MARJORIE VIEIRA BATISTA

**Aspergilose invasiva em pacientes imunodeprimidos:
comparação entre as provas de galactomanana,
1,3 β D-glucana, dados tomográficos e desfecho clínico**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo para obtenção do título de
Doutor em Ciências

Programa de Doenças Infecciosas e Parasitárias

Orientadora: Profa. Maria Aparecida Shikanai Yasuda

São Paulo

2015

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Batista, Marjorie Vieira

Aspergilose invasiva em pacientes imunodeprimidos : comparação entre as provas de galactomanana, 1,3 β D-glucana, dados tomográficos e desfecho clínico / Marjorie Vieira Batista. -- São Paulo, 2015.

Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.
Programa de Doenças Infecciosas e Parasitárias.

Orientadora: Maria Aparecida Shikanai Yasuda.

Descritores: 1.Micoses 2.Aspergilose pulmonar invasiva 3.Aspergilose
4.Hospedeiro imunocomprometido 5.Transplante de células-tronco hematopoéticas
6.Transplante 7.Beta-glucanas 8.Tomografia computadorizada por raios X 9.Testes
imunológicos 10.Neutropenia febril

USP/FM/DBD-087/15

DEDICATÓRIA

Dedico esta tese especialmente

Ao Saulo Araújo Passos que esteve ao meu lado durante todos esses anos me apoiando e incentivando para realização dos meus sonhos.

À meus pais Hebert e Elcy, pelo amor,
dedicação e caráter e às minhas irmãs
Cristiane e Júlia pelo companheirismo,
amor e amizade.

A minha querida “Vó Cristina” pela
sabedoria, amor e carinho que sempre teve comigo.

AGRADECIMENTOS

AGRADECIMENTO ESPECIAL

Gostaria de fazer um agradecimento especial a Profa Maria Aparecida Shikanai Yasuda, uma professora e pesquisadora sem dúvida nenhuma à frente do seu tempo e com uma dedicação exemplar. Posso dizer que durante esses 8 anos de convivência ela foi e sempre será um exemplo de entrega e incansável busca de aprimoramento. Obrigada por me receber como sua aluna, aprendi muito nas reuniões do laboratório, nas aulas, nas reuniões clínicas, nas visitas às enfermarias e nas conversas informais. Obrigada pelo cuidado, carinho e pelas oportunidades oferecidas.

AGRADECIMENTO ESPECIAL

À Profa. Dra. Silvia Figueiredo Costa pelos ensinamentos, pela amizade e companheirismo e pelas oportunidades oferecidas. Agradeço imensamente a sua companhia principalmente nos momentos em que eu estava longe da minha família e me sentindo sozinha. Pelo apoio nessa fase final me poupando para que eu pudesse finalizar a tese e sempre com uma palavra de incentivo e carinho. Obrigada.

AGRADECIMENTO ESPECIAL

Agradeço imensamente toda equipe do Laboratório de Investigação Médica (LIM 48), minhas queridas amigas Cláudia e Constância não apenas pelos ensinamentos mas pela amizade e companheirismo diário. Todo meu carinho e respeito para Paula, Vera, Sheila, Célia, Érica, Marcelo Magri, Márcia Andrea, Dona Antônia, Daniel, Vivian, Flávia, Daiane, Felipe e Carolina.

AGRADECIMENTOS

A conclusão do doutorado representa uma etapa realizada do meu sonho. O aprendizado da pesquisa aplicada a clínica, o convívio com pacientes, alunos, residentes, colegas de trabalho e professores, tudo isso representa o lugar aonde eu sempre quis estar.

A todos meus agradecimentos

Aos pacientes presentes e àqueles que já partiram que contribuíram com nosso estudo na esperança de melhores cuidados.

Ao Grupo de Infecção em pacientes imunodeprimidos pela colaboração com o estudo.

À equipe da Hemalogia/TCTH do HCFMUSP pela parceria diária na inclusão de sujeitos para o estudo. Agradeço imensamente aos médicos assistentes Guilherme, Ulisses, Priscila, Lívia, Érick, Jair, Marina, Frederico Dulley. Agradeço também às enfermeiras Tânia, Cláudia, Yolanda, Osvalda, Rosangela pela coleta das amostras e pelo incentivo.

Ao Grupo e Serviço de Controle de Infecção Hospitalar pela ajuda com dados clínicos de tratamento dos pacientes. Agradeço em especial Dra Thais Guimarães, Cristina e Elizabeth pela gentileza e atenção.

Aos amigos do Laboratório de Micologia Dra Gilda Del Negro, Mauro Giudice, Dr Gil Bernard, Roseli, Mônica, Dr João Nóbrega pelo apoio e palavras de incentivo.

À Divisão de Clínicas de Moléstias Infecciosas e Parasitárias do HCFMUSP e ao Departamento de Moléstias Infecciosas e Parasitárias da FMUSP pelo apoio, incentivo e colaboração.

Ao Grupo da Interconsulta da manhã por me alertar de casos que poderiam contribuir com o projeto.

Ao Laboratório Central do HCFMUSP pelas informações sobre os pacientes.

Ao Arquivo médico do HCFMUSP, principalmente pela gentileza do Antônio Manuel Tomé que viabilizou a revisão dos prontuários em tempo otimizado.

Ao SVO, Sr. Nilton, pela colaboração nas fichas de óbitos.

Ao Serviço de Pós Graduação da FMUSP, Roseli e Vânia pela atenção e ajuda no dia a dia do aluno.

Ao Prof Aluísio C Segurado pelas palavras de incentivo e apoio sempre estimulando a carreira acadêmica e científica.

Ao Dr Richard B Moss pela amizade e apoio na pesquisa e incentivo à carreira acadêmica.

Ao Dr Ivan Leonardo França pela colaboração, apoio e amizade.

A Profa Susan Castelhana pela amizade e ensinamentos.

Ao querido amigo Cristiano Gamba que esteve comigo desde o início me apoiando e aconselhando.

Aos amigos do café cultural, Rodolfo e Sérgio pelas discussões políticas e pelo incentivo à carreira acadêmica.

Aos amigos Adriana Coracin, Hermes Higashino e Jéssica Fernandes pelo incentivo e amizade.

À amiga Ana Paula Borges que esteve comigo esses últimos meses me apoiando incondicionalmente.

À Rute Tomida pelo formatação da tese de maneira tão cuidadosa e dedicada.

Esta tese está de acordo com as seguintes normas, em vigor no momento da sua publicação:

Referências: adaptado de *International Committee of Medical Journals Editors* (Vancouver).

Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Divisão de Biblioteca e Documentação. *Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias*. Elaborado por Anneliese Carneiro da Cunha, Maria Julia de A.L. Freddi, Maria Fazanelli Crestana, Marinalva de Souza Aragão, Suely Campos Cardoso, Valéria Vilhena. 3. ed. São Paulo: Divisão de Biblioteca e Documentação; 2011.

Abreviatura dos títulos dos periódicos de acordo com *List of Journals Indexed in Index Medicus*.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	1
2 OBJETIVOS	10
2.1 Geral.....	11
2.2 Específicos	11
3 CASUÍSTICA, MATERIAIS E MÉTODOS	12
3.1 Desenho do estudo	13
3.1.1 Casuística	13
3.1.2 Critérios de inclusão	13
3.1.3 Classificação de AI segundo EORTC/MSG.....	14
3.1.4 Ficha clínico-epidemiológica.....	17
3.2 Materiais e Métodos.....	18
3.2.1 Material biológico.....	18
3.2.2 Provas imunoenzimáticas	18
3.2.3 Prova ELISA GM	19
3.2.4 Prova enzimática 1,3βD-glucana	20
3.2.5 Medidas de desempenho das provas de GM e 1,3βD-glucana	20
3.3 Análises estatísticas	21
4 RESULTADOS	22
5 DISCUSSÃO	59
6 CONCLUSÃO	70
7 ANEXOS	73
8 REFERÊNCIAS.....	88

LISTAS

SIGLAS

AI:	aspergilose invasiva
ASC:	área sob a curva
BDG:	1,3 β D-glucana
DECH:	doença do enxero contra o hospedeiro
EORTC/MSG:	European Organization for Research and Treatment of Cancer/Mycoses Study Group
GM:	galactomanana
IC:	Intervalo de confiança
ICS:	Infecção de corrente sanguínea
IFI:	infecção fúngica invasiva
LR:	limiar de reatividade
ROC:	Receiver Operating Characteristic
RR:	razão de riscos
TC:	tomografia computadorizada
TCTH:	transplante de células tronco hematopoiéticas
TOS:	transplante de órgãos sólidos
VPN:	valor preditivo negativo
VPP:	valor preditivo positivo
VRS:	vírus respiratório sincicial

FIGURAS

Figura 1 -	Esquematização da casuística do presente estudo	23
Figura 2 -	Comparação das curvas ROC da GM, no soro, de acordo com diferentes LR's e suas respectivas ASC. Nos sujeitos com AI provada (Figura A) e nos sujeitos com AI provada e provável (Figura B).....	32
Figura 3 -	Comparação das curvas ROC da GM, no LBA, de acordo com diferentes LR's e suas respectivas ASC. Nos sujeitos com AI provada (Figura A) e nos sujeitos com AI provada e provável (Figura B).....	35
Figura 4 -	Comparação das curvas ROC da BDG, no soro, de acordo com diferentes LR's e suas respectivas ASC nos sujeitos com AI provada (Figura A) e nos pacientes com AI provada e provável (Figura B).....	40
Figura 5 -	Comparação das curvas ROC da BDG, no LBA, de acordo com diferentes LR's e suas respectivas ASC nos sujeitos com AI provada (Figura A) e nos sujeitos com AI provada e provável (Figura B).....	43
Figura 6 -	Comparação entre as medianas das dosagens da GM, no soro (Figura A) e LBA (Figura B), segundo critério EORTC 2002, entre os sujeitos com AI provada, 17/7 e provável, 18/17, possível, 141/49, e os controles, 153/27, pelo teste U de Mann-Whitney, considerando $p < 0,05$	45
Figura 7 -	Comparação entre as medianas das dosagens da BDG, no soro (Figura A) e LBA (Figura B), entre os sujeitos com AI provada, 16/8; provável, 39/22; possível, 17/17; e os controles, 109/26, pelo teste U de Mann-Whitney. Os valores de p encontrados foram considerados significativos quando $p < 0,05$	47
Figura 8 -	Comparação entre as medianas dos índices de GM de 27 sujeitos com AI provada e provável, segundo critério EORTC 2008, no soro e lavado broncoalveolar, pelo teste U de Mann-Whitney com $p = 0,001$	49
Figura 9 -	Comparação entre as medianas dos índices de BDG, de 70 sujeitos com AI provada e provável, segundo critério EORTC 2008, no soro e lavado broncoalveolar, pelo teste U de Mann-Whitney com $p = 0,198$	49

- Figura 10 -** Distribuição dos LRs dos ensaios de **A.** GM no soro; **B.** GM no LBA; **C.** BDG no soro e **D.** BDG no LBA em amostras de casos com infecções ou colonizações concomitantes e controles sem e com outras infecções. ICS: infecção de corrente sanguínea; VRS: vírus respiratório sincicial..... 56
- Figura 11 -** Comparação entre as medianas de dias de antifúngicos antes da coleta da primeira dosagem de GM, em soro de 50 sujeitos e no LBA de 27 sujeitos com aspergilose provada e provável, pelo teste U de Mann-Whitney, $p=0,18$ e $p=0,51$, para um nível de significância de $p<0,05$ 57
- Figura 12 -** Curva de sobrevida, Kaplan-Meyer, de 28 sujeitos com AI provada e provável, segundo EORTC 2008, que negativaram ou mantiveram níveis positivos de GM. Log Rank test $p=0,03$ 58

TABELAS

Tabela 1 -	Características epidemiológicas e evolução de 202 casos e 196 controles.....	25
Tabela 2 -	Análise de regressão logística, bivariável e multivariável, de variáveis associadas aos fatores de risco para desenvolvimento de AI entre 354 sujeitos	27
Tabela 3 -	Análise de regressão logística, bivariável e multivariável, de variáveis associadas ao óbito entre 249 sujeitos	29
Tabela 4 -	Desempenho da GM no soro de sujeitos AI provada e provável, utilizando 95% , segundo critério EORTC 2002, utilizando 95% de intervalo de confiança	31
Tabela 5 -	Desempenho da GM no LBA de sujeitos com AI provada e provável, , segundo critério EORTC 2002, utilizando 95% de intervalo de confiança	34
Tabela 6 -	Contribuição da GM, soro e LBA, no diagnóstico da AI	36
Tabela 7 -	Desempenho da GM no soro de 51 sujeitos e no LBA de 29 sujeitos com AI provada e provável, segundo critério EORTC 2008, utilizando 95% de intervalo de confiança.....	37
Tabela 8 -	Desempenho das provas de 1,3 β D-glucana no soro de 55 sujeitos com AI provada e provável, segundo critério EORTC 2008, utilizando 95% de intervalo de confiança.....	39
Tabela 9 -	Desempenho das provas de 1,3 β D-glucana no LBA de 30 sujeitos com AI provada e provável, segundo critério EORTC 2008, utilizando 95% de intervalo de confiança.....	42
Tabela 10 -	Concordância entre os laudos de 155 TC de tórax, avaliadas por 2 radiologistas de maneira cega para a hipótese diagnóstica IFI.....	51
Tabela 11 -	Concordância entre os métodos diagnósticos GM, 1,3 β -D-glucana e imagem no diagnóstico da Aspergilose Invasiva	53

RESUMO

Batista MV. *Aspergilose invasiva em pacientes imunodeprimidos: comparação entre as provas de Galactomanana, 1,3BD-glucana, dados tomográficos e desfecho clínico* [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2015.

A aspergilose invasiva (AI) é a infecção por fungos filamentosos mais comum em pacientes imunodeprimidos, especialmente em transplantes de células tronco hematopoiético e neoplasias hematológicas. Objetivo: **Geral:** Estabelecer a comparação entre a dosagem de Galactomanana (GM), 1,3 β D-glucana (BDG) e dados tomográficos no diagnóstico da AI bem como seu papel no desfecho clínico. **Específicos:** 1. Verificar a sensibilidade e especificidade dos ensaios de Galactomanana e de 1,3 β D-glucana no soro e lavado broncoalveolar. 2. Comparar os resultados da galatomanana e 1,3 β D-glucana com os dados de imagem em pacientes com suspeita de AI. 3. Verificar a relação entre a evolução dos níveis de GM e desfecho clínico (óbito e sobrevida). **Casuística, Materiais e Métodos:** Realizou-se um estudo tipo coorte prospectiva, incluindo 398 sujeitos das diversas enfermarias de pacientes imunodeprimidos do HCFMUSP, sendo incluídos dois grupos de pacientes: 202(51%) AI e 198(49%) controles. **Resultados:** Dos casos, 18 (8,8%) tinham aspergilose provada, 28 (13,7%) provável e 158 possível (77,5%), de acordo a classificação de 2002 EORTC/MSG (European Organization for Research and Treatment of Cancer / Mycoses Study Group). Os sujeitos submetidos ao TCTH eram 42,7%, com neoplasias hematológicas 37%, TOS 9% e outras doenças 11,3%. Os fatores de risco associados ao desenvolvimento da AI foram neutropenia, monocitopenia, uso de corticóide, presença de doença pelo citomegalovírus e rejeição ou doença do enxerto contra o hospedeiro. O fator de risco associado à evolução para o óbito foi a presença de AI. Foram observados bons desempenhos para a GM tanto no soro como no LBA com LR menores que os registrados na literatura. O melhor desempenho da GM no soro para aspergilose+provável ocorreu com LR de 0,35 com sensibilidade-S, especificidade-E, valor preditivo positivo-VPP), valor preditivo negativo-VPN) e área sob a curva-ASC de 54,4%, 73,4%, 50,8%, 76,2% e 0,64, sendo os valores superiores para aspergilose provada tanto na S, como E, VPN. No LBA os valores de S-E-VPP-VPN-ASC para GM para LR de 0,65 para aspergilose provável + provada foram 58,3%, 92,6%, 87,5%, 71,4% e 0,75, sendo na aspergilose provada os valores de S, e VPN superiores. Nesta casuística, o melhor desempenho para BDG no soro apontou para uma LR de 100 pg/mL na aspergilose provável+provada, com 54,5%, 73,4%, 50,8% e 76,2%, 0,64 respectivamente para S-E-VPP-VPN-ASC. Para BDG no LBA, a LR na aspergilose provável + provada foi de 140 pg/mL, com os mesmos valores de 46,7%, 76,7%, 70%, 55,6% e 0.62, respectivamente. **Conclusão:** A GM no LBA e no soro foram úteis no diagnóstico da aspergilose mediante emprego de LR menores, sendo mais sensível na LBA, principalmente em estágios iniciais da forma angioinvasiva. A persistência de GM sérica foi relacionada ao óbito em relação à negatificação da mesma. A proporção de concordância entre a TC e os biomarcadores no soro e no LBA variou de 0,5 a 0,6, com pequena concordância na estatística kappa. Excelente concordância foi observada entre dois radiologistas independentes, que analisaram de maneira cega as TC de sujeitos com aspergilose provada. Nesta casuística com inclusão de doenças sistêmicas e endêmicas, a BDG teve baixo desempenho diagnóstico.

Descritores: 1.Micoses 2.Aspergilose pulmonar invasiva 3.Aspergilose
4.Hospedeiro imunocomprometido 5.Transplante de células-tronco hematopoéticas
6.Transplante 7.Beta-glucanas 8.Tomografia computadorizada por raios X 9.Testes
imunológicos 10.Neutropenia febril

SUMMARY

Batista MV. *Performance of galactomannan and 1,3 beta-glucan enzyme assays in the serum and bronchoalveolar lavage and comparison with computer tomography scan for the diagnosis of invasive aspergillosis in immunocompromised hosts.* [thesis]. São Paulo: “Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo”; 2015.

Invasive aspergillosis (IA) has become the leading infectious cause of death in immunocompromised hosts, particularly in subjects under SCTH and hematologic neoplasias. **Objectives:** General: To compare the performance of GM and BG tests in serum and bronchoalveolar lavage fluid (BAL) and computer tomography (CT) scans in the diagnosis of IA in immunocompromised hosts as well as their role in the patient outcome. Specific: 1. To analyse the sensitivity and specificity of Galactomannan and 1,3 β D-glucan assays in the serum and bronchoalveolar lavage. 2. To compare the results of Galactomannan and 1,3 β D-glucan assays with CT scans in patients with invasive aspergillosis. 3. To analyse the relationship between the evolution of galactomannan levels and clinical outcome (death or survival). **Patients, Materials and Methods:** From December 2008 to March 2013, a prospective cohort of 398 patients from several wards of immunocompromised patients of Hospital das Clínicas, Faculdade de Medicina, University of São Paulo was included classified in two groups of patients: 202 (51%) with invasive aspergillosis (IA) and 198 (49%) control patients. **Results:** Considering 202 cases, 18(8.8%) were subjects with proven, 28(13.7%) with probable aspergillosis and 156(77.5%), with possible aspergillosis, according to 2002 EORTC/MSG (European Organization for Research and Treatment of Cancer/Mycoses Study Group) criteria. The most common underlying disease were: HSCT (42.7%), hematologic malignancy (37%), SOT (9%), or other diseases (11.3%). The main risk factors associated with IA were neutropenia, monocytopenia, patients under corticosteroids, presence of CMV disease, and rejection or graft versus host disease. The risk factor associated with death was the presence of invasive aspergillosis. Good performances for serum and BAL GM were registered with lower cutoffs in the present work in relationship to those found in the literature. The best cutoff for proven + probable aspergillosis for serum GM was observed at 0.35 value with Sensitivity-S, Specificity-Sp, Positive Predictive value-PPV, Negative Predictive Value-NPV) and AUC of 54.4%, 73.4%, 50.8%, 76.2% and 0.64; the values for proven aspergillosis alone were higher for S, Sp and NPV. On BAL tests for GM (cutoff value of 0.65) in proven+probable aspergillosis we observed 58.3%, 92.6%, 87.5%, 71.4%, 0.75, respectively as S-Sp-PPV-NPV-AUC; the sensitivity and VPN were higher in proven aspergillosis alone. In this work, the best performance in proven+probable aspergillosis for serum BDG showed 100 pg/mL as cutoff value, with 54.5%, 73.4%, 50.8%, 76.2%, 0.64 for S-Sp-PPV-NPV-AUC, respectively. For BAL- BDG, the cut off for proven+probable aspergillosis was 140 pg/mL, and we observed 46.7%, 76.7%, 70.0%, 55.6%, 0.62, respectively for S-Sp-PPV-NPV-AUC. **Conclusion:** The serum and BAL GM are useful tests for diagnosis in early stages of angioinvasive form at lower cutoffs; BAL GM is more sensitive. Agreement proportion between CT scan and each biomarker in the serum or BAL ranged from 0.5-0.6, with low κ index. Perfect κ statistic was observed for analysis of CT scan of subjects in proven aspergillosis by two independent radiologists, blinded for diagnosis. Persistence of serum GM was associated to death in relationship with its negatization. BDG test showed low performance in this work, where systemic and endemic diseases were included.

Descriptors: 1.Mycoses 2.Invasive Pulmonary Aspergillosis 3.Aspergillosis
4.Immunocompromised Host 5.Hematopoietic Stem Cell Transplantation
6.Transplants 7.beta-Glucans 8.Tomography 9.Immunologic tests 10.Febrile
Neutropenia

1 INTRODUÇÃO

Infecções fúngicas invasivas (IFI) ou disseminadas representam importante causa de infecções em pacientes submetidos a transplante de células tronco hematopoiéticas (TCTH), transplantes de órgãos sólidos (TOS), e aqueles com neoplasias hematológicas e tumores sólidos.

A aspergilose invasiva (AI) é a infecção por fungos filamentosos mais comum em pacientes imunodeprimidos, especialmente naqueles submetidos a transplante de células tronco hematopoiético, alogênico e autólogo, e nos pacientes com neoplasias hematológicas.

Ao longo das últimas duas décadas ocorreram mudanças importantes no manejo desses pacientes como o uso de medicamentos nos esquemas de condicionamento e quimioterapia com elevada capacidade de imunodepressão e a introdução da profilaxia universal com fluconazol com o objetivo de diminuir mortalidade e aumentar sobrevida em decorrência das infecções invasivas causadas por *Candida spp*, que até então, respondia como a principal infecção fúngica invasiva neste grupo de pacientes (Goodman *et al*, 1992; Marr *et al*, 2000). Associado a este progresso houve um aumento do número de transplantes e de pacientes submetidos a esquemas de quimioterapia. Consequentemente, nos anos posteriores ocorreu uma diminuição importante na incidência de candidíase invasiva entretanto pelo espectro limitado do fluconazol e o aumento da imunossupressão, os fungos filamentosos, dentre eles o *Aspergillus spp*, apresentaram emergência (Nucci *et al*, 2006; Steinbach *et al*, 2012; Neofytos *et al*, 2013).

Inicialmente a mortalidade associada à aspergilose invasiva era de 60% chegando em 100% em alguns estudos (Denning *et al*, 1996; Lin *et al*, 2001). Contudo novos antifúngicos com ação contra fungos filamentosos e com menor

toxicidade foram lançados no mercado, associados a estudos com critérios de classificação das infecções por fungos filamentosos, utilização precoce e rotineira dos métodos de imagem como a tomografia computadorizada e por último novos métodos diagnósticos, os biomarcadores como a galactomanana (GM) e a 1,3 β D-glucana (BDG), foram incluídos na abordagem desses pacientes (Herbrecht *et al*, 2002; Walsh *et al*, 2004, Caillot *et al*, 1997; De Pauw *et al*, 2008). Como consequência, os estudos posteriores demonstraram redução nas taxas de mortalidade chegando hoje a 43% em alguns estudos (Neofytos *et al*, 2009; Nucci *et al*, 2013).

Os principais agentes são os fungos filamentosos do gênero *Aspergillus* com relatos de aumento da incidência de 3 a 20 vezes durante as últimas duas décadas (Slavin *et al*, 2004; Neofytos *et al*, 2009, Kontoyiannis *et al*, 2010). A estimativa anual da incidência de micoses invasivas é de 12,3 infecções por milhão de pessoas para espécies de *Aspergillus* (Rees *et al*, 1998; Wilson *et al*, 2002; Nucci *et al*, 2005). Neofytos *et al*, 2013, em estudo retrospectivo recém publicado, avaliando a epidemiologia de IFI entre os pacientes submetidos a TCTH, encontraram 106 com IFI, sendo 65,1% relacionadas à aspergilose invasiva (AI). A frequência de AI nos pacientes submetidos a TCTH alogênico foi de 2,5%. Em outro estudo, prospectivo, analisando TOS em 15 centros, 1208 IFI foram encontradas entre 1063 pacientes transplantados e a AI foi a segunda causa com uma frequência de 19%. A incidência em 1 ano foi de 0,65% (Pappas *et al*, 2010).

Aspergillus sp são fungos ubíquos no meio ambiente e crescem em materiais orgânicos, sendo seus conídios aerossolizados (Hope *et al*, 2005). As manifestações clínicas da aspergilose são determinadas pela resposta imune do hospedeiro ao *Aspergillus spp* com espectro de doença variando de resposta inflamatória local

inadequada, causando reação de hipersensibilidade, doença pulmonar saprofítica com presença de bolas fúngicas, até doença disseminada por falência da resposta imune. Aspergilose sinopulmonar invasiva e aspergilose disseminada podem atingir mortalidade de cerca de 100% em populações gravemente imunodeprimidas (Barnes *et al*, 2006).

Perfect *et al*, 2001, em uma série de 1209 casos de aspergilose em 24 centros médicos, mostraram que 62% dos pacientes com infecção por espécies de *Aspergillus* evoluíram para óbito aos três meses de positividade da cultura. Micoses invasivas por *Aspergillus* ou espécies de *Fusarium* ou Zigomicetos são altamente letais em receptores de células hematopoiéticas, com 80% dos pacientes indo a óbito no primeiro ano após o diagnóstico (Marr *et al*, 2002, Kontoyiannis *et al*, 2010).

Cerca de 61% de pacientes com AI apresentam doenças hematológicas de base (incluindo neoplasias hematológicas) e pacientes submetidos a transplante de células hematopoiéticas (Patterson *et al*, 2000). Lin *et al*, 2001, Upton *et al*, 2007 e Neofytos *et al*, 2009, demonstraram fatores de risco para AI, como grau II a IV de doença do enxerto contra o hospedeiro, tipo de quimioterapia e regimes de condicionamento, uso de corticoterapia em altas doses, episódios prolongados ou repetidos de neutropenia profunda, idade maior que 40 anos, receptores de transplante de medula óssea de doador não relacionado, uso de terapia com infliximab e citomegalovirose.

Upton *et al*, 2007, analisaram em transplante de células hematopoiéticas, os fatores de risco para óbito de pacientes com AI e a única variável do hospedeiro foi comprometimento pulmonar grave pré-transplante. O tipo de transplante com condicionamento não mieloablativo e células periféricas diminuíram o risco; a

presença de HLA “mismatch” aumentou o risco. Entre as complicações associadas estavam a neutropenia no momento do diagnóstico de AI, creatinina e bilirrubinas aumentadas e uso de corticosteróide em dose $\geq 2\text{mg/kg/ dia}$. A doença disseminada, aspergilose provada e a ocorrência de doença em fase tardia, maior que 40 dias pós transplante, foi relacionada a maior risco para o óbito.

Os sinais e sintomas clínicos associados à aspergilose invasiva podem ter apresentação não específica, como febre, tosse, dor pleurítica e hemoptise (Denning *et al*, 1998, De Viegler *et al*, 2011). O teste diagnóstico ideal para aspergilose invasiva deveria ter elevada sensibilidade para diagnóstico precoce da doença, mas deveria ser suficientemente específico para diminuir o uso de terapia antifúngica empírica. Adicionalmente, deveriam ser utilizados no seguimento dos pacientes para avaliar a resposta à terapia.

A abordagem diagnóstica da aspergilose invasiva inicia-se a partir de um elevado grau de suspeita levando-se em conta as condições de base e os fatores de riscos dos pacientes e a epidemiologia local, uma vez que se trata de um fungo ubíquo na natureza que pode estar presente na água e ar das unidades hospitalares (Haiduven *et al*, 2009; Neofytos *et al*, 2013). A partir daí a investigação deverá ser iniciada o mais precoce possível tanto com os métodos diagnósticos convencionais, como cultura, histopatologia e métodos de imagem, apesar das suas limitações seja pela baixa sensibilidade e ou especificidade ou ainda pela impossibilidade de serem realizados como são os casos das biópsias, mas também associando a pesquisa dos biomarcadores (GM e a BDG) tanto no soro quanto no lavado broncoalveolar (Hsu *et al*, 2011; Alexander *et al*, 2006; Ostrosky-Zeichner, 2012).

A Classificação dos pacientes com AI é definida de acordo com os critérios estabelecidos pelo EORTC/MSG (European Organization for Research and Treatment of Cancer/Mycoses Study Group). Tal classificação inclui os pacientes com aspergilose provada, provável e possível, baseado na combinação de sinais e sintomas clínicos, cultura, histopatologia e detecção de componentes do fungo como o antígeno galactomanana (GM), polissacarídeo presente na parede celular de fungos do gênero *Aspergillus*, circulantes no soro devido ao crescimento das hifas nos tecidos do hospedeiro e detectado por ELISA (Platelia *Aspergillus*, BioRad, França). A primeira definição do EORTC/MSG foi publicada em 2002 e a revisão que incluiu a GM no critério para aspergilose provável foi publicada em 2008 (Ascioglu *et al*, 2002, De Pauw *et al*, 2008). Estudos em modelos animais, com aspergilose pulmonar invasiva têm demonstrado correlação dos níveis séricos de galactomanana com carga fúngica de *Aspergillus* e o uso em seres humanos poderia ser útil no diagnóstico da AI (Marr *et al*, 2004; Petraitiene *et al*, 2001). Rovira *et al*, 2004 estudando 832 amostras de soro de 74 pacientes submetidos a transplante de células hematopoiéticas alogênicas em um período de dois anos (1999-2001) observaram 75 e 100% de sensibilidade e especificidade, respectivamente para o teste de galactomanana. Os valores preditivos positivo e negativo foram 75 e 100%, respectivamente. No entanto, dois pacientes foram classificados como aspergilose invasiva possível, cinco pacientes como provável e apenas um paciente como provada de acordo com os critérios estabelecidos pelo EORTC/MSG.

Em outro estudo, Lai *et al*, 2007 detectaram níveis de galactomanana em 80% dos pacientes com aspergilose provada e em 77% dos casos de aspergilose provável, em um total de 304 amostras de sangue coletadas de 189 pacientes com risco para

aspergilose invasiva durante um ano em um centro de referência terciário. A classificação foi feita de acordo com os critérios de EORTC/MSG, isto é, dos 189 pacientes, cinco tinham aspergilose provada, nove provável, 26 possível e 149 não tinham aspergilose invasiva. A sensibilidade, especificidade e valores preditivo positivo e negativo para este ensaio utilizando um limiar de reatividade de 1.5 foram de 78.6%, 93.9%, 55.0%, e 97.9%, respectivamente, no entanto, empregando um limiar de reatividade de 0.5, a sensibilidade poderia aumentar para 100%.

Nos Estados Unidos da América, “ Food and Drug Administration” (FDA) aprovou o uso da galactomanana (Platelia *Aspergillus*, BioRad, França) para o diagnóstico da aspergilose invasiva desde 2003 e na Europa o kit já está disponível há mais de 10 anos.

Inicialmente seu uso foi aprovado para uso em amostras de soro, mas posteriormente outros estudos demonstraram sua utilidade em outras amostras como o lavado broncoalveolar (LBA) (Maertens *et al*, 2009; Meersseman *et al*, 2008).

No entanto, alguns autores relatam baixa sensibilidade e alta especificidade para o teste comercial Platelia *Aspergillus* (BioRad). Salonen *et al*, 2000, empregando este teste em soro, urina LBA de 105 pacientes hematológicos que receberam tratamento empírico com anfotericina B para suspeita de infecção fúngica, sendo que seis pacientes tinham aspergilose invasiva confirmada, detectaram positividade de 14% (60/419) no soro e 5% (18/373) na urina. No entanto, ao concentrar a urina dez vezes a positividade aumentou para 8% (31/373). Em amostras de lavado broncoalveolar, o antígeno foi detectado em cinco de 20 amostras, todas elas com cultura negativa. Husain *et al*, 2007 testando 333 amostras de LBA de 116 pacientes, com aspergilose invasiva confirmada em 5,2% (6/116),

encontraram 60% de sensibilidade e 95% de especificidade, com um limiar de reatividade maior ou igual a 0,5. Elevando este valor para maior ou igual a 1,0, a sensibilidade e especificidade foram de 60% e 98%, respectivamente. Neste estudo, foram analisadas nove amostras de LBA de dois pacientes com aspergilose provada, 19 amostras de quatro pacientes com aspergilose provável e 305 amostras de 110 pacientes sem aspergilose invasiva.

Recente metanálise de 16 estudos avaliando a performance da GM no LBA, em pacientes hematológicos, demonstrou uma sensibilidade de 82% (48-86) e especificidade de 92% (85-96). Analisando a GM no soro combinada com a do LBA, mostrou aumento da sensibilidade e diminuição da especificidade para 90% (73-97) e 89% (74-96), respectivamente (Heng *et al*, 2015).

Outro método imunológico estudado é a 1,3 β D-glucana (BDG), que é o maior componente da parede de diversos fungos como *Aspergillus*, *Candida*, *Pneumocystis*, *Fusarium* e *Trichosporon spp* (Miyazaki *et al*, 1995; Mori *et al*, 1997). O teste utiliza diferentes reagentes provenientes de diferentes espécies de carangueijo. Os kits comercialmente disponíveis são o *Limulus polyphemus* da América do Norte e o *Tachypleus tridentatus* do Japão, com diferentes limiares de detecção. A 1,3 β D-glucana, tem sido avaliada em estudos caso-controles de pacientes com IFI provadas e prováveis, apresentando uma sensibilidade de 50%–90% e especificidade de 70%–100% (Obayashi *et al*, 2008; Hachem *et al*, 2009).

Outros estudos demonstraram sensibilidade variando de 55%–100%, especificidade 87%–93%, VPP de 40%–84% e VPN de 75%–100% (Ostrosky-Zeichner *et al*, 2005; Pazos *et al*, 2005; Odabasi *et al*, 2004).

Sulahian *et al*, 2014, utilizando a 1,3 β D-glucana para o diagnóstico de AI no soro, em estudo com 105 pacientes com AI, sendo 14 com AI provada e 91 com AI provável, 97 com neoplasias hematológicas e sob o risco de IFI e 50 doadores de sangue, encontraram uma sensibilidade de 81% e especificidade de 82%.

Na última revisão do EORTC-MSG 2008, a BDG foi incluída juntamente com a GM na definição de infecção fúngica invasiva provável. Entretanto, ainda não existe recomendação formal no que se refere a diferença entre os kits disponíveis, ao tempo de início e número de coletas adequados e qual limiar de reatividade deverá ser utilizado (De Pauw *et al*, 2008).

Os métodos de imagem são úteis no diagnóstico e seguimento. Achados precoces na tomografia de tórax podem aparecer como uma atenuação em vidro despolido ao redor de um nódulo, configurando o sinal do halo (Kuhlman *et al*, 1985, Greene *et al*, 2007). Eventualmente o nódulo pode cavar originando o sinal do ar crescente mais tardiamente. Alguns autores têm descrito casos de AI nos quais as imagens à tomografia de tórax foram presença de múltiplos nódulos, infiltrado lobar e ainda opacidades em vidro despolido difusa (Barnes *et al*, 2006). Em geral, há necessidade de abordagem invasiva do paciente para obtenção de material de biópsia e confirmação histológica, segundo o padrão ouro estabelecido. Em dados de necropsias, estas infecções têm sido responsabilizadas pelo maior número de discordância diagnóstica *antemortem* dentre as doenças infecciosas. A concomitância de co-morbidades de elevada gravidade e complicações como plaquetopenia e insuficiência respiratória pode inviabilizar a realização de procedimentos diagnósticos.

Estudos são necessários para correlacionar os achados clínicos, microbiológicos e imunológicos nas micoses invasivas.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

- 2.1.1 Estabelecer a comparação entre a dosagem de Galactomanana, 1,3 β D-glucana, dados tomográficos no diagnóstico da AI e desfecho clínico em pacientes imunodeprimidos.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 2.2.1 Verificar a sensibilidade e especificidade dos ensaios para detecção da Galactomanana e de 1,3 β D-glucana no soro e lavado broncoalveolar.
- 2.2.2 Comparar os resultados da galatomanana e 1,3 β D-glucana com os dados de imagem em pacientes com suspeita de AI.
- 2.2.3 Verificar a relação entre a evolução dos níveis de GM e desfecho clínico (óbito e sobrevida).

3 CASUÍSTICA, MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 DESENHO DO ESTUDO

O presente estudo foi do tipo coorte, no qual os sujeitos foram incluídos prospectivamente durante o período de Dezembro de 2008 a Março de 2013, conforme os critérios de inclusão descritos abaixo.

3.1.1 Casuística

Foram incluídos 398 sujeitos dos Serviços de TCTH e de Hematologia, Unidade de Transplante Renal (UTR), Serviço de Transplante do Fígado, Serviço de Cirurgia Torácica e Transplante de Pulmão, Serviço de Reumatologia e Enfermaria de Moléstias Infecciosas e Parasitárias.

3.1.2 Critérios de inclusão

3.1.2.1 Foram incluídos 398 sujeitos dos Serviços de TCTH e de Hematologia, Unidade de Transplante Renal (UTR), Serviço de Transplante do Fígado, Serviço de Cirurgia Torácica e Transplante de Pulmão, Serviço de Reumatologia e Enfermaria de Moléstias Infecciosas e Parasitárias

3.1.2.2 Assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE).

3.1.2.3 Após inclusão no estudos os sujeitos foram acompanhados evolutivamente e de acordo com investigação diagnóstica eles foram classificados como casos ou controles como descrito a seguir.

3.1.2.3.1 Definição dos grupos de sujeitos estudados prospectivamente

1. **Casos:** 202 sujeitos foram classificados como casos de aspergilose invasiva provada, provável e possível segundo critério EORTC/MSG 2002 (Ascioglu *et al*, 2002);
2. **Controles:** 196 sujeitos foram classificados como controles em dois grupos:
 - a) Controle negativo: Foi composto por 167 sujeitos com as mesmas doenças de base dos casos, sem aspergilose invasiva, sem uso de antifúngico e com sobrevida de no mínimo 30 dias após inclusão no estudo;
 - b) Controle positivo: 29 sujeitos com outras doenças infecciosas (*Histoplasma capsulatum*, *Cryptococcus neoformans* var *neoformans*, *Paracoccidioides brasiliensis*, *Fusarium* sp, feohifomicose, *Candida* sp), tuberculose, infecções bacterianas, virais comprovadas por diagnóstico microbiológico e ou molecular. Destes 21 (72,4%) tinham as mesmas doenças de base dos casos.

3.1.3 Classificação de AI segundo EORTC/MSG

Para o estudo das medidas de desempenho da GM foi utilizada a Classificação de infecção fúngica invasiva (IFI) de acordo com os critérios estabelecidos pelo EORTC/MSG 2002, ou seja sem a utilização da GM para incluir os sujeitos como aspergilose provável. Para o estudo da 1,3 β D-glucana foi utilizada a definição do EORTC/MSG 2008 com a inclusão apenas da GM como prova diagnóstica. Para efeito de comparação da utilidade da GM no diagnóstico da AI foi

utilizado a definição do EORTC/MSG 2008 (Ascioglu *et al*, 2002; De Pauw *et al*, 2008).

As definições segundo EORTC/MSG (European Organization for Research and Treatment of Cancer / Mycoses Study Group) são:

Aspergilose provada: caracteriza-se por exame histopatológico de invasão tecidual ou isolamento fúngico com evidências radiológicas (aspergilose pulmonar invasiva com infiltrado pulmonar, podendo evoluir para cavitações ou aspergilose disseminada com angioinvasão e disseminação por via hematogênica para outros órgãos).

Aspergilose provável: caracteriza-se pela presença de fatores do hospedeiro, características clínicas e evidência micológica.

1. Fatores do Hospedeiro

- 1.1. História recente de neutropenia <500 neutrófilos/mm³ por >10 dias, temporalmente relacionada com o início da infecção fúngica;
- 1.2. Receptores de transplante alogênico de células tronco hematopoiéticas;
- 1.3. Uso prolongado de corticosteroides ≥ 0.3 mg/kg/dia de prednisona por > 3 semanas;
- 1.4. Tratamento com imunossupressores de células T, tais como: ciclosporina, bloqueador de TNF- α , anticorpo monoclonal específico (tal como alemtuzumab), ou análogos de nucleosídeos durante os últimos 90 dias;

1.5. Imunodeficiência grave (como doenças granulomatosas ou imunodeficiência combinada grave).

2. Critério clínico:

2.1. Doença fúngica do trato respiratório inferior com a presença de 1 dos 3 seguintes sinais na tomografia de tórax: Sinal do halo, nódulos com ou sem o sinal do halo, sinal do ar crescente, cavitação;

2.1.1. Para a classificação dos aspectos radiológicos à tomografia computadorizada os achados de imagem foram agrupados em lesões sugestivas de AI, nas quais foram incluídos: nódulo (s), sinal do Halo, sinal do ar crescente e cavitação e no grupo não sugestivo de AI: vidro fosco, consolidação, atelectasia, sinusopatia e árvore em brotamento (Kuhlman *et al*, 1985, Greene *et al*, 2007, Caillot *et al*, 1997).

2.2. Traqueobronquite;

2.3. Ulceração traqueobrônquica, nódulo, pseudomembrana, placa ou cicatriz observada pela análise broncoscópica;

2.4. Infecção sinonasal com imagem mostrando sinusite e até 1 dos 3 seguintes sinais: dor aguda localizada (incluindo irradiação para os olhos), úlcera nasal com escara negra, extensão dos seios nasais para barreira óssea incluindo órbitas e sistema nervoso central e 1 dos 2 seguintes sinais: lesão focal com realce pós injeção de contraste à tomografia ou ressonância nuclear magnética de crânio.

3. Critério Micológico

3.1. Segundo definição EORTC/MSG 2002, foram utilizados:

- a. Testes diretos (citologia, microscopia direta ou cultura): fungo no escarro, lavado broncoalveolar, escovado brônquico ou aspirado dos seios nasais indicado por 1 dos seguintes: presença de elementos fúngicos filamentosos sugerindo *Aspergillus sp* e ou recuperação através de cultura;

3.2. Segundo definição EORTC/MSG 2008, foram utilizados:

- a. Testes indiretos:
 - a.1 Detecção de antígeno de *Aspergillus sp*, no soro ou LBA;
 - a.2 Detecção de 1,3 β D-glucana no soro ou LBA;

Aspergilose possível: presença de fatores do hospedeiro com evidência clínica suficiente e consistente com o diagnóstico de infecção fúngica invasiva, mas sem evidência micológica.

3.1.4 Ficha clínico-epidemiológica: Foi preenchida uma ficha (Anexo 1) , contendo dados demográficos (idade, sexo), presença, gravidade e tempo de neutropenia, presença de rejeição, DECH (doença do enxerto contra o hospedeiro), tipo de transplante, doença de base, uso de corticoterapia e dose, presença de doença pelo citomegalovírus, exames de imagem, microbiológicos, histopatológicos, citologia, culturas, diagnóstico de entrada e diagnóstico confirmado, desfecho (óbito, sobrevida).

3.2 MATERIAIS E MÉTODOS

3.2.1 Material biológico: Foram coletados 8 mL de sangue em tubo seco sendo 1-2 amostras semanais com o objetivo de confirmação diagnóstica e de seguimento evolutivo. As amostras foram coletadas, duas vezes por semana, na suspeita de aspergilose invasiva, baseada em fatores de risco previamente descritos como, neutropenia prolongada, uso de corticosteróide, presença de rejeição/DECH e presença e citomegalovirose (CMV) durante o tratamento ou até obtenção de dois exames negativos quando inicialmente positivos. Salienta-se que os materiais foram processados em fluxo laminar, com materiais novos e estéreis, separados em tubos com rosca, em alíquotas de 300 µL e reservados em freezer à -80°C.

3.2.2 Provas imunoenzimáticas: foram realizadas no Laboratório de Imunologia (LIM 48), do HCFMUSP as provas de GM e a pesquisa de 1,3βD-glucana foi realizada no Laboratório de Epidemiologia Molecular da Faculdade de Ciências Médicas de Campinas (UNICAMP), sob responsabilidade da Profa. Maria Luiza Moretti. Todos os testes foram realizados de acordo com a Norma OSHA (Occupational Safety and Health Administration –organismo para a segurança e saúde ocupacional) sobre patógenos transmitidos pelo sangue, biossegurança de nível 2. Os controles negativos, positivos e Limiares de Reatividade (LR) foram testados em cada série para validação dos resultados do teste. Os kit's foram armazenados a uma temperatura de -4°C e a execução dos testes seguiu-se de acordo com as recomendações do fabricante.

3.2.3 Prova ELISA GM: Para execução da pesquisa de GM foi utilizado Kit Platelina *Aspergillus* EIA[®] BioRad, França, segundo a orientação do fabricante.

- a. Para cada rodada foram utilizados um poço para o soro controle negativo, dois para o soro de controle de limiar de reatividade (LR) e um para o soro controle positivo.
- b. Os frascos de conjugado foram homogeneizados e 50 µL foram aplicados em cada poço, seguido pela adição de 50 µL do sobrenadante dos soros tratados.
- c. As placas foram seladas com papel alumínio para impedir a evaporação e incubadas a seco durante 90 minutos a 37°C.
- d. Após à incubação as placas foram lavadas 5 vezes.
- e. Após a última lavagem foi adicionado a solução de reação de substrato-cromogénio e a placa colocada em câmara escura à temperatura ambiente (18 a 25°C) durante 30 minutos.
- f. Após a incubação, a reação foi interrompida e procedeu-se à leitura da densidade óptica (DO) de cada poço a 450 nm (filtro de referência de 620 nm)
- g. Para os controles de qualidade o valor médio do controle de LR foram calculados somando-se os valores da DO para cada réplica do controle do LR e dividido o resultado por 2. Para o cálculo do índice do controle negativo foi dividido a DO do controle negativo pela DO média do controle de cut-off. Para calcular o índice do controle positivo, a DO do controle positive foi dividida pela DO média do controle do LR

3.2.4 Prova enzimática 1,3 β D-glucana: Para execução da pesquisa de 1,3 β D-glucana foi utilizado Kit Fungitell[®] assay, Cape Cod, Reino Unido, seguindo-se a orientação do fabricante.

- a. Utilizou-se um padrão de glucana fornecido no kit.
- b. Um reagente pré-tratamento do soro foi preparado combinando volumes iguais de 0,25 M KOH e 1,2 M KCl.
- c. 5 μ l de soro foram aplicados para cada um dos poços designados (Uk) em duplicata. Em seguida, 20 μ l do reagente de pré-tratamento do soro foi aplicado em cada poço. A placa foi agitada por 10 segundos para misturar o conteúdo dos poços e incubada por 10 minutos a 37°C.
- d. No final da incubação de pré-tratamento do soro os padrões e o controle negativo (água) foram adicionados e na sequência foram adicionados 100 μ l de reagente Fungitell a cada poço contendo casos e controles.
- e. A leitura da placa foi realizada a 405 nm, durante 40 minutos a 37°C.
- f. Por último, a taxa média de alteração de densidade óptica (mili-unidades de absorvência por minuto) foi calculada para todos os pontos entre 0 e 40 minutos.

3.2.5 Medidas de desempenho das provas de GM e 1,3 β D-glucana: Para a determinação das medidas de desempenho, sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo (VPP), valor preditivo negativo (VPN) e área sob a curva (ASC), foram construídas curvas ROC, com suas respectivas áreas sob a curva (ASC), a partir das amostras de soros e LBA dos casos (aspergilose provada e prováveis) e dos controles. A escolha do melhor LR resultou da comparação desta ASC com diversas

ASC construídas a partir LRs com as melhores medidas de desempenho. A amostra a ser analisada foi selecionada a partir da suspeita diagnóstica estabelecida pela tomografia computadorizada, com uma tolerância de + ou-5 dias.

3.3 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

A comparação entre os diferentes métodos empregados (clínico, laboratorial e imunológicos) foi realizada pelo teste Qui-Quadrado para variáveis qualitativas e para variáveis quantitativa: teste *t* de student para comparação de dois grupos e ANOVA para mais de dois grupos. Para dados não-paramétricos, a comparação entre os grupos foi realizada pelo teste de Mann-Whitney, após análise da normalidade da distribuição das amostras. A análise das medidas de desempenho foram descritas como sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo, valor preditivo negativo e um intervalo com 95% de confiança (95% IC) foi calculado para cada ponte de corte analisado. A área sob a curva foi construída para verificar como as mudanças nos diferentes LR poderiam influenciar na sensibilidade e 1-especificidade. Quando múltiplas comparações foram realizadas foi utilizado o teste de Kruskal Wallis e para comparações de amostras pareadas o teste de Wilcoxon. A avaliação do grau de concordância entre os métodos diagnósticos foi realizado usando a estatística Kappa. Para análise de sobrevida foi construída a curva de Kaplan-Meier e para a comparação da sobrevida entre os dois grupos foi utilizado o log rank test. As análises foram realizadas utilizando o Stata statistical software® versão 12.

4 RESULTADOS

Figura 1 - Esquematização da casuística do presente estudo

Foram incluídos 421 sujeitos no período de dezembro de 2008 a março de 2013. Foram revisados os dados de 421 prontuários. Para complementar os dados do prontuário os dados de laboratório Central (HClab), do Instituto Central do HCFMUSP (IC-HC/FMUSP), foram pesquisados. Destes 202 tinham diagnóstico de aspergilose invasiva, provada, provável e possível segundo critério EORT/MSG 2002 e 196 foram classificados como controles. Foram excluídos 5 casos de AI por falta de dados nos prontuários e 18 controles foram excluídos porque tiveram óbito em menos de 30 dias ou fizeram uso de antifúngicos. Resultados de necropsias, uso de antimicrobianos foram checados junto ao Serviço de Verificação de óbitos (SVO) e Departamento de Patologia (FMUSP), Serviço de Controle de Infecção Hospitalar

(SCIH) do Instituto Central do HCFMUSP, Laboratório Central, do Instituto Central do HCFMUSP respectivamente.

Na Tabela 1 foram descritas as características epidemiológicas e clínicas dos 398 sujeitos classificados como 202 (51%) casos e 196 (49%) controles. A média de idade, distribuição do sexo, doenças de base e fatores de risco foram semelhantes entre casos e controles, exceto por uma maior proporção controles provenientes do grupo “Outros” com uma RR 0,59 (0,38-0,93) com um valor de $p=0,007$. Houve uma maior proporção dos sujeitos submetidos ao TCTH 170 (42,7%), sendo 97 (24,4%) TCTH alogênico e 73 (18,3%) TCTH autólogo, seguido dos sujeitos com neoplasias hematológicas 147 (37%), seguidos de TOS 36 (9%), conforme Tabela 1. No grupo “Outros” foram incluídos sujeitos provenientes de várias áreas conforme Tabela 1. Em relação à classificação para AI, segundo EORTC/MSG 2002 (Ascioglu *et al*, 2002), 18 (8,8%), foram classificados como aspergilose provada, 28 (13,7%) provável e 158 (77,5%) como aspergilose possível. Dos 398 sujeitos, 184 (46,2%) evoluíram para o óbito, sendo que a proporção de óbitos foi estatisticamente maior nos casos 108 (59%) com RR (razão de riscos) 1,33 (1,10-1,62) com um valor de $p=0,003$.

Tabela 1 - Características epidemiológicas e evolução de 202 casos e 196 controles

	Casos	Controles	RR (95% IC)	p
N (%)	202 (51)	196 (49)		
Idade (média)	43,28	41,70		0,5
Sexo (%)				
Fem	112 (54,6)	93 (45,4)	1	...
Masc	90 (47)	103 (53)	0,85 (0,70-1,04)	0,11
Classificação EORTC/MSG 2002				
Possível	158 (77,5)	...	...	...
Provável	28 (13,7)	...	...	...
Provado	18 (8,8)	...	...	...
Doença de Base				
Benigna	15 (60)	10 (40)	1,2 (0,85-1,67)	0,33
Leucose Aguda	92 (56,4)	71 (43,6)	1,2 (0,99-1,46)	0,06
Linfoproliferação crônica	50 (48,5)	53 (51,5)	0,94 (0,75-1,18)	0,6
Mieloproliferação crônica	12 (57,1)	9 (42,9)	1,13 (0,77-1,66)	0,54
Fatores Risco				
Neoplasias Hematológicas	80 (54,4)	67 (45,6)	1,11 (0,92-1,36)	0,26
TCTH	89 (52,3)	81 (47,7)	1,05 (0,86-1,28)	0,58
TCTH Autólogo	37 (51)	36 (49)	1,07 (0,86-1,33)	0,51
TCTH Alogênico	52 (53,6)	45 (46,4)	0,99 (0,77-1,28)	0,98
TOS	19 (51,3)	18 (48,7)	1,01 (0,73-1,40)	0,93
Tx rim	5 (29,4)	12 (70,6)	...	...
Tx pulmão	12 (80)	3 (20)	...	...
Tx fígado	1 (25)	3 (75)	...	...
Tx coração	1 (100)	0	...	...
Outros	14 (31,2)	31 (68,8)	0,59 (0,38-0,93)	0,007
Reumatologia	5 (22,7)	17 (77,3)	...	...
MI	5 (33,3)	10 (66,7)	...	...
Oncologia	2 (66,7)	1 (33,3)	...	...
Pneumologia	2 (50)	2 (50)	...	...
Dermatologia	0	1 (100)	...	...
Óbitos	108 (59)	76 (41)	1,33 (1,10-1,62)	0,003

RR: Risco relativo, IC: intervalo de confiança; Tx: transplante; MI: moléstias infecciosas; p: valor de p; (...) não foram calculados o p pelo número insuficiente.

Na Tabela 2 estão descritos os fatores de risco para o desenvolvimento para a AI como uso de corticosteroide, rejeição/DECH, CMV, neutropenia ≤ 500 cel/mm³ e ≤ 100 cel/mm³, linfopenia ≤ 100 cel/mm³ e monocitopenia < 99 cel/mm³. Após análise de regressão logística, foram observados como principais fatores de risco tanto na análise bivariável como multivariável: Rejeição/DECH, CMV (citomegalovirus), neutropenia ≤ 500 cel/mm³, e monocitopenia < 99 cel/mm³, cujas RR e *p* estão apresentadas à Tabela 2. Adicionalmente, após análise multivariável, o uso de corticosteroide e neutropenia ≤ 100 cel/mm³, foram também associados à ocorrência de AI.

Tabela 2 - Análise de regressão logística, bivariável e multivariável, de variáveis associadas aos fatores de risco para desenvolvimento de AI entre 354 sujeitos

	Casos (188)	Controles (166)	Análise Bivariável		Análise Multivariável	
			RR (95% IC)	<i>p</i>	RR (95% IC)	<i>p</i>
Uso corticosteróide	89 (57,4)	66 (42,6)	1,37 (0,89-2,11)	0,14	2,26 (1,28-3,97)	0,004
Rejeição/DECH	34 (54,8)	28 (45,2)	3,55 (2,15-5,84)	<0,0001	7,49 (3,66-17,20)	<0,0001
CMV	36 (55,4)	29 (44,6)	1,66 (1,04-2,65)	0,03	0,5 (0,22-0,95)	0,04
Neutropenia <500 cel/mm3	93 (61,2)	59 (38,8)	1,77 (1,15-2,72)	0,008	2,55 (1,10-5,90)	0,03
Neutropenia <100 cel/mm3	64 (57,1)	48 (42,8)	1,27 (0,80-1,99)	0,3	0,32 (0,11-0,88)	0,03
Linfopenia <100 cel/mm3	58 (55,2)	47 (44,8)	1,12 (0,71-1,78)	0,6	0,83 (0,36-1,9)	0,67
Monocitopenia <99 cel/mm3	86 (61,9)	53 (38,1)	1,79 (1,66-2,77)	0,008	2,22 (1,01-4,84)	0,04

RR: Risco relativo, IC: intervalo de confiança; p: valor de p; CMV: citomegalovírus.

Na Tabela 3 estão descritos os fatores de risco para óbito como a presença de AI, uso de corticosteroide, rejeição/DECH, CMV, neutropenia ≤ 500 cel/mm³ e ≤ 100 cel/mm³, linfopenia ≤ 100 cel/mm³ e monocitopenia < 99 cel/mm³. Após análise de regressão logística, bivariável e multivariável, foram observados como fatores de risco associadas ao óbito pela análise bivariável, a presença de AI, CMV, neutropenia ≤ 500 cel/mm³, neutropenia ≤ 100 cel/mm³, linfopenia ≤ 100 cel/mm³ e monocitopenia < 99 cel/mm³. Após análise multivariável apenas a presença de AI e a presença de CMV-permaneceram associadas ao óbito.

Tabela 3 - Análise de regressão logística, bivariável e multivariável, de variáveis associadas ao óbito entre 249 sujeitos

	Óbitos (169)	Vivos (185)	Análise Bivariável		Análise Multivariável	
			RR (95% IC)	<i>p</i>	RR (95% IC)	<i>p</i>
Aspergilose invasiva	17 (32)	36 (68)	3,34 (1,75-6,37)	<0,0001	2,19 (1,06-4,54)	0,03
Uso corticosteroíde	83 (53,5)	72 (46,5)	0,7 (0,46-1,07)	0,1	0,69 (0,33-1,49)	0,35
Rejeição/DECH	39 (62,9)	23 (37,1)	0,44 (0,23-0,83)	0,012	0,4 (0,18-1,13)	0,09
CMV	38 (58,5)	27 (41,5)	0,48 (0,27-0,87)	0,015	0,43 (0,19-0,97)	0,04
Neutropenia <500 cel/mm ³	92 (60,5)	60 (39,5)	0,4 (0,26-0,61)	<0,0001	0,37 (0,12-1,16)	0,09
Neutropenia <100 cel/mm ³	70 (62,5)	42 (37,5)	0,4 (0,26-0,65)	<0,0001	0,99 (0,24-4,15)	1,00
Linfopenia <100 cel/mm ³	59 (56,2)	46 (43,8)	0,6 (0,39-0,97)	0,04	0,81 (0,28-2,32)	0,7
Monocitopenia <99 cel/mm ³	80 (57,5)	59 (42,5)	0,52 (0,34-0,80)	0,003	0,73 (0,25-2,18)	0,6

RR: Risco relativo, IC: intervalo de confiança; p: valor de p; CMV: citomegalovírus.

Para a análise das medidas de desempenho, sensibilidade, especificidade, valores preditivos positivos (VPP) e valores preditivos negativos (VPN) e área sob a curva (ASC) das provas imunológicas, foram testados para a GM, no soro, 17 sujeitos com aspergilose provada, 18 sujeitos com aspergilose provável e 153 controles. Para o LBA, foram testados 7 sujeitos com aspergilose provada, 17 sujeitos com aspergilose provável e 27 controles. A análise dos sujeitos seguiu-se da classificação dos sujeitos segundo EORTC/MSG 2002, sem utilização dos métodos imunológicos para classificação dos prováveis.

A Tabela 4 mostra as medidas de desempenhos da GM no soro de acordo com diversos LRs analisados. O melhor LR encontrado foi o de 0,35 com uma sensibilidade de 64,7%, especificidade 92,8%, VPP de 50% e VPN de 95,9%, e ASC de 0,79, nos sujeitos com AI provada. Após inclusão dos sujeitos com aspergilose provável a sensibilidade observada foi 54,3%, especificidade 92,8%, VPP de 63,3% e VPN de 90% e ASC de 0,74.

As Figuras 2a e 2b, mostram a comparações da curva ROC, com sua melhor ASC, com os diversos limiar de reatividades e suas respectivas ASCs. Na Figura 2a foram analisados apenas os sujeitos com aspergilose provada (P1) e na Figura 2b os sujeitos com aspergilose provada e provável (P1P2). As comparações pelo método de Bonferroni não demonstraram diferenças entre as diversas ASCs.

Tabela 4 - Desempenho da GM no soro de sujeitos AI provada e provável, utilizando 95% , segundo critério EORTC 2002, utilizando 95% de intervalo de confiança

População (N)	LR	Sen (%)	Esp (%)	VPP (%)	VPN (%)	ASC (%)
Provada/Ct (17/153)	0,25	76,5 (50,1-93,2)	81,7 (74,6-87,5)	31,7 (18,1-48,1)	96,9 (92,3-99,1)	0,79
	0,3	70,6 (44-89,7)	86,9 (80,5-91,8)	37,5 (21,1-56,3)	96,4 (91,7-98,8)	0,79
	0,35	64,7 (38,3-85,8)	92,8 (87,5-96,4)	50 (28,2-71,8)	95,9 (91,4-98,5)	0,79
	0,4	58,8 (32,9-81,6)	93,5 (88,3-96,8)	50 (27,2-72,8)	95,3 (90,6-98,1)	0,76
	0,45	47,1 (23-72,2)	97,4 (93,4-99,3)	66,7 (34,9-90,1)	94,3 (89,5-97,4)	0,72
	0,5	47,1 (23-72,2)	97,4 (93,4-99,3)	66,7 (34,9-90,1)	94,3 (89,5-97,4)	0,72
Provada e provável/Ct (35/153)	0,25	60 (42,1-76,1)	81,7 (74,6-87,5)	42,9 (28,8-57,8)	89,9 (83,7-94,4)	0,71
	0,3	57,1 (39,4-73,7)	86,9 (80,5-91,8)	50 (33,8-66,2)	90 (83,8-94,2)	0,72
	0,35	54,3 (36,6-71,2)	92,8 (87,5-96,4)	63,3 (43,9-80,1)	90 (84,1-94,1)	0,74
	0,4	51,4 (34-68,6)	93,5 (88,3-96,8)	64,3 (44,1-81,4)	89,4 (83,5-93,7)	0,72
	0,45	45,7 (28,8-63,4)	97,4 (93,4-99,3)	80 (56,3-94,3)	88,7 (82,9-93,1)	0,72
	0,5	42,9 (26,3-60,6)	97,4 (93,4-99,3)	78,9 (54,4-93,9)	88,2 (82,3-92,6)	0,7

LR: limiar de reatividade; VPP: valor preditivo positivo; VPN: valor preditivo negativo; Sen: sensibilidade; Esp: especificidade; IC: intervalo de confiança, ASC: área sob a curva; Ct: controle.

Figura 2 - Comparação das curvas ROC da GM, no soro, de acordo com diferentes LRs e suas respectivas ASC. Nos sujeitos com AI provada (Figura A) e nos sujeitos com AI provada e provável (Figura B). LR: limiar de reatividade; ASC: área sob a curva; P1: AI provada; P2: AI provável.

A Tabela 5 mostra as medidas de desempenhos da GM no LBA de acordo com diversos LRs analisados. O melhor LR encontrado foi o de 0,65 com uma sensibilidade de 71,4%, especificidade 92,6%, VPP de 71,4% e VPN de 92,6%, e ASC de 0,82, nos sujeitos com AI provada. Após inclusão dos sujeitos com aspergilose provável a sensibilidade observada foi 58,3%, especificidade 92,6%, VPP de 87,5% e VPN de 71,4% e ASC de 0,75.

As Figuras 3a e 3b, mostram as comparações da curva ROC, com sua melhor ASC, com os diversos limiares de reatividades e suas respectivas ASCs. Na Figura 3a foram analisados apenas os sujeitos com aspergilose provada (P1) e na Figura 2b os sujeitos com aspergilose provada e provável (P1P2). As comparações pelo método de Bonferroni não demonstraram diferenças entre as diversas ASCs.

Tabela 5 - Desempenho da GM no LBA de sujeitos com AI provada e provável, , segundo critério EORTC 2002, utilizando 95% de intervalo de confiança

População (N)	LR	Sen (%)	Esp (%)	VPP (%)	VPN (%)	ASC (%)
Provada/Ct (7/27)	0,6	71,4 (29-96,3)	88,9 (70,8-97,6)	62,5 (24,5-91,5)	92,3 (74,9-99,1)	0,8
	0,65	71,4 (29-96,3)	92,6 (75,7-99,1)	71,4 (29-96,3)	92,6 (75,7-99,1)	0,82
	0,7	57,1 (18,4-90,1)	92,6 (75,7-99,1)	66,7 (22,3-95,7)	89,3 (71,8-97,7)	0,75
	0,75	57,1 (18,4-90,1)	92,6 (75,7-99,1)	66,7 (22,3-95,7)	89,3 (71,8-97,7)	0,75
	0,8	57,1 (18,4-90,1)	92,6 (75,7-99,1)	66,7 (22,3-95,7)	89,3 (71,8-97,7)	0,75
	0,85	57,1 (18,4-90,1)	92,6 (75,7-99,1)	66,7 (22,3-95,7)	89,3 (71,8-97,7)	0,75
	0,9	57,1 (18,4-90,1)	96,3 (81-99,9)	80 (28,4-99,5)	89,7 (72,6-97,8)	0,77
	0,95	57,1 (18,4-90,1)	96,3 (81-99,9)	80 (28,4-99,5)	89,7 (72,6-97,8)	0,77
	1	57,1 (18,4-90,1)	96,3 (81-99,9)	80 (28,4-99,5)	89,7 (72,6-97,8)	0,77
Provada e provável/Ct (24/27)	0,6	58,3 (36,6-77,9)	88,9 (70,8-97,6)	82,4 (56,6-96,2)	70,6 (52,5-84,9)	0,74
	0,65	58,3 (36,6-77,9)	92,6 (75,7-99,1)	87,5 (61,7-98,4)	71,4 (53,7-85,4)	0,75
	0,7	54,2 (32,8-74,4)	92,6 (75,7-99,1)	86,7 (59,5-98,3)	69,4 (51,9-83,7)	0,73
	0,75	54,2 (32,8-74,4)	92,6 (75,7-99,1)	86,7 (59,5-98,3)	69,4 (51,9-83,7)	0,73
	0,8	50 (29,1-70,9)	92,6 (75,7-99,1)	85,7 (57,2-98,2)	67,6 (50,2-82)	0,71
	0,85	50 (29,1-70,9)	96,3 (81-99,9)	92,3 (64-99,8)	68,4 (51,3-82,5)	0,73
	0,9	57,1 (34-78,2)	95 (75,1-99,9)	92,3 (64-99,8)	67,9 (47,6-84,1)	0,76
	0,95	57,1 (34-78,2)	95 (75,1-99,9)	92,3 (64-99,8)	67,9 (47,6-84,1)	0,76
	1	50 (29,1-70,9)	96,3 (81-99,9)	92,3 (64-99,8)	68,4 (51,3-82,5)	0,73

LR: limiar de reatividade; VPP: valor preditivo positivo; VPN: valor preditivo negativo; LBA: lavado broncoalveolar, Sen: sensibilidade; Esp: especificidade; IC: intervalo de confiança, ASC: área sob a curva; Ct: controle..

Figura 3 - Comparação das curvas ROC da GM, no LBA, de acordo com diferentes LR e suas respectivas ASC. Nos sujeitos com AI provada (Figura A) e nos sujeitos com AI provada e provável (Figura B). LR: limiar de reatividade; ASC: área sob a curva; P1: AI provada; P2: AI provável.

Na Tabela 6, foi mostrada a contribuição da GM no diagnóstico da AI provável, sendo no soro 46%, no LBA 47% e utilizando ou o soro ou o LBA 47,6%.

A Tabela 7 mostra as medidas de desempenhos da GM no soro de 51 sujeitos, e no LBA de 29, utilizando-se o critério EORTC 2008 (De Pauw *et al*, 2008), de acordo com diversos LRs analisados. O melhor LR encontrado para o soro foi o de 0,35 com uma sensibilidade de 68,2%, especificidade 92,8%, VPP de 76,1% e VPN de 89,9%, e ASC de 0,80. Para o LBA o melhor LR encontrado foi o de 0,65 com uma sensibilidade de 65,5%, especificidade 92,6%, VPP de 90,5% e VPN de 71,4%, e ASC de 0,79.

Tabela 6 - Contribuição da GM, soro e LBA, no diagnóstico da AI

População	EORTC/MSG 2002	EORTC/MSG 2008	N(%)
AI Provável (soro)	26	38	46%
AI Provável (LBA)	17	25	47%
AI Provável (LBA ou soro)	43	63	47,6%

LBA: lavado broncoalveolar, EORTC/MSG: European Organization for Research and Treatment of Cancer / Mycoses Study Group (Ascioglu *et al*, 2002, De Pauw *et al*, 2008); N: aumento do número de casos prováveis em %.

Tabela 7 - Desempenho da GM no soro de 51 sujeitos e no LBA de 29 sujeitos com AI provada e provável, segundo critério EORTC 2008, utilizando 95% de intervalo de confiança

População (N)		LR	Sen (%)	Esp (%)	VPP (%)	VPN (%)	ASC (%)
Provada e provável/Ct (51/153)	Soro	0,25	72,5 (58,3-84,1)	81,7 (74,6-87,5)	56,9 (44-69,21)	89,9 (83,7-94,4)	0,77
		0,3	70,6 (44-89,7)	86,9 (80,5-91,8)	64,3 (50,4-76,6)	89,9 (83,8-94,2)	0,79
		0,35	68,2 (54,1-80,9)	92,8 (87,5-96,4)	76,1 (61,2-87,4)	89,9 (84,1-94,1)	0,81
		0,4	58,8 (32,9-81,6)	93,5 (88,3-96,8)	76,7 (61,4-88,2)	88,8 (82,9-93,2)	0,79
		0,45	49 (34,8-63,4)	97,4 (93,4-99,3)	86,2 (68,3-96,1)	85,1 (79-90,1)	0,73
		0,5	47,1 (23-72,2)	97,4 (93,4-99,3)	85,7 (67,3-96)	84,7 (78,5-89,6)	0,72
Provada e provável/Ct (29/27)	LBA	0,6	65,5(45,7-82,1)	88,9 (70,8-97,6)	86,4 (65,1-97,1)	70 (52,5-84,9)	0,77
		0,65	65,5(45,7-82,1)	92,6 (75,7-99,1)	90,5 (69,6-98,8)	71,4 (53,7-85,4)	0,79
		0,7	62,1 (42,3-79,3)	92,6 (75,7-99,1)	90 (68,3-98,8)	69,4 (51,9-83,7)	0,77
		0,75	62,1 (42,3-79,3)	92,6 (75,7-99,1)	90 (68,3-98,8)	69,4 (51,9-83,7)	0,77
		0,8	58,6 (38,9-76,5)	92,6 (75,7-99,1)	89,5 (66,9-98,7)	67,6 (50,2-82)	0,76
		0,85	58,6 (38,9-76,5)	96,3 (81-99,9)	94,4 (72,7-99,9)	68,4 (51,3-82,5)	0,77
		0,9	58,6 (38,9-76,5)	96,3 (81-99,9)	94,4 (72,7-99,9)	68,4 (51,3-82,5)	0,77
		0,95	58,6 (38,9-76,5)	96,3 (81-99,9)	94,4 (72,7-99,9)	68,4 (51,3-82,5)	0,77
		1	58,6 (38,9-76,5)	96,3 (81-99,9)	94,4 (72,7-99,9)	68,4 (51,3-82,5)	0,77

LR: limiar de reatividade; VPP: valor preditivo positivo; VPN: valor preditivo negativo; Sen: sensibilidade; Esp: especificidade; IC: intervalo de confiança, ASC: área sob a curva; Ct: controle; EORTC 2008: (De Pauw et al, 2008).

Para o cálculo das medidas de desempenho da 1,3 β D-glucana (BD), no soro, foram testados, 16 sujeitos com aspergilose provada, 39 sujeitos com aspergilose provável e 109 controles. Para o LBA, foram testados 8 sujeitos com aspergilose provada, 22 sujeitos com aspergilose provável e 26 controles. A análise dos sujeitos seguiu-se da classificação dos sujeitos segundo EORTC/MSG 2008, com a utilização da GM para classificação dos prováveis.

A Tabela 8 mostra as medidas de desempenhos da 1,3 β D-glucana (BD) no soro de acordo com diversos LRs analisados. O melhor LR encontrado foi com a concentração de 100 pg/mL de 1,3 β D-glucana, com uma sensibilidade de 62,5%, especificidade 73,4%, VPP de 25,6% e VPN de 93,0%, e ASC de 0,68, nos sujeitos com AI provada. Após inclusão dos sujeitos com aspergilose provável, o melhor LR foi encontrado na mesma concentração de 100 pg/mL, com os seguintes valores 54,5%, 73,4%, 50,8% e 76,2%, 0,64, respectivamente.

As Figuras 4a e 4b mostram as comparações da curva ROC, com sua melhor ASC, com os diversos limiares de reatividades e suas respectivas ASCs. Na Figura 4a foram analisados apenas os sujeitos com aspergilose provada (P1) e na Figura 4b os sujeitos com aspergilose provada e provável (P1P2). As comparações pelo método de Bonferroni mostraram diferenças entre a ASC padrão (todas as amostras) e as ASCs dos LR de 40 e 60 pg/mL de 1,3 β D-glucana, nos soros testados de sujeitos com aspergilose provada e provável (P1P2), as demais não demonstraram diferenças.

Tabela 8 - Desempenho das provas de 1,3 β D-glucana no soro de 55 sujeitos com AI provada e provável, segundo critério EORTC 2008, utilizando 95% de intervalo de confiança

Pacientes (N)	LR	Sen (%)	Esp (%)	VPP (%)	VPN (%)	ASC (%)
Provada/Ct (16/109)	40 pg/mL	81,2 (54,4-96)	46,8 (37,2-56,6)	18,3 (10,1-29,3)	94,4 (84,6-98,8)	0,64
	60 pg/mL	75 (47,6-92,7)	58,7 (48,9-68,1)	21,1 (11,4-33,9)	94,1 (85,6-98,4)	0,67
	80 pg/mL	68,8 (41,3-89)	67,9 (58,3-76,5)	23,9 (12,6-38,8)	93,7 (85,8-97,9)	0,68
	90 pg/mL	68,8 (41,3-89)	69,1 (59,6-77,6)	24,4 (12,9-39,5)	93,8 (86,2-98,0)	0,69
	100 pg/mL	62,5 (35,4-84,8)	73,4 (64,1-81,4)	25,6 (13-42,1)	93 (85,4-97,4)	0,68
	120 pg/mL	62,5 (35,4-84,8)	74,3 (65,1-82,2)	26,3 (13,4-43,1)	93,1 (85,6-97,4)	0,68
	140 pg/mL	62,5 (35,4-84,8)	75,2 (66-83)	27 (13,8-44,1)	93,2 (85,7-97,5)	0,69
	160 pg/mL	62,5 (35,4-84,8)	78 (69-85,4)	29,4 (15,1-45,5)	93,4 (86,2-97,5)	0,7
Provada e Provável/Ct (55/109)	40 pg/mL	76,4 (63-86,8)	46,8 (37,2-56,6)	42 (32,2-52,3)	79,7 (67,8-88,7)	0,62
	60 pg/mL	67 (53,3-79,3)	58,7 (48,9-68,1)	45,1 (34,1-56,5)	78 (67,5-86,4)	0,63
	80 pg/mL	61,8 (47,7-74,6)	67,9 (58,3-76,5)	49,3 (37-61,6)	77,9 (68,2-85,8)	0,65
	90 pg/mL	56,4 (42,3-69,7)	69,1 (59,6-77,6)	47,7 (35,1-60,5)	76 (66,4-84,0)	0,63
	100 pg/mL	54,5 (40,6-68)	73,4 (64,1-81,4)	50,8 (37,5-64,1)	76,2 (66,9-84)	0,64
	120 pg/mL	50,9 (37,1-64,6)	74,6 (65,1-82,2)	50 (36,3-63,7)	75 (65,7-82,8)	0,62
	140 pg/mL	49,1 (35,4-62,9)	75,2 (66-83)	50 (36,1-63,9)	74,5 (65,4-82,4)	0,62
	160 pg/mL	47,3 (33,7-61,2)	78 (69-85,4)	52 (37,4-66,3)	74,6 (65,6-82,3)	0,63

LR: limiar de reatividade; VPP: valor preditivo positivo; VPN: valor preditivo negativo; LBA: lavado broncoalveolar, Sen: sensibilidade; Esp: especificidade; IC: intervalo de confiança;
 LR: limiar de reatividade; Ct: controle.

Figura 4 - Comparação das curvas ROC da BD, no soro, de acordo com diferentes LRs e suas respectivas ASC nos sujeitos com AI provada (Figura A) e nos pacientes com AI provada e provável (Figura B). LR: limiar de reatividade; ASC: área sob a curva; P1: AI provada; P2: AI provável.

A Tabela 9 mostra as medidas de desempenhos da 1,3 β D-glucana (BD) no LBA de acordo com diversos LRs analisados. A melhor LR situa-se na concentração de 140 pg/mL de 1,3 β D-glucana, com uma sensibilidade de 50%, especificidade 76,9%, VPP de 40% e VPN de 83,3%, e ASC de 0,63, nos sujeitos com AI provada. Após inclusão dos sujeitos com aspergilose provável, este mesmo LR, a sensibilidade observada foi 46,7%, a especificidade 76,9%, VPP 70,0, VPN 55,6% e ASC, 0,62.

As Figuras 5a e 5b mostram as comparações da curva ROC, com sua melhor ASC, com os diversos limiares de reatividades e suas respectivas ASCs. Na Figura 5a foram analisados apenas os sujeitos com aspergilose provada (P1) e na Figura 5b os sujeitos com aspergilose provada e provável (P1P2). As comparações pelo método de Bonferroni mostraram diferenças entre a ASC padrão (todas as amostras) e as ASCs dos LRs de 60 e 120 pg/mL de 1,3 β D-glucana, nos soros testados de sujeitos com aspergilose provada e provável (P1P2), as demais não demonstraram diferenças.

Tabela 9 - Desempenho das provas de 1,3 β D-glucana no LBA de 30 sujeitos com AI provada e provável, segundo critério EORTC 2008, utilizando 95% de intervalo de confiança

Pacientes (N)	LR	Sen (%)	Esp (%)	VPP (%)	VPN (%)	ASC (%)
Provada/Ct (8/26)	40 pg/mL	62,5 (24,5-91,4)	53,8 (33,4-73,4)	29,4 (10,3-56)	82,4 (56,6-96,2)	0,58
	60 pg/mL	62,5 (24,5-91,4)	53,8 (33,4-73,4)	29,4 (10,3-56)	82,4 (56,6-96,2)	0,58
	80 pg/mL	62,5 (24,5-91,4)	61,5 (40,6-79,8)	33,3 (11,8-61,6)	84,2 (60,4-96,6)	0,62
	90 pg/mL	62,5 (24,5-91,4)	65,4 (44,3-82,8)	35,7 (12,8-64,9)	85 (62,1-96,8)	0,64
	100 pg/mL	62,5 (24,5-91,4)	65,4 (44,3-82,8)	35,7 (12,8-64,9)	85 (62,1-96,8)	0,64
	120 pg/mL	50 (15,7-84,3)	69,2 (48,2-85,7)	33,3 (9,9-65,1)	81,8 (59,7-94,8)	0,6
	140 pg/mL	50 (15,7-84,3)	76,9 (56,4-91)	40 (12,2-73,8)	83,3 (62,6-95,3)	0,63
	160 pg/mL	37,5 (8,5-75,5)	84,6 (65,1-95,6)	42,9 (9,9-81,6)	81,5 (61,9-93,7)	0,61
Provada e Provável/Ct (30/26)	40 pg/mL	80 (61,4-92,3)	53,8 (33,4-73,4)	66,7 (49-81,4)	70 (45,7-88,1)	0,67
	60 pg/mL	66,7 (47,2-82,7)	53,8 (33,4-73,4)	62,5 (43,7-78,9)	58,3 (36,6-77,9)	0,6
	80 pg/mL	63,3 (43,9-80,1)	61,5 (40,6-79,8)	65,5 (45,7-82,1)	59,3 (38,8-77,6)	0,62
	90 pg/mL	60 (40,6-77,3)	65,4 (44,3-82,8)	66,7 (46-83,5)	58,6 (38,9-76,5)	0,63
	100 pg/mL	60 (40,6-77,3)	65,4 (44,3-82,8)	66,7 (46-83,5)	58,6 (38,9-76,5)	0,63
	120 pg/mL	53,3 (34,3-71,7)	69,2 (48,2-85,7)	66,7 (44,7-84,4)	56,2 (37,7-73,6)	0,61
	140 pg/mL	46,7 (28,3-65,7)	76,9 (56,4-91)	70 (45,7-88,1)	55,6 (38,1-72,1)	0,62
	160 pg/mL	40 (22,73-59,4)	84,6 (65,1-95,6)	75 (47,6-92,7)	55 (38,5-70,7)	0,62

VPP: valor preditivo positivo; VPN: valor preditivo negativo; LBA: lavado broncoalveolar, Sen: sensibilidade; Esp: especificidade; LR: limiar de reatividade; Ct: controle.

Figura 5 - Comparação das curvas ROC da BD, no LBA, de acordo com diferentes LRs e suas respectivas ASC nos sujeitos com AI provada (Figura A) e nos sujeitos com AI provada e provável (Figura B). LR: limiar de reatividade; ASC: área sob a curva; P1: AI provada; P2: AI provável

A Figura 6 mostra as comparações entre as medianas das dosagens de GM entre sujeitos com AI provada (17), provável (18) e possível (141) e controle (153), no soro e em sujeitos com AI provada (7), provável (17) e possível (49) e controle (27) no LBA. As comparações mostraram diferença significativa entre os níveis de GM tanto no soro como em LBA entre todos os sujeitos exceto os com AI possível e controles tanto no soro como em LBA.

Figura 6 - Comparação entre as medianas das dosagens da GM, no soro (Figura A) e LBA (Figura B), segundo critério EORTC 2002, entre os sujeitos com AI provada, 17/7 e provável, 18/17, possível, 141/49, e os controles, 153/27, pelo teste U de Mann-Whitney, considerando $p < 0,05$

A Figura 7 mostra as comparações entre as medianas das dosagens de 1,3 β D-glucana entre sujeitos com AI, provada (16), provável (39) e possível (17) e controle (109) no soro e em sujeitos com AI provada (8), provável (22) e possível (17) e controle (26) no LBA. As comparações mostraram diferença significativa entre os níveis de 1,3 β D-glucana. As comparações mostraram diferença significativa entre os níveis de GM tanto no soro como em LBA entre todos os sujeitos exceto os com AI possível e controles tanto no soro como em LBA.

Figura 7 - Comparação entre as medianas das dosagens da 1,3 β D-glucana, no soro (Figura A) e LBA (Figura B), entre os sujeitos com AI provada, 16/8; provável, 39/22; possível, 17/17; e os controles, 109/26, pelo teste U de Mann-Whitney. Os valores de p encontrados foram considerados significativos quando $p < 0,05$

A Figura 8 e 9 mostram as comparações entre as medianas dos índices de GM, de 27 sujeitos e dos índices de 1,3βD-glucana, de 70 sujeitos, com AI provada e provável segundo o critério EORTC 2008, em amostras pareadas de soro e lavado broncoalveolar. A comparação entre as medianas mostrou diferença entre as duas espécimes testadas, mostrando maior índice de GM no LBA comparado com os índices dos soros coletados no mesmo período, $p=0,001$. A comparação da 1,3βD-glucana mostraram um maior índice no LBA comparado com os índices dos soros, entretanto, não houve diferença estatística, $p=0,198$.

Figura 8 - Comparação entre as medianas dos índices de GM de 27 sujeitos com AI provada e provável, segundo critério EORTC 2008, no soro e lavado broncoalveolar, pelo teste U de Mann-Whitney com $p=0,001$

Figura 9. - Comparação entre as medianas dos índices de 1,3 β D-glucana, de 70 sujeitos com AI provada e provável, segundo critério EORTC 2008, no soro e lavado broncoalveolar, pelo teste U de Mann-Whitney com $p=0,198$

A Tabela 10 mostra a concordância entre as avaliações de 155 tomografias computadorizadas (TC), dos casos e controles, realizadas por dois radiologistas de maneira cega, que não tinham conhecimento dos objetivos do presente estudo. No grupo dos sujeitos com aspergilose possível a concordância foi regular e excelente nos sujeitos com aspergilose provada.

Tabela 10 - Concordância entre os laudos de 155 TC de tórax, avaliadas por 2 radiologistas de maneira cega para a hipótese diagnóstica IFI

TCs segundo classificação da AI	PC	kappa	<i>p</i>
TCs com laudo de sujeitos com aspergilose provada	1,00	1,00	<0,001
TCs com laudo de sujeitos com aspergilose provável	0,53	0,16	0,17
TCs com laudo de sujeitos com aspergilose possível	0,77	0,55	<0,001
TCs com laudo de sujeitos controles	0,75	0,12	<0,001
Global	0,75	0,07	<0,001

TC: tomografia computadorizada; N: número de pacientes testados; PC: proporção de concordância; IFI: infecção fúngica invasiva.

A Tabela 11 mostra a concordância, dois a dois, entre os métodos diagnósticos empregados no diagnóstico da AI. Foram analisadas 110 amostras de soro de GM, 66 amostras de LBA de GM, 55 amostras de soro de 1,3 β D-glucana, 30 amostras de LBA de 1,3 β D-glucana e 94 tomografias computadorizadas (TC). Dos grupos comparados, houve uma boa concordância entre a GM no soro e a GM no LBA e entre a GM no soro e 1,3 β D-glucana no soro. Concordância regular foi observada entre 1,3 β D-glucana no LBA e GM no soro; entre 1,3 β D-glucana no LBA e GM no LBA e entre 1,3 β D-glucana no LBA e 1,3 β D-glucana no soro. Uma pequena concordância foi encontrada entre GM no LBA e 1,3 β D-glucana no soro e entre GM no LBA e TC, GM no soro e TC e entre 1,3 β D-glucana no soro e no LBA.

Tabela 11 -- Concordância entre os métodos diagnósticos GM, 1,3 β -D-glucana e imagem no diagnóstico da Aspergilose Invasiva

	GM (soro)			GM (LBA)			1,3 β D (soro)			1,3 β D (LBA)		
	PC	Kappa	<i>p</i>	PC	kappa	<i>p</i>	PC	kappa	<i>p</i>	PC	kappa	<i>p</i>
GM (soro) (110)												
GM (LBA) (66)	0,88	0,7	<0,001									
1,3 β D (soro) (55)	0,84	0,67	<0,001	0,68	0,37	0,01						
1,3 β D (LBA) (30)	0,76	0,54	<0,001	0,76	0,49	0,003	0,76	0,53	0,001			
TC*(94)	0,51	0,06	0,23	0,6	0,23	0,02	0,54	0,08	0,31	0,59	0,14	0,22

GM: galactomanana; 1,3 β D-glucana; LBA: lavado broncoalveolar; TC: tomografia computadorizada; N: número de pacientes testados. Qui-quadrado de Pearson, $p < 0,05$. N: número de pacientes testados em cada método, classificação da AI, segundo critério EORTC 2002, sem utilização da GM. *TC com laudos sugestivos de AI, pelos radiologistas; PC: proporção de concordância. Valores de $p < 0,05$.

A Figura 10 mostra a distribuição dos diversos LRs da: **A.** GM no soro; **B.** GM no LBA; **C.** BDG no soro e **D.** BDG no LBA em amostras de casos com infecção de corrente sanguínea (ICS) por *Klebsiella pneumoniae* e colonização do LBA por *Acremonium sp*, leveduras, *Candida spp* e presença de bactérias como *Burkholderia cepacia complex* e *Acinetobacter baumannii*. No grupo dos controles amostras de sujeitos com ICS por *Candida spp*, *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa*. Foram incluídas também, colonização do LBA por *Paecilomyces sp*, *Syncephalastrum sp*; infecções por outros fungos: filamentosos como *Fusarium sp*, *Mucor*; leveduriformes: como *Paracoccidioides brasiliensis*, *Cryptococcus neoformans*, *Histoplasma capsulatum* e outros como *Pneumocystis jirovecii* e *Feohifomicose*. Amostras de *Mycobacterium fortuitum* e *Mycobacterium tuberculosis* também foram testadas assim como infecções virais como vírus respiratório sincicial (VRS) e parainfluenza. A Figura 11 demonstra uma maior proporção de LRs acima do ponto de corte para o grupo controle da BDG do que da GM, tanto no soro quanto no LBA.

10A

10B

10C

10D

Figura 10 - Distribuição dos LR dos ensaios de **A.** GM no soro; **B.** GM no LBA; **C.** BDG no soro e **D.** BDG no LBA em amostras de casos com infecções ou colonizações concomitantes e controles sem e com outras infecções. ICS: infecção de corrente sanguínea; VRS: vírus respiratório sincicial

A Figura 11 mostra a influência do uso do antifúngico (mediana em dias) antes da coleta da primeira GM, no soro de 50 sujeitos e no LBA de 25 sujeitos com aspergilose provada e provável. A comparação entre as medianas de dias de antifúngicos entre as amostras de GM no soro negativas mostrou-se maior quando comparada com a mediana das amostras positivas, porém não houve diferença significativa, $p=0,18$. Também no LBA, a comparação não mostrou nenhuma tendência de relação com o uso prévio de antifúngicos, $p=0,51$.

Figura 11 - Comparação entre as medianas de dias de antifúngicos antes da coleta da primeira dosagem de GM, em soro de 50 sujeitos e no LBA de 27 sujeitos com aspergilose provada e provável, pelo teste U de Mann-Whitney, $p=0,18$ e $p=0,51$, para um nível de significância de $p<0,05$

A Figura 12 mostra a curva de sobrevida Kaplan-Meier de 28 sujeitos com AI provada e provável, segundo critério EORTC 2008, comparando a curva de galactomanana dos sujeitos que negativaram a GM, com àqueles que mantiveram níveis positivos durante o seguimento. A diferença entre os dois grupos mostrou uma maior sobrevida no subgrupo dos sujeitos que negativaram a galactomanana, $p=0,03$.

Figura 12 - Curva de sobrevida, Kaplan-Meier, de 28 sujeitos com AI provada e provável, segundo EORTC 2008, que negativaram ou mantiveram níveis positivos de GM. Log Rank test $p=0,03$

5 DISCUSSÃO

O presente estudo avaliou as características epidemiológicas, clínicas, laboratoriais e os métodos empregados no diagnóstico da aspergilose invasiva, em 398 sujeitos, sendo 202 casos e 196 controles, em seguimento no período de dezembro de 2008 a março de 2013.

Trata-se do primeiro estudo de coorte prospectivo no Brasil que analisou o desempenho das provas diagnósticas, GM, BDG, tanto no soro quanto no LBA de pacientes imunodeprimidos para o diagnóstico da aspergilose invasiva e ainda seu papel como preditor de evolução para o óbito. Ressalta-se a utilização nos controles sujeitos com doenças endêmicas do nosso país como tuberculose, paracoccidioidomicose e histoplasmose, assegurando limiares de reatividades mais fidedignos para se estabelecer o diagnóstico no nosso meio. Além disso, enfatizamos que, por serem os métodos objetos de estudo, a GM e a BDG não entraram no critério de inclusão dos casos (EORTC/MSG 2002), para analisar com mais clareza a contribuição deste método no diagnóstico. Adicionalmente o grupo controle foi composto na maioria, 188/196 (96%), por sujeitos com as mesmas doenças de base e fatores de risco que os casos garantindo uma avaliação mais criteriosa não só dos fatores de risco para, desenvolvimento de AI, evolução para o óbito, mas também do desempenho de todos os métodos diagnósticos.

O estudo foi também o primeiro no país a avaliar não só o papel TC no diagnóstico de AI nas suas diversas classificações, mas também permitiu uma avaliação puramente radiológica ao cegar os radiologistas. Além de permitir estabelecer a concordância entre os dois profissionais, o que sem dúvida minimiza o viés do observador.

Na literatura atual poucos são os estudos que avaliaram o papel da BDG no diagnóstico da AI, procurando estabelecer um LR que fosse específico para AI e não utilizando o LR sugerido pelo fabricante para diagnóstico de IFI. Além disso, também pouco são os estudos que avaliaram a pesquisa da BDG no LBA para o diagnóstico da AI.

Na presente coorte, as características epidemiológicas, clínicas e laboratoriais foram semelhantes entre casos e controles, exceto por uma maior proporção controles provenientes do grupo “Outros”, entretanto este subgrupo colaborou apenas com 45 (11,3%) dos sujeitos incluídos no estudo (Tabela 1). O estudo foi conduzido principalmente nas unidades de TCTH e Hematologia, consequentemente, houve maior proporção desses grupos na casuística constituindo quase 80% da amostra total. Em relação à classificação para AI, segundo EORTC/MSG 2002, 18 (8,8%), foram classificados sujeitos com aspergilose provada, 28 (13,7%) provável e 158 (77,5%) como aspergilose possível. Os resultados da GM e 1,3 β D-glucana não foram utilizados nesta classificação, uma vez que o método diagnóstico está sendo objeto de estudo. Chama atenção no nosso estudo a elevada proporção de pacientes com AI provada e provável, diferindo de diversas casuísticas que além de incluírem número pequeno destes grupos, acrescentam a GM e a BDG como critério de inclusão de casos prováveis. A elevada proporção de pacientes com diagnóstico de aspergilose possível reflete a dificuldade em se estabelecer um diagnóstico de certeza, dada a baixa sensibilidade dos métodos de cultura e imagem, associada ao risco dos procedimentos invasivos, nesse grupo de pacientes. Dos 398 sujeitos, 184 (46,2%) evoluíram para o óbito, sendo que a proporção de óbitos foi estatisticamente maior nos casos 108 (59%), o que poderia refletir a mortalidade relacionada a aspergilose

invasiva dado que após a análise multivariável dos fatores de risco associados ao óbito apenas a presença de AI e citomegalovirose permaneceram associadas esse desfecho (Tabela 3) assim como demonstrado em outros estudos (Wallace *et al*, 1998; Bulpa *et al*, 2007; Papas *et al*, 2010; Kontoyiannis *et al*, 2010).

Como principais fatores de risco para o desenvolvimento da AI, após análise de regressão logística, bivariável e multivariável, o uso de corticosteroide, rejeição/DECH, doença pelo CMV, neutropenia ≤ 500 cel/mm³ e ≤ 100 cel/mm³ e monocitopenia ≤ 99 cel/mm³, foram associadas ao desenvolvimento da infecção, para a análise foram excluídos os pacientes do grupo “Outros”, uma vez que os mesmos se diferenciam dos demais grupos tanto pelas doenças de base quanto em relação aos fatores de risco previamente descritos na literatura (Tabela 2).

Nossos achados vão de encontro a estudos prévios que têm descrito como principais fatores de risco associados ao desenvolvimento da aspergilose invasiva, a presença de episódios prolongados e repetidos de neutropenia, presença de DECH, citomegalovirose e uso de corticosteróide (Garcia-Vidal *et al*, 2008, Bodro *et al*, 2012, Herbrecht *et al*, 2012, Nucci *et al*, 2015).

A presença de citopenias embora descrita em diversos estudos, não têm sido consistentemente identificada após análise multivariável, como no presente estudo, como fator de risco para o desenvolvimento de AI (Marr *et al*, 2002, Fukuda *et al*, 2003). Estudos em modelos animais têm demonstrado que a atividade antifúngica do sistema imune é exercida por várias expressões da imunidade inata, incluindo os neutrófilos e imunidade adaptativa, sendo as respostas T CD4+ *Aspergillus spp* específicas e reconhecidas como importante na regulação da resposta inflamatória

efetiva no pulmão, além de potencialmente ter papel na atividade antifúngica (Rivera *et al*, 2005; Rivera *et al*, 2006; Beck *et al*, 2006)

A presença de doença pelo citomegalovirus está associada ao desenvolvimento tanto precoce quanto tardio da aspergilose invasiva, o exato mecanismo é desconhecido, discute-se o papel de imunomodulação que o vírus poderia exercer adicionalmente ao quadro de citopenias induzida pelo tratamento com ganciclovir (Marr *et al*, 2002; Grow *et al*, 2003; Thursky *et al*, 2004).

Diferentemente do que tem sido descrito na literatura, nós não determinamos as medidas de desempenho a partir do LR de 0,5 descrito na literatura, uma vez que fatores epidemiológicos como prevalência e a presença de outras doenças infecciosas endêmicas restritas ou mais frequentes no nosso país poderiam influenciar nos resultados das provas diagnósticas, daí a necessidade de se estabelecer o nosso próprio corte para as amostras positivas e negativas. As melhores medidas de desempenho para GM, no soro, foram determinadas a partir de um LR de 0,35, com uma sensibilidade de 64,7% e especificidade de 92,8% , VPP de 50%, VPN de 95,9% e uma ASC de 0,79; as comparações com as demais ASC dos LRs 0,3;0,4;0,45 e 0,5 não mostraram diferença (Tabela 4 e Figura 2). A análise comparativa dos nossos resultados com a literatura devem ser feitos com parcimônia, uma vez que o método dos estudos variam sobremaneira. Os estudos descrevem suas medidas de desempenho, a partir de limiares de reatividades pré-estabelecidos na literatura, utilizando cortes de 0,5; e nos estudos do início da década de 2000, utilizava-se limiar de reatividade de 1,00, além do que o critério de definição de amostra positiva também varia de estudo para estudo, exigindo 1 ou 2 amostras como necessárias para definição de amostra positiva. Outro ponto crítico nos métodos dos

estudos é qual amostra deverá ser analisada uma vez que as diversas amostras coletadas ao longo da suspeita clínica poderiam sofrer influência seja do uso de antifúngicos como também da interação entre fungo e hospedeiro, fase e gravidade da doença (AI) que, não obstante, poderia interferir na cinética tanto GM e como da 1,3 β D-glucana (Hope *et al*, 2010; Nucci *et al*, 2013). Adicionalmente, alguns estudos realizados depois que as provas diagnósticas de GM e 1,3 β D-glucana foram incluídas no critério de aspergilose provável em 2008, utilizaram os resultados de GM para classificar pacientes como prováveis o que poderiam superestimar o desempenho do método, o que não ocorreu no nosso estudo (Maertens J *et al*, 2001; Fortun *et al*, 2001; Marr *et al*, 2004; Husain *et al*, 2004; Kwak *et al*, 2004; Hadrich I *et al*, 2012). Da mesma maneira, para uma análise comparativa com nosso estudo, na Tabela 6 nós utilizamos o critério EORTC 2008 (De Pauw *et al*, 2008) e observamos uma melhora nas medidas de desempenho com aumento da sensibilidade de 64,7% para 68,2%, a especificidade permaneceu inalterada, o VPP de 50% para 76,1 e o VPN diminuiu de 95,9 para 89,9 com uma ASC de 0.81. No LBA, após a utilização do critério de 2008 também foi observado um incremento na sensibilidade 54,2% para 65,5%, especificidade inalterada, VPP de 87,5 para 90,5% e discreta queda do VPN de 71,4 para 69,4% aumentando a ASC de 0,75 para 0,77. Assim, Pfeiffer *et al*, 2006, analisaram 27 estudos que demonstraram “performance” variável da GM, dependendo da população estudada com sensibilidade e especificidade variando de 22% a 84% no grupo de pacientes transplantados de órgãos sólidos, 82% e 89% nos pacientes submetidos a TCTH e 70% e 92% nos pacientes com neoplasias hematológicas. A análise da sensibilidade e especificidade da GM, no soro, nos pacientes submetidos ao TCTH ou neoplasias hematológicas no presente estudo não

diferiu do grupo total mostrando sensibilidade de 66,7% e especificidade de 92,7% (dados não mostrados), uma possível explicação seria a elevada proporção 317/398 (79,4%) destes pacientes no estudo.

Os resultados observados no LBA, definindo o LR de 0,65 como o corte para as melhores medidas de desempenho, demonstraram uma sensibilidade de 71,4%, especificidade de 92,6%, e elevado VPN, 92,6%. Outros estudos, que incluem a GM no soro positiva, têm demonstrado resultados comparáveis ao nosso, utilizando limiares de reatividade de 0,5; 0,7 e 0,8 no LBA, com sensibilidade variando de 71%-96% e especificidade de 80%-94% (Nguyen *et al*, 2011, Maertens *et al*, 2009; Maertens *et al*, 2012, Brownback *et al*, 2013).

Acosta *et al*, 2010, estudaram a GM no soro e LBA, população semelhante ao nosso estudo e observaram sensibilidade de 100% e especificidade de 85%, para um $LR \geq 0,5$, em 4 pacientes com AI provada. Nosso estudo embora tenha analisado número de casos 4 vezes superior, 17 casos de AI provada, mostrou menor sensibilidade, porém com especificidade superior. O uso de antifúngicos, conforme demonstrado em estudos prévios, poderia ter influenciado a positividade da GM no soro uma vez que os pacientes com GM negativa, já faziam uso de antifúngico há 4,5 dias (mediana), antes da primeira dosagem da GM, comparado com dois dias daqueles que tiveram GM positiva (Figura 10) (Racil *et al*, 2011).

Outra metanálise de 30 estudos avaliou um subgrupo de 12 estudos que para um LR de 0,5 e encontrou uma sensibilidade 100% e especificidade de 77%. Neste mesmo estudo, uma subanálise daqueles prospectivos ~~e~~ que utilizaram a GM no critério de aspergilose provável, as especificidades foram de 67% e 71% respectivamente (Zou *et al*, 2012).

A sensibilidade de 71,4% encontrada no nosso estudo, ainda difere de estudos que demonstraram valores de sensibilidade de 82-86%, mas o número de amostras consideradas como critério para positivo divergiu entre os estudos, bem como a GM também foi incluída como critério de provável nas análises do desempenho do teste (Guo *et al* 2010; Heng *et al*, 2015).

Recentes estudos têm demonstrado maiores limiares de reatividade da GM no LBA quando comparada ao soro, no nosso estudo quando os dados foram compilados dos pacientes que tiveram amostras pareadas do LBA com o soro do mesmo dia, Figura 8, a mediana dos níveis de GM no LBA foram maiores quando comparadas ao soro entretanto quando fizemos a mesma comparação entre amostras pareadas da 1,3 β D-glucana, apesar da mediana dos Tabela 4 limiares de reatividade do LBA terem sido maiores do que os do soro, não encontramos diferença significativa entre as duas amostras (Pennak *et al*, 2008, Heng *et al*, 2015).

A pesquisa de 1,3 β D-glucana foi realizada num subgrupo de 164 sujeitos sendo 16 com AI provada, 39 com AI provável e 109 controles. Com o objetivo de escolher um corte que representasse uma maior especificidade, dado que o diagnóstico do gênero *Aspergillus spp* é o foco do estudo, foi escolhida a concentração de 100 pg/mL tanto no soro, quanto no LBA. No soro, a sensibilidade foi de 62,5%, especificidade de 75,2%, VPP de 27% e VPN de 93,2%, com uma ASC de 0,69, nos casos provados e quando somado os casos prováveis o desempenho do teste demonstra uma queda da sensibilidade de apenas 49,1%. Os resultados encontrados no presente estudos são comparáveis a outros estudos que da mesma maneira avaliaram a utilidade da 1,3 β D-glucana, no diagnóstico da AI, como Persat *et al*, 2008, que demonstraram uma sensibilidade de 68% e especificidade de

73%, em pacientes com AI provada e provável, entretanto utilizando uma concentração de 80 pg/mL. Comparativamente à mesma concentração, nossa sensibilidade seria de 62% e especificidade de 68%. Em outro estudo, em pacientes com doenças onco-hematológicas, com diagnóstico de AI provada e provável, a melhor concentração encontrada foi de 60 pg/mL, com uma sensibilidade menor que a do nosso estudo, 61,5% vs 67% porém com especificidade maior, de 90,8% vs 78% (Lamoth *et al*, 2012).

Estudos com o objetivo de avaliar a utilidade da 1,3 β -Dglucana no soro têm demonstrado desempenhos melhores como Sulahian *et al*, 2014, que analisaram 105 pacientes com AI invasiva, sendo 14 AI provada e 91 AI provável, demonstrando uma sensibilidade de 80% e especificidade de 82%, entretanto no seu grupo controle não havia sujeitos com outras IFI como nosso estudo.

Com relação a pesquisa de 1,3 β -Dglucana no LBA, com o objetivo de diagnóstico de aspergilose invasiva, há poucos estudos na literatura. Os resultados do nosso estudo, no LBA, mostraram um LR superior ao do soro de 140 pg/mL para alcançar um mínimo de aceitável de especificidade, sendo a sensibilidade de 50%, especificidade de 76,9%, VPP 40% e VPN de 83,3%, nos casos provados e 46,2%, 76,9%, 40%, 70 e 55,6%, quando somados os casos prováveis. Hoenigl *et al*, 2014, demonstraram valores de sensibilidade de 80% especificidade de 76%, em 10 pacientes com AI, sendo 3 com AI provada e 7 com AI provável e um grupo controle, sem outras IFI. De maneira semelhante ao nosso estudo, Theel *et al*, 2013, demonstraram para diagnóstico de IFI, baixos valores de sensibilidade e especificidade 50% e 55,1% respectivamente. Adicionalmente, na Figura 10, os LRs tanto das amostras de soro quanto de LBA mostraram-se elevados entre o grupo

controle com outras infecções causadas por outros fungos filamentosos como fusariose e mucormicose e por infecções causadas por fungos leveduriformes como *Criptococcus neoformans* e *Histoplasma capsulatum*. Os controles com infecções por *Mycobacterium fortuitum* e *Mycobacterium tuberculosis* também mostraram elevados LRs., que poderiam, eventualmente, contribuir para o desempenho inadequado da BDG (Marty *et al*, 2009). Nosso dado reforça que para o emprego da prova de BDG para o diagnóstico da AI deverá se utilizar elevados pontos de corte dos LRs na tentativa de se aumentar a especificidade para o gênero *Aspergillus*.

Observou-se ainda entre as provas diagnósticas empregadas no diagnóstico da AI (Tabela 11) uma boa concordância entre a GM no soro e no LBA e GM no soro e 1,3 β D-glucana no soro, diferentemente do que foi registrado em que outros estudos como o de Persat *et al*, 2008, que, analisando 70 pacientes com AI, encontraram um grau de concordância apenas regular entre GM soro e 1,3 β D-glucana soro e entre a GM e 1,3 β D-glucana no LBA.

Chama a atenção em nosso trabalho a pequena correlação entre a tomografia computadorizada e os demais métodos, demonstrando a baixa especificidade da tomografia, o que vai de encontro à análise realizada pelo dois radiologistas, de maneira cega, na qual a concordância foi quase perfeita apenas no subgrupo dos sujeitos com aspergilose provada Tabela 9 (Caillot *et al*, 1997; Bergeron *et al*, 2012).

Em situações em que os procedimentos invasivos não sejam factíveis a utilidade da dosagem da GM contribuiria com quase 50% a mais no diagnóstico dos casos prováveis (Tabela 6). Tal incremento poderia ainda ser maior não fosse o uso de antifúngicos antes da coleta da GM, mas também uma seleção mais criteriosa dos pacientes com diagnóstico de AI possível dada a inespecificidade utilizada para esta

classificação (aspectos do hospedeiro, clínico e radiológico), que não obstante poderiam corresponder a outras patologias infecciosas ou não-infecciosas. Exemplo disso foi, nas Figuras 2 e 3, a comparação entre as medianas dos índices de GM e da 1,3 β D-glucana, tanto no soro quanto no LBA, em pacientes com AI possível apresentaram diferença significativa quando comparadas às de pacientes com AI provada e provável, assim como os controles.

A utilidade da GM tem sido estudada não somente no diagnóstico da AI, mas também como preditor de desfecho clínico. Penack *et al*, 2008, Marr *et al*, 2004 e Maertens *et al*, 2009, descreveram a utilidade da dosagem seriada da GM no prognóstico dos pacientes, sendo observada uma curva ascendente nos casos que evoluíram para o óbito e descendente naqueles que evoluíram favoravelmente. Adicionalmente, Maertens *et al*, 2009, evidenciaram uma maior sobrevida no grupo de pacientes que mantinham níveis de GM persistentemente negativos. De maneira semelhante, nosso estudo observou em 28 pacientes com AI provada e provável, através da curva Kaplan-Meier, que pacientes que negativaram a GM tiveram maior sobrevida em relação aos que mantiveram níveis positivos durante o seguimento, $p < 0,03$. Adicionalmente, a análise de regressão logística univariável e multivariável no presente estudo demonstrou que, dentre todos fatores de risco estudados, apenas a aspergilose invasiva e a presença de citomegalovirose foram associados ao óbito.

Nós analisamos a contribuição da GM, BDG e TC no diagnóstico da AI tentando dirimir ao máximo a influência das variações nos métodos de estudo seja na escolha dos critérios de inclusão da população estudada, na seleção do grupo controle e na análise de maneira cega dos radiologistas o que pode ter contribuído sobremaneira para os achados do presente estudo.

6 CONCLUSÃO

Os resultados do presente estudo, em uma coorte prospectiva, utilizando a GM e BDG no soro e LBA, bem como a tomografia computadorizada permitiram as seguintes conclusões.

1. Através da análise das medidas de desempenho da GM no soro, estudada numa população na qual havia uma maior probabilidade da doença angioivasiva, o LR encontrado foi de 0,35, um valor menor do que o encontrado na literatura que utiliza o corte de 0,5. Tal achado poderá ser útil no diagnóstico mais precoce o que poderá contribuir na diminuição da mortalidade.
2. O LR mais apropriado para o LBA foi de 0,65 menor do que os descritos na literatura, de 1,0, embora estudos com população semelhante a do presente estudo tenham encontrado valores menores como 0,7 e 0,85.
3. As provas de BDG no soro e LBA demonstraram baixo desempenho para o diagnóstico da AI o que poderia ser explicado pelo fato da 1,3 β D-glucana estar presente não só na parede de fungos filamentosos como de leveduras, além da elevada taxa de falso-positivo inclusive com agentes importantes como histoplasmose, criptococose e a tuberculose, que constituem em nosso meio o principal diagnóstico diferencial das lesões pulmonares pela AI.
4. A comparação entre os métodos diagnósticos revelou forte concordância apenas entre os métodos GM no soro e LBA corroborando os seus achados de melhores medidas de desempenho.
5. A relação entre a evolução dos níveis de GM no soro com o desfecho clínico revelou que aqueles sujeitos que persistiam com níveis positivos evoluíram mais para o óbito comparado com os que negativavam seus níveis, outros

possíveis fatores que poderiam ter contribuído para o óbito foram excluídos após análise de regressão logística que encontrou como único fator associado ao óbito a presença de AI.

Anexo 1 - Ficha clínico-epidemiológica e laboratorial

FICHA DE DADOS PROJETO: Aspergilose invasiva em pacientes imunodeprimidos: comparação entre as provas de Galactomanana, 1,3BD-glucana, dados tomográficos e desfecho clínico.

ETIQUETA PACIENTE/ASPERGILLUS

NÚMERO FICHA: ____

LOCAL DE INTERNAÇÃO:

☐ UTI 4º ANDAR	☐ Tx. Renal
☐ UTI 9º ANDAR	☐ Tx. Fígado
☐ TMO	☐ Tx. Pulmão
☐ HEMATOLOGIA	☐ Tx. Coração

Data Coleta: ____/____/____ Data Internação ____/____/____ Data Nasc: ____/____/____

Doença de Base: _____

Doença atual: _____

Co-morbidades _____

Sítio(s) acometido (s):

☐ Pulmão	☐ Cutâneo
☐ SNC	☐ Subcutâneo
☐ ICS	☐ Disseminado _____
☐ TGI	☐ Outros _____
☐ TGU	

Imagem radiológica:

☐ RX data _____	☐ CT data _____	☐ RNM/data _____
☐ Condensação	☐ Condensação	_____
☐ Difuso	☐ Difuso	_____
☐ Nódulo(s)	☐ Nódulo(s) ()	_____
☐ Micronodular	☐ Micronodular	_____
☐ Cavitação	☐ Cavitação	_____
☐ Derrame	☐ Derrame	_____
	☐ Sinal do halo	_____
	☐ Sinal do ar crescente	_____

Alterações laboratoriais:

Data										
Neutropenia										
Plaquetopenia										
Anemia										
Pancitopenia										
ALT/AST										
FA/GGT										
Elet. proteína										
PCR										
VHS										
Albumina										
Uréia										
creatinina										
LCR										
LMN										
MNN										
Data										
Neutropenia										
Plaquetopenia										
Anemia										
Pancitopenia										
ALT/AST										
FA/GGT										
Elet. proteína										
PCR										
VHS										
Albumina										
Uréia										
creatinina										
LCR										
LMN										
MNN										

Sinais/sintomas/fatores para AI:

- ☐ Febre (>96hs, > 38°C ou < 36°C)
- ☐ Tosse
- ☐ Hemoptise
- ☐ Dor pleurítica
- ☐ Corticóide ≥ 20mg /dia, > 3 semanas;
- ☐ Dia TX- infecção
- ☐ Neutropenia prolongada > 10 dias

- ☐ GVHD
sítio/data _____
- ☐ IFI prévia
(qual/data) _____
- ☐ Uso ATB amplo espectro (tab.)
 - ☐ Amox/clav.
 - ☐ Pipe/tazo.

[illegible][illegible]

Culturas bacterias

[illegible]

Culturas fungos

[illegible]

[illegible]

Anexo 2 - Banco de dados com as informações clínico-epidemiológicas e laboratoriais para análise estatística

N	SEXO	ID	DATE	CACO	EM2	EM8	FR	FR1	FRG	DCG	REJ	CORT	CORTCAT	CMV	OUT	DATASA	OUTD	N100	N500	NCAT	L100	LCAT	M99	MCAT	TC	GMSORO	GMBAL
1	0	61	09/03/2011	0	0	0	2	2	1	1	0	0	4	0	1	05/10/2012	566	0	0	2	0	1	0	0	2	2	2
2	0	41	16/10/2009	0	0	0	4	8	3	5	2	2	5	2	1	07/12/2009	51	0	0	2	0	2	0	0	1	2	2
3	0	47	30/04/2010	0	0	0	2	2	1	1	0	0	4	0	1	28/03/2014	1408	1	1	0	1	0	1	1	0	2	2
4	0	61	16/08/2011	0	0	0	4	8	3	5	2	1	1	2	1	07/01/2014	861	0	0	2	0	2	0	0	2	2	2
5	1	52	14/04/2011	0	0	0	2	2	1	1	0	0	4	0	1	13/06/2011	59	0	0	2	0	2	0	0	2	2	2
6	1	19	28/03/2011	0	0	0	2	2	1	1	0	0	4	0	1	10/10/2011	192	1	1	0	1	0	1	1	2	2	2
7	1	57	20/05/2010	0	0	0	2	2	1	1	0	0	4	0	1	15/04/2014	1405	0	0	2	0	1	0	0	1	2	2
8	0	47	30/08/2010	0	0	0	3	5	2	5	0	1	1	0	0	31/08/2010	0	0	0	2	0	2	0	0	2	2	2
9	1	45	21/09/2010	0	0	0	0	0	0	0	2	1	1	2	0	22/09/2010	1	0	0	2	0	2	0	0	0	2	2
10	1	48	08/07/2009	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	0	1	16/05/2014	1748	0	0	2	0	2	0	0	0	2	2
11	0	35	23/12/2009	0	0	0	1	1	1	3	0	0	4	0	0	08/01/2010	15	1	1	0	1	0	1	1	0	2	2
12	1	29	24/09/2008	0	0	0	4	8	3	5	2	2	5	2	1	07/07/2014	2083	0	0	2	1	0	1	1	2	2	2
13	1	59	14/04/2010	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	2	0	12/05/2010	28	1	1	0	1	0	1	1	1	2	2
14	0	28	18/08/2009	0	0	0	1	1	1	3	0	0	4	1	1	09/04/2014	1671	0	0	2	0	1	0	0	2	2	2
15	0	49	23/12/2009	0	0	0	0	0	0	0	2	0	4	2	0	28/02/2010	65	1	1	0	1	0	1	1	0	2	2
16	1	32	05/11/2010	0	0	0	1	1	1	3	0	0	4	0	1	22/07/2013	977	1	1	0	1	0	1	1	2	2	2
17	0	48	23/10/2009	0	0	0	2	2	1	1	0	0	4	0	1	25/05/2011	572	0	0	2	0	1	0	0	1	2	2
18	0	23	09/01/2013	1	1	1	1	1	1	1	1	1	3	0	0	12/01/2013	3	0	0	2	1	0	0	0	1	2	2
19	1	41	26/05/2009	0	0	0	1	1	1	2	0	1	1	1	0	19/06/2009	23	1	1	0	1	0	0	0	2	2	2
20	1	21	07/02/2013	0	0	0	1	1	1	0	0	0	4	0	1	12/02/2014	365	1	1	0	1	0	1	1	2	2	2
21	0	21	26/02/2010	0	0	0	4	8	3	5	2	2	5	2	1	14/04/2010	48	0	0	2	0	2	0	0	2	2	2
22	0	63	28/04/2010	0	0	0	0	0	0	0	2	1	1	2	0	03/05/2010	5	1	1	0	1	0	1	1	2	2	2
23	1	55	23/11/2010	0	0	0	0	0	0	2	2	0	4	0	0	08/12/2010	15	0	1	1	0	2	0	0	0	2	2
24	0	33	16/02/2011	0	0	0	0	0	0	0	2	0	4	2	1	13/09/2011	207	1	1	0	1	0	1	1	2	2	2
25	1	55	16/08/2010	0	0	0	2	2	1	1	0	0	4	0	1	12/05/2011	266	0	0	2	1	0	0	0	2	2	2
26	1	20	18/08/2011	0	0	0	0	0	0	0	2	0	4	0	1	11/12/2013	833	1	1	0	0	2	1	1	2	2	2
27	0	18	25/04/2011	0	0	0	2	2	1	1	0	1	1	0	1	15/06/2011	50	0	0	2	1	0	0	0	2	2	2
28	1	61	21/01/2010	0	0	0	2	2	1	1	0	0	4	0	1	03/05/2010	102	0	0	2	0	1	1	1	2	2	2
29	1	23	20/08/2009	0	0	0	0	0	0	3	2	0	4	2	1	30/05/2014	1720	0	0	2	0	2	0	0	0	2	2
30	0	55	16/03/2010	0	0	0	3	5	2	5	0	1	1	0	0	25/03/2010	9	0	0	2	0	1	0	0	2	2	2
31	1	14	12/02/2010	0	0	0	4	7	3	5	2	1	3	1	0	03/05/2010	81	0	0	2	0	2	0	0	1	2	2
32	0	18	30/05/2008	0	0	0	0	0	0	1	2	1	1	2	1	13/01/2014	2023	0	0	2	0	1	0	0	1	2	2
33	0	61	20/05/2010	0	0	0	2	2	1	1	0	0	4	1	1	19/08/2013	1169	0	0	2	0	1	0	0	2	2	2
34	1	23	27/09/2010	0	0	0	0	0	0	0	2	0	4	2	1	09/08/2011	312	1	1	0	0	2	0	0	0	2	2
35	0	47	22/07/2010	0	0	0	4	7	3	5	2	1	1	2	1	13/03/2014	1311	0	0	2	0	2	0	0	1	2	2
36	1	42	31/03/2010	0	0	0	1	1	1	0	0	0	4	0	0	29/06/2012	809	0	0	2	0	2	0	0	2	2	2
37	1	45	16/09/2009	0	0	0	3	4	2	5	1	1	1	0	1	19/12/2011	813	0	0	2	1	0	0	0	1	2	2
38	1	32	20/05/2010	0	0	0	4	7	3	5	2	2	5	2	1	06/06/2012	736	0	0	2	0	2	0	0	2	2	2
39	0	44	08/05/2009	0	0	0	1	1	1	0	0	1	1	0	1	25/10/2013	1607	0	0	2	0	1	0	0	2	2	2
40	1	32	22/08/2011	0	0	0	0	0	0	1	2	0	4	2	1	20/09/2011	28	0	0	2	0	2	0	0	2	2	2

continua

Anexo 2 - Banco de dados com as informações clínico-epidemiológicas e laboratoriais para análise estatística (continuação)

N	SEXO	ID	DATE	CACO	EM2	EM8	FR	FR1	FRG	DCG	REJ	CORT	CORTCAT	CMV	OUT	DATASA	OUTD	N100	N500	NCAT	L100	LCAT	M99	MCAT	TC	GMSORO	GMBAL
41	0	23	02/06/2010	0	0	0	0	0	0	0	2	0	4	2	1	08/11/2011	516	0	0	2	0	2	0	0	0	2	2
42	1	51	14/01/2010	0	0	0	3	4	2	5	0	1	1	1	1	02/05/2010	108	0	0	2	0	1	0	0	1	2	2
43	1	27	28/10/2010	0	0	0	0	0	0	0	2	1	1	2	0	14/11/2010	16	1	1	0	0	2	1	1	0	2	2
44	1	56	06/12/2010	0	0	0	0	0	0	0	2	0	4	2	1	03/10/2013	1017	0	0	2	0	1	1	1	2	2	2
45	0	22	23/12/2009	0	0	0	0	0	0	0	2	0	4	0	0	12/06/2010	169	0	0	2	0	1	0	0	0	2	2
46	0	53	16/09/2009	0	0	0	0	0	0	1	2	0	4	2	1	08/02/2010	142	0	0	2	0	2	0	0	2	2	2
47	1	49	11/01/2010	0	0	0	1	1	1	0	1	1	3	0	1	11/06/2010	150	0	0	2	0	2	0	0	2	2	2
48	0	33	29/04/2010	0	0	0	1	1	1	0	1	1	2	0	0	12/05/2010	13	0	0	2	0	2	0	0	2	2	2
49	0	37	30/12/2010	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	2	1	16/01/2014	1096	0	0	2	0	2	0	0	2	2	2
50	0	17	31/08/2011	0	0	0	0	0	0	0	2	2	5	0	0	25/02/2012	175	1	1	0	1	0	1	1	2	2	2
51	0	62	24/03/2009	0	0	0	0	0	0	0	2	0	4	2	0	29/03/2009	5	1	1	0	1	0	1	1	2	2	2
52	0	51	26/02/2010	0	0	0	2	2	1	1	0	0	4	0	0	10/03/2010	14	1	1	0	1	0	1	1	2	2	2
53	0	37	10/11/2010	0	0	0	4	10	3	5	2	1	1	2	1	23/08/2011	283	0	0	2	0	2	0	0	2	2	2
54	0	56	07/04/2011	0	0	0	0	0	0	2	2	0	4	2	0	10/06/2011	63	0	0	2	0	2	0	0	2	2	2
55	0	63	09/05/2011	0	0	0	3	4	2	5	0	1	1	1	1	26/12/2013	947	0	0	2	0	1	0	0	2	2	2
56	1	48	31/05/2010	0	0	0	2	2	1	1	0	0	4	0	1	23/04/2010	323	0	0	2	0	1	0	0	2	2	2
57	0	55	13/04/2010	0	0	0	2	2	1	1	0	0	4	1	0	11/07/2010	88	0	0	2	0	2	0	0	2	2	2
58	0	43	22/07/2010	0	0	0	0	0	0	0	2	1	1	2	1	13/04/2014	1341	1	1	0	0	2	1	1	0	2	2
59	1	39	14/04/2010	0	0	0	3	4	2	5	1	1	1	0	0	25/07/2010	101	0	0	2	0	2	0	0	1	2	2
60	0	64	31/08/2010	0	0	0	4	7	3	5	2	1	1	2	0	10/06/2012	640	0	0	2	0	2	0	0	2	2	2
61	0	34	07/04/2011	0	0	0	0	0	0	0	2	0	4	2	1	22/09/2011	165	0	0	2	0	2	0	0	2	2	2
62	1	20	17/03/2009	0	0	0	0	0	0	4	2	0	4	2	0	10/05/2009	53	1	1	0	0	2	1	1	2	2	2
63	1	26	06/03/2009	0	0	0	2	2	1	1	0	0	4	1	0	18/05/2009	72	0	1	1	0	1	1	1	1	2	2
64	0	30	23/03/2011	0	0	0	4	8	3	5	2	1	1	2	1	25/11/2011	242	0	0	2	0	2	0	0	2	2	2
65	0	35	12/08/2010	0	0	0	1	1	1	0	1	1	1	0	0	06/10/2010	54	0	0	2	0	2	0	0	2	2	2
66	0	52	24/03/2011	0	0	0	0	0	0	0	2	0	4	2	0	12/04/2011	18	0	0	2	0	2	0	0	2	2	2
67	1	48	05/11/2009	0	0	0	0	0	0	0	2	0	4	2	0	18/11/2009	13	1	1	0	0	1	0	0	0	2	2
68	0	38	06/04/2010	0	0	0	1	1	1	1	0	0	4	0	1	21/05/2014	1485	0	0	2	0	1	0	0	0	2	2
69	1	19	21/01/2011	0	0	0	0	0	0	0	2	0	4	2	1	22/10/2013	991	1	1	0	1	0	1	1	2	2	2
70	1	35	22/06/2011	0	0	0	0	0	0	5	2	0	4	0	1	14/02/2013	592	0	0	2	0	2	0	0	2	2	2
71	1	20	13/06/2011	0	0	0	0	0	0	0	2	0	4	2	1	25/11/2011	162	1	1	0	1	0	1	1	2	2	2
72	1	37	02/04/2009	0	0	0	2	2	1	0	0	0	4	0	1	08/02/2013	1386	0	1	1	0	1	0	0	2	2	2
73	0	50	27/08/2009	0	0	0	2	2	1	1	0	1	2	0	1	08/11/2009	71	0	1	1	0	2	0	0	0	2	2
74	1	42	12/03/2009	0	0	0	3	3	2	5	0	1	1	0	1	14/04/2009	32	0	0	2	0	2	0	0	2	2	2
75	0	45	29/07/2010	0	0	0	1	1	1	1	1	1	3	1	0	02/09/2010	33	0	0	2	0	1	0	0	1	2	2
76	1	61	11/04/2012	0	0	0	4	7	3	5	2	1	1	0	0	07/05/2012	26	0	0	2	0	2	0	0	1	2	2
77	1	26	16/10/2009	0	0	0	4	7	3	5	2	1	1	0	1	05/02/2014	1549	0	0	2	0	2	0	0	1	2	2
78	0	48	23/10/2009	0	0	0	2	2	1	1	0	1	3	0	1	01/06/2010	218	0	0	2	0	2	0	0	1	2	2
79	1	11	29/04/2010	0	0	0	1	1	1	0	1	1	2	0	1	22/07/2010	83	0	0	2	0	2	0	0	2	2	2
80	1	59	16/03/2009	0	0	0	0	0	0	2	2	0	4	0	0	24/03/2009	8	0	0	2	0	2	0	0	2	2	2

continua

Anexo 2 - Banco de dados com as informações clínico-epidemiológicas e laboratoriais para análise estatística (continuação)

N	SEXO	ID	DATE	CACO	EM2	EM8	FR	FR1	FRG	DCG	REJ	CORT	CORTCAT	CMV	OUT	DATASA	OUTD	N100	N500	NCAT	L100	LCAT	M99	MCAT	TC	GMSORO	GMBAL
81	1	59	26/01/2010	0	0	0	0	0	0	1	2	0	4	2	1	03/10/2013	1327	0	0	2	0	1	0	0	2	2	2
82	0	46	08/04/2009	0	0	0	0	0	0	1	2	0	4	0	1	31/10/2010	563	0	0	2	0	2	0	0	2	2	2
83	0	60	09/01/2009	0	0	0	0	0	0	0	2	0	4	2	1	04/11/2013	1735	0	1	1	0	2	0	0	2	2	2
84	0	34	21/01/2010	0	0	0	0	0	0	1	2	1	1	2	1	27/11/2012	1026	0	0	2	0	2	0	0	2	2	2
85	0	63	24/02/2011	0	0	0	0	0	0	1	2	0	4	0	1	24/03/2011	30	0	0	2	0	2	0	0	2	2	2
86	1	47	13/05/2010	0	0	0	1	1	1	0	0	0	4	0	0	10/05/2011	357	1	1	0	1	0	1	1	0	2	2
87	0	41	21/07/2011	0	0	0	4	11	3	5	2	1	1	2	0	02/06/2013	671	0	0	2	0	2	0	0	2	2	2
88	1	44	06/12/2010	0	0	0	0	0	0	0	2	0	4	2	1	11/01/2011	35	1	1	0	0	1	0	0	2	2	2
89	0	37	30/09/2010	0	0	0	1	1	1	0	0	0	4	0	1	26/01/2011	116	1	1	0	1	0	1	1	0	2	2
90	0	76	27/03/2009	0	0	0	0	0	0	2	2	1	1	0	1	15/09/2009	168	0	0	2	0	2	0	0	2	2	2
91	1	20	10/02/2009	0	0	0	1	1	1	0	1	2	5	0	1	14/10/2009	244	0	0	2	0	2	0	0	0	2	2
92	0	45	05/08/2010	0	0	0	1	1	1	0	1	1	2	1	0	02/10/2010	57	1	1	0	1	0	1	1	0	2	2
93	0	52	02/04/2009	0	0	0	1	1	1	0	1	1	1	1	0	05/04/2010	363	0	0	2	0	2	0	0	2	2	2
94	1	23	18/04/2011	0	0	0	0	0	0	0	2	0	4	2	1	12/12/2013	954	0	0	2	0	2	0	0	2	2	2
95	0	23	29/04/2010	0	0	0	1	1	1	0	0	0	4	0	0	07/05/2010	8	1	1	0	1	0	1	1	2	2	2
96	1	21	22/11/2010	0	0	0	1	1	1	0	1	1	3	0	0	03/12/2010	11	1	1	0	1	0	1	1	2	2	2
97	1	48	21/05/2009	0	0	0	4	8	3	5	2	1	1	0	1	11/04/2014	1760	0	0	2	0	2	0	0	0	2	2
98	0	38	04/02/2011	0	0	0	0	0	0	0	2	0	4	2	1	11/09/2011	217	1	1	0	1	0	1	1	2	2	2
99	0	15	25/04/2011	0	0	0	0	0	0	5	0	0	4	0	0	01/10/2011	156	0	1	1	0	1	0	0	2	2	2
100	1	20	27/01/2011	0	0	0	1	1	1	0	0	0	4	0	0	29/01/2011	2	1	1	0	1	0	1	1	2	2	2
101	0	16	11/03/2010	0	0	0	1	1	1	0	1	1	1	1	1	18/10/2011	577	0	0	2	0	2	0	0	2	2	2
102	1	33	21/05/2009	0	0	0	0	0	0	1	2	0	4	2	1	06/06/2009	15	0	0	2	0	2	0	0	0	2	2
103	0	20	30/11/2012	0	0	0	0	0	0	3	2	0	4	2	0	08/04/2014	488	1	1	0	1	0	1	1	1	2	2
104	0	80	16/08/2010	0	0	0	4	8	3	5	2	0	4	2	1	27/02/2011	191	0	0	2	0	2	0	0	2	2	2
105	1	53	17/02/2011	0	0	0	0	0	0	1	2	1	1	2	1	06/04/2012	409	0	0	2	0	2	0	0	2	2	2
106	0	34	25/09/2009	0	0	0	3	4	2	5	0	1	1	0	1	04/06/2014	1689	0	0	2	0	2	0	0	0	2	2
107	1	55	26/03/2010	0	0	0	2	2	1	1	0	0	4	1	1	03/05/2010	37	0	0	2	1	0	1	1	2	2	2
108	1	59	10/03/2011	0	0	0	1	1	1	0	0	1	1	0	1	28/06/2011	108	0	0	2	0	2	0	0	2	2	2
109	1	15	25/03/2010	0	0	0	2	2	1	1	0	0	4	1	0	24/04/2010	29	0	0	2	1	0	0	0	2	2	2
110	0	23	03/01/2011	0	0	0	0	0	0	0	2	0	4	2	1	24/03/2012	441	0	0	2	0	1	0	0	2	2	2
111	1	57	05/05/2009	0	0	0	0	0	0	2	2	0	4	2	1	15/09/2009	130	0	0	2	0	2	0	0	0	2	2
112	0	31	15/02/2011	0	0	0	2	2	1	0	0	0	4	0	1	20/05/2014	1175	0	0	2	0	2	0	0	0	2	2
113	1	35	20/05/2011	0	0	0	1	1	1	3	1	1	1	1	1	30/07/2012	430	1	1	0	0	1	1	1	2	2	2
114	1	18	26/02/2010	0	0	0	4	7	3	5	2	1	1	2	0	26/02/2011	360	0	0	2	0	2	0	0	2	2	2
115	1	56	30/05/2011	0	0	0	2	2	1	1	0	1	1	0	1	06/01/2014	936	0	0	2	0	1	0	0	2	2	2
116	0	46	26/07/2010	0	0	0	1	1	1	0	1	1	2	1	0	12/11/2010	106	0	0	2	0	2	1	1	0	2	2
117	1	53	06/02/2009	0	0	0	4	7	3	5	2	1	1	2	1	28/02/2012	1102	0	0	2	0	2	0	0	2	2	2
118	1	96	14/08/2009	0	0	0	4	7	3	5	2	1	1	1	1	16/08/2013	1442	0	0	2	0	2	0	0	2	2	2
119	0	31	16/08/2010	0	0	0	1	1	1	0	1	1	2	1	0	12/03/2011	206	0	1	1	0	2	0	0	2	2	2
120	1	35	20/05/2010	0	0	0	0	0	0	1	2	1	1	2	1	01/07/2010	41	0	0	2	0	2	0	0	2	2	2

continua

Anexo 2 - Banco de dados com as informações clínico-epidemiológicas e laboratoriais para análise estatística (continuação)

N	SEXO	ID	DATE	CACO	EM2	EM8	FR	FR1	FRG	DCG	REJ	CORT	CORTCAT	CMV	OUT	DATASA	OUTD	N100	N500	NCAT	L100	LCAT	M99	MCAT	TC	GMSORO	GMBAL
121	1	47	10/01/2011	0	0	0	1	1	1	0	0	0	4	0	0	09/03/2011	59	0	0	2	0	2	0	0	2	2	2
122	1	39	20/01/2011	0	0	0	4	7	3	5	2	1	1	2	1	01/04/2014	1151	0	0	2	0	2	0	0	1	2	2
123	1	34	23/06/2009	0	0	0	1	1	1	0	1	1	1	0	1	13/07/2009	20	0	0	2	0	2	0	0	0	2	2
124	0	28	13/04/2011	0	0	0	1	1	1	2	0	1	1	0	1	16/04/2013	723	0	0	2	0	2	0	0	2	2	2
125	1	65	16/12/2009	0	0	0	4	7	3	5	2	1	1	2	1	24/06/2010	188	0	0	2	0	1	0	0	2	2	2
126	1	18	07/04/2011	0	0	0	0	0	0	0	2	0	4	2	0	27/05/2013	770	0	0	2	0	1	0	0	2	2	2
127	1	30	20/01/2011	0	0	0	2	2	1	1	0	0	4	1	0	17/05/2011	117	0	0	2	0	2	0	0	2	2	2
128	1	37	24/03/2010	0	0	0	0	0	0	0	2	1	1	2	0	18/08/2010	144	1	1	0	1	0	1	1	2	2	2
129	1	29	10/01/2011	0	0	0	1	1	1	1	0	0	4	0	1	16/01/2014	1086	0	0	2	0	1	0	0	2	2	2
130	1	57	21/10/2011	0	0	0	3	4	2	5	0	1	1	1	1	04/06/2013	583	0	0	2	0	2	0	0	0	2	2
131	1	34	16/12/2010	0	0	0	2	2	1	1	0	0	4	0	1	11/12/2013	1075	0	1	1	0	2	0	0	2	2	2
132	1	45	28/05/2010	0	0	0	4	7	3	5	2	0	4	2	1	06/09/2013	1178	0	0	2	0	2	0	0	2	2	2
133	1	45	16/01/2009	0	0	0	3	4	2	4	0	1	1	0	0	11/04/2009	85	0	0	2	0	2	0	0	2	2	2
134	0	57	11/01/2010	0	0	0	2	2	1	1	0	0	4	0	1	17/03/2010	66	0	0	2	0	1	0	0	0	2	2
135	0	58	04/07/2011	0	0	0	0	0	0	0	2	0	4	2	1	31/07/2011	27	0	0	2	0	2	0	0	2	2	2
136	0	47	02/08/2011	0	0	0	4	8	3	5	2	2	5	2	1	17/01/2014	885	0	0	2	0	2	0	0	2	2	2
137	1	75	07/04/2011	0	0	0	0	0	0	1	2	1	1	2	0	29/04/2011	22	1	1	0	1	0	1	1	0	2	2
138	1	46	11/11/2008	0	0	0	3	4	2	5	2	2	5	2	1	03/03/2009	112	0	0	2	0	2	0	0	2	2	2
139	1	62	26/08/2010	0	0	0	2	2	1	1	0	0	4	0	0	07/06/2013	1001	0	0	2	1	0	1	1	0	2	2
140	1	61	16/09/2010	0	0	0	2	2	1	1	0	0	4	0	1	06/01/2011	110	0	0	2	0	2	0	0	0	2	2
141	0	43	29/07/2010	0	0	0	1	1	1	0	1	1	1	0	0	08/08/2010	9	0	0	2	0	2	0	0	2	2	2
142	0	63	24/09/2010	0	0	0	3	4	2	5	0	1	1	1	0	27/10/2010	33	0	0	2	0	1	0	0	1	2	2
143	0	51	20/10/2010	0	0	0	3	4	2	4	0	1	1	0	0	04/11/2010	14	0	0	2	0	2	0	0	2	2	2
144	0	49	30/08/2010	0	0	0	2	2	1	1	0	1	1	0	1	08/02/2011	158	0	0	2	0	1	1	1	0	2	2
145	1	50	07/02/2011	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	0	1	27/11/2012	650	0	0	2	0	2	0	0	2	2	2
146	0	60	19/04/2011	0	0	0	0	0	0	0	2	0	4	2	1	24/04/2011	5	0	1	1	0	1	0	0	2	2	2
147	1	54	19/08/2011	0	0	0	2	2	1	1	2	0	4	0	1	24/01/2012	155	0	0	2	0	2	0	0	2	2	2
148	0	29	30/12/2010	0	0	0	2	2	1	1	0	0	4	0	1	12/04/2011	102	0	0	2	1	0	0	0	2	2	2
149	0	52	24/03/2010	0	0	0	1	1	1	0	1	1	2	0	0	05/04/2010	11	0	0	2	0	2	0	0	2	2	2
150	1	38	05/05/2010	0	0	0	0	0	0	0	2	0	4	2	0	14/05/2010	9	0	0	2	1	0	0	0	2	2	2
151	1	55	04/05/2010	0	0	0	4	7	3	5	2	1	1	2	1	12/05/2014	1448	0	0	2	0	2	0	0	1	2	2
152	0	16	21/07/2011	0	0	0	2	2	1	0	0	0	4	1	1	15/08/2011	24	0	0	2	0	2	0	0	2	2	2
153	0	34	14/04/2011	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	0	1	06/01/2014	982	1	1	0	1	0	1	1	2	2	2
154	1	50	13/05/2010	0	0	0	4	7	3	5	2	1	1	2	1	27/08/2012	824	0	0	2	0	2	0	0	2	2	2
155	0	59	20/12/2010	0	0	0	2	2	1	1	0	0	4	0	1	19/06/2013	899	0	0	2	0	2	0	0	2	2	2
156	1	67	19/08/2011	0	0	0	2	2	1	1	2	0	4	0	1	09/01/2012	140	0	0	2	0	2	0	0	2	2	2
157	0	18	03/02/2011	0	0	0	0	0	0	3	2	0	4	2	0	21/02/2011	18	1	1	0	1	0	1	1	0	2	2
158	0	26	09/04/2009	0	0	0	0	0	0	0	2	0	4	0	0	03/05/2009	24	1	1	0	0	2	1	1	2	2	2
159	1	30	02/06/2011	0	0	0	0	0	0	2	2	0	4	2	0	16/06/2011	14	1	1	0	1	0	1	1	2	2	2
160	1	18	14/03/2011	0	0	0	2	2	1	0	0	0	4	0	1	04/06/2011	80	1	1	0	1	0	1	1	2	2	2

continua

Anexo 2 - Banco de dados com as informações clínico-epidemiológicas e laboratoriais para análise estatística (continuação)

N	SEXO	ID	DATE	CACO	EM2	EM8	FR	FR1	FRG	DCG	REJ	CORT	CORTCAT	CMV	OUT	DATASA	OUTD	N100	N500	NCAT	L100	LCAT	M99	MCAT	TC	GMSORO	GMBAL
161	0	22	29/10/2009	0	0	0	2	2	1	4	0	0	4	0	1	03/11/2011	724	1	1	0	1	0	1	1	2	2	2
162	0	71	22/07/2010	0	0	0	0	0	0	0	2	0	4	2	0	04/01/2011	162	0	0	2	0	2	0	0	1	2	2
163	0	69	21/07/2009	0	0	0	0	0	0	3	2	0	4	2	0	08/09/2009	47	0	1	1	0	2	1	1	2	2	2
164	0	70	06/04/2011	0	0	0	4	8	3	5	2	0	4	0	0	10/04/2011	4	1	1	0	0	2	0	0	2	2	2
165	1	41	30/03/2011	0	0	0	2	2	1	1	0	0	4	1	1	03/09/2011	153	0	0	2	0	2	0	0	2	2	2
166	0	22	16/06/2009	0	0	0	0	0	0	0	2	0	4	2	0	17/11/2010	511	0	0	2	0	2	0	0	1	2	2
167	1	33	29/04/2010	0	0	0	1	1	1	4	0	0	4	0	0	03/05/2010	4	0	0	2	1	0	1	1	2	2	2
168	0	39	19/01/2009	0	0	0	1	1	1	0	0	1	2	0	1	12/11/2013	1733	0	0	2	0	2	0	0	2	2	2
169	0	57	10/02/2009	0	0	0	0	0	0	0	2	1	1	0	1	12/06/2010	482	1	1	0	1	0	1	1	2	2	2
170	0	41	21/06/2010	0	0	0	0	0	0	0	2	0	4	2	1	09/12/2013	1248	0	0	2	0	2	0	0	2	2	2
171	1	49	23/06/2009	0	0	0	4	8	3	5	2	2	5	2	1	23/10/2012	1200	0	0	2	0	2	0	0	2	2	2
172	1	52	28/10/2010	0	0	0	0	0	0	0	2	1	1	2	0	07/11/2010	9	1	1	0	1	0	1	1	2	2	2
173	1	22	26/08/2011	0	0	0	4	7	3	5	2	1	1	2	0	09/09/2011	13	0	0	2	0	2	0	0	2	2	2
174	0	24	24/09/2009	0	0	0	0	0	0	1	2	1	1	2	0	10/01/2010	106	1	1	0	1	0	1	1	2	2	2
175	0	52	11/08/2009	0	0	0	1	1	1	2	1	1	1	1	0	08/09/2009	27	0	0	2	0	2	0	0	0	2	2
176	1	51	30/05/2011	0	0	0	1	1	1	0	1	1	1	1	0	04/12/2013	904	0	0	2	0	2	0	0	2	2	2
177	0	45	27/05/2010	0	0	0	1	1	1	1	0	1	1	0	0	21/06/2010	24	0	0	2	0	2	0	0	2	2	2
178	1	35	07/07/2010	0	0	0	0	0	0	1	0	0	4	0	0	17/08/2010	40	0	0	2	0	2	0	0	2	2	2
179	1	32	05/05/2009	0	0	0	1	1	1	0	1	1	1	1	0	20/05/2009	15	0	0	2	0	1	0	0	0	2	2
180	1	57	03/05/2010	0	0	0	4	7	3	5	2	1	1	2	1	12/04/2012	699	0	0	2	0	1	0	0	2	2	2
181	1	52	11/03/2010	0	0	0	1	1	1	0	1	1	1	0	0	20/05/2010	69	0	0	2	0	2	0	0	2	2	2
182	1	43	07/11/2011	0	0	0	1	1	1	3	0	1	2	1	0	07/07/2012	240	0	0	2	0	2	0	0	2	2	2
183	0	40	06/01/2011	0	0	0	0	0	0	0	2	0	4	2	1	09/11/2012	663	1	1	0	1	0	1	1	2	2	2
184	0	17	18/02/2009	0	0	0	1	1	1	3	1	1	2	0	0	28/02/2009	10	1	1	0	1	0	1	1	0	2	2
185	0	24	12/08/2010	0	0	0	0	0	0	1	2	0	4	2	0	20/09/2010	38	0	0	2	0	1	0	0	2	2	2
186	1	55	24/09/2009	0	0	0	0	0	0	1	2	2	5	2	1	09/03/2012	885	1	1	0	1	0	1	1	2	2	2
187	1	27	03/02/2011	0	0	0	1	1	1	0	0	0	4	0	1	05/03/2011	32	0	1	1	1	0	1	1	1	2	2
188	1	8	28/12/2012	0	0	0	1	1	1	0	0	2	5	1	1	17/04/2013	109	1	1	0	1	0	1	1	2	2	2
189	1	27	08/11/2010	0	0	0	4	9	3	4	2	0	4	2	1	10/01/2011	62	0	0	2	0	1	0	0	2	2	2
190	1	31	18/05/2012	0	0	0	3	5	2	5	0	1	1	1	1	02/08/13	434	0	0	2	0	1	0	0	0	2	2
191	0	34	21/07/2009	1	1	1	0	0	0	1	2	1	1	2	1	10/02/2010	199	0	0	2	0	1	1	1	0	2	2
192	0	32	07/05/2010	1	1	1	4	10	3	5	2	0	4	2	0	28/06/2013	1131	0	0	2	0	2	0	0	2	2	2
193	1	65	07/12/2010	1	1	1	0	0	0	0	2	0	4	2	0	09/12/2010	2	0	0	2	0	2	0	0	2	2	2
194	1	26	27/03/2009	1	1	1	0	0	0	3	2	1	1	2	0	04/04/2009	7	0	1	1	0	1	1	1	1	2	2
195	1	41	10/03/2011	1	2	2	1	1	1	2	1	1	2	1	0	11/04/2011	31	0	0	2	0	1	0	0	0	1	1
196	1	26	25/09/2009	1	1	1	4	7	3	5	2	1	1	2	0	20/12/2009	85	0	0	2	0	2	0	0	0	2	2
197	0	66	21/05/2009	1	2	2	0	0	0	0	2	0	4	2	0	23/06/2009	32	0	1	1	0	1	1	1	0	0	0
198	1	44	06/04/2010	1	1	1	1	1	1	0	0	1	1	0	1	20/02/2013	1034	1	1	0	1	0	1	1	1	2	2
199	1	53	29/07/2010	1	1	1	4	7	3	5	2	1	1	2	1	24/02/2011	205	0	0	2	0	2	0	0	0	2	2
200	1	22	28/06/2010	1	1	1	0	0	0	0	2	0	4	2	1	11/11/2013	1213	0	0	2	0	2	0	0	2	2	2

continua

Anexo 2 - Banco de dados com as informações clínico-epidemiológicas e laboratoriais para análise estatística (continuação)

N	SEXO	ID	DATE	CACO	EM2	EM8	FR	FR1	FRG	DCG	REJ	CORT	CORTCAT	CMV	OUT	DATASA	OUTD	N100	N500	NCAT	L100	LCAT	M99	MCAT	TC	GMSORO	GMBAL
201	1	36	27/05/2010	1	1	1	1	1	1	2	0	0	4	1	0	13/07/2010	46	0	0	2	1	0	1	1	1	2	2
202	1	76	09/09/2010	1	1	1	0	0	0	3	2	1	1	2	1	30/07/2013	1041	0	0	2	0	2	0	0	0	2	2
203	0	40	12/11/2009	1	1	1	0	0	0	1	2	0	4	2	1	17/03/2010	125	0	0	2	0	2	0	0	0	2	2
204	0	31	13/07/2010	1	1	1	0	0	0	0	2	0	4	2	1	30/04/13	1007	1	1	0	1	0	1	1	1	2	2
205	0	55	04/06/2009	1	1	1	3	3	2	5	0	1	1	0	1	09/09/10	455	0	0	2	0	2	0	0	2	2	2
206	0	53	14/04/2009	1	1	1	0	0	0	1	2	0	4	2	1	29/08/09	135	0	0	2	0	2	0	0	0	2	2
207	1	66	11/11/2010	1	1	1	0	0	0	0	2	0	4	2	1	16/12/2010	35	0	1	1	0	2	1	1	2	2	2
208	0	19	02/09/2010	1	3	3	1	1	1	2	1	1	3	1	0	17/09/10	15	0	0	2	0	1	0	0	1	1	1
209	0	57	14/07/2010	1	1	1	2	2	1	1	2	0	4	0	1	04/08/10	20	0	0	2	1	0	1	1	0	2	2
210	1	52	08/04/2010	1	1	1	2	2	1	1	2	0	4	0	1	14/04/2014	1446	0	0	2	0	2	0	0	1	2	2
211	0	22	13/08/2009	1	1	1	0	0	0	1	2	1	2	2	0	24/08/09	11	1	1	0	1	0	1	1	0	2	2
212	0	66	21/08/2009	1	1	1	0	0	0	0	2	2	5	2	1	08/09/2009	17	0	0	2	0	2	0	0	2	2	2
213	0	32	25/04/2011	1	2	2	1	1	1	3	1	1	1	0	1	26/07/2013	811	0	0	2	0	2	0	0	0	0	0
214	1	45	21/08/2009	1	1	1	0	0	0	0	2	2	5	2	1	03/04/2010	222	0	0	2	0	2	0	0	0	2	2
215	1	57	10/02/2011	1	1	1	0	0	0	0	2	0	4	2	0	12/02/2011	2	1	1	0	0	1	1	1	2	2	2
216	0	65	04/08/2010	1	1	1	0	0	0	0	2	0	4	2	0	12/08/10	8	1	1	0	1	0	1	1	1	2	2
217	1	19	03/09/2009	1	1	1	3	3	2	5	0	1	1	0	1	04/07/2013	1381	0	0	2	0	2	0	0	2	2	2
218	1	37	17/12/2009	1	1	1	1	1	1	3	1	0	4	0	0	28/01/2010	41	0	0	2	0	2	0	0	0	2	2
219	1	63	05/08/2010	1	1	1	0	0	0	0	2	0	4	2	1	03/01/2011	148	0	0	2	0	1	1	1	0	2	2
220	1	19	16/04/2010	1	3	3	0	0	0	0	2	0	4	2	0	02/06/2010	46	1	1	0	1	0	1	1	0	0	0
221	1	23	09/05/2011	1	1	1	2	2	1	1	2	0	4	1	0	22/08/2011	103	0	0	2	0	1	0	0	2	2	2
222	1	24	04/08/2011	1	2	2	3	3	2	5	1	1	1	1	0	18/09/12	404	0	0	2	0	2	0	0	1	2	1
223	1	36	12/01/2012	1	1	1	3	4	2	5	0	1	1	0	0	11/02/12	29	0	0	2	0	2	0	0	0	2	2
224	0	32	12/10/2008	1	2	2	1	1	1	3	1	1	2	1	0	03/12/2008	51	0	0	2	0	2	0	0	0	0	2
225	0	23	31/05/2010	1	1	1	1	1	1	0	1	1	3	0	0	12/06/2010	12	0	0	2	0	2	0	0	1	2	2
226	1	68	17/03/2011	1	1	1	0	0	0	0	2	0	4	2	0	14/06/2011	87	1	1	0	0	2	1	1	2	2	2
227	1	50	06/05/2011	0	0	0	3	4	2	5	1	1	1	0	1	16/04/13	700	0	0	2	0	2	0	0	0	2	2
228	0	46	18/05/2010	1	1	1	0	0	0	0	2	0	4	2	0	12/11/2010	174	1	1	0	1	0	1	1	1	2	2
229	1	57	19/07/2010	1	1	1	2	2	1	1	2	0	4	0	1	21/07/2010	2	0	0	2	0	2	0	0	2	2	2
230	0	30	05/05/2011	1	2	2	1	1	1	0	1	1	3	1	0	19/05/2011	14	0	0	2	0	2	1	1	2	0	2
231	0	62	28/01/2009	1	1	1	2	2	1	0	2	0	4	0	1	10/02/09	12	0	0	2	0	2	0	0	1	2	2
232	0	26	27/01/2010	1	3	3	0	0	0	0	2	1	1	2	0	04/05/10	97	1	1	0	1	0	1	1	0	0	2
233	0	36	08/09/2010	1	1	1	0	0	0	0	2	1	2	2	0	30/10/10	52	1	1	0	1	0	1	1	1	2	2
234	0	44	08/01/2009	1	3	3	1	1	1	3	0	1	2	0	0	10/01/2009	2	0	1	1	0	1	0	0	0	0	2
235	1	36	04/12/2009	1	1	1	0	0	0	0	2	1	2	2	1	19/08/10	255	1	1	0	1	0	1	1	0	2	2
236	0	33	25/04/2011	1	1	1	0	0	0	2	2	0	4	2	0	18/05/2011	23	0	0	2	0	2	0	0	2	2	2
237	0	54	26/04/2012	1	1	1	2	2	1	1	2	0	4	0	1	16/10/12	170	1	1	0	1	0	1	1	0	2	2
238	0	36	13/06/2011	1	1	1	1	1	1	1	0	0	4	0	0	23/06/2011	10	0	0	2	0	2	0	0	2	2	2
239	0	43	11/09/2009	1	1	1	2	2	1	1	2	0	4	1	0	27/10/09	46	1	1	0	1	0	1	1	1	2	2
240	1	74	26/04/2010	1	1	1	0	0	0	2	2	0	4	2	0	17/06/2011	411	0	1	1	0	2	0	0	0	2	2

continua

Anexo 2 - Banco de dados com as informações clínico-epidemiológicas e laboratoriais para análise estatística (continuação)

N	SEXO	ID	DATE	CACO	EM2	EM8	FR	FR1	FRG	DCG	REJ	CORT	CORTCAT	CMV	OUT	DATASA	OUTD	N100	N500	NCAT	L100	LCAT	M99	MCAT	TC	GMSORO	GMBAL
241	1	48	28/12/2010	1	3	3	0	0	0	0	2	0	4	2	0	21/01/2011	23	1	1	0	0	1	0	0	1	1	1
242	0	37	04/11/2008	1	1	1	1	1	1	0	0	1	2	0	0	23/11/2008	19	0	1	1	0	1	1	1	1	2	2
243	0	48	24/07/2009	1	1	1	0	0	0	0	2	1	2	2	1	20/12/12	1226	0	1	1	0	1	0	0	1	2	2
244	1	58	12/08/2010	1	2	2	2	2	1	1	2	0	4	0	0	30/09/10	48	1	1	0	1	0	1	1	1	1	2
245	1	56	30/06/2011	1	1	1	1	1	1	1	0	0	4	1	0	05/07/2011	5	0	0	2	0	2	0	0	2	2	2
246	0	15	15/03/2011	1	1	1	4	7	3	5	2	1	1	1	0	03/03/2013	708	0	0	2	0	2	0	0	0	2	2
247	0	30	18/01/2010	1	1	1	2	2	1	1	2	1	2	1	1	29/05/10	131	0	0	2	0	2	0	0	1	2	2
248	0	50	27/03/2009	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	0	0	28/03/2009	1	1	1	0	1	0	1	1	0	2	2
249	0	21	04/05/2010	1	1	1	0	0	0	0	2	0	4	2	1	17/07/2010	73	0	0	2	0	2	0	0	0	2	2
250	0	20	17/06/2010	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	0	1	08/04/2013	1011	0	0	2	1	0	1	1	2	2	2
251	0	31	08/08/2011	1	1	1	1	1	1	1	0	0	4	1	1	20/03/2012	222	0	0	2	0	2	0	0	2	2	2
252	0	63	07/03/2013	1	2	2	3	3	2	5	0	1	1	0	1	22/07/2013	135	0	0	2	0	2	0	0	2	1	1
253	1	47	05/11/2009	1	1	1	0	0	0	0	2	0	4	2	0	18/11/2009	13	1	1	0	0	1	0	0	0	2	2
254	1	58	13/06/2011	1	1	1	2	2	1	1	2	0	4	0	0	26/06/2011	13	0	0	2	0	2	0	0	2	2	2
255	0	54	31/05/2010	1	1	1	0	0	0	0	2	0	4	2	0	03/06/2010	3	1	1	0	0	1	0	0	2	2	2
256	0	59	01/07/2011	1	3	3	2	2	1	1	2	0	4	0	1	22/09/11	81	1	1	0	1	0	1	1	1	1	1
257	0	49	02/10/2009	1	3	3	0	0	0	0	2	0	4	2	1	16/05/2010	224	0	0	2	0	2	0	0	2	1	2
258	0	58	11/01/2013	1	1	1	1	1	1	0	1	1	3	0	0	13/01/2013	2	0	0	2	0	1	0	0	0	2	2
259	1	52	23/01/2013	1	2	2	4	8	3	5	2	0	4	2	1	31/07/2013	188	0	0	2	0	2	0	0	1	1	1
260	0	39	14/09/2008	1	3	3	0	0	0	0	2	1	3	2	0	31/10/08	47	1	1	0	1	0	1	1	0	1	2
261	0	70	26/06/2009	1	1	1	0	0	0	2	2	0	4	2	0	28/06/2009	2	0	0	2	0	2	0	0	0	2	2
262	0	56	17/05/2010	1	1	1	1	1	1	0	0	0	4	0	0	28/08/10	101	0	1	1	0	1	1	1	0	2	2
263	0	55	05/01/2010	1	1	1	2	2	1	1	2	1	1	1	1	16/01/2010	11	0	0	2	0	2	0	0	2	2	2
264	0	16	20/02/2008	1	1	1	0	0	0	0	2	2	5	2	0	08/12/2010	1008	1	1	0	0	2	1	1	2	2	2
265	0	16	20/10/2010	1	1	1	1	1	1	0	0	0	4	0	0	08/12/10	48	0	0	2	0	2	1	1	1	2	2
266	0	12	18/02/2009	1	1	1	1	1	1	3	0	0	4	0	1	02/09/2013	1634	0	1	1	0	2	1	1	2	2	2
267	0	26	28/06/2011	1	1	1	0	0	0	0	2	0	4	2	1	13/01/2014	915	0	1	1	0	2	0	0	2	2	2
268	0	57	09/06/2009	1	2	2	4	9	3	5	2	1	1	2	0	17/09/09	98	0	0	2	0	2	0	0	1	0	0
269	0	17	20/05/2010	1	1	1	0	0	0	0	2	1	1	2	1	07/07/2010	47	0	1	1	0	1	1	1	1	2	2
270	0	70	11/05/2010	1	1	1	0	0	0	0	2	1	1	2	0	29/05/2010	18	1	1	0	0	2	0	0	2	2	2
271	0	54	04/02/2011	1	1	1	2	2	1	1	2	0	4	1	1	05/05/2011	91	0	0	2	0	2	0	0	2	2	2
272	0	65	19/10/2010	1	1	1	0	0	0	0	2	0	4	2	0	03/01/2011	74	1	1	0	1	0	1	1	2	2	2
273	1	50	11/04/2011	1	1	1	0	0	0	0	2	0	4	2	1	30/06/2011	79	0	0	2	0	1	0	0	2	2	2
274	1	28	06/11/2009	1	3	3	1	1	1	0	0	1	1	0	0	08/11/2009	2	0	1	1	0	2	0	0	1	1	1
275	0	41	28/01/2009	1	1	1	0	0	0	0	2	0	4	2	0	02/04/2009	64	0	0	2	0	2	0	0	2	2	2
276	0	58	09/09/2008	1	3	3	2	2	1	1	2	1	2	0	0	03/10/08	24	0	0	2	0	1	0	0	2	1	2
277	0	64	17/05/2010	1	1	1	2	2	1	1	2	0	4	0	1	19/07/2010	62	0	0	2	0	2	0	0	2	2	2
278	0	54	09/05/2011	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	0	1	10/10/2013	871	0	0	2	0	1	0	0	2	2	2
279	0	25	01/08/2011	1	1	1	2	2	1	1	2	0	4	0	1	22/08/2011	21	1	1	0	1	0	1	1	2	2	2
280	1	58	30/05/2011	1	1	1	2	2	1	1	2	0	4	1	1	08/08/2012	428	1	1	0	1	0	1	1	2	2	2

continua

Anexo 2 - Banco de dados com as informações clínico-epidemiológicas e laboratoriais para análise estatística (continuação)

N	SEXO	ID	DATE	CACO	EM2	EM8	FR	FR1	FRG	DCG	REJ	CORT	CORTCAT	CMV	OUT	DATASA	OUTD	N100	N500	NCAT	L100	LCAT	M99	MCAT	TC	GMSORO	GMBAL
281	0	60	20/07/2011	1	1	1	1	1	1	0	0	1	2	0	0	11/09/2011	51	1	1	0	1	0	1	1	2	2	2
282	1	59	14/07/2010	1	1	1	2	2	1	1	2	0	4	0	1	20/12/2013	1236	0	0	2	0	1	0	0	2	2	2
283	0	18	01/04/2010	1	1	1	0	0	0	0	2	1	1	2	0	22/04/10	21	0	1	1	0	1	1	1	0	2	2
284	1	28	16/12/2009	1	1	2	1	1	1	3	0	1	2	0	0	14/01/2010	28	1	1	0	1	0	1	1	2	1	2
285	0	26	27/01/2009	1	1	1	1	1	1	0	0	1	1	0	0	21/02/2009	24	0	1	1	0	2	0	0	2	2	2
286	0	34	01/04/2010	1	1	1	0	0	0	0	2	0	4	2	0	06/10/2010	185	1	1	0	0	2	0	0	2	2	2
287	0	20	17/01/2012	0	0	0	3	3	2	5	1	1	1	0	0	19/02/12	32	0	0	2	0	2	0	0	1	2	2
288	1	17	26/11/2010	1	1	1	3	3	2	5	1	1	1	0	1	01/07/2013	935	0	0	2	0	2	0	0	1	2	2
289	1	42	10/05/2010	1	1	1	2	2	1	1	2	0	4	1	1	15/10/2013	1235	0	0	2	0	1	0	0	2	2	2
290	0	18	18/01/2010	1	1	1	1	1	1	0	1	1	3	0	0	14/02/2010	26	1	1	0	0	2	1	1	2	2	2
291	1	39	19/11/2009	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	0	02/01/2010	43	0	0	2	0	1	0	0	2	2	2
292	0	29	25/08/2011	1	1	1	2	2	1	0	2	0	4	0	1	05/12/2013	820	0	0	2	0	2	0	0	2	2	2
293	0	28	03/02/2009	1	1	1	0	0	0	0	2	2	5	2	1	25/07/2013	1612	0	1	1	0	2	0	0	1	2	2
294	1	30	07/12/2009	1	1	2	1	1	1	0	1	1	3	1	0	29/12/2009	22	0	0	2	0	1	0	0	2	1	2
295	0	45	20/05/2010	1	1	1	0	0	0	0	2	0	4	2	1	22/11/2013	1262	0	0	2	0	2	0	0	2	2	2
296	0	61	30/06/2011	1	1	2	2	2	1	1	2	0	4	0	1	11/08/2011	41	0	1	1	0	1	0	0	2	1	2
297	0	54	04/08/2011	1	1	1	2	2	1	1	2	0	4	0	0	16/09/2011	42	1	1	0	1	0	1	1	2	2	2
298	1	60	14/04/2009	1	2	2	4	7	3	5	2	1	1	2	1	27/05/13	1483	0	0	2	0	2	0	0	1	0	1
299	1	65	22/03/2010	1	1	1	2	2	1	1	2	0	4	0	1	25/05/2010	63	1	1	0	1	0	1	1	2	2	2
300	0	20	06/01/2010	1	1	1	2	2	1	1	2	0	4	0	1	01/05/10	115	0	0	2	0	2	0	0	1	2	2
301	0	24	26/04/2012	1	1	1	2	2	1	1	2	0	4	0	1	24/05/13	388	1	1	0	1	0	1	1	0	2	2
302	1	44	15/03/2011	1	2	2	3	3	2	5	1	1	1	0	1	16/01/2012	301	0	0	2	0	2	0	0	1	0	0
303	1	22	15/04/2009	1	1	1	1	1	1	1	1	1	2	0	0	03/05/09	18	0	0	2	0	2	0	0	1	2	2
304	1	69	24/03/2009	1	1	1	0	0	0	0	2	0	4	2	1	02/04/2009	8	0	0	2	0	2	0	0	2	2	2
305	1	47	29/04/2010	1	2	2	2	2	1	1	2	0	4	0	0	27/05/10	28	1	1	0	0	1	1	1	1	0	2
306	1	49	18/11/2009	1	1	1	0	0	0	0	2	0	4	2	0	26/01/2010	68	0	0	2	0	2	0	0	2	2	2
307	1	55	10/05/2010	1	1	1	0	0	0	0	2	1	1	2	1	08/11/2013	1258	0	1	1	1	0	1	1	2	2	2
308	1	61	29/03/2011	1	2	2	2	2	1	1	2	0	4	1	0	13/04/2011	14	1	1	0	1	0	1	1	2	1	2
309	1	52	22/03/2013	1	1	1	3	6	2	5	0	1	1	0	1	18/07/2013	116	0	0	2	0	2	0	0	0	2	2
310	1	49	17/01/2011	1	1	1	2	2	1	1	2	0	4	1	0	19/01/2011	2	0	0	2	0	1	1	1	2	2	2
311	1	77	29/03/2010	1	1	1	0	0	0	2	2	0	4	2	0	18/04/2010	19	0	0	2	0	1	1	1	2	2	2
312	1	55	20/01/2011	1	1	1	2	2	1	1	2	0	4	0	1	09/02/11	19	1	1	0	1	0	1	1	0	2	2
313	1	55	30/11/2009	1	1	1	0	0	0	0	2	0	4	2	0	23/01/2010	53	0	0	2	0	2	0	0	2	2	2
314	1	55	30/06/2011	0	0	0	3	4	2	5	0	1	1	1	1	07/12/11	157	0	0	2	0	2	0	0	0	2	2
315	1	73	31/05/2010	1	1	1	0	0	0	2	2	0	4	2	0	23/06/2010	23	0	0	2	0	2	0	0	2	2	2
316	0	54	28/02/2012	1	1	1	3	4	2	5	0	1	1	0	1	29/05/13	451	0	0	2	0	1	0	0	2	2	2
317	1	27	21/01/2009	1	1	1	2	2	1	1	2	1	2	0	0	29/06/2009	158	1	1	0	1	0	1	1	2	2	2
318	1	48	03/01/2013	1	1	2	1	1	1	0	1	1	2	1	0	28/02/2013	55	1	1	0	1	0	1	1	2	0	2
319	0	59	14/03/2013	1	2	2	3	3	2	5	1	1	1	0	1	05/08/13	141	0	0	2	0	2	0	0	0	0	0
320	1	56	10/03/2009	1	1	1	0	0	0	2	2	0	4	2	0	10/03/2009	0	1	1	0	1	0	1	1	1	2	2

continua

Anexo 2 - Banco de dados com as informações clínico-epidemiológicas e laboratoriais para análise estatística (continuação)

N	SEXO	ID	DATE	CACO	EM2	EM8	FR	FR1	FRG	DCG	REJ	CORT	CORTCAT	CMV	OUT	DATASA	OUTD	N100	N500	NCAT	L100	LCAT	M99	MCAT	TC	GMSORO	GMBAL
321	0	46	14/04/2011	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	0	0	21/04/11	7	1	1	0	0	2	0	0	1	2	2
322	0	32	18/10/2010	1	1	1	1	1	1	0	0	1	1	0	0	22/10/2010	4	1	1	0	1	0	1	1	2	2	2
323	1	22	24/03/2010	1	1	1	0	0	0	0	2	1	2	2	0	29/03/2010	5	1	1	0	1	0	1	1	0	2	2
324	1	58	08/12/2009	1	3	3	0	0	0	0	2	1	1	2	0	03/04/10	115	1	1	0	1	0	1	1	0	0	2
325	0	26	14/11/2008	1	1	1	1	1	1	3	0	1	2	0	1	13/11/2013	1799	1	1	0	1	0	1	1	2	2	2
326	0	56	28/07/2011	1	1	1	1	1	1	0	0	0	4	0	0	19/09/2011	51	0	0	2	0	2	0	0	2	2	2
327	0	74	20/05/2009	1	1	1	0	0	0	3	2	0	4	2	0	31/05/09	11	0	1	1	0	1	1	1	0	2	2
328	1	36	16/07/2009	1	1	1	0	0	0	0	2	0	4	2	1	03/10/2013	1517	1	1	0	1	0	1	1	2	2	2
329	1	44	12/08/2011	1	1	1	4	8	3	5	2	1	1	2	1	01/08/13	709	0	0	2	0	2	0	0	1	2	2
330	0	67	16/12/2009	1	1	2	0	0	0	2	2	1	1	2	1	16/09/2010	270	0	0	2	0	1	1	1	2	1	2
331	0	67	23/07/2011	1	1	1	0	0	0	3	2	0	4	2	0	08/12/11	135	1	1	0	1	0	1	1	1	2	2
332	0	42	14/03/2013	1	1	1	3	3	2	5	1	1	1	1	1	05/08/13	141	0	0	2	0	2	1	1	0	2	2
333	1	37	22/05/2009	1	2	2	1	1	1	0	1	1	1	1	0	08/06/2010	376	0	1	1	0	1	1	1	1	0	1
334	0	53	17/05/2011	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	0	30/07/2011	73	1	1	0	1	0	1	1	1	2	2
335	0	53	25/08/2009	1	2	2	1	1	1	2	1	1	2	1	0	28/08/09	3	0	0	2	0	2	0	0	1	1	1
336	0	57	30/08/2007	1	1	1	3	4	2	5	0	1	1	0	1	08/10/2013	2198	0	0	2	0	2	0	0	2	2	2
337	0	52	15/08/2011	1	1	1	2	2	1	1	2	0	4	0	0	20/09/2011	35	0	0	2	0	1	0	0	2	2	2
338	0	65	28/06/2010	1	1	1	0	0	0	2	0	4	2	1	1	14/09/10	76	0	0	2	0	2	0	0	0	2	2
339	0	41	09/04/2009	1	2	2	3	3	2	5	0	1	1	1	1	04/10/11	895	0	0	2	0	2	0	0	2	0	0
340	0	56	04/05/2009	1	1	1	4	9	3	5	2	2	5	2	0	19/10/09	165	0	0	2	0	2	0	0	2	2	2
341	0	19	21/10/2008	1	1	2	1	1	1	0	0	1	2	1	0	02/02/2009	101	0	1	1	0	2	0	0	2	0	2
342	1	9	25/09/2009	1	3	3	3	5	2	5	1	1	2	1	0	06/10/09	11	0	0	2	0	2	1	1	2	1	2
343	1	70	08/08/2011	1	1	1	0	0	0	0	2	0	4	2	1	27/10/2011	79	0	1	1	0	2	1	1	2	2	2
344	0	52	28/11/2008	1	3	3	4	8	3	5	2	1	2	2	1	07/10/11	1029	0	0	2	0	2	0	0	0	0	2
345	0	51	23/04/2009	1	1	1	1	1	1	2	1	1	2	1	0	03/06/2009	40	0	0	2	0	1	0	0	2	2	2
346	0	18	20/01/2011	1	2	2	1	1	1	0	1	1	1	0	1	17/01/2013	717	0	0	2	0	1	0	0	2	2	2
347	0	18	20/01/2011	1	2	2	1	1	1	0	1	1	1	0	1	18/01/2013	718	0	0	2	0	1	0	0	0	0	0
348	1	26	27/05/2013	1	1	1	0	0	0	3	2	1	1	2	1	30/07/2013	63	1	1	0	0	2	1	1	1	2	2
349	0	34	09/04/2009	1	2	2	3	3	2	5	0	1	1	0	0	10/05/2009	31	0	0	2	0	2	0	0	2	0	2
350	0	64	01/10/2009	1	1	1	0	0	0	1	2	2	5	2	1	10/11/2009	39	0	0	2	0	2	0	0	2	2	2
351	1	17	02/06/2011	1	1	1	0	0	0	0	2	1	2	2	1	20/01/2014	948	1	1	0	1	0	1	1	2	2	2
352	0	50	14/04/2010	1	2	2	4	7	3	5	2	1	3	2	0	27/06/2012	793	0	0	2	0	2	0	0	1	1	0
353	1	63	28/12/2009	1	2	2	4	8	3	5	2	1	1	2	0	28/03/2010	90	0	0	2	0	1	0	0	1	1	2
354	1	41	15/06/2009	1	1	1	3	3	2	5	0	1	1	0	1	05/08/13	1490	0	0	2	0	2	0	0	2	2	2
355	0	28	17/08/2011	0	0	0	3	3	2	5	0	1	1	1	1	03/06/2013	646	0	0	2	0	2	0	0	0	2	2
356	1	11	03/03/2011	1	1	1	2	2	1	0	2	0	4	0	1	12/03/2011	9	1	1	0	1	0	1	1	2	2	2
357	0	72	03/12/2010	1	1	1	0	0	0	0	2	0	4	2	0	14/12/2010	11	0	1	1	0	2	0	0	2	2	2
358	1	55	27/04/2011	1	1	1	0	0	0	0	2	0	4	2	0	13/05/11	16	1	1	0	1	0	1	1	1	2	2
359	0	56	05/08/2010	1	2	2	4	8	3	5	2	0	4	0	0	09/08/10	4	0	0	2	0	1	0	0	0	0	0
360	1	42	10/06/2010	1	3	3	0	0	0	0	2	1	1	2	0	11/07/2010	31	1	1	0	0	2	1	1	0	1	2

continua

Anexo 2 - Banco de dados com as informações clínico-epidemiológicas e laboratoriais para análise estatística (conclusão)

N	SEXO	ID	DATE	CACO	EM2	EM8	FR	FR1	FRG	DCG	REJ	CORT	CORTCAT	CMV	OUT	DATASA	OUTD	N100	N500	NCAT	L100	LCAT	M99	MCAT	TC	GMSORO	GMBAL
361	1	32	15/02/2011	1	1	1	0	0	0	0	2	0	4	2	1	19/06/2012	484	0	1	1	0	1	1	1	2	2	2
362	1	37	19/03/2010	1	1	1	1	1	1	0	1	1	2	0	1	20/09/2010	181	1	1	0	1	0	1	1	2	2	2
363	1	37	06/03/2009	1	1	1	1	1	1	0	0	1	1	0	0	20/03/2009	14	1	1	0	1	0	1	1	2	2	2
364	0	56	25/08/2010	1	1	1	3	4	2	5	0	1	1	0	0	20/03/2011	205	0	0	2	0	1	0	0	2	2	2
365	1	34	03/07/2009	1	1	1	2	2	1	1	2	1	2	1	1	27/04/2012	1014	0	0	2	0	1	0	0	2	2	2
366	1	35	13/10/2010	1	3	3	1	1	1	0	0	0	4	1	0	09/11/2010	26	0	0	2	0	1	0	0	0	0	1
367	1	26	21/07/2010	1	3	3	1	1	1	3	0	1	3	0	0	30/07/2010	9	1	1	0	1	0	1	1	0	0	0
368	1	35	27/12/2012	1	1	1	1	1	1	3	0	0	4	1	1	01/08/13	214	1	1	0	1	0	1	1	1	2	2
369	1	43	01/04/2010	1	1	1	2	2	1	1	2	0	4	0	1	09/09/2010	158	0	1	1	0	2	1	1	2	2	2
370	1	60	08/02/2011	1	1	1	0	0	0	0	2	0	4	2	0	11/02/2011	3	1	1	0	1	0	1	1	2	2	2
371	0	72	08/05/2009	1	2	2	3	3	2	5	0	1	1	0	1	18/04/11	700	0	0	2	0	2	0	0	2	1	2
372	1	19	15/03/2011	1	1	1	0	0	0	0	2	1	1	2	1	26/12/2011	281	1	1	0	1	0	1	1	2	2	2
373	1	29	24/09/2009	1	1	1	0	0	0	0	2	1	2	2	0	16/10/09	22	0	1	1	0	1	1	1	1	2	2
374	1	43	09/01/2009	1	1	1	0	0	0	1	2	1	1	2	0	28/05/2010	499	0	0	2	0	1	0	0	2	2	2
375	0	19	20/02/2008	1	3	3	1	1	1	3	0	0	4	1	0	09/03/2008	19	1	1	0	1	0	1	1	2	1	2
376	0	25	25/11/2009	1	1	1	0	0	0	0	2	1	2	2	1	25/07/2013	1320	0	1	1	0	2	0	0	0	2	2
377	0	60	18/03/2010	1	2	2	3	4	2	5	1	1	1	0	0	26/01/11	308	0	0	2	0	2	0	0	2	1	2
378	1	49	19/08/2010	1	1	1	0	0	0	0	2	0	4	2	0	24/08/2010	5	0	0	2	0	2	0	0	2	2	2
379	1	24	14/04/2010	1	1	1	0	0	0	0	2	0	4	2	0	22/06/2010	68	0	1	1	1	0	1	1	2	2	2
380	0	55	05/06/2009	1	1	1	0	0	0	0	2	1	1	2	1	14/06/2010	369	1	1	0	1	0	1	1	2	2	2
381	1	33	16/04/2009	1	1	2	1	1	1	0	1	1	1	1	0	27/04/2009	11	0	1	1	0	1	0	0	2	0	2
382	0	37	25/11/2009	1	2	2	0	0	0	0	2	1	1	2	0	04/07/2010	219	1	1	0	1	0	1	1	1	0	2
383	1	26	25/09/2009	1	1	1	0	0	0	0	2	2	5	2	1	05/03/2011	520	0	0	2	0	2	0	0	1	2	2
384	0	24	27/05/2010	1	1	1	1	1	1	1	1	0	4	0	1	28/11/2013	1261	1	1	0	1	0	1	1	2	2	2
385	1	50	03/11/2010	1	3	3	2	2	1	1	2	0	4	1	1	23/07/2013	980	1	1	0	1	0	1	1	1	0	1
386	1	61	24/06/2010	1	2	2	4	10	3	5	2	2	5	2	1	29/06/2010	5	0	0	2	0	2	0	0	2	2	1
387	0	64	09/12/2009	1	1	1	0	0	0	0	2	0	4	2	0	18/12/09	9	0	1	1	0	1	0	0	2	2	2
388	0	47	11/06/2010	1	1	1	2	2	1	1	2	0	4	0	1	31/12/2010	200	0	0	2	1	0	1	1	2	2	2
389	1	26	18/01/2010	1	1	1	0	0	0	1	2	0	4	2	1	22/11/2013	1384	0	0	2	0	1	0	0	2	2	2
390	0	31	10/11/2009	1	1	1	2	2	1	1	2	0	4	0	1	30/11/2009	20	0	0	2	0	1	0	0	2	2	2
391	0	67	17/03/2011	1	1	1	0	0	0	0	2	0	4	2	1	09/01/2014	1012	0	0	2	0	2	0	0	2	2	2
392	0	13	27/04/2011	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	0	25/05/11	28	1	1	0	1	0	1	1	1	2	2
393	0	22	08/04/2011	1	1	1	0	0	0	1	2	1	1	0	1	28/02/2012	320	0	0	2	0	1	0	0	2	2	2
394	0	36	03/02/2011	1	1	1	1	1	1	1	0	0	4	1	1	20/09/2013	947	0	0	2	0	2	0	0	2	2	2
395	0	46	27/04/2010	1	1	1	0	0	0	0	2	1	1	2	0	30/04/2010	3	1	1	0	1	0	0	0	2	2	2
396	1	61	02/05/2013	0	0	0	0	0	0	1	0	0	4	2	0	24/07/2013	82	1	1	0	0	2	1	1	2	2	2
397	1	51	30/06/2014	0	0	0	2	2	1	1	2	0	4	0	0	05/07/2014	5	1	1	0	0	2	0	0	2	2	2
398	0	64	29/07/2014	0	0	0	4	7	3	5	2	1	1	2	1	27/10/2014	88	0	0	2	0	2	0	0	2	2	2

8 REFERÊNCIAS

Acosta J, Catalan M, Del Palacio-Peréz-Medel A, Lora D, Montejo JC, Cuetara MS, Moragues MD, Ponton J, del Palacio A. A prospective comparison of galactomannan in bronchoalveolar lavage fluid for the diagnosis of pulmonary invasive aspergillosis in medical patients under intensive care: comparison with the diagnostic performance of galactomannan and of (1→3)-β-d-glucan chromogenic assay in serum samples. *Clin Microbiol Infect*. 2011 Jul;17(7):1053-60.

Alexander B, Pfaller M. Contemporary tools for the diagnosis and management of invasive mycoses. *Clin Infect Dis*. 2006;43:S15-S27.

Ampel NM. Emerging disease issues and fungal pathogens associated with HIV infection. *Emerg Infect Dis*. 1996;2(2):109-16.

Ascioglu S, Rex JH, De Pauw B, Bennett JE, Bille J, Crokaert F, Denning DW, Donnelly JP, Edwards JE, Erjavec Z, Fiere D, Lortholary O, Maertens J, Meis JF, Patterson TF, Ritter J, Selleslag D, Shah PM, Stevens DA, Walsh TJ; Invasive Fungal Infections Cooperative Group of the European Organization for Research and Treatment of Cancer; Mycoses Study Group of the National Institute of Allergy and Infectious Diseases. Defining opportunistic invasive fungal infections in immunocompromised patients with cancer and hematopoietic stem cell transplants: an international consensus. *Clin Infect Dis*. 2002 Jan 1;34(1):7-14.

Atalla A, Garnica M, Maiolino A, Nucci M. Risk factors for invasive mold diseases in allogeneic hematopoietic cell transplant recipients. *Transpl Infect Dis*. 2015 Feb;17(1):7-13.

Balajee SA, Sigler L, Brandt ME. DNA and the classical way: identification of medically important molds in the 21st century. *Med Mycol*. 2007 Sep;45(6):475-90.

Barnes PD, Marr KA. Aspergillosis: spectrum of disease, diagnosis, and treatment. *Infect Dis Clin North Am*. 2006 Sep;20(3):545-561, vi.

- Basková L, Landlinger C, Preuner S, Lion T. The Pan-AC assay: a single-reaction real-time PCR test for quantitative detection of a broad range of *Aspergillus* and *Candida* species. J Med Microbiol. 2007 Sep;56(Pt 9):1167-73.
- Beck O, Topp MS, Koehl U, Roilides E, Simitsopoulou M, Hanisch M, Sarfati J, Latgé JP, Klingebiel T, Einsele H, Lehrnbecher T. Generation of highly purified and functionally active human TH1 cells against *Aspergillus fumigatus*. Blood. 2006 Mar;107(6):2562-9.
- Becker MJ, Lugtenburg EJ, Cornelissen JJ, Van Der Schee C, Hoogsteden HC, De Marie S. Galactomannan detection in computerized tomography-based bronchoalveolar lavage fluid and serum in haematological patients at risk for invasive pulmonary aspergillosis. Br J Haematol. 2003 May;121(3):448-57.
- Bergeron A, Porcher R, Menotti J, Poirot JL, Chagnon K, Vekhoff A, Cornet M, Isnard F, Raffoux E, Brethon B, Lacroix C, Touratier S, Latgé JP, Bouges-Michel C, Tazi A, Derouin F, Ribaud P, Sulahian A. Prospective evaluation of clinical and biological markers to predict the outcome of invasive pulmonary aspergillosis in hematological patients. J Clin Microbiol. 2012 Mar;50(3):823-30.
- Bodro M, Sabé N, Gomila A, Ayats J, Baliellas C, Roca J, Melilli E, Carratalà J. Risk factors, clinical characteristics, and outcomes of invasive fungal infections in solid organ transplant recipients. Transplant Proc. 2012 Nov;44(9):2682-5.
- Bolano A, Stinchi S, Preziosi R, Bistoni F, Allegrucci M, Baldelli F, Martini A, Cardinali G. Rapid methods to extract DNA and RNA from *Cryptococcus neoformans*. FEMS Yeast Res. 2001 Dec;1(3):221-4.
- Brownback KR, Pitts LR, Simpson SQ. Utility of galactomannan antigen detection in bronchoalveolar lavage fluid in immunocompromised patients. Mycoses. 2013 Sept;56(5):552-8.

Bu R, Sathiapalan RK, Ibrahim MM, Al-Mohsen I, Almodavar E, Gutierrez MI, Bhatia K. Monochrome LightCycler PCR assay for detection and quantification of five common species of *Candida* and *Aspergillus*. J Med Microbiol. 2005 Mar;54(Pt 3):243-8.

Caillot D, Casasnovas O, Bernard A, Couaillier JF, Durand C, Cuisenier B, Solary E, Piard F, Petrella T, Bonnin A, Couillault G, Dumas M, Guy H. Improved management of invasive pulmonary aspergillosis in neutropenic patients using early thoracic computed tomographic scan and surgery. J Clin Oncol. 1997 Jan;15(1):139-47.

Challier S, Boyer S, Abachin E, Berche P. Development of a serum-based Taqman real-time PCR assay for diagnosis of invasive aspergillosis. J Clin Microbiol. 2004 Feb;42(2):844-6.

Clancy CJ, Jaber RA, Leather HL, Wingard JR, Staley B, Wheat LJ, Cline CL, Rand KH, Schain D, Baz M, Nguyen MH. Bronchoalveolar lavage galactomannan in diagnosis of invasive pulmonary aspergillosis among solid-organ transplant recipients. J Clin Microbiol 2007 Jun;45(6):1759-65.

Denning DW. Therapeutic outcome in invasive aspergillosis. Clin Infect Dis. 1996 Sep;23(3):608-15.

De Vlieger G, Lagrou K, Maertens J, Verbeken E, Meersseman W, Van Wijngaerden E. Beta-D-glucan detection as a diagnostic test for invasive aspergillosis in immunocompromised critically ill patients with symptoms of respiratory infection: an autopsy-based study. J Clin Microbiol. 2011 Nov;49(11):3783-7.

Denning DW, Marinus A, Cohen J, Spence D, Herbrecht R, Pagano L, Kibbler C, Kermery V, Offner F, Cordonnier C, Jehn U, Ellis M, Collette L, Sylvester R. An EORTC multicentre prospective survey of invasive aspergillosis in haematological patients: diagnosis and therapeutic outcome. EORTC Invasive Fungal Infections Cooperative Group. J Infect. 1998 Sep;37(2):173-80.

De Pauw B, Walsh TJ, Donnelly JP, Stevens DA, Edwards JE, Calandra T, Pappas PG, Maertens J, Lortholary O, Kauffman CA, Denning DW, Patterson TF, Maschmeyer G, Bille J, Dismukes WE, Herbrecht R, Hope WW, Kibbler CC, Kullberg BJ, Marr KA, Muñoz P, Odds FC, Perfect JR, Restrepo A, Ruhnke M, Segal BH, Sobel JD, Sorrell TC, Viscoli C, Wingard JR, Zaoutis T, Bennett JE; European Organization for Research and Treatment of Cancer/Invasive Fungal Infections Cooperative Group; National Institute of Allergy and Infectious Diseases Mycoses Study Group (EORTC/MSG) Consensus Group. Revised definitions of invasive fungal disease from the European Organization for Research and Treatment of Cancer/Invasive Fungal Infections Cooperative Group and the National Institute of Allergy and Infectious Diseases Mycoses Study Group (EORTC/MSG) Consensus Group. *Clin Infect Dis*. 2008 Jun 15;46(12):1813-21.

Fridkin SK, Jarvis WR. Epidemiology of nosocomial fungal infections. *Clin Microbiol Rev*. 1996 Oct;9(4):499-511.

Fukuda T, Boeckh M, Carter RA, Sandmaier BM, Maris MB, Maloney DG, Martin PJ, Storb RF, Marr KA. Risks and outcomes of invasive fungal infections in recipients of allogeneic hematopoietic stem cell transplants after nonmyeloablative conditioning. *Blood*. 2003 Aug;102(3):827-33.

Garcia-Vidal C, Upton A, Kirby KA, Marr KA. Epidemiology of invasive mold infections in allogeneic stem cell transplant recipients: biological risk factors for infection according to time after transplantation. *Clin Infect Dis*. 2008 Oct 15;47(8):1041-50.

Gil-Lamaignere C, Roilides E, Hacker J, Müller FM. Molecular typing for fungi--a critical review of the possibilities and limitations of currently and future methods. *Clin Microbiol Infect*. 2003 Mar;9(3):172-85.

Goodman JL, Winston DJ, Greenfield RA, Chandrasekar PH, Fox B, Kaizer H, Shadduck RK, Shea TC, Stiff P, Friedman DJ, *et al.* A controlled trial of fluconazole to prevent fungal infections in patients undergoing bone marrow transplantation. *N Engl J Med.* 1992 Mar 26;326(13):845-51.

Greene RE, Schlamm HT, Oestmann JW, Stark P, Durand C, Lortholary O, Wingard JR, Herbrecht R, Ribaud P, Patterson TF, Troke PF, Denning DW, Bennett JE, de Pauw BE, Rubin RH. Imaging findings in acute invasive pulmonary aspergillosis: clinical significance of the halo sign. *Clin Infect Dis.* 2007 Feb 1;44(3):373-9.

Griffiths LJ, Anyim M, Doffman SR, Wilks M, Millar MR, Agrawal SG. Comparison of DNA extraction methods for *Aspergillus fumigatus* using real-time PCR. *J Med Microbiol.* 2006 Sep;55(Pt 9):1187-91.

Grow WB, Moreb JS, Roque D, Manion K, Leather H, Reddy V, Khan SA, Finiewicz KJ, Nguyen H, Clancy CJ, Mehta PS, Wingard JR. Late onset of invasive aspergillus infection in bone marrow transplant patients at a university hospital. *Bone Marrow Transplant* 2002 Jan;29(1):15-9.

Guo YL, Chen YQ, Wang K, Qin SM, Wu C, Kong JL. Accuracy of BAL galactomannan in diagnosing invasive aspergillosis: a bivariate metanalysis and systematic review. *Chest.* 2010 Oct;138(4):817-24.

Hachem RY, Kontoyiannis DP, Chemaly RF, Jiang Y, Reitzel R, Raad I. Utility of galactomannan enzyme immunoassay and (1,3)-b-D-glucan in diagnosis of invasive fungal infections: low sensitivity for *Aspergillus fumigatus* infection in hematologic malignancy patients. *J Clin Microbiol.* 2009 Jan;47(1):129-33.

Haiduvan D. Nosocomial aspergillosis and building construction. *Med Mycol.* 2009;47 Suppl 1:S210-6.

Heng SC, Morrissey O, Chen SC, Thursky K, Manser RL, Nation RL, Kong DC, Slavin M. Utility of bronchoalveolar lavage fluid galactomannan alone or in combination with PCR for the diagnosis of invasive aspergillosis in adult hematology patients: A systematic review and meta-analysis. *Crit Rev Microbiol*. 2015 Feb;41(1):124-34.

Herbrecht R, Bories P, Moulin JC, Ledoux MP, Letscher-Bru V. Risk stratification for invasive aspergillosis in immunocompromised patients. *Ann N Y Acad Sci*. 2012 Dec;1272:23-30.

Herbrecht R, Denning DW, Patterson TF, Bennett JE, Greene RE, Oestmann JW, Kern WV, Marr KA, Ribaud P, Lortholary O, Sylvester R, Rubin RH, Wingard JR, Stark P, Durand C, Caillot D, Thiel E, Chandrasekar PH, Hodges MR, Schlamm HT, Troke PF, de Pauw B; Invasive Fungal Infections Group of the European Organisation for Research and Treatment of Cancer and the Global Aspergillus Study Group. Voriconazole versus amphotericin B for primary therapy of invasive aspergillosis. *N Engl J Med*. 2002 Aug 8;347(6):408-15.

Hoenigl M, Prattes J, Spiess B, Wagner J, Pruehler F, Raggam RB, Posch V, Duettmann W, Hoenigl K, Wölfler A, Koidl C, Buzina W, Reinwald M, Thornton CR, Krause R, Buchheidt D. Performance of galactomannan, beta-d-glucan, Aspergillus lateral-flow device, conventional culture, and PCR tests with bronchoalveolar lavage fluid for diagnosis of invasive pulmonary aspergillosis. *J Clin Microbiol*. 2014 Jun;52(6):2039-45.

Hope WW, Petraitis V, Petraitiene R, Aghamolla T, Bacher J, Walsh TJ. The initial 96 hours of invasive pulmonary aspergillosis: histopathology, comparative kinetics of galactomannan and (1->3) β -d-glucan and consequences of delayed antifungal therapy. *Antimicrob Agents Chemother*. 2010 Nov;54(11):4879-86.

Hope WW, Walsh TJ, Denning DW. The invasive and saprophytic syndromes due to *Aspergillus* spp. *Med Mycol*. 2005 May;43 Suppl 1:S207-38.

Hsu JL, Ruoss SJ, Bower ND, Lin M, Holodniy M, Stevens DA. Diagnosing invasive fungal disease in critically ill patients. *Crit Rev Microbiol*. 2011 Nov;37(4):277-312.

Husain S, Paterson DL, Studer SM, Crespo M, Pilewski J, Durkin M, Wheat JL, Johnson B, McLaughlin L, Bentsen C, McCurry KR, Singh N. *Aspergillus* galactomannan antigen in the bronchoalveolar lavage fluid for the diagnosis of invasive aspergillosis in lung transplant recipients. *Transplantation* 2007 May; 83(10):1330-6.

Kami M, Fukui T, Ogawa S, Kazuyama Y, Machida U, Tanaka Y, Kanda Y, Kashima T, Yamazaki Y, Hamaki T, Mori S, Akiyama H, Mutou Y, Sakamaki H, Osumi K, Kimura S, Hirai H. Use of real-time PCR on blood samples for the diagnosis of invasive aspergillosis. *Clin Infect Dis*. 2001 Nov 1;33(9):1504-12.

Kontoyiannis DP, Bodey GP. Invasive Aspergillosis in 2002: an update. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2002 Mar;21(3):161-72.

Kontoyiannis DP, Marr KA, Park BJ, Alexander BD, Anaissie EJ, Walsh TJ, Ito J, Andes DR, Baddley JW, Brown JM, Brumble LM, Freifeld AG, Hadley S, Herwaldt LA, Kauffman CA, Knapp K, Lyon GM, Morrison VA, Papanicolaou G, Patterson TF, Perl TM, Schuster MG, Walker R, Wannemuehler KA, Wingard JR, Chiller TM, Pappas PG. Prospective surveillance for invasive fungal infections in hematopoietic stem cell transplant recipients, 2001-2006: overview of the Transplant-Associated Infection Surveillance Network (TRANSNET) Database. *Clin Infect Dis*. 2010 Apr 15;50(8):1091-100.

Kuhlman JE, Fishman EK, Siegelman SS. Invasive pulmonary aspergillosis in acute leukemia: characteristic findings on CT, the CT halo sign, and the role of CT in early diagnosis. *Radiology*. 1985 Dec;157(3):611-4.

Lai CC, Hsu HL, Lee LN, Hsueh PR. Assessment of Platelia *Aspergillus* enzyme immunoassay for the diagnosis of invasive aspergillosis. J Microbiol Immunol Infect. 2007 Apr;40(2):148-53.

Lamoth F, Cruciani M, Mengoli C, Castagnola E, Lortholary O, Richardson M, Marchetti O; Third European Conference on Infections in Leukemia (ECIL-3). β -Glucan antigenemia assay for the diagnosis of invasive fungal infections in patients with hematological malignancies: a systematic review and meta-analysis of cohort studies from the Third European Conference on Infections in Leukemia (ECIL-3). Clin Infect Dis. 2012 Mar 1;54(5):633-43.

Lasker BA. Evaluation of performance of four genotypic methods for studying the genetic epidemiology of *Aspergillus fumigatus* isolates. J Clin Microbiol. 2002 Aug;40(8):2886-92.

Lin SJ, Schranz J, Teutsch SM. Aspergillosis case-fatality rate: systematic review of the literature. Clin Infect Dis. 2001 Feb 1;32(3):358-66.

Maertens J, Buvé K, Theunissen K, Meersseman W, Verbeken E, Verhoef G, Van Eldere J, Lagrou K. Galactomannan serves as a surrogate endpoint for outcome of pulmonary invasive aspergillosis in neutropenic hematology patients. Cancer. 2009 Jan 15;115(2):355-62.

Maertens J, Maertens V, Theunissen K, Meersseman W, Meersseman P, Meers S, Verbeken E, Verhoef G, Van Eldere J, Lagrou K. Bronchoalveolar lavage fluid galactomannan for the diagnosis of invasive pulmonary aspergillosis in patients with hematologic diseases. Clin Infect Dis. 2009 Dec 1;49(11):1688-93.

Marr KA, Balajee SA, McLaughlin L, Tabouret M, Bentsen C, Walsh TJ. Detection of galactomannan antigenemia by enzyme immunoassay for the diagnosis of invasive aspergillosis: variables that affect performance. J Infect Dis. 2004 Aug 1;190(3):641-9.

- Marr KA, Carter RA, Boeckh M, Martin P, Corey L. Invasive aspergillosis in allogeneic stem cell transplant recipients: changes in epidemiology and risk factors. *Blood* 2002 Dec 15;100(13):4358-66.
- Marr KA, Carter RA, Crippa F, Wald A, Corey L. Epidemiology and outcome of mould infections in hematopoietic stem cell transplant recipients. *Clin Infect Dis*. 2002 Apr 1;34(7):909-17.
- Marr KA, Seidel K, Slavin MA, Bowden RA, Schoch HG, Flowers ME, Corey L, Boeckh M. Prolonged fluconazole prophylaxis is associated with persistent protection against candidiasis-related death in allogeneic marrow transplant recipients: long-term follow-up of a randomized, placebo-controlled trial. *Blood*. 2000 Sep 15;96(6):2055-61.
- Marty FM, Koo S. Role of (1-->3)-beta-D-glucan in the diagnosis of invasive aspergillosis. *Med Mycol*. 2009;47 Suppl 1:S233-40.
- McEwen JG, Taylor JW, Carter D, Xu J, Felipe MS, Vilgalys R, Mitchell TG, Kasuga T, White T, Bui T, Soares CM. Molecular typing of pathogenic fungi. *Med Mycol*. **2000**;38 Suppl 1:189-97.
- Meersseman W, Lagrou K, Maertens J, Wilmer A, Hermans G, Vanderschueren S, Spriet I, Verbeken E, Van Wijngaerden E. Galactomannan in bronchoalveolar lavage fluid: a tool for diagnosing aspergillosis in intensive care unit patients. *Am J Respir Crit Care Med*. 2008 Jan 1;177(1):27-34.
- Morace G, Drago M, Scaltrito MM, Conti S, Fanti F, Polonelli L; GISIA Participants Group. In vitro activity (MIC and MFC) of voriconazole, amphotericin B, and itraconazole against 192 filamentous fungi: the GISIA-2 Study. *J Chemot*. 2007 Oct;19(5):508-13.

Miyazaki T, Kohno S, Mitsutake K, Maesaki S, Tanaka K, Ishikawa N, Hara K. Plasma (1,3)- β -D-glucan and fungal antigenemia in patients with candidemia, aspergillosis, and cryptococcosis. *J Clin Microbiol* 1995 Dec;33(12):3115-8.

Mori T, Ikemoto H, Matsumura M, Yoshida M, Inada K, Endo S, Ito A, Watanabe S, Yamaguchi H, Mitsuya M, Kodama M, Tani T, Yokota T, Kobayashi T, Kambayashi J, Nakamura T, Masaoka T, Teshima H, Yoshinaga T, Kohno S, Hara K, Miyazaki S. Evaluation of plasma (1 $\rightarrow$ 3)- β -D-glucan measurement by the kinetic turbidimetric Limulus test, for the clinical diagnosis of mycotic infections. *Eur J Clin Chem Clin Biochem* 1997 Jul;35(7):553-60.

Musher B, Fredricks D, Leisenring W, Balajee SA, Smith C, Marr KA. *Aspergillus* galactomannan enzyme immunoassay and quantitative PCR for diagnosis of invasive aspergillosis with bronchoalveolar lavage fluid. *J Clin Microbiol*. 2004 Dec;42(12):5517-22.

National Institute of Allergy and Infectious Diseases Mycoses Study Group (EORTC/MSG) Consensus Group. Revised definitions of invasive fungal disease from the European Organization for Research and Treatment of Cancer/Invasive Fungal Infections Cooperative Group and the National Institute of Allergy and Infectious Diseases Mycoses Study Group (EORTC/MSG) Consensus Group. *Clin Infect Dis*. 2008 Jun 15;46(12):1813-21.

Neofytos D, Horn D, Anaissie E, Steinbach W, Olyaei A, Fishman J, Pfaller M, Chang C, Webster K, Marr K. Epidemiology and outcome of invasive fungal infection in adult hematopoietic stem cell transplant recipients: analysis of Multicenter Prospective Antifungal Therapy (PATH) Alliance registry. *Clin Infect Dis*. 2009 Feb 1;48(3):265-73.

Neofytos D, Treadway S, Ostrander D, Alonso CD, Dierberg KL, Nussenblatt V, Durand CM, Thompson CB, Marr KA. Epidemiology, outcomes, and mortality predictors of invasive mold infections among transplant recipients: a 10-year, single-center experience. *Transpl Infect Dis*. 2013 Jun;15(3):233-42.

Nguyen MH, Jaber R, Leather HL, Wingard JR, Staley B, Wheat LJ, Cline CL, Baz M, Rand KH, Clancy CJ. Use of bronchoalveolar lavage to detect galactomannan for diagnosis of pulmonary aspergillosis among nonimmunocompromised hosts. *J Clin Microbiol*. 2007 Sep;45(9):2787-92.

Nguyen MH, Leather H, Clancy CJ, Cline C, Jantz MA, Kulkarni V, Wheat LJ, Wingard JR. Galactomannan testing in bronchoalveolar lavage fluid facilitates the diagnosis of invasive pulmonary aspergillosis in patients with hematologic malignancies and stem cell transplant recipients. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2011 Jul;17(7):1043-50.

Nucci M, Anaissie E. Emerging fungi. *Infect Dis Clin North Am*. 2006 Sep;20(3):563-79.

Nucci M, Marr KA. Emerging fungal diseases. *Clin Infect Dis*. 2005 Aug 15;41(4):521-6.

Nucci M, Nouér SA, Cappone D, Anaissie E. Early diagnosis of invasive pulmonary aspergillosis in hematologic patients: an opportunity to improve the outcome. *Haematologica*. 2013 Nov;98(11):1657-60.

Obayashi T, Negishi K, Suzuki T, Funata N. Reappraisal of the serum (1/3)-b-D-glucan assay for the diagnosis of invasive fungal infections—a study based on autopsy cases from 6 years. *Clin Infect Dis*. 2008 Jun 15;46(12):1864-70.

Odabasi Z, Mattiuzzi G, Estey E, Kantarjian H, Saeki F, Ridge RJ, Ketchum PA, Finkelman MA, Rex JH, 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. *Clin Infect Dis* 2004 Jul 15;39(2):199-205.

Onishi A, Sugiyama D, Kogata Y, Saegusa J, Sugimoto T, Kawano S, Morinobu A, Nishimura K, Kumagai S. Diagnostic accuracy of serum 1,3- β -D-glucan for pneumocystis jiroveci pneumonia, invasive candidiasis, and invasive aspergillosis: systematic review and meta-analysis. *J Clin Microbiol*. 2012 Jan;50(1):7-15.

Ostrosky-Zeichner L. Invasive mycoses: diagnostic challenges. *Am J Med*. 2012 Jan;125(1 Suppl):S14-24.

Ostrosky-Zeichner L, Alexander BD, Kett DH, Vazquez J, Pappas PG, Saeki F, Ketchum PA, Wingard J, Schiff R, Tamura H, Finkelman MA, Rex JH. Multicenter clinical evaluation of the (1r3) b-d-glucan assay as an aid to diagnosis of fungal infections in humans. *Clin Infect Dis* 2005 Sep 1;41(5):654-9.

Pappas PG, Alexander BD, Andes DR, Hadley S, Kauffman CA, Freifeld A, Anaissie EJ, Brumble LM, Herwaldt L, Ito J, Kontoyiannis DP, Lyon GM, Marr KA, Morrison VA, Park BJ, Patterson TF, Perl TM, Oster RA, Schuster MG, Walker R, Walsh TJ, Wannemuehler KA, Chiller TM. Invasive fungal infections among organ transplant recipients: results of the Transplant-Associated Infection Surveillance Network (TRANSNET). *Clin Infect Dis*. 2010 Apr 15;50(8):1101-11.

Patterson TF, Kirkpatrick WR, White M, Hiemenz JW, Wingard JR, Dupont B, Rinaldi MG, Stevens DA, Graybill JR. Invasive aspergillosis: disease spectrum, treatment practices, and outcomes. I3 *Aspergillus* Study Group. *Medicine* (Baltimore). 2000 Jul;79(4):250-60.

Pauw BE, Patterson TF. Should the consensus guidelines' specific criteria for the diagnosis of invasive fungal infection be changed? *Clin Infect Dis*. 2005 Sep 15;41 Suppl 6:S377-80.

Penack O, Rempf P, Graf B, Blau IW, Thiel E. *Aspergillus* galactomannan testing in patients with long-term neutropenia: implications for clinical management. *Ann Oncol*. 2008 May;19(5):984-9.

Perfect JR, Cox GM, Lee JY, Kauffman CA, de Repentigny L, Chapman SW, Morrison VA, Pappas P, Hiemenz JW, Stevens DA; Mycoses Study Group. The impact of culture isolation of *Aspergillus* species: a hospital-based survey of aspergillosis. Mycoses Study Group. Clin Infect Dis. 2001 Dec 1;33(11):1824-33.

Perfect JR, Hachem R, Wingard JR. Update on epidemiology of and preventive strategies for invasive fungal infections in cancer patients. Clin Infect Dis. 2014 Nov 15;59 Suppl 5:S352-5.

Persat F, Ranque S, Derouin F, Michel-Nguyen A, Picot S, Sulahian A. Contribution of the (1-->3) beta-D-glucan assay for diagnosis of invasive fungal infections. J Clin Microbiol. 2008 Mar;46(3):1009-13.

Petraitiene R, Petraitis V, Groll AH, Sein T, Piscitelli S, Candelario M, Field-Ridley A, Avila N, Bacher J, Walsh TJ. Antifungal activity and pharmacokinetics of posaconazole (SCH 56592) in treatment and prevention of experimental invasive pulmonary aspergillosis: correlation with galactomannan antigenemia. Antimicrob Agents Chemother. 2001 Mar;45(3):857-69.

Pfaller MA, Pappas PG, Wingard JR. Invasive fungal pathogens: current epidemiological trends. Clin Infect Dis. 2006;43:S3-14.

Pfeiffer CD, Fine JP, Safdar N. Diagnosis of invasive aspergillosis using a galactomannan assay: a meta-analysis. Clin Infect Dis. 2006 May 15;42(10):1417-27.

Pazos C, Ponton J, Del Palacio A. Contribution of (1->3)-beta-D-glucan chromogenic assay to diagnosis and therapeutic monitoring of invasive aspergillosis in neutropenic adult patients: a comparison with serial screening for circulating galactomannan. J Clin Microbiol. 2005 Jan;43(1):299-305.

Rabkin JM, Orolloff SL, Corless CL, Benner KG, Flora KD, Rosen HR, Olyaei AJ. Association of fungal infection and increased mortality in liver transplant recipients. *Am J Surg*. 2000 May;179(5):426-30.

Racil Z, Kocmanova I, Toskova M, Buresova L, Weinbergerova B, Lengerova M, Rolencova M, Winterova J, Hrnčirova K, Volfova P, Skrickova J, Mayer J. Galactomannan detection in bronchoalveolar lavage fluid for the diagnosis of invasive aspergillosis in patients with hematological diseases-the role of factors affecting assay performance. *Int J Infect Dis*. 2011 Dec;15(12):e874-81.

Rees JR, Pinner RW, Hajjeh RA, Brandt ME, Reingold AL. The epidemiological features of invasive mycotic infections in the San Francisco Bay area, 1992–1993: results of population-based laboratory active surveillance. *Clin Infect Dis*. 1998 Nov;27(5):1138-47.

Rivera A, Epps HV, Hohl T, Rizzuto G, Pamer EG. Distinct CD4⁺ T cell responses to live and heat- inactivated *Aspergillus fumigatus* conidia. *Infect Immun*. 2005 Nov;73(11):7170-9.

Rivera A, Hohl T, Pamer EG. Immune responses to *Aspergillus fumigatus* infections. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2006 Jan;12(1 Suppl 1):47-9.

Rovira M, Jimenéz M, De La Bellacasa JP, Mensa J, Rafel M, Ortega M, Almela M, Martínez C, Fernández-Avilés F, Martínez JA, Urbano-Ispizua A, Carreras E, Montserrat E. Detection of *Aspergillus* galactomannan by enzyme immunoabsorbent assay in recipients of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: a prospective study. *Transplant*. 2004 Apr 27;77(8):1260-4.

Sabatelli F, Patel R, Mann PA, Mendrick CA, Norris CC, Hare R, Loeberberg D, Black TA, McNicholas PM. In vitro activities of posaconazole, fluconazole, itraconazole, voriconazole, and amphotericin B against a large collection of clinically important molds and yeasts. *Antimicrob Agents Chemother*. 2006 Jun;50(6):2009-15.

- Salonen J, Lehtonen OP, Teräsjarvi MR, Nikoskelainen J. *Aspergillus* antigen in serum, urine and bronchoalveolar lavage specimens of neutropenic patients in relation to clinical outcome. *Scand J Infect Dis.* 2000;32(5):485-90.
- Schabereiter-Gurtner C, Selitsch B, Rotter ML, Hirschl AM, Willinger B. Development of novel real-time PCR assays for detection and differentiation of eleven medically important *Aspergillus* and *Candida* species in clinical specimens. *J Clin Microbiol.* 2007 Mar;45(3):906-14.
- Slavin M, Fastenau J, Sukarom I, Mavros P, Crowley S, Gerth WC. Burden of hospitalization of patients with *Candida* and *Aspergillus* infections in Australia. *Int J Infect Dis.* 2004 Mar;8(2):111-20.
- Sulahian A, Porcher R, Bergeron A, Touratier S, Raffoux E, Menotti J, Derouin F, Ribaud P. Use and limits of (1-3)- β -d-glucan assay (Fungitell), compared to galactomannan determination (Platelia *Aspergillus*), for diagnosis of invasive aspergillosis. *J Clin Microbiol.* 2014 Jul;52(7):2328-33.
- Steinbach WJ, Marr KA, Anaissie EJ, Azie N, Quan SP, Meier-Kriesche HU, Apewokin S, Horn DL. Clinical epidemiology of 960 patients with invasive aspergillosis from the PATH Alliance registry. *J Infect.* 2012 Nov;65(5):453-64.
- Theel ES, Jespersen DJ, Iqbal S, Bestrom JE, Rollins LO, Misner LJ, Markley BJ, Mandrekar J, Baddour LM, Limper AH, Wengenack NL, Binnicker MJ. Detection of (1, 3)- β -D-glucan in bronchoalveolar lavage and serum samples collected from immunocompromised hosts. *Mycopathologia.* 2013 Feb;175(1-2):33-41.
- Trick WE, Fridkin SK, Edwards JR, Hajjeh RA, Gaynes RP; National Nosocomial Infections Surveillance System Hospitals. Secular trend of hospital-acquired candidemia among intensive care unit patients in the United States during 1989-1999. *Clin Infect Dis.* 2002 Sep 1;35(5):627-30.

Thursky K, Byrnes G, Grigg A, Szer J, Slavin M. Risk factors for post-engraftment invasive aspergillosis in allogeneic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant*. 2004 Jul;34:115–21.

Upton A, Kirby KA, Carpenter P, Boeckh M, Marr KA. Invasive aspergillosis following hematopoietic cell transplantation: outcomes and prognostic factors with mortality. *Clin Infect Dis*. 2007 Feb 15;44(4):531-40.

Wallace JM, Lim R, Browdy BL, Hopewell PC, Glassroth J, Rosen MJ, Reichman LB, Kvale PA. Risk factors and outcomes associated with identification of *Aspergillus* in respiratory specimens from persons with HIV disease. Pulmonary Complications of HIV Infection Study Group. *Chest*. 1998 Jul;114(1):131-7.

Walsh TJ, Anaissie EJ, Denning DW, Herbrecht R, Kontoyiannis DP, Marr KA, Morrison VA, Segal BH, Steinbach WJ, Stevens DA, van Burik JA, Wingard JR, Patterson TF; Infectious Diseases Society of America. Treatment of aspergillosis: clinical practice guidelines of the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis*. 2008 Feb 1;46(3):327-60.

Walsh TJ, Teppler H, Donowitz GR, Maertens JA, Baden LR, Dmoszynska A, Cornely OA, Bourque MR, Lupinacci RJ, Sable CA, dePauw BE. Caspofungin versus liposomal amphotericin B for empirical antifungal therapy in patients with persistent fever and neutropenia. *N Engl J Med*. 2004 Sep 30;351(14):1391-402.

Warnock DW. Trends in the epidemiology of invasive fungal infections. *Nippon Ishinkin Gakkai Zasshi*. 2007;48(1):1-12.

White PL, Barton R, Guiver M, Linton CJ, Wilson S, Smith M, Gomez BL, Carr MJ, Kimmitt PT, Seaton S, Rajakumar K, Holyoake T, Kibbler CC, Johnson E, Hobson RP, Jones B, Barnes RA. A consensus on fungal polymerase chain reaction diagnosis? A United Kingdom-Ireland evaluation of polymerase chain reaction methods for detection of systemic fungal infections. *J Mol Diagn*. 2006 Jul;8(3):376-84.

White PL, Linton CJ, Perry MD, Johnson EM, Barnes RA. The evolution and evaluation of a whole blood polymerase chain reaction assay for the detection of invasive aspergillosis in hematology patients in a routine clinical setting. *Clin Infect Dis*. 2006 Feb 15;42(4):479-86.

Williamson EC, Leeming JP, Palmer HM, Steward CG, Warnock D, Marks DI, Millar MR. Diagnosis of invasive aspergillosis in bone marrow transplant recipients by polymerase chain reaction. *Br J Haematol*. 2000 Jan;108(1):132-9.

Wilson LS, Reyes CM, Stolpman M, Speckman J, Allen K, Beney J. The direct cost and incidence of systemic fungal infections. *Value Health*. 2002 Jan-Feb;5(1):26-34.

Zou M, Tang L, Zhao S, Zhao Z, Chen L, Chen P, Huang Z, Li J, Chen L, Fan X. Systematic review and meta-analysis of detecting galactomannan in bronchoalveolar lavage fluid for diagnosing invasive aspergillosis. *PLoS One*. 2012;7(8):e43347.