



**FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE COIMBRA**

**TRABALHO FINAL DO 6º ANO MÉDICO COM VISTA À ATRIBUIÇÃO DO GRAU DE  
MESTRE NO ÂMBITO DO CICLO DE ESTUDOS DE MESTRADO INTEGRADO EM  
MEDICINA**

**DIANA DOS SANTOS MOTA**

***DOENÇA FÚNGICA INVASIVA NA  
IMUNODEFICIÊNCIA PRIMÁRIA***

**ARTIGO DE REVISÃO**

**ÁREA CIENTÍFICA DE PEDIATRIA**

**TRABALHO REALIZADO SOB A ORIENTAÇÃO DE:  
PROF. DOUTORA TERESA MARIA FONSECA OLIVEIRA GONÇALVES  
DRA. MARIA DA GRAÇA DOMINGUES ROCHA**

**JANEIRO/2012**

**Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra**

## **Doença Fúngica Invasiva na Imunodeficiência Primária**

**Autor:** Diana dos Santos Mota

**E-mail:** [diana.st.mota@gmail.com](mailto:diana.st.mota@gmail.com)

**Orientador:** Prof. Doutora Teresa Maria Fonseca Oliveira Gonçalves

**Co-orientador:** Dra. Maria da Graça Domingues Rocha

Coimbra,

Janeiro de 2012



**Obrigada**

*...à Professora Doutora Teresa Gonçalves, por ter despertado em mim a curiosidade pela micologia médica e ter aceitado ser minha orientadora neste trabalho. Pela paciência, apoio e dedicação, e pela mão amiga e compreensiva ao longo de todo o meu percurso, não só aquando da realização do presente trabalho como em todos os anos de convivência académica.*

*...à Dra. Graça, por ter aceitado o convite para minha co-orientadora, por estar sempre disponível e receptiva para me ajudar.*

*...à minha família, mãe, pai e Rita, pelo incondicional apoio, e aos meus queridos avós por estarem sempre comigo.*

*...ao Mário e à Mariana por estarem sempre ao meu lado.*

**Índice**

<b>Lista de Abreviaturas</b>	<b>5</b>
<b>Resumo</b>	<b>6</b>
<b>Abstract</b>	<b>8</b>
<b>I – Introdução</b>	<b>10</b>
<b>II – Doença Crónica Granulomatosa</b>	<b>17</b>
<b>1 – Fisiopatologia</b>	<b>18</b>
<b>2 – Manifestações Clínicas</b>	<b>20</b>
<b>3 – Diagnóstico</b>	<b>23</b>
<b>4 – Tratamento</b>	<b>24</b>
<b>5 – Doença Fúngica Invasiva</b>	<b>25</b>
5.1 – <u>Epidemiologia e aspectos clínicos</u>	25
5.2 – <u>Aspergilose Invasiva</u>	29
5.2.1 – Epidemiologia e aspectos clínicos	29
5.2.2 – Diagnóstico de Aspergilose Invasiva	32
5.2.3 – Tratamento e profilaxia de Aspergilose Invasiva	34
5.3 – <u>Candidíase Invasiva</u>	38
5.3.1 – Epidemiologia e aspectos clínicos	38
5.3.2 – Diagnóstico de Candidíase Invasiva	39
5.3.3 – Tratamento e profilaxia da Candidíase Invasiva	40
5.4 – <u>Outras agentes de Doença Fúngica Invasiva</u>	42
<b>III – Imunodeficiência Combinada Grave (SCID)</b>	<b>47</b>
<b>1 – Manifestações Clínicas</b>	<b>50</b>
1.1 – <u>SCID – Forma Clássica</u>	50
1.2 – <u>SCID – Síndrome de Omenn</u>	51
1.3 – <u>SCID – Forma Atípica</u>	52
1.4 – <u>SCID – Outras formas</u>	53
<b>2 – Diagnóstico</b>	<b>54</b>
<b>3 – Tratamento</b>	<b>55</b>
<b>4 – Doença Fúngica Invasiva</b>	<b>56</b>
<b>IV – Casos Clínicos</b>	<b>59</b>
<b>V – Conclusão</b>	<b>65</b>
<b>VI – Bibliografia</b>	<b>68</b>

## **Lista de Abreviaturas**

---

ADA – adenosina desaminase

AI – aspergilose invasiva

CI – candidíase invasiva

DCG – doença crónica granulomatosa

DFI – doença fúngica invasiva

DNA – ácido desoxirribonucleico

IDP – imunodeficiência primária

IFN- $\gamma$  – interferão- $\gamma$

IL – interleucina

IL2RG – cadeia  $\gamma$  do receptor da interleucina-2

MHC – complexo *major* de histocompatibilidade

NADPH oxidase – nicotinamida adenina dinucleótido fosfato oxidase

PCR – “polymerase chain reaction”

RMN – ressonância magnética nuclear

SCID – imunodeficiência combinada grave, “severe combined immunodeficiency”

SNC – sistema nervoso central

TC – tomografia computadorizada

Th – T “helper”

TLR – “Toll-like receptor”

VIH – vírus da imunodeficiência humana

XLSCID – forma de SCID ligada ao cromossoma X

## **Palavras-Chave**

---

Doença Fúngica Invasiva; Imunodeficiência Primária; Doença Crónica Granulomatosa; Imunodeficiência Combinada Grave; infecção fúngica; terapêutica antifúngica; *Candida*; *Aspergillus*.

## **Resumo**

---

**Introdução:** A Doença Fúngica Invasiva (DFI) constitui uma importante causa de morbidade e mortalidade, em especial na população de pacientes imunocomprometidos, como os portadores de Imunodeficiências Primárias. Estas deficiências caracterizam-se por uma susceptibilidade aumentada às infecções, em particular às provocadas por agentes oportunistas. Considerando os mecanismos imunitários de defesa contra as infecções fúngicas invasivas, estas são observadas com elevada frequência nos doentes cujos defeitos se manifestam ao nível da imunidade celular e fagocítica.

**Objectivos:** Perante a importância desta relação, o objectivo deste trabalho passou pela recolha e sistematização do conhecimento actual sobre a DFI, estudando não só conceitos fundamentais para a compreensão destas imunodeficiências, bem como fazendo um levantamento de estudos e casos clínicos publicados referentes à DFI nestes doentes. Esta resenha bibliográfica foi ainda completada pelo levantamento sumário de casos clínicos ocorridos no Hospital Pediátrico “Carmona da Mota”, do Centro Hospitalar de Coimbra.

**Desenvolvimento:** A Doença Crónica Granulomatosa, imunodeficiência fagocítica mais comum, é aquela que apresenta maior incidência de DFI. A Imunodeficiência Combinada Grave, imunodeficiência combinada, além de outras infecções por múltiplos microrganismos também demonstra forte propensão para o seu desenvolvimento. *Candida*, *Aspergillus* e *Pneumocystis*, observaram-se mais frequentes, sendo implicados de forma variável na origem de doença nestes dois grupos de doentes. A incidência e a apresentação clínica das infecções, bem como o espectro de agentes fúngicos variam consoante a deficiência imunológica. Um

elevado grau de suspeição e a determinação de um diagnóstico de certeza são fundamentais. Os primeiros agentes antifúngicos, como anfotericina B e fluconazol, são habitualmente eficazes, no entanto o seu uso pode estar condicionado pela sua toxicidade e pelo aparecimento de resistências. Novos antifúngicos têm sido desde então desenvolvidos e parecem ser tão eficazes quanto os anteriores, aumentando as opções para o tratamento médico destas infecções. A intervenção cirúrgica pode também ser considerada, enquanto a imunoterapia adjuvante gera ainda controvérsia quanto à sua utilização.

**Conclusão:** Para o conhecimento profundo da relação entre a doença fúngica invasiva e a imunodeficiência primária, investigação científica é essencial. Estudos clínicos prospectivos ou retrospectivos permitirão esclarecer acerca do método de diagnóstico e do tratamento mais eficazes nos doentes afectados. A compreensão da interacção doente/agente fúngico permitirá o desenvolvimento de novas terapêuticas antifúngicas, bem como de vacinas, aumentando a sobrevida destes doentes, e em particular dos doentes pediátricos.



## **Keywords**

---

Invasive Fungal Disease; Primary Immunodeficiency; Chronic Granulomatous Disease; Severe Combined Immunodeficiency; fungal infection; antifungal therapy; *Candida*; *Aspergillus*.

## **Abstract**

---

**Introduction:** Invasive Fungal Disease (IFD) is an important cause of morbidity and mortality, especially in the immunocompromised patient population, such as those with primary immunodeficiencies. These deficiencies are characterized by an increased susceptibility to infections, particularly those caused by opportunistic agents. Considering the immune mechanisms of defense against invasive fungal infections, these are observed with high frequency in patients whose defects affect cellular and phagocytic immunity.

**Objectives:** Given the importance of this relationship, the aim of this review was to collect and systematize the state of the art about this, studying not only the fundamental concepts for understanding these immunodeficiencies, as well as doing an exhaustive survey of published studies and clinical cases related to invasive fungal disease. This review was also completed by the brief presentation of clinical cases ocured in the Pediatric Hospital “Carmona da Mota”, Coimbra.

**State of the art:** Chronic Granulomatous Disease, the most common phagocytic immunodeficiency, presents the highest incidence of invasive fungal disease. Severe Combined Immunodeficiency, combined immunodeficiency, in addition to other multiple organism infections, also demonstrates a strong susceptibility to the development of IFD. *Candida*, *Aspergillus* and *Pneumocystis* were more frequent, presenting different pathogenesis in these two groups of patients. The incidence and clinical presentation of infections as well as the spectrum of fungal agents vary depending on the underlying immune deficiency. A high degree of suspicion and the determination of an accurate diagnosis are

essential. The primary antifungal agents, such as amphotericin B and fluconazole, provide effective treatment, however, its use has been limited due to toxicity and resistance. New antifungal agents have been developed since then and seem to be as effective as the previous, increasing the options for medical treatment of these infections. Surgical intervention may also be considered, as adjuvant immunotherapy still generates controversy regarding its use.

**Conclusion:** For in-depth knowledge of the relationship between invasive fungal disease and primary immunodeficiencies, it urges more scientific and clinical research studies. Prospective or retrospective clinical studies will allow to enlightening of better techniques and the most efficient treatment strategies. The understanding of the interaction patient/fungal agent will help in the development of novel antifungal therapies and vaccines, increasing the survival of these patients, particularly in the pediatric population.

## **I – Introdução**

---

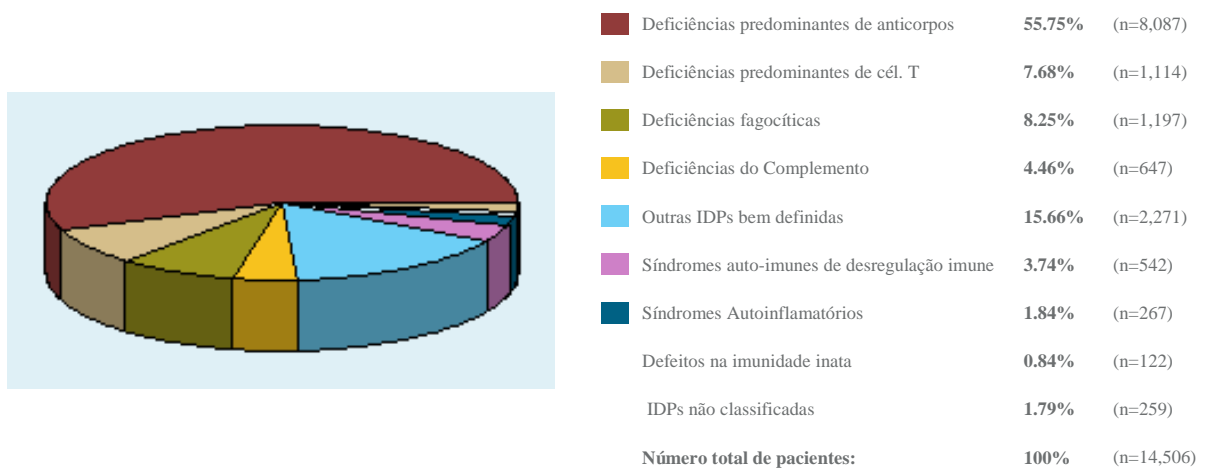
O espectro da doença micótica varia de infecções cutâneas superficiais e mucosas, a processos invasivos associados a agentes patogénicos sistémicos clássicos e oportunistas. Nos últimos anos tem-se assistido a um aumento da frequência de infecções oportunistas graves provocadas por agentes fúngicos. Embora *Candida*, *Cryptococcus neoformans*, *Histoplasma capsulatum* e *Aspergillus*, continuem a verificar-se mais frequentemente associados a essas infecções, também fungos hialinos e demaciáceos menos conhecidos têm sido reportados.

A doença fúngica invasiva (DFI), um processo de doença causado por uma disseminação extensa de uma população fúngica [1], tem aumentado significativamente nas últimas décadas, com índices elevados de morbidade e mortalidade. Este aumento da incidência de infecções encontra-se directamente relacionado com populações cada vez maiores de pacientes imunocomprometidos e portanto em risco de desenvolver infecções fúngicas graves. Nos pacientes pediátricos que revelam imunossupressão, o impacto da DFI pode ser devastador, sendo recém-nascidos e crianças com imunodeficiências primárias (IDP) grupos particulares de risco [2].

As imunodeficiências primárias comportam mais de 200 formas de doença, tendo já sido identificados cerca de 170 genes envolvidos [3-6]. Estas caracterizam-se por afectar o sistema imunitário no seu desenvolvimento, na sua função, ou em ambos [5]. Na maioria dos casos existe uma mutação monogénica, seguindo uma hereditariedade mendeliana. No entanto, nalgumas imunodeficiências primárias existe reconhecidamente uma origem poligénica de abordagem mais complexa. A penetrância e expressão variáveis da doença e as interacções entre factores genéticos e ambientais podem contribuir para uma manifesta diversidade fenotípica. Com excepção da Deficiência de IgA (imunoglobulina A), todas as outras formas de imunodeficiência primária são raras e têm uma prevalência global de aproximadamente 1:10000 nados vivos. Ressalva-se no entanto que, em situações de consanguinidade ou

populações geneticamente isoladas, esta taxa apresenta valores substancialmente mais elevados [6].

As deficiências do sistema imune de origem primária são geralmente diagnosticadas durante a infância, sendo-o mais de 80 % dos casos antes dos 20 anos de idade [7]. Estas deficiências classificam-se tradicionalmente de acordo com o componente do Sistema Imunitário primariamente envolvido [6]. No entanto, por vezes esta classificação pode assumir-se limitada [8] e com outros componentes (ver adiante). A frequência dos diferentes grupos de IDPs apresenta-se descrita na figura 1.



**Figura 1** Frequência dos diferentes grupos de IDP na Europa de acordo com o registo de pacientes 2011 da ESID (“European Society for Immunodeficiencies”) (<http://www.esid.org/statistics.php?sub=2>)

Defeitos na resposta imune adaptativa incluem síndromes de deficiência de anticorpos (defeitos na produção de imunoglobulinas pelas células B) e imunodeficiências combinadas (onde tanto as células T como a produção de anticorpos são anormais). Defeitos na imunidade inata comportam distúrbios ao nível dos fagócitos, na sinalização mediada por receptores “Toll-like” (TLR) e do sistema complemento, debilitando a imunidade contra microrganismos invasores [6].

A forma de apresentação das imunodeficiências primárias é variável: enquanto em alguns casos esta se caracteriza pela desregulação imune, em outros (síndromes de imunodeficiência) evidência uma maior complexidade fenotípica, sendo a imunodeficiência apenas um dos múltiplos componentes do fenótipo da doença [6].

As IDPs demonstram como traço comum uma susceptibilidade aumentada a vários tipos de agentes patogénicos, dependendo sobretudo da natureza do defeito imunitário [9, 10]. Neste conjunto de pacientes observam-se infecções graves com elevada recorrência, podendo ser desencadeadas pouco tempo após o nascimento.

Nas deficiências de imunoglobulinas, as crianças encontram-se protegidas nos primeiros 6-12 meses pela IgG (imunoglobulina G) materna. Todavia, sintomas que acarretam risco de vida podem ocorrer nos primeiros dias de vida em pacientes com Imunodeficiência Combinada Grave (SCID)<sup>1</sup>.

As imunodeficiências secundárias ou adquiridas também aumentam a susceptibilidade a infecções, em tudo similares as observadas nas primárias. Contudo, estas encontram-se associadas a outros factores, tais como regimes de imunossupressão, malnutrição, idade, drogas, tumores e infecções, incluindo pelo VIH (vírus da imunodeficiência humana) [10].

Uma resposta imunitária eficaz do hospedeiro humano à invasão fúngica previne a instalação da doença. Esta resposta resulta da inter-relação entre imunidade inata e adaptativa (afectadas em pacientes com imunodeficiências primárias), e factores de virulência dos fungos [11, 12].

A imunidade inata é mediada por células que exibem actividade fagocítica e apresentadora de antígenos. Elementos celulares como neutrófilos, macrófagos e monócitos, bem como células dendríticas, estão envolvidos no reconhecimento e dano das células fúngicas [11-13]. Na resposta inata o reconhecimento dos agentes fúngicos é efectuado através de TLR, principalmente TLR-2 e TLR-4, e de outros receptores para outros componentes da parede celular do fungo, como a dectina-1 [14]. Adicionalmente, células fagocíticas são recrutadas

---

<sup>1</sup> Neste trabalho optou-se pela sigla SCID (“Severe Combined Immunodeficiency”)

para os sítios de infecção pela acção de mediadores inflamatórios, como citocinas, quimiocinas e factores do complemento.

A eliminação dos elementos fúngicos invasivos é conseguida através de mecanismos oxidativos e não-oxidativos, podendo ser potenciados por opsonização e células T activadas por citocinas. O mecanismo oxidativo consiste na acção de enzimas como a NADPH (nicotinamida adenina dinucleótido fosfato) oxidase e a sintetase do NO (óxido nítrico) que produzem espécies reactivas de oxigénio mediando efeitos tóxicos nas células fúngicas. O mecanismo não-oxidativo consiste na desgranulação e libertação de defensinas, péptidos catiónicos e outras moléculas fungicidas [15, 16].

A resposta imune adaptativa contra fungos advém da diferenciação de células T CD4<sup>+</sup>, em células T “helper” (Th1 e Th2) e T reguladoras (T<sub>reg</sub>), que se revela essencial e determinante na susceptibilidade ou resistência do hospedeiro à infecção fúngica invasiva [13]. Esta diferenciação é desencadeada pelas células dendríticas, que evidenciam a capacidade de distinguir entre diferentes formas de espécies fúngicas [12] após ligação a PRRs (“pattern recognition receptors”), como os TLR. Assim, estas aparecem como uma importante ligação entre as respostas inata e adaptativa para fungos patogénicos como *Aspergillus fumigatus*, *C. neoformans* e *Candida albicans* [15]. A resposta Th1 envolve a produção de citocinas, como IFN- $\delta$ , IL-2, IL-12 e IL-18 (que simulam actividade fagocítica), geração de células T CD4<sup>+</sup> citotóxicas e produção de anticorpos opsonizadores. A resposta Th2 está associada a produção de citocinas, como IL-4 e IL-5, que desencadeiam a produção de anticorpos não-opsonizadores e de reacções alérgicas, podendo favorecer a infecção fúngica. Assim, uma protecção eficaz contra a infecção fúngica invasiva correlaciona-se com a predominância da resposta Th1 sobre a Th2 [11-13, 17]. Durante a infecção fúngica, a resposta imune tem como função não só a eliminação do fungo bem como a limitação do dano tecidual e reposição da homeostasia, papel atribuído às células T<sub>reg</sub> com actividade anti-inflamatória. A resposta por

estas células envolve a produção de citocinas, como a IL-10, diminuindo a ocorrência de reacções inflamatórias extensas causadas por citocinas Th1 [13].

Um terceiro tipo de células T “helper” foi descrito, as células Th17, que produzem um perfil distinto de citocinas, incluindo IL-17A, IL-17F, IL-21 e IL-22. A resposta Th17 parece ser importante para protecção contra infecções da mucosa por *Candida* [18]. No entanto, estudos sugerem que as defesas do hospedeiro humano contra *A. fumigatus* dependem principalmente da resposta Th1 do que da Th17 [19]. Estudos recentes, baseados na indução de aspergilose experimental, sugerem que as células Th17 possuem uma função reguladora, promovendo a resposta Th1 e restringindo a resposta Th2 [13].

Enquanto a importância da resposta fagocítica e celular (pelas células T) se encontra bem estabelecida, o papel da imunidade humoral na resposta imune contra infecções fúngicas tem sido alvo de controvérsia. As paredes celulares dos fungos possuem resíduos hidrocarbonados e outros antígenos que desencadeiam a resposta pelos anticorpos. Contudo, há uma pequena evidência de que estes anticorpos modulam a patogénese da infecção fúngica [20, 21]. Os estudos desenvolvidos nesta área encontram-se maioritariamente focados em *C. albicans* e *C. neoformans*, onde anticorpos são adquiridos naturalmente durante a infância, sem no entanto parecerem proteger contra a infecção [22]. Estes resultados indicam que a presença de anticorpos não previne necessariamente a infecção, mas não exclui a possibilidade de estes contribuírem para a protecção [12].

Ainda, numerosos anticorpos gerados durante o contacto, a colonização passiva ou a infecção por espécies particulares de fungos marcam diferentes epítomos, demonstrando actividades variadas e, por vezes, contraditórias, que podem ser protectoras, não-protectoras, ou indiferenciadas [7].

Como já referido, a propensão para a infecção por diferentes agentes patogénicos, de que são exemplo os fungos, varia consoante a deficiência imunitária. Assim, a doença fúngica invasiva raramente ocorre em pacientes com deficiências humorais ou do complemento. Pelo

contrário, esta tem uma frequência mais elevada naqueles que possuem anomalias na resposta fagocítica e combinada (celular e humoral) [6, 7] (tabela 1).

**Tabela 1 Imunodeficiências Primárias com maior risco de contrair Doença Fúngica Invasiva**

<b>Imunodeficiência Primária categoria</b>	<b>Agentes fúngicos patogénicos</b>	<b>Referências</b>
Fagocítica	<i>Aspergillus</i> sp., <i>Candida</i> sp.; <i>Pneumocystis jiroveci</i> ; Fungos dimórficos.	[6, 7, 9, 10] [10] [7]
Combinada	<i>Candida</i> sp., <i>Cryptococcus</i> <i>neoformans</i> ; <i>Pneumocystis jiroveci</i> ; <i>Aspergillus</i> sp., <i>Histoplasma</i> <i>capsulatum</i> .	[6, 10] [6, 9, 10] [6]
Outras síndromes de imunodeficiência bem definidas	Síndrome de Hiper-IgE <i>Candida</i> sp., <i>Cryptococcus</i> sp., fungos dimórficos; <i>Pneumocystis jiroveci</i> .	[7] [9]
	Candidíase Mucocutânea Crónica <i>Candida</i> sp., fungos dimórficos, raramente <i>Cryptococcus</i> sp.	[7, 23]

Esta revisão irá incidir preferencialmente sobre as imunodeficiências primárias que se relacionam fortemente com a doença fúngica invasiva, de que são exemplo as imunodeficiências combinada e fagocítica, em particular, dentro destas, aquelas com maior preponderância em crianças. A Doença Crónica Granulomatosa (DCG), imunodeficiência fagocítica mais comum, é a imunodeficiência primária que apresenta maior incidência de doença fúngica invasiva [7]. A Imunodeficiência Combinada Grave (SCID), imunodeficiência combinada, além de outras infecções por múltiplos microrganismos revela tendencialmente propensão para o desenvolvimento de doença fúngica invasiva. Em ambas as patologias se verifica um aumento da incidência de infecções fúngicas logo na infância [9]. O conhecimento aprofundado destas imunodeficiências revela-se ainda de extremo interesse



sendo consideradas importantes factores inerentes ao hospedeiro, que incorporam os critérios de definição da doença fúngica invasiva [1].

Neste trabalho pretende-se rever conceitos fundamentais para a compreensão destas imunodeficiências – fisiopatologia, manifestações clínicas e diagnóstico –, bem como efectuar uma resenha da literatura acerca das DFIs, provocadas por diferentes espécies fúngicas, nestes doentes. Pretende-se ainda rever estratégias terapêuticas que se tenham revelado eficazes em doentes com este padrão de patologias, seja na prevenção ou combate contra a doença fúngica. Por fim, apresentam-se sumariamente casos clínicos observados no Hospital Pediátrico “Carmona da Mota” do Centro Hospitalar de Coimbra, que reiteram o revisto.

## **II – Doença Crónica Granulomatosa**

---

A Doença Crónica Granulomatosa (DCG) caracteriza-se por uma disfunção hereditária do complexo NADPH. Nesta, infecções bacterianas e fúngicas (nomeadamente por *Candida* e *Aspergillus*), severas e recorrentes, bem como inflamação exuberante, tomam especial relevo.

A DCG foi descrita pela primeira vez em 1950 como uma doença granulomatosa fatal da infância. Estudos realizados em meados de 1960 relacionaram a DCG com actividade neutrofílica bactericida deficiente. Os neutrófilos dos pacientes não pareciam mostrar uma proporcional formação de peróxido de hidrogénio face ao elevado consumo de oxigénio (stress oxidativo). Inicialmente este efeito foi atribuído ao aumento da actividade do processo de respiração mitocondrial e mais tarde relacionado directamente com o complexo NADPH oxidase. Assim surgiu o conceito de DCG decorrente da deficiência na actividade do complexo NADPH oxidase [24].

A doença, relativamente rara, afecta entre 1/200 000 e 1/250 000 nados vivos [25, 26] e, apesar das bases genéticas para a DCG se encontrarem já bem documentadas, o curso clínico e o “outcome” advindos são ainda fonte de incerteza, muito em parte pela reduzida frequência de indivíduos com esta patologia [25, 27, 28]. A diversidade de apresentação clínica da doença, variando entre relativamente branda na vida adulta e a septicémia fatal na infância, promove uma dificuldade acrescida na informação pelos clínicos aos pais e pacientes acerca de quais os riscos, custos e benefícios dos diferentes tratamentos, desde profilaxia antibiótica e antifúngica, a transplante de células hematopoiéticas ou terapia génica [29].

## 1 – Fisiopatologia

A DCG é causada por uma deficiente libertação de espécies reactivas de oxigénio que acompanha a fagocitose nas células mielóides (neutrófilos, eosinófilos, monócitos e macrófagos).

O stress oxidativo envolve a conversão catalítica de oxigénio molecular no radical de oxigénio livre, superóxido ( $O_2^-$ ), que, através da actividade da enzima superóxido dismutase, se converte em peróxido de hidrogénio ( $H_2O_2$ ). Este último, por sua vez, origina o radical hidroxilo ( $OH^\cdot$ ) e, pela acção conjunta de uma mieloperoxidase e ião cloreto ( $Cl^-$ ), ácido hipocloroso ( $HOCl$ ). Estes derivados de oxigénio têm um papel vital na morte celular de certas bactérias e fungos patogénicos.

Em adição às propriedades directas antimicrobianas destes radicais de oxigénio, a activação de NADPH oxidase nos neutrófilos associa-se também à activação de proteases intracelulares (elastase neutrofílica e catepsina G) e libertação de NETs (“neutrophil extracellular traps” – redes de fibras extracelulares, compostas por grânulos de proteínas e cromatina que partilham o espaço extracelular) que também medeiam as defesas antimicrobianas do hospedeiro. As NETs conferem protecção ligando-se e matando bactérias extracelulares, degradando factores de virulência bacterianos [30] e eliminando fungos [31]. Ora, os neutrófilos dos pacientes com DCG têm uma menor taxa de formação de NETs [31, 32].

Como resultado da disfunção da actividade do complexo NADPH oxidase nas células fagocíticas, os pacientes com DCG sofrem de infecções severas e recidivantes, sendo também caracterizados por um estado permanente de sobre-inflamação devido, nomeadamente, a desregulação dos linfócitos Th17, que controlam aquele complexo enzimático [33]. Pacientes com DCG desenvolvem granulomas difusos que são susceptíveis de causar sintomas obstrutivos e/ou dolorosos em diversos órgãos (como estômago, esófago, ureteres ou bexiga), ou distúrbios de função secundários a processos fibróticos extensos (pulmonares, gastrointestinais, genitourinários ou do sistema nervoso central). Fenómenos auto-ímmunes têm

sido também documentados, com maior incidência em doentes do sexo feminino com imunodeficiência ligada ao cromossoma X [26].

O complexo enzimático que cataliza o processo inerente ao stress oxidativo, a NADPH oxidase leucocitária, consiste em subunidades proteicas, cinco destas importantes na DCG. São elas, (designando phox para “phagocyte oxidase”): gp91<sup>phox</sup> (ou Nox2) e p22<sup>phox</sup>, localizadas na membrana, e p40<sup>phox</sup> [34], p47<sup>phox</sup> e p67<sup>phox</sup>, que sendo citosólicas, são translocadas através da membrana [35]. A DCG é assim causada por uma qualquer mutação que afecte um destes componentes.

Mutação no gene da gp91<sup>phox</sup> (CYBB, cromossoma X p21.1) causa a forma recessiva ligada ao cromossoma X, que afecta a maioria dos pacientes com DCG (cerca de 70 %), sendo a maior parte do sexo masculino. Os restantes 30 % herdam a doença de forma autossómica recessiva, onde indivíduos do sexo masculino e feminino se encontram igualmente afectados. Estes pacientes possuem mutações nos genes que codificam p47<sup>phox</sup> (NCF1, cromossoma 7q11.23), p67<sup>phox</sup> (NCF2, cromossoma 1q25), p22<sup>phox</sup> (CYBA, cromossoma 16q24), ou p40<sup>phox</sup> (NCF4) [26].

## 2 – Manifestações Clínicas

As manifestações clínicas mais comuns incluem infecção, doença granulomatosa, inflamação e má progressão ponderal (por efeitos nutricionais subjacentes à infecção e inflamação crónicas). A doença manifesta-se de forma heterogénea, relacionando-se com os subtipos e com a severidade do defeito macrofágico a que esta se associa. Em cerca de 90 % dos pacientes com DCG observa-se uma diminuição severa, ou uma ausência total, na rápida libertação de espécies reactivas de oxigénio em resposta à fagocitose de agentes microbianos, sendo a produção do radical superóxido praticamente indetectável.

Nestes pacientes, as manifestações clínicas (principalmente infecções fúngicas e bacterianas) apresentam-se sobretudo na infância, com maior prevalência até cerca de 1 ano de vida. Estas revelam-se precocemente, severas e de grande extensão, colocando em risco a sobrevivência do doente. No entanto, a existência de níveis de actividade oxidativa, mesmo que reduzida, pode atrasar manifestações clínicas evidentes desta patologia até ao início da idade adulta, onde infecções recorrentes e incomuns conduzem então ao diagnóstico de DCG [35].

As manifestações clínicas, de natureza infecciosa, inflamatória e estrutural da DCG são muito diversificadas, encontrando-se resumidas nas tabelas 2 e 3.

A maioria dos pacientes apresenta doenças infecciosas, sendo *Staphylococcus aureus*, *Serratia marcescens*, *Burkholderia cepacia* e *Nocardia* responsáveis por grande parte das infecções bacterianas (originam pneumonias, sinusite ou abscessos hepáticos), enquanto *Candida* e *Aspergillus* são causadores da maioria das infecções fúngicas (especialmente necrotizantes do tecido profundo e osso). Pacientes com DCG estão também em risco elevado de infecções por micobactérias [7].

Tabela 2 Características da Infecção na Doença Crónica Granulomatosa

Manifestações clínicas	Agentes etiológicos mais comuns	Exames complementares de Diagnóstico
<b>Sépsis</b>	<i>Burkholderia cepacia</i> , <i>Pseudomonas</i> , <i>Serratia</i> , <i>Staphylococcus</i> , <i>Salmonella</i>	Hemocultura, Ecocardiograma
<b>Pneumonia</b>	<i>Aspergillus</i> , <i>Nocardia</i> , <i>Serratia</i> , <i>Pseudomonas</i> , <i>Staphylococcus</i> , <i>Klebsiella</i>	Radiografia torácica, cultura, biópsia
<b>Impétigo e Abscessos cutâneos</b>	<i>Staphylococcus</i> , <i>Klebsiella</i> , <i>Aspergillus/Candida</i> , <i>Serratia</i>	Aspirado, cultura, biópsia
<b>Adenite e adenopatia</b>	<i>Candida/Nocardia</i> , <i>Aspergillus</i> , <i>Serratia/Klebsiella</i>	Aspirado por agulha fina, cultura, biópsia
<b>Abcesso hepático</b>	<i>Staphylococcus</i> , <i>Streptococcus</i> , <i>Aspergillus/Nocardia</i> , <i>Serratia</i>	Aspirado por TC ou guiado ecograficamente, biópsia
<b>Osteomielite</b>	<i>Serratia</i> , <i>Aspergillus</i> , <i>Staphylococcus</i> , <i>Pseudomonas/Nocardia</i>	TC óssea/biópsia
<b>Abcesso perirrectal e fístula</b>	<i>Enterobacteriaceae</i> , <i>Staphylococcus</i>	Biópsia, cultura
<b>Pielonefrite</b>	<i>Enterobacteriaceae</i>	Cultura, pielografia intravenosa/TC, etc.
<b>Meningite e Abcesso cerebral</b>	<i>Candida</i> , <i>Haemophilus</i> , <i>Aspergillus</i> , <i>Staphylococcus</i>	Punção lombar, cultura, TC/RMN, biópsia

TC, tomografia computadorizada; RMN, ressonância magnética nuclear

Adaptado de [35]

Nos pacientes com DCG também se verifica uma resposta inflamatória que, sendo permanente, participa activamente nas manifestações granulomatosas da doença. Estas verificam-se especialmente em órgãos ocos, e, mesmo na ausência de infecções, causa patologia inflamatória como obstrução piloro-duodenal, colite não infecciosa e hidronefrose [6].

**Tabela 3 Complicações inflamatórias e estruturais na Doença Crónica Granulomatosa**

<b>Complicações</b>
<b>Linfadenopatia<sup>1</sup></b>
Hepatosplenomegália
Anemia
Hiperglobulinémia
Má progressão ponderal
Diarreia
Gengivite
Hidronefrose
Obstrução piloro-duodenal
Ileocolite granulomatosa
Estomatite
Cistite granulomatosa
Fibrose pulmonar
Esofagite
Glomerulonefrite
Coriorretinite
Lúpus discóide

<sup>1</sup> Linfadenopatia é a complicação com maior frequência nos doentes com DCG (> 50 %)

Adaptado de [35].

### 3 – Diagnóstico

O diagnóstico precoce de DCG é determinante para o subsequente curso clínico. Este passa por várias etapas até à sua confirmação (tabela 4).

A DCG deve ser suspeitada em pacientes com infecções recorrentes ou anormalmente severas, como abscesso hepático por *S. aureus*, e infecções oportunistas específicas, que incluem doença fúngica invasiva (como aspergilose) e infecção por *B. cepacia*, *S. marcescens* e *Nocardia* sp., na ausência de imunodeficiência conhecida. Doenças inflamatórias, como doença inflamatória intestinal em idade precoce e cistite granulomatosa, podem também sugerir uma clínica de DCG (tabela 4).

História familiar de infecções severas ou pouco frequentes em membros do sexo masculino aponta para o diagnóstico da forma de DCG ligada ao cromossoma X, enquanto progenitores consanguíneos indicam um aumento do risco de contrair a forma autossómica recessiva da doença [24].

O diagnóstico de certeza requer a demonstração de deficiência na actividade do complexo NADPH oxidase dos neutrófilos. Esta é medida pela intensidade de fluorescência de DHR 123 (di-hidrorrodamina 123) por citometria de fluxo. Uma vez que DHR 123 é uma sonda que emite fluorescência na presença de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, esta análise permite a medição do peróxido de hidrogénio intracelular.

O teste de DHR parece ser o método de diagnóstico mais sensível, particularmente nos casos de variantes ligadas ao cromossoma X ou autossómicas recessivas de DCG, onde os baixos níveis de actividade do complexo NADPH oxidase podem conduzir a resultados falsos positivos com o método de NBT (“nitroblue tetrazolium dye reduction” – redução do tetrazólio nitroazul) que, por isso, se encontra em desuso. Por outro lado, o teste de DHR permite aferir o estado do portador, pela quantidade de peróxido produzido pelos neutrófilos.

Outros testes propostos incluem testes moleculares como o sistema DHPLC (“denaturing high performance liquid chromatography”) e a PCR (“polymerase chain reaction”) em tempo



real, sendo a análise de mutações ao nível molecular adjuvante na confirmação do diagnóstico, na definição do defeito e na classificação do paciente em subtipos específicos [35].

**Tabela 4 Diagnóstico de Doença Crónica Granulomatosa**

---

<b>Informação Clínica</b>
<ol style="list-style-type: none"><li>1. Infecções pulmonar e hepática, incluindo formação de abscessos, recorrente e/ou anormalmente severas</li><li>2. Infecções oportunistas de agentes patogénicos específicos, como <i>B. cepacia</i>, <i>Nocardia</i>, <i>S. marcescens</i>, <i>Aspergillus</i> sp.</li><li>3. Lesões granulomatosas dos sistemas GI e GU</li><li>4. História familiar de infecções severas ou incomuns em membros do sexo masculino</li><li>5. História familiar de consanguinidade</li></ol>
<b>Alterações Laboratoriais</b>
<ol style="list-style-type: none"><li>1. Anemia</li><li>2. Hiperglobulinémia policlonal</li><li>3. Elevação dos reagentes de fase aguda como VS e CRP</li><li>4. Estudos de imunidade dos linfócitos T e B normais</li></ol>
<b>Testes de Diagnóstico</b>
<ol style="list-style-type: none"><li>1. Teste NBT (em desuso)</li><li>2. Teste DHR</li></ol>
<b>Testes Moleculares</b>
<ol style="list-style-type: none"><li>1. Immunoblotting ou citometria de fluxo</li><li>2. Técnicas moleculares, incluindo sequenciação genética e análise de mutações, que caracterizam os subtipos da doença</li></ol>

---

NBT, teste de redução do tetrazólio nitroazul; VS, velocidade de sedimentação eritrocitária; CRP, “C reactive protein” (proteína C reactiva); GI, sistema gastrointestinal; GU, sistema genitourinário;

Adaptado de [24, 35]

## 4 – Tratamento

Doentes com DCG devem receber profilaxia antibacteriana e antifúngica. Transplante de células hematopoiéticas é actualmente o único tratamento comprovado curativo para pacientes seleccionados com DCG. Terapia génica tem sido usada de forma experimental em pacientes sem dador de células estaminais compatível [24].

## 5 – Doença Fúngica Invasiva

### 5.1 – Epidemiologia e aspectos clínicos

A Doença Crónica Granulomatosa é a imunodeficiência primária que apresenta maior incidência de infecções fúngicas. Embora *Candida* e outros géneros de fungos possam ocorrer, *Aspergillus* verifica-se o principal agente, como se constata nos estudos a seguir apresentados.

Num estudo nacional efectuado nos Estados Unidos da América (EUA), com registo de 368 pacientes com DCG publicado em 2000 por Winkelstein e colaboradores [25], a infecção mais prevalente foi pneumonia, sendo *Aspergillus* o agente mais frequentemente isolado. Este agente verificou-se também o maior responsável pela formação de abscessos pulmonares, cerebrais e osteomielite. O principal agente causador de fungémia foi *Candida*, também associado a maior frequência como agente de meningite. Curiosamente, em episódios de bacteriémia ou fungémia, a forma recessiva ligada ao cromossoma X apresentava significativamente mais pacientes afectados que a forma autossómica recessiva da doença. A mortalidade global observada neste estudo foi de 17,6 %, sendo mais elevada na forma recessiva ligada ao cromossoma X (21,2 %) que na autossómica recessiva (8,6 %). A infecção por *Aspergillus* foi a causa mais comum de morte, com mais de um terço de todas as mortes registadas.

Também num estudo multicêntrico europeu realizado com 429 pacientes com DCG publicado em 2009, van den Berg e colaboradores [26] constataram que o local mais comum de doença era o pulmão, sendo a causa mais frequente a pneumonia, seguida de abscesso pulmonar. Neste local *Aspergillus* registou-se como o microrganismo mais comum. Também este agente se observou como o principal responsável pelo envolvimento cerebral, com a formação de abscessos, bem como pelo envolvimento ósseo, gerando osteomielite. Na infecção óssea, os locais mais afectados foram as costelas, vértebras, fémur, tíbia e tálus (os ossos da mão foram

os menos frequentemente afectados). Após o pulmão, a pele revelou-se o órgão mais afectado, sendo o abscesso subcutâneo a sua afecção mais representativa. Ao contrário de outros órgãos, na pele *Aspergillus* foi causador de doença com relativa infrequência. Dermatite também se manifestou, tendo sido isolada *Candida*, em 5 % dos 101 casos. A média de idade aquando da morte foi de 8,8 anos na forma recessiva ligada ao cromossoma X e 10,4 anos na forma autossómica recessiva. A principal causa de morte neste estudo foi pneumonia, tendo sido o agente etiológico mais frequente *Aspergillus*. Casos de morte ocorreram também por septicémia por *Candida*, e por abscesso cerebral por *Aspergillus* [26]. Neste estudo um dos microrganismos mais frequentes foi *Aspergillus*, ocupando o segundo lugar, e *Candida* verificou-se o quarto agente mais comum.

A tabela 5 pretende apresentar de forma comparativa e resumida as conclusões a que os dois estudos multicêntricos realizados nos EUA [25] e na Europa [26] chegaram quanto à incidência em infecções fúngicas. No entanto, no estudo multicêntrico europeu, estão ausentes doentes de países como o Reino Unido e a Itália. De forma a colmatar esta ausência apresenta-se de seguida os resultados obtidos em estudos independentes realizados nestes países.

Um registo nacional de doentes foi efectuado no Reino Unido, com um total de 94 indivíduos [28]. Neste registaram-se 38 infecções fúngicas provocadas em 27 % dos pacientes. Mais uma vez, a pneumonia foi a infecção mais comum, sendo *Aspergillus* o agente etiológico mais frequente. Este agente foi responsável por casos de abscesso pulmonar, osteomielite, infecção renal e abscesso cerebral. Neste estudo faleceram 55 doentes, tendo sido pneumonia e septicémia as causas maioritárias de morte. Nestas *Aspergillus* sp. foi responsável por 50 % dos casos onde foi identificado.

**Tabela 5 Resumo das Doenças Fúngicas Invasivas nos principais estudos: EUA vs Europa**

<b>Órgão afectado</b>	<b>EUA N = 368 pacientes</b>	<b>Europa N = 429 pacientes</b>
<b>Envolvimento pulmonar</b>	Pneumonia (290 doentes): <i>Aspergillus</i> sp. (41%); <i>Candida</i> sp. (2%); <i>Paecilomyces</i> sp. (1%)  Abscesso pulmonar (60 doentes): <i>Aspergillus</i> sp. (23%)	Pneumonia (mais frequente); Abscesso pulmonar (2º mais frequente);  66% (284 doentes): <i>Aspergillus</i> sp. (18% de 634 episódios); <i>Candida</i> sp. (2% de 634 episódios)
<b>Envolvimento cutâneo</b>	Abscesso subcutâneo (156 doentes): <i>Aspergillus</i> sp. (5%); <i>Candida</i> sp. (4%)	Abscesso subcutâneo (131 casos): <i>Aspergillus</i> sp. (5%)  Dermatite (101 casos): <i>Candida</i> sp. (5%)
<b>Envolvimento cerebral</b>	Abscesso cerebral (12 doentes): <i>Aspergillus</i> sp. (58%)  Meningite (15 doentes): <i>Candida</i> sp. (20%)	Abscesso cerebral (30 doentes): <i>Aspergillus</i> sp. (38%)
<b>Envolvimento hepático</b>	Abscesso hepático (98 doentes): <i>Aspergillus</i> sp. (3%); <i>Candida</i> sp. (2%)	Abscesso hepático: <i>Aspergillus</i> sp. e <i>Candida</i> sp. (raro)
<b>Envolvimento ganglionar</b>	Adenite supurada (194 doentes): <i>Candida</i> (7%); <i>Aspergillus</i> e <i>Candida</i> ( <i>Torulopsis glabrata</i> ) (raro)	Linfadenite (622 episódios em 213 doentes): <i>Aspergillus</i> sp., <i>Candida</i> sp. e <i>Phialophora richardsiae</i> (raro)
<b>Envolvimento ósseo</b>	Osteomielite (90 doentes): <i>Aspergillus</i> sp. (22%); <i>Paecilomyces</i> sp. (8%)	Osteomielite (54 doentes): <i>Aspergillus</i> sp. (35% de 84 episódios)  Artrite séptica (32 doentes): <i>Aspergillus</i> sp. (1 episódio em 34 episódios)
<b>Fungémia</b>	<i>Candida</i> sp. (11% de 65 doentes)	Septicémia: <i>Aspergillus</i> sp. e <i>Candida</i> sp. (raro)
<b>Mortalidade</b>	<i>Aspergillus</i> sp. (causa mais frequente); <i>Candida</i> sp. (menos comum)	Pneumonia por <i>Aspergillus</i> sp. Outros: Septicémia por <i>Candida</i> sp.; Abscesso cerebral por <i>Aspergillus</i> sp.

Um estudo multicêntrico foi conduzido em Itália [27], com a inclusão de 60 pacientes com DCG. Neste, a infecção pulmonar foi também a mais frequente (50 % dos pacientes). *Aspergillus* foi caracterizado como primeira causa de infecção e morte, sendo responsável por cerca de metade das mortes nestes doentes. Neste estudo, as infecções fúngicas foram a primeira causa de doença, sendo *Aspergillus* o agente mais frequentemente isolado. De entre

um total de 521 infecções, em 50 foi possível isolar microrganismos dos quais, *Aspergillus* foi a primeira causa de pneumonia, osteomielite e abscesso cerebral. *Candida* foi a segunda causa de pneumonia e primeira de sépsis (*Candida famata* e *Candida parapsilosis*) e de enterocolite (*C. albicans*). Registou-se ainda uma maior prevalência de infecções entre os pacientes portadores da forma autossómica recessiva que entre os portadores da forma recessiva ligada ao cromossoma X, sendo estas mais ligeiras. Nos portadores de forma recessiva ligada ao cromossoma X as infecções verificaram-se severas.

Foi recentemente publicado um estudo multicêntrico em França [36] acerca de DFI em pacientes com DCG, com um universo de 159 pacientes nascidos entre 1961 e 2008. De entre estes, 42,6 % desenvolveram pelo menos um episódio de DFI, sendo que cerca de metade das DFIs ocorreram após 1999. Nenhum genótipo foi associado particularmente em relação a maior proporção de DFI. *Aspergillus* representou 65,3 % de todos os bolores, sendo as espécies mais frequentes *A. fumigatus*, *A. nidulans* e *A. flavus*. O género de leveduras mais frequente foi *Candida*, nomeadamente *C. albicans*, *Candida glabrata* e *Candida lusitanae*. As manifestações clínicas foram variáveis e dependentes da localização da DFI [36]. A incidência de DFI verificou-se mais baixa que o esperado, com 0,04 DFI por paciente/ano, dado que a média da incidência descrita em estudos anteriores foi de 0,1 infecções por paciente-ano [37]. Por outro lado, a prevalência global de DCG à nascença em França verificou-se superior quando comparada com outros estudos efectuados em Itália e EUA [25, 27] e semelhante quando comparada com estudos ingleses e irlandeses [28].

## 5.2 – Aspergilose Invasiva

### 5.2.1 – Epidemiologia e aspectos clínicos

Na generalidade, a epidemiologia da Aspergilose Invasiva (AI) em crianças e adolescentes verifica-se não estar extensivamente explorada. No entanto, estudos actuais indicam que *A. fumigatus* é a espécie mais prevalente, causando pelo menos metade dos casos, seguido de *A. flavus*, *Aspergillus terreus*, *Aspergillus niger* e *A. nidulans*, obtendo este último elevada taxa de ocorrência em pacientes com DCG [38, 39].

Em doentes com DCG, estudos reportados na literatura são concordantes, mostrando inequivocamente que *Aspergillus* emergiu como agente patogénico importante ao longo do tempo, sendo actualmente considerado a maior causa de complicação e morte nos pacientes com esta patologia [25-27, 36]. A AI revela-se por vezes a primeira manifestação de DCG, sendo que a infecção se manifesta nas primeiras duas décadas de vida [38]. Contudo, em doentes no período neonatal verifica-se de incidência esporádica [40, 41]. As espécies que mais frequentemente afectam pacientes com DCG são *A. fumigatus*, seguida de *A. nidulans* [38, 42, 43], tendo sido também citadas infecções por *A. flavus* [36, 42] e *A. niger* [44].

Salienta-se que *A. nidulans* é um agente pouco comum em doentes imunocomprometidos que não por DCG, onde é isolado com elevada frequência. Estudos epidemiológicos e diversos casos clínicos publicados demonstram esta elevada frequência [36, 38, 45-47]. Por outro lado, *A. nidulans* tem apresentado distinta resistência à terapêutica antifúngica pelo que se revela muitas vezes necessária intervenção cirúrgica para erradicar a infecção causada por este organismo [48].

Em França [36] observou-se que de todos os casos de AI, 84,4 % se encontravam confinados a um só órgão. O pulmão, em concordância com o obtido noutros estudos [25, 27, 28, 36], foi o órgão mais afectado, registando esta localização 90,6 % de todas as AI. *A. nidulans*, quando

comparado com *A. fumigatus*, foi o agente que mais afectou os tecidos adjacentes ao referido local, embora esta diferença não se tenha relevado estatisticamente significativa.

A AI pulmonar tem apresentação clínica variável, sendo os sintomas largamente inespecíficos, contudo, síndromes bem definidos também existem [49-54]. A apresentação imagiológica consiste frequentemente em infiltrado, massa ou nódulo pulmonares, e lesões múltiplas podem também estar presentes. Estas imagens são detectadas muitas vezes em exames de rotina em doentes assintomáticos. De facto, aquando do diagnóstico, até um terço dos pacientes pode ser assintomático e apenas cerca de 20 % pode encontrar-se febril [38]. Leucocitose e moderada elevação da velocidade de sedimentação eritrocitária (VS) podem ocorrer, contudo valores normais não excluem a hipótese de AI, sendo observados numa proporção significativa de casos [38, 42, 43].

A pneumonite aguda, por vezes causadora de risco de vida, pode apresentar-se como manifestação primária de DCG, embora esta ocorrência seja rara. Esta deve-se a inalação massiva e aguda de esporos ou hifas de *Aspergillus*. Este síndrome recentemente denominado de “fulminant mulch pneumonitis”<sup>II</sup> pode ser o único dado indicativo de DCG [44, 55, 56]. O tratamento requer terapia antifúngica e corticoterapia sistémica prolongada. Outros agentes fúngicos (infra-citados em secção própria), que não do género *Aspergillus*, podem contribuir para a condição clínica do paciente, sendo que, contudo, esta relação se encontra ainda pouco esclarecida.

Também a AI pulmonar pode causar uma infecção crónica progressiva em pacientes com DCG, os termos “granulomatose crónica séptica” e “aspergilose microgranulomatosa” têm sido usados para descrever estas lesões [52]. Pneumonia crónica nodular difusa pode também ocorrer [51].

---

<sup>II</sup> “Fulminant mulch pneumonitis” caracteriza-se por pneumonia fúngica aguda e fulminante, tendo relação com a exposição massiva a esporos ou hifas de *Aspergillus*. A maioria dos casos reportados deve-se a episódios desencadeados por exposição a matéria orgânica aerossolizada, como sucede em actos de jardinagem ou de fertilização de solos. A expressão encontra-se em Língua Inglesa e será adaptada em todo o artigo nesta Língua dado este conceito ainda não existir no léxico médico e científico português.

Recentemente foram publicados casos clínicos respeitantes a pneumonia crónica por *Aspergillus* provocada por agentes do grupo *fumigati* como *A. viridinutans* [57], um fungo fenotipicamente semelhante a *A. fumigatus*, no entanto filogeneticamente distinto deste, e *Neosartorya udagawae* [58]. A infecção provocada por estes agentes difundiu-se de forma contígua, atravessando planos anatómicos, e foi refractária à terapêutica.

Infecção extrapulmonar por *Aspergillus* verifica-se também frequente. *A. fumigatus* pode afectar osso, cérebro (por exemplo: abscesso cerebral – que pode adoptar apresentação semelhante a tumor) [59, 60], fígado ou lesar os nódulos linfáticos. Massa mediastínica anterior, observada através da protusão da parede, ou endocardite podem-se manifestar [42, 43, 61, 62], sendo também possível a apresentação de pericardite com derrame pericárdico purulento [63]. Infecções causadas por *A. nidulans*, contrariamente ao observado em *A. fumigatus*, quase sempre têm o pulmão como local primário de infecção. No entanto, nos doentes com DCG, as infecções por este agente revelam-se mais agressivas que as originadas por *A. fumigatus*, mostrando propensão para a extensão local – nomeadamente para a pleura adjacente, parede torácica e vértebras [38, 42, 43, 61, 62, 64] –, ou disseminação. Um caso clínico de infecção primária por *A. nidulans* na espinhal medula [65] foi recentemente publicado, alertando para a existência de outros locais de infecção primitiva provocadas por este agente.

Estudos indicam que os locais de desenvolvimento de osteomielite predilectos de *A. nidulans* são parede torácica e vértebras. Contudo, como supra-citado, representam difusão contígua da infecção pulmonar primária. Quanto a *A. fumigatus*, na maioria dos casos a infecção primária envolve o osso, sendo locais de preferência o crânio, úmero, fémur e a tíbia [66], tendo sido também observado em vértebras [67]. Ocasionalmente, rhG-CSF (factor de estimulação das colónias de granulócitos), antifúngicos a longo prazo e intervenção cirúrgica podem ser requeridos no seguimento de pacientes mais complexos [68].



A disseminação da aspergilose pulmonar primária ocorre para vários locais incluindo SNC (sistema nervoso central), órbita, órgãos internos, osso e pele [43, 45, 61, 69].

### 5.2.2 – Diagnóstico de Aspergilose Invasiva

O diagnóstico atempado de AI em pacientes com DCG reveste-se de complexidade acrescida pela ausência de sinais e sintomas específicos, requerendo assim uma elevada sensibilidade para a incidência de infecções fúngicas nestes doentes. A avaliação de infecção pulmonar deve ser efectuada recorrendo a TC (tomografia computadorizada) de alta resolução, mesmo na presença de sintomas ligeiros ou inespecíficos. Nestes pacientes o diagnóstico diferencial da causa de lesões pulmonares deve incluir *S. aureus*, *Nocardia* sp., *B. cepacia*, bem como agentes fúngicos não-*Aspergillus*. Infecções mistas não são raras [25], sendo assim essencial efectuar cultura para diagnóstico e terapêutica antimicrobiana.

Os achados radiológicos na aspergilose pulmonar são variáveis, podendo não ser específicos, estes incluem consolidação segmentar e lobar, infiltrados peri-hilares, múltiplos nódulos de pequenas dimensões, massas nodulares periféricas e derrames pleurais. Devido à inexistência de angioinvasão pelas hifas prevê-se desde já diferenças entre AI em doentes com DCG e neutropénicos, onde sinais radiológicos clássicos podem ser visíveis, tais como halo (reflecte angioinvasão com tecido hemorrágico em redor), crescentes de ar e outros sinais de cavitação dentro de áreas de consolidação [70]. De facto, a histologia do pulmão em aspergilose experimental em ratinhos com DCG, mostrou lesões piogranulomatosas e hifas invasivas, no entanto sem angioinvasão de hifas ou necrose [38].

Se a infecção envolve outros locais que não o pulmão, pode-se proceder a estudos de imagem como a ressonância magnética (RMN) ou a cintigrafia óssea. De notar que em imagens

obtidas por RMN, o envolvimento cerebral apresenta frequentemente lesões com realce periférico, demonstrando-se consistentes com abscesso cerebral [64, 70].

Além de estudos de imagem, todos os esforços para estabelecer o diagnóstico devem ser efectuados. Assim procede-se ao isolamento e identificação do organismo ou a visualização de hifas em adequadas amostras de tecido coradas (exame histopatológico). Se testes não-invasivos, como hemocultura e cultura da expectoração, não permitirem o diagnóstico, um procedimento invasivo deve ser considerado, nomeadamente colheita do fluido do lavado broncoalveolar ou biópsia pulmonar percutânea, sendo o material enviado para análise anátomo-patológica. Entre outros diagnósticos não-invasivos recentemente introduzidos para a AI, a detecção do antigénio (Ag) galactomanano (componente da parede celular de *Aspergillus*) em soro tem sido encorajada. No entanto, alguns estudos indicam valores preditivos positivo e negativo mais baixos em crianças que em adultos [24, 71]. Além disso nos pacientes com DCG, o teste do Ag-galactomanano apresenta menor sensibilidade quando comparado com outras populações de imunocomprometidos [72, 73]. Por estas razões, o teste do Ag-galactomanano apresenta limitações nos pacientes pediátricos com DCG. Outras modalidades de diagnóstico incluem o teste de (1,3)- $\beta$ -D-glucano e a detecção de DNA de *Aspergillus* por PCR. Esta última tem sido cada vez mais discutida e usada como opção diagnóstica para AI. A PCR parece ser uma ferramenta útil para exclusão de AI em crianças de alto risco, permitindo a interrupção segura da terapêutica antifúngica em pacientes negativos [71, 74]. Contudo, a ausência de padronização permanece impeditiva de inclusão geral da PCR no procedimento diagnóstico de AI, sendo que apenas no Reino Unido e Irlanda se encontra protocolado pelo “United Kingdom Fungal PCR Consensus Group” o seu uso como método contributivo para este diagnóstico [75].

### 5.2.3 – Tratamento e Profilaxia de Aspergilose Invasiva

Em pacientes com DCG, devido a risco aumentado de desenvolver infecções fúngicas devastantes, a possibilidade de profilaxia antifúngica tem vindo a ser explorada.

Itraconazol demonstrou eficácia na redução da frequência de DFIs severas quando administrado profilacticamente a pacientes com DCG [37, 76]. No extenso ensaio clínico duplamente cego, placebo-controlado, conduzido pela NIH (“US National Institutes of Health”), itraconazol foi administrado profilacticamente, como formulação em cápsula, aquando da ingesta para maximizar a absorção, em uma única dose de 100 mg a pacientes com idade inferior a 13 anos e peso inferior a 50 kg (o paciente mais novo no estudo tinha 5 anos) e 200 mg a todos os outros pacientes. Como efeitos adversos foram identificados erupção cutânea, elevação das enzimas hepáticas e cefaleias que resolveram com a descontinuação do fármaco [76]. A emergência de resistências e a possibilidade de comparação entre a profilaxia continuada e descontínua foram justificadas. A eficácia de itraconazol na prevenção de DFI em pacientes com DCG e a sua elevada segurança, demonstradas nos estudos supracitados, sustentam fortemente o seu uso profilático em pacientes com DCG. Uma suspensão oral de itraconazol, mais recentemente desenvolvida, tem melhor biodisponibilidade que as cápsulas quando tomadas sem ingestão alimentar [2].

Um ensaio clínico randomizado, placebo-controlado, demonstrou que a profilaxia com IFN- $\gamma$  (interferão- $\gamma$ ) recombinante em pacientes com DCG estava associada a redução significativa (70 %) na frequência de infecções severas em ambas as formas de DCG [77]. Contudo o seu uso na Europa tem sido inferior ao registado nos EUA pois estudos não randomizados europeus sugerem menor benefício deste [27, 78]. Eventos adversos foram registados, nomeadamente febre, mialgias e irritabilidade, razões que levaram à suspensão da terapêutica em cerca de 13 % dos pacientes de um estudo [79]. Ainda, num estudo realizado pelo NIH dos EUA foram observados falência renal ou disfunção severa, provavelmente devido a terapêutica de longo prazo com anfotericina B antes do advento de novos antifúngicos [80].

Acrescenta-se que o fármaco requer repetidas injeções subcutâneas e tem um custo elevado. Assim a profilaxia com IFN- $\gamma$  é efectuada na Europa apenas em casos seleccionados [81]. Com o advento de novos antifúngicos, nomeadamente triazóis e equinocandinas, as opções de tratamento médico de AI têm aumentado.

O voriconazol é a terapêutica standard para a AI em doentes com DCG, baseado na sua superioridade sobre a anfotericina B desoxicolato num ensaio clínico randomizado [82]. Considerado tratamento de primeira linha, tem sido incorporado em directrizes/orientações terapêuticas [83]. De notar que o voriconazol tem demonstrado índices de resposta sem precedentes na aspergilose cerebral, principalmente devido à sua capacidade única de penetração no SNC [84]. Este novo triazol também demonstrou eficácia contra infecções por *A. nidulans* em pacientes com DCG [85, 86], no entanto, a experiência quanto ao seu uso contra esta espécie continua limitada. Consideração particular deve ser dada à dose apropriada de voriconazol na população pediátrica. Estudos prévios mostraram que a depuração do fármaco em crianças é superior à verificada em adultos. Recentes dados de biodisponibilidade sugerem que para atingir uma exposição ao fármaco comparável com a dos adultos, a dose pediátrica deverá ser de 7 mg/kg de 12 em 12 horas em crianças dos 2 aos 11 anos de idade, dose recomendada pela EMEA (“European Medicines Agency”). Para excluir a possibilidade de exposição subterapêutica, a monitorização de níveis plasmáticos pode ser considerada. No entanto, esta pode não fornecer informação adequada acerca de qual a dose de fármaco no local da infecção, visto que o voriconazol se acumula no muco de revestimento da mucosa epitelial e também nos macrófagos alveolares [87]. Como efeito adverso foi registada fotossensibilidade severa, levando a formação de carcinoma de células escamosas e melanoma, foi descrita na terapêutica a longo prazo [88, 89].

A anfotericina B desoxicolato, segundo recente estudo multicêntrico em pacientes pediátricos com AI [39], tem sido preponderantemente substituída pela forma lipídica ou por voriconazol, devido não só à sua maior tolerância como à superioridade terapêutica demonstrada em

adultos. Um estudo multicêntrico recente de 139 casos pediátricos de AI entre 2000 e 2005 revelou que a anfotericina B lipossómica, o voriconazol e a caspofungina são os agentes terapêuticos mais utilizados [39].

Ambos posaconazol e caspofungina mostraram eficácia como terapêutica “salvage” para a AI em pacientes refractários ou intolerantes à terapêutica convencional [90, 91]. Em 8 pacientes com DCG, com infecção por *Aspergillus* ou outro fungo filamentosos cuja terapêutica antifúngica primária falhou ou criou intolerância, a terapêutica “salvage” com posaconazol revelou-se segura e eficaz [92]. Contudo, a dosagem de posaconazol em pacientes pediátricos não se encontra bem estabelecida necessitando de estudos para aferição da sua segurança e farmacocinética plasmática [2, 93].

A caspofungina não se encontra qualificada como escolha de primeira linha para pacientes pediátricos com AI havendo outras opções terapêuticas, sendo apenas conveniente com terapêutica “salvage” [94]. A dose de caspofungina a 1mg/kg/dia em pacientes pediátricos resulta em níveis plasmáticos inferiores àqueles dos adultos tratados com 50mg/dia. Estudos sugerem que a dose de exposição comparável à do adulto é alcançada pela dose de 25 mg/m<sup>2</sup>/dia em recém-nascidos, de 50 mg/m<sup>2</sup>/dia em crianças dos 31 dias aos 2 anos de idade e de dose semelhante em crianças dos 2 aos 17 anos de idade (máximo 70 mg/ m<sup>2</sup>) [93, 95].

De notar que, actualmente ainda não existe nenhum estudo em pacientes com DCG que efectue a comparação entre a eficácia de voriconazol, posaconazol e itraconazol. Um estudo de um único centro realizado em doentes transplantados mostrou melhores resultados com posaconazol quando comparado com itraconazol, contudo, uma extrapolação directa para pacientes com DCG poderá não ser a mais apropriada [96].

Adicionalmente à quimioterapia antifúngica, desbridamento cirúrgico, por vezes extenso, pode ser necessário, particularmente em casos de osteomielite ou infecção pulmonar agressiva causados por *A. nidulans* [38, 66]. No entanto, esta necessidade de intervenção cirúrgica

precoce pode ser alterada com a disponibilidade de novos triazóis antifúngicos e acumulação de maior evidência da sua eficácia clínica neste campo.

No caso de infecções refractárias ou que ponham em risco de vida o paciente com DCG, outras intervenções podem ser consideradas como terapêutica adjuvante. Transfusão de granulócitos de doadores saudáveis pode restaurar parcialmente a deficiência da actividade fagocítica do paciente e melhorar o “outcome”. Estes granulócitos saudáveis mostraram cooperar com aqueles dos pacientes com DCG de forma sinérgica na destruição de hifas de *Aspergillus* [97]. Efeitos adversos incluem febre, desenvolvimento de leucoaglutininas levando à perda fugaz dos granulócitos transfundidos e raramente a leucocitose pulmonar. Quando concomitante com a toma de anfotericina B, eleva o risco de toxicidade pulmonar significativa. Assim, a transfusão de granulócitos e anfotericina B devem ser administrados com várias horas de intervalo [97]. A transfusão de granulócitos acarreta o risco de aloimunização, revelando-se por conseguinte motivo de receio em pacientes propostos para transplante de células hematopoiética [24]. Com o advento de novos antifúngicos potentes, o uso de transfusão de granulócitos tem diminuído consideravelmente sendo actualmente considerado um último recurso [81].

O IFN- $\gamma$  foi a terapêutica adjuvante descrita em alguns casos clínicos publicados [59, 98, 99]. A sua eficácia clínica neste campo, no entanto, ainda não se encontra sistematicamente avaliada.

### 5.3 – Candidíase Invasiva

#### 5.3.1 – Epidemiologia e aspectos clínicos

A incidência global de candidemia nos EUA em pacientes pediátricos é semelhante à observada em adultos (40 vs 30 casos por 100 000 admissões) [100]. Segundo estudo australiano, crianças no período neonatal são as mais frequentemente afectadas, registando uma incidência quatro vezes superior que a observada em crianças de idade mais avançada [101]. Características, factores de risco e “outcome” da CI mostram diferenças importantes em estudos de coorte entre crianças e adultos [2].

Estudos multicêntricos efectuados em pacientes com DCG mostraram que *Candida* havia registado envolvimento pulmonar, sendo causador de abscessos pulmonares e pneumonia [25, 27, 36]. Também se verificou a sua presença em abscessos cutâneos [25] e hepáticos [25, 26], adenite supurada [25], enterocolite – provocado por *C. albicans* – [27], linfadenite e dermatite [26]. *Candida* sp. foi considerado o principal agente causador de fungemia, meningite [25] e sépsis [26, 27], provocada não só por *C. albicans* mas também por *C. famata* e *C. parapsilosis* [27].

Num estudo multicêntrico realizado na Europa publicado em 2009 [26], *Candida* sp. aparece como o quarto microrganismo mais frequentemente associado a infecção em doentes com DCG. Já em 2011, um outro estudo apresenta *C. albicans* como a levedura identificada em maior número, seguida de *C. glabrata* e por fim *C. lusitaniae* [36]. Para além destes estudos, casos clínicos isolados de CI têm sido reportados, associados a infecção por *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. lusitaniae* e *Candida dubliniensis* [102-107].

A apresentação clínica da infecção por *Candida* em pacientes com DCG, além dos aspectos mencionados anteriormente pode incluir ocasionalmente esofagite, envolvimento ocular (queratite) e a já referida infecção disseminada sistémica [102, 105, 108]. Linfadenite foi descrita num caso clínico onde se verificou o envolvimento dos nódulos linfáticos cervicais

mas também dos intra-abdominais (retro-peritoneais) [103]. Os sintomas são muitas vezes menos pronunciados em recém-nascidos (RN) e o envolvimento do SNC tem uma prevalência mais elevada do que em pacientes de idade mais avançada, colocando os RN enfermos em risco de défice neurológico permanente [2].

### 5.3.2 – Diagnóstico de Candidíase Invasiva

O diagnóstico de CI encontra-se sustentado em diversos casos pelo isolamento de espécies de *Candida* no sangue e líquido cefalo-raquídeo, ou em amostras biológicas clinicamente relevantes. Devido à restrição de volume, a hemocultura poderá ser menos sensível em crianças mais novas, RN e pré-termos, quando comparadas com adultos. Quando necessário, ocasionalmente efectua-se uma biópsia de tecido e exame histológico. Neste último, um achado típico é a presença de lesão necrotizante granulomatosa e formas de levedura e pseudo-hifa [103, 105].

A detecção de antígenos fúngicos ou a amplificação de ácidos nucleicos por PCR associa-se a um índice de detecção precoce, conduzindo a intervenção terapêutica bem sucedida [2]. A quantificação de um componente da parede celular fúngica (1,3)- $\beta$ -D-glucano no soro, mostrou que este atinge, no diagnóstico de DFI, uma sensibilidade estimada em 70 % [109]. No entanto, ainda não foi validado prospectivamente como diagnóstico precoce de CI em pediatria, dado na prática clínica se verificar uma elevada taxa de falsos positivos devido a vários factores como a sua presença em material médico e por erros no procedimento [2].



### 5.3.3 – Tratamento e profilaxia da Candidíase Invasiva

Muitos agentes antifúngicos, incluindo azóis, equinocandinas e anfotericina B podem ser usados no tratamento de infecções por *Candida* em doentes com DCG.

A terapêutica empírica precoce e adequada da CI, da sépsis em particular, verifica-se um pré-requisito para um resultado clínico bem sucedido. Fluconazol, cuja dose recomendada na população pediátrica é de 6-12 mg/kg/dia [93], continua a ser opção para tratamento de fungémia antes da identificação da espécie implicada na infecção, com excepção de crianças com exposição prévia a azóis [110]. Este fármaco ficou estabelecido como a opção padrão para o tratamento de CI após um estudo randomizado em pacientes adultos onde mostrou eficácia terapêutica equivalente à de anfotericina B e superior tolerabilidade [111]. Num pequeno estudo randomizado de fluconazol *versus* anfotericina B, em pacientes pediátricos com CI, a taxa de casos fatais foi substancialmente mais baixa com fluconazol, tendo sido este último melhor tolerado [112]. Contudo, *C. glabrata* e *Candida krusei* demonstraram resistência natural a fluconazol, sendo que uma proporção significativa de isolados destas espécies também apresentou diminuída susceptibilidade à anfotericina B [113]. Ainda, num estudo multicêntrico efectuado em Espanha, verificou-se elevada susceptibilidade da *Candida* ao fluconazol. Além disso, nesse mesmo estudo documentou-se nos últimos dez anos uma diminuição da resistência dos isolados a este fármaco [110].

Quanto às equinocandinas, num ensaio clínico randomizado de fase III, em adultos, a caspofungina não se verificou inferior à anfotericina B no tratamento da CI [114]. Em pacientes pediátricos, a caspofungina foi investigada prospectivamente num estudo multicêntrico, incluindo 37 casos de CI, maioritariamente candidémia, revelando resultados favoráveis [115]. A dose recomendada de caspofungina para crianças e adolescentes foi apresentada na secção anterior respeitante ao tratamento e profilaxia de AI.

A micafungina mostrou não ser inferior quer à anfotericina B quer a caspofungina em pacientes adultos com CI [116, 117]. Esta, também avaliada em doentes pediátricos, revelou

um perfil de segurança consistente com o das equinocandinas, mostrando-se significativamente menos frequente neste sub-grupo a interrupção medicamentosa devido a efeitos adversos [118]. A dose actualmente recomendada, com base em estudos de farmacodinâmica e farmacocinética deste fármaco em crianças, é de 10 mg/kg/dia em recém-nascidos e de 1 a 4 mg/kg/dia em crianças de idade mais avançada (31 dias aos 17 anos) [93].

A anidulafungina mostrou superior actividade quando comparada com fluconazol em pacientes com idade igual ou superior a 16 anos com CI [119]. Esta superioridade foi particularmente pronunciada em pacientes com infecções por *C. albicans*. A dose recomendada desta substância para administração na população pediátrica é de 1,5 mg/kg/dia, encontrando-se ainda por determinar a dosagem óptima em recém-nascidos, sendo estes os que apresentam maior risco de meningoencefalite por *Candida* [93].

Num recente estudo prospectivo multicêntrico em pacientes pediátricos, as equinocandinas apresentaram ampla actividade antifúngica, excepto em espécies intrinsecamente resistentes (*Trichosporon asahii* e *Rhodotorula glutinis*). Neste verificou-se a resistência de apenas um isolado de *C. parapsilosis* e um de *C. tropicalis* a micafungina e/ou anidulafungina [110].

A escolha do antifúngico apropriado deve ter em consideração a exposição prévia do doente a antifúngicos, as espécies identificadas e o estudo *in vitro* da sua resistência à terapêutica, condição hemodinâmica e funcional do paciente, toma concomitante de medicação nefrotóxica e hepatotóxica, bem como a interacções medicamentosas [113, 120].

A administração de profilaxia foi já extensivamente referida aquando da apresentação da AI em pacientes com DCG, sendo semelhante [27, 76-78].

#### 5.4 – Outros agentes de Doença Fúngica Invasiva

A AI tem sido a maior causa de morbidade e mortalidade em pacientes com DCG, contudo o advento de novos azóis mudou dramaticamente o tratamento e resolução destas infecções, tendo alterado o espectro das infecções fúngicas sem possibilidade de tratamento para espécies *Aspergillus* não-*fumigatus*, fungos demaciáceos e hialohifomicoses como as causadas por *Paecilomyces* sp. [80]. Novos agentes têm sido identificados como resultado de um aumento qualitativo das técnicas de cultura e de identificação microbiológicas. O uso de sequenciação genómica e o aumento do número de sequências disponíveis em bases de dados têm permitido identificar agentes fúngicos emergentes em pacientes com DCG, bem como classificar na categoria taxonómica correcta, agentes patogénicos anteriormente mal identificados.

Estudos demonstraram que fungos que não *Candida* ou *Aspergillus* também são causadores de doença. Nos EUA [25] *Paecilomyces* sp. foi identificado como agente de osteomielite, tendo sido a 3ª causa mais frequente. Este foi também agente de pelo menos um episódio de pneumonia, um de abscesso pulmonar e um de abscesso cutâneo. Outros agentes observaram-se raramente implicados na origem de doença, de que são exemplo *Fusarium* sp. e *Exophyala* sp. (pneumonia e abscesso cutâneo), *Rhizopus* sp. (pneumonia), *Zygomycetes* e *Coccidioides* (abscesso pulmonar), *Microascus* sp. e *Penicillium* sp. (abscesso cutâneo, sendo o segundo motivador de fungémia), e *Coccidioides* (abscesso hepático). A mortalidade deveu-se raramente a eventos provocados por *Zygomycetes* (mucormicoses – envolvimento pulmonar e osteomielite), por *H. capsulatum* (histoplasmose disseminada) e por *Phialophora parasítica* ou por *Penicillium* sp. (pneumonia).

No estudo multicêntrico europeu [26] raros agentes fúngicos com envolvimento pulmonar, que não *Candida* ou *Aspergillus*, foram isolados, sendo exemplo *Acremonium* sp., *Cephalosporium* sp., *Scedosporium* sp., *Paecilomyces* sp. e *Phialophora richardsiae*, esta última causadora também de linfadenite.

Um estudo multicêntrico francês [36] distinguiu a frequência de ocorrências provocadas por bolores e leveduras, tendo sido os mais frequentes já apresentados. Entre aqueles que registaram uma frequência mais baixa encontram-se bolores como *Cephalosporum* sp., *Chaetomium strumarium*, *Phialophora richardsiae* e *Scedosporium apiospermum*, e leveduras como *Arthrographis kalrae* e *Trichosporon* sp.

Muitos casos clínicos têm mostrado infecções provocadas por fungos, implicando com maior frequência *Paecilomyces* sp. [121-125], *Scedosporium* [126-130] e *Trichosporon* sp. [131-135], e sendo mais rara a comunicação de casos onde se encontram implicadas espécies de *Acremonium* [136], *Exophiala* [137], *Microascus* [138], *Inonotus* [139, 140], *Chrysosporidium* [141], *Cladophialophora arxii* [142], *Alternaria infectoria* [143], *Pneumocystis jiroveci* [144], *Rhizopus* [44, 145, 146], *Penicillium* [44, 147] e *Absidia corymbifera* [44].

A maioria das infecções reportadas por *Paecilomyces* em pacientes com DCG foi causada por *Paecilomyces variotii* [121, 123, 124], tendo sido apenas implicada num caso *Paecilomyces lilacinus* [125]. A infecção por *Paecilomyces* manifestou-se maioritariamente como osteomielite (casualmente multifocal), pneumonia, infecção dos tecidos moles, ou abscesso envolvendo pulmão, parede abdominal ou baço [25, 26, 45, 121-125]. Em contraste com *P. variotii* (onde são raros os casos que necessitam de intervenção cirúrgica), *P. lilacinus* é geralmente resistente à terapêutica antifúngica convencional, incluindo itraconazol e anfotericina B. Novos triazóis como voriconazol, rovuconazol e posaconazol demonstraram boa actividade *in vitro* contra *P. lilacinus* [148].

Num estudo recente, isolados desde 2000 de *P. variotii* de locais estéreis ou de infecções recorrentes em pacientes com DCG foram re-identificados como *Geosmithia argillacea*, espécie morfológicamente semelhante, facto que aumenta a possibilidade de que algumas das infecções por *Paecilomyces* em pacientes com DCG reportadas previamente possam ter sido causadas por *G. argillacea* [149]. Este agente foi encontrado em vários casos clínicos

reportados [149, 150] e é promotor de doença agressiva, envolvendo invasão através de planos anatómicos, particularmente dos pulmões para a parede torácica adjacente, e disseminação metastática, nomeadamente para o cérebro. *G. argillacea* verificou-se resistente à maioria dos antifúngicos orais, como itraconazol, voriconazol e posaconazol. A susceptibilidade *in vitro* às equinocandinas, como micafungina e caspofungina, também se verificou limitada. Estudos adicionais são necessários, correlacionando o “outcome” clínico com os dados acerca da sua susceptibilidade. Quando *P. variotii* for identificado fenotipicamente, a abordagem molecular, através de sequenciação nucleotídica, deve ser usada para excluir *G. argillacea*, já que este agente revela um comportamento agressivo refractário ao tratamento médico, devendo nesse caso ser instituída uma estratégia terapêutica apropriada e intensiva considerando intervenção cirúrgica precoce para lesões ressecáveis [149, 150].

Em pacientes com DCG, a maioria das infecções provocadas por *Scedosporidium* têm sido causadas por *S. apiospermum*, a forma anamórfica de *Pseudallescheria boydii* [127-130]. Os locais mais comuns de infecção envolvem o pulmão e tecidos moles, com extensão pouco frequente para o osso. A doença pulmonar manifesta-se pela formação de abscessos ou infiltrados pulmonares e, na apresentação clínica, pode assemelhar-se a AI, observando-se hemoptises, tosse, taquipneia e febre. A disseminação do pulmão para locais distantes (como o couro cabeludo) também foi reportada [129]. A resistência à anfotericina B é comum na espécie *S. apiospermum*, contudo este verifica-se susceptível aos novos triazóis (voriconazol, posaconazol e ravuconazol) [127, 128, 151, 152]. Note-se que não se conhece a existência de ensaios clínicos com ravuconazol em crianças [93].

Um caso de abscesso cerebral por *Scedosporium prolificans* foi recentemente publicado [126]. Esta espécie é geralmente resistente à maioria dos antifúngicos, incluindo os novos triazóis [152].

A maioria das infecções com isolamento do microrganismo causadas por leveduras de *Trichosporon* sp. em pacientes com DCG é provocada por *Trichosporon inkin* [131, 133, 134]. *Trichosporon pullulans* foi também isolado em três pacientes dos quais um se encontrava a seguir terapêutica imunossupressora para colite [132, 135]. Infecções causadas por *T. inkin* manifestaram-se como pneumonia e, num caso, como abscesso pulmonar penetrante na parede torácica.

Infecções provocadas por *T. pullulans* também se apresentaram como pneumonia (nomeadamente pneumonia nodular intersticial) com possível disseminação hematogénea para múltiplos locais. Num dos casos verificou-se a presença de onicomiose subungueal lateral, onde intervenção cirúrgica, anfotericina B lipossómica, voriconazol e caspofungina permitiram o completo restabelecimento do paciente [135].

O tratamento de infecções por *T. inkin* em pacientes com DCG apenas recorrendo a terapêutica farmacológica foi ineficaz e a intervenção cirúrgica foi determinante para a resolução da infecção [131, 133, 134]. De forma semelhante, num dos casos de pneumonia por *T. pullulans*, também não houve resposta à combinação de voriconazol, anfotericina B e caspofungina, progredindo para insuficiência respiratória e choque séptico [132]. As leveduras do género *Trichosporon* sp. são geralmente resistentes à anfotericina B [153].

A espécie, apresentação clínica, tratamento e “outcome” de outros agentes que não foram aprofundados dado se verificarem menos frequentes, encontram-se sumariados na tabela que se segue (tabela 6).

**Tabela 6 Infecções causadas por agentes fúngicos reportadas em casos clínicos**

Espécie Fúngica	Apresentação Clínica/Quadro	Tratamento administrado	“Outcome” favorável	Referências
<i>Inonotus (Phellinus) tropicalis</i> <sup>1</sup>	osteomielite, abscesso/infecção de tecidos moles	anfotericina B lipossômica, caspofungina, voriconazol; drenagem cirúrgica	Sim, em ambos os casos	[139] [140]
<i>Acremonium strictum</i>	pneumonia	anfotericina B, ketoconazol	Sim	[136]
<i>Exophiala dermatidis</i>	infecção do SNC e pulmonar	anfotericina B, ketoconazol, fluconazol; cirurgia; transfusão de granulócitos	Sim	[137]
<i>Microascus cinereus</i>	lesões cutâneas	anfotericina B	Sim	[138]
<i>Chrysosporium zonatum</i>	pneumonia, pleurite, pericardite, osteomielite	anfotericina B, itraconazol	Sim	[141]
<i>Cladophialophora arxii</i>	osteomielite	cirurgia de desbridamento; itraconazol; IFN- $\gamma$	Sim	[142]
<i>Pneumocystis jiroveci</i>	pneumonia	transfusão de granulócitos	Sim	[144]
<i>Penicillium piceum</i>	osteomielite e nódulos pulmonares	voriconazol; cirurgia	Sim	[147]
<i>Rhizopus oryzae</i>	abscesso cutâneo	anfotericina B lipossômica, posaconazol	Sim	[145]
<i>Rhizopus microsporus</i>	abscesso intestinal	resseção cirúrgica; anfotericina B desoxicolato; IFN- $\gamma$	Sim	[146]
<i>Rhizopus sp./ A. fumigatus</i>		voriconazol, caspofungina; corticosteroide	Sim	
<i>A. fumigatus/ A. niger/ Rhizopus sp./ Penicillium sp./ Streptomyces thermoviolaceus</i>		anfotericina B lipossômica; corticosteroide	Não	
<i>A. niger/ A. fumigatus/ Penicillium sp.</i>	“fulminant mulch pneumonitis” <sup>2</sup>	anfotericina B desoxicolato; corticosteroide	Sim	[44]
<i>A. niger/ Rhizopus sp./ Streptomyces sp.</i>		anfotericina B desoxicolato; corticosteroide	Sim	
<i>A. fumigatus / Rhizopus sp./ Streptomyces sp.</i>		anfotericina B desoxicolato; corticosteroide	Não	
<i>Absidia corymbifera/ A. fumigatus</i>		voriconazol, caspofungina; IFN- $\gamma$	Não	

<sup>1</sup>Estudos mostraram que *I. tropicalis* é susceptível a anfotericina B, itraconazol, voriconazol e posaconazol, apresentando alguma resistência à caspofungina [140].

<sup>2</sup>“Fulminant mulch pneumonitis”, pneumonia fúngica aguda (de progressão clínica e radiológica rápida) por exposição a matéria orgânica aerossolizada; radiografia com infiltrado difuso bilateral; o uso de corticosteróides como terapêutica deve ser tido em consideração devido ao alto grau de inflamação [44].

### **III – Imunodeficiência Combinada Grave**

---

As imunodeficiências combinadas compreendem um grupo heterogéneo de doenças com prejuízo do desenvolvimento e/ou função dos linfócitos T, associado a uma resposta por anticorpos deficiente. Esta última resulta de defeitos intrínsecos nos linfócitos B ou de actividade inadequada das células T “helper”. As formas mais severas (imunodeficiência combinada grave, “severe combined immunodeficiency” – SCID) caracterizam-se por ausência de função das células T periféricas. Noutras formas de imunodeficiência combinada estas células encontram-se presentes em número e/ou função residuais [6].

A SCID é uma doença hereditária, cuja ausência ou disfunção dos linfócitos T afecta a resposta imunitária adaptativa, celular e humoral. Dependendo do defeito genético, linfócitos B e células NK (“Natural Killer”) podem estar presentes ou ausentes.

Convencionalmente, SCID classifica-se como  $T^- B^-$  ou  $T^- B^+$ , com posterior subdivisão baseada na presença ou ausência de células NK. No entanto, a apresentação nem sempre é clássica e a presença ou ausência de células NK pode induzir em erro. Além do mais, um fenótipo descrito pelas células NK deixou de ser parte integrante do sistema de classificação da “International Union of Immunological Societies” [154] (Tabela 5). Tornou-se assim claro que a apresentação clínica detém uma extensa variabilidade fenotípica, de variação imunológica considerável, o que pode dificultar o diagnóstico.

Independentemente do fenótipo imunológico clássico ( $T^- B^-$  ou  $T^- B^+$ ), os pacientes com SCID apresentam maioritariamente características clínicas semelhantes, incluindo o despoletar precoce de infecções severas do tracto respiratório, a diarreia crónica e a má progressão ponderal [6]. Crianças afectadas apresentam linfopenia e são particularmente vulneráveis a graves infecções causadas por vírus, bactérias, micobactérias e *P. jiroveci* [7]. Assim a SCID, uma das formas mais severas de IDP, constitui uma emergência pediátrica, colocando em risco de vida a criança cuja doença tenha sido identificada tardiamente [155].



A SCID regista uma prevalência de aproximadamente 1/50 000 nados vivos, verificando-se maior frequência nas crianças do sexo masculino, o que reflecte a presença da forma de SCID ligada ao cromossoma X (XL-SCID), a mais comum de entre todas as SCID [6]. 7 % dos pacientes com IDP sofre de uma deficiência de células T, onde se incluem as SCID [156].

Tabela 7 Imunodeficiência Combinada

Doença	Células T em circulação	Células B em circulação	Hereditariedade	Defeito molecular/ presumida patogénese
<b>T<sup>-</sup>B<sup>+</sup> SCID*</b>				
Def. $\gamma$ c	↓↓↓	N ou ↑↑	XL	Defeito na cadeia $\gamma$ dos receptores de IL-2, IL-4, IL-7, IL-9, IL-15, IL-21
Def. JAK 3	↓↓↓	N ou ↑↑	AR	Defeito da cinase 3 Janus associada
Def. IL-7R $\alpha$	↓↓↓	N ou ↑↑	AR	Defeito da cadeia $\alpha$ do receptor IL-7
Def. CD45	↓↓↓	N	AR	Defeito CD45
Def. CD3 $\delta$ /CD3 $\epsilon$ /CD3 $\zeta$	↓↓↓	N	AR	Defeito nas cadeias CD3 $\delta$ /CD3 $\epsilon$ /CD3 $\zeta$ do complexo antigénico do receptor da cél. T
Def. Coronine-1 <sup>a</sup>	↓↓↓	N	AR	Defeito na saída do timo pela cél. T e na sua locomoção
<b>T<sup>-</sup>B<sup>-</sup> SCID*</b>				
Def. RAG 1/2	↓↓↓	↓↓↓	AR	Defeito do gene activador da recombinase (RAG)
Def. Artemis (DCLRE1C)	↓↓↓	↓↓↓	AR	Defeito da proteína de reparação Artemis (DNA recombinase)
Def. DNA PKcs	↓↓↓	↓↓↓	AR	Defeito na proteína de reparação DNAPks recombinase
Def. ADA	Ausente desde o nascimento/ ↓↓ progressiva	Ausente desde o nascimento/ ↓↓ progressiva	AR	Ausência de ADA, elevada concentração de metabolitos linfotóxicos (dATP, S-adenosile homocisteína)
Disgenesia Reticular	↓↓↓	N ou ↓↓	AR	Maturação deficiente de cél. T, B e mielóides (defeito células hematopoiéticas); Defeito adenilato cinase 2 mitocondrial
<b>Síndrome Omenn**</b>	Presente; heterogeneidade restrita	N ou ↓↓	AR (na maioria dos casos)	Mutações hipomórficas em RAG1/2, Artemis, IL-7R $\alpha$ , RMRP, ADA, DNA ligase IV, $\gamma$ c
<b>Def. DNA ligase VI</b>	↓↓	↓↓	AR	Defeito DNA ligase IV, debilitando a via NHEJ
<b>Def. Cernunnos</b>	↓↓	↓↓	AR	Defeito Cernunnos, diminuindo a eficiência NHEJ
<b>Def. Ligando de CD40</b>	N	Presença de cel. B IgM+ e IgD+, outros isotipos ausentes	XL	Defeito do ligando de CD40 impede a produção de outras imunoglobulinas após activação das cél B por antigénios, e prejudica a sinalização das células dendríticas
<b>Def. CD40</b>	N	Presença de cel. B IgM+ e IgD+, outros isotipos ausentes	AR	Defeito do ligando de CD40 impede a produção de outras imunoglobulinas após activação das cél B por antigénios, e prejudica a sinalização das células dendríticas

Doença Fúngica Invasiva na Imunodeficiência Primária

<b>Def. fosforilação dos nucleósidos de purinas (PNP)</b>	↓↓ progressiva	N	AR	Ausência da PNP, defeitos cel. T e neurológicos por elevada concentração de metabolitos tóxicos (ex dGTP)
<b>Def. CD3<math>\gamma</math></b>	N, mas expressão reduzida de TCR	N	AR	Defeito CD3 $\gamma$
<b>Def. CD8</b>	Ausência de células CD8/ N CD4	N	AR	Defeito cadeia $\alpha$ de CD8
<b>Def. ZAP-70</b>	↓↓ células CD8/ N CD4	N	AR	Defeito na sinalização da tirosinocinase ZAP-70
<b>Def. canal de Ca<sup>2+</sup></b>	Contagens N, activação mediada por TCR deficiente	Contagens N	AR	Defeito num componente do canal de Ca <sup>2+</sup> , Orai-1 Defeito Stim-I, um sensor de Ca <sup>2+</sup>
<b>Def. MHC classe I</b>	↓↓ células CD8/ N CD4	N	AR	Mutação nos genes TAP1, TAP2 ou TAPBP
<b>Def. MHC classe II</b>	Número N, ↓↓ células CD4	N	AR	Mutação genes codificadores dos factores de transcrição para as proteínas do MHC classe II (genes C2TA, RFX5, RFXAP, RFXANK)
<b>Def. “Winged helix” (Síndrome Nua)</b>	↓↓↓	N	AR	Defeito no factor de transcrição “forkhead box N1” codificado pelo gene FOXN1
<b>Def. CD25</b>	N ou ↓	N	AR	Defeito na cadeia $\alpha$ do IL-2R
<b>Def. STAT5b</b>	↓	N	AR	Defeito de STAT5b prejudica o desenvolvimento e função de cél. T $\gamma\delta$ , T reguladoras e NK, enfraquecendo a proliferação cél. T
<b>Def. Itk</b>	↓	N	AR	Linfoproliferação associada a EBV
<b>Def. DOCK8</b>	↓↓	↓↓	AR	Defeito na DOCK8

ADA, Adenossinadesaminase; AR, hereditariedade autossómica recessiva; ATP, trifosfato de adenosina; C2TA, transactivador classe II; DCLRE1C, “DNA cross-link repair protein 1C”; DNA-Pkcs, “DNA-activated protein kinase catalytic subunit”; DOCK8, “dedicator of cytokinesis 8”; EBV, vírus Epstein-Barr; FOXN1, “forkhead box N1”; GTP, trifosfato de guanosina; IL, interleucina; NHEJ, “nonhomologous end-join”; RFX, “regulatory factor X”; RMRP, “RNA component of mitochondrial RNA processing endonuclease”; NK, “natural killer”; STAT, “signal transducer and activator of transcription”; STIM-1, “Stromal Interaction Molecule 1”; TAP, “transporter associated with antigen processing”; TCR, receptor de cél. T; XL, hereditariedade ligada ao X; ZAP-70, “Z-associated protein of 70 kD”

\*casos atípicos de SCID podem apresentar-se com cél. T devido a mutações hipomórficas ou somáticas nos precursores de destas;

\*\*alguns casos de Síndrome de Omenn continuam por definir geneticamente

↓↓↓, diminuição marcada; ↓↓, diminuição; ↓, diminuição ligeira; ↑↑, aumentada

Adaptado de [154]

## **1 – Manifestações Clínicas**

A apresentação clínica é diversa, podendo observar-se uma forma clássica, ou típica, uma forma atípica (ou atenuada) e ainda uma forma caracterizada pelo Síndrome de Omenn.

### **1.1 – SCID – Forma Clássica**

A forma clássica de SCID deve ser suspeitada aquando da presença de uma história familiar de complicações infecciosas incomuns ou fatais, ou morte infantil inexplicada (particularmente em famílias consanguíneas). Uma história de familiares do sexo masculino afectados sugere SCID por deficiência da cadeia  $\gamma$  do receptor de interleucina-2.

Crianças afectadas geralmente apresentam-se saudáveis ao nascimento, no entanto, no decorrer dos primeiros meses de vida, demonstram dificuldade na cura de infecções intercorrentes e infecções persistentes do aparelho respiratório e gastrointestinal, apresentam má progressão ponderal e, por vezes, intolerância alimentar [155].

Na tabela 8 encontram-se sumariadas as características clínicas e laboratoriais desta forma clínica de SCID.

O exame físico revela uma criança débil com acentuada queda do percentil de peso, contudo o perímetro cefálico encontra-se preservado. Distensão abdominal e perda da massa muscular devido a malabsorção e malnutrição são também característicos. Sinais de dificuldade respiratória encontram-se presentes, podendo incluir taquipneia, adejo nasal, tiragem subcostal e intercostal, com crepitações e ralas difusas, e cianose. Candidíase oral ou perineal e outras infecções superficiais são frequentes [155]. Apresentações raras incluem doença linfoproliferativa polimórfica Hodgkin-“like”, com rápido crescimento de tumorações extranodais [157]. Eritrofagocitose foi descrita em associação com enxerto de linfócitos T maternos [155].

**Tabela 8 SCID – forma clássica**

<b>Características clínicas e laboratoriais</b>
Presente na Infância (< 12 meses de idade)
História familiar suspeita
Persistência de infecção respiratória viral +/- infecção gastrointestinal
Pneumonite por <i>P. jiroveci</i> <sup>1</sup>
Má progressão ponderal <sup>2</sup>
Septicémia e pneumonia por <i>Staphylococcus</i> e <i>Pseudomonas</i> / otite média prolongada <sup>3</sup>
Candidíase superficial (frequente) e doenças fúngicas invasivas (raras, maioria fatais)
Infecção disseminada por BCG <sup>4</sup>
Doença maternofetal do enxerto-contra-hospedeiro <sup>5</sup>
<b>X</b> tecido linfóide
<b>X</b> imunoglobulinas
<b>X</b> linfócitos T

<sup>1</sup> Pode acompanhar vírus respiratórios; a ausência de sombra tímica é uma importante característica no reconhecimento de SCID em crianças, por oposição a crianças imunocompetentes ou com outras imunodeficiências com uma infecção pulmonar aguda é a [158].

<sup>2</sup> Sucede devido a infecções que promovem a atrofia das vilosidades intestinais, levando a malabsorção, que em casos mais severos conduz a desnutrição;

<sup>3</sup> Manifestações menos comuns devido à presença de IgG materna, apesar de onfalite e sépsis bacteriana se verificarem nos primeiros dias de vida na disgenesia reticular (associada a agranulocitose);

<sup>4</sup> Em crianças vacinadas, podendo existir hepatosplenomegália;

<sup>5</sup> Manifesta-se por eritrodermia, causada pela infiltração cutânea de clones de linfócitos T maternos anormais. Como os recém-nascidos têm deficiência de células T funcionais, estes não podem rejeitar os linfócitos externos adquiridos da mãe *in útero* pelo feto [159]

**X** = inexistência

Adaptado de [155]

## 1.2 – SCID – Síndrome de Omenn

Originalmente descrito em pacientes com mutações de genes ativadores da recombinase (RAG) 1 e 2, foi subsequentemente descrito em mutações de diferentes genes, incluindo artemis, IL7Ra, RMRP, deleção 22q11, CHD7, DNA ligase IV (LIG4), adenosinadesaminase (ADA) e cadeia  $\gamma$  do receptor de interleucina-2 (IL2RG) [160].

As crianças afectadas apresentam-se com extensa descamação e eritrodermia devido a níveis elevados de citocinas pró-inflamatórias em circulação. Este síndrome apresenta um quadro clinicamente semelhante ao da doença do enxerto-contra-hospedeiro maternofetal. A tabela 9 pretende apontar as principais características clínicas e laboratoriais deste síndrome.

**Tabela 9 SCID – Síndrome de Omenn**

<b>Características clínicas e laboratoriais</b>	
Presente na Infância (< 12 meses de idade)	
Eritrodermia e descamação abundante	
Alopécia	
Hepatosplenomegália	
Linfadenopatia, particularmente axilar e inguinal	
Pneumonite/enterite inflamatória	
Infecções cutâneas por <i>Staphylococcus</i> e <i>Pseudomonas</i> (freq.)	
Diarreia	} características de outras formas de SCID
Má progressão ponderal	
Infecções persistentes	
Aumento de IgE	
Eosinofilia	
Linfocitose	

Freq., frequente; IgE, imunoglobulina E.

Adaptado de [155]

### 1.3 – SCID – Forma Atípica

A forma atípica ou atenuada de SCID, anteriormente descrita como uma imunodeficiência combinada profunda, caracteriza-se por uma sobrevivência superior a 12 meses de idade. Nesta, mutações hipomórficas (em genes previamente associados a SCID clássica que ainda permitem alguma função proteica) têm sido identificadas com cada vez maior frequência. Assim, verifica-se da maior relevância considerar formas atípicas de SCID em crianças que apresentam sobrevivência além do primeiro ano, para que seja instituído o tratamento antimicrobiano e/ou antifúngico, devendo, para além disso, ser avaliada qual a terapêutica curativa a aplicar para a SCID presente [155]. A tabela 10 apresenta sinteticamente as características clínicas e laboratoriais desta forma.

**Tabela 10 SCID – Forma atípica**

<b>Características clínicas e laboratoriais</b>
Presente na Infância (> 12 meses de idade)
Infecções virais recorrentes, severas e prolongadas
Bronquiectasias
Citopenias autoimunes
Má progressão ponderal
Lesões cutâneas granulomatosas
Proliferação linfocitária associada a EBV
Resposta parcial de anticorpos a antígenos específicos
Linfocitopenia
EBV, vírus Epstein-Barr

Adaptado de [155]

#### 1.4 – SCID – Outras formas

Em adição às SCIDs causadas por defeitos de desenvolvimento, estas também podem ser causadas por mutações que afectam a sobrevivência dos linfócitos, como constatado em doentes com disgenesia reticular devido a mutação na adenilato cinase 2 e nas deficiências enzimáticas de ADA e PNP (fosforilase do nucleósidos de purinas) que envolvem o metabolismo e a via de recuperação de nucleótidos [161, 162]. Como resultado da deficiência, são formados metabolitos tóxicos, aos quais os linfócitos são extraordinariamente susceptíveis. Consequentemente, deficiências de ADA e PNP geralmente conduzem a profunda linfopenia. Por fim, outras deficiências têm sido descritas, apresentando o fenótipo clínico de SCID, no entanto apenas afectam um subgrupo de células T, de que são exemplo: deficiência do MHC classe II, deficiência da tirosinacina ZAP 70. As deficiências do ligando de CD40 e de CD40 podem apresentar pneumonia por *P. jiroveci* na infância [155].

## 2 – Diagnóstico

O processo de diagnóstico num paciente com suspeita de SCID, ou seja, com a apresentação clínica referida anteriormente, inicia-se pela exclusão da hipótese de infecção por VIH [163].

De seguida procede-se à realização de um esfregaço de sangue periférico que deverá demonstrar linfocitopenia, sugerindo SCID [164]. No entanto, é de notar que uma contagem de linfócitos normal não exclui SCID na medida em que o número absoluto de linfócitos pode ser normal, mas o subgrupo afectado de linfócitos pode estar reduzido ou ausente. Assim a citometria de fluxo para imunofenotipagem do subgrupo de linfócitos no sangue periférico verifica-se um importante teste de rastreio. Esta pode ser usada para definição do subtipo de SCID e guiar para diagnósticos moleculares. Na SCID clássica, os vários subtipos podem ser facilmente discriminados através da análise directa de células B, T e NK. No entanto a interpretação de resultados verifica-se mais complicada quando respeitante ao Síndrome de Omenn ou SCID atípica, onde a análise detalhada das células T se revela da maior importância na distinção de pacientes suspeitos de SCID típica ou atípica.

Nos pacientes portadores de SCID do subtipo B<sup>-</sup> a análise por citometria de fluxo na medula óssea do precursor de células B permite expressar a distinção entre SCID típica e com mutação hipomórfica, sendo por isso útil na selecção do gene candidato.

Baseado na apresentação clínica e no imunofenótipo, o gene candidato é seleccionado e, seguidamente, sequenciado para a identificação da mutação que cada criança detém [155].

### 3 – Tratamento

Crianças com suspeita de SCID devem ser colocadas sob isolamento, sendo o número de pessoas envolvidas no cuidado ao doente restrito. Para aqueles onde o diagnóstico foi tardio deve ser dada atenção particular ao estado nutricional, sendo as intolerâncias alimentares secundárias a infecção ou inflamação gastrointestinal consideradas um problema [155].

A infecção deve ser prevenida e agressivamente tratada. A profilaxia antifúngica é recomendada, administrando-se nomeadamente trimetoprim-sulfametoxazol para a profilaxia contra *P. jiroveci* [155]. Prevenção de AI e tratamento antifúngico deste e de CI foram apresentados anteriormente aquando da exposição da DFI em doentes com DCG.

A terapêutica curativa de primeira linha é efectuada através de transplante de células estaminais hematopoiéticas, onde pacientes com B<sup>-</sup> SCID apresentam piores resultados que B<sup>+</sup> SCID. Imunoglobulina a longo-prazo pode ser necessária para algumas disfunções de linfócitos B ou no caso de rejeição do aloenxerto. Para deficiência ADA, terapia de substituição enzimática é um tratamento alternativo. Terapia génica em XL-SCID não requer quimioterapia e tem levado à completa reconstituição imune, no entanto, em alguns pacientes, com desenvolvimento de doença linfoproliferativa. Ainda, terapia génica tem sido usada para as deficiências ADA e IL2RG [155].



#### 4 – Doença Fúngica Invasiva

Crianças com SCID são muito susceptíveis a infecções fúngicas, não existindo diferenças significativas entre a susceptibilidade dos vários subtipos de SCID [9].

*P. jiroveci* é o agente fúngico de infecção respiratória mais comum em doentes com SCID, encontrando-se associado frequentemente à apresentação clínica típica destes doentes [7, 10, 165-174]. Pacientes com SCID apresentam elevada susceptibilidade à infecção por este agente [9] e infecções persistentes do mesmo podem conduzir a morte [167, 169, 170, 172].

*Pneumocystis* caracteriza-se frequentemente por infiltrados pulmonares intersticiais bilaterais difusos aquando da observação radiológica [158, 175], verificando-se útil a TC no caso de doença ligeira. O diagnóstico estabelece-se através de exame directo ou PCR de secreções respiratórias [175]. Este agente é raramente detectado em secreções nasofaríngeas e, apesar de ser frequentemente encontrado no fluido do lavado broncoalveolar, pode por vezes ser apenas detectado através de biópsia pulmonar [168]. A diminuição de incidência de infecções por *Pneumocystis* tem vindo a verificar-se com a introdução de terapêutica profilática em doentes de alto risco como os pacientes com SCID. Na sua ausência, *P. jiroveci* constitui uma ameaça *major* nestes doentes. A profilaxia de referência é efectuada com trimetoprim-sulfametoxazol [155, 169, 175], conferindo protecção não só contra a actividade de *Pneumocystis* bem como contra infecções por agentes bacterianos. Contudo, esta medida profilática não elimina totalmente o risco de pneumonia por este agente [175]. Trimetoprim-sulfametoxazol é também o fármaco de eleição na terapêutica inicial na maioria dos pacientes, sendo administrado por via endovenosa (com posterior administração por via oral no caso de doença ligeira a moderada, sem malabsorção ou diarreia, após episódio agudo de pneumonite resolvido) [175]. Pentamidina por via endovenosa, apesar da elevada toxicidade, revela-se uma opção alternativa em pacientes intolerantes ao medicamento de primeira linha ou no caso de falência terapêutica com o referido medicamento [175, 176].

O papel dos corticosteróides como adjuvantes da terapêutica de base aquando da pneumonia por *Pneumocystis* encontra-se ainda pouco claro dado diferentes estudos efectuados revelarem resultados contraditórios [175]. *P. jiroveci* pode ser encontrado em infecções mistas, em que o outro microrganismo pode ser bactéria [169], micobactéria [177, 178] e vírus respiratório [168]. A apresentação deste último microrganismo é por vezes indistinguível de pneumonia por *Pneumocystis* ou de outras infecções oportunistas [158].

Outros agentes fúngicos têm também sido encontrados em doentes com SCID, incluindo, principalmente, *Candida* sp. [6, 10, 155, 166, 167, 169, 170, 172-174, 179, 180], mas também *Aspergillus* sp. [39, 70, 181-183] e outros agentes patogénicos mais raros como *Acremonium* sp. [184], *Pichia* sp. [185] e *Tricophyton* sp. [186].

A infecção por *Candida* entre pacientes com SCID pode ser a primeira manifestação de imunodeficiência [155, 170], esta é causada principalmente por *C. albicans*, podendo revelar-se fatal [172]. Contudo outras espécies como *C. parapsilosis* foram reportadas [170].

A candidíase é frequentemente encontrada em doentes com SCID, sendo a colonização da pele, orofaringe e tracto gastrointestinal comuns. Candidíase invasiva verifica-se pouco frequente, sendo contudo observada, pelo que biópsia do tecido envolvido deve ser efectuada e processada para fungos [168]. A infecção por *C. albicans* manifesta-se em alguns casos como aftose oral persistente ou recorrente [166-168, 173, 178] – podendo efectivamente ser o sintoma inaugural de SCID (6-50,170) –, pneumonia [169], candidíase gastrointestinal [168] – nomeadamente esofágica [170] – ou meningite [179]. Esta última decorre de disseminação por via hematogénea com sede em sítios distantes, como orofaringe ou tracto gastrointestinal, ou mesmo por cateter intravenoso contaminado. Candidíase renal e biliar são raras, sendo apenas observadas ocasionalmente [168].

A aspergilose pulmonar, por *A. fumigatus*, entre outras espécies, foi descrita em estudos efectuados envolvendo crianças com SCID [39, 169, 170, 181], tendo sido reportados casos fatais [170]. Esta patologia pulmonar foi diagnosticada em duas crianças com SCID ligada ao

cromossoma X que responderam a tratamento antifúngico seguido de transplante de células estaminais hematopoiéticas [182, 183]. Num destes dois casos, o diagnóstico foi sugerido por níveis aumentados de (1,3)- $\beta$ -D glucano no soro e antígeno galactomanano no fluido do lavado broncoalveolar [183]. Tal como referido anteriormente, outros órgãos podem ser acometidos por *Aspergillus*, como o cérebro, com formação de abscesso, descrito numa criança do sexo masculino de 17 meses de idade [70]. Infecções fúngicas invasivas por outros fungos filamentosos são relativamente pouco frequentes [43].

A vacinação de imunocomprometidos, como os doentes com SCID, susceptíveis a doença oportunista como AI, tem despertado o interesse da comunidade científica. Estudos já realizados demonstraram a capacidade de desenvolvimento de vacinas através de diversos meios contra a infecção por *Aspergillus* e *Candida*. Recentemente, estudos com *Saccharomyces* aumentaram a possibilidade do desenvolvimento de uma vacina panfúngica dado que esta vacina subcutânea parece ser eficaz contra *Aspergillus*, *Coccidioides* ou *Candida* [187].

Enquanto crianças com SCID apresentam frequentemente infecções nosocomiais, infecções por fungos dermatófitos são pouco frequentes. Um caso clínico publicado recentemente reportou a presença de dermatite extensa à qual se encontrava associada dificuldade respiratória severa. A cultura do fungo revelou a presença de *Trichophyton mentagrophytes*, um dermatófito, cuja infecção resolveu com terapia sistémica com griseoflúvina e outras medidas de cuidados intensivos [186]. A infecção, localizada no tracto gastrointestinal, causada por *Acremonium falciforme* numa doente com 1 ano de idade com SCID respondeu ao tratamento com anfotericina B, itraconazole e transfusão de granulócitos [184].

A levedura *Pichia anomala* foi associada a fungémia num doente de 11 meses de idade com SCID, resolvendo através do tratamento com anfotericina B [185].

## IV – Casos Clínicos

---

### Caso Clínico 1

Uma criança do sexo masculino, de 5 anos de idade, com Doença Crónica Granulomatosa, foi admitida no hospital por episódio de convulsão focal de curta duração, envolvendo o membro superior direito. A criança apresentava sinusite. Foi realizada tomografia computadorizada que revelou a presença de um abscesso cerebral no córtex parietal esquerdo, estando presente edema vasogénico, tendo sido também confirmada a sinusite. Anteriormente, a criança havia sido tratada com sucesso por aspergilose pulmonar, permanecendo sob profilaxia diária com trimetoprim / sulfametoxazol e itraconazol. Após o episódio convulsivo, o exame clínico foi normal, observando-se no entanto linfadenopatia axilar esquerda. Iniciou-se terapêutica com anfotericina B lipossomal, interferão gama, metilprednisolona e antibióticos (vancomicina e ceftazidima). A análise microbiológica (hemocultura, cultura de líquido cefalorraquideo e serologia de aspergilose no sangue – teste de precipitina) foi negativa. No 3º dia de internamento, o diagnóstico foi confirmado por ressonância magnética. Um mês depois, realizou-se a aspiração do material purulento do abscesso cerebral, cuja cultura revelou um fungo escuro pigmentado, apresentando somente hifas estéreis o que permitiu excluir recorrência de aspergilose invasiva. Consequentemente, anfotericina B e antibióticos foram substituídos por voriconazol e caspofungina, tendo o doente melhorado. No entanto, a sua condição deteriorou-se após 117 dias de voriconazol e 97 dias de caspofungina. Foi diagnosticada hidrocefalia, tendo sido colocado um reservatório ventricular para drenagem de líquido a fim de diminuir a pressão intracraniana. Iniciou-se terapêutica com caspofungina intratecal. No entanto, a criança ficou gravemente doente e morreu após 144 dias de voriconazol, 124 dias de caspofungina, 60 dias de IFN- $\gamma$  e 12 dias de caspofungina intratecal. O fungo foi identificado como *Alternaria infectoria* [143].

## Caso Clínico 2

Uma criança do sexo masculino actualmente com 13 anos de idade, portadora de Doença Crónica Granulomatosa ligada ao cromossoma X, foi submetida a transplante alogénico de medula óssea a 30 de Julho de 2010, tendo desenvolvido posteriormente doença do enxerto-contra-hospedeiro (32º dia após transplante). Em Janeiro de 2011, a criança iniciou um quadro febril, tendo sido registada elevação da proteína C reactiva, pelo que terapêutica com teicoplanina e meropenem foi iniciada, contudo o resultado de hemocultura realizada foi negativo. Radiografia torácica efectuada mostrou consolidação no lobo superior direito pulmonar. A tomografia computadorizada confirmou a presença de uma massa lobulada necrótica com realce da parede com cerca de 3 cm de diâmetro na região referenciada pela radiografia, com engurgitamento linfático circundante. Verificou-se ainda a presença de nódulos de pequenas dimensões nesta região, bem como no lobo médio direito e inferior esquerdo. Verificaram-se nódulos mediastínicos aumentados, particularmente no mediastino anterior, alguns deles calcificados. Nódulos axilares esquerdos calcificados eram sugestivos de tuberculose pulmonar anterior. Visualizou-se ainda no baço uma pequena lesão hipodensa medindo 9 mm de diâmetro. Iniciou-se tratamento antifúngico, aumentando a dose de anfotericina B lipossómica de 1mg/kg para 3mg/kg e introduzindo caspofungina. A terapêutica de tuberculose foi reiniciada, tendo incluído a moxifloxacina, etambutol e rifampicina. A 24 de Janeiro o menino foi submetido a toracotomia lateral direita, tendo sido removida colecção necrótica e purulenta, cuja cultura foi positiva para *Scedosporium*. Este agente verificou-se sensível ao voriconazol e ao posaconazol, e resistente à anfotericina B lipossómica, à caspofungina e mais tarde à terbinafina. Por conseguinte, a terapêutica com caspofungina e anfotericina B lipossómica foi interrompida, e voriconazol endovenoso e terbinafina oral foram iniciadas. Aquando do desenvolvimento de infecção pulmonar fúngica, enquanto estava sob terapêutica com anfotericina B lipossómica 1 mg/kg, tomografia cerebral com contraste foi solicitada, tendo mostrado abscessos cerebrais no lobo parietal direito e na

região posterior do lobo frontal esquerdo. O doente também desenvolveu fotofobia e diplopia, tendo sido confirmada, por exame oftalmológico, paralisia do 4º nervo craniano. No dia 3 de Fevereiro, radiografia torácica mostrou uma nova consolidação no lobo inferior esquerdo e derrame pleural, tendo-se procedido ao desbridamento do abscesso, drenagem do derrame pleural e lavado broncoalveolar, e iniciado teicoplanina e ceftazidima. Teicoplanina foi substituída por vancomicina dado o paciente continuar febril e com elevação da proteína C reactiva. Repetiu radiografia torácica em 10 de Fevereiro, que mostrou ainda alterações no lobo inferior esquerdo, tendo sido efectuadas decorticação pulmonar e drenagem do líquido pleural. Nesta altura o valor de proteína C reactiva começou a baixar e o doente melhorou. Com a confirmação de que a infecção pulmonar foi de origem fúngica, os medicamentos para a tuberculose foram suspensos. A 18 de Março repetiu tomografia computadorizada que mostrou um lóculo de gás no ápice direito, medindo cerca de 4 cm de diâmetro, que poderia representar tanto pneumotórax ou cavitação no parênquima pulmonar. Este lóculo encontrava-se em continuidade com um ramo do brônquio lobar superior direito. Verificou-se derrame pleural residual à esquerda e derrame pericárdico de 14 mm de profundidade. Estavam presentes uma lesão hipodensa de 12 mm no baço e uma região hipodensa de 10 mm no fígado. A 8 de Abril foi repetida a radiografia torácica por queixas algicas do doente, esta revelou derrame pleural direito e uma consolidação periférica pelo que teicoplanina e meropenem foram iniciadas. Uma nova tomografia computadorizada confirmou o lóculo de gás no ápice direito que apareceu inalterado. Não se registaram alterações dos campos pulmonares ou derrame pleural. O derrame pericárdico continuava inalterado. O fígado encontrava-se homogéneo, sem lesão focal ou dilatação das vias biliares. Verificou-se lesão solitária hipodensa no baço de 18 mm. Ressonância magnética cerebral mostrou que os abscessos cerebrais no lobo parietal direito e na região posterior do lobo frontal esquerdo haviam decrescido, com resolução do edema circundante. Não se verificaram novas lesões. O tratamento antifúngico do doente foi voriconazol e terbinafina com monitorização do nível

plasmático de voriconazol. Contudo, a 11 de Abril, a criança apresentou alteração nas provas de função hepática, com elevação da alanina transaminase, aspartato transaminase e da gama glutamil transpeptidase e níveis plasmáticos de voriconazol elevados. Portanto, voriconazol foi interrompido por alguns dias até normalização da função hepática. Devido ao desenvolvimento de reacção periosteal com o tratamento prolongado, voriconazol foi alterado para Posaconazol a 20 de Junho, levando a melhoria da condição do doente. Terbinafina foi interrompida a 28 de Setembro e actualmente a criança encontra-se estável apenas sob administração de posaconazol. A criança encontra-se a ser seguida pelo Hospital Pediátrico de Coimbra, bem como pelo “Newcastle General Hospital” onde sucedeu o episódio relatado.

### Caso Clínico 3

Um lactente do sexo masculino de 3 meses foi observado no serviço de urgência por má progressão ponderal associada a recusa alimentar parcial com um mês de evolução. Ao exame objectivo apresentava-se subfebril, com cianose peribucal ligeira, gemido intermitente, SpO<sub>2</sub> superior a 95% em ar ambiente. Foi internado, com posterior agravamento do quadro clínico, com aumento da dificuldade respiratória, diarreia grave com muco, mantendo períodos de temperatura subfebril. No 3º dia de internamento foi efectuada radiografia do tórax que mostrou infiltrado pulmonar alveolar difuso, tendo os exames laboratoriais mostrado hemoglobina de 9 g/dL, leucócitos de  $7,39 \times 10^9/L$ , neutrófilos de  $5,3 \times 10^9/L$ , linfócitos de  $1,5 \times 10^9/L$ , plaquetas de  $274 \times 10^9/L$  e proteína C reactiva de 0,2 mg/dL. O doseamento de imunoglobulinas mostrou défice de IgA e de IgM e valor normal de IgG. No 7º dia de internamento verificou-se um novo agravamento do quadro clínico, com necessidade de oxigenoterapia suplementar por dificuldade respiratória moderada, vômitos, sinais de desidratação e distensão abdominal. Foi colocada a hipótese de imunodeficiência, pelo que se iniciou fluconazol, ceftriaxone e cotrimoxazol. Ao 9º dia de internamento foi necessário o início de ventilação de alta-frequência, por insuficiência respiratória grave. O estudo de populações linfocitárias revelou um défice acentuado de linfócitos T CD4, CD3, CD8, com expansão relativa de linfócitos B, sugestivo de Imunodeficiência Combinada Grave T<sup>-</sup> B<sup>+</sup>. Iniciou terapêutica com imunoglobulina G humana polivalente e procedeu-se a preparação para transplante de medula óssea. Durante o internamento isolaram-se no lavado broncoalveolar *Pneumocystis jiroveci*, citomegalovirus e *Aspergillus fumigatus*, tendo sido realizada terapêutica com metilprednisolona (14 dias), ganciclovir (21 dias), anfotericina B (10 dias), substituída por voriconazol por persistência de *A. fumigatus* no lavado broncoalveolar, completando 21 dias de cotrimoxazol e 11 dias de ceftriaxone. Manteve antibioterapia de largo espectro e profilaxia com cotrimoxazol e ganciclovir.



No 51º dia de internamento diagnosticou-se disseminação do BCG, tendo iniciado rifampicina, isoniazida e claritromicina. Faleceu ao 57º dia de internamento por paragem cardiorrespiratória. Posteriormente, estudo molecular confirmou o diagnóstico de SCID ligada ao cromossoma X com mutação do gene  $\gamma$ C [188].

## V – Conclusão

---

As infecções fúngicas são menos frequentes quando comparadas com infecções bacterianas ou víricas nos doentes com IDP. Contudo, as infecções fúngicas podem resultar em morbidade e mortalidade significativas se não diagnosticadas correctamente ou tratadas de forma deficiente. Neste contexto o conhecimento dos agentes fúngicos patogénicos mais frequentes nestes doentes, bem como a sua apresentação clínica mostram-se importantes.

Um elevado nível de suspeição diagnóstica é requerido, sendo que para o diagnóstico definitivo de DFI devem ser usados todos os estudos ao dispor (imagiológicos, micológicos, imunológicos e histológicos). Ressalva-se que espécies fúngicas pouco comuns podem ser isoladas nestes doentes associadas a infecção, não devendo ser de imediato conotadas como contaminantes.

A infecção fúngica pode ocasionalmente ser o sintoma de apresentação de uma IDP, sendo exemplo aspergilose pulmonar invasiva inexplicada numa criança sem neutropenia ou hipercortisolémia, que faz suspeitar de DCG, ou aftose oral persistente e recorrente numa criança, que pode estar associada a SCID. Assim, avaliação do sistema imunitário e da sua funcionalidade devem ser considerados.

A DCG é a imunodeficiência primária com maior incidência de infecções fúngicas. A melhoria do seu prognóstico poderá ser atribuída a maior consciencialização da doença, à habilidade de estabelecimento de um diagnóstico correcto na infância e à administração de profilaxia medicamentosa. A DFI continua um aspecto chave na história natural da DCG com um impacto *major* na sobrevivência, mesmo em pacientes adultos, que poderá ser combatido com a instituição de profilaxia com itraconazol. Também o desenvolvimento de ferramentas de diagnóstico molecular em tecidos infectados poderá aumentar a precisão e rapidez de diagnóstico, permitindo uma instituição de terapêutica precoce e direccionada para o agente causal.

Apesar do avanço na terapêutica antifúngica, DFI (nomeadamente por *Aspergillus*) continua a ser a primeira causa de morte em pacientes com DCG. Assim, apenas um persistente acompanhamento destes doentes poderá revelar se os novos avanços na terapêutica antimicrobiana permitiram um aumento da sobrevivência a longo-prazo ou se apenas adiaram o seu fatal destino por meses ou anos.

SCID é uma das mais severas formas de imunodeficiência primária cujas bases moleculares se encontram actualmente na sua maioria identificadas. Esta patologia considera-se uma emergência pediátrica, que ameaça a própria vida se reconhecida tardiamente. Assim, diagnóstico precoce e terapêutica adequada são cruciais. Medidas de suporte, como a profilaxia com cotrimoxazol (trimetoprim-sulfametoxazol) – que reduz, apesar de não eliminar o risco de pneumonia por *Pneumocystis* –, detecção de infecções por meio molecular e diminuição da toxicidade medicamentosa têm melhorado significativamente a sua sobrevida.

A escolha e a dosagem dos medicamentos antifúngicos, bem como a decisão de intervenção cirúrgica e imunoterapia adjuvante devem ser cuidadosamente ponderadas, considerando importantes condicionantes como os factores do hospedeiro e a espécie fúngica causadora da doença. Assim, conclui-se que uma crescente compreensão da interacção hospedeiro/agente patogénico permitirá o desenvolvimento de novas terapêuticas antifúngicas.

O rápido desenvolvimento de novos agentes antifúngicos aumentou o leque de opções no tratamento de DFI. Apesar de estudos de farmacocinética e farmacodinâmica existirem em adultos, extrapolação para crianças tem-se provado inadequada para muitos destes fármacos. Este facto reforça, por conseguinte, a necessidade da realização de um maior número de estudos de agentes antifúngicos na população infantil. Ainda, estudos de resistência dos agentes fúngicos à terapêutica, nomeadamente em crianças, revelam-se escassos, pelo que maior investigação científica deverá ser efectuada nesta área.

Nestes doentes imunocomprometidos de alto risco, investigação e desenvolvimento de vacinas permitirá o aumento da sua sobrevivência pelo que deverá ser encorajado e apoiado.

A baixa frequência de IDPs na população geral dificulta a condução de estudos clínicos prospectivos ou retrospectivos que possam esclarecer acerca do método de diagnóstico mais eficiente ou do tratamento mais pertinente para a DFI em doentes afectados. Assim, dada a escassez de estudos de grandes séries de doentes, casos clínicos reportados mostram-se veículos úteis de informação.

As IDPs são deficiências pouco frequentes. Contudo, nas últimas décadas assistiu-se a um manifesto aumento de estudos de IDPs, pelo que um melhor entendimento dos defeitos de base foi atingido. Este rápido impulso de estudos, conjuntamente com o crescente conhecimento dos mecanismos de imunidade na saúde e doença, permitirá o aparecimento de melhores tratamentos e consequentemente de vidas mais saudáveis para doentes com imunodeficiência.

## VI – Bibliografia

---

- [1] De Pauw B, Walsh TJ, Donnelly JP, Stevens DA, Edwards JE, Calandra T, et al. 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. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*. 2008 Jun 15;46(12):1813-21.
- [2] Lass-Florl C. Invasive fungal infections in pediatric patients: a review focusing on antifungal therapy. *Expert review of anti-infective therapy*. 2010 Feb;8(2):127-35.
- [3] Bustamante J, Boisson-Dupuis S, Jouanguy E, Picard C, Puel A, Abel L, et al. Novel primary immunodeficiencies revealed by the investigation of paediatric infectious diseases. *Current opinion in immunology*. 2008 Feb;20(1):39-48.
- [4] Fischer A. Human primary immunodeficiency diseases. *Immunity*. 2007 Dec;27(6):835-45.
- [5] Marodi L, Notarangelo LD. Immunological and genetic bases of new primary immunodeficiencies. *Nature reviews Immunology*. 2007 Nov;7(11):851-61.
- [6] Notarangelo LD. Primary immunodeficiencies. *The Journal of allergy and clinical immunology*. 2010 Feb;125(2 Suppl 2):S182-94.
- [7] Antachopoulos C, Walsh TJ, Roilides E. Fungal infections in primary immunodeficiencies. *European journal of pediatrics*. 2007 Nov;166(11):1099-117.
- [8] Samarghitean C, Ortutay C, Vihinen M. Systematic classification of primary immunodeficiencies based on clinical, pathological, and laboratory parameters. *J Immunol*. 2009 Dec 1;183(11):7569-75.
- [9] Carneiro-Sampaio M, Coutinho A. Immunity to microbes: lessons from primary immunodeficiencies. *Infection and immunity*. 2007 Apr;75(4):1545-55.

- [10] Kumar A, Teuber SS, Gershwin ME. Current perspectives on primary immunodeficiency diseases. *Clinical & developmental immunology*. 2006 Jun-Dec;13(2-4):223-59.
- [11] Romani L. Immunity to fungal infections. *Nature reviews Immunology*. 2004 Jan;4(1):1-23.
- [12] Huffnagle GB, Deepe GS. Innate and adaptive determinants of host susceptibility to medically important fungi. *Current opinion in microbiology*. 2003 Aug;6(4):344-50.
- [13] Romani L. Immunity to fungal infections. *Nature reviews Immunology*. 2011 Apr;11(4):275-88.
- [14] Netea MG, Van der Graaf C, Van der Meer JW, Kullberg BJ. Recognition of fungal pathogens by Toll-like receptors. *European journal of clinical microbiology & infectious diseases* : official publication of the European Society of Clinical Microbiology. 2004 Sep;23(9):672-6.
- [15] Shoham S, Levitz SM. The immune response to fungal infections. *British journal of haematology*. 2005 Jun;129(5):569-82.
- [16] Mansour MK, Levitz SM. Interactions of fungi with phagocytes. *Current opinion in microbiology*. 2002 Aug;5(4):359-65.
- [17] Mencacci A, Cenci E, Bacci A, Montagnoli C, Bistoni F, Romani L. Cytokines in candidiasis and aspergillosis. *Current pharmaceutical biotechnology*. 2000 Nov;1(3):235-51.
- [18] van de Veerdonk FL, Gresnigt MS, Kullberg BJ, van der Meer JW, Joosten LA, Netea MG. Th17 responses and host defense against microorganisms: an overview. *BMB reports*. 2009 Dec 31;42(12):776-87.
- [19] Chai LY, van de Veerdonk F, Marijnissen RJ, Cheng SC, Khoo AL, Hectors M, et al. Anti-Aspergillus human host defence relies on type 1 T helper (Th1), rather than type 17 T helper (Th17), cellular immunity. *Immunology*. 2010 May;130(1):46-54.

- [20] Cutler JE, Deepe GS, Jr., Klein BS. Advances in combating fungal diseases: vaccines on the threshold. *Nature reviews Microbiology*. 2007 Jan;5(1):13-28.
- [21] Casadevall A, Cassone A, Bistoni F, Cutler JE, Magliani W, Murphy JW, et al. Antibody and/or cell-mediated immunity, protective mechanisms in fungal disease: an ongoing dilemma or an unnecessary dispute? *Medical mycology : official publication of the International Society for Human and Animal Mycology*. 1998;36 Suppl 1:95-105.
- [22] Goldman DL, Khine H, Abadi J, Lindenberg DJ, Pirofski L, Niang R, et al. Serologic evidence for *Cryptococcus neoformans* infection in early childhood. *Pediatrics*. 2001 May;107(5):E66.
- [23] van de Veerdonk FL, Plantinga TS, Hoischen A, Smeekens SP, Joosten LA, Gilissen C, et al. STAT1 mutations in autosomal dominant chronic mucocutaneous candidiasis. *The New England journal of medicine*. 2011 Jul 7;365(1):54-61.
- [24] Segal BH, Veys P, Malech H, Cowan MJ. Chronic granulomatous disease: lessons from a rare disorder. *Biology of blood and marrow transplantation : journal of the American Society for Blood and Marrow Transplantation*. 2011 Jan;17(1 Suppl):S123-31.
- [25] Winkelstein JA, Marino MC, Johnston RB, Jr., Boyle J, Curnutte J, Gallin JI, et al. Chronic granulomatous disease. Report on a national registry of 368 patients. *Medicine*. 2000 May;79(3):155-69.
- [26] van den Berg JM, van Koppen E, Ahlin A, Belohradsky BH, Bernatowska E, Corbeel L, et al. Chronic granulomatous disease: the European experience. *PloS one*. 2009;4(4):e5234.
- [27] Martire B, Rondelli R, Soresina A, Pignata C, Broccoletti T, Finocchi A, et al. Clinical features, long-term follow-up and outcome of a large cohort of patients with Chronic Granulomatous Disease: an Italian multicenter study. *Clin Immunol*. 2008 Feb;126(2):155-64.
- [28] Jones LB, McGrogan P, Flood TJ, Gennery AR, Morton L, Thrasher A, et al. Special article: chronic granulomatous disease in the United Kingdom and Ireland: a comprehensive

national patient-based registry. *Clinical and experimental immunology*. 2008 May;152(2):211-8.

[29] Segal BH, Leto TL, Gallin JI, Malech HL, Holland SM. Genetic, biochemical, and clinical features of chronic granulomatous disease. *Medicine*. 2000 May;79(3):170-200.

[30] Brinkmann V, Reichard U, Goosmann C, Fauler B, Uhlemann Y, Weiss DS, et al. Neutrophil extracellular traps kill bacteria. *Science*. 2004 Mar 5;303(5663):1532-5.

[31] Bianchi M, Hakkim A, Brinkmann V, Siler U, Seger RA, Zychlinsky A, et al. Restoration of NET formation by gene therapy in CGD controls aspergillosis. *Blood*. 2009 Sep 24;114(13):2619-22.

[32] Fuchs TA, Abed U, Goosmann C, Hurwitz R, Schulze I, Wahn V, et al. Novel cell death program leads to neutrophil extracellular traps. *The Journal of cell biology*. 2007 Jan 15;176(2):231-41.

[33] Romani L, Fallarino F, De Luca A, Montagnoli C, D'Angelo C, Zelante T, et al. Defective tryptophan catabolism underlies inflammation in mouse chronic granulomatous disease. *Nature*. 2008 Jan 10;451(7175):211-5.

[34] Matute JD, Arias AA, Wright NA, Wrobel I, Waterhouse CC, Li XJ, et al. A new genetic subgroup of chronic granulomatous disease with autosomal recessive mutations in p40 phox and selective defects in neutrophil NADPH oxidase activity. *Blood*. 2009 Oct 8;114(15):3309-15.

[35] Song E, Jaishankar GB, Saleh H, Jithpratuck W, Sahni R, Krishnaswamy G. Chronic granulomatous disease: a review of the infectious and inflammatory complications. *Clinical and molecular allergy : CMA*. 2011;9(1):10.

[36] Beaute J, Obenga G, Le Mignot L, Mahlaoui N, Bougnoux ME, Mouy R, et al. Epidemiology and outcome of invasive fungal diseases in patients with chronic granulomatous disease: a multicenter study in France. *The Pediatric infectious disease journal*. 2011 Jan;30(1):57-62.



- [37] Mouy R, Veber F, Blanche S, Donadieu J, Brauner R, Levron JC, et al. Long-term itraconazole prophylaxis against *Aspergillus* infections in thirty-two patients with chronic granulomatous disease. *The Journal of pediatrics*. 1994 Dec;125(6 Pt 1):998-1003.
- [38] Segal BH, DeCarlo ES, Kwon-Chung KJ, Malech HL, Gallin JI, Holland SM. *Aspergillus nidulans* infection in chronic granulomatous disease. *Medicine*. 1998 Sep;77(5):345-54.
- [39] Burgos A, Zaoutis TE, Dvorak CC, Hoffman JA, Knapp KM, Nania JJ, et al. Pediatric invasive aspergillosis: a multicenter retrospective analysis of 139 contemporary cases. *Pediatrics*. 2008 May;121(5):e1286-94.
- [40] Mouy R, Ropert JC, Donadieu J, Hubert P, de Blic J, Revillon Y, et al. [Chronic septic granulomatosis revealed by neonatal pulmonary aspergillosis]. *Archives de pediatrie : organe officiel de la Societe francaise de pediatrie*. 1995 Sep;2(9):861-4.
- [41] Groll AH, Jaeger G, Allendorf A, Herrmann G, Schloesser R, von Loewenich V. Invasive pulmonary aspergillosis in a critically ill neonate: case report and review of invasive aspergillosis during the first 3 months of life. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*. 1998 Sep;27(3):437-52.
- [42] Mamishi S, Parvaneh N, Salavati A, Abdollahzadeh S, Yeganeh M. Invasive aspergillosis in chronic granulomatous disease: report of 7 cases. *European journal of pediatrics*. 2007 Jan;166(1):83-4.
- [43] Almyroudis NG, Holland SM, Segal BH. Invasive aspergillosis in primary immunodeficiencies. *Medical mycology : official publication of the International Society for Human and Animal Mycology*. 2005 May;43 Suppl 1:S247-59.
- [44] Siddiqui S, Anderson VL, Hilligoss DM, Abinun M, Kuijpers TW, Masur H, et al. Fulminant miliary pneumonitis: an emergency presentation of chronic granulomatous disease. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*. 2007 Sep 15;45(6):673-81.

- [45] White CJ, Kwon-Chung KJ, Gallin JI. Chronic granulomatous disease of childhood. An unusual case of infection with *Aspergillus nidulans* var. *echinulatus*. *American journal of clinical pathology*. 1988 Sep;90(3):312-6.
- [46] Dotis J, Panagopoulou P, Filioti J, Winn R, Toptsis C, Panteliadis C, et al. Femoral osteomyelitis due to *Aspergillus nidulans* in a patient with chronic granulomatous disease. *Infection*. 2003 Mar;31(2):121-4.
- [47] Kim M, Shin JH, Suh SP, Ryang DW, Park CS, Kim C, et al. *Aspergillus nidulans* infection in a patient with chronic granulomatous disease. *Journal of Korean medical science*. 1997 Jun;12(3):244-8.
- [48] Kontoyiannis DP, Lewis RE, May GS, Osherov N, Rinaldi MG. *Aspergillus nidulans* is frequently resistant to amphotericin B. *Mycoses*. 2002 Nov;45(9-10):406-7.
- [49] Altman AR. Thoracic wall invasion secondary to pulmonary aspergillosis: a complication of chronic granulomatous disease of childhood. *AJR American journal of roentgenology*. 1977 Jul;129(1):140-2.
- [50] Chudwin DS, Wara DW, Cowan MJ, Ammann AJ. *Aspergillus* pneumonia in chronic granulomatous disease: recurrence and long-term outcome. *Acta paediatrica Scandinavica*. 1982 Nov;71(6):915-7.
- [51] Chusid MJ, Sty JR, Wells RG. Pulmonary aspergillosis appearing as chronic nodular disease in chronic granulomatous disease. *Pediatric radiology*. 1988;18(3):232-4.
- [52] Conrad DJ, Warnock M, Blanc P, Cowan M, Golden JA. Microgranulomatous aspergillosis after shoveling wood chips: report of a fatal outcome in a patient with chronic granulomatous disease. *American journal of industrial medicine*. 1992;22(3):411-8.
- [53] Kelly JK, Pinto AR, Whitelaw WA, Rorstad OP, Bowen TJ, Matheson DS. Fatal *Aspergillus* pneumonia in chronic granulomatous disease. *American journal of clinical pathology*. 1986 Aug;86(2):235-40.

- [54] Kosut JS, Kamani NR, Jantusch BA. One-month-old infant with multilobar round pneumonias. *The Pediatric infectious disease journal*. 2006 Jan;25(1):95, 7.
- [55] Ameratunga R, Woon ST, Vyas J, Roberts S. Fulminant mulch pneumonitis in undiagnosed chronic granulomatous disease: a medical emergency. *Clinical pediatrics*. 2010 Dec;49(12):1143-6.
- [56] Gupta A, McKean M, Haynes S, Wright C, Barge D, Flood TJ, et al. Chronic granulomatous disease presenting as fulminant *Aspergillus* pneumonitis: a lethal combination? *Pediatric critical care medicine : a journal of the Society of Critical Care Medicine and the World Federation of Pediatric Intensive and Critical Care Societies*. 2009 Jul;10(4):e43-5.
- [57] Vinh DC, Shea YR, Jones PA, Freeman AF, Zelazny A, Holland SM. Chronic invasive aspergillosis caused by *Aspergillus viridinutans*. *Emerging infectious diseases*. 2009 Aug;15(8):1292-4.
- [58] Vinh DC, Shea YR, Sugui JA, Parrilla-Castellar ER, Freeman AF, Campbell JW, et al. Invasive aspergillosis due to *Neosartorya udagawae*. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*. 2009 Jul 1;49(1):102-11.
- [59] Saulsbury FT. Successful treatment of aspergillus brain abscess with itraconazole and interferon-gamma in a patient with chronic granulomatous disease. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*. 2001 May 15;32(10):E137-9.
- [60] Patiroglu T, Unal E, Yikilmaz A, Koker MY, Ozturk MK. Atypical presentation of chronic granulomatous disease in an adolescent boy with frontal lobe located *Aspergillus* abscess mimicking intracranial tumor. *Child's nervous system : ChNS : official journal of the International Society for Pediatric Neurosurgery*. 2010 Feb;26(2):149-54.
- [61] Casson DH, Riordan FA, Ladusens EJ. *Aspergillus* endocarditis in chronic granulomatous disease. *Acta Paediatr*. 1996 Jun;85(6):758-9.

- [62] Mamishi S, Fattahi F, Radmanesh A, Mahjoub F, Pourpak Z. Anterior chest wall protrusion as initial presentation of chronic granulomatous disease: a case report. *Pediatric allergy and immunology : official publication of the European Society of Pediatric Allergy and Immunology*. 2005 Dec;16(8):685-7.
- [63] Yeh J, Culbertson C, Petru AM. Purulent pericardial effusion in a 14-year-old girl. *The Pediatric infectious disease journal*. 2009 Dec;28(12):1140, 7-8.
- [64] Alsultan A, Williams MS, Lubner S, Goldman FD. Chronic granulomatous disease presenting with disseminated intracranial aspergillosis. *Pediatric blood & cancer*. 2006 Jul;47(1):107-10.
- [65] Bukhari E, Alrabiaah A. First case of extensive spinal cord infection with *Aspergillus nidulans* in a child with chronic granulomatous disease. *Journal of infection in developing countries*. 2009;3(4):321-3.
- [66] Dotis J, Roilides E. Osteomyelitis due to *Aspergillus* spp. in patients with chronic granulomatous disease: comparison of *Aspergillus nidulans* and *Aspergillus fumigatus*. *International journal of infectious diseases : IJID : official publication of the International Society for Infectious Diseases*. 2004 Mar;8(2):103-10.
- [67] Al-Tawfiq JA, Al-Abdely HM. Vertebral osteomyelitis due to *Aspergillus fumigatus* in a patient with chronic granulomatous disease successfully treated with antifungal agents and interferon-gamma. *Medical mycology : official publication of the International Society for Human and Animal Mycology*. 2010 May;48(3):537-41.
- [68] Hodiament CJ, Dolman KM, Ten Berge IJ, Melchers WJ, Verweij PE, Pajkrt D. Multiple-azole-resistant *Aspergillus fumigatus* osteomyelitis in a patient with chronic granulomatous disease successfully treated with long-term oral posaconazole and surgery. *Medical mycology : official publication of the International Society for Human and Animal Mycology*. 2009 Mar;47(2):217-20.

- [69] Galimberti R, Kowalczyk A, Hidalgo Parra I, Gonzalez Ramos M, Flores V. Cutaneous aspergillosis: a report of six cases. *The British journal of dermatology*. 1998 Sep;139(3):522-6.
- [70] Thomas KE, Owens CM, Veys PA, Novelli V, Costoli V. The radiological spectrum of invasive aspergillosis in children: a 10-year review. *Pediatric radiology*. 2003 Jul;33(7):453-60.
- [71] Thomas L, Baggen L, Chisholm J, Sharland M. Diagnosis and treatment of aspergillosis in children. *Expert review of anti-infective therapy*. 2009 May;7(4):461-72.
- [72] Dennis CG, Greco WR, Brun Y, Youn R, Slocum HK, Bernacki RJ, et al. Effect of amphotericin B and micafungin combination on survival, histopathology, and fungal burden in experimental aspergillosis in the p47phox<sup>-/-</sup> mouse model of chronic granulomatous disease. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2006 Feb;50(2):422-7.
- [73] Verweij PE, Weemaes CM, Curfs JH, Bretagne S, Meis JF. Failure to detect circulating *Aspergillus* markers in a patient with chronic granulomatous disease and invasive aspergillosis. *Journal of clinical microbiology*. 2000 Oct;38(10):3900-1.
- [74] Hummel M, Spiess B, Roder J, von Komorowski G, Durken M, Kentouche K, et al. Detection of *Aspergillus* DNA by a nested PCR assay is able to improve the diagnosis of invasive aspergillosis in paediatric patients. *Journal of medical microbiology*. 2009 Oct;58(Pt 10):1291-7.
- [75] White PL, Bretagne S, Klingspor L, Melchers WJ, McCulloch E, Schulz B, et al. *Aspergillus* PCR: one step closer to standardization. *Journal of clinical microbiology*. 2010 Apr;48(4):1231-40.
- [76] Gallin JI, Alling DW, Malech HL, Wesley R, Koziol D, Marciano B, et al. Itraconazole to prevent fungal infections in chronic granulomatous disease. *The New England journal of medicine*. 2003 Jun 12;348(24):2416-22.

- [77] A controlled trial of interferon gamma to prevent infection in chronic granulomatous disease. The International Chronic Granulomatous Disease Cooperative Study Group. The New England journal of medicine. 1991 Feb 21;324(8):509-16.
- [78] Mouy R, Seger R, Bourquin JP, Veber F, Blanche S, Griscelli C, et al. Interferon gamma for chronic granulomatous disease. The New England journal of medicine. 1991 Nov 21;325(21):1516-7.
- [79] Marciano BE, Wesley R, De Carlo ES, Anderson VL, Barnhart LA, Darnell D, et al. Long-term interferon-gamma therapy for patients with chronic granulomatous disease. Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America. 2004 Sep 1;39(5):692-9.
- [80] Kang EM, Marciano BE, DeRavin S, Zarembek KA, Holland SM, Malech HL. Chronic granulomatous disease: overview and hematopoietic stem cell transplantation. The Journal of allergy and clinical immunology. 2011 Jun;127(6):1319-26; quiz 27-8.
- [81] Seger RA. Chronic granulomatous disease: recent advances in pathophysiology and treatment. The Netherlands journal of medicine. 2010 Nov;68(11):334-40.
- [82] Herbrecht R, Denning DW, Patterson TF, Bennett JE, Greene RE, Oestmann JW, et al. Voriconazole versus amphotericin B for primary therapy of invasive aspergillosis. The New England journal of medicine. 2002 Aug 8;347(6):408-15.
- [83] Walsh TJ, Anaissie EJ, Denning DW, Herbrecht R, Kontoyiannis DP, Marr KA, et al. Treatment of aspergillosis: clinical practice guidelines of the Infectious Diseases Society of America. Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America. 2008 Feb 1;46(3):327-60.
- [84] Schwartz S, Thiel E. Cerebral aspergillosis: tissue penetration is the key. Medical mycology : official publication of the International Society for Human and Animal Mycology. 2009;47 Suppl 1:S387-93.

- [85] Rosen-Wolff A, Koch A, Friedrich W, Hahn G, Gahr M, Roesler J. Successful elimination of an invasive *Aspergillus nidulans* lung infection by voriconazole after failure of a combination of caspofungin and liposomal amphotericin B in a boy with chronic granulomatous disease. *The Pediatric infectious disease journal*. 2004 Jun;23(6):584-6.
- [86] van 't Hek LG, Verweij PE, Weemaes CM, van Dalen R, Yntema JB, Meis JF. Successful treatment with voriconazole of invasive aspergillosis in chronic granulomatous disease. *American journal of respiratory and critical care medicine*. 1998 May;157(5 Pt 1):1694-6.
- [87] Crandon JL, Banevicius MA, Fang AF, Crownover PH, Knauff RF, Pope JS, et al. Bronchopulmonary disposition of intravenous voriconazole and anidulafungin given in combination to healthy adults. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2009 Dec;53(12):5102-7.
- [88] Cowen EW, Nguyen JC, Miller DD, McShane D, Arron ST, Prose NS, et al. Chronic phototoxicity and aggressive squamous cell carcinoma of the skin in children and adults during treatment with voriconazole. *Journal of the American Academy of Dermatology*. 2010 Jan;62(1):31-7.
- [89] Miller DD, Cowen EW, Nguyen JC, McCalmont TH, Fox LP. Melanoma associated with long-term voriconazole therapy: a new manifestation of chronic photosensitivity. *Archives of dermatology*. 2010 Mar;146(3):300-4.
- [90] Walsh TJ, Raad I, Patterson TF, Chandrasekar P, Donowitz GR, Graybill R, et al. Treatment of invasive aspergillosis with posaconazole in patients who are refractory to or intolerant of conventional therapy: an externally controlled trial. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*. 2007 Jan 1;44(1):2-12.
- [91] Maertens J, Raad I, Petrikos G, Boogaerts M, Selleslag D, Petersen FB, et al. Efficacy and safety of caspofungin for treatment of invasive aspergillosis in patients refractory to or intolerant of conventional antifungal therapy. *Clinical infectious diseases : an*

official publication of the Infectious Diseases Society of America. 2004 Dec 1;39(11):1563-71.

[92] Segal BH, Barnhart LA, Anderson VL, Walsh TJ, Malech HL, Holland SM. Posaconazole as salvage therapy in patients with chronic granulomatous disease and invasive filamentous fungal infection. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*. 2005 Jun 1;40(11):1684-8.

[93] Watt K, Benjamin DK, Jr., Cohen-Wolkowicz M. Pharmacokinetics of antifungal agents in children. *Early human development*. 2011 Mar;87 Suppl 1:S61-5.

[94] Groll AH, Attarbaschi A, Schuster FR, Herzog N, Grigull L, Dworzak MN, et al. Treatment with caspofungin in immunocompromised paediatric patients: a multicentre survey. *The Journal of antimicrobial chemotherapy*. 2006 Mar;57(3):527-35.

[95] Walsh TJ, Adamson PC, Seibel NL, Flynn PM, Neely MN, Schwartz C, et al. Pharmacokinetics, safety, and tolerability of caspofungin in children and adolescents. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2005 Nov;49(11):4536-45.

[96] Sanchez-Ortega I, Patino B, Arnan M, Peralta T, Parody R, Gudiol C, et al. Clinical efficacy and safety of primary antifungal prophylaxis with posaconazole vs itraconazole in allogeneic blood and marrow transplantation. *Bone marrow transplantation*. 2011 May;46(5):733-9.

[97] Segal BH, Romani LR. Invasive aspergillosis in chronic granulomatous disease. *Medical mycology : official publication of the International Society for Human and Animal Mycology*. 2009;47 Suppl 1:S282-90.

[98] Mamishi S, Zomorodian K, Saadat F, Gerami-Shoar M, Tarazooie B, Siadati SA. A case of invasive aspergillosis in CGD patient successfully treated with Amphotericin B and INF-gamma. *Annals of clinical microbiology and antimicrobials*. 2005;4:4.



- [99] Bernhisel-Broadbent J, Camargo EE, Jaffe HS, Lederman HM. Recombinant human interferon-gamma as adjunct therapy for *Aspergillus* infection in a patient with chronic granulomatous disease. *The Journal of infectious diseases*. 1991 Apr;163(4):908-11.
- [100] Zaoutis TE, Argon J, Chu J, Berlin JA, Walsh TJ, Feudtner C. The epidemiology and attributable outcomes of candidemia in adults and children hospitalized in the United States: a propensity analysis. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*. 2005 Nov 1;41(9):1232-9.
- [101] Blyth CC, Chen SC, Slavin MA, Serena C, Nguyen Q, Marriott D, et al. Not just little adults: candidemia epidemiology, molecular characterization, and antifungal susceptibility in neonatal and pediatric patients. *Pediatrics*. 2009 May;123(5):1360-8.
- [102] Djalilian AR, Smith JA, Walsh TJ, Malech HL, Robinson MR. Keratitis caused by *Candida glabrata* in a patient with chronic granulomatous disease. *American journal of ophthalmology*. 2001 Nov;132(5):782-3.
- [103] Estrada B, Mancao MY, Polski JM, Figarola MS. *Candida lusitanae* and chronic granulomatous disease. *The Pediatric infectious disease journal*. 2006 Aug;25(8):758-9.
- [104] Fleischmann J, Church JA, Lehrer RI. Primary *Candida* meningitis and chronic granulomatous disease. *The American journal of the medical sciences*. 1986 May;291(5):334-41.
- [105] Levy O, Bourquin JP, McQueen A, Cantor AB, Lachenauer C, Malley R. Fatal disseminated *Candida lusitanae* infection in an infant with chronic granulomatous disease. *The Pediatric infectious disease journal*. 2002 Mar;21(3):262-4.
- [106] Malmvall BE, Follin P. Successful interferon-gamma therapy in a chronic granulomatous disease (CGD) patient suffering from *Staphylococcus aureus* hepatic abscess and invasive *Candida albicans* infection. *Scandinavian journal of infectious diseases*. 1993;25(1):61-6.

- [107] Miron D, Horowitz Y, Lumelsky D, Hanania S, Colodner R. Dual pulmonary infection with *Candida dubliniensis* and *Aspergillus fumigatus* in a child with chronic granulomatous disease. *The Journal of infection*. 2005 Jan;50(1):72-5.
- [108] Bode CP, Schrotten H, Koletzko S, Lubke H, Wahn V. Transient achalasia-like esophageal motility disorder after candida esophagitis in a boy with chronic granulomatous disease. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition*. 1996 Oct;23(3):320-3.
- [109] Ostrosky-Zeichner L, Alexander BD, Kett DH, Vazquez J, Pappas PG, Saeki F, et al. Multicenter clinical evaluation of the (1->3) beta-D-glucan assay as an aid to diagnosis of fungal infections in humans. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*. 2005 Sep 1;41(5):654-9.
- [110] Peman J, Canton E, Linares-Sicilia MJ, Rosello EM, Borrell N, Ruiz-Perez-de-Pipaon MT, et al. Epidemiology and Antifungal Susceptibility of Bloodstream Fungal Isolates in Pediatric Patients: A Spanish Multicenter Prospective Survey. *Journal of clinical microbiology*. 2011 Oct 19.
- [111] Rex JH, Bennett JE, Sugar AM, Pappas PG, van der Horst CM, Edwards JE, et al. A randomized trial comparing fluconazole with amphotericin B for the treatment of candidemia in patients without neutropenia. *Candidemia Study Group and the National Institute*. *The New England journal of medicine*. 1994 Nov 17;331(20):1325-30.
- [112] Driessen M, Ellis JB, Cooper PA, Wainer S, Muwazi F, Hahn D, et al. Fluconazole vs. amphotericin B for the treatment of neonatal fungal septicemia: a prospective randomized trial. *The Pediatric infectious disease journal*. 1996 Dec;15(12):1107-12.
- [113] Pappas PG, Rex JH, Sobel JD, Filler SG, Dismukes WE, Walsh TJ, et al. Guidelines for treatment of candidiasis. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*. 2004 Jan 15;38(2):161-89.

- [114] Mora-Duarte J, Betts R, Rotstein C, Colombo AL, Thompson-Moya L, Smietana J, et al. Comparison of caspofungin and amphotericin B for invasive candidiasis. *The New England journal of medicine*. 2002 Dec 19;347(25):2020-9.
- [115] Zaoutis TE, Jafri HS, Huang LM, Locatelli F, Barzilai A, Ebell W, et al. A prospective, multicenter study of caspofungin for the treatment of documented *Candida* or *Aspergillus* infections in pediatric patients. *Pediatrics*. 2009 Mar;123(3):877-84.
- [116] Pappas PG, Rotstein CM, Betts RF, Nucci M, Talwar D, De Waele JJ, et al. Micafungin versus caspofungin for treatment of candidemia and other forms of invasive candidiasis. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*. 2007 Oct 1;45(7):883-93.
- [117] Kuse ER, Chetchotisakd P, da Cunha CA, Ruhnke M, Barrios C, Raghunadharao D, et al. Micafungin versus liposomal amphotericin B for candidaemia and invasive candidosis: a phase III randomised double-blind trial. *Lancet*. 2007 May 5;369(9572):1519-27.
- [118] Queiroz-Telles F, Berezin E, Leverger G, Freire A, van der Vyver A, Chotpitayasunondh T, et al. Micafungin versus liposomal amphotericin B for pediatric patients with invasive candidiasis: substudy of a randomized double-blind trial. *The Pediatric infectious disease journal*. 2008 Sep;27(9):820-6.
- [119] Reboli AC, Rotstein C, Pappas PG, Chapman SW, Kett DH, Kumar D, et al. Anidulafungin versus fluconazole for invasive candidiasis. *The New England journal of medicine*. 2007 Jun 14;356(24):2472-82.
- [120] Spanakis EK, Aperis G, Mylonakis E. New agents for the treatment of fungal infections: clinical efficacy and gaps in coverage. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*. 2006 Oct 15;43(8):1060-8.
- [121] Cohen-Abbo A, Edwards KM. Multifocal osteomyelitis caused by *Paecilomyces variotii* in a patient with chronic granulomatous disease. *Infection*. 1995;23(1):55-7.

- [122] Sillevius Smitt JH, Leusen JH, Stas HG, Teeuw AH, Weening RS. Chronic bullous disease of childhood and a paecilomyces lung infection in chronic granulomatous disease. *Archives of disease in childhood*. 1997 Aug;77(2):150-2.
- [123] Wang SM, Shieh CC, Liu CC. Successful treatment of *Paecilomyces variotii* splenic abscesses: a rare complication in a previously unrecognized chronic granulomatous disease child. *Diagnostic microbiology and infectious disease*. 2005 Oct;53(2):149-52.
- [124] Williamson PR, Kwon-Chung KJ, Gallin JI. Successful treatment of *Paecilomyces varioti* infection in a patient with chronic granulomatous disease and a review of *Paecilomyces* species infections. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*. 1992 May;14(5):1023-6.
- [125] Silliman CC, Lawellin DW, Lohr JA, Rodgers BM, Donowitz LG. *Paecilomyces lilacinus* infection in a child with chronic granulomatous disease. *The Journal of infection*. 1992 Mar;24(2):191-5.
- [126] Bhat SV, Paterson DL, Rinaldi MG, Veldkamp PJ. *Scedosporium prolificans* brain abscess in a patient with chronic granulomatous disease: successful combination therapy with voriconazole and terbinafine. *Scandinavian journal of infectious diseases*. 2007;39(1):87-90.
- [127] Gompels MM, Bethune CA, Jackson G, Spickett GP. *Scedosporium apiospermum* in chronic granulomatous disease treated with an HLA matched bone marrow transplant. *Journal of clinical pathology*. 2002 Oct;55(10):784-6.
- [128] Jabado N, Casanova JL, Haddad E, Dulieu F, Fournet JC, Dupont B, et al. Invasive pulmonary infection due to *Scedosporium apiospermum* in two children with chronic granulomatous disease. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*. 1998 Dec;27(6):1437-41.
- [129] Phillips P, Forbes JC, Speert DP. Disseminated infection with *Pseudallescheria boydii* in a patient with chronic granulomatous disease: response to gamma-interferon plus antifungal chemotherapy. *The Pediatric infectious disease journal*. 1991 Jul;10(7):536-9.

- [130] Pistono PG, Rapetti I, Stacchini E, Guasco C. [Clinical case of mycetoma caused by *Scedosporium apiospermum*]. *Giornale di batteriologia, virologia ed immunologia*. 1989 Jan-Dec;82(1-12):88-91.
- [131] Kenney RT, Kwon-Chung KJ, Witebsky FG, Melnick DA, Malech HL, Gallin JI. Invasive infection with *Sarcinosporon inkin* in a patient with chronic granulomatous disease. *American journal of clinical pathology*. 1990 Sep;94(3):344-50.
- [132] Lestini BJ, Church JA. *Trichosporon pullulans* as a complication of chronic granulomatous disease in a patient undergoing immunosuppressive therapy for inflammatory bowel disease. *The Pediatric infectious disease journal*. 2006 Jan;25(1):87-9.
- [133] Piwoz JA, Stadtmauer GJ, Bottone EJ, Weitzman I, Shlasko E, Cunningham-Rundles C. *Trichosporon inkin* lung abscesses presenting as a penetrating chest wall mass. *The Pediatric infectious disease journal*. 2000 Oct;19(10):1025-7.
- [134] Wynne SM, Kwon-Chung KJ, Shea YR, Filie AC, Varma A, Lupo P, et al. Invasive infection with *Trichosporon inkin* in 2 siblings with chronic granulomatous disease. *The Journal of allergy and clinical immunology*. 2004 Dec;114(6):1418-24.
- [135] Moylett EH, Chinen J, Shearer WT. *Trichosporon pullulans* infection in 2 patients with chronic granulomatous disease: an emerging pathogen and review of the literature. *The Journal of allergy and clinical immunology*. 2003 Jun;111(6):1370-4.
- [136] Boltansky H, Kwon-Chung KJ, Macher AM, Gallin JI. *Acremonium strictum*-related pulmonary infection in a patient with chronic granulomatous disease. *The Journal of infectious diseases*. 1984 Apr;149(4):653.
- [137] Kenney RT, Kwon-Chung KJ, Waytes AT, Melnick DA, Pass HI, Merino MJ, et al. Successful treatment of systemic *Exophiala dermatitidis* infection in a patient with chronic granulomatous disease. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*. 1992 Jan;14(1):235-42.

- [138] Marques AR, Kwon-Chung KJ, Holland SM, Turner ML, Gallin JI. Suppurative cutaneous granulomata caused by *Microascus cinereus* in a patient with chronic granulomatous disease. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*. 1995 Jan;20(1):110-4.
- [139] Sutton DA, Thompson EH, Rinaldi MG, Iwen PC, Nakasone KK, Jung HS, et al. Identification and first report of *Inonotus (Phellinus) tropicalis* as an etiologic agent in a patient with chronic granulomatous disease. *Journal of clinical microbiology*. 2005 Feb;43(2):982-7.
- [140] Davis CM, Noroski LM, Dishop MK, Sutton DA, Braverman RM, Paul ME, et al. Basidiomycetous fungal *Inonotus tropicalis* sacral osteomyelitis in X-linked chronic granulomatous disease. *The Pediatric infectious disease journal*. 2007 Jul;26(7):655-6.
- [141] Roilides E, Sigler L, Bibashi E, Katsifa H, Flaris N, Panteliadis C. Disseminated infection due to *Chrysosporium zonatum* in a patient with chronic granulomatous disease and review of non-*Aspergillus* fungal infections in patients with this disease. *Journal of clinical microbiology*. 1999 Jan;37(1):18-25.
- [142] Shigemura T, Agematsu K, Yamazaki T, Eriko K, Yasuda G, Nishimura K, et al. Femoral osteomyelitis due to *Cladophialophora arxii* in a patient with chronic granulomatous disease. *Infection*. 2009 Oct;37(5):469-73.
- [143] Hipolito E, Faria E, Alves AF, de Hoog GS, Anjos J, Goncalves T, et al. *Alternaria* infectoria brain abscess in a child with chronic granulomatous disease. *European journal of clinical microbiology & infectious diseases : official publication of the European Society of Clinical Microbiology*. 2009 Apr;28(4):377-80.
- [144] Pedersen FK, Johansen KS, Rosenkvist J, Tygstrup I, Valerius NH. Refractory *Pneumocystis carinii* infection in chronic granulomatous disease: successful treatment with granulocytes. *Pediatrics*. 1979 Dec;64(6):935-8.

- [145] Wildenbeest JG, Oomen MW, Bruggemann RJ, de Boer M, Bijleveld Y, van den Berg JM, et al. *Rhizopus oryzae* skin infection treated with posaconazole in a boy with chronic granulomatous disease. *The Pediatric infectious disease journal*. 2010 Jun;29(6):578.
- [146] Dekkers R, Verweij PE, Weemaes CM, Severijnen RS, Van Krieken JH, Warris A. Gastrointestinal zygomycosis due to *Rhizopus microsporus* var. *rhizopodiformis* as a manifestation of chronic granulomatous disease. *Medical mycology : official publication of the International Society for Human and Animal Mycology*. 2008 Aug;46(5):491-4.
- [147] Santos PE, Piontelli E, Shea YR, Galluzzo ML, Holland SM, Zelazko ME, et al. *Penicillium piceum* infection: diagnosis and successful treatment in chronic granulomatous disease. *Medical mycology : official publication of the International Society for Human and Animal Mycology*. 2006 Dec;44(8):749-53.
- [148] Pastor FJ, Guarro J. Clinical manifestations, treatment and outcome of *Paecilomyces lilacinus* infections. *Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*. 2006 Oct;12(10):948-60.
- [149] De Ravin SS, Challipalli M, Anderson V, Shea YR, Marciano B, Hilligoss D, et al. *Geosmithia argillacea*: an emerging cause of invasive mycosis in human chronic granulomatous disease. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*. 2011 Mar 15;52(6):e136-43.
- [150] Machouart M, Garcia-Hermoso D, Rivier A, Hassouni N, Catherinot E, Salmon A, et al. Emergence of disseminated infections due to *Geosmithia argillacea* in patients with chronic granulomatous disease receiving long-term azole antifungal prophylaxis. *Journal of clinical microbiology*. 2011 Apr;49(4):1681-3.
- [151] Carrillo AJ, Guarro J. In vitro activities of four novel triazoles against *Scedosporium* spp. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2001 Jul;45(7):2151-3.

- [152] Meletiadis J, Meis JF, Mouton JW, Rodriguez-Tudela JL, Donnelly JP, Verweij PE. In vitro activities of new and conventional antifungal agents against clinical *Scedosporium* isolates. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2002 Jan;46(1):62-8.
- [153] Walsh TJ, Melcher GP, Rinaldi MG, Lecciones J, McGough DA, Kelly P, et al. *Trichosporon beigeli*, an emerging pathogen resistant to amphotericin B. *Journal of clinical microbiology*. 1990 Jul;28(7):1616-22.
- [154] Notarangelo LD, Fischer A, Geha RS, Casanova JL, Chapel H, Conley ME, et al. Primary immunodeficiencies: 2009 update. *The Journal of allergy and clinical immunology*. 2009 Dec;124(6):1161-78.
- [155] van der Burg M, Gennery AR. Educational paper. The expanding clinical and immunological spectrum of severe combined immunodeficiency. *European journal of pediatrics*. 2011 May;170(5):561-71.
- [156] Brown L, Xu-Bayford J, Allwood Z, Slatter M, Cant A, Davies EG, et al. Neonatal diagnosis of severe combined immunodeficiency leads to significantly improved survival outcome: the case for newborn screening. *Blood*. 2011 Mar 17;117(11):3243-6.
- [157] Slatter MA, Angus B, Windebank K, Taylor A, Meaney C, Lester T, et al. Polymorphous lymphoproliferative disorder with Hodgkin-like features in common gamma-chain-deficient severe combined immunodeficiency. *The Journal of allergy and clinical immunology*. 2011 Feb;127(2):533-5.
- [158] Yin EZ, Frush DP, Donnelly LF, Buckley RH. Primary immunodeficiency disorders in pediatric patients: clinical features and imaging findings. *AJR American journal of roentgenology*. 2001 Jun;176(6):1541-52.
- [159] Muller SM, Ege M, Pottharst A, Schulz AS, Schwarz K, Friedrich W. Transplacentally acquired maternal T lymphocytes in severe combined immunodeficiency: a study of 121 patients. *Blood*. 2001 Sep 15;98(6):1847-51.



- [160] Villa A, Notarangelo LD, Roifman CM. Omenn syndrome: inflammation in leaky severe combined immunodeficiency. *The Journal of allergy and clinical immunology*. 2008 Dec;122(6):1082-6.
- [161] Benke PJ, Dittmar D. Purine dysfunction in cells from patients with adenosine deaminase deficiency. *Pediatric research*. 1976 Jul;10(7):642-6.
- [162] Cohen A, Doyle D, Martin DW, Jr., Ammann AJ. Abnormal purine metabolism and purine overproduction in a patient deficient in purine nucleoside phosphorylase. *The New England journal of medicine*. 1976 Dec 23;295(26):1449-54.
- [163] de Vries E. Patient-centred screening for primary immunodeficiency: a multi-stage diagnostic protocol designed for non-immunologists. *Clinical and experimental immunology*. 2006 Aug;145(2):204-14.
- [164] Hague RA, Rassam S, Morgan G, Cant AJ. Early diagnosis of severe combined immunodeficiency syndrome. *Archives of disease in childhood*. 1994 Apr;70(4):260-3.
- [165] Yee A, De Ravin SS, Elliott E, Ziegler JB. Severe combined immunodeficiency: a national surveillance study. *Pediatric allergy and immunology : official publication of the European Society of Pediatric Allergy and Immunology*. 2008 Jun;19(4):298-302.
- [166] Buckley RH, Schiff RI, Schiff SE, Markert ML, Williams LW, Harville TO, et al. Human severe combined immunodeficiency: genetic, phenotypic, and functional diversity in one hundred eight infants. *The Journal of pediatrics*. 1997 Mar;130(3):378-87.
- [167] Yeganeh M, Heidarzade M, Pourpak Z, Parvaneh N, Rezaei N, Gharagozlou M, et al. Severe combined immunodeficiency: a cohort of 40 patients. *Pediatric allergy and immunology : official publication of the European Society of Pediatric Allergy and Immunology*. 2008 Jun;19(4):303-6.
- [168] Gennery AR, Cant AJ. Diagnosis of severe combined immunodeficiency. *Journal of clinical pathology*. 2001 Mar;54(3):191-5.

- [169] Deerojanawong J, Chang AB, Eng PA, Robertson CF, Kemp AS. Pulmonary diseases in children with severe combined immune deficiency and DiGeorge syndrome. *Pediatric pulmonology*. 1997 Nov;24(5):324-30.
- [170] Lauzon D, Delage G, Brochu P, Michaud J, Jasmin G, Joncas JH, et al. Pathogens in children with severe combined immune deficiency disease or AIDS. *CMAJ : Canadian Medical Association journal = journal de l'Association medicale canadienne*. 1986 Jul 1;135(1):33-8.
- [171] Berrington JE, Flood TJ, Abinun M, Galloway A, Cant AJ. Unsuspected *Pneumocystis carinii* pneumonia at presentation of severe primary immunodeficiency. *Archives of disease in childhood*. 2000 Feb;82(2):144-7.
- [172] Buckley RH. Molecular defects in human severe combined immunodeficiency and approaches to immune reconstitution. *Annual review of immunology*. 2004;22:625-55.
- [173] Stephan JL, Vlekova V, Le Deist F, Blanche S, Donadieu J, De Saint-Basile G, et al. Severe combined immunodeficiency: a retrospective single-center study of clinical presentation and outcome in 117 patients. *The Journal of pediatrics*. 1993 Oct;123(4):564-72.
- [174] Fogarty L. Thrush and septic shock in a two-month-old. *The Pediatric infectious disease journal*. 1996 Jun;15(6):553-4, 9-60.
- [175] Pyrgos V, Shoham S, Roilides E, Walsh TJ. *Pneumocystis pneumonia* in children. *Paediatric respiratory reviews*. 2009 Dec;10(4):192-8.
- [176] Anderson EJ, Rowley AH. Your diagnosis, please. A nine-month-old boy with severe interstitial pneumonia. *The Pediatric infectious disease journal*. 2006 Nov;25(11):1085, 9-90.
- [177] Jaing TH, Lee WI, Lin TY, Huang JL, Chen SH, Chow R. Successful unrelated mismatched cord blood transplantation in an infant with severe combined immunodeficiency and *Mycobacterium bovis* bacillus Calmette-Guerin disease. *Pediatric transplantation*. 2006 Jun;10(4):501-4.

- [178] Lopez-Herrera G, Garibay-Escobar A, Alvarez-Zavala BJ, Esparza-Garcia A, Galindo-Rujana ME, Flores-Romo L, et al. Severe combined immunodeficiency syndrome associated with colonic stenosis. *Archives of medical research*. 2004 Jul-Aug;35(4):348-58.
- [179] Smego RA, Jr., Devoe PW, Sampson HA, Perfect JR, Wilfert CM, Buckley RH. *Candida meningitis in two children with severe combined immunodeficiency*. *The Journal of pediatrics*. 1984 Jun;104(6):902-4.
- [180] Walcott DW, Linehan Tt, Hilman BC, Hershfield MS, el Dahr J. Failure to thrive, diarrhea, cough, and oral candidiasis in a three-month-old boy. *Annals of allergy*. 1994 May;72(5):408-14.
- [181] Zaoutis TE, Heydon K, Chu JH, Walsh TJ, Steinbach WJ. Epidemiology, outcomes, and costs of invasive aspergillosis in immunocompromised children in the United States, 2000. *Pediatrics*. 2006 Apr;117(4):e711-6.
- [182] Kobayashi S, Murayama S, Tatsuzawa O, Koinuma G, Kawasaki K, Kiyotani C, et al. X-linked severe combined immunodeficiency (X-SCID) with high blood levels of immunoglobulins and *Aspergillus pneumonia* successfully treated with micafangin followed by unrelated cord blood stem cell transplantation. *European journal of pediatrics*. 2007 Mar;166(3):207-10.
- [183] Yoshihara T, Morimoto A, Nakauchi S, Fujii N, Tsunamoto K, Misawa A, et al. Successful transplantation of haploidentical CD34+ selected bone marrow cells for an infantile case of severe combined immunodeficiency with *aspergillus pneumonia*. *Pediatric hematology and oncology*. 2002 Sep;19(6):439-43.
- [184] Lau YL, Yuen KY, Lee CW, Chan CF. Invasive *Acremonium falciforme* infection in a patient with severe combined immunodeficiency. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*. 1995 Jan;20(1):197-8.
- [185] Bakir M, Cerikcioglu N, Tirtir A, Berrak S, Ozek E, Canpolat C. *Pichia anomala* fungaemia in immunocompromised children. *Mycoses*. 2004 Jun;47(5-6):231-5.

- [186] Jimenez-Puya R, Vazquez-Bayo C, Rodriguez-Bujaldon A, Gomez Garcia F, Moreno-Gimenez JC. Extensive tinea in a patient with severe combined immunodeficiency. *Pediatric dermatology*. 2009 Mar-Apr;26(2):213-4.
- [187] Stevens DA, Clemons KV, Liu M. Developing a vaccine against aspergillosis. *Medical mycology : official publication of the International Society for Human and Animal Mycology*. 2011 Apr;49 Suppl 1:S170-6.
- [188] Silva S, Cordeiro, A., Lemos, S., Rocha, G., Faria, E. Má progressão ponderal num lactente como primeira manifestação de imunodeficiência primária. *Revista Portuguesa de Imunoalergologia*. 2008;17(2):175-81.