é geralmente positivo em infecções invasivas causadas por *Fusarium* spp., mas este teste não diferencia *Fusarium* spp. de outros fungos, como *Candida* spp., *Aspergillus* spp., *Trichosporon* spp. etc (ODABASI et al, 2004; OSTROSKY-ZEICHNER, 2005). No entanto, se o teste da 1,3- β -D-glucana for positivo e o teste da galactomanana for negativo, em um paciente com infecção filamentosa, pode-se dizer que o diagnóstico é altamente sugestivo de fusariose (NUCCI & ANAISSE, 2007).

Muitas vezes, a identificação das espécies de *Fusarium* é difícil e pode exigir métodos moleculares. Uma técnica de PCR foi desenvolvida para a detecção de *Fusarium* spp. no sangue e nos tecidos. Dois *primers* foram desenvolvidos e testados em um modelo de ratos com fusariose disseminada, bem como, no sangue humano inoculado com micélio de *Fusarium* spp. Os *primers* foram altamente específicos para 11 espécies de *Fusarium* clinicamente importantes. Este método também foi capaz de detectar as espécies de *Fusarium* em todas as amostras de sangue humano (HUE et al, 1999).

A interpretação do crescimento de espécies de *Fusarium* a partir de diferentes materiais biológicos depende do contexto clínico. O clínico e o microbiologista devem ser cautelosos, pois as espécies de *Fusarium* podem contaminar amostras de laboratório (GRIGIS et al, 2000). O isolamento de diversas colônias da mesma amostra ou colônias do mesmo fungo em amostras diferentes e, um exame direto positivo do material biológico poderá auxiliar no diagnóstico correto da infecção. O local de isolamento do fungo e o estado imunológico do paciente também são fatores importantes para o estabelecimento do diagnóstico de fusariose. Por exemplo, a cultura de secreções respiratórias de um paciente imunocomprometido deve ser considerada

como diagnóstico de infecção por *Fusarium* spp. Já o isolamento de *Fusarium* spp. de um raspado de pele de um indivíduo imunocompetente, não pode ser considerado diagnóstico de fusariose (NUCCI & ANAISSIE, 2007).

2.8 Tratamento

O tratamento da doença localizada é fundamental para prevenir a progressão para infecção disseminada. Isto pode requerer procedimento cirúrgico associado a terapia antifúngica sistêmica (BOUTATI & ANAISSIE, 1997; ANAISSIE & RINALDI, 1990; ROMBAUX et al, 1996).

As espécies de *Fusarium* são alguns dos fungos mais resistentes aos agentes antifúngicos. Dados sobre sua suscetibilidade *in vitro* indicam baixa sensibilidade a 5-flucitosina, fluconazol e anfotericina B (ANAISSIE et al, 1991; ROTOWA, SHADOMY & SHADOMY, 1990) e sensibilidade variável ao itraconazol, voriconazol e posaconazol (REUBEN et al, 1989; MARCO et al, 1998; WILDFEUER et al, 1998). *F. solani* parece ser mais sensível a anfotericina B, mas menos sensível ao voriconazol que *F. oxysporum* (PAPHITOU et al, 2002).

A fusariose constitui-se num problema terapêutico. O voriconazol, itraconazol e poliênicos (anfotericina B e suas formulações lipídicas) (GOLDBLUM et al, 2000; REIS et al, 2000) têm sido associados com algum sucesso. Nos Estados Unidos, o voriconazol é o único agente com indicação para o tratamento de casos refratários de fusariose (DIGNANI & ANAISSIE, 2004).

As equinocandinas como caspofungina (ARIKAN et al, 2002), anidulafungina e micafungina (PFALLER et al, 1998; TAWARA et al, 2000) não têm evidenciado atividade *in vitro* contra *Fusarium* spp.

Em pacientes neutropênicos, o tratamento com fatores estimuladores de colônias de granulócitos (G-CSF) e granulócitos macrófagos (GM-CSF) ou fator estimulador de colônias de glóbulos brancos também deve ser considerada (DIGNANI et al, 1997; RODRIGUEZ et al, 2003). Recentemente, o tratamento combinado de anfotericina B, voriconazol e transfusão de granulócitos apresentou resultado positivo em uma criança com anemia aplástica e infecção disseminada causada por *F. oxysporum* (RODRIGUEZ et al, 2003).

O desbridamento ou ressecção dos tecidos infectados (seios, tecidos oculares, tecidos moles, ossos e outros) é recomendado, porém, frequentemente, inviável pela trompocitopenia grave. A remoção de cateter é necessária quando este é a fonte da infecção (DIGNANI & ANAÏSSIE, 2004).

2.9 Antifúngicos e associações

O FDA (Food and Drug Administration) aprovou vários agentes antifúngicos de várias classes (azóis, equinocandinas, pirimidinas, poliênicos) como opções terapêuticas para infecções fúngicas (DISMUKES, 2000). Entretanto, muitas vezes o tratamento é complicado pela elevada toxicidade, baixa tolerabilidade ou estreito espectro de ação. Estas dificuldades têm conduzido esforços recentes para determinar a eficácia da terapia combinada no tratamento de infecções invasivas (MUKHERJEE et al, 2005). Benefícios potenciais do uso da terapia de combinação incluem o amplo espectro de ação, maior potência comparada a monoterapia, tolerabilidade e redução da resistência (LEWIS & KONTOYIANNIS, 2001).

Por outro lado, a terapia combinada nem sempre resulta em interações sinérgicas. Assim, a administração de combinações entre fármacos de diferentes classes terapêuticas deve ser fundamentada em estudos *in vitro* e *in vivo*, para se evitar interações indesejáveis.

Em 2002 foi publicado o documento M38-A do NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards, atual CLSI) que padroniza os ensaios microbiológicos para avaliação da suscetibilidade de hifomicetos, incluindo os gêneros *Aspergillus* e *Fusarium* (CLSI, 2002). A partir desta padronização, foi possível a determinação das concentrações inibitórias mínimas (CIM) e, com base nas mesmas, constatou-se que *Fusarium* spp. evidencia resistência intrínseca parcial a maioria dos antifúngicos disponíveis, o que veio explicar as elevadas taxas de mortalidade em infecções causadas por este fungo (ORTONEDA et al, 2004 A). A resistência ou a sensibilidade *in vitro* frente aos agentes antifúngicos pode não predizer a resposta clínica a infecção, porém é aceitável a relação entre elevadas CIMs e baixa resposta aos antimicrobianos (DANNAOUI et al, 1999).

Nos últimos anos, a descoberta de novos agentes antifúngicos tem aumentado numa tentativa de atender a crescente demanda na área da micologia médica. Atualmente, diferentes agentes antifúngicos estão disponíveis no mercado, os quais se encontram classificados em: alilaminas (terbinafina e naftifina), antimetabólitos (5-flucitosina), azólicos (cetoconazol, miconazol, itraconazol, fluconazol e voriconazol), inibidores da síntese da glucana (caspofungina) e derivados poliênicos (anfotericina B e nistatina). A combinação de agentes antifúngicos de diferentes classes pode determinar melhor eficácia no tratamento quando o sinergismo é observado (JOHNSON et al, 2004).

Anfotericina B é um antibiótico poliênico e sua atividade antimicótica é, em parte, dependente de sua ligação a uma fração esterol, no caso o ergosterol, presente na membrana de fungos. Desta maneira, formam-se poros ou canais com aumento na permeabilidade da membrana, alterando sua integridade e ocasionando a morte celular (GOODMAN & GILMAN, 2003). Este antifúngico possui atividade frente a numerosos fungos como *Trichosporon* spp., *Aspergillus* spp., *Pseudallescheria* spp., *Malassezia* spp., and *Fusarium* spp. (PFALLER et al, 2002; SUTTON et al., 1999). Algumas espécies de *Candida* spp. como *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis* e *C. krusei* vem demonstrando redução na sensibilidade e possível emergência da resistência a este antifúngico (PFALLER & DIEKEMA, 2004).

A atividade antifúngica dos azólicos se faz também através da alteração da permeabilidade de membrana. Todavia, esta alteração decorre da inibição da síntese do ergosterol, pois os azóis se ligam as enzimas da Citocromo P450 do fungo e inibem a desmetilação do lanosterol, um precursor do ergosterol (SPINOSA; GÓRNIK; BERNARDI, 2002). O grupo dos imidazólicos de uso sistêmico compreende ao cetoconazol e o miconazol, atualmente em desuso. Estudos comprovaram que o cetoconazol é ativo frente a *Candida* spp. e *Cryptococcus* spp., mas praticamente inativo frente às espécies de *Aspergillus* spp. e *Fusarium* spp. (COMO & DISMUKES, 1994).

Os triazólicos representam um novo grupo de azólicos com grande eficiência e baixa toxicidade. Diferentemente dos imidazóis, os triazóis tem alta afinidade pelo Citocromo P450 fúngico não apresentando afinidade pelo citocromo P450 dos mamíferos (SPINOSA; GÓRNIK; BERNARDI, 2002). O itraconazol é uma molécula lipossolúvel, com afinidade por órgãos contendo tecido adiposo, como pele e anexos epidérmicos como os tecidos queratinizados. As principais indicações do itraconazol compreendem as micoses endêmicas, como

paracoccidioidomicose, histoplasmose, cromoblastomicose e esporotricose, bem como, formas não sistêmicas de criptococose (WHEAT et al., 1995). O voriconazol possui espectro antifúngico expandido, atuando contra fungos filamentosos como *Fusarium* spp. e *Aspergillus* spp., além de ser ativo em várias espécies de leveduras, incluindo *Candida albicans* e não-*albicans* (BADEN et al, 2003; PERFECT et al, 2003; RAAD et al, 2006). Apesar dos novos azólicos como o voriconazol e posaconazol terem sido descritos como agentes terapêuticos mais eficazes, o sucesso da terapêutica na fusariose gira em torno de 67% (BADEN et al, 2003; PERFECT et al, 2003; RAAD et al, 2006).

2.9.1 Associações de antifúngicos contra *Fusarium* spp.

O polêmico antagonismo verificado nas combinações entre anfotericina B e azólicos é consequência das ações das duas classes de antifúngicos no mesmo sítio de ação. Os azóis bloqueiam a síntese do ergosterol, e assim reduzem os sítios de ação para anfotericina B na membrana citoplasmática (SCHEVEN & SCHEVEN, 1996; SUGAR & LIU, 1998). Ademais, os azóis lipofílicos podem ainda ficar adsorvidos na célula fúngica e impedir a ligação da anfotericina B com os esteróis da membrana. (SCHEVEN et al, 1995).

Apesar destas hipóteses, Spader (2008) observou interações sinérgicas entre anfotericina B e itraconazol contra *Fusarium* spp. Interações sinérgicas também foram relatadas por Ortoneda et al. (2004 A) para esta combinação.

Combinações envolvendo voriconazol e anfotericina B, têm demonstrado sinergismo quando estes antifúngicos são combinados frente a espécies de *Fusarium* spp. (CÓRDOBA et al, 2008; SPADER , 2008). Em estudos *in vivo*, os animais que foram tratados com anfotericina B em combinação com voriconazol demonstraram aumento na sobrevida e diminuição da infecção em tecidos hepáticos impondo-se como um importante recurso no tratamento da fusariose (RUÍZ-CENDOYA et al, 2008). Para Durand-Joly et al. (2003), Guzman-Cottrill et al. (2004) e Tezcan et al. (2009), esta associação também demonstrou bons resultados no tratamento da fusariose em pacientes imunocomprometidos.

As combinações de anfotericina B com cetoconazol ou miconazol *in vitro* frente a *Fusarium* spp. demonstraram pequenas taxas de sinergismo (SPADER , 2008).

O mecanismo proposto para a combinação de caspofungina e anfotericina B se baseia no ataque a diferentes alvos da célula fúngica, pois a caspofungina atua na parede celular e a anfotericina B na membrana celular. O mecanismo que fundamenta a combinação entre caspofungina e azólicos se baseia no mesmo mecanismo observado para a combinação entre caspofungina e anfotericina B (JOHNSON et al, 2004).

De acordo com Shalit et al. (2009), a combinação entre caspofungina e anfotericina B demonstrou resultados sinérgicos para 70% das interações realizadas *in vitro* frente a *Fusarium* spp. Outros trabalhos com esta combinação também evidenciaram sinergismo (ARIKAN et al, 2002; MAKOWSKY, WARKENTIN & SAVOIE, 2005; ORTONEDA et al, 2004 A; VAGACE et al, 2007; SPADER , 2008).

Os estudos de combinações *in vitro* entre caspofungina e azólicos são insipientes. As combinações entre caspofungina e voriconazol, evidenciaram sinergismo para 40% dos isolados de *Fusarium* spp. (SHALIT et al, 2009).

Os testes de susceptibilidade sugerem que a terbinafina é um potente antifúngico quando em combinação para tratamento da fusariose (NEUBURGER et al, 2008). A combinação entre terbinafina e caspofungina é fortemente sinérgica frente a espécies de *Fusarium* spp. Shalit et al. (2009) demonstraram que 90% das interações realizadas frente a espécies de *Fusarium* spp. foram sinérgicas nos testes *in vitro*. Em combinações envolvendo terbinafina e anfotericina B, o sinergismo esteve presente em 81,2% dos isolados com visível diminuição do valor das CIM para anfotericina B (LI et al, 2008). Já, para Spader (2008) esta associação evidenciou baixo número de interações sinérgicas, sendo a indiferença, o efeito mais observado.

O mecanismo sinérgico entre anfotericina B e flucitosina se baseia na ação da anfotericina B na membrana celular fúngica favorecendo o transporte da flucitosina para o interior da célula.

Segundo Spader (2008) a combinação entre anfotericina B e flucitosina mostrou sinergismo *in vitro* para 75% dos isolados de *Fusarium* spp.

2.9.2 Associações de antifúngicos com agentes não antifúngicos

Infecções invasivas causadas por fungos são as principais causas de morbidade e mortalidade entre pacientes imunocomprometidos (CLANCY et al, 1998). *Aspergillus* spp. e *Fusarium* spp. são dois importantes patógenos fúngicos emergentes envolvidos neste cenário.

Atualmente, diferentes agentes antifúngicos estão disponíveis no mercado, mas nenhum apresenta altas taxas de eficácia terapêutica no tratamento de infecções causadas por *Fusarium* spp. Em decorrência das altas taxas de mortalidade causadas pela fusariose invasiva tratada com monoterapia e de poucos estudos relacionados a *Fusarium* spp. é que novas estratégias de tratamento, como a terapia de combinação, merecem ser estudadas com o objetivo de buscar novas alternativas terapêuticas.

Novos agentes antifúngicos com novos mecanismos de ação têm estimulado o interesse em combinações antifúngicas. Apesar de poucos dados clínicos, a alta mortalidade das infecções fúngicas e a eficácia limitada dos atuais agentes têm produzido significativo interesse em combinações entre poliênicos, azóis de amplo espectro e equinocandinas para infecções de difícil tratamento (JOHNSON et al, 2004).

Estudos de combinações de agentes antifúngicos com agentes não antifúngicos são ainda pouco investigados (MUKHERJEE et al, 2005). Por isso, o foco deste trabalho foi associar antifúngicos convencionais com fármacos não antifúngicos, como antibióticos, uma estatina e um antiinflamatório não esteroideal.

Neste estudo, foram avaliadas as interações *in vitro* entre anfotericina B, voriconazol e itraconazol com fármacos não antifúngicos (azitromicina, ciprofloxacina, fluvastatina, ibuprofeno e metronidazol) e anfotericina B com rifampicina frente a vinte e sete isolados de *Fusarium* spp, através do método de “checkerboard”.

Poucos estudos foram realizados sobre associações de agentes antifúngicos com agentes não antifúngicos frente a *Fusarium* spp. Para Clancy et al (1998) a associação entre azitromicina e anfotericina B resultou em sinergismo frente a *Fusarium* spp. Esta mesma associação demonstrou sinergismo frente a *Aspergillus* spp. (NGUYEN et al, 1997). Em relação à rifampicina, alguns trabalhos relatam sinergismo para as combinações com anfotericina B frente a fungos como: *Candida* spp., *Cryptococcus neoformans*, *Aspergillus* spp., *Histoplasma*

capsulatum e *Fusarium* spp. (CLANCY et al, 1998; EDWARDS et al, 1980; FUJITA & EDWARDS, 1981; HUGHES et al, 1984; KITAHARA et al, 1976; KOBAYASHI et al, 1974; KUNIN, 1996; MEDOFF, 1983; SPADER, 2008; STERN et al, 1978).

Atualmente, não há estudos que relatam combinações entre ciprofloxacina e anfotericina B, ou itraconazol, ou voriconazol frente a *Fusarium* spp. Foram realizados estudos de associações entre anfotericina B e uma fluorquinolona frente a *Candida* spp., *Cryptococcus neoformans* e *Aspergillus fumigatus*, os quais resultaram em sinergismos (NAKAGIMA et al, 1995). Stergiopoulou et al (2008) associaram a anfotericina B com ciprofloxacina frente a *Candida albicans* e *Aspergillus fumigatus*, e observaram sinergismos em baixas concentrações. Neste estudo, também foram observados sinergismos entre voriconazol e ciprofloxacina frente a *Aspergillus fumigatus*. Estudos de associações entre fluconazol e uma fluorquinolona frente a *Candida* spp. relataram aumento da atividade do antifúngico (NAKAGIMA et al, 1995; SASAKI et al, 2000; SUGAR, LIU & CHEN, 1997).

Estudos de associações de antifúngicos com metronidazol também são raros. Cury & Hirschfeld (1997) observaram interações sinérgicas e aditivas para a associação entre anfotericina B e metronidazol frente a *Candida albicans*. Até o momento, não há relatos de associações com metronidazol frente a *Fusarium* spp.

Chin et al (1997) testaram combinações *in vitro* entre algumas estatinas, incluindo a fluvastatina, com fluconazol e itraconazol frente algumas espécies de *Candida* e *Cryptococcus neoformans*. As associações com fluvastatina demonstraram interações sinérgicas. Outro estudo avaliou as combinações entre fluvastatina com caspofungina, voriconazol e anfotericina B frente a *Aspergillus fumigatus*. Os resultados deste estudo demonstraram interações sinérgicas para a associação entre fluvastatina e caspofungina, o mesmo não foi observado para as associações entre fluvastatina e voriconazol ou anfotericina B (NATESAN et al, 2008).

Alguns estudos de combinações *in vitro* entre ibuprofeno e fluconazol frente a *Candida* spp. relataram interações sinérgicas (ARAI et al, 2005; PINA-VAZ et al, 2000; SCOTT et al, 1995). Em relação a combinações de antifúngicos com ibuprofeno frente a *Fusarium* spp., nenhum estudo foi publicado até o momento.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Avaliar a suscetibilidade de diferentes espécies do gênero *Fusarium* a antifúngicos convencionais associados com fármacos de outras classes.

3.2 Objetivos Específicos

3.2.1 Avaliar a suscetibilidade de *Fusarium* spp. frente a anfotericina B, itraconazol, voriconazol, azitromicina, ciprofloxacina, fluvastatina, ibuprofeno, metronidazol e rifampicina através da determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM).

3.2.2 Avaliar as associações dos antifúngicos (anfotericina B, voriconazol e itraconazol) com fármacos de outras classes (azitromicina, ciprofloxacina, fluvastatina, ibuprofeno e metronidazol) e também a associação de anfotericina B com rifampicina, através do Índice de Concentração Inibitória Fracionária (ICIF).

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Microrganismos

Foram utilizados vinte e sete isolados de *Fusarium* spp. pertencentes à coleção de fungos do Laboratório de Pesquisas Micológicas (LAPEMI). Estes estão distribuídos em sete espécies diferentes como observado no Quadro 1. Os repiques foram armazenados a temperatura de 25°C no meio de Ágar Batata Dextrose.

Espécies do Gênero <i>Fusarium</i>	n (número)
<i>F. chlamydosporum</i>	3
<i>F. nygamai</i>	1
<i>F. oxysporum</i>	6
<i>F. proliferatum</i>	2
<i>F. solani</i>	10
<i>F. solani</i> ATCC 36031	1
<i>F. sporotrichoides</i> CBS 412.86	1
<i>F. verticillioides</i>	3
Total	27

Quadro 1 - Distribuição das espécies de acordo com o número.

Estas espécies foram previamente identificadas através de métodos moleculares, que consistiram de um fragmento de DNA abrangendo um espaçador interno transcrito (ITS), o qual foi amplificado utilizando os *primers* ITS1 (5'-TCCGTAGGTGA-ACCTGCGG-3') e ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGAT-ATGC-3'). Os fragmentos amplificados foram analisados em gel agarose 0,8% e sequenciados (O'DONNELL et al, 2007). Essas sequências foram comparadas

com sequências de DNA de *Fusarium* obtidas a partir do banco de gen (números de adesão GQ149770, GQ149773, GQ149771, GQ149772, GQ149774 e GQ149775).

4.2 Agentes antifúngicos e não antifúngicos

Os agentes antifúngicos (anfotericina B, itraconazol e voriconazol) e os agentes não antifúngicos (azitromicina, ciprofloxacina, fluvastatina, ibuprofeno, metronidazol e rifampicina) foram obtidos de seus respectivos fabricantes na forma de pó puro ou soluções intravenosas de potência conhecida. A solução-estoque de fluvastatina foi preparada em água destilada estéril, enquanto que as soluções de azitromicina, ciprofloxacina, ibuprofeno, itraconazol, metronidazol, rifampicina e voriconazol requereram dimetilsulfóxido. A solução-estoque de anfotericina B foi a própria solução intravenosa.

As soluções intermediárias foram realizadas em Caldo RPMI 1640 tamponado com ácido morfolino propanossulfônico (MOPS) de acordo com a técnica empregada.

4.3 Combinações testadas

Os agentes antifúngicos anfotericina B, itraconazol e voriconazol foram associados com agentes não antifúngicos como mostram o Quadro 2 e o Quadro 3.

Antifúngico	Não antifúngicos
anfotericina B	Azitromicina
	Ciprofloxacina
	Fluvastatina
	Ibuprofeno
	metronidazol
	rifampicina

Quadro 2 - Combinações de anfotericina B com os agentes não antifúngicos.

Antifúngicos	Não antifúngicos
Itraconazol	Azitromicina
Voriconazol	Ciprofloxacina
	Fluvastatina
	Ibuprofeno
	Metronidazol

Quadro 3 – Combinações de azólicos com os agentes não antifúngicos.

4.4 Testes de Suscetibilidade

A suscetibilidade das cepas de *Fusarium* spp foram determinadas pelo método de microdiluição em Caldo RPMI 1640, de acordo com o protocolo aprovado pelo Clinical and Laboratory Standards Institute [M-38 A2] (CLSI, 2008). As faixas de concentrações testadas para cada fármaco está descrita no Quadro 4.

Fármacos	Faixa de concentração (µg/ml)
Anfotericina B	0,0625 – 8
Itraconazol	0,125 – 16
Voriconazol	0,125 – 16
Azitromicina	0,25 – 32
Ciprofloxacina	0,25 – 32
Fluvastatina	0,25 – 32
Ibuprofeno	0,25 – 32
Metronidazol	0,25 – 32
Rifampicina	0,25 – 32

Quadro 4 – Faixa de concentração testada para cada fármaco.

4.4.1 Preparação do inóculo

Os isolados foram cultivados em tubos contendo Ágar Batata Dextrose e incubados a 35°C por 48 horas e a 25°C até completar o sétimo dia.

Para a preparação do inóculo, as colônias de sete dias foram cobertas com aproximadamente 1mL de solução salina estéril a 0,85%. Também foi adicionado às colônias uma gota (aproximadamente 0,01mL) de Tween 20 para facilitar a remoção dos conídios. A suspensão foi obtida através de movimentos delicados com o auxílio de uma pipeta de Pasteur. A mistura de conídios e fragmentos de hifas foi transferida para um novo tubo estéril e mantida em repouso por cinco minutos. O sobrenadante foi removido por aspiração e transferido para um novo tubo também estéril. As densidades das suspensões de conídios foram lidas e ajustadas para uma densidade óptica (DO) variável entre 0,15 a 0,17 (transmitância de 68 a 70%) em 530 nm através de um espectrofotômetro. O inóculo assim padronizado foi diluído 1:50 em Caldo RPMI 1640 para se obter a concentração final de 1×10^4 UFC/mL.

4.4.2 Determinação das Concentrações inibitórias mínimas (CIMs)

Para o ensaio da determinação das CIMs utilizou-se microplacas de poliestireno contendo 96 poços com fundo chato. Primeiramente adicionou-se 100 µL do fármaco nas diferentes concentrações, distribuídos de forma seriada nos poços de 1 a 8 das microplacas. Posteriormente adicionou-se 100 µL do inóculo previamente ajustado e diluído em RPMI. Visto que há uma diluição 1:2 do fármaco quando combinado com o inóculo, as concentrações iniciais dos fármacos eram duas vezes mais concentradas do que as concentrações finais desejadas.

As CIMs foram determinadas após 48 horas de incubação em estufa a 35°C. A leitura foi realizada com base na inibição do crescimento do fungo, comparado ao seu controle positivo.

4.5 Avaliação das combinações

A avaliação da atividade antifúngica, quando dois fármacos são combinados, foi obtida pelo método de “checkerboard”, baseado no documento M38-A2 (CLSI, 2008), com posterior determinação do índice de concentração inibitória fracionária (ICIF) (JOHNSON et al, 2004). Os testes foram realizados em Caldo RPMI 1640 tamponado em pH 7,0 com ácido morfolino propanossulfônico (MOPS).

As diluições dos fármacos eram feitas para que resultassem em uma concentração quatro vezes maior que a concentração final desejada. Isto se deve ao fato de que 50 µL de cada diluição de um determinado fármaco era combinada a outros 50 µL de cada diluição do segundo fármaco; e a este volume era somado 100 µL de inóculo em Caldo RPMI 1640 depositados em cada poço da microplaca. As faixas de concentração dos agentes antifúngicos e não antifúngicos foram as mesmas utilizadas para o teste de suscetibilidade.

Após 48 horas de incubação das placas eram realizadas as leituras.

Para avaliar a interação entre os fármacos, a concentração inibitória fracionária (CIF) foi calculada para cada combinação. As CIFs foram calculadas para cada agente pela divisão da concentração inibitória de cada fármaco na combinação pela concentração inibitória do fármaco sozinho. Os valores de CIF foram então somados para definir o índice de concentração inibitória fracionária (ICIF) resultante da combinação. Sinergismo foi definido como $ICIF \leq 0,5$. A indiferença foi considerada quando $0,5 < ICIF \leq 4$, enquanto que antagonismo foi definido quando $ICIF > 4$ (JOHNSON et al, 2004).

$$ICIF = \frac{CIM \text{ droga A em combinação}}{CIM \text{ droga A sozinha}} + \frac{CIM \text{ da droga B em combinação}}{CIM \text{ droga B sozinha}}$$

5 RESULTADOS

Com o propósito de investigar o perfil de suscetibilidade *in vitro* de *Fusarium* spp. aos antifúngicos: anfotericina B, itraconazol e voriconazol, foram determinadas as concentrações inibitórias mínimas (CIMs) para todos os isolados. Também foram determinadas as CIMs para os fármacos não antifúngicos.

Posteriormente avaliou-se as associações entre os antifúngicos e não antifúngicos através da determinação do índice de concentração inibitória fracionária (ICIF), a fim de identificar os efeitos sinérgicos, indiferentes e antagônicos.

5.1 Suscetibilidade *in vitro* a anfotericina B

A atividade antifúngica da anfotericina B foi mais pronunciada em relação aos outros antifúngicos, com concentrações inibitórias mínimas variando de 0,125 a 4,0 μ g/ml.

As variações de suscetibilidade inter e intra-espécies foram notáveis: *F. chlamydosporum* (n = 3), *F. nygamai* (n = 1), *F. proliferatum* (n = 2), *F. sporotrichoides* (n = 1) e *F. verticillioides* (n = 3), apresentaram CIMs \leq 1,0 μ g/ml. Entre os seis isolados de *F. oxysporum*, cinco apresentaram CIMs \leq 0,5 μ g/ml e um isolado revelou CIM = 4,0 μ g/ml. Entre os onze isolados de *F. solani*, nove apresentaram CIMs \leq 1,0 μ g/ml e dois com CIMs \geq 2,0 μ g/ml.

Por outro lado, 63% dos isolados apresentaram CIMs < 1,0 μ g/ml e 37% apresentaram CIMs \geq 1,0 μ g/ml. Apenas um isolado de *F. solani* e um isolado de *F. oxysporum* requereram CIMs = 4,0 μ g/ml.

A faixa de suscetibilidade e a média geométrica para cada espécie estão dispostas na Tabela 1, assim como as concentrações inibitórias mínimas para 50% dos isolados (CIM₅₀) e para 90% dos isolados (CIM₉₀).

Tabela 1: Suscetibilidade *in vitro* de *Fusarium* spp. frente a anfotericina B

Espécies (n)	Faixa de suscetibilidade (µg/ml)	CIM ₅₀	CIM ₉₀	Média geométrica
<i>F. chlamydosporum</i> (n=3)	0,25-0,5	0,25	0,5	0,315
<i>F. nygamai</i> (n=1)	0,5	0,5	0,5	0,500
<i>F. oxysporum</i> (n=6)	0,125-4,0	0,5	0,5	0,500
<i>F. proliferatum</i> (n=2)	0,25-1,0	0,25	1,0	0,500
<i>F. solani</i> (n=11)	0,25-4,0	0,5	2,0	0,777
<i>F. sporotrichoides</i> (n=1)	0,25	0,25	0,25	0,250
<i>F. verticillioides</i> (n=3)	0,5-1,0	0,5	1,0	0,793

CIM₅₀ = Concentração inibitória mínima capaz de inibir 50% dos isolados testados;

CIM₉₀ = Concentração inibitória mínima capaz de inibir 90% dos isolados testados.

5.2 Suscetibilidade *in vitro* ao voriconazol

Considerando todas as espécies de *Fusarium* spp (n = 27), a faixa de suscetibilidade variou entre 1,0 a >16,0 µg/ml. Todos os isolados de *F. chlamydosporum* (n = 3), *F. nygamai* (n = 1) e *F. verticillioides* (n = 3) apresentaram CIM = 4,0µg/ml. Portanto não demonstraram variabilidade intra-espécies.

Entre os seis isolados de *F. oxysporum*, três apresentaram CIM = 16µg/ml e três CIM ≤ 8,0µg/ml. Entre os dois isolados de *F. proliferatum*, um revelou CIM = 2,0µg/ml e o outro CIM = 4,0µg/ml. A menor CIM foi observada para o *F. sporotrichoides*, sendo de 1,0µg/ml.

Quanto ao *F. solani* foi observada grande variabilidade intra-espécie. Entre os onze isolados testados, três apresentaram CIM ≥ 16,0µg/ml, apenas um com CIM = 8,0µg/ml e sete isolados apresentaram CIM ≤ 4,0µg/ml.

A suscetibilidade ao voriconazol demonstrou que 18,5% dos isolados apresentaram CIMs ≤ 2,0µg/ml, 51,9% apresentaram CIMs = 4,0µg/ml e 29,6% apresentaram CIMs ≥ 8,0µg/ml.

A Tabela 2 mostra a faixa de suscetibilidade para cada espécie, a média geométrica e as concentrações inibitórias mínimas para 50% dos isolados (CIM₅₀) e para 90% dos isolados (CIM₉₀).

Tabela 2: Suscetibilidade *in vitro* de *Fusarium* spp. frente ao voriconazol

Espécies (n)	Faixa de			Média geométrica
	suscetibilidade ($\mu\text{g/ml}$)	CIM ₅₀	CIM ₉₀	
<i>F. chlamydosporum</i> (n=3)	4,0	4,0	4,0	4,00
<i>F. nygamai</i> (n=1)	4,0	4,0	4,0	4,00
<i>F. oxysporum</i> (n=6)	2,0-16,0	8,0	16,0	8,00
<i>F. proliferatum</i> (n=2)	2,0-4,0	2,0	4,0	2,83
<i>F. solani</i> (n=11)	2,0->16,0	4,0	16,0	5,84
<i>F. sporotrichoides</i> (n=1)	1,0	1,0	1,0	1,00
<i>F. verticillioides</i> (n=3)	4,0	4,0	4,0	4,00

CIM₅₀ = Concentração inibitória mínima capaz de inibir 50% dos isolados testados;

CIM₉₀ = Concentração inibitória mínima capaz de inibir 90% dos isolados testados.

5.3 Suscetibilidade *in vitro* ao itraconazol

A suscetibilidade de *Fusarium* spp ao itraconazol demonstrou que 100% dos isolados requereram CIMs > 16 $\mu\text{g/ml}$ como mostra a Tabela 3.

Tabela 3: Suscetibilidade *in vitro* de *Fusarium* spp frente ao itraconazol

Espécies (n= número)	Faixa de			Média geométrica
	suscetibilidade ($\mu\text{g/ml}$)	CIM ₅₀	CIM ₉₀	
<i>F. chlamydosporum</i> (n=3)	>16	>16	>16	>16
<i>F. nygamai</i> (n=1)	>16	>16	>16	>16
<i>F. oxysporum</i> (n=6)	>16	>16	>16	>16
<i>F. proliferatum</i> (n=2)	>16	>16	>16	>16
<i>F. solani</i> (n=11)	>16	>16	>16	>16
<i>F. sporotrichoides</i> (n=1)	>16	>16	>16	>16
<i>F. verticillioides</i> (n=3)	>16	>16	>16	>16

CIM₅₀ = Concentração inibitória mínima capaz de inibir 50% dos isolados testados;

CIM₉₀ = Concentração inibitória mínima capaz de inibir 90% dos isolados testados.

5.4 Atividade *in vitro* das associações com anfotericina B

As combinações de anfotericina B com azitromicina, ciprofloxacino, fluvastatina, ibuprofeno, metronidazol e rifampicina foram testadas frente aos vinte e sete isolados de *Fusarium* spp através da técnica de "checkerboard". As concentrações inibitórias mínimas foram avaliadas após um período de incubação de 48 horas a 35°C.

5.4.1 Combinações de anfotericina B com agentes antimicrobianos

Em relação às combinações de anfotericina B com os antimicrobianos (azitromicina, rifampicina, ciprofloxacino e metronidazol) foram observadas elevadas taxas de atividade indiferente frente aos isolados de *Fusarium* spp. Também foram detectadas altas taxas de sinergismo para algumas destas combinações. Antagonismo não foi observado para nenhuma associação.

A Tabela 4 descreve o número e percentuais de interações sinérgicas, indiferentes e antagonicas, assim obtidas pelas combinações com anfotericina B.

As associações com os antimicrobianos, azitromicina e rifampicina, evidenciaram taxas de sinergismo de 25,9% e 33,3%, respectivamente. O sinergismo observado pela combinação de anfotericina B e azitromicina variou entre as espécies: *F. chlamydosporum* (66,7%), *F. oxysporum* (50%), *F. sporotrichoides* (100%) e *F. solani* (9,1%). Por outro lado, a combinação de anfotericina B com rifampicina evidenciou sinergismos para *F. chlamydosporum* (33,3%), *F. oxysporum* (16,7%), *F. solani* (36,4%), *F. sporotrichoides* (100%) e *F. verticillioides* (66,7%).

A ciprofloxacina, derivada da classe das quinolonas (fluorquinolonas), quando associada à anfotericina B evidenciou 37% de sinergismo frente aos isolados de *Fusarium* spp. Esta combinação mostrou-se sinérgica para as espécies: *F. oxysporum* (50%), *F. proliferatum* (50%) e *F. solani* (45,5%) e *F. verticillioides* (33,3%).

Entre as associações com os antimicrobianos, àquela que apresentou o maior percentual de sinergismo foi a combinação de anfotericina B e metronidazol (40,7%), mesmo assim, o efeito

indiferente esteve presente em 59,3% dos isolados. As interações sinérgicas mostraram-se presentes para todas as espécies, exceto para *F. nygamai*.

A anfotericina B associada a ciprofloxacina e ao metronidazol mostraram as melhores atividades para *F. solani*. Ambas as associações evidenciaram sinergismo para 5 isolados (45,5%) de *F. solani* entre os 11 isolados estudados. A segunda associação mais eficiente para *F. solani* foi a anfotericina B + rifampicina, a qual mostrou sinergismo para 4 isolados (36,4%).

Por outro lado, para *F. oxysporum* as combinações que demonstraram maior número de interações sinérgicas foram anfotericina B com azitromicina (50%) e anfotericina B com ciprofloxacina (50%).

Considerando *F. verticillioides*, as combinações mais efetivas de anfotericina B com estes agentes antimicrobianos, foram anfotericina B + rifampicina (66,7%).

5.4.2 Combinações de anfotericina B com fluvastatina

A fluvastatina é um inibidor da HMG-CoA redutase; quando associada a anfotericina B apresentou 29,6% de sinergismo frente aos isolados de *Fusarium* spp. O efeito antagônico não foi observado para essa associação. O efeito sinérgico foi variável entre as espécies: *F. chlamydosporum* (33,3%), *F. oxysporum* (16,7%), *F. solani* (36,4%) e *F. verticillioides* (66,7%). As espécies *F. nygamai*, *F. proliferatum* e *F. sporotrichoides* não foram suscetíveis a esta combinação, por isto, não se observou sinergismos.

5.4.3 Combinações de anfotericina B com ibuprofeno

A associação entre ibuprofeno e anfotericina B resultou na maior taxa de sinergismo (44,4%) entre todas as associações com anfotericina B aqui estudadas. Interações indiferentes totalizaram 55,6%, todavia, o antagonismo não foi observado.

Esta associação também registrou o maior percentual de sinergismo para *F. solani* (72,7%). Efeito sinérgico também foi observado para *F. proliferatum* (100%) e *F. verticillioides* (66,7%). Para as espécies *F. chlamydosporum*, *F. nygamai*, *F. oxysporum* e *F. sporotrichoides*, o efeito sinérgico da combinação de anfotericina B + ibuprofeno não foi observado.

Tabela 4: Percentuais das interações obtidas pelas combinações de anfotericina B com fármacos diversos frente a *Fusarium* spp.

Espécies (número)	azitromicina			ciprofloxacina			rifampicina			metronidazol			ibuprofeno			fluvastatina		
	S	I	A	S	I	A	S	I	A	S	I	A	S	I	A	S	I	A
<i>F. chlamydosporum</i> (n=3)	% 66,7	33,3	0	0	100	0	33,3	66,7	0	33,3	66,7	0	0	100	0	33,3	66,7	0
<i>F. nygamai</i> (n=1)	% 0	100	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0
<i>F. oxysporum</i> (n=6)	% 50	50	0	50	50	0	16,7	83,3	0	16,7	83,3	0	0	100	0	16,7	83,3	0
<i>F. proliferatum</i> (n=2)	% 0	100	0	50	50	0	0	100	0	100	0	0	100	0	0	0	100	0
<i>F. solani</i> (n=11)	% 9,1	90,9	0	45,5	54,5	0	36,4	63,6	0	45,5	54,5	0	72,7	27,3	0	36,4	63,6	0
<i>F. sporotrichoides</i> (n=1)	% 100	0	0	0	100	0	100	0	0	100	0	0	0	100	0	0	100	0
<i>F. verticillioides</i> (n=3)	% 0	100	0	33,3	66,7	0	66,7	33,3	0	33,3	66,7	0	66,7	33,3	0	66,7	33,3	0
Total (n=27)	% 25,9	74,1	0	37	63	0	33,3	66,7	0	40,7	59,3	0	44,4	55,6	0	29,6	70,4	0

S = sinergismo, I = indiferença, A = antagonismo

5.5 Atividade *in vitro* das associações com voriconazol

Assim como para anfotericina B, as combinações de voriconazol com azitromicina, ciprofloxacina, fluvastatina, ibuprofeno e metronidazol foram testadas frente aos vinte e sete isolados de *Fusarium* spp através da técnica de "checkerboard". As concentrações inibitórias mínimas foram avaliadas após um período de incubação de 48 horas a 35°C.

5.5.1 Combinações de voriconazol com agentes antimicrobianos

As combinações de voriconazol com azitromicina, ciprofloxacina e metronidazol apresentaram de modo geral, efeito indiferente; entretanto sinergismos e efeito antagônico também foram detectados.

Na Tabela 5 estão descritas as interações obtidas pelas combinações com voriconazol e as respectivas taxas de sinergismo, indiferença e antagonismo.

O voriconazol quando associado a azitromicina demonstrou 25,9% de sinergismo. As taxas de indiferença foram de 70,4%. Ressalta-se que, também foi observado efeito antagônico para esta combinação (3,7%). As espécies inibidas pela combinação sinérgica de voriconazol e azitromicina foram: *F. chlamydosporum* (66,7%), *F. oxysporum* (33,3%), *F. proliferatum* (50%), *F. solani* (9,1%) e *F. sporotrichoides* (100%). Antagonismos foram observados apenas para *F. verticillioides* (33,3%).

Considerando todas as associações com voriconazol, os mais elevados percentuais de sinergismo foram observados na combinação deste antifúngico com ciprofloxacina (33,3%) e com metronidazol (33,3%). O efeito indiferente foi observado em 59,3% dos isolados e o efeito antagônico para 7,4%, para as duas combinações. A variação de suscetibilidade das diferentes espécies de *Fusarium* frente as combinações estudadas evidenciou que na combinação de voriconazol + ciprofloxacina, o sinergismo foi observado para *F. chlamydosporum* (66,7%), *F. oxysporum* (66,7%), *F. proliferatum* (50%), *F. solani* (9,1%) e *F. sporotrichoides* (100%). Do mesmo modo, para a combinação de voriconazol + metronidazol o sinergismo ocorreu para as mesmas espécies: *F. chlamydosporum* (33,3%), *F. oxysporum* (66,7%), *F. proliferatum* (50%), *F. solani* (18,2%) e *F. sporotrichoides* (100%).

Por outro lado, o antagonismo foi detectado somente para *F. verticillioides* (66,7%) para ambas as combinações.

A melhor combinação observada para *F. solani* foi voriconazol + metronidazol, a qual apresentou sinergismo para 18,2% dos isolados de *F. solani*.

Considerando-se *F. oxysporum*, as melhores combinações foram de voriconazol + ciprofloxacina e voriconazol + metronidazol; o efeito sinérgico foi observado em 66,7% dos isolados de *F. oxysporum*, igualmente para as duas combinações.

Para *F. verticillioides* nenhuma combinação de voriconazol com estes agentes antimicrobianos foi eficaz.

5.5.2 Combinações de voriconazol com fluvastatina

A associação de voriconazol e fluvastatina resultou em 18,5% de sinergismo, 74,1% de indiferença e 7,4% de antagonismo. O efeito sinérgico foi observado em quatro espécies: *F. oxysporum* (16,7%), *F. proliferatum* (50%), *F. solani* (18,2%) e *F. sporotrichoides* (100%). O antagonismo foi detectado apenas para *F. verticillioides* (66,7%).

5.5.3 Combinações de voriconazol com ibuprofeno

A combinação de voriconazol com ibuprofeno evidenciou 29,6% de sinergismo, 66,7% de indiferença e 3,7% de antagonismo para *Fusarium spp.* O sinergismo foi observado para seis espécies: *F. chlamydosporum* (33,3%), *F. nygamai* (100%), *F. oxysporum* (33,3%), *F. proliferatum* (50%), *F. solani* (18,2%) e *F. sporotrichoides* (100%). Assim como para todas as associações com voriconazol, a única espécie que apresentou antagonismo foi *F. verticillioides* (33,3%).

Tabela 5: Percentuais das interações obtidas pelas combinações de voriconazol com fármacos diversos frente a *Fusarium* spp.

Espécies (número)		azitromicina			ciprofloxacina			metronidazol			ibuprofeno			fluvastatina		
		S	I	A	S	I	A	S	I	A	S	I	A	S	I	A
<i>F. chlamydosporum</i> (n=3)	%	66,7	33,3	0	66,7	33,3	0	33,3	66,7	0	33,3	66,7	0	0	100	0
<i>F. nygamai</i> (n=1)	%	0	100	0	0	100	0	0	100	0	100	0	0	0	100	0
<i>F. oxysporum</i> (n=6)	%	33,3	66,7	0	66,7	33,3	0	66,7	33,3	0	33,3	66,7	0	16,7	83,3	0
<i>F. proliferatum</i> (n=2)	%	50	50	0	50	50	0	50	50	0	50	50	0	50	50	0
<i>F. solani</i> (n=11)	%	9,1	90,9	0	9,1	90,9	0	18,2	81,8	0	18,2	81,8	0	18,2	81,8	0
<i>F. sporotrichoides</i> (n=1)	%	100	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0
<i>F. verticillioides</i> (n=3)	%	0	66,7	33,3	0	33,3	66,7	0	33,3	66,7	0	66,7	33,3	0	33,3	66,7
Total (n=27)	%	25,9	70,4	3,7	33,3	59,3	7,4	33,3	59,3	7,4	29,6	66,7	3,7	18,5	74,1	7,4

S = sinergismo, I = indiferença, A = antagonismo

5.6 Atividade *in vitro* das associações com itraconazol

Da mesma forma que para anfotericina B e voriconazol, as combinações de itraconazol com azitromicina, ciprofloxacina, fluvastatina, ibuprofeno e metronidazol foram realizadas através da técnica de "checkerboard". Assim como as concentrações inibitórias mínimas foram determinadas após 48 horas de incubação a 35°C.

Todas as combinações de itraconazol com fármacos diversos resultaram em efeito indiferente para os vinte e sete isolados de *Fusarium spp* testados, como mostra a Tabela 6.

Tabela 6: Percentuais das interações obtidas pelas combinações de itraconazol com fármacos diversos frente a *Fusarium* spp.

Espécies (número)		azitromicina			ciprofloxacina			metronidazol			ibuprofeno			fluvastatina		
		S	I	A	S	I	A	S	I	A	S	I	A	S	I	A
<i>F. chlamydosporum</i> (n=3)	%	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0
<i>F. nygamai</i> (n=1)	%	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0
<i>F. oxysporum</i> (n=6)	%	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0
<i>F. proliferatum</i> (n=2)	%	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0
<i>F. solani</i> (n=11)	%	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0
<i>F. sporotrichoides</i> (n=1)	%	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0
<i>F. verticillioides</i> (n=3)	%	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0
Total (n=27)	%	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0

S = sinergismo, I = indiferença, A = antagonismo

6 DISCUSSÃO

As espécies de *Fusarium* causam um amplo espectro de infecções em seres humanos, incluindo superficiais, localmente invasivas e infecções disseminadas (NUCCI & ANAISSIE, 2007). Em pacientes imunocomprometidos, a taxa de mortalidade é superior a 70% (NUCCI & ANAISSIE, 2002; RAAD et al, 2006). O tratamento antifúngico de escolha é a anfotericina B, outras opções de tratamento incluem o voriconazol e posaconazol (RAAD et al, 2006).

Embora, a maioria dos trabalhos na literatura estejam focados na terapia de combinação para candidíase e criptococose, estudos mais recentes têm investigado essa abordagem buscando direcionar um tratamento para infecções fúngicas filamentosas (TORRES et al, 2003). Isto não é surpreendente, já que o tratamento das infecções filamentosas invasivas, especialmente aspergilose e fusariose, exibem altas taxas de insucesso terapêutico, necessitando a exploração de meios alternativos para a terapia (MUKHERJEE et al, 2005).

6.1 Insucesso terapêutico

O prognóstico da fusariose em pacientes imunocomprometidos está diretamente relacionada ao estado imunológico do paciente, com elevadas taxas de mortalidade em pacientes com imunodeficiência persistente (NUCCI & ANAISSIE, 2007).

O tratamento adequado de infecções disseminadas ainda não está bem estabelecido; a anfotericina B é provavelmente a droga mais útil *in vivo*, embora haja também inúmeras falhas no tratamento clínico (PUJOL et al, 1997).

O recente aumento do número de publicações científicas, bem como a disponibilidade dos médicos para tratar pacientes com mais de um antifúngico, demonstra claramente que a combinação de antifúngicos está se tornando uma realidade nas áreas de doenças infecciosas e micologia médica. (MUKHERJEE et al, 2005).

Dados sobre a terapia de combinação para fusariose ainda são limitados: caspofungina com anfotericina B (MAKOWSKY et al, 2005; ARIKAN et al, 2002), a anfotericina B com voriconazol (DURAND-JOLY et al, 2003; GUZMAN-COTTRILL et al, 2004), a anfotericina

B com terbinafina (ROTHER et al, 2004), e voriconazol com terbinafina (HOWDEN et al, 2003).

Além de combinações de antifúngicos, estudos para avaliar a eficácia dos antifúngicos combinados com antibacterianos, agentes anticancerígenos ou imunomodulador têm sido também realizados (MUKHERJEE et al, 2005).

Os estudos de combinações *in vitro* são importantes para abordagem de novas hipóteses de tratamento, embora limitados e de difícil extrapolação para estudos clínicos. Apesar disso, estes estudos são muito importantes para apoiar futuras investigações, com o objetivo de melhorar o tratamento de pacientes com infecções fúngicas graves.

6.2 Suscetibilidade de *Fusarium* spp. a anfotericina B, voriconazol e itraconazol

O perfil típico de suscetibilidade antifúngica de *Fusarium* spp. é a resistência em relação à maioria dos agentes antifúngicos. No entanto, diferentes espécies podem ter diferentes padrões de sensibilidade. O padrão de suscetibilidade de *F. solani*, *F. oxysporum* e *F. verticillioides* é mais conhecido do que de outras espécies de *Fusarium*, porque estes são mais prevalentes em pacientes imunocomprometidos (NUCCI & ANAISSIE, 2007; CORDOBA et al, 2008). Espécies como *F. chlamydosporum*, *F. nygamai* e *F. proliferatum* são raramente relatadas em infecções humanas, por isso, a suscetibilidade dessas espécies são quase desconhecidas (SPADER, 2008).

Alguns estudos relatam que *Fusarium solani* e *Fusarium verticillioides* são geralmente resistentes aos azóis e exibem maiores CIMs para anfotericina B que as outras espécies. Em contraste, *Fusarium oxysporum* pode ser susceptível ao voriconazol e posaconazol (ESPINEL-INGROFF et al, 2002; ESPINEL-INGROFF, 2003; PFALLER & DIEKEMA, 2004; CUENCA-ESTRELLA et al, 2005; CUENCA-ESTRELLA et al, 2006). A relevância destes dados *in vitro* não é clara, pois não há dados suficientes que documentam uma correlação entre CIMs e resultados clínicos (NUCCI & ANAISSIE, 2007).

No presente estudo, a atividade antifúngica da anfotericina B foi mais pronunciada que do que outros agentes antifúngicos, com CIMs variando de 0,125 a 4,0 µg/ml. As maiores médias geométricas foram observadas para *F. verticillioides* (0,793) e *F. solani* (0,777) e a menor média para *F. sporotrichoides* (0,25). Nucci & Anaissie (2007) constataram que *F.*

solani e *F. verticillioides* exibem maiores CIMs para anfotericina B que as outras espécies e CIMs igual a 4,0 µg/ml foram observadas para *F. solani* e *F. oxysporum*.

Spader (2008) testou a suscetibilidade de 32 isolados de *Fusarium* spp. frente a anfotericina B e outros agentes. Para tal estudo, as CIMs para anfotericina B variaram de 0,5 a 4,0 µg/ml e CIMs igual a 4,0 µg/ml foram observadas para *F. oxysporum* e *F. verticillioides*.

Tortorano et al (2008) avaliaram a suscetibilidade *in vitro* de 75 isolados de *Fusarium* spp. através do método de microdiluição em caldo. Este trabalho demonstrou que a anfotericina B foi ativa com $CIM \leq 2 \mu\text{g/ml}$ para 70 isolados. No presente estudo, a anfotericina B foi ativa com $CIM \leq 2 \mu\text{g/ml}$ para 25 entre 27 isolados, concordando com Tortorano et al (2008).

A faixa de suscetibilidade para o voriconazol variou de 1,0 a > 16,0 µg/ml, sendo que 18,5% dos isolados apresentaram $CIMs \leq 2,0\mu\text{g/ml}$, 51,9% apresentaram $CIMs = 4,0\mu\text{g/ml}$ e 29,6% apresentaram $CIMs \geq 8,0\mu\text{g/ml}$. Somente *F. oxysporum* e *F. solani* apresentaram $CIMs \geq 8,0\mu\text{g/ml}$. Para Spader (2008), a faixa de suscetibilidade variou de 1,0 a 8,0µg/ml, sendo que 12,5% dos isolados mostraram $CIMs = 1,0 \mu\text{g/ml}$, 21,8% mostraram $CIMs = 2,0\mu\text{g/ml}$ e 65,7% $CIMs \geq 4,0\mu\text{g/ml}$. Além disso, *F. oxysporum* e *F. solani* foram as únicas espécies com $CIMs = 8,0\mu\text{g/ml}$.

Guinea et al (2008) testaram a suscetibilidade ao voriconazol para 20 isolados de *Fusarium* spp. Este estudo evidenciou a mesma faixa de suscetibilidade encontrada por Guinea et al (2008), 1,0 a > 16,0 µg/ml, considerando que foi utilizado o mesmo método para ambos os estudos (GUINEA et al, 2008).

As maiores CIM_{90} para o voriconazol foram observadas para *F. solani* (16,0 µg/ml) e *F. oxysporum* (16,0 µg/ml). Estes achados concordam com Cuenca-Estrella et al (2006), que evidenciaram $CIM_{90} > 8,0 \mu\text{g/ml}$ para essas espécies frente ao voriconazol.

Outro azólico testado foi o itraconazol, o qual demonstrou não ser ativo contra *Fusarium* spp. A suscetibilidade ao itraconazol evidenciou $CIMs > 16,0 \mu\text{g/ml}$ para 100% dos isolados testados. Outros estudos também identificaram altas CIMs para este antifúngico (CUENCA-ESTRELLA et al, 2006; SABATELLI et al, 2006; NUCCI & ANAÏSSIE, 2007; TORTORANO et al, 2008; SPADER, 2008).

6.3 Combinações de agentes antifúngicos com agentes não antifúngicos

6.3.1 Combinações de antifúngicos com azitromicina

No presente estudo a combinação de anfotericina B com azitromicina apresentou 25,9% de sinergismo. O antagonismo não foi observado para esta associação.

A azitromicina é um antibiótico macrolídeo que tem sua ação antibacteriana efetivada através da inibição da síntese de proteínas bacterianas, com efeito sobre a translocação. Esta liga-se a subunidade 50S do ribossoma bacteriano (RANG et al, 2004).

O mecanismo de sinergia entre anfotericina B e azitromicina baseia-se que, a azitromicina não possui atividade antifúngica intrínseca devido a sua incapacidade de penetrar na membrana da célula fúngica. Porém, a anfotericina B por danificar a membrana da célula fúngica, pode facilitar a entrada da azitromicina. Uma vez dentro da célula, esta pode exercer seu efeito antimicrobiano através da inibição da síntese protéica (CLANCY & NGUYEN, 1998).

Como a azitromicina, a tetraciclina também inibe a síntese protéica. Apesar de não possuir atividade antifúngica intrínseca, a associação com anfotericina B demonstrou sinergismo *in vitro* frente a *Saccharomyces cerevisiae* (KWAN et al, 1972). Esta combinação também apresentou bons resultados para o tratamento da coccidioidomicose em camundongos (HUPPERT, SUN & VUKOVICH, 1974).

Um estudo demonstrou sinergismo *in vitro* entre azitromicina e anfotericina B contra 26 isolados clínicos de *Fusarium* spp. (CLANCY & NGUYEN, 1998). Para *Aspergillus* spp. esta combinação também demonstrou interações sinérgicas (NGUYEN et al, 1997).

O voriconazol em combinação com azitromicina apresentou 25,9% de sinergismo. As taxas de indiferença foram de 70,4%. Por outro lado, foi observado 3,7% de efeito antagônico para esta combinação.

A atividade antifúngica da classe dos azóis se faz através de alterações na permeabilidade da membrana citoplasmática. Esta alteração ocorre através da inibição da síntese do ergosterol, pois os azóis se ligam às enzimas da Citocromo P450 do fungo e inibem a desmetilação do lanosterol, um precursor do ergosterol. Os triazóis representam um grupo de antifúngicos com grande eficiência e baixa toxicidade. Diferentemente dos imidazóis, os triazóis têm alta afinidade pela Citocromo P450 fúngica não apresentando afinidade pelo

citocromo P450 dos mamíferos (SPINOSA, GÓRNIAK & BERNARDI, 2002). O voriconazol possui espectro antifúngico expandido, atuando contra fungos filamentosos como *Fusarium* spp. e *Aspergillus* spp., além de ser ativo contra várias espécies de leveduras, incluindo *Candida albicans* e não-*albicans* (BADEN et al, 2003; PERFECT et al, 2003; RAAD et al, 2006). Apesar dos novos azóis, como voriconazol e posaconazol, terem sido descritos como agentes terapêuticos mais eficazes, o sucesso da terapêutica na fusariose ainda gira em torno de 67% (BADEN et al, 2003; PERFECT et al, 2003; RAAD et al, 2006).

Em relação a combinações de itraconazol e voriconazol com azitromicina nenhum estudo foi encontrado para *Fusarium* spp.

6.3.2 Combinações de antifúngicos com ciprofloxacina

A ciprofloxacina está inserida na classe farmacêutica das fluorquinolonas. Esta é um agente antimicrobiano sintético com potente atividade bactericida, ligando-se a DNA girase bacteriana, impedindo a transcrição, replicação e reparação do DNA bacteriano (GOODMAN & GILMAN, 2003).

Nossos resultados evidenciaram que a ciprofloxacina quando combinada com anfotericina B apresentou 37% de sinergismo e 63% de indiferença frente aos isolados de *Fusarium* spp. O antagonismo não foi observado para essa associação. O sinergismo também foi observado para associação de ciprofloxacina com voriconazol (33,3%). O efeito indiferente esteve presente em 59,3% dos isolados e o antagonismo foi observado para 7,4%. Em relação a combinação de ciprofloxacina e itraconazol, somente o efeito indiferente foi observado.

A ciprofloxacina não tem atividade antifúngica intrínseca, mas pode interagir com os antifúngicos, uma vez que inibe a DNA girase (topoisomerase II) que é abundante nos fungos. Assim este fármaco oferece um singular mecanismo de interação com antifúngicos podendo potencializar a ação dos mesmos (STERGIOPOULOU et al, 2008).

Nakagima et al (1995) testaram a suscetibilidade *in vitro* da combinação entre anfotericina B e uma fluoroquinolona (DU-6859a). Este estudo relatou um aumento da atividade antifúngica da anfotericina B contra *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Candida krusei*, *Candida glabrata*, *Cryptococcus neoformans* e *Aspergillus fumigatus*. Além disso, a

fluorquinolona também foi associada ao fluconazol. Esta associação resultou em um aumento do potencial antifúngico do fluconazol contra *C. albicans*.

Segundo Sasaki et al (2000) a combinação entre uma fluorquinolona (ofloxacina) e fluconazol apresentou diminuição do número de células leveduriformes no rim e no baço de camundongos com candidíase disseminada. Este tratamento mostrou-se mais efetivo que a administração de fluconazol. Outro estudo reportou um aumento da atividade do fluconazol quando combinado com trovafloxacina em um estudo *in vivo* com isolados de *Candida albicans* resistentes ao fluconazol (SUGAR, LIU & CHEN, 1997). As interações *in vitro* de feroxacina com anfotericina B resultaram em efeito indiferente contra *Candida albicans*. Esta quinolona associada com flucitosina apresentou antagonismo. Quando associada a azóis, apresentou efeito sinérgico com cetoconazol, porém o sinergismo não foi observado para o fluconazol e itraconazol. Interações *in vivo* não foram observadas para nenhuma associação (POLAK, 1990).

A associação de fluconazol e ciprofloxacina aumentou a sobrevivência de ratos com mucormicose pulmonar (SUGAR & LIU, 2000).

Interações sinérgicas foram relatadas por Vitale et al (2003) pela combinação de itraconazol e ciprofloxacina e anfotericina B e ciprofloxacina contra isolados de *Exophiala spinifera*.

Stergiopoulou et al (2008) observaram que em baixas concentrações a interação entre anfotericina B e ciprofloxacina produziu sinergismo para *Candida albicans* e *Aspergillus fumigatus* e em concentrações elevadas houve antagonismo. O sinergismo também foi encontrado para ciprofloxacina e voriconazol contra *Aspergillus fumigatus*.

Até o momento, não há relatos de estudos de combinações de ciprofloxacina com anfotericina B, voriconazol e itraconazol contra *Fusarium* spp.

6.3.3 Combinações de antifúngicos com fluvastatina

A fluvastatina pertence à classe farmacêutica das estatinas, as quais são fármacos redutores do colesterol. As estatinas são inibidores da HMG-CoA (3-hidroxi-3-metilglutaril-coenzima A) redutase. Esta enzima catalisa a conversão de HMG-CoA em ácido mevalônico. Assim, as estatinas limitam a velocidade na síntese do colesterol (RANG et al, 2004). Embora as estatinas sejam principalmente empregadas no tratamento de várias formas de

hiperlipidemia, estas possuem propriedades antifúngicas, antiinflamatórias e apoptóticas (MIIDA, HIRAYAMA & NAKAMURA, 2004).

Nossos resultados permitiram observar interações antifúngicas sinérgicas entre fluvastatina e anfotericina B (29,6%), sendo que não foi observado antagonismo para nenhum isolado. Para a combinação de fluvastatina e voriconazol foram observadas interações sinérgicas (18,5%). Apesar disso, ocorreu antagonismo para alguns isolados nesta associação (7,4%). Já, para a combinação entre fluvastatina e itraconazol não houve sinergismo, apenas interações indiferentes.

O mecanismo de ação antifúngica da fluvastatina em combinação com antifúngicos ainda não está claro. A inibição da HMG-Coa redutase provocaria a diminuição dos níveis de ergosterol citosólico ou dos precursores do ergosterol, que são necessários na síntese da membrana da célula fúngica, portanto, diminuindo a propagação do fungo (NASH, BURGESS & TALBERT, 2002). Para Oehlschlager et al. (1992) é possível que a fluvastatina iniba algumas enzimas com afinidade para alguns substratos na via da biossíntese dos esteróis fúngicos. A fluvastatina pode ainda afetar a permeabilidade da membrana celular fúngica (CHIN, WEITZMAN & DELLA-LATTA, 1997).

As estatinas naturais foram obtidas a partir de diferentes fungos, incluindo *Aspergillus terreus* e *Penicillium citrinum*. Essas estatinas têm em comum um éster hidróxi-hexa-hidro-naftaleno. No entanto, a fluvastatina, sendo um produto totalmente sintético, possui um ácido fluorofenil-indol-hidróxi-heptanóico, o qual poderia ser responsável pelo aumento da potência antifúngica da fluvastatina (NATESAN et al, 2008).

Chin et al (1997) investigaram a atividade antifúngica *in vitro* da fluvastatina, pravastatina, lovastatina e sinvastatina. Somente a fluvastatina apresentou atividade antifúngica quando associada com fluconazol e itraconazol frente à *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Candida parapsilosis*, *Candida glabrata* e *Cryptococcus neoformans*. Por outro lado, um estudo de associação *in vitro* entre fluvastatina e fluconazol demonstrou interações indiferentes frente à *Candida albicans* (NASH, BURGESS & TALBERT, 2002).

Um estudo *in vitro* avaliou a combinação entre fluvastatina com os antifúngicos caspofungina, voriconazol e anfotericina B contra isolados de *Aspergillus fumigatus*. Este estudo relatou que a fluvastatina potencializou o efeito da caspofungina, mas não apresentou interação sinérgica com voriconazol e anfotericina B (NATESAN et al, 2008).

A combinação de lovastatina e voriconazol exibiu sinergismo para todos os isolados de Zigomicetos (espécies de *Rhizopus*, *Mucor circinelloide* e *Cunninghamella bertholletiae*) (CHAMILOS, LEWIS & KONTOYIANNIS, 2006).

Para *Pythium insidiosum* a combinação entre fluvastatina e terbinafina produziu interações indiferentes ou antagônicas para 100% dos isolados (CAVALHEIRO et al, 2009).

As combinações *in vitro* entre fluvastatina e anfotericina B, itraconazol e voriconazol ainda não foram relatadas para as espécies de *Fusarium* spp.

6.3.4 Combinações de antifúngicos com ibuprofeno

O ibuprofeno é um antiinflamatório não esteroide do grupo do ácido propiônico. Este agente é amplamente usado pelas suas propriedades analgésica, antitérmica e antiinflamatória (SANYAL et al, 1993). Seu mecanismo de ação baseia-se na inibição da ciclooxigenase-1 (COX-1) e a ciclooxigenase-2 (COX-2), na mesma proporção e de forma irreversível, além de também inibir a ativação e a agregação de neutrófilos, a geração de radicais livres e a liberação de enzimas lisossomais (SPINOSA, GÓRNIK & BERNARDI, 2002). Além da sua ação antiinflamatória, também tem sido relatado que o ibuprofeno possui atividade antifúngica (CEDERLUND & MARDH, 1993; SCOTT, TARIQ & MCCRORY, 1995).

No presente estudo foram detectadas interações sinérgicas entre anfotericina B e ibuprofeno (44,4%), sendo que antagonismo não foi observado. A combinação entre voriconazol e ibuprofeno apresentou 29,6% de sinergismo e 3,7% de antagonismo frente a *Fusarium* spp. A interação entre itraconazol e ibuprofeno mostrou-se indiferente para todos os isolados.

Pina-Vaz et al (2000), avaliaram a combinação de fluconazol e ibuprofeno *in vitro* frente a espécies de *Candida*. Estes autores concluíram que em altas doses, o ibuprofeno é fungicida e danifica diretamente a membrana citoplasmática. Já em baixas concentrações, é fungistático, mas não afeta a membrana citoplasmática do fungo. Outro ponto ressaltado neste estudo foi a rápida indução de efluxo de potássio produzida pelo ibuprofeno, já que na fase exponencial de crescimento das leveduras, ocorre acúmulo de altos níveis de potássio intracelular.

Considerando estes levantamentos, é possível que o ibuprofeno ao provocar algum dano à membrana celular fúngica, possa facilitar a absorção dos antifúngicos ou reforçar danos causados por estes na membrana fúngica.

Scott et al (1995) obtiveram um efeito sinérgico na associação de fluconazol e ibuprofeno, frente a três de quatro isolados clínicos de *Candida albicans* provenientes de

pacientes com AIDS, indicando uma atividade antifúngica do ibuprofeno aumentada em combinação com o fluconazol. Já Arai et al (2005) não observaram nenhum efeito sinérgico destas duas drogas combinadas contra cepas de *Candida albicans* suscetíveis ao fluconazol. Entretanto, quando esta associação foi testada contra cepas resistentes ao fluconazol, marcante efeito sinérgico foi detectado.

A combinação entre ibuprofeno e terbinafina contra *Pythium insidiosum* resultou em efeito indiferente para 82,35% e sinergismo para 17,65% das cepas (CAVALHEIRO et al, 2009).

Na literatura há estudos relatando a combinação de ibuprofeno e fluconazol *in vitro* frente a espécies de *Candida*. Em relação ao gênero *Fusarium* nenhum estudo foi publicado sobre associações de antifúngicos com ibuprofeno.

6.3.5 Combinações de antifúngicos com metronidazol

O metronidazol é um composto nitroimidazólico heterocíclico com estrutura química semelhante aos nitrofuranos, e ainda não tem o seu mecanismo de ação perfeitamente esclarecido (SPINOSA, GÓRNIK & BERNARDI, 2002). Este fármaco é um agente antiprotozoário e antibacteriano amplamente usado para o tratamento de protozooses e infecções bacterianas anaeróbicas, sendo considerado de baixa toxicidade para o paciente (ROSSIGNOL, MAISONNEUVE & CHO, 1984). Estudos de associações de antifúngicos com metronidazol são raros e merecem atenção.

O presente estudo evidenciou interações sinérgicas para as combinações entre anfotericina B e metronidazol (40,7%) e antagonismos não foram observados. Para a associação entre voriconazol e metronidazol o efeito sinérgico também foi constatado (33,3%), embora o antagonismo tenha sido observado para 7,4% dos isolados. Na combinação entre itraconazol e metronidazol a indiferença foi observada para 100% dos isolados.

Cury & Hirschfeld (1997) realizaram associações *in vitro* entre anfotericina B e metronidazol, ornidazol, secnidazol e tinidazol contra cepas de *Candida albicans*. Resultados promissores foram observados com a associação de anfotericina B e metronidazol, com base em interações sinérgicas e aditivas.

Outro estudo de combinação *in vitro* com metronidazol foi relatado por Cavalheiro et al (2009). Este trabalho relatou efeito indiferente (94,12%) quando o metronidazol foi associado à terbinafina frente a isolados de *Pythium insidiosum*.

Até o momento, nenhum estudo sobre associações antifúngicas com metronidazol frente a *Fusarium* spp. foi relatado.

6.3.6 Combinações de anfotericina B com rifampicina

Neste estudo a combinação de anfotericina B com rifampicina apresentou 33,3% de sinergismo. Nenhuma interação antagônica foi observada para esta associação.

A rifampicina pertence a uma subclasse dos antibióticos macrolídeos, as ansamicinas. Esta atua através de sua ligação à RNA-polimerase DNA-dependente nas células procarióticas, mas não nas células eucarióticas, inibindo a enzima. Trata-se de um dos mais ativos agentes antituberculose conhecidos. Penetra nas células fagocíticas e pode destruir os microrganismos intracelulares, incluindo o bacilo da tuberculose (RANG et al, 2004).

O mecanismo para a obtenção de sinergismo entre anfotericina B e rifampicina provém do aumento da penetração de um antifúngico como resultado da ação de um outro fármaco na membrana ou parede celular (MEDOFF; 1983). Para Clancy et al (1998) a anfotericina B danifica a membrana da célula fúngica possibilitando a entrada da rifampicina, a qual exerce seu efeito antifúngico através da inibição da síntese de RNA.

Alguns trabalhos mostram que a rifampicina interage sinergicamente *in vitro* com a anfotericina B contra uma variedade de fungos como *Candida* spp., *Cryptococcus neoformans*, *Aspergillus* spp. e *Histoplasma capsulatum* (CLANCY et al, 1998; EDWARDS et al, 1980; FUJITA & EDWARDS, 1981; HUGHES et al, 1984; KITAHARA et al, 1976; KOBAYASHI et al, 1974; KUNIN, 1996; MEDOFF, 1983). Para Spader (2008) a associação *in vitro* de rifampicina e anfotericina B contra *Fusarium* spp. resultou em 68,7% de sinergismo.

Segundo Stern et al (1978) a combinação de anfotericina B e rifampicina produziu interações sinérgicas para a maioria dos isolados de *Fusarium* spp. Um caso foi reportado de efeito sinérgico desta combinação em um paciente transplantado de medula óssea com fusariose disseminada (SPADER, 2008).

A combinação entre rifampicina com anfotericina B demonstrou resultados positivos ocorrendo em todos os casos frente a espécies de *Candida* (CURY & HIRSCHFELD, 1997; NAKAJIMA et al, 1995). Quando esta combinação foi testada *in vivo*, nenhum resultado foi significativamente superior aos resultados obtidos com o uso da anfotericina B isoladamente (ERNST, RUSNAK & SANDE, 1983; THALER et al, 1988).

Huppert et al (1976) testaram a combinação de anfotericina B e rifampicina *in vitro* e *in vivo* frente a *Coccidioides immitis* e constataram que esta combinação não apresentou melhores resultados que o tratamento com anfotericina B.

Um estudo *in vivo* demonstrou que a combinação entre anfotericina B e rifampicina resultou em um aumento significativo das taxas de sobrevivência de animais com candidíase, cryptococose e aspergilose, em relação a monoterapia (POLAK, 1987).

Atualmente, há poucos trabalhos disponíveis na literatura a respeito dessas associações contra *Fusarium* spp.

Associações entre azólicos e rifampicina não foram realizadas neste estudo, por serem contra-indicadas em estudos *in vivo*. A rifampicina é um potente indutor da Citocromo P450, consequentemente acelera o metabolismo dos azólicos acarretando na diminuição da ação destes (ANVISA, 2009).

6.4 Considerações finais

No presente estudo, foram avaliadas as interações antimicóticas entre anfotericina B, itraconazol e voriconazol com fármacos não antifúngicos (azitromicina, ciprofloxacina, fluvastatina, ibuprofeno e metronidazol) e também as interações entre anfotericina B e rifampicina frente a 27 cepas de *Fusarium* spp. As interações foram avaliadas através da técnica de “chequerboard” considerando resultados com $ICFI \leq 0,5$ como sinergismo, $0,5 < ICFI \leq 4$ como indiferença e $ICIF > 4$ como antagonismo.

Considerando que a suscetibilidade aos antifúngicos variou de acordo com as espécies, a identificação da espécie pode ser útil na escolha do tratamento clínico correto. A maioria das espécies do gênero *Fusarium* são pouco sensíveis aos agentes antifúngicos. A anfotericina B e o voriconazol são os antifúngicos de primeira escolha para tratamento de fusariose *in vivo*, embora estes antifúngicos demonstrem atividades moderadas *in vitro*. O voriconazol requereu CIMs mais baixas para a inibição do crescimento de *Fusarium* do que o itraconazol.

As menores CIMs foram observadas para anfotericina B. Todos os fármacos não antifúngicos testados isoladamente não demonstraram atividade contra *Fusarium spp.*

As combinações entre agentes antifúngicos e não antifúngicos demonstraram resultados promissores frente as diferentes espécies de *Fusarium spp.* Todas as combinações com anfotericina B demonstraram interações sinérgicas, sendo que as taxas mais altas de sinergismo foram observadas para as combinações com ibuprofeno (44,4%), metronidazol (40,7%) e ciprofloxacina (37%). Antagonismo não foi observado para nenhuma combinação com anfotericina B. Assim como para as combinações com anfotericina B, para todas as combinações com voriconazol foram detectadas interações sinérgicas, sendo que as melhores combinações foram com ciprofloxacina e metronidazol (33,3% para ambos) e ibuprofeno (29,6%). Apesar disso, as combinações com voriconazol devem ser melhor investigadas, pois para todas as combinações houve alguma interação antagônica. Em relação ao itraconazol, foram observadas apenas interações indiferentes para todas as suas combinações.

F. solani, *F. oxysporum* e *F. verticillioides* são as espécies de *Fusarium* mais prevalentes em pacientes imunocomprometidos (NUCCI & ANAISSIE, 2007; CORDOBA et al, 2008), por isso merecem maior destaque. Entre todas as associações testadas, aquela que apresentou maior taxa de sinergismo frente a *F. solani* foi anfotericina B com ibuprofeno (72,7%). Para *F. oxysporum* os melhores resultados foram obtidos igualmente para duas associações: voriconazol com ciprofloxacina e voriconazol com metronidazol, ambas associações com 66,7% de sinergismo. Enquanto que, para *F. verticillioides* foram três as melhores associações: anfotericina B com rifampicina, anfotericina B com fluvastatina e anfotericina B com ibuprofeno, todas apresentando 66,7% de sinergismo.

Atualmente, escassos estudos *in vitro* foram realizados para combinações de antifúngicos com fármacos não antifúngicos frente a isolados de *Fusarium spp.* Estudos *in vitro* representam uma prévia de como duas drogas se comportam quando combinadas. Embora tais estudos tenham suas limitações, são de extrema importância para a elaboração de novas hipóteses de tratamento.

Os resultados do presente estudo poderão representar novas opções de tratamento para infecções causadas por *Fusarium spp.* Neste contexto, as interações sinérgicas mais relevantes merecem ser investigadas em estudos experimentais *in vivo* como primeiro passo a sua adoção em futuras terapêuticas à fusariose.

7 CONCLUSÕES

7.1 Avaliação da suscetibilidade do gênero *Fusarium* a antifúngicos convencionais associados com fármacos de outras classes:

7.1.1 A avaliação da suscetibilidade *in vitro* de diferentes espécies do gênero *Fusarium* a antifúngicos convencionais associados com fármacos de outras classes, evidenciou que a atividade antifúngica *in vitro* das combinações de fármacos foram melhores do que a atividade dos agentes isoladamente, exceto para as combinações com itraconazol.

7.1.2 Apesar do número de espécies de *Fusarium* estudadas não tenha sido homogêneo, constatou-se diferentes padrões de suscetibilidade entre elas. As atividades das combinações estudadas também variou de acordo com as espécies.

7.2 Avaliação da suscetibilidade de *Fusarium* spp. frente aos agentes antifúngicos e não antifúngicos através da determinação da Concentrações Inibitória Mínima (CIM):

7.2.1 A atividade antifúngica da anfotericina B foi mais pronunciada do que a atividade do voriconazol e itraconazol frente a *Fusarium* spp.

7.2.2 As espécies que apresentaram as maiores médias geométricas das CIMs para anfotericina B foram *F. verticillioides* e *F. solani* e a menor média foi observada para *F. sporotrichoides*. As variações de suscetibilidade inter e intra-espécie foram marcantes.

7.2.3 A espécie que apresentou a maior média geométrica de CIMs frente ao voriconazol foi *F. oxysporum*. A menor CIM foi observada para *F. sporotrichoides*. A suscetibilidade de *Fusarium* spp. ao voriconazol revelou variabilidade inter-espécies.

7.2.4 O itraconazol demonstrou fraca atividade antifúngica frente às espécies de *Fusarium* testadas.

7.2.5 Considerando-se todos os agentes não antifúngicos (azitromicina, ciprofloxacina, fluvastatina, ibuprofeno, metronidazol e rifampicina) nenhum demonstrou atividade antifúngica *in vitro*, quando testados isoladamente.

7.3 Avaliação das associações de antifúngicos com fármacos de outras classes através da determinação do Índice de Concentração Inibitória Fracionária (ICIF):

7.3.1 Todas as combinações com anfotericina B demonstraram interações sinérgicas; as taxas mais elevadas de sinergismo foram observadas para as combinações de anfotericina B + ibuprofeno (44,4%), anfotericina B + metronidazol (40,7%) e anfotericina B + ciprofloxacina (37%). O antagonismo não foi observado para nenhuma combinação com anfotericina B.

7.3.2 As associações entre itraconazol e fármacos diversos evidenciaram apenas interações indiferentes para todas as espécies de *Fusarium* estudadas.

7.3.3 Todas as combinações com voriconazol evidenciaram interações sinérgicas. As combinações mais ativas frente a *Fusarium* spp. foram voriconazol + ciprofloxacina (33,3%), voriconazol + metronidazol (33,3%) e voriconazol + ibuprofeno (29,6%). Por outro lado, foram observadas interações antagônicas para todas as combinações com voriconazol frente a *F. verticillioides*.

7.3.4 Considerando todas as associações testadas, a associação que apresentou maior taxa de sinergismo para *F. solani* foi anfotericina B + ibuprofeno (72,7%). Já, para *F. oxysporum* as associações entre voriconazol + ciprofloxacina (66,7%) e voriconazol + metronidazol (66,7%) evidenciaram os mais elevados percentuais de sinergismos. Para *F. verticillioides*, as associações mais eficazes foram anfotericina B + fluvastatina, anfotericina B + ibuprofeno e anfotericina B + rifampicina, todas apresentando 66,7% de sinergismo.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABRAMOWSKY, C. R.; QUINN, D.; BRADFORD, W. D; CONANT, N. F. Systemic infection by *Fusarium* in a burned child. The emergence of a saprophytic strain. **The Journal of Pediatrics**, v. 84, n. 4, p. 561-564, 1974.

AJELLO, L. Hyalohyphomycoses and phaeohyphomycosis: two global disease entities of public health importance. **European Journal of Epidemiology**, v. 2, n. 4, p. 243-251, 1986.

ALEXOPOULOS, C. J.; MIMS, C. W. **Introductory Mycology**. 4th edition. John Wiley & Sons INC, USA, p. 869, 1996.

AMMARI, L. K.; PUCK, J. M.; MCGOWAN, K. L. Catheter-related *Fusarium solani* fungemia and pulmonary infection in a patient with leukemia in remission. **Clinical Infectious Diseases**, v. 16, n. 1, p. 148-150, 1993.

ANAISSIE, E.; KANTARJIAN, H.; RO, J.; HOPFER, R.; ROLSTON, K.; FAINSTEIN, V.; BODEY, G. The emerging role of *Fusarium* infections in patients with cancer. **Medicine**, v. 67, n. 2, p. 77-83, 1988.

ANAISSIE, E.; NELSON, P.; BEREMAND, M.; KONTOYIANNIS, D.; RINALDI, M. *Fusarium*-caused hyalohyphomycosis: an overview. **Current Topics in Medical Mycology**, v. 4, p. 231-249, 1992.

ANAISSIE, E.; PAETZNICK, V.; PROFFITT, R.; ADLER-MOORE, J.; BODEY, G. P. Comparison of the *in vitro* antifungal activity of free and liposome-encapsulated amphotericin B. **European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases**, v. 10, n. 8, p. 665-668, 1991.

ANAISSIE, E. J.; RINALDI, M. G. *Fusarium* and the immunocompromised host: liaisons dangereuses [comment]. **New York State Journal of Medicine**, v. 90, n. 12, p. 586-587, 1990.

ANVISA. **Bula do profissional de saúde**. In: Bulário Eletrônico da ANVISA. Disponível em: <<http://www.bulario.bvs.br/>>. Acesso em 26 de novembro de 2009.

ARAI, R.; SUGITA, T.; NISHIKAWA, A. Reassessment of the *in vitro* synergistic effect of fluconazole with the non-steroidal anti-inflammatory agent ibuprofen against *Candida albicans*. **Mycoses**, v. 48, n. 1, p. 38-41, 2005.

ARIKAN, S.; LOZANO-CHIU, M.; PAETZNICK, V.; REX, J. H. *In vitro* synergy of caspofungin and amphotericin B against *Aspergillus* and *Fusarium* spp. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 46, n. 1, p. 245-247, 2002.

ARNEY, K. L.; TIERNAN, R.; JUDSON, M. A. Primary pulmonary involvement of *Fusarium solani* in a lung transplant recipient. **Chest**, v. 112, n. 4, p. 1128-1130, 1997.

BABEL, D. E. Dermatophytes and nondermatophytes: their role in cutaneous mycoses. In: Aly R, Beutner KR, Malbach H, eds. **Cutaneous Infection and Therapy**. New York: Marcel Dekker, Inc., p. 191-197, 1997.

BADEN, L. R.; KATZ, J. T.; FISHMAN, J. A.; KOZIOL, C.; DELVECCHIO, A.; DORAN, M.; RUBIN, R. H. Salvage therapy with voriconazole for invasive fungal infections in patients failing or intolerant to standard antifungal therapy. **Transplantation**. v. 76, n. 11, p. 1632-1637, 2003.

BAVA, A. J.; NEGRONI, R. The epidemiological characteristics of 105 cases of cryptococcosis diagnosed in the Republic of Argentina between 1981-1990. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 34, n. 4, p. 335-340, 1992.

BIBASHI, E.; KOKOLINA, E.; SIGLER, L.; SOFIANOU, D.; TSAKIRIS, D.; VISVARDIS, G.; PAPADIMITRIOU, M.; MEMMOS, D. Three cases of uncommon fungal peritonitis in patients undergoing peritoneal dialysis. **Peritoneal Dialysis International**, v. 22, n. 4, p. 523-525, 2002.

BOONPASART, S.; KASETSUWAN, N.; PUANGSRICHAREM, V.; PARIYAKANOK, L.; JITTPOONKUSOL, T. Infectious keratitis at King Chulalongkorn Memorial Hospital: a 12-year retrospective study of 391 cases. **Journal of the Medical Association of Thailand**, v. 85, n. 1, p. S217-230, 2002.

BOURGUIGNON, R. L.; WALSH, A. F.; FLYNN, J. C.; BARO, C.; SPINOS, E. *Fusarium* species osteomyelitis. Case report. **The Journal of Bone and Joint Surgery**, v. 58, n. 5, p. 722-723, 1976.

BOUTATI, E. I.; ANAISSIE, E. J. *Fusarium*, a significant emerging pathogen in patients with hematologic malignancy: ten years' experience at a cancer center and implications for management. **Blood**, v. 90, n. 3, p. 999-1008, 1997.

BRILHANTE, R. S.; CORDEIRO, R. A.; MEDRANO, D. J.; ROCHA, M. F.; MONTEIRO, A. J.; CAVALCANTE, C. S.; MEIRELES, T. E.; SIDRIM, J. J. Onychomycosis in Ceara

(Northeast Brazil): epidemiological and laboratory aspects. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 100, n. 2, p. 131-135, 2005.

BRINT, J. M.; FLYNN, P. M.; PEARSON, T. A.; PUI, C. H. Disseminated fusariosis involving bone in an adolescent with leukemia. **The Pediatric Infectious Disease Journal**, v. 11, n. 11, p. 965-968, 1992.

CAPLIN, I.; UNGER, D. L. Molds on the Southern California deserts. **Annals of Allergy**, v. 50, n. 4, p. 260-263, 1983.

CASTAGNOLA, E.; GARAVENTA, A.; CONTE, M.; BARRETTA, A.; FAGGI, E.; VISCOLI, C. Survival after fungemia due to *Fusarium moniliforme* in a child with neuroblastoma. **European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases**, v. 12, n. 4, p. 308-309, 1993.

CAUX, F.; ARACTINGI, S.; BAURMANN, H.; REYGAGNE, P.; DOMBRET, H.; ROMAND, S.; DUBERTRET, L. *Fusarium solani* cutaneous infection in a neutropenic patient. **Dermatology**, v. 186, n. 3, p. 232-235, 1993.

CAVALHEIRO, A. S.; ZANETTE, R. A.; SPADER, T. B.; LOVATO, L.; AZEVEDO, M. I.; BOTTON, S.; ALVES, S. H.; SANTURIO, J. M. *In vitro* activity of terbinafine associated to amphotericin B, fluvastatin, rifampicin, metronidazole and ibuprofen against *Pythium insidiosum*. **Veterinary Microbiology**, v. 137, n. 3-4, p. 408-411, 2009.

CEDERLUND, H.; MARDH, P. A. Antimicrobial activities of N-acetylcysteine and some non-steroid anti-inflammatory drugs. **The Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 32, n. 6, p. 903-904, 1993.

CHAMILOS, G.; LEWIS, R. E.; KONTOYIANNIS, D. P. Lovastatin has significant activity against Zygomycetes and interacts synergistically with voriconazole. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 50, n. 1, p. 96-103, 2006.

CHANG, D.C.; GRANT, G. B.; O'DONNELL, K.; WANNEMUEHLER, K. A.; NOBLE-WANG, J.; RAO, C. Y.; JACOBSON, L. M.; CROWELL, C. S.; SNEED, R. S.; LEWIS, F. M.; SCHAFFZIN, J. K.; KAINER, M. A.; GENESE, C. A.; ALFONSO, E. C.; JONES, D. B.; SRINIVASAN, A.; FRIDKIN, S. K.; PARK, B. J. Multistate outbreak of *Fusarium* keratitis associated with use of a contact lens solution. **The Journal of the American Medical Association**, v. 296, n. 8, p. 953-963, 2006.

CHIN, N.-X.; WEITZMAN, I.; DELLA-LATTA, P. *In vitro* activity of fluvastatin, a cholesterol-lowering agent, and synergy with fluconazole and itraconazole against *Candida*

species and *Cryptococcus neoformans*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 41, n. 4, p. 850-852, 1997.

CHO, C. T.; VATS, T. S.; LOWMAN, J. T.; BRANDSBERG, J. W.; TOSH, F. E. *Fusarium solani* infection during treatment for acute leukemia. **The Journal of Pediatrics**, v. 83, n. 6, p. 1028-1031, 1973.

CHOI, D. M.; GOLDSTEIN, M. H.; SALIERNO, A.; DRIEBE, W. T. Fungal keratitis in a daily disposable soft contact lens wearer. **The CLAO Journal**, v. 27, n. 2, p. 111-112, 2001.

CLANCY, C. J.; NGUYEN, M. H. The combination of amphotericin B and azithromycin as a potential new therapeutic approach to fusariosis: *in vitro* demonstration of synergy. **The Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 41, n. 1, p. 127-130, 1998.

CLANCY, C. J.; YU, Y. C.; LEWIN, A.; NGUYEN, M. H. Inhibition of RNA synthesis as a therapeutic strategy against *Aspergillus* and *Fusarium*: demonstration of *in vitro* synergy between rifabutin and amphotericin B. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 42, n. 3, p. 509-513, 1998.

Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), 2008. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of filamentous fungi; approved standard, second edition. CLSI document M38-A2 (ISBN 1-56238-668-9). Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, Pennsylvania, USA.

COMO, J. A.; DISMUKES, W. E. Oral azole drugs as systemic antifungal therapy. **The New England Journal of Medicine**, v. 330, n. 4, p.263-272, 1994.

CÓRDOBA, S.; RODERO, L.; VIVOT, W.; ABRANTES, R.; DAVEL, G.; VITALE, R.G. *In vitro* interactions of antifungal agents against clinical isolates of *Fusarium* spp. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 31, n. 2, p. 171-174, 2008.

CUENCA-ESTRELLA, M., GOMEZ-LOPEZ, A.; MELLADO, E.; GARCIA-EFFRON, G.; MONZON, A.; RODRIGUEZ-TUDELA, J. L. *In vitro* activity of ravuconazole against 923 clinical isolates of nondermatophyte filamentous fungi. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 49, n. 12, p. 5136-5138, 2005.

CUENCA-ESTRELLA, M.; GOMEZ-LOPEZ, A.; MELLADO, E.; BUITRAGO, M. J.; MONZON, A.; RODRIGUEZ-TUDELA, J. R. Head-to-head comparison of the activities of currently available antifungal agents against 3,378 spanish clinical isolates of yeasts and filamentous fungi. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 50, n. 3, p. 917-921, 2006.

CURY, A. E.; HIRSCHFELD, M. P. Interactions between amphotericin B and nitroimidazoles against *Candida albicans*. **Mycoses**, v. 40, n. 5-6, p. 187-192, 1997.

DANNAOUI, E.; BOREL, E.; PERSAT, F.; MONIER, M. F.; PIENS, M. A. *In vivo* itraconazole resistance of *Aspergillus fumigatus* in systemic murine aspergillosis. EBGA Network. European research group on Biotypes and Genotypes of *Aspergillus fumigatus*. **Journal of Medical Microbiology**, v. 48, n. 12, p. 1087-1093, 1999.

DE HOOG, G. S.; GUARRO, J.; FIGUERAS, M. J.; GENÉ, J. Atlas of Clinical Fungi. 2nd ed. Centraalbureau voor Schimmelcultures, Utrecht, The Netherlands and Universitat Rovira i Virgili, Reus, Spain, 2000.

DENNING, D. W.; HANSON, L. H.; PERLMAN, A. M.; STEVENS, D. A. *In vitro* susceptibility and synergy studies of *Aspergillus* species to conventional and new agents. **Diagnostic Microbiology and Infectious Diseases**, v. 15, n. 1, p. 21-34, 1992.

DIEKEMA, D. J.; MESSER, S. A.; HOLLIS, R. J.; JONES, R. N.; PFALLER, M. A.. Activities of caspofungin, itraconazole, posaconazole, ravuconazole, voriconazole, and amphotericin B against 448 recent clinical isolates of filamentous fungi. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 41, n. 8, p. 3623-3626, 2003.

DIGNANI, M. C.; ANAISSIE, E. Human fusariosis. **Clinical Microbiology and Infectious Diseases**, v. 10, n. 1, p. 67-75, 2004.

DIGNANI, M. C.; ANAISSIE, E. J.; HESTER, J. P.; O'BRIEN, S.; VARTIVARIAN, S. E.; REX, J. H.; KANTARJIAN, H.; JENDIROBA, D. B.; LICHTIGER, B.; ANDERSSON, B. S.; FREIREICH, E. J. Treatment of neutropenia-related fungal infections with granulocyte colony-stimulating factor-elicited white blood cell transfusions: a pilot study. **Leukemia**, v. 11, n. 10, p. 1621-1630, 1997.

DIGNANI, M. C.; KIWAN, E. N.; ANAISSIE, E. J. **Hyalohyphomycoses**. In: ANAISSIE, E.; MCGINNIS, M. R.; PFALLER, M. A.; eds. *Clinical Mycology*. Philadelphia: Churchill Livingstone, p. 309-324, 2003.

DISMUKES, W. E. Introduction to antifungal drugs. **Clinical Infectious Diseases**, v. 30, n. 4, p. 653-657, 2000.

DOEZI, L.; GYETVAI, T.; KREDIES, L.; NAGY, E. Involvement of *Fusarium* spp. in fungal keratitis. **Clinical Microbiology & Infection**, v. 10, n. 9, p. 773-776, 2004.

DURAND-JOLY, I.; ALFANDARI, S.; BENCHIKH, Z.; RODRIGUE, M.; ESPINEL-INGROFF, A.; CATTEAU, B.; CORDEVANT, C.; CAMUS, D.; DEI-CAS, E.; BAUTERS, F.; DELHAES, L.; DE, B. S. Successful outcome of disseminated *Fusarium* infection with skin localization treated with voriconazole and amphotericin B-lipid complex in a patient with acute leukemia. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 41, n.10, p. 4898-4900, 2003.

DURSun, D.; FERNANDEZ, V.; MILLER, D.; ALFONSO, E. C. Advanced *Fusarium* keratitis progressing to endophthalmitis. **Cornea**, v. 22, n. 4, p. 300-303, 2003.

EDWARDS, J. E., JR.; MORRISON, J.; HENDERSON, D. K.; MONTGOMERIE, J. Z. Combined effect of amphotericin B and rifampin on *Candida* species. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 17, n. 3, p. 484-487, 1980.

ELJASCHEWITSCH, J.; SANDFORT, J.; TINTELNOT, K.; HORBACH, I.; RUF, B. Port-a-cath-related *Fusarium oxysporum* infection in an HIV-infected patient: treatment with liposomal amphotericin B. **Mycoses**, v. 39, n. 3-4, p. 115-119, 1996.

ERNST, J. D.; RUSNAK, M.; SANDE, M. A. Combination antifungal chemotherapy for experimental disseminated candidiasis: lack of correlation between *in vitro* and *in vivo* observations with amphotericin B and rifampin. **Reviews of Infectious Diseases**, v. 5, n. 3, p. S626-S630, 1983.

ESPINEL-INGROFF, A. *In vitro* antifungal activities of anidulafungin and micafungin, licensed agents and the investigational triazole posaconazole as determined by NCCLS methods for 12,052 fungal isolates: review of the literature. **Revista Iberoamericana de Micologia**, v. 20, n. 4, p. 121-136, 2003.

ESPINEL-INGROFF, A.; CHATURVEDI, V.; FOTHERGILL, A.; RINALDI, M. G. Optimal testing conditions for determining MICs and minimum fungicidal concentrations of new and established antifungal agents for uncommon molds: NCCLS collaborative study. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 40, n. 10, p. 3776-3781, 2002.

EVANS, J.; LEVESQUE, D.; DE LAHUNTA, A.; JENSEN, H. E. Intracranial fusariosis: a novel cause of fungal meningoencephalitis in a dog. **Veterinary Pathology**, v.41, n.5, p.510-514, 2004.

FERRER, C.; ALIO, J.; RODRIGUEZ, A.; ANDREU, M.; COLOM, F. Endophthalmitis caused by *Fusarium proliferatum*. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 43, n. 10, p. 5372-5375, 2005.

FLYNN, J. T.; MEISLICH, D.; KAISER, B. A.; POLINSKY, M. S.; BALUARTE, H. J. *Fusarium* peritonitis in a child on peritoneal dialysis: case report and review of the literature. **Peritoneal Dialysis International**, v. 16, n. 1, p. 52-57, 1996.

FOROOZAN, R.; EAGLE, R. C. JR.; COHEN, E. J. Fungal keratitis in a soft contact lens wearer. **The CLAO Journal**, v. 26, n.3, p. 166-168, 2000.

FUJITA, N. K.; EDWARDS, J. E., JR. Combined *in vitro* effect of amphotericin B and rifampin on *Cryptococcus neoformans*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 19, n. 1, p. 196-198, 1981.

GABRIELE, P.; HUTCHINS, R. K. *Fusarium* endophthalmitis in an intravenous drug abuser. **American Journal of Ophthalmology**, v. 122, n. 1, p. 119-121, 1996.

GAVIRIA, J. M.; VAN BURIK, J. A.; DALE, D. C.; ROOT, R. K.; LILES, W. C. Comparison of interferon-gamma, granulocyte colony-stimulating factor, and granulocyte-macrophage colony-stimulating factor for priming leukocyte-mediated hyphal damage of opportunistic fungal pathogens. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 179, n. 4, p. 1038-1041, 1999.

GIRMENIA, C.; ARCESE, W.; MICOZZI, A.; MARTINO, P.; BIANCO, P.; MORACE, G. Onychomycosis as a possible origin of disseminated *Fusarium solani* infection in a patient with severe aplastic anemia. **Clinical Infectious Diseases**, v. 14, n. 5, p. 1167, 1992.

GIRMENIA, C.; PAGANO, L.; CORVATTA, L.; MELE, L.; DEL FAVERO, A.; MARTINO, P. The epidemiology of fusariosis in patients with haematological diseases. Gimema Infection Programme. **British Journal of Haematology**, v. 111, n. 1, p. 272-276, 2000.

GOLDBLUM, D.; FRUEH, B. E.; ZIMMERLI, S.; BOHNKE, M. Treatment of postkeratitis *Fusarium* endophthalmitis with amphotericin B lipid complex. **Cornea**, v. 19, n. 6, p. 853-856, 2000.

GOODMAN, L. S.; GILMAN, A. G. **As Bases Farmacológicas da Terapêutica**. 10ª ed., Guanabara Koogan: Rio de Janeiro, 2003.

GODOY, P.; NUNES, E.; SILVA, V.; TOMIMORI-YAMASHITA, J.; ZAROR, L.; FISCHMAN, O. Onychomycosis caused by *Fusarium solani* and *Fusarium oxysporum* in Sao Paulo, Brazil. **Mycopathologia**, v. 157, n. 3, p. 287-290, 2004.

GOPINATHAN, U.; GARG, P.; FERNANDES, M.; SHARMA, S.; ATHMANATHAN, S.; RAO, G. N. The epidemiological features and laboratory results of fungal keratitis: a 10-year review at a referral eye care center in South India. **Cornea**, v. 21, n. 6, p. 555-559, 2002.

GRADON, J. D.; LERMAN, A.; LUTWICK, L. I. Septic arthritis due to *Fusarium moniliforme*. **Reviews of Infectious Diseases**, v. 12, n. 4, p. 716-717, 1990.

GRIGIS, A.; FARINA, C.; SYMOENS, F.; NOLARD, N.; GOGLIO, A. Nosocomial pseudo-outbreak of *Fusarium verticillioides* associated with sterile plastic containers. **Infection Control and Hospital Epidemiology**, v. 21, n. 1, p. 50-52, 2000.

GUARRO, J.; GENÉ, J. Opportunistic fusarial infection in humans. **European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Disease**, v. 14, n. 9, p. 741-754, 1995.

GUINEA, J.; PELÁEZ, T.; RECIO, S.; TORRES-NARBONA, M.; BOUZA, E. *In vitro* antifungal activities of isavuconazole (BAL4815), voriconazole, and fluconazole against 1,007 isolates of Zygomycete, *Candida*, *Aspergillus*, *Fusarium*, and *Scedosporium* species. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 52, n. 4, p. 1396-1400, 2008.

GUZMAN-COTTRILL, J. A.; ZHENG, X.; CHADWICK, E. G. *Fusarium solani* endocarditis successfully treated with liposomal amphotericin B and voriconazole. **The Pediatric Infectious Disease Journal**, v. 23, n.11, p. 1059-1061, 2004.

HAYDEN, R. T.; ISOTALO, P. A.; PARRETT, T.; WOLK, D. M.; QIAN, X.; ROBERTS, G. D.; LLOYD, R. V. In situ hybridization for the differentiation of *Aspergillus*, *Fusarium*, and *Pseudallescheria* species in tissue section. **Diagnostic Molecular Pathology**, v. 12, n.1, p. 21-26, 2003.

HENNEQUIN, C.; LAVARDE, V.; POIROT, J. L.; RABODONIRINA, M.; DATRY, A.; ARACTINGI, S.; DUPOUY-CAMET, J.; CAILLOT, D.; GRANGE, F.; KURES, L.; MORIN, O.; LEBEAU, B.; BRETAGNE, S.; GUIGEN, C.; BASSET, D.; GRILLOT, R. Invasive *Fusarium* infections: a retrospective survey of 31 cases. The French 'Groupe d'Etudes des Mycoses Opportunistes' GEMO. **Journal of Medical and Veterinary Mycology**, v. 35, n. 2, p. 107-114, 1997.

HIROSE, H.; TERASAKI, H.; AWAYA, S.; YASUMA, T. Treatment of fungal corneal ulcers with amphotericin B ointment. **American Journal of Ophthalmology**, v. 124, n. 6, p. 836-838, 1997.

HORVATH, J. A.; DUMMER, S. The use of respiratory-tract cultures in the diagnosis of invasive pulmonary aspergillosis. **The American Journal of Medicine.**, v. 100, n. 2, p. 171-178, 1996.

HOWDEN, B. P.; SLAVIN, M. A.; SCHWARER, A. P.; MIJCH, A. M. Successful control of disseminated *Scedosporium prolificans* infection with a combination of voriconazole and terbinafine. **European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases**, v. 22, n.2, p.111-113, 2003.

HUE, F. X.; HUERRE, M.; ROUFFAULT, M. A.; DE BIEVRE, C. Specific detection of *Fusarium* species in blood and tissues by a PCR technique. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 37, n. 8, p. 2434-2438, 1999.

HUGHES, C. E.; HARRIS, C.; MOODY, J. A.; PETERSON, L. R.; GERDING, D. N. *In vitro* activities of amphotericin B in combination with four antifungal agents and rifampin against *Aspergillus* spp. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 25, n. 5, p. 560-562, 1984.

HUPPERT, M.; PAPPAGIANIS, D.; SUN, S. H.; GLEASON-JORDAN, I.; COLLINS, M. S.; VUKOVICH, K. R. Effect of amphotericin B and rifampin against *Coccidioides immitis* *in vitro* and *in vivo*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 9, n. 3, p. 406-413, 1976.

HUPPERT, M.; SUN, S. H.; VUKOVICH, K. R. Combined amphotericin B–tetracycline therapy for experimental coccidioidomycosis. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 5, n. 5, p. 473-478, 1974.

JAKLE, C.; LEEK, J. C.; OLSON, D. A.; ROBBINS, D. L. Septic arthritis due to *Fusarium solani*. **The Journal of Rheumatology**, v. 10, n. 1, p. 151-153, 1983.

JOHNSON, M. D.; MACDOUGALL, C.; OSTROSKY-ZEICHNER, L.; PERFECT, J. R.; REX, J. H. Combination Antifungal Therapy. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 48, n. 3, p. 693-715, 2004.

JONES, D.; FORSTER, R. K.; REBELL, G. *Fusarium solani* keratitis treated with natamycin (pimaricin): 18 consecutive cases. **Archives of Ophthalmology**, v. 88, n. 2, p. 147-154, 1972.

KAUFMAN, L.; STANDARD, P. G.; JALBERT, M.; KRAFT, D. E. Immunohistologic identification of *Aspergillus* spp. and other hyaline fungi by using polyclonal fluorescent antibodies. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 35, n. 9, p. 2206-2209, 1997.

KERR, C. M.; PERFECT, J. R.; CRAVEN, P. C.; JORGENSEN, J. H.; DRUTZ, D. J.; SHELBURNE, J. D.; GALLIS, H. A.; GUTMAN, R. A. Fungal peritonitis in patients on continuous ambulatory peritoneal dialysis. **Annals of Internal Medicine**, v. 99, n. 3, p. 334-336, 1983.

KIEHN, T. E.; NELSON, P. E.; BERNARD, E. M.; EDWARDS, F. F.; KOZINER, B.; ARMSTRONG, D. Catheter-associated fungemia caused by *Fusarium chlamydosporum* in a patient with lymphocytic lymphoma. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 21, n. 4, p. 501-504, 1985.

KITAHARA, M.; SETH, V. K.; MEDOFF, G.; KOBAYASHI, G. S. Antimicrobial susceptibility testing of six clinical isolates of *Aspergillus*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 9, n. 6, p. 908-914, 1976.

KOBAYASHI, G. S.; CHEUNG, S. C.; SCHLESSINGER, D.; MEDOFF, G. Effects of rifamycin derivatives, alone and in combination with amphotericin B, against *Histoplasma capsulatum*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 5, n. 1, p. 16-18, 1974.

KOMBILA, M.; GOMEZ DE DIAZ, M.; DE BIEVRE, C.; CREPET, G.; DEBRIE, J. C.; BELEMBAOGO, E.; RICHARD-LENOBLE, D. [Fungal otitis in Libreville. Study of 83 cases]. **Bulletin de la Société de Pathologie Exotique et de ses Filiales**, v. 82, n. 2, p. 201-207, 1989.

KRÁTKÁ, J.; KOVÁCIKOVÁ, E. The effect of temperature and age of strains of *Fusarium oxysporum* on its enzymatic activity. **Zentralblatt für Bakteriologie, Parasitenkunde, Infektionskrankheiten und Hygiene Naturwiss**, v. 134, n. 2, p. 154-158, 1979.

KRCMERY, V. JR.; JESENSKA, Z.; SPANIK, S.; GYARFAS, J.; NOGOVA, J.; BOTEK, R.; MARDIAK, J.; SUFLIARSKY, J.; SISOLAKOVA, J.; VANICKOVA, M.; KUNOVA, A.; STUDENA, M.; TRUPL, J. Fungaemia due to *Fusarium* spp. in cancer patients. **Journal of Hospital Infection**, v. 36, n. 3, p. 223-228, 1997.

KUNIN, C. M. Antimicrobial activity of rifabutin. **Clinical Infectious Diseases**, v. 22, n. 1, p. S3-S14, 1996.

KURIEN, M.; ANANDI, V.; RAMAN, R.; BRAHMADATHAN, K. N. Maxillary sinus fusariosis in immunocompetent hosts. **The Journal of Laryngology and Otology**, v. 106, n. 8, p. 733-736, 1992.

KWAN, C. N.; MEDOFF, G.; KOBAYASHI, G. S.; SCHLESSINGER, D.; RASKAS, H. J. Potentiation of the antifungal effects of antibiotics by amphotericin B. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 2, n. 2, p. 61-65, 1972.

LATENSER, B. A. *Fusarium* infections in burn patient: a case report and review of the literature. **Journal of Burn Care Rehabilitation**, v. 24, n. 5, p. 285-288, 2003.

LECK, A. K.; THOMAS, P. A.; HAGAN, M.; KALIARMURTHY, J.; ACKUAKU, E.; JOHN, M.; NEWMAN, M. J.; CODJOE, F. S.; OPINTAN, J. A.; KALAVATHY, C. M.; ESSUMAN, V.; JESUDASAN, C. A.; JOHNSON, G. J. A etiology of suppurative corneal ulcers in Ghana and south India, and epidemiology of fungal keratitis. **British Journal of Ophthalmology**, v.86, n. 11, p. 1211-1215, 2002.

LEGRAND, C.; ANAISSIE, E.; HASHEM, R.; NELSON, P.; BODEY, G. P.; RO, J. Experimental fusarial hyalohyphomycosis in a murine model. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 164, n. 5, p. 944-948, 1991.

LETSCHER-BRU, V.; CAMPOS, F.; WALLER, J.; RANDRIAMAHAZAKA, R.; CANDOLFI, E.; HERBRECHT, R. Successful outcome of treatment of a disseminated infection due to *Fusarium dimerum* in a leukemia patient. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 40, n. 3, p. 1100-1102, 2002.

LEWIS, R. E.; KONTOYIANNIS, D. P. Rationale for combination antifungal therapy. **Pharmacotherapy**, v. 21, n. 8, p. 149S-164S, 2001.

LI, L.; WANG, Z.; LI, R.; LUO, S.; SUN, X. *In vitro* evaluation of combination antifungal activity against *Fusarium* species isolated from ocular tissues of keratomycosis patients. **American Journal of Ophthalmology**, v. 146, n. 5, p.724-728, 2008.

LIU, K.; HOWELL, D. N.; PERFECT, J. R.; SCHELL, W. A. Morphologic criteria for the preliminary identification of *Fusarium*, *Paecilomyces*, and *Acremonium* species by histopathology. **American Journal of Clinical Pathology**, v. 109, n. 1, p. 45-54, 1998.

LOPES, J. O.; DE MELLO, E. S.; KLOCK, C. Mixed intranasal infection caused by *Fusarium solani* and a zygomycete in a leukaemic patient. **Mycoses**, v. 38, n. 7-8, p. 281-284, 1995.

MADHAVAN, M.; RATNAKAR, C.; VELIATH, A. J.; KANUNGO, R.; SMILE, S. R.; BHAT, S. Primary disseminated fusarial infection. **Postgraduate Medical Journal**, v. 68, n. 796, p. 143-144, 1992.

MAKOWSKY, M. J.; WARKENTIN, D. I.; SAVOIE, M. L. Caspofungin and amphotericin B for disseminated *Fusarium verticillioides* in leukemia. **The Annals of Pharmacotherapy**, v. 39, n. 7-8, p. 1365-1366, 2005.

MARCO, F.; PFALLER, M. A.; MESSER, S. A.; JONES, R. N. *In vitro* activity of a new triazole antifungal agent, Sch 56592, against clinical isolates of filamentous fungi. **Mycopathologia**, v. 141, n. 2, p. 73-77, 1998.

MAROM, E. M.; HOLMES, A. M.; BRUZZI, J. F.; TRUONG, M. T.; O`SULLIVAN, P. J.; KONTOYIANNIS, D. P. Imaging of pulmonary fusariosis in patients with hematologic malignancies. **American Journal of Roentgenology**, v. 190, n. 6, p. 1605-1609, 2008.

MARR, K. A.; CARTER, R. A.; CRIPPA, F.; WALD, A.; COREY, L. Epidemiology and outcome of mould infections in hematopoietic stem cell transplant recipients. **Clinical Infectious Diseases**, v. 34, n. 7, p. 909-917, 2002.

MARTINO, P.; GASTALDI, R.; RACCAH, R.; GIRMENIA, C. Clinical patterns of *Fusarium* infections in immunocompromised patients. **The Journal of Infection**, v. 28, n. 1, p. 7-15, 1994.

MASCARÓ, J.; VADILLO, M.; FERRER, J. E.; CARRATALÁ, J. [Post-traumatic osteomyelitis caused by *Fusarium solani*]. **Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica**, v. 10, n. 8, p. 508-509, 1992.

MAYAYO, E.; PUJOL, I.; GUARRO, J. Experimental pathogenicity of four opportunist *Fusarium* species in a murine model. **Journal of Medical Microbiology**, v.48, n.4, p. 363-366, 1999.

MEDOFF, G. Antifungal activity of rifampin. **Reviews of Infectious Diseases**, v. 5, n. 3, p. 614-620, 1983.

MELCHER, G. P.; MCGOUGH, D. A.; FOTHERGILL, A. W.; NORRIS, C.; RINALDI, M. G. Disseminated hyalohyphomycosis caused by a novel human pathogen, *Fusarium napiforme*. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 31, n. 6, p. 1461-1467, 1993.

MELETIADIS, J.; ANTACHOPOULOS, C.; STERGIPOULOU, T.; POURNARAS, S.; ROILIDES, E.; WALSH, T. J. Differential fungicidal activities of amphotericin B and voriconazole against *Aspergillus* species determined by microbroth methodology. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 51, n. 9, p. 3329-3337, 2007.

MIIDA, T.; HIRAYAMA, S.; NAKAMURA, Y. Cholesterol-independent effects of statins and new therapeutic targets: ischemic stroke and dementia. **Journal of Atherosclerosis and Thrombosis**, v. 11, n. 5, p. 253-264, 2004.

MINO DE KASPAR, H.; ZOULEK, G.; PAREDES, M. E.; ALBORNO, R.; MEDINA, D.; CENTURION DE MORINIGO, M.; ORTIZ DE FRESCO, M.; AGUERO, F. Mycotic keratitis in Paraguay. **Mycoses**, v. 34, n. 5-6, p. 251-254, 1991.

MORRISON, V. A.; HAAKE, R. J.; WEISDORF, D. J. Non-*Candida* fungal infections after bone marrow transplantation: risk factors and outcome. **American Journal of Medicine**, v. 96, n. 6, p. 497-503, 1994.

MUKHERJEE, P. K.; SHEEHAN, D. J.; HITCHCOCK, C. A.; GHANNOUM, M. A. Combination treatment of invasive fungal infections. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 18, n. 1, p. 163-194, 2005.

MURRAY, C. K., BECKIUS, M. L.; MCALLISTER, K. *Fusarium proliferatum* superficial suppurative thrombophlebitis. **Military Medicine**, v. 168, n. 5, p. 426-427, 2003.

MUSA, M. O.; AL EISA, A.; HALIM, M.; SAHOVIC, E.; GYGER, M.; CHAUDHRI, N.; AL MOHAREB, F.; SETH, P.; ASLAM, M.; ALJURF, M. The spectrum of *Fusarium* infection in immunocompromised patients with haematological malignancies and in non immunocompromised patients: a single institution experience over 10 years. **British Journal of Haematology**, v. 108, n. 3, p. 544-548, 2000.

NAKAJIMA, R.; KITAMURA, A.; SOMEYA, K.; TANAKA, M.; SATO, K. *In vitro* and *in vivo* antifungal activities of DU-6859a, a fluoroquinolone, in combination with amphotericin B and fluconazole against pathogenic fungi. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 39, n. 7, p. 1517-1521, 1995.

NASH, J. D.; BURGESS, D. S.; TALBERT, R. L. Effect of fluvastatin and pravastatin, HMG-CoA reductase inhibitors, on fluconazole activity against *Candida albicans*. **Journal of Medical Microbiology**, v. 51, n. 2, p. 105-109, 2002.

NATESAN, S. K.; CHANDRASEKAR, P. H.; ALANGADEN, G. J.; MANAVATHU, E. K. Fluvastatin potentiates the activity of caspofungin against *Aspergillus fumigatus in vitro*. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, v. 60, n. 4, p. 369-373, 2008.

NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of filamentous fungi. Approved

standard NCCLS document M38-A. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Wayne, PA, 2002.

NELSON, P. E.; DIGNANI, M. C.; ANAISSIE, E. J. Taxonomy, biology, and clinical aspects of *Fusarium* species. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 7, n. 4, p. 479-504, 1994.

NEUBURGER, S.; MASSENKEIL, G.; SEIBOLD, M.; LUTZ, C.; TAMM, I.; LE COUTRE, P.; GRAF, B.; DOERKEN, B.; ARNOLD, R. Successful salvage treatment of disseminated cutaneous fusariosis with liposomal amphotericin B and terbinafine after allogeneic stem cell transplantation. **Transplant Infectious Disease**, v. 10, n. 4, p. 290-293, 2008.

NGUYEN, M. H.; YU, Y. C.; CLANCY, C. J.; LEWIN, A. S. Potentiation of antifungal activity of amphotericin B by azithromycin against *Aspergillus* species. **European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases**, v. 16, n. 11, p. 846-848, 1997.

NINET, B.; JAN, I.; BONTEMS, O.; LECHENNE, B.; JOUSSON, O.; LEW, D.; SCHRENZEL, J.; PANIZZON, R. G.; MONOD, M. Molecular identification of *Fusarium* species in onychomycoses. **Dermatology**, v.210, n. 1, p. 21-25, 2005.

NUCCI, M.; ANAISSIE, E. Cutaneous infection by *Fusarium* species in healthy and immunocompromised hosts: implications for diagnosis and management. **Clinical Infectious Diseases**, v.35, n.8, p.909-920, 2002.

NUCCI, M.; ANAISSIE, E.; QUEIROZ-TELLES, F.; MARTINS, C. A.; TRABASSO, P.; SOLZA, C.; MANGINI, C.; SIMOES, B. P.; COLOMBO, A. L.; VAZ, J.; LEVY, C. E.; COSTA, S.; MOREIRA, V. A.; OLIVEIRA, J. S.; PARAGUAY, N.; DUBOC, G.; VOLTARELLI, J. C.; MAIOLINO, A.; PASQUINI, R.; SOUZA, C. A. Outcome predictors of 84 patients with hematologic malignancies and *Fusarium* infection. **Cancer**, v.98, n.2, p.315-319, 2003.

NUCCI, M.; MARR, K. A.; QUEIROZ-TELLES, F.; MARTINS, C. A.; TRABASSO, P.; COSTA, S.; VOLTARELLI, J. C.; COLOMBO, A. L.; IMHOF, A.; PASQUINI, R.; MAIOLINO, A.; SOUZA, C. A.; ANAISSIE, E. *Fusarium* infection in hematopoietic stem cell transplant recipients. **Clinical Infectious Diseases**, v. 38, n. 9, p. 1237-1242, 2004.

NUCCI, M.; ANAISSIE, E. *Fusarium* infections in immunocompromised patients. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 20, n. 4, p. 695-704, 2007.

ODABASI, Z.; MATTIUZZI, G.; ESTEY, E.; KANTARJIAN, H.; SAEKI, F.; RIDGE, R. J.; KETCHUM, P. A.; FINKELMAN, M. A.; REX, J. H.; OSTROSKY-ZEICHNER, L. Beta-D-glucan as a diagnostic adjunct for invasive fungal infections: validation, cutoff development,

and performance in patients with acute myelogenous leukemia and myelodysplastic syndrome. **Clinical Infectious Diseases**, v. 39, n. 2, p. 199-205, 2004.

ODDS, F. C. Interactions among amphotericin B, 5-fluorocytosine, ketoconazole, and miconazole against pathogenic fungi in vitro. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 22, n. 5, p. 763-770, 1982.

O'DONNELL, K.; SARVER, B. A.; BRANDT, M.; CHANG, D. C.; NOBLE-WANG, J.; PARK, B. J.; SUTTON, D. A.; BENJAMIN, L.; LINDSLEY, M.; PADHYE, A.; GEISER, D. M.; WARD, T. J. Phylogenetic diversity and microsphere array-based genotyping of human pathogenic fusaria, including isolates from the multistate contact lens-associated U.S. keratitis outbreaks of 2005 and 2006. **Journal of Clinical Microbiology**, p. 45, n. 7, p. 2235-2248, 2007.

OEHLSCHLAGER, A. C.; CZYZEWSKA, E. Rationally designed inhibitors for sterol biosynthesis. In J. Sutcliffe and N. H. Georgopapadaku (ed.), **Emerging targets in antibacterial and antifungal chemotherapy**. Chapman & Hall, New York, p. 437-475, 1992.

ORTONEDA, M.; CAPILLA, J.; PASTOR, F. J.; PUJOL, I.; GUARRO, J. *In vitro* interactions of licensed and novel antifungal drugs against *Fusarium spp.* **Diagnostic Microbiology and Infectious Diseases**, v. 48, n. 1, p. 69-71, 2004, a.

ORTONEDA, M.; GUARRO, J.; MADRID, M. P.; CARACUEL, Z.; RONCERO, M. I.; MAYAYO, E.; DI, P. A. *Fusarium oxysporum* as a multihost model for the genetic dissection of fungal virulence in plants and mammals. **Infection and Immunity**, v. 72, n. 3, p. 1760-1766, 2004, b.

OSTROSKY-ZEICHNER, L.; ALEXANDER, B. D.; KETT, D. H.; VAZQUEZ, J.; PAPPAS, P. J.; SAEKI, F.; KETCHUM, P. A.; WINGARD, J.; SCHIFF, R.; TAMURA, H.; FINKELMAN, M. A.; REX, J. H. Multicenter clinical evaluation of the (133) beta-D-glucan assay as an aid to diagnosis of fungal infections in humans. **Clinical Infectious Diseases**, v. 41, p. 654-659, 2005.

PAPHITOU, N. I.; OSTROSKY-ZEICHNER, L.; PAETZNICK, V. L.; RODRIGUEZ, J. R.; CHEN, E.; REX, J. H. *In vitro* activities of investigational triazoles against *Fusarium* species: effects of inoculum size and incubation time on broth microdilution susceptibility test results. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 46, n. 10, p. 3298-3300, 2002.

PATTERSON, T. F.; MINITER, P.; PATTERSON, J. E.; RAPPEPORT, J. M.; ANDRIOLE, V. T. *Aspergillus* antigen detection in the diagnosis of invasive aspergillosis. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 171, n. 6, p. 1553-1558, 1995.

PERFECT, J. R.; MARR, K. A.; WALSH, T.J.; GREENBERG, R. N.; DUPONT, B.; DE LA TORRE-CISNEROS, J.; JUST-NUBLING, G.; SCHLAMM, H. T.; LUTSAR, I.; ESPINEL-INGROFF, A.; JOHNSON, E. Voriconazole treatment for less-common, emerging, or refractory fungal infections. **Clinical Infectious Diseases**, v. 36, n. 9, p. 1122–1131, 2003.

PERFECT, J. R. Treatment of non-*Aspergillus* moulds in immunocompromised patients, with amphotericin B lipid complex. **Clinical Infectious Diseases**, v. 40, n. 6, p. 401-408, 2005.

PFALLER, M. A.; MESSER, S. A.; HOLLIS, R. J.; JONES, R.N. Antifungal activities of posaconazole, ravuconazole, and voriconazole compared to those of itraconazole and amphotericin B against 239 clinical isolates of *Aspergillus* spp. and other filamentous fungi: report from SENTRY Antimicrobial Surveillance Program, 2000. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 46, n. 4, p. 1032-1037, 2002.

PFALLER, M. A.; DIEKEMA, D. J. Rare and emerging opportunistic fungal pathogens: concern for resistance beyond *Candida albicans* and *Aspergillus fumigatus*. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 42, n. 10, p. 4419-4431, 2004.

PFALLER, M. A.; MARCO, F.; MESSER, S. A.; JONES, R. N. *In vitro* activity of two echinocandin derivatives, LY303366 and MK-0991 (L-743,792), against clinical isolates of *Aspergillus*, *Fusarium*, *Rhizopus*, and other filamentous fungi. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, v. 30, n. 4, p. 251-255, 1998.

PFLUGFELDER, S. C.; FLYNN, H. W.; ZWICKEY, T. A. JR.; FORSTER, R. K.; TSILIGIANNI, A.; CULBERTSON, W. W.; MANDELBAUM, S. Exogenous fungal endophthalmitis. **Ophthalmology**, v. 95, n. 1, p. 19-30, 1988.

PINA-VAZ, C.; SANSONETTY, F.; RODRIGUES, A. G.; MARTINEZ- DE-OLIVEIRA, J.; FONSECA, A. F.; MARDH, P. A. Antifungal activity of ibuprofen alone and in combination with fluconazole against *Candida* species. **Journal of Medical Microbiology**, v. 49, n. 9, p. 831-840, 2000.

POLAK, A. Combination therapy of experimental candidiasis, cryptococcosis, aspergillosis and wangiellosis in mice. **Chemotherapy**, v. 33, n. 5, p. 381-395, 1987.

POLAK, A. *In vitro* and *in vivo* activity of antifungal agents in combination with fleroxacin, a new quinolone. **Mycoses**, v. 33, n. 4, p. 173-178, 1990.

PONTES, Z. B.; LIMA EDE, O.; OLIVEIRA, N. M.; DOS SANTOS, J. P.; RAMOS, A. L.; CARVALHO, M. F. Onychomycosis in Joao Pessoa City, Brazil. **Revista Argentina de Microbiología**, v. 34, n. 2, p. 95-99, 2002.

PONTÓN, J.; R´CHEL, R.; CLEMONS, K. V.; COLEMAN, D. C.; GRILLOT, R.; GRARRO, J.; ALDEBERT, D.; AMBROISE-THOMAS, P.; CANO, J.; CARRILLO MUÑOZ, A. J.; GENÉ, J.; PINEL, C.; STEVENSP, D. A.; SULLIVAN, D. J. Emerging pathogens. **Medical Mycology**, v. 38, n. 1, p. 225-236, 2000.

PUJOL, I.; GUARRO, J.; GENÉ, J.; SALA, J. *In vitro* antifungal susceptibility of clinical and environmental *Fusarium spp.* strains. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 39, n. 2, p.163-167, 1997.

RAAD, I.; HACHEM, R. Treatment of central venous catheterrelated fungemia due to *Fusarium oxysporum*. **Clinical Infectious Diseases**, v. 20, n.3, p.709-711, 1995.

RAAD, I. I., HACHEM, R. Y.; HERBRECHT, R.; GRAYBILL, J. R.; HARE, R.; CORCORAN, G.; KONTOYIANNIS, D. P. Posaconazole as salvage treatment for invasive fusariosis in patients with underlying hematologic malignancy and other conditions. **Clinical Infectious Diseases**, v. 42, n. 10, p. 1398-1403, 2006.

RAHMAN, M. R.; JOHNSON, G. J.; HUSAIN, R.; HOWLADER, S. A.; MINASSIAN, D. C. Randomised trial of 0.2% chlorhexidine gluconate and 2.5% natamycin for fungal keratitis in Bangladesh. **British Journal of Ophthalmol**, v. 82, n. 8, p. 919-925, 1998.

RANG, H. P.; DALE, M. M.; RITTER, J. M.; MOORE, P. K. **Farmacologia**. Tradução da 5ª edição americana. Elsevier Editora Ltda, Rio de Janeiro p. 738-739, 2004.

REIS, A.; SUNDMACHER, R.; TINTELNOT, K.; AGOSTINI, H.; JENSEN, H. E.; ALTHAUS, C. Successful treatment of ocular invasive mould infection (fusariosis) with the new antifungal agent voriconazole. **The British Journal of Ophthalmology**, v. 84, n. 8, p. 932-933, 2000.

REUBEN, A.; ANAISSIE, E.; NELSON, P. E.; HASHEM, R.; LEGRAND, C.; HO, D. H.; BODEY, G. P. Antifungal susceptibility of 44 clinical isolates of *Fusarium* species determined by using a broth microdilution method. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 33, n. 9, p. 1647-1649, 1989.

REZAI, K. A.; ELIOTT, D.; PLOUS, O.; VAZQUEZ, J. A.; ABRAMS, G. W. Disseminated *Fusarium* infection presenting as bilateral endogenous endophthalmitis in a patient with acute myeloid leukemia. **Archives of Ophthalmology**, v. 123, n. 5, p. 702-703, 2005.

RIPPON, J. W.; LARSON, R. A.; ROSENTHAL, D. M.; CLAYMAN, J. Disseminated cutaneous and peritoneal hyalohyphomycosis caused by *Fusarium* species: three cases and review of the literature. **Mycopathologia**, v. 101, n. 2, p. 105-111, 1998.

RODRIGUEZ, C. A.; LUJAN-ZILBERMANN, J.; WOODARD, P.; ANDREANSKY, M.; ADDERSON, E. E. Successful treatment of disseminated fusariosis. **Bone Marrow Transplantation**, v. 31, n. 5, p. 411-412, 2003.

RODRIGUEZ-VILLALOBOS, H.; GEORGALA, A.; BEGUIN, H.; HEYMANS, C.; PYE, G.; CROKAERT, F.; AOUN, M. Disseminated infection due to *Cylindrocarpon (Fusarium) lichenicola* in a neutropenic patient with acute leukaemia: Report of a case and review of the literature. **European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases**, v. 22, n. 1, p. 62-65, 2003.

ROMANI, L. Immunity to fungal infections. **Nature Reviews. Immunology**, v. 4, n. 1, p. 1-23, 2004.

ROMANO, C.; MIRACCO, C.; DIFONZO, E. M. Skin and nail infections due to *Fusarium oxysporum* in Tuscany. Italy. **Mycoses**, v. 41, n. 9-10, p. 433-437, 1998.

ROMBAUX, P.; ELOY, P.; BERTRAND, B.; DELOS, M.; DOYEN, C. Lethal disseminated *Fusarium* infection with sinus involvement in the immunocompromised host: case report and review of the literature. **Rhinology**, v. 34, n. 4, p. 237-241, 1996.

RONDEAU, N.; BOURCIER, T.; CHAUMEIL, C.; BORDERIE, V.; TOUZEAU, O.; SCAT, Y.; THOMAS, F.; BAUDOUIN, C.; NORDMANN, J. P.; LAROCHE, L. [Fungal keratitis at the Centre Hospitalier National d'Ophtalmologie des Quinze-Vingts: retrospective study of 19 cases]. **Journal Francais d' Ophthalmologie**, v. 25, n. 9, p. 890-896, 2002.

ROSSIGNOL, J. F.; MAISONNEUVE, H.; CHO, Y. W. Nitroimidazoles in the treatment of trichomoniasis, giardiasis, and amebiasis. **International Journal of Clinical Pharmacology, Therapy and Toxicology**, v.22, n. 2, p. 63-72, 1984.

ROTHER, A.; SEIBOLD, M.; HOPPE, T.; SEIFERT, H.; ENGERT, A.; CASPAR, C.; KARTHAUS, M.; FATKENHEUER, G.; BETHE, U.; TINTELNOT, K.; CORNELLY, O. A. Combination therapy of disseminated *Fusarium oxysporum* infection with terbinafine and amphotericin B. **Annals of Hematology**, v. 83, n. 6, p. 394-397, 2004.

ROTOWA, N. A.; SHADOMY, H. J.; SHADOMY, S. *In vitro* activities of polyene and imidazole antifungal agents against unusual opportunistic fungal pathogens. **Mycoses**, v. 33, p. 203-211, 1990.

RUIZ-CENDOYA, M.; MARINÉ, M.; GUARRO, J. Combined therapy in treatment of murine infection by *Fusarium solani*. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 62, n. 3, p. 543-546, 2008.

SABATELLI, F.; PATEL, R.; MANN, P. A.; MENDRICK, C. A.; NORRIS, C. C.; HARE, R.; LOEBENBERG, D.; BLACK, T. A.; MCNICHOLAS, P. M. *In vitro* activities of posaconazole, fluconazole, itraconazole, voriconazole, and amphotericin B against a large collection of clinically important molds and yeasts. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 50, n. 6, p. 2009-2015, 2006.

SAMPATHKUMAR, P.; PAYA, C. V. *Fusarium* infection after solid-organ transplantation. **Clinical Infectious Diseases**, v. 32, n. 8, p. 1237-1240, 2001.

SAMSON, R. A; REENEN-HOEKSTRA, E. S. V. **Introduction to food borne fungi**. 3^a ed. Baarn, Delft. Centralbureau voor Schimmelculturs, 1995.

SANDER, A.; BEYER, U.; AMBERG, R. Systemic *Fusarium oxysporum* infection in an immunocompetent patient with an adult respiratory distress syndrome (ARDS) and extracorporeal membrane oxygenation (ECMO). **Mycoses**, v. 41, n. 3-4, p. 109-111, 1998.

SANYAL, A. K.; ROY, D.; CHOWDHURY, B.; BANERJEE, A. B. Ibuprofen, a unique anti-inflammatory compound with antifungal activity against dermatophytes. **Letters in Applied Microbiology**, v. 17, n. 3, p. 109-111, 1993.

SASAKI, E.; MAESAKI, S.; MIYAZAKI, Y.; YANAGIHARA, K.; TOMONO, K.; TASHIRO, T.; KOHNO, S. Synergistic effect of ofloxacin and fluconazole against azole-resistant *Candida albicans*. **Journal of Infection and Chemotherapy**, v. 6, n. 3, p. 151-154, 2000.

SAW, S. M.; OOI, P.L.; TAN, D. T.; KHOR, W. B.; FONG, C. W.; LIM, J.; CAJUCOM-UY, H. Y.; HENG, D.; CHEW, S. K.; AUNG, T.; TAN, A. L.; CHAN, C. L.; TING, S.; TAMBYAH, P. A.; WONG, T. Y. Risk factors for contact lens-related *Fusarium* keratitis: a case-control study in Singapore. **Archives of Ophthalmology**, v. 125, n. 5, p. 611-617, 2007.

SCHEVEN, M.; SCHEVEN, C. Quantitative screening for fluconazole-amphotericin B antagonism in several *Candida albicans* strains by a comparative agar diffusion assay. **Mycoses**, v. 39, n. 3-4, p. 111-114, 1996.

SCHEVEN, M.; SCHEVEN, C.; HAHN, K.; SENF, A. Post-antibiotic effect and post-expositional polyene antagonism of azole antifungal agents in *Candida albicans*: dependence on substance lipophilia. **Mycoses**, v. 38, n. 11-12, p. 435-442, 1995.

SCOTT, E. M.; TARIQ, V. N.; MCCRORY, R. M. Demonstration of synergy with fluconazole and either ibuprofen, sodium salicylate, or propylparaben against *Candida*

albicans in vitro. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 39, n. 12, p. 2610-2614, 1995.

SEGAL, B. H.; WALSH, T. J.; LIU, J. M.; WILSON, J. D.; KWON-CHUNG, K. J. Invasive infection with *Fusarium chlamydosporum* in a patient with aplastic anemia. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 36, n. 6, p. 1772-1776, 1998.

SHALIT, I.; SHADKCHAN, Y.; MIRCUS, G.; OSHEROV, N. *In vitro* synergy of caspofungin with licensed and novel antifungal drugs against clinical isolates of *Fusarium* spp. **Medical Mycology**, v. 47, n. 5, p. 457-462, 2009.

SHOHAM, S.; LEVITZ, S. M. The immune response to fungal infections. **British Journal of Haematology**, v. 129, n. 5, p. 569-582, 2005.

SIMMONS, R. B.; BUFFINGTON, J. R.; WARD, M.; WILSON, L. A.; AHEARN, D. G. Morphology and ultrastructure of fungi in extendedwear soft contact lenses. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 24, n. 1, p. 21-25, 1986.

SPADER, T. B. Suscetibilidade de *Fusarium* spp. a antifúngicos frente a distintas combinações de antifúngicos. 2008. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade federal de Santa Maria, Santa Maria, 2008.

SPINOSA, H. S.; GÓRNIK, S. L.; BERNARDI, M. M. **Farmacologia Aplicada à Medicina Veterinária**. 3ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 752, 2002.

STAMMBERGER, H. Endoscopic surgery for mycotic and chronic recurring sinusitis. **The Annals of Otology, Rhinology & Laryngology**, v. 119, n. 1, p. 11, 1995.

STEINBERG, G. K.; BRITT, R. H.; ENZMANN, D. R.; FINLAY, J. L.; ARVIN, A. M. *Fusarium* brain abscess. Case report. **Journal of Neurosurgery**, v. 58, n. 4, p. 598-601, 1983.

STERGIOPOULOU, T.; MELETIADIS, J.; SEIN, T.; PAPAIOANNIDOU, P.; TSIOURIS, I.; ROILIDES, E.; WALSH, T. J. Isobolographic analysis of pharmacodynamic interactions between antifungal agents and ciprofloxacin against *Candida albicans* and *Aspergillus fumigatus*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 52, n. 6, p. 2196-2204, 2008.

STERN, G. A. *In vitro* antibiotic synergism against ocular fungal isolates. **American Journal of Ophthalmology**, v. 86, n. 3, p. 359-367, 1978.

ST-GERMAIN, G.; SUMMERBELL, R. C. *Fusarium*. In: ST-GERMAIN, G., SUMMERBELL, R. C., eds. **Identifying filamentous fungi**. Blemont, CA: Blackwell Science, p. 122-123, 1996.

STURM, A. W.; GRAVE, W.; KWEE, W. S. Disseminated *Fusarium oxysporum* infection in patient with heatstroke. **The Lancet**, v. 333, n. 8644, p. 968, 1989.

SUGAR, A. M.; LIU, X. P. Interactions of itraconazole with amphotericin B in the treatment of murine invasive candidiasis. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 177, n. 6, p. 1660-1663, 1998.

SUGAR, A. M.; LIU, X. P. Combination antifungal therapy in treatment of murine pulmonary mucormycosis: roles of quinolones and azoles. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 44, n. 7, p. 2004-2006, 2000.

SUGAR, A. M.; LIU, X. P.; CHEN, R. J. Effectiveness of quinolone antibiotics in modulating the effects of antifungal drugs. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 41, n. 11, p. 2518-2521, 1997.

SUTTON, D.A.; SANCHE, S. E.; REVANKAR, S. G.; FOTHERGILL, A. W.; RINALDI, M. G. *In vitro* amphotericin B resistance in clinical isolates of *Aspergillus terreus*, with a head-to-head comparison to voriconazole. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 37, n. 7, p.2343-2345, 1999.

TAWARA, S.; IKEDA, F.; MAKI, K.; MORISHITA, Y.; OTOMO, K.; TERATANI, N.; GOTO, T.; TOMISHIMA, M.; OHKI, H.; YAMADA, A.; KAWABATA, K.; TAKASUGI, H.; SAKANE, K.; TANAKA, H.; MATSUMOTO, F.; KUWAHARA, S. *In vitro* activities of a new lipopeptide antifungal agent, FK463, against a variety of clinically important fungi. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, p. 44, n. 1, p. 57-62, 2000.

TEZCAN, G.; OZHAK-BAYSAN, B.; ALASTRUEY-IZQUIERDO, A.; OGUNC, D.; ONGUT, G.; YILDIRAN, S. T.; HAZAR, V.; CUENCA-ESTRELLA, M.; RODRIGUEZ-TUDELA, J. L. Disseminated fusariosis caused by *Fusarium verticillioides* in an acute lymphoblastic leukemia patient after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 47, n. 1, p. 278-281, 2009.

THALER, M. Evaluation of single-drug and combination antifungal therapy in an experimental model of candidiasis in rabbits with prolonged neutropenia. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 158, n. 1, p. 80-88, 1988.

TIRIBELLI, M.; ZAJA, F.; FILI, C.; MICHELUTTI, T.; PROSDOCIMO, S.; CANDONI, A.; FANIN, R. Endogenous endophthalmitis following disseminated fungemia due to *Fusarium solani* in a patient with acute myeloid leukemia. **European Journal of Haematology**, v. 68, n. 5, p. 314-317, 2002.

TOMIMORI-YAMASHITA, J.; OGAWA, M. M.; HIRATA, S. H.; FISCHMAN, O.; MICHALANY, N. S.; YAMASHITA, H. K.; ALCHORNE, M. Mycetoma caused by *Fusarium solani* with osteolytic lesions on the hand: case report. **Mycopathologia**, v. 153, n. 1, p. 11-14, 2002.

TORRES, H. A.; KONTOYIANIS, D. P. Hyalohyphomycoses (other than aspergillosis and penicilliosis). In: Dismukes WE, Pappas PG, Sobel JD, eds. **Clinical Mycology**. New York: Oxford University Press, p. 252–270, 2003.

TORRES, H. A.; RAAD, I. I.; KONTOYIANNIS, D. P. Infections caused by *Fusarium* species. **Journal of Chemotherapy**, v. 15, n. 2, p. 28-35, 2003.

TORTORANO, A. M.; PRIGITANO, A.; DHO, G.; ESPOSTO, M. C.; GIANNI, C.; GRANCINI, A.; OSSI, C.; VIVIANI, M. A. Species distribution and *in vitro* antifungal susceptibility patterns of 75 clinical isolates of *Fusarium* spp. from northern Italy. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 52, n. 7, p. 2683-2685, 2008.

TOSTI, A.; PIRACCINI, B. M.; LORENZI, S. Onychomycosis caused by nondermatophytic molds: clinical features and response to treatment of 59 cases. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 42, n. 2, p. 217-224, 2000.

VAGACE, J. M.; SANZ-RODRIGUEZ, C.; CASADO, M. S.; ALONSO, N.; GARCIA-DOMINGUEZ, M.; DE LA LLANA, F. G.; ZARALLO, L.; FAJARDO, M.; BAJO, R. Resolution of disseminated fusariosis in a child with acute leukemia treated with combined antifungal therapy: a case report. **BMC Infectious Diseases**, v.7, p. 40-44, 2007.

VALENSTEIN, P.; SCHELL, W. A. Primary intranasal *Fusarium* infection. Potential for confusion with rhinocerebral zygomycosis. **Archives of Pathology & Laboratory Medicine**, v. 110, n. 8, p. 751-754, 1986.

VARTIVARIAN, S. E.; ANAISSIE, E. J.; BODEY, G. P. Emerging fungal pathogens in immunocompromised patients: classification, diagnosis, and management. **Clinical Infectious Diseases**, v. 17, n. 2, p. 487-491, 1993.

VELASCO, E.; MARTINS, C. A.; NUCCI, M. Successful treatment of catheter-related fusarial infection in immunocompromised children. **European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases**, v. 14, n. 8, p. 697-699, 1995.

VENUGOPAL, P. L.; VENUGOPAL, T. L.; GOMATHI, A.; RAMAKRISHNA, E. S.; ILAVARASI, S. Mycotic keratitis in Madras. **Indian Journal of Pathology & Microbiology**, v. 32, n. 3, p. 190-197, 1989.

VITALE, R. G.; AFELTRA, J.; DE HOOG, G. S.; RIJS, A. J.; VERWEIJ, P. E. *In vitro* activity of amphotericin B and itraconazole in combination with flucytosine, sulfadiazine and quinolones against *Exophiala spinifera*. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 51, n. 5, p. 1297-1300, 2003.

WADHWANI, K.; SRIVASTAVA, A. K. Fungi from otitis media of agricultural field workers. **Mycopathologia**, v. 88, n. 2-3, p. 155-159, 1984.

WHEAT, J.; HAFNER, R.; KORZUN, A.; LIMJ, M.; SPENCER, P.; LARSEN, R.; HECHT, F.; POWDERLY, W. Itraconazole treatment of disseminated histoplasmosis in patients with the acquired immunodeficiency syndrome. **The American Journal of Medicine**, v. 98, n. 4, p. 336-342, 1995.

WHEELER, M. S.; MCGINNIS, M. R.; SCHELL, W. A.; WALKER, D. H. *Fusarium* infection in burned patients. **American Journal of Clinical Pathology**, v. 75, n. 3, p. 304-311, 1981.

WICKERN, G. M. *Fusarium* allergic fungal sinusitis. **The Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 92, n. 4, p. 624-625, 1993.

WILDFEUER, A.; SEIDL, H. P.; PAULE, I.; HABERREITER, A. *In vitro* evaluation of voriconazole against clinical isolates of yeasts, moulds and dermatophytes in comparison with itraconazole, ketoconazole, amphotericin B and griseofulvin. **Mycoses**, v. 41, n. 7-8, p. 309-319, 1998.

WINN, R. M.; GIL-LAMAIGNERE, C.; ROILIDES, E.; SIMITSOPOULOU, M.; LYMAN, C. A.; MALOUKOU, A.; WALSH, T. J. Effects of interleukin-15 on antifungal responses of human polymorphonuclear leukocytes against *Fusarium* spp. and *Scedosporium* spp. **Cytokine**, v. 31, n. 1, p. 1-8, 2005.

YAMAKAMI, Y.; HASHIMOTO, A.; YAMAGATA, E.; KAMBERI, P.; KARASHIMA, R.; NAGAI, H.; NASU, M. Evaluation of PCR for detection of DNA specific for *Aspergillus*

species in sera of patients with various forms of pulmonary aspergillosis. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 36, n.12, p. 3619-3623, 1998.

YERA, H.; BOUGNOUX, M. E.; JEANROT, C.; BAIXENCH, M. T.; DE, P. G.; DUPOUY-CAMET, J. Mycetoma of the foot caused by *Fusarium solani*: identification of the etiologic agent by DNA sequencing. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 41, n. 4, p. 1805-1808, 2003.

ZACH, T. L.; PENN, R. G.; GNARRA, D. J.; BEVER, J. L. *Fusarium moniliforme* pneumonia. **The Nebraska Medical Journal**, v. 72, n. 1, p. 6-9, 1987.

ZHANG, N.; O'DONNELL, K.; SUTTON, D. A.; NALIM, F. A.; SUMMERBELL, R. C.; PADHYE, A. A.; GEISER, D.M. Members of the *Fusarium solani* species complex that cause infections in both humans and plants are common in the environment. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 44, n. 6, p. 2186-2190, 2006.

9 APÊNDICES

APÊNDICE A - Concentração inibitória mínima (µg/ml) para os antifúngicos testados.

Espécie (número da cepa)	ANFO	ITRA	VORICO
<i>F.chlamydosporum</i> (1)	0,250	>16,000	4,000
<i>F.chlamydosporum</i> (2)	0,250	>16,000	4,000
<i>F.chlamydosporum</i> (3)	0,500	>16,000	4,000
<i>F.verticillioides</i> (1)	1,000	>16,000	4,000
<i>F.verticillioides</i> (2)	1,000	>16,000	4,000
<i>F.verticillioides</i> (3)	0,500	>16,000	4,000
<i>F.nygamai</i> (1)	0,500	>16,000	4,000
<i>F.oxysporum</i> (1)	0,500	>16,000	16,000
<i>F.oxysporum</i> (2)	0,500	>16,000	16,000
<i>F.oxysporum</i> (3)	4,000	>16,000	16,000
<i>F.oxysporum</i> (4)	0,500	>16,000	8,000
<i>F.oxysporum</i> (5)	0,250	>16,000	4,000
<i>F.oxysporum</i> (6)	0,125	>16,000	2,000
<i>F.proliferatum</i> (1)	0,250	>16,000	2,000
<i>F.proliferatum</i> (2)	1,000	>16,000	4,000
<i>F.sporotrichoides</i> CBS 412.86 (1)	0,250	>16,000	1,000
<i>F.solani</i> (1)	0,500	>16,000	16,000
<i>F.solani</i> (2)	2,000	>16,000	8,000
<i>F.solani</i> (3)	0,500	>16,000	4,000
<i>F.solani</i> (4)	1,000	>16,000	2,000
<i>F.solani</i> (5)	1,000	>16,000	4,000
<i>F.solani</i> (6)	1,000	>16,000	2,000
<i>F.solani</i> (7)	0,250	>16,000	4,000
<i>F.solani</i> (8)	1,000	>16,000	4,000
<i>F.solani</i> (9)	0,250	>16,000	4,000
<i>F.solani</i> ATCC 36031 (10)	0,500	>16,000	>16,000
<i>F.solani</i> (11)	4,000	>16,000	16,000

ANFO (anfotericina B), ITRA (itraconazol), VORICO (voriconazol).

APÊNDICE B - Concentração inibitória mínima (µg/ml) para fármacos diversos.

Espécie (número da cepa)	AZI	RIF	FLU	IBU	CIPRO	METRO
<i>F.chlamydosporum</i> (1)	>32,000	>32,000	>32,000	>32,000	>32,000	>32,000
<i>F.chlamydosporum</i> (2)	>32,000	>32,000	>32,000	>32,000	>32,000	>32,000
<i>F.chlamydosporum</i> (3)	>32,000	>32,000	>32,000	>32,000	>32,000	>32,000
<i>F.verticillioides</i> (1)	>32,000	>32,000	>32,000	>32,000	>32,000	>32,000
<i>F.verticillioides</i> (2)	>32,000	>32,000	>32,000	>32,000	>32,000	>32,000
<i>F.verticillioides</i> (3)	>32,000	>32,000	>32,000	>32,000	>32,000	>32,000
<i>F.nygamai</i> (1)	>32,000	>32,000	>32,000	>32,000	>32,000	>32,000
<i>F.oxysporum</i> (1)	>32,000	>32,000	>32,000	>32,000	>32,000	>32,000
<i>F.oxysporum</i> (2)	>32,000	>32,000	>32,000	>32,000	>32,000	>32,000
<i>F.oxysporum</i> (3)	>32,000	>32,000	>32,000	>32,000	>32,000	>32,000
<i>F.oxysporum</i> (4)	>32,000	>32,000	>32,000	>32,000	>32,000	>32,000
<i>F.oxysporum</i> (5)	>32,000	>32,000	>32,000	>32,000	>32,000	>32,000
<i>F.oxysporum</i> (6)	>32,000	>32,000	>32,000	>32,000	>32,000	>32,000
<i>F.proliferatum</i> (1)	>32,000	>32,000	>32,000	>32,000	>32,000	>32,000
<i>F.proliferatum</i> (2)	>32,000	>32,000	>32,000	>32,000	>32,000	>32,000
<i>F.sporotrichoides</i> CBS 412.86 (1)	>32,000	>32,000	>32,000	>32,000	>32,000	>32,000
<i>F.solani</i> (1)	>32,000	>32,000	>32,000	>32,000	>32,000	>32,000
<i>F.solani</i> (2)	>32,000	>32,000	>32,000	>32,000	>32,000	>32,000
<i>F.solani</i> (3)	>32,000	>32,000	>32,000	>32,000	>32,000	>32,000
<i>F.solani</i> (4)	>32,000	>32,000	>32,000	>32,000	>32,000	>32,000
<i>F.solani</i> (5)	>32,000	>32,000	>32,000	>32,000	>32,000	>32,000
<i>F.solani</i> (6)	>32,000	>32,000	>32,000	>32,000	>32,000	>32,000
<i>F.solani</i> (7)	>32,000	>32,000	>32,000	>32,000	>32,000	>32,000
<i>F.solani</i> (8)	>32,000	>32,000	>32,000	>32,000	>32,000	>32,000
<i>F.solani</i> (9)	>32,000	>32,000	>32,000	>32,000	>32,000	>32,000
<i>F.solani</i> ATCC 36031 (10)	>32,000	>32,000	>32,000	>32,000	>32,000	>32,000
<i>F.solani</i> (11)	>32,000	>32,000	>32,000	>32,000	>32,000	>32,000

AZI (azitromicina), RIF (rifampicina), FLU (fluvastatina), IBU (ibuprofeno), CIPRO (ciprofloxacino), METRO (metronidazol).

APÊNDICE C – Atividades combinadas de anfotericina B e azitromicina contra *Fusarium* spp.

Fármacos	Espécie (número da cepa)	CIM (µg/mL) de cada fármaco		CIF (µg/mL) _a	ICIF _b	Resultado
		Na combinação	Isolado*			
anfotericina B azitromicina	<i>F.chlamydosporum</i> (1)	0,125 0,250	0,250 >32,000	0,500 0,004	0,504	Sinergismo
anfotericina B azitromicina	<i>F.chlamydosporum</i> (2)	0,0625 0,250	0,250 >32,000	0,250 0,004	0,254	Sinergismo
anfotericina B azitromicina	<i>F.chlamydosporum</i> (3)	0,500 0,250	0,500 >32,000	1,000 0,004	1,004	Indiferença
anfotericina B azitromicina	<i>F.verticillioides</i> (1)	1,000 0,250	1,000 >32,000	1,000 0,004	1,004	Indiferença
anfotericina B azitromicina	<i>F.verticillioides</i> (2)	1,000 0,250	1,000 >32,000	1,000 0,004	1,004	Indiferença
anfotericina B azitromicina	<i>F.verticillioides</i> (3)	1,000 0,250	0,500 >32,000	2,000 0,004	2,004	Indiferença
anfotericina B azitromicina	<i>F.nygamai</i> (1)	0,500 0,250	0,500 >32,000	1,000 0,004	1,004	Indiferença
anfotericina B azitromicina	<i>F.oxysporum</i> (1)	0,250 0,250	0,500 >32,000	0,500 0,004	0,504	Sinergismo
anfotericina B azitromicina	<i>F.oxysporum</i> (2)	0,250 0,250	0,500 >32,000	0,500 0,004	0,504	Sinergismo
anfotericina B azitromicina	<i>F.oxysporum</i> (3)	4,000 0,250	4,000 >32,000	1,000 0,004	1,004	Indiferença
anfotericina B azitromicina	<i>F.oxysporum</i> (4)	0,500 0,250	0,500 >32,000	1,000 0,004	1,004	Indiferença
anfotericina B azitromicina	<i>F.oxysporum</i> (5)	0,125 0,250	0,250 >32,000	0,500 0,004	0,504	Sinergismo
anfotericina B azitromicina	<i>F.oxysporum</i> (6)	0,125 0,250	0,125 >32,000	1,000 0,004	1,004	Indiferença
anfotericina B azitromicina	<i>F.proliferatum</i> (1)	0,250 0,250	0,250 >32,000	1,000 0,004	1,004	Indiferença
anfotericina B azitromicina	<i>F.proliferatum</i> (2)	2,000 0,250	1,000 >32,000	2,000 0,004	2,004	Indiferença
anfotericina B azitromicina	<i>F.sporotrichoides</i> (CBS 412.86) (1)	0,125 0,250	0,250 >32,000	0,500 0,004	0,504	Sinergismo
anfotericina B azitromicina	<i>F.solani</i> (1)	1,000 0,250	0,500 >32,000	2,000 0,004	2,004	Indiferença
anfotericina B azitromicina	<i>F.solani</i> (2)	1,000 0,250	2,000 >32,000	0,500 0,004	0,504	Sinergismo
anfotericina B azitromicina	<i>F.solani</i> (3)	0,500 0,250	0,500 >32,000	1,000 0,004	1,004	Indiferença
anfotericina B azitromicina	<i>F.solani</i> (4)	1,000 0,250	1,000 >32,000	1,000 0,004	1,004	Indiferença
anfotericina B azitromicina	<i>F.solani</i> (5)	1,000 0,250	1,000 >32,000	1,000 0,004	1,004	Indiferença

anfotericina B azitromicina	<i>F.solani</i> (6)	1,000 0,250	1,000 >32,000	1,000 0,004	1,004	Indiferença
anfotericina B azitromicina	<i>F.solani</i> (7)	0,500 0,250	0,250 >32,000	2,000 0,004	2,004	Indiferença
anfotericina B azitromicina	<i>F.solani</i> (8)	1,000 0,250	1,000 >32,000	1,000 0,004	1,004	Indiferença
anfotericina B azitromicina	<i>F.solani</i> (9)	0,500 0,250	0,250 >32,000	2,000 0,004	2,004	Indiferença
anfotericina B azitromicina	<i>F.solani</i> (ATCC 36031) (10)	0,500 0,250	0,500 >32,000	1,000 0,004	1,004	Indiferença
anfotericina B azitromicina	<i>F.solani</i> (11)	4,000 0,250	4,000 >32,000	1,000 0,004	1,004	Indiferença

a Divisão da CIM do fármaco na combinação pela CIM do fármaco isolado.

b ICIF é a soma das CIFs dos fármacos em combinação.

* Quando a CIM > 32, foi considerado CIM= 64 µg/mL para calcular o CIF da azitromicina.

APÊNDICE D - Atividades combinadas de anfotericina B e rifampicina contra *Fusarium* spp.

Fármacos	Espécie (número da cepa)	CIM (µg/mL) de cada fármaco		CIF (µg/mL) _a	ICIF _b	Resultado
		Na combinação	Isolado*			
anfotericina B rifampicina	<i>F.chlamydosporum</i> (1)	0,250 0,250	0,250 >32,000	1,000 0,004	1,004	Indiferença
anfotericina B rifampicina	<i>F.chlamydosporum</i> (2)	0,250 0,250	0,250 >32,000	1,000 0,004	1,004	Indiferença
anfotericina B rifampicina	<i>F.chlamydosporum</i> (3)	0,0625 0,250	0,500 >32,000	0,125 0,004	0,129	Sinergismo
anfotericina B rifampicina	<i>F.verticillioides</i> (1)	0,500 0,250	1,000 >32,000	0,500 0,004	0,504	Sinergismo
anfotericina B rifampicina	<i>F.verticillioides</i> (2)	0,500 0,250	1,000 >32,000	0,500 0,004	0,504	Sinergismo
anfotericina B rifampicina	<i>F.verticillioides</i> (3)	0,500 0,250	0,500 >32,000	1,000 0,004	1,004	Indiferença
anfotericina B rifampicina	<i>F.nygamai</i> (1)	2,000 0,250	0,500 >32,000	4,000 0,004	4,004	Indiferença
anfotericina B rifampicina	<i>F.oxysporum</i> (1)	0,500 0,250	0,500 >32,000	1,000 0,004	1,004	Indiferença
anfotericina B rifampicina	<i>F.oxysporum</i> (2)	0,500 0,250	0,500 >32,000	1,000 0,004	1,004	Indiferença
anfotericina B rifampicina	<i>F.oxysporum</i> (3)	4,000 0,250	4,000 >32,000	1,000 0,004	1,004	Indiferença
anfotericina B rifampicina	<i>F.oxysporum</i> (4)	0,500 0,250	0,500 >32,000	1,000 0,004	1,004	Indiferença
anfotericina B rifampicina	<i>F.oxysporum</i> (5)	0,0625 0,250	0,250 >32,000	0,250 0,004	0,254	Sinergismo
anfotericina B rifampicina	<i>F.oxysporum</i> (6)	0,125 0,250	0,125 >32,000	1,000 0,004	1,004	Indiferença
anfotericina B rifampicina	<i>F.proliferatum</i> (1)	0,250 0,250	0,250 >32,000	1,000 0,004	1,004	Indiferença
anfotericina B rifampicina	<i>F.proliferatum</i> (2)	1,000 0,250	1,000 >32,000	1,000 0,004	1,004	Indiferença
anfotericina B rifampicina	<i>F.sporotrichoides</i> (CBS 412.86) (1)	0,0625 0,250	0,250 >32,000	0,250 0,004	0,254	Sinergismo
anfotericina B rifampicina	<i>F.solani</i> (1)	0,250 0,250	0,500 >32,000	0,500 0,004	0,504	Sinergismo
anfotericina B rifampicina	<i>F.solani</i> (2)	1,000 0,250	2,000 >32,000	0,500 0,004	0,504	Sinergismo
anfotericina B rifampicina	<i>F.solani</i> (3)	0,500 0,250	0,500 >32,000	1,000 0,004	1,004	Indiferença
anfotericina B rifampicina	<i>F.solani</i> (4)	0,250 0,250	1,000 >32,000	0,250 0,004	0,254	Sinergismo
anfotericina B rifampicina	<i>F.solani</i> (5)	2,000 0,250	1,000 >32,000	2,000 0,004	2,004	Indiferença

anfotericina B rifampicina	<i>F.solani</i> (6)	1,000 0,250	1,000 >32,000	1,000 0,004	1,004	Indiferença
anfotericina B rifampicina	<i>F.solani</i> (7)	0,500 0,250	0,250 >32,000	2,000 0,004	2,004	Indiferença
anfotericina B rifampicina	<i>F.solani</i> (8)	1,000 0,250	1,000 >32,000	1,000 0,004	1,004	Indiferença
anfotericina B rifampicina	<i>F.solani</i> (9)	0,250 0,250	0,250 >32,000	1,000 0,004	1,004	Indiferença
anfotericina B rifampicina	<i>F.solani</i> (ATCC 36031) (10)	1,000 0,250	0,500 >32,000	2,000 0,004	2,004	Indiferença
anfotericina B rifampicina	<i>F.solani</i> (11)	2,000 0,250	4,000 >32,000	0,500 0,004	0,504	Sinergismo

a Divisão da CIM do fármaco na combinação pela CIM do fármaco isolado.

b ICIF é a soma das CIFs dos fármacos em combinação.

* Quando a CIM > 32, foi considerado CIM= 64 µg/mL para calcular o CIF da rifampicina.

APÊNDICE E - Atividades combinadas de anfotericina B e fluvastatina contra *Fusarium* spp.

Fármacos	Espécie (número da cepa)	CIM ($\mu\text{g/mL}$) de cada fármaco		CIF ($\mu\text{g/mL}$) _a	ICIF _b	Resultado
		Na combinação	Isolado*			
anfotericina B fluvastatina	<i>F.chlamydosporum</i> (1)	0,500 0,250	0,250 >32,000	2,000 0,004	2,004	Indiferença
anfotericina B fluvastatina	<i>F.chlamydosporum</i> (2)	0,250 0,250	0,250 >32,000	1,000 0,004	1,004	Indiferença
anfotericina B fluvastatina	<i>F.chlamydosporum</i> (3)	0,250 0,250	0,500 >32,000	0,500 0,004	0,504	Sinergismo
anfotericina B fluvastatina	<i>F.verticillioides</i> (1)	0,500 0,250	1,000 >32,000	0,500 0,004	0,504	Sinergismo
anfotericina B fluvastatina	<i>F.verticillioides</i> (2)	0,500 0,250	1,000 >32,000	0,500 0,004	0,504	Sinergismo
anfotericina B fluvastatina	<i>F.verticillioides</i> (3)	0,500 0,250	0,500 >32,000	1,000 0,004	1,004	Indiferença
anfotericina B fluvastatina	<i>F.nygamai</i> (1)	0,500 0,250	0,500 >32,000	1,000 0,004	1,004	Indiferença
anfotericina B fluvastatina	<i>F.oxysporum</i> (1)	0,250 8,000	0,500 >32,000	0,500 0,125	0,625	Indiferença
anfotericina B fluvastatina	<i>F.oxysporum</i> (2)	2,000 0,250	0,500 >32,000	4,000 0,004	4,004	Indiferença
anfotericina B fluvastatina	<i>F.oxysporum</i> (3)	4,000 0,250	4,000 >32,000	1,000 0,004	1,004	Indiferença
anfotericina B fluvastatina	<i>F.oxysporum</i> (4)	1,000 0,250	0,500 >32,000	2,000 0,004	2,004	Indiferença
anfotericina B fluvastatina	<i>F.oxysporum</i> (5)	0,125 0,250	0,250 >32,000	0,500 0,004	0,504	Sinergismo
anfotericina B fluvastatina	<i>F.oxysporum</i> (6)	0,125 0,250	0,125 >32,000	1,000 0,004	1,004	Indiferença
anfotericina B fluvastatina	<i>F.proliferatum</i> (1)	0,250 0,250	0,250 >32,000	1,000 0,004	1,004	Indiferença
anfotericina B fluvastatina	<i>F.proliferatum</i> (2)	1,000 0,250	1,000 >32,000	1,000 0,004	1,004	Indiferença
anfotericina B fluvastatina	<i>F.sporotrichoides</i> (CBS 412.86) (1)	0,250 0,250	0,250 >32,000	1,000 0,004	1,004	Indiferença
anfotericina B fluvastatina	<i>F.solani</i> (1)	0,250 0,250	0,500 >32,000	0,500 0,004	0,504	Sinergismo
anfotericina B fluvastatina	<i>F.solani</i> (2)	2,000 0,250	2,000 >32,000	1,000 0,004	1,004	Indiferença
anfotericina B fluvastatina	<i>F.solani</i> (3)	0,250 0,250	0,500 >32,000	0,500 0,004	0,504	Sinergismo
anfotericina B fluvastatina	<i>F.solani</i> (4)	0,500 0,250	1,000 >32,000	0,500 0,004	0,504	Sinergismo
anfotericina B fluvastatina	<i>F.solani</i> (5)	1,000 0,250	1,000 >32,000	1,000 0,004	1,004	Indiferença

anfotericina B fluvastatina	<i>F.solani</i> (6)	1,000 0,250	1,000 >32,000	1,000 0,004	1,004	Indiferença
anfotericina B fluvastatina	<i>F.solani</i> (7)	0,500 0,250	0,250 >32,000	2,000 0,004	2,004	Indiferença
anfotericina B fluvastatina	<i>F.solani</i> (8)	1,000 0,250	1,000 >32,000	1,000 0,004	1,004	Indiferença
anfotericina B fluvastatina	<i>F.solani</i> (9)	0,250 0,250	0,250 >32,000	1,000 0,004	1,004	Indiferença
anfotericina B fluvastatina	<i>F.solani</i> (ATCC 36031) (10)	0,500 0,250	0,500 >32,000	1,000 0,004	1,004	Indiferença
anfotericina B fluvastatina	<i>F.solani</i> (11)	2,000 0,250	4,000 >32,000	0,500 0,004	0,504	Sinergismo

a Divisão da CIM do fármaco na combinação pela CIM do fármaco isolado.

b ICIF é a soma das CIFs dos fármacos em combinação.

* Quando a CIM > 32, foi considerado CIM= 64 µg/mL para calcular o CIF da fluvastatina.

APÊNDICE F - Atividades combinadas de anfotericina B e ibuprofeno contra *Fusarium* spp.

Fármacos	Espécie (número da cepa)	CIM (µg/mL) de cada fármaco		CIF (µg/mL) _a	ICIF _b	Resultado
		Na combinação	Isolado*			
anfotericina B ibuprofeno	<i>F.chlamydosporum</i> (1)	0,250 0,250	0,250 >32,000	1,000 0,004	1,004	Indiferença
anfotericina B ibuprofeno	<i>F.chlamydosporum</i> (2)	0,500 0,250	0,250 >32,000	2,000 0,004	2,004	Indiferença
anfotericina B ibuprofeno	<i>F.chlamydosporum</i> (3)	0,500 0,250	0,500 >32,000	1,000 0,004	1,004	Indiferença
anfotericina B ibuprofeno	<i>F.verticillioides</i> (1)	1,000 0,250	1,000 >32,000	1,000 0,004	1,004	Indiferença
anfotericina B ibuprofeno	<i>F.verticillioides</i> (2)	0,500 0,250	1,000 >32,000	0,500 0,004	0,504	Sinergismo
anfotericina B ibuprofeno	<i>F.verticillioides</i> (3)	0,250 0,250	0,500 >32,000	0,500 0,004	0,504	Sinergismo
anfotericina B ibuprofeno	<i>F.nygamai</i> (1)	0,500 0,250	0,500 >32,000	1,000 0,004	1,004	Indiferença
anfotericina B ibuprofeno	<i>F.oxysporum</i> (1)	1,000 0,250	0,500 >32,000	2,000 0,004	2,004	Indiferença
anfotericina B ibuprofeno	<i>F.oxysporum</i> (2)	1,000 0,250	0,500 >32,000	2,000 0,004	2,004	Indiferença
anfotericina B ibuprofeno	<i>F.oxysporum</i> (3)	4,000 0,250	4,000 >32,000	1,000 0,004	1,004	Indiferença
anfotericina B ibuprofeno	<i>F.oxysporum</i> (4)	0,500 0,250	0,500 >32,000	1,000 0,004	1,004	Indiferença
anfotericina B ibuprofeno	<i>F.oxysporum</i> (5)	0,250 0,250	0,250 >32,000	1,000 0,004	1,004	Indiferença
anfotericina B ibuprofeno	<i>F.oxysporum</i> (6)	0,125 0,250	0,125 >32,000	1,000 0,004	1,004	Indiferença
anfotericina B ibuprofeno	<i>F.proliferatum</i> (1)	0,125 0,250	0,250 >32,000	0,500 0,004	0,504	Sinergismo
anfotericina B ibuprofeno	<i>F.proliferatum</i> (2)	0,25 0,250	1,000 >32,000	0,250 0,004	0,254	Sinergismo
anfotericina B ibuprofeno	<i>F.sporotrichoides</i> (CBS 412.86) (1)	0,250 0,250	0,250 >32,000	1,000 0,004	1,004	Indiferença
anfotericina B ibuprofeno	<i>F.solani</i> (1)	0,500 0,250	0,500 >32,000	1,000 0,004	1,004	Indiferença
anfotericina B ibuprofeno	<i>F.solani</i> (2)	0,500 0,250	2,000 >32,000	0,250 0,004	0,254	Sinergismo
anfotericina B ibuprofeno	<i>F.solani</i> (3)	0,250 0,250	0,500 >32,000	0,500 0,004	0,504	Sinergismo
anfotericina B ibuprofeno	<i>F.solani</i> (4)	0,500 0,250	1,000 >32,000	0,500 0,004	0,504	Sinergismo
anfotericina B ibuprofeno	<i>F.solani</i> (5)	1,000 0,250	1,000 >32,000	1,000 0,004	1,004	Indiferença

anfotericina B ibuprofeno	<i>F.solani</i> (6)	0,500 0,250	1,000 >32,000	0,500 0,004	0,504	Sinergismo
anfotericina B ibuprofeno	<i>F.solani</i> (7)	0,125 0,250	0,250 >32,000	0,500 0,004	0,504	Sinergismo
anfotericina B ibuprofeno	<i>F.solani</i> (8)	0,250 0,250	1,000 >32,000	0,250 0,004	0,254	Sinergismo
anfotericina B ibuprofeno	<i>F.solani</i> (9)	0,250 0,250	0,250 >32,000	1,000 0,004	1,004	Indiferença
anfotericina B ibuprofeno	<i>F.solani</i> (ATCC 36031) (10)	0,250 0,250	0,500 >32,000	0,500 0,004	0,504	Sinergismo
anfotericina B ibuprofeno	<i>F.solani</i> (11)	2,000 0,250	4,000 >32,000	0,500 0,004	0,504	Sinergismo

a Divisão da CIM do fármaco na combinação pela CIM do fármaco isolado.

b ICIF é a soma das CIFs dos fármacos em combinação.

* Quando a CIM > 32, foi considerado CIM= 64 µg/mL para calcular o CIF do ibuprofeno.

APÊNDICE G - Atividades combinadas de anfotericina B e ciprofloxacina contra *Fusarium* spp.

Fármacos	Espécie (número da cepa)	CIM ($\mu\text{g/mL}$) de cada fármaco		CIF ($\mu\text{g/mL}$) _a	ICIF _b	Resultado
		Na combinação	Isolado*			
anfotericina B ciprofloxacina	<i>F.chlamydosporum</i> (1)	0,500 0,250	0,250 >32,000	2,000 0,004	2,004	Indiferença
anfotericina B ciprofloxacina	<i>F.chlamydosporum</i> (2)	0,500 0,250	0,250 >32,000	2,000 0,004	2,004	Indiferença
anfotericina B ciprofloxacina	<i>F.chlamydosporum</i> (3)	0,500 0,250	0,500 >32,000	1,000 0,004	1,004	Indiferença
anfotericina B ciprofloxacina	<i>F.verticillioides</i> (1)	1,000 0,250	1,000 >32,000	1,000 0,004	1,004	Indiferença
anfotericina B ciprofloxacina	<i>F.verticillioides</i> (2)	0,500 0,250	1,000 >32,000	0,500 0,004	0,504	Sinergismo
anfotericina B ciprofloxacina	<i>F.verticillioides</i> (3)	0,500 0,250	0,500 >32,000	1,000 0,004	1,004	Indiferença
anfotericina B ciprofloxacina	<i>F.nygamai</i> (1)	0,500 0,250	0,500 >32,000	1,000 0,004	1,004	Indiferença
anfotericina B ciprofloxacina	<i>F.oxysporum</i> (1)	1,000 0,250	0,500 >32,000	2,000 0,004	2,004	Indiferença
anfotericina B ciprofloxacina	<i>F.oxysporum</i> (2)	0,500 0,250	0,500 >32,000	1,000 0,004	1,004	Indiferença
anfotericina B ciprofloxacina	<i>F.oxysporum</i> (3)	2,000 0,250	4,000 >32,000	0,500 0,004	0,504	Sinergismo
anfotericina B ciprofloxacina	<i>F.oxysporum</i> (4)	0,250 0,250	0,500 >32,000	0,500 0,004	0,504	Sinergismo
anfotericina B ciprofloxacina	<i>F.oxysporum</i> (5)	0,125 0,250	0,250 >32,000	0,500 0,004	0,504	Sinergismo
anfotericina B ciprofloxacina	<i>F.oxysporum</i> (6)	0,125 0,250	0,125 >32,000	1,000 0,004	1,004	Indiferença
anfotericina B ciprofloxacina	<i>F.proliferatum</i> (1)	0,250 0,250	0,250 >32,000	1,000 0,004	1,004	Indiferença
anfotericina B ciprofloxacina	<i>F.proliferatum</i> (2)	0,250 0,250	1,000 >32,000	0,250 0,004	0,254	Sinergismo
anfotericina B ciprofloxacina	<i>F.sporotrichoides</i> (CBS 412.86) (1)	0,250 0,250	0,250 >32,000	1,000 0,004	1,004	Indiferença
anfotericina B ciprofloxacina	<i>F.solani</i> (1)	0,500 0,250	0,500 >32,000	1,000 0,004	1,004	Indiferença
anfotericina B ciprofloxacina	<i>F.solani</i> (2)	2,000 0,250	2,000 >32,000	1,000 0,004	1,004	Indiferença
anfotericina B ciprofloxacina	<i>F.solani</i> (3)	0,250 0,250	0,500 >32,000	0,500 0,004	0,504	Sinergismo
anfotericina B ciprofloxacina	<i>F.solani</i> (4)	0,500 0,250	1,000 >32,000	0,500 0,004	0,504	Sinergismo
anfotericina B ciprofloxacina	<i>F.solani</i> (5)	1,000 0,250	1,000 >32,000	1,000 0,004	1,004	Indiferença

anfotericina B ciprofloxacina	<i>F.solani</i> (6)	0,500 0,250	1,000 >32,000	0,500 0,004	0,504	Sinergismo
anfotericina B ciprofloxacina	<i>F.solani</i> (7)	0,250 0,250	0,250 >32,000	1,000 0,004	1,004	Indiferença
anfotericina B ciprofloxacina	<i>F.solani</i> (8)	0,500 0,250	1,000 >32,000	0,500 0,004	0,504	Sinergismo
anfotericina B ciprofloxacina	<i>F.solani</i> (9)	0,250 0,250	0,250 >32,000	1,000 0,004	1,004	Indiferença
anfotericina B aiprofloxacina	<i>F.solani</i> (ATCC 36031) (10)	0,500 0,250	0,500 >32,000	1,000 0,004	1,004	Indiferença
anfotericina B ciprofloxacina	<i>F.solani</i> (11)	2,000 0,250	4,000 >32,000	0,500 0,004	0,504	Sinergismo

a Divisão da CIM do fármaco na combinação pela CIM do fármaco isolado.

b ICIF é a soma das CIFs dos fármacos em combinação.

* Quando a CIM > 32, foi considerado CIM= 64 µg/mL para calcular o CIF da ciprofloxacina.

APÊNDICE H - Atividades combinadas de anfotericina B e metronidazol contra *Fusarium* spp.

Fármacos	Espécie (número da cepa)	CIM ($\mu\text{g/mL}$) de cada fármaco		CIF ($\mu\text{g/mL}$) _a	ICIF _b	Resultado
		Na combinação	Isolado*			
anfotericina B metronidazol	<i>F.chlamydosporum</i> (1)	0,500 0,250	0,250 >32,000	2,000 0,004	2,004	Indiferença
anfotericina B metronidazol	<i>F.chlamydosporum</i> (2)	0,500 0,250	0,250 >32,000	2,000 0,004	2,004	Indiferença
anfotericina B metronidazol	<i>F.chlamydosporum</i> (3)	0,250 0,250	0,500 >32,000	0,500 0,004	0,504	Sinergismo
anfotericina B metronidazol	<i>F.verticillioides</i> (1)	0,500 0,250	1,000 >32,000	0,500 0,004	0,504	Sinergismo
anfotericina B metronidazol	<i>F.verticillioides</i> (2)	1,000 0,250	1,000 >32,000	1,000 0,004	1,004	Indiferença
anfotericina B metronidazol	<i>F.verticillioides</i> (3)	0,500 0,250	0,500 >32,000	1,000 0,004	1,004	Indiferença
anfotericina B metronidazol	<i>F.nygamai</i> (1)	1,000 0,250	0,500 >32,000	2,000 0,004	2,004	Indiferença
anfotericina B metronidazol	<i>F.oxysporum</i> (1)	0,500 0,250	0,500 >32,000	1,000 0,004	1,004	Indiferença
anfotericina B metronidazol	<i>F.oxysporum</i> (2)	1,000 0,250	0,500 >32,000	2,000 0,004	2,004	Indiferença
anfotericina B metronidazol	<i>F.oxysporum</i> (3)	4,000 0,250	4,000 >32,000	1,000 0,004	1,004	Indiferença
anfotericina B metronidazol	<i>F.oxysporum</i> (4)	0,500 0,250	0,500 >32,000	1,000 0,004	1,004	Indiferença
anfotericina B metronidazol	<i>F.oxysporum</i> (5)	0,125 0,250	0,250 >32,000	0,500 0,004	0,504	Sinergismo
anfotericina B metronidazol	<i>F.oxysporum</i> (6)	0,125 0,250	0,125 >32,000	1,000 0,004	1,004	Indiferença
anfotericina B metronidazol	<i>F.proliferatum</i> (1)	0,125 0,250	0,250 >32,000	0,500 0,004	0,504	Sinergismo
anfotericina B metronidazol	<i>F.proliferatum</i> (2)	0,500 0,250	1,000 >32,000	0,500 0,004	0,504	Sinergismo
anfotericina B metronidazol	<i>F.sporotrichoides</i> (CBS 412.86) (1)	0,125 0,250	0,250 >32,000	0,500 0,004	0,504	Sinergismo
anfotericina B metronidazol	<i>F.solani</i> (1)	0,500 0,250	0,500 >32,000	1,000 0,004	1,004	Indiferença
anfotericina B metronidazol	<i>F.solani</i> (2)	0,250 0,250	0,500 >32,000	0,500 0,004	0,504	Sinergismo
anfotericina B metronidazol	<i>F.solani</i> (3)	1,000 0,250	2,000 >32,000	0,500 0,004	0,504	Sinergismo
anfotericina B metronidazol	<i>F.solani</i> (4)	1,000 0,250	1,000 >32,000	1,000 0,004	1,004	Indiferença
anfotericina B metronidazol	<i>F.solani</i> (5)	1,000 0,250	1,000 >32,000	1,000 0,004	1,004	Indiferença

anfotericina B metronidazol	<i>F.solani</i> (6)	1,000 0,250	1,000 >32,000	1,000 0,004	1,004	Indiferença
anfotericina B metronidazol	<i>F.solani</i> (7)	0,250 0,250	0,250 >32,000	1,000 0,004	1,004	Indiferença
anfotericina B metronidazol	<i>F.solani</i> (8)	0,500 0,250	1,000 >32,000	0,500 0,004	0,504	Sinergismo
anfotericina B metronidazol	<i>F.solani</i> (9)	0,500 0,250	0,250 >32,000	2,000 0,004	2,004	Indiferença
anfotericina B metronidazol	<i>F.solani</i> (ATCC 36031) (10)	0,250 0,250	0,500 >32,000	0,500 0,004	0,504	Sinergismo
anfotericina B metronidazol	<i>F.solani</i> (11)	2,000 0,250	4,000 >32,000	0,500 0,004	0,504	Sinergismo

a Divisão da CIM do fármaco na combinação pela CIM do fármaco isolado.

b ICIF é a soma das CIFs dos fármacos em combinação.

* Quando a CIM > 32, foi considerado CIM= 64 µg/mL para calcular o CIF do metronidazol.

APÊNDICE I - Atividades combinadas de voriconazol e azitromicina contra *Fusarium* spp.

Fármacos	Espécie (número da cepa)	CIM (µg/mL) de cada fármaco		CIF (µg/mL) _a	ICIF _b	Resultado
		Na combinação*	Isolado*			
voriconazol azitromicina	<i>F.chlamydosporum</i> (1)	4,000 0,250	4,000 >32,000	1,000 0,004	1,004	Indiferença
voriconazol azitromicina	<i>F.chlamydosporum</i> (2)	2,000 0,250	4,000 >32,000	0,500 0,004	0,504	Sinergismo
voriconazol azitromicina	<i>F.chlamydosporum</i> (3)	2,000 0,250	4,000 >32,000	0,500 0,004	0,504	Sinergismo
voriconazol azitromicina	<i>F.verticillioides</i> (1)	>16,000 >32,000	4,000 >32,000	8,000 1,000	9,000	Antagonismo
voriconazol azitromicina	<i>F.verticillioides</i> (2)	4,000 0,250	4,000 >32,000	1,000 0,004	1,004	Indiferença
voriconazol azitromicina	<i>F.verticillioides</i> (3)	8,000 0,250	4,000 >32,000	2,000 0,004	2,004	Indiferença
voriconazol azitromicina	<i>F.nygamai</i> (1)	4,000 0,250	4,000 >32,000	1,000 0,004	1,004	Indiferença
voriconazol azitromicina	<i>F.oxysporum</i> (1)	16,000 0,250	16,000 >32,000	1,000 0,004	1,004	Indiferença
voriconazol azitromicina	<i>F.oxysporum</i> (2)	8,000 0,250	16,000 >32,000	0,500 0,004	0,504	Sinergismo
voriconazol azitromicina	<i>F.oxysporum</i> (3)	8,000 0,250	16,000 >32,000	0,500 0,004	0,504	Sinergismo
voriconazol azitromicina	<i>F.oxysporum</i> (4)	8,000 0,250	8,000 >32,000	1,000 0,004	1,004	Indiferença
voriconazol azitromicina	<i>F.oxysporum</i> (5)	4,000 0,250	4,000 >32,000	1,000 0,004	1,004	Indiferença
voriconazol azitromicina	<i>F.oxysporum</i> (6)	2,000 0,250	2,000 >32,000	1,000 0,004	1,004	Indiferença
voriconazol azitromicina	<i>F.proliferatum</i> (1)	2,000 0,250	2,000 >32,000	1,000 0,004	1,004	Indiferença
voriconazol azitromicina	<i>F.proliferatum</i> (2)	2,000 0,250	4,000 >32,000	0,500 0,004	0,504	Sinergismo
voriconazol azitromicina	<i>F.sporotrichoides</i> (CBS 412.86) (1)	0,500 0,250	1,000 >32,000	0,500 0,004	0,504	Sinergismo
voriconazol azitromicina	<i>F.solani</i> (1)	16,000 0,250	16,000 >32,000	1,000 0,004	1,004	Indiferença
voriconazol azitromicina	<i>F.solani</i> (2)	16,000 0,250	8,000 >32,000	2,000 0,004	2,004	Indiferença
voriconazol azitromicina	<i>F.solani</i> (3)	4,000 0,250	4,000 >32,000	1,000 0,004	1,004	Indiferença
voriconazol azitromicina	<i>F.solani</i> (4)	4,000 0,250	2,000 >32,000	2,000 0,004	2,004	Indiferença
voriconazol azitromicina	<i>F.solani</i> (5)	4,000 0,250	4,000 >32,000	1,000 0,004	1,004	Indiferença

voriconazol azitromicina	<i>F.solani</i> (6)	2,000 0,250	2,000 >32,000	1,000 0,004	1,004	Indiferença
voriconazol azitromicina	<i>F.solani</i> (7)	4,000 0,250	4,000 >32,000	1,000 0,004	1,004	Indiferença
voriconazol azitromicina	<i>F.solani</i> (8)	2,000 0,250	4,000 >32,000	0,500 0,004	0,504	Sinergismo
voriconazol azitromicina	<i>F.solani</i> (9)	4,000 0,250	4,000 >32,000	1,000 0,004	1,004	Indiferença
voriconazol azitromicina	<i>F.solani</i> (ATCC 36031) (10)	>16,000 >32,000	>16,000 >32,000	1,000 1,000	2,000	Indiferença
voriconazol azitromicina	<i>F.solani</i> (11)	>16,000 >32,000	16,000 >32,000	2,000 1,000	3,000	Indiferença

a Divisão da CIM do fármaco na combinação pela CIM do fármaco isolado.

b ICIF é a soma das CIFs dos fármacos em combinação.

* Para CIM>16 µg/mL e CIM>32 µg/mL, foi considerado CIM=32 µg/mL e CIM=64 µg/mL, respectivamente, para o cálculo do ICIF.

APÊNDICE J - Atividades combinadas de voriconazol e fluvastatina contra *Fusarium* spp.

Fármacos	Espécie (número da cepa)	CIM (µg/mL) de cada fármaco		CIF (µg/mL) _a	ICIF _b	Resultado
		Na combinação*	Isolado*			
voriconazol fluvastatina	<i>F.chlamydosporum</i> (1)	4,000 0,250	4,000 >32,000	1,000 0,004	1,004	Indiferença
voriconazol fluvastatina	<i>F.chlamydosporum</i> (2)	4,000 0,250	4,000 >32,000	1,000 0,004	1,004	Indiferença
voriconazol fluvastatina	<i>F.chlamydosporum</i> (3)	4,000 0,250	4,000 >32,000	1,000 0,004	1,004	Indiferença
voriconazol fluvastatina	<i>F.verticillioides</i> (1)	>16,000 >32,000	4,000 >32,000	8,000 1,000	9,000	Antagonismo
voriconazol fluvastatina	<i>F.verticillioides</i> (2)	>16,000 >32,000	4,000 >32,000	8,000 1,000	9,000	Antagonismo
voriconazol fluvastatina	<i>F.verticillioides</i> (3)	4,000 0,250	4,000 >32,000	1,000 0,004	1,004	Indiferença
voriconazol fluvastatina	<i>F.nygamai</i> (1)	4,000 0,250	4,000 >32,000	1,000 0,004	1,004	Indiferença
voriconazol fluvastatina	<i>F.oxysporum</i> (1)	16,000 0,250	16,000 >32,000	1,000 0,004	1,004	Indiferença
voriconazol fluvastatina	<i>F.oxysporum</i> (2)	16,000 0,250	16,000 >32,000	1,000 0,004	1,004	Indiferença
voriconazol fluvastatina	<i>F.oxysporum</i> (3)	8,000 0,250	16,000 >32,000	0,500 0,004	0,504	Sinergismo
voriconazol fluvastatina	<i>F.oxysporum</i> (4)	8,000 0,250	8,000 >32,000	1,000 0,004	1,004	Indiferença
voriconazol fluvastatina	<i>F.oxysporum</i> (5)	4,000 0,250	4,000 >32,000	1,000 0,004	1,004	Indiferença
voriconazol fluvastatina	<i>F.oxysporum</i> (6)	2,000 0,250	2,000 >32,000	1,000 0,004	1,004	Indiferença
voriconazol fluvastatina	<i>F.proliferatum</i> (1)	2,000 0,250	2,000 >32,000	1,000 0,004	1,004	Indiferença
voriconazol fluvastatina	<i>F.proliferatum</i> (2)	2,000 0,250	4,000 >32,000	0,500 0,004	0,504	Sinergismo
voriconazol fluvastatina	<i>F.sporotrichoides</i> (CBS 412.86) (1)	0,500 0,250	1,000 >32,000	0,500 0,004	0,504	Sinergismo
voriconazol fluvastatina	<i>F.solani</i> (1)	16,000 0,250	16,000 >32,000	1,000 0,004	1,004	Indiferença
voriconazol fluvastatina	<i>F.solani</i> (2)	4,000 0,250	8,000 >32,000	0,500 0,004	0,504	Sinergismo
voriconazol fluvastatina	<i>F.solani</i> (3)	4,000 0,250	4,000 >32,000	1,000 0,004	1,004	Indiferença
voriconazol fluvastatina	<i>F.solani</i> (4)	2,000 0,250	2,000 >32,000	1,000 0,004	1,004	Indiferença
voriconazol fluvastatina	<i>F.solani</i> (5)	4,000 0,250	4,000 >32,000	1,000 0,004	1,004	Indiferença

voriconazol fluvastatina	<i>F.solani</i> (6)	2,000 0,250	2,000 >32,000	1,000 0,004	1,004	Indiferença
voriconazol fluvastatina	<i>F.solani</i> (7)	4,000 0,250	4,000 >32,000	1,000 0,004	1,004	Indiferença
voriconazol fluvastatina	<i>F.solani</i> (8)	4,000 0,250	4,000 >32,000	1,000 0,004	1,004	Indiferença
voriconazol fluvastatina	<i>F.solani</i> (9)	4,000 0,250	4,000 >32,000	1,000 0,004	1,004	Indiferença
voriconazol fluvastatina	<i>F.solani</i> (ATCC 36031) (10)	>16,000 >32,000	>16,000 >32,000	1,000 1,000	1,004	Indiferença
voriconazol fluvastatina	<i>F.solani</i> (11)	2,000 0,250	16,000 >32,000	0,125 0,004	0,129	Sinergismo

a Divisão da CIM do fármaco na combinação pela CIM do fármaco isolado.

b ICIF é a soma das CIFs dos fármacos em combinação.

* Para CIM>16 µg/mL e CIM>32 µg/mL, foi considerado CIM=32 µg/mL e CIM=64 µg/mL, respectivamente, para o cálculo do ICIF.

APÊNDICE K - Atividades combinadas de voriconazol e ibuprofeno contra *Fusarium* spp.

Fármacos	Espécie (número da cepa)	CIM ($\mu\text{g/mL}$) de cada fármaco		CIF ($\mu\text{g/mL}$) _a	ICIF _b	Resultado
		Na combinação*	Isolado*			
voriconazol ibuprofeno	<i>F.chlamydosporum</i> (1)	2,000 0,250	4,000 >32,000	0,500 0,004	0,504	Sinergismo
voriconazol ibuprofeno	<i>F.chlamydosporum</i> (2)	4,000 0,250	4,000 >32,000	1,000 0,004	1,004	Indiferença
voriconazol ibuprofeno	<i>F.chlamydosporum</i> (3)	4,000 0,250	4,000 >32,000	1,000 0,004	1,004	Indiferença
voriconazol ibuprofeno	<i>F.verticillioides</i> (1)	>16,000 >32,000	4,000 >32,000	8,000 1,000	9,000	Antagonismo
voriconazol ibuprofeno	<i>F.verticillioides</i> (2)	4,000 0,250	4,000 >32,000	1,000 0,004	1,004	Indiferença
voriconazol ibuprofeno	<i>F.verticillioides</i> (3)	4,000 0,250	4,000 >32,000	1,000 0,004	1,004	Indiferença
voriconazol ibuprofeno	<i>F.nygamai</i> (1)	2,000 0,250	4,000 >32,000	0,500 0,004	0,504	Sinergismo
voriconazol ibuprofeno	<i>F.oxysporum</i> (1)	8,000 0,250	16,000 >32,000	0,500 0,004	0,504	Sinergismo
voriconazol ibuprofeno	<i>F.oxysporum</i> (2)	16,000 0,250	16,000 >32,000	1,000 0,004	1,004	Indiferença
voriconazol ibuprofeno	<i>F.oxysporum</i> (3)	16,000 0,250	16,000 >32,000	1,000 0,004	1,004	Indiferença
voriconazol ibuprofeno	<i>F.oxysporum</i> (4)	8,000 0,250	8,000 >32,000	1,000 0,004	1,004	Indiferença
voriconazol ibuprofeno	<i>F.oxysporum</i> (5)	2,000 0,250	4,000 >32,000	0,500 0,004	0,504	Sinergismo
voriconazol ibuprofeno	<i>F.oxysporum</i> (6)	2,000 0,250	2,000 >32,000	1,000 0,004	1,004	Indiferença
voriconazol ibuprofeno	<i>F.proliferatum</i> (1)	2,000 0,250	2,000 >32,000	1,000 0,004	1,004	Indiferença
voriconazol ibuprofeno	<i>F.proliferatum</i> (2)	2,000 0,250	4,000 >32,000	0,500 0,004	0,504	Sinergismo
voriconazol ibuprofeno	<i>F.sporotrichoides</i> (CBS 412.86) (1)	0,500 0,250	1,000 >32,000	0,500 0,004	0,504	Sinergismo
voriconazol ibuprofeno	<i>F.solani</i> (1)	>16,000 >32,000	16,000 >32,000	2,000 1,000	3,000	Indiferença
voriconazol ibuprofeno	<i>F.solani</i> (2)	8,000 0,250	8,000 >32,000	1,000 0,004	1,004	Indiferença
voriconazol ibuprofeno	<i>F.solani</i> (3)	2,000 0,250	4,000 >32,000	0,500 0,004	0,504	Sinergismo
voriconazol ibuprofeno	<i>F.solani</i> (4)	8,000 0,250	2,000 >32,000	4,000 0,004	4,004	Indiferença
voriconazol ibuprofeno	<i>F.solani</i> (5)	4,000 0,250	4,000 >32,000	1,000 0,004	1,004	Indiferença

voriconazol ibuprofeno	<i>F.solani</i> (6)	2,000 0,250	2,000 >32,000	1,000 0,004	1,004	Indiferença
voriconazol ibuprofeno	<i>F.solani</i> (7)	4,000 0,250	4,000 >32,000	1,000 0,004	1,004	Indiferença
voriconazol ibuprofeno	<i>F.solani</i> (8)	4,000 0,250	4,000 >32,000	1,000 0,004	1,004	Indiferença
voriconazol ibuprofeno	<i>F.solani</i> (9)	4,000 0,250	4,000 >32,000	1,000 0,004	1,004	Indiferença
voriconazol ibuprofeno	<i>F.solani</i> (ATCC 36031) (10)	>16,000 >32,000	>16,000 >32,000	1,000 1,000	2,000	Indiferença
voriconazol ibuprofeno	<i>F.solani</i> (11)	2,000 0,250	16,000 >32,000	0,125 0,004	0,129	Sinergismo

a Divisão da CIM do fármaco na combinação pela CIM do fármaco isolado.

b ICIF é a soma das CIFs dos fármacos em combinação.

* Para CIM>16 µg/mL e CIM>32 µg/mL, foi considerado CIM=32 µg/mL e CIM=64 µg/mL, respectivamente, para o cálculo do ICIF.

APÊNDICE L - Atividades combinadas de voriconazol e ciprofloxacina contra *Fusarium* spp.

Fármacos	Espécie (número da cepa)	CIM ($\mu\text{g/mL}$) de cada fármaco		CIF ($\mu\text{g/mL}$) _a	ICIF _b	Resultado
		Na combinação*	Isolado*			
voriconazol ciprofloxacina	<i>F.chlamydosporum</i> (1)	2,000 0,250	4,000 >32,000	0,500 0,004	0,504	Sinergismo
voriconazol ciprofloxacina	<i>F.chlamydosporum</i> (2)	2,000 0,250	4,000 >32,000	0,500 0,004	0,504	Sinergismo
voriconazol ciprofloxacina	<i>F.chlamydosporum</i> (3)	4,000 0,250	4,000 >32,000	1,000 0,004	1,004	Indiferença
voriconazol ciprofloxacina	<i>F.verticillioides</i> (1)	>16,000 >32,000	4,000 >32,000	8,000 1,000	9,000	Antagonismo
voriconazol ciprofloxacina	<i>F.verticillioides</i> (2)	>16,000 >32,000	4,000 >32,000	8,000 1,000	9,000	Antagonismo
voriconazol ciprofloxacina	<i>F.verticillioides</i> (3)	4,000 0,250	4,000 >32,000	1,000 0,004	1,004	Indiferença
voriconazol ciprofloxacina	<i>F.nygamai</i> (1)	4,000 0,250	4,000 >32,000	1,000 0,004	1,004	Indiferença
voriconazol ciprofloxacina	<i>F.oxysporum</i> (1)	8,000 0,250	16,000 >32,000	0,500 0,004	0,504	Sinergismo
voriconazol ciprofloxacina	<i>F.oxysporum</i> (2)	8,000 0,250	16,000 >32,000	0,500 0,004	0,504	Sinergismo
voriconazol ciprofloxacina	<i>F.oxysporum</i> (3)	4,000 0,250	16,000 >32,000	0,250 0,004	0,254	Sinergismo
voriconazol ciprofloxacina	<i>F.oxysporum</i> (4)	8,000 0,250	8,000 >32,000	1,000 0,004	1,004	Indiferença
voriconazol ciprofloxacina	<i>F.oxysporum</i> (5)	2,000 0,250	4,000 >32,000	0,500 0,004	0,504	Sinergismo
voriconazol ciprofloxacina	<i>F.oxysporum</i> (6)	2,000 0,250	2,000 >32,000	1,000 0,004	1,004	Indiferença
voriconazol ciprofloxacina	<i>F.proliferatum</i> (1)	2,000 0,250	2,000 >32,000	1,000 0,004	1,004	Indiferença
voriconazol ciprofloxacina	<i>F.proliferatum</i> (2)	2,000 0,250	4,000 >32,000	0,500 0,004	0,504	Sinergismo
voriconazol ciprofloxacina	<i>F.sporotrichoides</i> (CBS 412.86) (1)	0,250 0,250	1,000 >32,000	0,250 0,004	0,254	Sinergismo
voriconazol ciprofloxacina	<i>F.solani</i> (1)	16,000 0,250	16,000 >32,000	1,000 0,004	1,004	Indiferença
voriconazol ciprofloxacina	<i>F.solani</i> (2)	8,000 0,250	8,000 >32,000	1,000 0,004	1,004	Indiferença
voriconazol ciprofloxacina	<i>F.solani</i> (3)	4,000 0,250	4,000 >32,000	1,000 0,004	1,004	Indiferença
voriconazol ciprofloxacina	<i>F.solani</i> (4)	2,000 0,250	2,000 >32,000	1,000 0,004	1,004	Indiferença
voriconazol ciprofloxacina	<i>F.solani</i> (5)	4,000 0,250	4,000 >32,000	1,000 0,004	1,004	Indiferença

voriconazol ciprofloxacina	<i>F.solani</i> (6)	2,000 0,250	2,000 >32,000	1,000 0,004	1,004	Indiferença
voriconazol ciprofloxacina	<i>F.solani</i> (7)	4,000 0,250	4,000 >32,000	1,000 0,004	1,004	Indiferença
voriconazol ciprofloxacina	<i>F.solani</i> (8)	2,000 0,250	4,000 >32,000	0,500 0,004	0,504	Sinergismo
voriconazol ciprofloxacina	<i>F.solani</i> (9)	4,000 0,250	4,000 >32,000	1,000 0,004	1,004	Indiferença
voriconazol ciprofloxacina	<i>F.solani</i> (ATCC 36031) (10)	>16,000 >32,000	>16,000 >32,000	1,000 1,000	2,000	Indiferença
voriconazol ciprofloxacina	<i>F.solani</i> (11)	>16,000 >32,000	16,000 >32,000	2,000 1,000	3,000	Indiferença

a Divisão da CIM do fármaco na combinação pela CIM do fármaco isolado.

b ICIF é a soma das CIFs dos fármacos em combinação.

* Para CIM>16 µg/mL e CIM>32 µg/mL, foi considerado CIM=32 µg/mL e CIM=64 µg/mL, respectivamente, para o cálculo do ICIF.

APÊNDICE M - Atividades combinadas de voriconazol e metronidazol contra *Fusarium* spp.

Fármacos	Espécie (número da cepa)	CIM (µg/mL) de cada fármaco		CIF (µg/mL) _a	ICIF _b	Resultado
		Na combinação*	Isolado*			
voriconazol metronidazol	<i>F.chlamydosporum</i> (1)	4,000 0,250	4,000 >32,000	1,000 0,004	1,004	Indiferença
voriconazol metronidazol	<i>F.chlamydosporum</i> (2)	2,000 0,250	4,000 >32,000	0,500 0,004	0,504	Sinergismo
voriconazol metronidazol	<i>F.chlamydosporum</i> (3)	4,000 0,250	4,000 >32,000	1,000 0,004	1,004	Indiferença
voriconazol metronidazol	<i>F.verticillioides</i> (1)	>16,000 >32,000	4,000 >32,000	8,000 1,000	9,000	Antagonismo
voriconazol metronidazol	<i>F.verticillioides</i> (2)	>16,000 >32,000	4,000 >32,000	8,000 1,000	9,000	Antagonismo
voriconazol metronidazol	<i>F.verticillioides</i> (3)	4,000 0,250	4,000 >32,000	1,000 0,004	1,004	Indiferença
voriconazol metronidazol	<i>F.nygamai</i> (1)	4,000 0,250	4,000 >32,000	1,000 0,004	1,004	Indiferença
voriconazol metronidazol	<i>F.oxysporum</i> (1)	8,000 0,250	16,000 >32,000	0,500 0,004	0,504	Sinergismo
voriconazol metronidazol	<i>F.oxysporum</i> (2)	8,000 0,250	16,000 >32,000	0,500 0,004	0,504	Sinergismo
voriconazol metronidazol	<i>F.oxysporum</i> (3)	8,000 0,250	16,000 >32,000	0,500 0,004	0,504	Sinergismo
voriconazol metronidazol	<i>F.oxysporum</i> (4)	8,000 0,250	8,000 >32,000	1,000 0,004	1,004	Indiferença
voriconazol metronidazol	<i>F.oxysporum</i> (5)	2,000 0,250	4,000 >32,000	0,500 0,004	0,504	Sinergismo
voriconazol metronidazol	<i>F.oxysporum</i> (6)	2,000 0,250	2,000 >32,000	1,000 0,004	1,004	Indiferença
voriconazol metronidazol	<i>F.proliferatum</i> (1)	2,000 0,250	2,000 >32,000	1,000 0,004	1,004	Indiferença
voriconazol metronidazol	<i>F.proliferatum</i> (2)	2,000 0,250	4,000 >32,000	0,500 0,004	0,504	Sinergismo
voriconazol metronidazol	<i>F.sporotrichoides</i> (CBS 412.86) (1)	0,125 0,250	1,000 >32,000	0,125 0,004	0,129	Sinergismo
voriconazol metronidazol	<i>F.solani</i> (1)	>16,000 >32,000	16,000 >32,000	2,000 1,000	2,004	Indiferença
voriconazol metronidazol	<i>F.solani</i> (2)	8,000 0,250	8,000 >32,000	1,000 0,004	1,004	Indiferença
voriconazol metronidazol	<i>F.solani</i> (3)	2,000 0,250	4,000 >32,000	0,500 0,004	0,504	Sinergismo
voriconazol metronidazol	<i>F.solani</i> (4)	8,000 0,250	2,000 >32,000	4,000 0,004	4,004	Indiferença
voriconazol metronidazol	<i>F.solani</i> (5)	4,000 0,250	4,000 >32,000	1,000 0,004	1,004	Indiferença

voriconazol metronidazol	<i>F.solani</i> (6)	2,000 0,250	2,000 >32,000	1,000 0,004	1,004	Indiferença
voriconazol metronidazol	<i>F.solani</i> (7)	4,000 0,250	4,000 >32,000	1,000 0,004	1,004	Indiferença
voriconazol metronidazol	<i>F.solani</i> (8)	4,000 0,250	4,000 >32,000	1,000 0,004	1,004	Indiferença
voriconazol metronidazol	<i>F.solani</i> (9)	4,000 0,250	4,000 >32,000	1,000 0,004	1,004	Indiferença
voriconazol metronidazol	<i>F.solani</i> (ATCC 36031) (10)	>16,000 >32,000	>16,000 >32,000	1,000 1,000	2,000	Indiferença
voriconazol metronidazol	<i>F.solani</i> (11)	2,000 0,250	16,000 >32,000	0,125 0,004	0,129	Sinergismo

a Divisão da CIM do fármaco na combinação pela CIM do fármaco isolado.

b ICIF é a soma das CIFs dos fármacos em combinação.

* Para CIM>16 µg/mL e CIM>32 µg/mL, foi considerado CIM=32 µg/mL e CIM=64 µg/mL, respectivamente, para o cálculo do ICIF.

APÊNDICE N - Atividades combinadas de itraconazol e azitromicina contra *Fusarium* spp.

Fármacos	Espécie (número da cepa)	CIM (µg/mL) de cada fármaco		CIF (µg/mL) _a	ICIF _b	Resultado
		Na combinação*	Isolado*			
itraconazol azitromicina	<i>F.chlamydosporum</i> (1)	>16,000 >32,000	>16,000 >32,000	1,000 1,000	2,000	Indiferença
itraconazol azitromicina	<i>F.chlamydosporum</i> (2)	>16,000 >32,000	>16,000 >32,000	1,000 1,000	2,000	Indiferença
itraconazol azitromicina	<i>F.chlamydosporum</i> (3)	>16,000 >32,000	>16,000 >32,000	1,000 1,000	2,000	Indiferença
itraconazol azitromicina	<i>F.verticillioides</i> (1)	>16,000 >32,000	>16,000 >32,000	1,000 1,000	2,000	Indiferença
itraconazol azitromicina	<i>F.verticillioides</i> (2)	>16,000 >32,000	>16,000 >32,000	1,000 1,000	2,000	Indiferença
itraconazol azitromicina	<i>F.verticillioides</i> (3)	>16,000 >32,000	>16,000 >32,000	1,000 1,000	2,000	Indiferença
itraconazol azitromicina	<i>F.nygamai</i> (1)	>16,000 >32,000	>16,000 >32,000	1,000 1,000	2,000	Indiferença
itraconazol azitromicina	<i>F.oxysporum</i> (1)	>16,000 >32,000	>16,000 >32,000	1,000 1,000	2,000	Indiferença
itraconazol azitromicina	<i>F.oxysporum</i> (2)	>16,000 >32,000	>16,000 >32,000	1,000 1,000	2,000	Indiferença
itraconazol azitromicina	<i>F.oxysporum</i> (3)	>16,000 >32,000	>16,000 >32,000	1,000 1,000	2,000	Indiferença
itraconazol azitromicina	<i>F.oxysporum</i> (4)	>16,000 >32,000	>16,000 >32,000	1,000 1,000	2,000	Indiferença
itraconazol azitromicina	<i>F.oxysporum</i> (5)	>16,000 >32,000	>16,000 >32,000	1,000 1,000	2,000	Indiferença
itraconazol azitromicina	<i>F.oxysporum</i> (6)	>16,000 >32,000	>16,000 >32,000	1,000 1,000	2,000	Indiferença
itraconazol azitromicina	<i>F.proliferatum</i> (1)	>16,000 >32,000	>16,000 >32,000	1,000 1,000	2,000	Indiferença
itraconazol azitromicina	<i>F.proliferatum</i> (2)	>16,000 >32,000	>16,000 >32,000	1,000 1,000	2,000	Indiferença
itraconazol azitromicina	<i>F.sporotrichoides</i> (CBS 412.86) (1)	>16,000 >32,000	>16,000 >32,000	1,000 1,000	2,000	Indiferença
itraconazol azitromicina	<i>F.solani</i> (1)	>16,000 >32,000	>16,000 >32,000	1,000 1,000	2,000	Indiferença
itraconazol azitromicina	<i>F.solani</i> (2)	>16,000 >32,000	>16,000 >32,000	1,000 1,000	2,000	Indiferença
itraconazol azitromicina	<i>F.solani</i> (3)	>16,000 >32,000	>16,000 >32,000	1,000 1,000	2,000	Indiferença
itraconazol azitromicina	<i>F.solani</i> (4)	>16,000 >32,000	>16,000 >32,000	1,000 1,000	2,000	Indiferença
itraconazol azitromicina	<i>F.solani</i> (5)	>16,000 >32,000	>16,000 >32,000	1,000 1,000	2,000	Indiferença

itraconazol azitromicina	<i>F.solani</i> (6)	>16,000 >32,000	>16,000 >32,000	1,000 1,000	2,000	Indiferença
itraconazol azitromicina	<i>F.solani</i> (7)	>16,000 >32,000	>16,000 >32,000	1,000 1,000	2,000	Indiferença
itraconazol azitromicina	<i>F.solani</i> (8)	>16,000 >32,000	>16,000 >32,000	1,000 1,000	2,000	Indiferença
itraconazol azitromicina	<i>F.solani</i> (9)	>16,000 >32,000	>16,000 >32,000	1,000 1,000	2,000	Indiferença
itraconazol azitromicina	<i>F.solani</i> (ATCC 36031) (10)	>16,000 >32,000	>16,000 >32,000	1,000 1,000	2,000	Indiferença
itraconazol azitromicina	<i>F.solani</i> (11)	>16,000 >32,000	>16,000 >32,000	1,000 1,000	2,000	Indiferença

a Divisão da CIM do fármaco na combinação pela CIM do fármaco isolado.

b ICIF é a soma das CIFs dos fármacos em combinação.

* Para CIM>16 µg/mL e CIM>32 µg/mL, foi considerado CIM=32 µg/mL e CIM=64 µg/mL, respectivamente, para o cálculo do ICIF.

APÊNDICE O - Atividades combinadas de itraconazol e fluvastatina contra *Fusarium* spp.

Fármacos	Espécie (número da cepa)	CIM (µg/mL) de cada fármaco		CIF (µg/mL) _a	ICIF _b	Resultado
		Na combinação*	Isolado*			
itraconazol fluvastatina	<i>F.chlamydosporum</i> (1)	>16,000 >32,000	>16,000 >32,000	1,000 1,000	2,000	Indiferença
itraconazol fluvastatina	<i>F.chlamydosporum</i> (2)	>16,000 >32,000	>16,000 >32,000	1,000 1,000	2,000	Indiferença
itraconazol fluvastatina	<i>F.chlamydosporum</i> (3)	>16,000 >32,000	>16,000 >32,000	1,000 1,000	2,000	Indiferença
itraconazol fluvastatina	<i>F.verticillioides</i> (1)	>16,000 >32,000	>16,000 >32,000	1,000 1,000	2,000	Indiferença
itraconazol fluvastatina	<i>F.verticillioides</i> (2)	>16,000 >32,000	>16,000 >32,000	1,000 1,000	2,000	Indiferença
itraconazol fluvastatina	<i>F.verticillioides</i> (3)	>16,000 >32,000	>16,000 >32,000	1,000 1,000	2,000	Indiferença
itraconazol fluvastatina	<i>F.nygamai</i> (1)	>16,000 >32,000	>16,000 >32,000	1,000 1,000	2,000	Indiferença
itraconazol fluvastatina	<i>F.oxysporum</i> (1)	>16,000 >32,000	>16,000 >32,000	1,000 1,000	2,000	Indiferença
itraconazol fluvastatina	<i>F.oxysporum</i> (2)	>16,000 >32,000	>16,000 >32,000	1,000 1,000	2,000	Indiferença
itraconazol fluvastatina	<i>F.oxysporum</i> (3)	>16,000 >32,000	>16,000 >32,000	1,000 1,000	2,000	Indiferença
itraconazol fluvastatina	<i>F.oxysporum</i> (4)	>16,000 >32,000	>16,000 >32,000	1,000 1,000	2,000	Indiferença
itraconazol fluvastatina	<i>F.oxysporum</i> (5)	>16,000 >32,000	>16,000 >32,000	1,000 1,000	2,000	Indiferença
itraconazol fluvastatina	<i>F.oxysporum</i> (6)	>16,000 >32,000	>16,000 >32,000	1,000 1,000	2,000	Indiferença
itraconazol fluvastatina	<i>F.proliferatum</i> (1)	>16,000 >32,000	>16,000 >32,000	1,000 1,000	2,000	Indiferença
itraconazol fluvastatina	<i>F.proliferatum</i> (2)	>16,000 >32,000	>16,000 >32,000	1,000 1,000	2,000	Indiferença
itraconazol fluvastatina	<i>F.sporotrichoides</i> (CBS 412.86) (1)	>16,000 >32,000	>16,000 >32,000	1,000 1,000	2,000	Indiferença
itraconazol fluvastatina	<i>F.solani</i> (1)	>16,000 >32,000	>16,000 >32,000	1,000 1,000	2,000	Indiferença
itraconazol fluvastatina	<i>F.solani</i> (2)	>16,000 >32,000	>16,000 >32,000	1,000 1,000	2,000	Indiferença
itraconazol fluvastatina	<i>F.solani</i> (3)	>16,000 >32,000	>16,000 >32,000	1,000 1,000	2,000	Indiferença
itraconazol fluvastatina	<i>F.solani</i> (4)	>16,000 >32,000	>16,000 >32,000	1,000 1,000	2,000	Indiferença
itraconazol fluvastatina	<i>F.solani</i> (5)	>16,000 >32,000	>16,000 >32,000	1,000 1,000	2,000	Indiferença

itraconazol fluvastatina	<i>F.solani</i> (6)	>16,000 >32,000	>16,000 >32,000	1,000 1,000	2,000	Indiferença
itraconazol fluvastatina	<i>F.solani</i> (7)	>16,000 >32,000	>16,000 >32,000	1,000 1,000	2,000	Indiferença
itraconazol fluvastatina	<i>F.solani</i> (8)	>16,000 >32,000	>16,000 >32,000	1,000 1,000	2,000	Indiferença
itraconazol fluvastatina	<i>F.solani</i> (9)	>16,000 >32,000	>16,000 >32,000	1,000 1,000	2,000	Indiferença
itraconazol fluvastatina	<i>F.solani</i> (ATCC 36031) (10)	>16,000 >32,000	>16,000 >32,000	1,000 1,000	2,000	Indiferença
itraconazol fluvastatina	<i>F.solani</i> (11)	>16,000 >32,000	>16,000 >32,000	1,000 1,000	2,000	Indiferença

a Divisão da CIM do fármaco na combinação pela CIM do fármaco isolado.

b ICIF é a soma das CIFs dos fármacos em combinação.

* Para CIM>16 µg/mL e CIM>32 µg/mL, foi considerado CIM=32 µg/mL e CIM=64 µg/mL, respectivamente, para o cálculo do ICIF.

APÊNDICE P - Atividades combinadas de itraconazol e ibuprofeno contra *Fusarium* spp.

Fármacos	Espécie (número da cepa)	CIM (µg/mL) de cada fármaco		CIF (µg/mL) _a	ICIF _b	Resultado
		Na combinação*	Isolado*			
itraconazol ibuprofeno	<i>F.chlamydosporum</i> (1)	>16,000 >32,000	>16,000 >32,000	1,000 1,000	2,000	Indiferença
itraconazol ibuprofeno	<i>F.chlamydosporum</i> (2)	>16,000 >32,000	>16,000 >32,000	1,000 1,000	2,000	Indiferença
itraconazol ibuprofeno	<i>F.chlamydosporum</i> (3)	>16,000 >32,000	>16,000 >32,000	1,000 1,000	2,000	Indiferença
itraconazol ibuprofeno	<i>F.verticillioides</i> (1)	>16,000 >32,000	>16,000 >32,000	1,000 1,000	2,000	Indiferença
itraconazol ibuprofeno	<i>F.verticillioides</i> (2)	>16,000 >32,000	>16,000 >32,000	1,000 1,000	2,000	Indiferença
itraconazol ibuprofeno	<i>F.verticillioides</i> (3)	>16,000 >32,000	>16,000 >32,000	1,000 1,000	2,000	Indiferença
itraconazol ibuprofeno	<i>F.nygamai</i> (1)	>16,000 >32,000	>16,000 >32,000	1,000 1,000	2,000	Indiferença
itraconazol ibuprofeno	<i>F.oxysporum</i> (1)	>16,000 >32,000	>16,000 >32,000	1,000 1,000	2,000	Indiferença
itraconazol ibuprofeno	<i>F.oxysporum</i> (2)	>16,000 >32,000	>16,000 >32,000	1,000 1,000	2,000	Indiferença
itraconazol ibuprofeno	<i>F.oxysporum</i> (3)	>16,000 >32,000	>16,000 >32,000	1,000 1,000	2,000	Indiferença
itraconazol ibuprofeno	<i>F.oxysporum</i> (4)	>16,000 >32,000	>16,000 >32,000	1,000 1,000	2,000	Indiferença
itraconazol ibuprofeno	<i>F.oxysporum</i> (5)	>16,000 >32,000	>16,000 >32,000	1,000 1,000	2,000	Indiferença
itraconazol ibuprofeno	<i>F.oxysporum</i> (6)	>16,000 >32,000	>16,000 >32,000	1,000 1,000	2,000	Indiferença
itraconazol ibuprofeno	<i>F.proliferatum</i> (1)	>16,000 >32,000	>16,000 >32,000	1,000 1,000	2,000	Indiferença
itraconazol ibuprofeno	<i>F.proliferatum</i> (2)	>16,000 >32,000	>16,000 >32,000	1,000 1,000	2,000	Indiferença
itraconazol ibuprofeno	<i>F.sporotrichoides</i> (CBS 412.86) (1)	>16,000 >32,000	>16,000 >32,000	1,000 1,000	2,000	Indiferença
itraconazol ibuprofeno	<i>F.solani</i> (1)	>16,000 >32,000	>16,000 >32,000	1,000 1,000	2,000	Indiferença
itraconazol ibuprofeno	<i>F.solani</i> (2)	>16,000 >32,000	>16,000 >32,000	1,000 1,000	2,000	Indiferença
itraconazol ibuprofeno	<i>F.solani</i> (3)	>16,000 >32,000	>16,000 >32,000	1,000 1,000	2,000	Indiferença
itraconazol ibuprofeno	<i>F.solani</i> (4)	>16,000 >32,000	>16,000 >32,000	1,000 1,000	2,000	Indiferença
itraconazol ibuprofeno	<i>F.solani</i> (5)	>16,000 >32,000	>16,000 >32,000	1,000 1,000	2,000	Indiferença

itraconazol ibuprofeno	<i>F.solani</i> (6)	>16,000 >32,000	>16,000 >32,000	1,000 1,000	2,000	Indiferença
itraconazol ibuprofeno	<i>F.solani</i> (7)	>16,000 >32,000	>16,000 >32,000	1,000 1,000	2,000	Indiferença
itraconazol ibuprofeno	<i>F.solani</i> (8)	>16,000 >32,000	>16,000 >32,000	1,000 1,000	2,000	Indiferença
itraconazol ibuprofeno	<i>F.solani</i> (9)	>16,000 >32,000	>16,000 >32,000	1,000 1,000	2,000	Indiferença
itraconazol ibuprofeno	<i>F.solani</i> (ATCC 36031) (10)	>16,000 >32,000	>16,000 >32,000	1,000 1,000	2,000	Indiferença
itraconazol ibuprofeno	<i>F.solani</i> (11)	>16,000 >32,000	>16,000 >32,000	1,000 1,000	2,000	Indiferença

a Divisão da CIM do fármaco na combinação pela CIM do fármaco isolado.

b ICIF é a soma das CIFs dos fármacos em combinação.

* Para CIM>16 µg/mL e CIM>32 µg/mL, foi considerado CIM=32 µg/mL e CIM=64 µg/mL, respectivamente, para o cálculo do ICIF.

APÊNDICE Q - Atividades combinadas de itraconazol e ciprofloxacina contra *Fusarium* spp.

Fármacos	Espécie (número da cepa)	CIM (µg/mL) de cada fármaco		CIF (µg/mL) _a	ICIF _b	Resultado
		Na combinação*	Isolado*			
itraconazol ciprofloxacina	<i>F.chlamydosporum</i> (1)	>16,000 >32,000	>16,000 >32,000	1,000 1,000	2,000	Indiferença
itraconazol ciprofloxacina	<i>F.chlamydosporum</i> (2)	>16,000 >32,000	>16,000 >32,000	1,000 1,000	2,000	Indiferença
itraconazol ciprofloxacina	<i>F.chlamydosporum</i> (3)	>16,000 >32,000	>16,000 >32,000	1,000 1,000	2,000	Indiferença
itraconazol ciprofloxacina	<i>F.verticillioides</i> (1)	>16,000 >32,000	>16,000 >32,000	1,000 1,000	2,000	Indiferença
itraconazol ciprofloxacina	<i>F.verticillioides</i> (2)	>16,000 >32,000	>16,000 >32,000	1,000 1,000	2,000	Indiferença
itraconazol ciprofloxacina	<i>F.verticillioides</i> (3)	>16,000 >32,000	>16,000 >32,000	1,000 1,000	2,000	Indiferença
itraconazol ciprofloxacina	<i>F.nygamai</i> (1)	>16,000 >32,000	>16,000 >32,000	1,000 1,000	2,000	Indiferença
itraconazol ciprofloxacina	<i>F.oxysporum</i> (1)	>16,000 >32,000	>16,000 >32,000	1,000 1,000	2,000	Indiferença
itraconazol ciprofloxacina	<i>F.oxysporum</i> (2)	>16,000 >32,000	>16,000 >32,000	1,000 1,000	2,000	Indiferença
itraconazol ciprofloxacina	<i>F.oxysporum</i> (3)	>16,000 >32,000	>16,000 >32,000	1,000 1,000	2,000	Indiferença
itraconazol ciprofloxacina	<i>F.oxysporum</i> (4)	>16,000 >32,000	>16,000 >32,000	1,000 1,000	2,000	Indiferença
itraconazol ciprofloxacina	<i>F.oxysporum</i> (5)	>16,000 >32,000	>16,000 >32,000	1,000 1,000	2,000	Indiferença
itraconazol ciprofloxacina	<i>F.oxysporum</i> (6)	>16,000 >32,000	>16,000 >32,000	1,000 1,000	2,000	Indiferença
itraconazol ciprofloxacina	<i>F.proliferatum</i> (1)	>16,000 >32,000	>16,000 >32,000	1,000 1,000	2,000	Indiferença
itraconazol ciprofloxacina	<i>F.proliferatum</i> (2)	>16,000 >32,000	>16,000 >32,000	1,000 1,000	2,000	Indiferença
itraconazol ciprofloxacina	<i>F.sporotrichoides</i> (CBS 412.86) (1)	>16,000 >32,000	>16,000 >32,000	1,000 1,000	2,000	Indiferença
itraconazol ciprofloxacina	<i>F.solani</i> (1)	>16,000 >32,000	>16,000 >32,000	1,000 1,000	2,000	Indiferença
itraconazol ciprofloxacina	<i>F.solani</i> (2)	>16,000 >32,000	>16,000 >32,000	1,000 1,000	2,000	Indiferença
itraconazol ciprofloxacina	<i>F.solani</i> (3)	>16,000 >32,000	>16,000 >32,000	1,000 1,000	2,000	Indiferença
itraconazol ciprofloxacina	<i>F.solani</i> (4)	>16,000 >32,000	>16,000 >32,000	1,000 1,000	2,000	Indiferença
itraconazol ciprofloxacina	<i>F.solani</i> (5)	>16,000 >32,000	>16,000 >32,000	1,000 1,000	2,000	Indiferença

itraconazol ciprofloxacina	<i>F.solani</i> (6)	>16,000 >32,000	>16,000 >32,000	1,000 1,000	2,000	Indiferença
itraconazol ciprofloxacina	<i>F.solani</i> (7)	>16,000 >32,000	>16,000 >32,000	1,000 1,000	2,000	Indiferença
itraconazol ciprofloxacina	<i>F.solani</i> (8)	>16,000 >32,000	>16,000 >32,000	1,000 1,000	2,000	Indiferença
itraconazol ciprofloxacina	<i>F.solani</i> (9)	>16,000 >32,000	>16,000 >32,000	1,000 1,000	2,000	Indiferença
itraconazol ciprofloxacina	<i>F.solani</i> (ATCC 36031) (10)	>16,000 >32,000	>16,000 >32,000	1,000 1,000	2,000	Indiferença
itraconazol ciprofloxacina	<i>F.solani</i> (11)	>16,000 >32,000	>16,000 >32,000	1,000 1,000	2,000	Indiferença

a Divisão da CIM do fármaco na combinação pela CIM do fármaco isolado.

b ICIF é a soma das CIFs dos fármacos em combinação.

* Para CIM>16 µg/mL e CIM>32 µg/mL, foi considerado CIM=32 µg/mL e CIM=64 µg/mL, respectivamente, para o cálculo do ICIF.

APÊNDICE R - Atividades combinadas de itraconazol e metronidazol contra *Fusarium* spp.

Fármacos	Espécie (número da cepa)	CIM (µg/mL) de cada fármaco		CIF (µg/mL) _a	ICIF _b	Resultado
		Na combinação*	Isolado*			
itraconazol metronidazol	<i>F.chlamydosporum</i> (1)	>16,000 >32,000	>16,000 >32,000	1,000 1,000	2,000	Indiferença
itraconazol metronidazol	<i>F.chlamydosporum</i> (2)	>16,000 >32,000	>16,000 >32,000	1,000 1,000	2,000	Indiferença
itraconazol metronidazol	<i>F.chlamydosporum</i> (3)	>16,000 >32,000	>16,000 >32,000	1,000 1,000	2,000	Indiferença
itraconazol metronidazol	<i>F.verticillioides</i> (1)	>16,000 >32,000	>16,000 >32,000	1,000 1,000	2,000	Indiferença
itraconazol metronidazol	<i>F.verticillioides</i> (2)	>16,000 >32,000	>16,000 >32,000	1,000 1,000	2,000	Indiferença
itraconazol metronidazol	<i>F.verticillioides</i> (3)	>16,000 >32,000	>16,000 >32,000	1,000 1,000	2,000	Indiferença
itraconazol metronidazol	<i>F.nygamai</i> (1)	>16,000 >32,000	>16,000 >32,000	1,000 1,000	2,000	Indiferença
itraconazol metronidazol	<i>F.oxysporum</i> (1)	>16,000 >32,000	>16,000 >32,000	1,000 1,000	2,000	Indiferença
itraconazol metronidazol	<i>F.oxysporum</i> (2)	>16,000 >32,000	>16,000 >32,000	1,000 1,000	2,000	Indiferença
itraconazol metronidazol	<i>F.oxysporum</i> (3)	>16,000 >32,000	>16,000 >32,000	1,000 1,000	2,000	Indiferença
itraconazol metronidazol	<i>F.oxysporum</i> (4)	>16,000 >32,000	>16,000 >32,000	1,000 1,000	2,000	Indiferença
itraconazol metronidazol	<i>F.oxysporum</i> (5)	>16,000 >32,000	>16,000 >32,000	1,000 1,000	2,000	Indiferença
itraconazol metronidazol	<i>F.oxysporum</i> (6)	>16,000 >32,000	>16,000 >32,000	1,000 1,000	2,000	Indiferença
itraconazol metronidazol	<i>F.proliferatum</i> (1)	>16,000 >32,000	>16,000 >32,000	1,000 1,000	2,000	Indiferença
itraconazol metronidazol	<i>F.proliferatum</i> (2)	>16,000 >32,000	>16,000 >32,000	1,000 1,000	2,000	Indiferença
itraconazol metronidazol	<i>F.sporotrichoides</i> (CBS 412.86) (1)	>16,000 >32,000	>16,000 >32,000	1,000 1,000	2,000	Indiferença
itraconazol metronidazol	<i>F.solani</i> (1)	>16,000 >32,000	>16,000 >32,000	1,000 1,000	2,000	Indiferença
itraconazol metronidazol	<i>F.solani</i> (2)	>16,000 >32,000	>16,000 >32,000	1,000 1,000	2,000	Indiferença
itraconazol metronidazol	<i>F.solani</i> (3)	>16,000 >32,000	>16,000 >32,000	1,000 1,000	2,000	Indiferença
itraconazol metronidazol	<i>F.solani</i> (4)	>16,000 >32,000	>16,000 >32,000	1,000 1,000	2,000	Indiferença
itraconazol metronidazol	<i>F.solani</i> (5)	>16,000 >32,000	>16,000 >32,000	1,000 1,000	2,000	Indiferença

itraconazol metronidazol	<i>F.solani</i> (6)	>16,000 >32,000	>16,000 >32,000	1,000 1,000	2,000	Indiferença
itraconazol metronidazol	<i>F.solani</i> (7)	>16,000 >32,000	>16,000 >32,000	1,000 1,000	2,000	Indiferença
itraconazol metronidazol	<i>F.solani</i> (8)	>16,000 >32,000	>16,000 >32,000	1,000 1,000	2,000	Indiferença
itraconazol metronidazol	<i>F.solani</i> (9)	>16,000 >32,000	>16,000 >32,000	1,000 1,000	2,000	Indiferença
itraconazol metronidazol	<i>F.solani</i> (ATCC 36031) (10)	>16,000 >32,000	>16,000 >32,000	1,000 1,000	2,000	Indiferença
itraconazol metronidazol	<i>F.solani</i> (11)	>16,000 >32,000	>16,000 >32,000	1,000 1,000	2,000	Indiferença

a Divisão da CIM do fármaco na combinação pela CIM do fármaco isolado.

b ICIF é a soma das CIFs dos fármacos em combinação.

* Para CIM>16 µg/mL e CIM>32 µg/mL, foi considerado CIM=32 µg/mL e CIM=64 µg/mL, respectivamente, para o cálculo do ICIF.

10 ANEXOS

10.1 Anexo 1 - Preparação dos meios de cultura

10.1.1 Ágar Batata Dextrose (PDA)

Extrato de batata.....	4,0 g
Dextrose.....	20,0 g
Ágar.....	15,0 g
Água destilada q.s.p.	1000 mL

Adicionar o ágar à água destilada e aquecer até solubilização completa. Adicionar os outros componentes à mistura e esterelizar em autoclave a 121°C durante 15 minutos.

10.1.2 Meio RPMI 1640

RPMI 1640 em pó (com glutamina e vermelho de fenol, sem bicarbonato.....	10,40 g
MOPS (ácido 3-[N-morfolino] propanosulfônico).....	34,53 g
Dextrose.....	20,00 g

Dissolver o meio em pó em 900 mL de água destilada. Acrescentar o MOPS (concentração final de 0,165 mol/L) e a dextrose, agitando até dissolver. Ajustar o pH para 7,0 a 25°C, utilizando hidróxido de sódio 1 mol/L. Acrescentar água destilada adicional para completar o volume de 1000 mL. Esterelizar por filtração e armazenar a 4°C.

10.2 Anexo 2 - Preparação da solução salina

Cloreto de sódio (NaCl)..... 0,85 g
Água destilada q.s.p. 100 mL

Adicionar o cloreto de sódio na água destilada e agitar com bastão de vidro até solubilização completa. Autoclavar a 121°C por 15 minutos.