

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE ENGENHARIA
CÂMPUS DE ILHA SOLTEIRA**

MARIA CLARA SHIROMA BURI

**DETECÇÃO DE *Aspergillus fumigatus* RESISTENTES A FUNGICIDA TRIAZOL
EM AMOSTRAS COMERCIAIS DE PIMENTA-DO-REINO EM GRÃO**

**Ilha Solteira
2023**

MARIA CLARA SHIROMA BURI

**DETECÇÃO DE *Aspergillus fumigatus* RESISTENTES A FUNGICIDA TRIAZOL
EM AMOSTRAS COMERCIAIS DE PIMENTA-DO-REINO EM GRÃO**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentada à Faculdade de Engenharia de
Ilha Solteira – UNESP como parte dos
requisitos para obtenção do título de bacharel
em Engenharia Agrônômica.

Nome do orientador

Prof. Dr. Paulo Cezar Ceresini

Nome da coorientadora

Prof^a. Dra. Katherin Castro-Rios

FICHA CATALOGRÁFICA
Desenvolvido pelo Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação

B945d Buri, Maria Clara Shiroma.
Detecção de *Aspergillus fumigatus* resistentes a fungicida triazol em amostras comerciais de pimenta-do-reino em grão / Maria Clara Shiroma Buri .
-- Ilha Solteira: [s.n.], 2023
37 f. : il.

Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Engenharia Agrônômica) -
Universidade Estadual Paulista. Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira, 2023

Orientador: Paulo Cezar Ceresini
Coorientadora: Katherin Castro-Rios
Inclui bibliografia

1. Fungos ambientais contaminantes de alimentos. 2. Resistência a fungicidas agrícolas. 3. Tebuconazol. 4. *Aspergillus fumigatus*.


Raiane da Silva Santos

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE ENGENHARIA - CAMPUS DE ILHA SOLTEIRA

CURSO DE ENGENHARIA AGRONÔMICA

ATA DA DEFESA – TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

TÍTULO: Detecção de *Aspergillus fumigatus* resistentes a fungicida triazol em amostras comerciais de pimenta-do-reino em grão

ALUNO: *Maria Clara Shiroma Buri*

RA: 181051524

ORIENTADOR: Paulo César Ceresini

Aprovado (X) - Reprovado () pela Comissão Examinadora com Nota:9.5

Comissão Examinadora:

Katherin Castro R.

Dra. Katherin Castro Ríos
Presidente (Coorientadora)

CLAUDIA N. MONTAYA ESTRADA

Dra. Claudia Nohemy Montoya Estrada

Documento assinado digitalmente

gov.br

TATIANE CARLA SILVA

Data: 10/07/2023 13:18:51-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Dra. Tatiane Carla Silva

Maria Clara Shiroma Buri
Maria Clara Shiroma Buri

Ilha Solteira, 10 de julho de 2023.

DEDICATÓRIA

A mulher guerreira que nunca mediu esforços e sacrifícios para que pudéssemos aproveitar todas as oportunidades;

A mulher que ensina, cuida e ama;

A mulher que em seu olhar entende o mundo;

A mulher que suas palavras viram sinfonia;

A mulher que simplesmente me concedeu o dom da vida;

A minha mãe, a mulher da minha vida!

AGRADECIMENTOS

A Deus, por guiar e iluminar meus passos diariamente, me dando força e coragem para completar esse ciclo maravilhoso.

Aos meus pais, Rosiney e Jorge por serem os maiores apoiadores dos meus sonhos, por sempre acreditarem no meu potencial, pelo carinho, dedicação e cuidado durante toda minha existência.

Aos meus irmãos, Pedro e Felipe, pela cumplicidade, companheirismo e por sempre estarem, literalmente, ao meu lado em todos os momentos da vida.

Ao meu avô Seiyu, por me ensinar a ter uma vida leve e por partilhar suas experiências que são sinônimos de amor e fé.

A minha tia Marisa, avó Nair e meus primos, Ana, André, Camila, Elber, Heloiza, Izadora e Maria Fernanda por me acompanharem nessa jornada e por compartilharem momentos incríveis.

Aos meus amigos de longa data, Gabriel e Gabrielli, por todas as conversas, conselhos e abraços.

Aos meus amigos da turma 55, em especial a Marieli, por ser minha parceira na graduação e agora companheira pelo resto da vida.

A Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira por conter excelentes profissionais e assim proporcionar um ensino digno e de qualidade.

Aos meus companheiros do Laboratório de fitopatologia molecular por todas as manhãs regadas de muito café, experiências e conversas.

Ao meu orientador Prof. Dr. Paulo Cezar Ceresini, por toda orientação, dedicação, apoio e conhecimentos transmitidos durante essa jornada.

A minha coordenadora Prof^a. Dra. Katherin Castro-Ríos por todas as oportunidades, incentivos e por ser uma fonte de inspiração e me proporcionar ensinamentos que não se encontram nem nos mais sofisticados livros.

Por fim, agradeço a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) pelo apoio e financiamento.

“Na natureza, nada se cria, nada se perde, tudo se transforma”

(Antonie-Laurent Lavoisier)

RESUMO

A pimenta preta (*Piper nigrum* L.) é a especiaria mais consumida no mundo e durante sua cadeia produtiva, principalmente nas fases de secagem e armazenamento dos grãos, pode sofrer a contaminação por fungos. Os fungos presentes neste alimento podem causar uma série de prejuízos à saúde humana, seja por meio de substâncias tóxicas ou por desencadear doenças em indivíduos com sistema imune fragilizado, como é o caso da espécie *Aspergillus fumigatus* que pode provocar diferentes quadros clínicos em pacientes imunocomprometidos. O objetivo deste estudo foi avaliar a sensibilidade de *A. fumigatus* obtidos de amostras comerciais de pimenta-do-reino em grão ao fungicida tebuconazol. Avaliou-se o crescimento do fungo em diferentes concentrações do fungicida triazol (0, 0.03, 0.5, 2, 4, 8, 16 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) e posteriormente realizou-se uma análise molecular para investigar possíveis mutações no gene CYP51A, buscando-se evidências fenotípicas e genotípicas da resistência. Dos 4 isolados analisados, obteve-se valores de EC_{50} variando entre 0,30 e 0,55 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ e um isolado contendo o polimorfismo não-sinônimo M172V no gene CYP51A, comprovando que não há resistência de isolados de *A. fumigatus* amostrados de pimenta-do-reino ao fungicida triazol.

Palavras-chave: fungos ambientais contaminantes de alimentos; resistência a fungicidas agrícolas; tebuconazol; *Aspergillus fumigatus*.

ABSTRACT

Black pepper (*Piper nigrum* L.) is the most consumed spice in the world and during the production chain, especially in the drying and storage phases, the grain may be infected by fungal contaminants. The fungi present in this spice can cause a number of damages to human health either through toxic substances or by triggering diseases in individuals with weakened immune system, as is the case of the species *Aspergillus fumigatus* that can cause different clinical conditions in immunocompromised patients. The objective of this study was to evaluate the sensitivity of *A. fumigatus* from commercial samples of black pepper in grain to the fungicide tebuconazole. The growth of the fungus was evaluated at different concentrations of the triazole fungicide (0, 0.03, 0.5, 2, 4, 8, 16 $\mu\text{g.mL}^{-1}$) and subsequently a molecular analysis was performed to investigate possible mutations in the CYP51A gene, seeking phenotypic and genotypic evidence of resistance. From the 4 isolates analyzed, EC_{50} values were obtained ranging between 0.30 and 0.55 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ and an isolate containing the non-synonymous polymorphism M172V in the CYP51A gene, proving there is no resistance of *A. fumigatus* isolates sampled from black pepper to triazole fungicide.

Keywords: food contaminating environmental fungi; agricultural fungicide resistance; Tebuconazole; *Aspergillus fumigatus*.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	- Como <i>Aspergillus</i> desenvolve resistência aos compostos azólicos e causa doenças.....	18
Figura 2	- Frequência de gêneros fúngicos identificados de 4 amostras comerciais de pimenta do reino em grão.....	23
Figura 3	- Frequência dos gêneros fúngicos identificados nas temperaturas de a) 25°C e b) 37°C	24
Figura 4	- Colônia jovem de <i>Aspergillus fumigatus</i> de pimenta do reino em meio de MEA (à esquerda) e aspecto morfológico das estruturas do fungo <i>A. fumigatus</i> observadas em microscopia óptica (à direita).....	25
Figura 5	- Isolado IA3G1 em meio BDA com concentrações gradativas de tebuconazol, 0, 0.03, 0.5, 2, 4, 8, 16 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, no qual o primeiro fragmento não se depositou o produto e o último detinha a maior concentração.....	26
Figura 6	- Curva dose-resposta do crescimento micelial relativo e EC50 de isolados de <i>A. fumigatus</i> de pimenta-do-reino.....	27
Figura 7	- Comparação de segmentos do gene CYP51A de isolados de <i>A. fumigatus</i> com representante resistente (MG972984) e suscetível (IA3C6) ao tebuconazol.....	28

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	- Amostras utilizadas para a obtenção de <i>Aspergillus fumigatus</i>	20
Tabela 2	- Primers de PCR direto (F) e reverso (R) empregados para a identificação de <i>Aspergillus fumigatus</i> e Primers PCR direto (F) e reverso (R) empregados para avaliação de variação no gene CYP51A relacionado a resistência a fungicidas triazóis em <i>A. fumigatus</i>	21
Tabela 3	- Avaliação da sensibilidade in vitro de isolados de <i>Aspergillus fumigatus</i> submetidos a doses crescentes do fungicida DMI tebuconazol.....	26

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

ABPA	Aspergilose broncopulmonar alérgica
BDA	Batata dextrose ágar
AI	Aspergilose invasiva
CIM	Concentração inibitória mínima
CPA	Aspergilose pulmonar crônica
Covid-19	Doença do coronavírus
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DMI	Inibidores da desmetilação
DTAs	Doenças transmitidas por alimentos
FEIS	Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira
FRAC	Comitê de Ação a Resistência a Fungicidas
HIV	Vírus da imunodeficiência humana
MEA	Extrato de malte ágar
UNESP	Universidade Estadual Paulista
PCR	Reação em cadeia da polimerase
TMO	Transplante de medula óssea

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	12
2. REVISÃO DE LITERATURA	14
2.1. ASPECTOS GERAIS E PRODUÇÃO DA PIMENTA-DO-REINO.....	14
2.2. CONTAMINAÇÃO MICROBIOLÓGICA DA PIMENTA-DO-REINO	15
2.3. FUNGICIDA TEBUCONAZOL.....	15
2.4. <i>Aspergillus fumigatus</i> E ASPERGILOSE	16
2.5. RESISTÊNCIA AOS TRIAZÓIS	18
3. MATERIAL E MÉTODOS	19
3.1. AMOSTRAS.....	19
3.2. ISOLAMENTO DE <i>Aspergillus fumigatus</i> E IDENTIFICAÇÃO MORFOLÓGICA	20
3.3. IDENTIFICAÇÃO MOLECULAR	21
3.4. TESTE DE SENSIBILIDADE AO FUNGICIDA TEBUCONAZOL.....	22
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	22
5. CONCLUSÕES	28
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	28

1. INTRODUÇÃO

A cultura da pimenta-do-reino ou pimenta preta (*Piper nigrum* L.), cujo fruto é uma especiaria que oferece aroma e sabor diferenciados a alimentos, foi introduzida no Brasil em 1930, tornando-se, desde então, uma alternativa de cultivo para produtores familiares, especialmente pelo alto valor agregado do produto associado à alta demanda (MOREIRA et al., 2021). De fato, a cadeia produtiva da pimenta preta e sua alta empregabilidade é muito relevante para a estabilidade sócio-econômica da agricultura familiar brasileira. Destaca-se que em 2018 o Brasil foi o segundo maior produtor e exportador mundial da especiaria (VIDAL, 2020).

Na cadeia produtiva da pimenta-do-reino, as etapas de colheita, secagem e armazenamento são críticas, uma vez que a temperatura, teor de água e umidade relativa do ar afetam diretamente a qualidade do produto. Sob temperaturas elevadas e alto teor de umidade o processo de deterioração da especiaria é acelerado, oportunizando o desenvolvimento de diversos fungos contaminantes (SILVA, 2017). Os principais gêneros de fungos contaminantes de pimenta-do-reino relatados mundialmente são *Aspergillus*, *Penicillium*, *Rhizopus*, *Curvularia*, *Chaetomium*, *Eurotium* e *Mucor*, isolados tanto de amostras de pimenta-do-reino moída quanto de grãos (MAHGUBI et al., 2013; MAN et al., 2016). No Brasil, esses mesmos fungos foram detectados por Gatti et al. (2003), que avaliaram 115 amostras de pimenta preta, das quais 99% estavam contaminadas com fungos. O gênero *Aspergillus* foi o mais frequente entre os fungos contaminantes, detectado em 53,5% das amostras. Em outro estudo brasileiro, Freire et al. (2000) detectaram *Aspergillus* como gênero predominante entre 46 amostras de pimenta-do-reino.

Dentro do gênero *Aspergillus*, *A. fumigatus* está entre as mais importantes dentre as espécies comumente detectadas em amostras de pimenta preta contaminadas com fungos em países produtores de especiarias, seguida de *A. flavus* toxigênico e *A. niger* (YOGENDRARAJAH et al., 2014; MAN et al., 2016). No estudo brasileiro de Gatti et al. (2003), *A. fumigatus* representou 6,54% das espécies fúngicas detectadas em amostras de pimenta preta. O principal motivo da importância da espécie *A. fumigatus* decorre pelo fato que este fungo é um patógeno oportunista humano, causando a aspergilose, uma doença respiratória adquirida ambientalmente, a qual afeta cerca de 4,8 milhões de pessoas no mundo (GARCIA et al., 2018; WANG

et al., 2022; YOGENDRARAJAH et al., 2014). Esta doença afeta principalmente pacientes com comorbidades pulmonares ou imunocomprometidos, em tratamentos de cânceres. A aspergilose não tratada, e especialmente a aspergilose invasiva que é a manifestação mais grave da infecção, é a principal causa de mortalidade nesses pacientes (HOLLomon, 2017). Recentemente a aspergilose também tem sido relatada em pacientes internados com Covid-19 (FRAAIJE, et al., 2020).

Para o tratamento da aspergilose são utilizados fármacos fungicidas à base de azóis. Entretanto, há relatos de perda de eficácia deste fármaco associada à emergência de linhagens resistentes de *A. fumigatus*, nas quais foram detectadas mutações no gene CYP51A que resultaram em alterações de aminoácidos na proteína alvo do fungicida (BERGER, et al., 2017). Há evidências de que algumas dessas mutações no gene CYP51A podem ter emergido não apenas em resposta ao uso prolongado desses fármacos, mas também à pulverização de fungicidas triazóis na agricultura, usados para combater fungos patogênicos de plantas (BURKS, et al., 2021). Assim, a emergência de linhagens de *A. fumigatus* resistentes aos azóis no ambiente deve ser entendida como efeito secundário das pulverizações agrícolas de triazóis no campo, uma vez que o fungo não é patógeno de planta.

Subsequentemente, essas linhagens de *A. fumigatus* resistentes aos azóis selecionadas no campo, podem se associar a produtos da agricultura, como a pimenta-do-reino, e contaminá-los em algum passo da cadeia produtiva industrial e comercial (BRUNN et al., 2022; SILVA, 2017).

No caso específico de especiarias como a pimenta-do-reino, até o momento se desconhece estudos no país ou no mundo que demonstrem a contaminação do produto com linhagens de *A. fumigatus* resistentes a azóis.

Nesse contexto, a proposta de pesquisa é uma iniciativa relevante de monitoramento da contaminação de amostras comerciais de pimenta preta no Brasil por linhagens de *A. fumigatus* resistentes a triazóis, cujos resultados poderão evidenciar riscos potenciais ao consumo, com consequências à saúde da população imunocomprometida.

Por conseguinte, o objetivo deste estudo é avaliar a sensibilidade do fungo *A. fumigatus* obtidos de amostras comerciais de pimenta preta em grãos a fungicida triazol, buscando-se evidências fenotípicas e genotípicas da resistência.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. ASPECTOS GERAIS E PRODUÇÃO DA PIMENTA-DO-REINO

A pimenta-do-reino (*Piper nigrum* L.) é uma espécie semi-lenhosa, perene e trepadeira, pertencente à família Piperaceae, de origem asiática, é cultivada no Brasil nos estados do Pará, Bahia e Espírito Santo, os quais possuem condições de clima, umidade e solo favoráveis para o estabelecimento de campos comerciais da especiaria (IBGE, 2021; (PARACAMPO et al., 2022). O clima ideal para seu desenvolvimento é o quente úmido, com precipitação pluviométrica anual superior a 1800 mm, umidade relativa do ar acima de 80% e temperatura média variando de 25 a 27°C. Além do mais, como outras espécies trepadeiras, a pimenteira demanda de suportes para seu bom desenvolvimentos, esses podendo ser um tutor vivo como a gliricídia (*Gliricídia sepium*) e nim (*Azadirachta indica*), ou um tutor morto como a maçaranduba (*Manilkara huberi* Standley) e jarana (*Holopyxidium jarana* Huber Ducke) (EMBRAPA, 2004).

No estado do Espírito Santo as principais cultivares comerciais são: Bragantina BR-124, laçara, Guajarina BR-353, Kottanadan e Cingapura BR-019. Com finalidade industrial é preferível cultivar Kottanadan, para extração de oleorresina e óleos essenciais. Em cultivos consorciados com milho e feijão, pode se utilizar a cultivar Bragantina, para geração de renda no período inicial da lavoura (DRAGO et al., 2018;(ALIXANDRE et al., 2022).

Existem mais de 100 variedades de pimenta-do-reino conhecidas mundialmente, mesmo que poucas sejam utilizadas comercialmente, essa diversidade é um importante banco de dados para o melhoramento genético (KRISHNAMOORTHY; PARTHASARATHY, 2010), principalmente pelo motivo que a doença mais importante da pimenta-do-reino, a *fusariose* (*Fusarium solani* f. sp. piperis Albuquerque), não possui nenhuma medida eficiente de controle, elucidando a necessidade de cultivares com alto rendimento, resistência a estresses bióticos e abióticos, associados a bons parâmetros de qualidade (GOMES FILHO; SANTOS; AMORIM, 2020).

2.2. CONTAMINAÇÃO MICROBIOLÓGICA DA PIMENTA-DO-REINO

O solo e o ar são as principais fontes de inóculo que podem causar a contaminação microbiológica em especiarias durante o período de produção agrícola, como também, o contágio pode ocorrer nas fases de processamento, armazenamento, distribuição e comercialização do condimento. Na pimenta-do-reino há uma prevalência da contaminação por fungos que foram aerotransportados (RANI SK & SAXENA 2022), essas partículas depositadas nas plantas são capazes de sobreviver as fases de secagem e armazenamento, as quais submetidas à temperatura ambiente em climas tropicais e por períodos prolongados, favorecem o crescimento fúngico (NGUEGWOUO et al., 2018).

Como o padrão de consumo da pimenta-do-reino não passa por um processo de cocção (polvilhado), o condimento é potencialmente uma fonte de doenças transmitidas por alimentos (DTAs), dentre os agentes etiológicos, as bactérias se sobressaem entre as DTAs, mas no Brasil as condições são favoráveis a proliferação de fungos que podem contaminar os alimentos, sobretudo o gênero *Aspergillus* spp. que representa um risco a saúde humana por ter representantes toxigênicos com *A. flavus* que produz aflatoxinas e agentes que acarretam infecções respiratórias como *A. fumigatus* (OLIVEIRA et al., 2016; COSTA et al., 2020; FAO & WHO, 2020).

2.3. FUNGICIDA TEBUCONAZOL

Dentre os defensivos agrícolas, os fungicidas se destacam por perfazerem 20% do total de agroquímicos aplicados (SINDIVEG, 2022). A nível mundial, a classe dos triazóis compõe o maior e mais importante grupo de produtos que visam o controle de fungos em animais e plantas, inclusive são os fungicidas mais utilizados na agricultura (GRAIN, 2019).

Desde 1992, o composto triazólico tebuconazol (1-(4-clorofenil)-4,4-dimetil-3-(1,2,4-triazol-1-il metil)pentan-3-ol) é pulverizado em diversas culturas como soja, milho, arroz, frutas e vegetais (LEE; LEE; PARK, 2023; PODBIELSKA et al., 2023). Esse ingrediente ativo atua como fungicida sistêmico, o qual ao ser aplicado na planta é translocado por meio da seiva atingindo todos os tecidos, promovendo uma atividade protetora quando ainda não houve infecção do patógeno, e curativa no momento que a infecção estiver estabelecida (FORCELLINI, 1994; ARRIEL, 2018)

O tebuconazol possui um tempo necessário para dissipação de 50% (meia vida) variando de 49 a 610 dias em condições aeróbias, seu uso frequente propicia o

acúmulo em solos e pode causar riscos em seu ecossistema e em águas superficiais e subterrâneas (TRUONG; DUYEN; VAN TOI, 2021). A exposição desse fungicida de amplo espectro é tóxico para muitas espécies não-alvo que sofrem pela mesma ação no sítio específico e são selecionadas, tornando-se resistentes (CAO et al., 2020). Além do mais, a longo prazo, esse composto pode ser classificado como um possível produto cancerígeno, hepatotóxicos e cardiotoxicos (SANTOS-MIRANDA et al., 2022).

2.4. *Aspergillus fumigatus* E ASPERGILOSE

Descrita pela primeira vez, em 1863, pelo médico alemão Georg Fresenius, a espécie *Aspergillus fumigatus* pertence ao gênero *Aspergillus*, à família Aspergillaceae, à classe Ascomycetos e à subclasse Euascomycetae. Seu epíteto específico *fumigatus* provém do latim "fumigave" que significa fumaça e faz alusão ao seu micélio de aspecto aveludado e coloração azul acinzentada (CARVALHO, 2013).

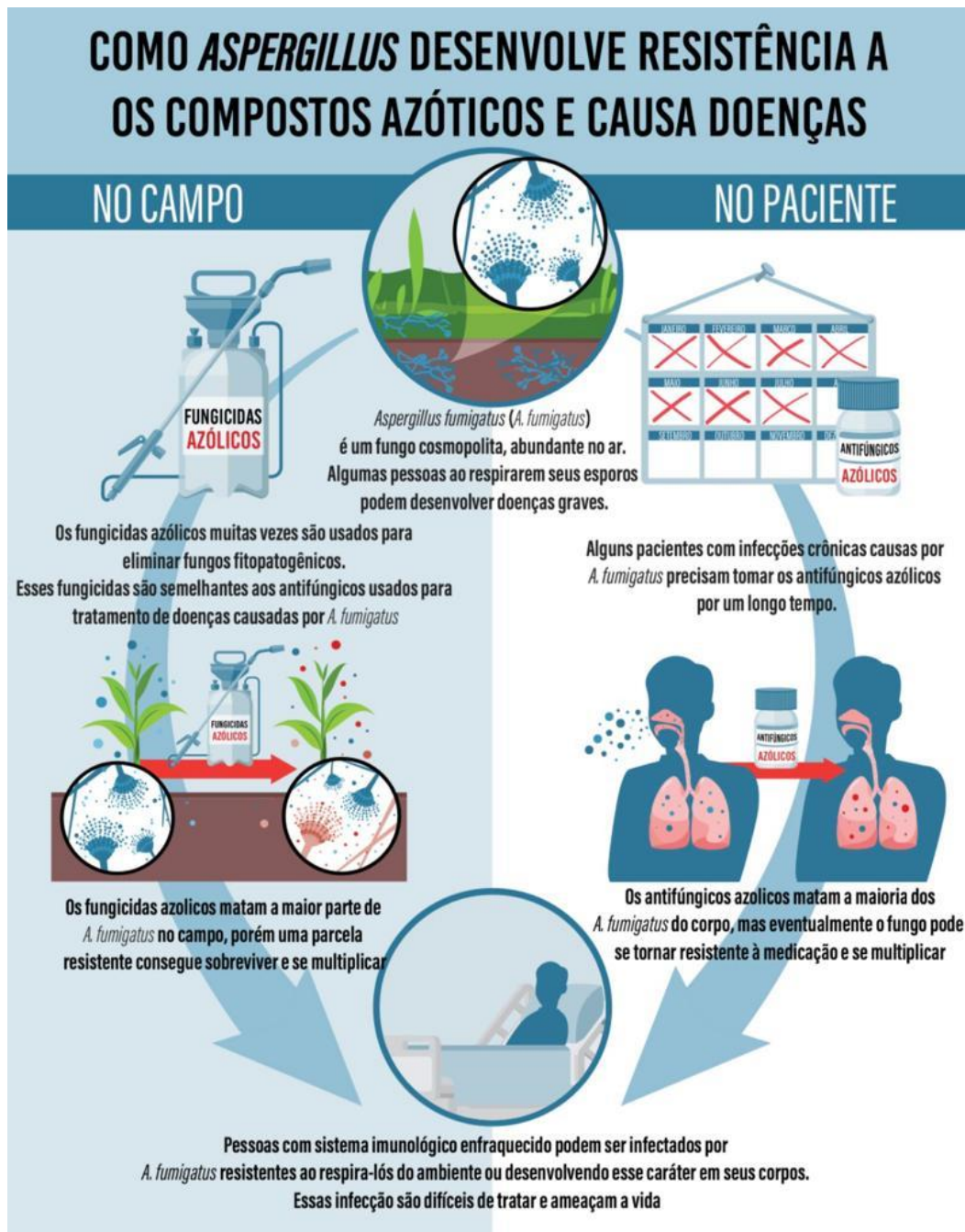
Esse fungo saprofítico e cosmopolita é bem adaptado e majoritariamente se reproduz de forma assexuada (anamórfica), produzindo um grande número de pequenos esporos (conídios) transportados pelo ar e que podem sobreviver a uma ampla gama de condições ambientais e, portanto, são abundantes na água, solo e matéria orgânica em decomposição, da mesma forma, são capazes de serem encontrados em outros habitats como na vegetação, poeira doméstica, ambientes hospitalares e em alimentos, principalmente os não cozidos (SA, 2018; MADIGAN., et al., 2004; ABAD et al., 2010). Além do mais, *A. fumigatus* é um patógeno oportunista e está entre as principais causas de infecção grave em indivíduos imunocomprometidos (KULAS et al., 2021), ocasionando um quadro clínico conhecido como Aspergilose, o qual também pode ser provocado, embora em menor frequência, por outras espécies de *Aspergillus*, como *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger* e *Aspergillus oryzae* (VERGARA et al., 2015);(ABREU et al., 2022).

O termo Aspergilose refere-se a um quadro de manifestações clínicas e radiológicas que dependem diretamente do estado imunológico do paciente. No pulmão a enfermidade pode provocar desde a inflamação local das vias aéreas até infecções mais graves como o Aspergiloma, aspergilose broncopulmonar alérgica (ABPA), aspergilose pulmonar crônica (CPA) e aspergilose invasiva (AI) (BEISSWENGER; HESS; BALS, 2012; KOREN FERNÁNDEZ et al., 2014). No geral a propagação pode ocorrer quando os esporos são depositados em rupturas

muco-cutâneas (queimaduras e traumas) ou pela porta de entrada mais comum, a inalação de conídios (CHALLA, 2018). Estima-se que os seres humanos inalem de 100 a 1000 conídios por dia e devido ao seu tamanho microscópico de 2 a 4 micrômetros, assim determinados esporos podem atingir os alvéolos pulmonares (SHEMESH et al., 2017); CHIARATTO, 2019). A exposição aos conídios é insignificante quando o sistema imunológico do indivíduo estiver intacto, pois as células epiteliais das vias aéreas e os macrófagos alveolares são responsáveis pela sua eliminação (FORTÚN et al., 2012; WIEDNER et al., 2012). Por consequência, a doença tem sido frequentemente relatada em pacientes com imunossupressão ou falhas da resposta imune celular, os quais incluem indivíduos submetidos a transplante de medula óssea (TMO), transplante de órgãos sólidos, portadores de infecção avançada por HIV, pacientes com leucemia aguda e pessoas em tratamentos de câncer (ALMALIKI et al., 2023; CARNEIRO et al., 2008) MURRAY et al., 2022).

As diversas formas clínicas de Aspergilose são tratadas com antifúngicos e em casos específicos, cirurgias são necessárias para a retirada de aspergilomas (MAERTENS et al., 2016). Para o tratamento são empregados três classes de antifúngicos: os poliênicos (Anfotericina B); as equinocandinas (Caspofungina e micafungina); e os triazóis (Voriconazol, Itraconazol e posaconazol). Para casos de CPA, por exemplo, é recomendado o uso de esteroides e terapia antifúngica de longo prazo, geralmente com um agente azólico ou triazólico (ROCHA, 2019). O tratamento de primeira linha para esse quadro pode chegar a 6 meses com administração de Itraconazol 200 mg duas vezes ao dia e voriconazol intravenoso 6 mg/kg a cada 12 horas, seguido pela dose de manutenção de 4 mg/kg a cada 12 horas. Em comparação, em reações de hipersensibilidade do pulmão aos esporos de *Aspergillus* spp (ABPA), é ministrado por cerca de 5 semanas, itraconazol 200 mg duas vezes ao dia e o corticoide Prednisolona 0,5 mg/kg/dia (RUSSO et al., 2020). Mesmo que há disponibilidade dessas drogas, muitas terapias estão se mostrando ineficiente, seja pelo uso frequente desses medicamentos que possibilita o surgimento de isolados resistentes ou pelos isolados ambientais resistentes que surgem em decorrência do uso excessivo desta classe de antifúngicos na agricultura, sendo que essa situação é um problema atual e representa grande ameaça para pacientes, principalmente os imunossuprimidos (Figura 1) (DOS REIS et al., 2023).

Figura 1. Como *Aspergillus* desenvolve resistência aos compostos azólicos e causa doenças



Fonte: Adaptado de CDC (2022).

2.5. RESISTÊNCIA AOS TRIAZÓIS

O primeiro composto azólico com atividade antifúngica foi evidenciado entre as décadas de 1940 e 1950, desde então, são amplamente utilizados no combate de infecções fúngicas nos ambientes clínicos e na agricultura são usados na proteção de cultivos (DRASKAU; SVINGEN, 2022). Desse modo, o tebuconazol, uma das

principais substâncias azólicas frequentemente empregadas nos cereais (HRYNKO et al., 2023) e o itraconazol, um antifúngico clínico utilizado a mais de 30 anos (QI et al., 2023), embora possuam estruturas químicas distintas, compartilham o anel azólico, triazol, o responsável pela ligação da enzima alvo CYP51 (VERWEIJ et al., 2022). Esses compostos são conhecidos como inibidores de desmetilação de esteróis (DMIs), possuem efeito fungistático e atuam no mesmo alvo na célula fúngica, o Lanosterol 14 α -desmetilase (ERG11 em *Saccharomyces cerevisiae* e CYP51A em *Aspergillus fumigatus*), essa enzima é reguladora da biossíntese do principal esteroide fúngico, o ergosterol (BERGER et al., 2017; DOUGHTY et al., 2021). Com a inativação do CYP51A, o lanosterol é acumulado e posteriormente sofre a atividade da Δ -5,6-desaturase, produzindo uma alta concentração de lanosterol desmetilado que é um esteroide tóxico para célula, visto que afeta a estrutura da membrana levando a sua fluidez e permeabilidade (SUETH-SANTIAGO et al., 2015).

De acordo com o Comitê de Ação a Resistência a Fungicidas (FRAC), a resistência é definida como uma redução adquirida e hereditária na sensibilidade de um fungo a um agente antifúngico ou fungicida específico. A resistência pode ser classificada como primária ou secundária, ambas ocorrem com os compostos azólicos. No primeiro caso, a característica depende diretamente do microrganismo sendo este resistente a uma substância antes da exposição e, a resistência secundária decorre em resposta a exposição a um agente antifúngico, a qual pode se desenvolver por vários mecanismos como (1) mutações no gene que codificam a enzima alvo ou sua superexpressão, (2) aumento da expressão da bomba de efluxo ou (3) por alterações celulares que conferem tolerância ao estresse ou toxicidade das drogas (GARCIA-RUBIO; MONTEIRO; MELLADO, 2021; SUETH-SANTIAGO et al., 2015).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. AMOSTRAS

Para obter as populações de *Aspergillus fumigatus*, adquiriu-se em mercados e armazéns do município de Ilha Solteira, no período de outubro de 2021, quatro amostras comerciais de pimenta do reino em grão, provenientes de diferentes fornecedores e regiões do estado de São Paulo (Tabela 1).

As amostras foram transportadas ao laboratório de fitopatologia molecular da Faculdade de Engenharia (FEIS/UNESP), em Ilha Solteira, onde as amostras foram armazenadas em temperatura ambiente sob condições laboratoriais.

Tabela 1. Amostras utilizadas para a obtenção de *Aspergillus fumigatus*.

Amostra	Origem
1	Estrela D'Oeste-SP
2	Ilha Solteira-SP
3	Mirassol-SP
4	Neves Paulista-SP

3.2. IDENTIFICAÇÃO MORFOLÓGICA E ISOLAMENTO DE *Aspergillus fumigatus*

Empregou-se a técnica de plaqueamento direto recomendada por Pitt & Hocking (2009) para processamento de amostras de alimentos visando a detecção de fungos. Realizou-se a disposição de cinco grãos equidistantes de pimenta do reino em placas contendo meio batata dextrose ágar (BDA), as quais foram incubadas a duas temperaturas distintas, a 25°C por 5-7 dias e a 37°C por 5-7 dias, posteriormente a contaminação fúngica foi expressa em porcentagem (%), frisando-se que a nível de gênero, foi realizada apenas as identificações macro e micromorfológicas.

Após incubação, as colônias individuais de cada placa de BDA foram transferidas para cultivo em meio de extrato de malte ágar (MEA) e incubadas novamente nas condições supracitadas (PITT & HOCKING, 2009). Para a identificação preliminar de que as colônias obtidas são típicas de *A. fumigatus*, foram observadas as características fenotípicas da colônia (cor, cor reversa, superfície, margem, elevação, forma, presença de exsudatos e forma das estruturas fúngicas), de acordo com Pitt & Hocking (2009), os registros foram documentadas digitalmente. Subsequente, analisou-se as características das estruturas fúngicas microscópicas produzidas pelos isolados obtidos para inferir sobre sua semelhança com estruturas morfológicas típicas de *A. fumigatus*. Para isso uma porção de micélio de cada colônia será transferida para lâminas de vidro com azul algodão diluído para análises e medições microscópicas.

Para armazenamento a longo prazo, colônias jovens do fungo foram transferidas em discos de papel filtro esterelizados de 0,5 cm de diâmetro sob meio BDA e incubados a 37°C por 5-7 dias até colonização completa pelo micélio fúngico. Os fragmentos de papel colonizados foram transferidos para criotubos com sílica gel para criopreservação a -20 °C.

3.3. IDENTIFICAÇÃO MOLECULAR

Para identificar os isolados selecionados a nível de espécie, submeteu-os a um ensaio de PCR, para o qual fragmentos de micélio com 2 cm² foram coletados de colônias cultivadas em meio BDA por 3 dias a 37°C e posteriormente liofilizados. O DNA genômico foi extraído do micélio liofilizado utilizando o kit Wizard® Genomic DNA Purification (Promega, EUA). O DNA foi quantificado em um espectrofotômetro Nanodrop® 2000c (Thermo Fisher Scientific, EUA) e diluído para concentração final de 25 ng µL⁻¹.

O procedimento de PCR operado foi a identificação rápida de *A. fumigatus*, descrito por Serrano et al., (2011). Empregou-se os primers de β-tubulina (Tabela 2) e as amplificações foram realizadas em um termociclador ProFlex PCR (Applied Biosystems, EUA), sob as seguintes condições: uma desnaturação inicial de 5 min a 95°C, seguida por 35 ciclos segmentados em desnaturação a 94°C durante 30 segundos; anelamento a 59,7°C durante 1 min e uma extensão a 72°C por 1,5 min e uma extensão final a 72°C durante 7 min. Com isso, identificou-se um total de 16 isolados de *A. fumigatus*,

Tabela 2. Primers de PCR direto (F) e reverso (R) empregados para a identificação de *Aspergillus fumigatus* e Primers PCR direto (F) e reverso (R) empregados para avaliação de variação no gene CYP51A relacionado a resistência a fungicidas triazóis em *A. fumigatus*

Alvo	Primers (5'-3')	Comprimento do fragmento	Referência
β-tubulina	β-tubulina-F TGACGGGTGATTGGGATCTC	198 bp	(SERRANO et al., 2001)
	β-tubulina-R CGTCCGCTTCTTCCTTGTTT		
CYP51A	51AF1 GGAGAAGGAAAGAAGCACTCT	2040 bp	(FRAAIJE et al.,2020)
	51AR1 CTGTCTCACTTGGATGTG		

3.4. TESTE DE SENSIBILIDADE AO FUNGICIDA TEBUCONAZOL

Os isolados confirmados de *A. fumigatus* foram submetidos a um teste para calcular a concentração efetiva para inibir 50% da atividade do patógeno (EC₅₀), para o fungicida Tebuconazol.

As culturas preservadas a -20°C de *A. fumigatus* foram reativadas em meio BDA e incubadas a 37°C, por 72h. Posteriormente, foram transferidos para novas placas de meio BDA suplementadas com diferentes concentrações do fungicida, 0, 0.03, 0.5, 2, 4, 8, 16 µg.mL⁻¹ (BRACKIN *et al.*, 2020). Essas placas foram vedadas com Parafilm® e incubadas a 37°C por 48 a 72 h, para a mensuração do crescimento micelial das colônias e o cálculo para determinar a EC₅₀ foi estimada utilizando o pacote do Software R studio *ec50estimator* atrelado a biblioteca *dcr* para a análise de curva gerada em relação às doses.

Obtendo-se os valores de sensibilidade do fungicida (EC₅₀), os isolados foram submetidos a uma análise de variação no gene alvo CYP51A. Para esse propósito, conduziu-se a metodologia de Fraaije *et al.* (2020), no ensaio PCR utilizou-se os primers CYP51A_51AF1 e CYP51A_51AR1 (complemento da Tabela 2), as condições de ciclo total para o par de primers foram uma desnaturação inicial de 5 min a 95°C, seguida por 35 ciclos segmentados em desnaturação a 94°C durante 30 segundos; anelamento a 59°C por 1 min e uma extensão a 72°C por 1,5 min e uma extensão final a 72°C durante 7 min.

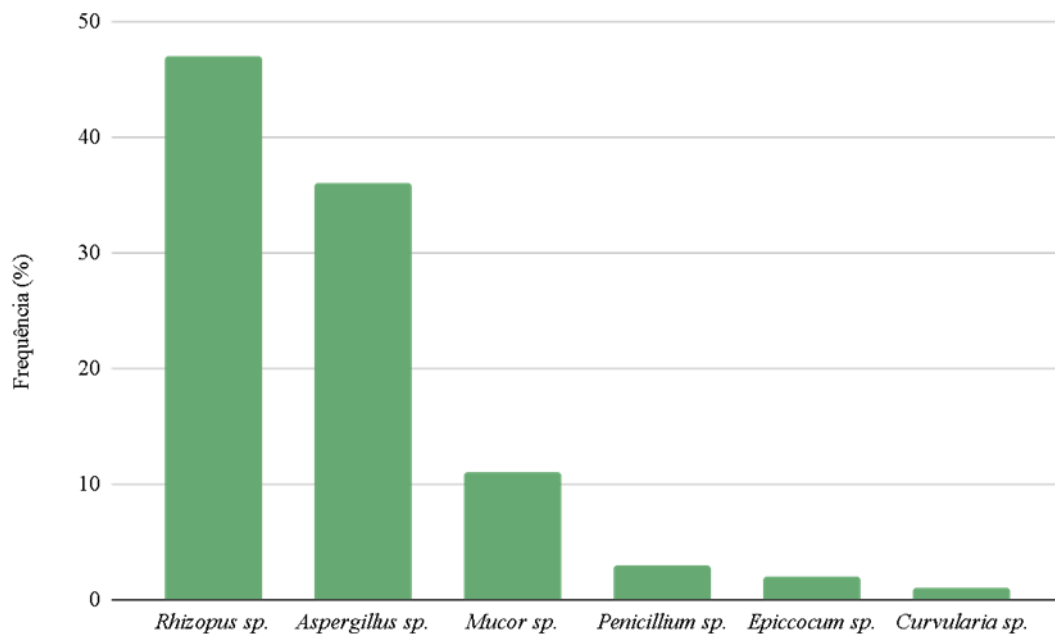
Os produtos de PCR foram purificados e sequenciados e purificados pela empresa MacroGen (Coréia do Sul), posteriormente, as sequências de DNA foram analisadas utilizando o Geneious R 9.0.5 (Biomatters, Auckland, Nova Zelândia) e comparadas com as sequências CYP51A-rDNA de uma espécie de *Aspergillus fumigatus* sensível a azóis (MG972984) (HARE *et al.*, 2019) disponível no banco de dados GenBank/NCBI.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os gêneros encontrados na pimenta do reino em grão foram *Rhizopus* spp (47%), *Aspergillus* spp. (36%), *Mucor* spp. (11%), *Penicillium* spp. (3%), *Epiccocum* spp. (25%) e *Curvularia* spp (1%) (Figura 2). NURTJAHJA *et al.*, (2019) em um estudo realizado na Indonésia evidenciaram que entre 10 especiarias avaliadas, o maior

número de isolados fúngicos deriva da pimenta do reino, com prevalência do gênero *Aspergillus*, sobretudo as espécies *A. niger* e *A. fumigatus*. Em outros estudos realizados no Brasil e Irã, também foi constatado o predomínio de *Aspergillus* nesse condimento (GARCIA; MALLMANN; COPETTI, 2018; MANSOURI et al., 2015), de forma que a maior frequência de *Rhizopus* no presente trabalho decorre de sua alta capacidade saprofítica e rápido crescimento (BAGGIO, 2012). Comparando-se com outras especiarias, a pimenta do reino é constantemente a mais colonizada por fungos, pois além de fatores como o local de origem, processamento e armazenamento, muitos condimentos possuem compostos antimicrobianos como o aldeído cinâmico, presente na canela, enquanto a superfície enrugada da pimenta do reino torna-se um local ideal para o crescimento fúngico (NORDIN et al., 2022).

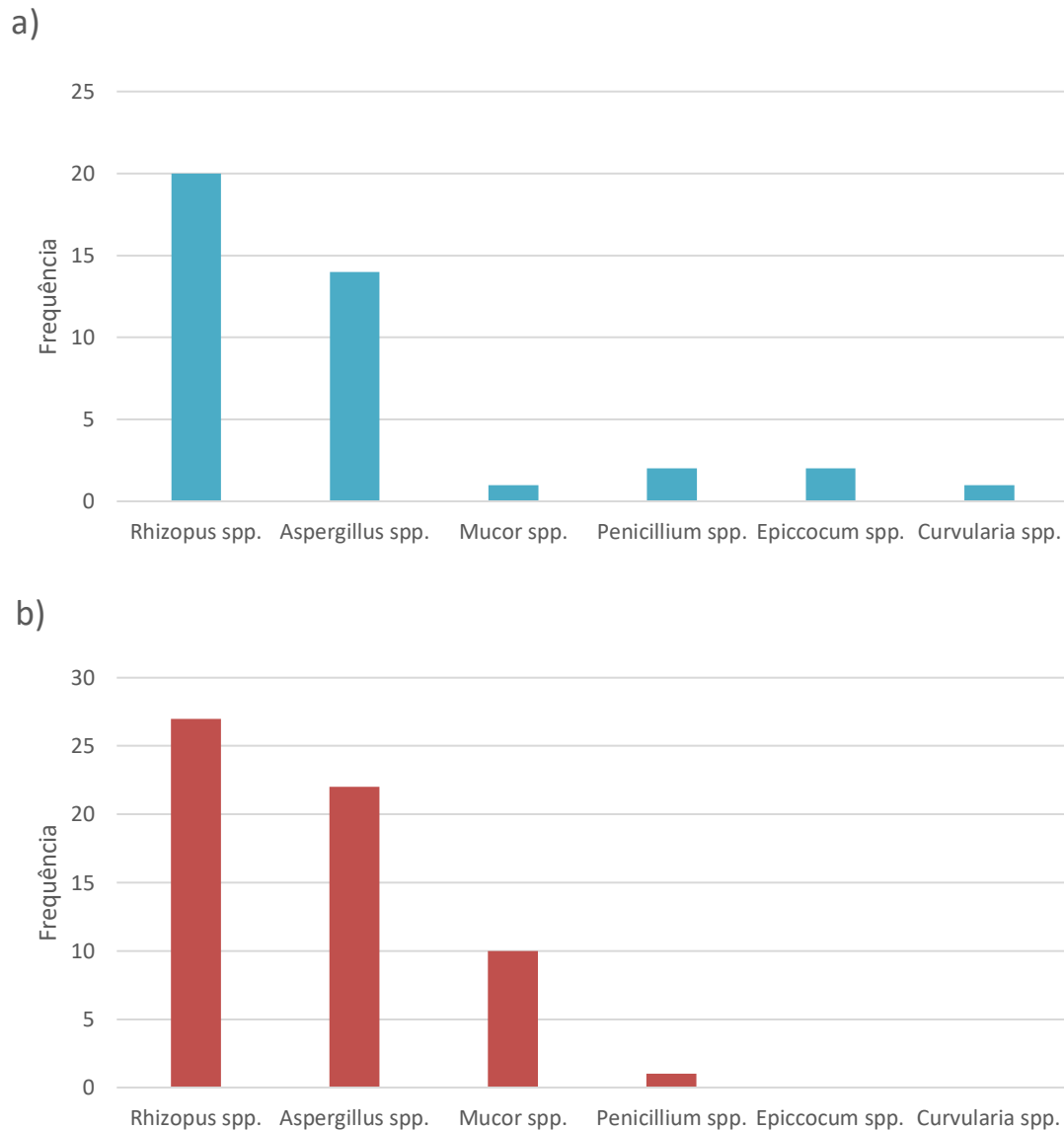
Figura 2. Frequência de gêneros fúngicos identificados de 4 amostras comerciais de pimenta do reino em grão



Ao destrinchar a frequência total dos gêneros fúngicos nas temperaturas de 25°C e 37°C (Figura 3), nota-se que *Rhizopus* e *Aspergillus* tiveram um comportamento semelhante nas duas temperaturas, já *Mucor* por sua vez apresentou um crescimento mais pronunciado a 37°C, nesta mesma temperatura, ocorreu uma redução na frequência de *Penicillium* e ausência dos gêneros *Epicoccum* e *Curvularia*. Assim como *Aspergillus* e *Rhizopus*, *Mucor* é um fungo termotolerante, podendo

crescer em uma faixa de 10 a 55°C enquanto a temperatura ótima de crescimento de *Epiccocum* é em torno de 20°C (CHRISTOVA;SLAVOV, 2021 ; HOFFMANN; DISCHER; VOIGT, 2007)

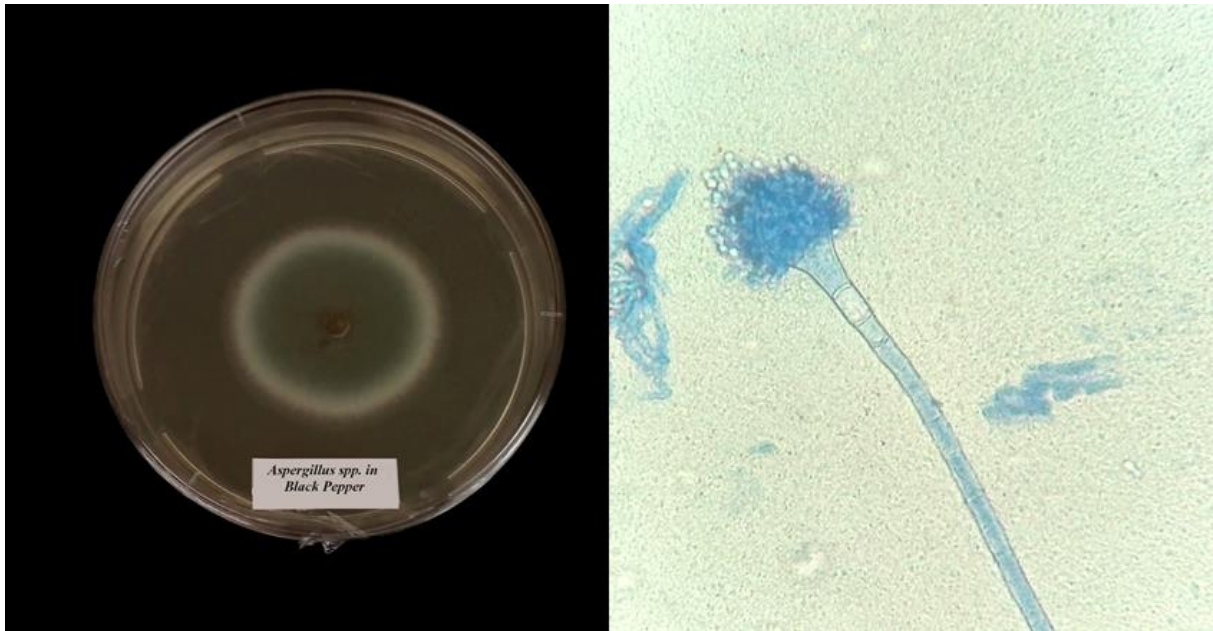
Figura 3. Frequência dos gêneros fúngicos identificados nas temperaturas de a) 25°C e b) 37°C



Dentro do gênero *Aspergillus* spp foram evidenciados 16 isolados de *Aspergillus fumigatus* (Figura 4) dos quais 10 isolados foram obtidos da amostra 4 (IA4G61, IA4G62, IA4G41, IA4G42, IA4G42, IA4G31, IA4G32, IA4G34, IA4G50 e IA4G13) e 6 da amostra 3 (IA3G32, IA3G3V, IA3G3V1, IA3G6V1, IA3G90 e IA3G92), nas amostras 1 e 2 não foi constatado nenhum isolado do patógeno. Esse contrastante é multifatorial, visto que além das boas práticas agrícolas, colheita,

secagem e manutenção da atividade de água durante as fases de armazenamento, transporte e comercialização, os fungos podem estar na superfície da pimenta do reino e ainda que o grão esteja na umidade adequada (menor igual a 12%), o gênero *Aspergillus* é xerófilo, logo, mesmo em condições adversas, os esporos fúngicos podem permanecer viáveis (Copetti et al. 2011 ; Silva 2017).

Figura 4. Colônia jovem de *Aspergillus spp* de pimenta-do-reino em meio de MEA (à esquerda) e aspecto morfológico das estruturas do fungo *A. fumigatus* observadas em microscopia óptica (à direita).



O fungicida tebuconazol promoveu a redução do crescimento micelial do fungo conforme o aumento da concentração do ingrediente ativo (Figura 5). Para os isolados IA4G5 e IA4G3.1 a concentração inibitória mínima (CIM) foi 16 mg.L⁻¹, cenário divergente para IA3G3V no qual a CIM foi 8 mg.L⁻¹ e para IA3G32V que foi de 4 mg.L⁻¹ (Tabela 3). Os valores da CIM de 16 mg.L⁻¹ foram constatados por Chen et al. (2018) em dois isolados ambientais de *A. fumigatus* que se averiguaram resistentes ao tebuconazol, enquanto nos isolados sensíveis ao fungicida a CIM foi variável entre 1 e 2 mg.L⁻¹, para isolados clínicos expostos ao tebuconazol, a CIM resultou em > 32 mg.L⁻¹ em cepas resistentes e os sensíveis variaram entre 0,5 a 4 mg.L⁻¹.

Figura 5. Isolado IA3G32V em meio BDA com concentrações gradativas de tebuconazol, 0, 0.03, 0.5, 2, 4, 8, 16 µg. mL⁻¹, no qual o primeiro fragmento não se depositou o produto e o último detinha a maior concentração.

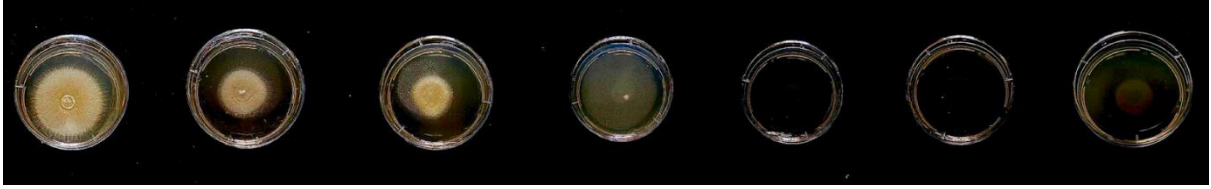


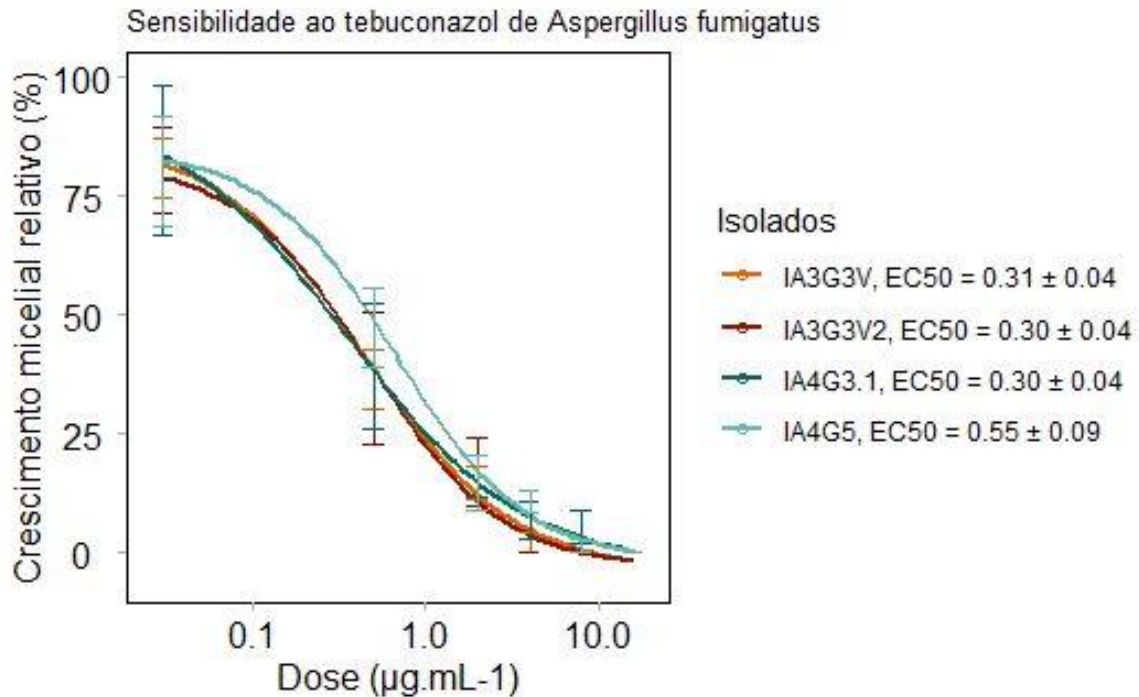
Tabela 3. Avaliação da sensibilidade *in vitro* de isolados de *Aspergillus fumigatus* submetidos a doses crescentes do fungicida DMI tebuconazol.

Isolado	Concentração (ppm)	Crescimento micelial relativo (%)						
		0	0,03	0,5	2	4	8	16
IA4G5		100,00	84,12	49,45	16,10	11,00	1,90	0,00
IA4G3.1		100,00	84,59	39,32	15,18	6,68	3,31	0,00
IA3G3V		100,00	82,59	39,82	14,15	1,02	0,00	0,00
IA3G32V		100,00	79,35	37,99	12,09	0,00	0,00	0,00

Por meio da fenotipagem de sensibilidade ao tebuconazol, obteve-se os valores de EC_{50} (Figura 6). Os isolados IA3G3V, IA3G32V e IA4G3.1 apresentaram valores semelhantes de EC_{50} (0,30, 0,30 e 0,31 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$) enquanto IA4G5 devolveu um valor superior de 0,55 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$. Jorgensen et al., (2021) compararam a EC_{50} de isolados clínicos de *A. fumigatus* com e sem mutações de resistência alcançando os valores de 32 e 4 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, enquanto em isolados de *A. fumigatus* amostrados de solos de campos de trigo comerciais na Alemanha, França e Reino Unido o valor de corte do tebuconazol foi de 3,0 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ (FRAAIJE et al., 2020). Embora esses resultados sejam discrepantes, atualmente não há valores de corte para definir a resistência ao tebuconazol (ZHOU et al., 2021), como também não há estudos que evidenciem a resistência a triazóis em *A. fumigatus* amostrados de fontes alimentícias.

Constata-se a relevância e necessidade de futuras pesquisas envolvendo essas temáticas visto que muitas cepas clínicas de *A. fumigatus* resistente aos triazóis foram propostas como originadas ambientalmente e dispersas a longas distâncias (YANG et al., 2022) e há evidências que a exposição do tebuconazol em ambientes agrícola a esse patógeno oportunista pode induzir a resistência ao itraconazol, voriconazol e posaconazol, os principais medicamentos usados no tratamento da aspergilose (CUI et al., 2019).

Figura 6. Curva dose-resposta do crescimento micelial relativo e EC_{50} (em $\mu\text{g. mL}^{-1}$) de isolados de *A. fumigatus* em pimenta-do-reino



A análise de variação do gene CYP51A revelou um polimorfismo não-sinônimo M172V. Polimorfismos ou as mutações não-sinônimas decorrem a partir da substituição de um aminoácido na cadeia polipeptídica que no presente estudo apresenta-se no isolado IA3G32V na referência MG972984 com a modificação da metionina pela valina (Figura 7). Desde 2001, uma combinação de substituição de aminoácidos do gene CYP51A (M172V, N248T, D255E, F46Y e E427K) tem sido frequentemente relatada no mundo e apresentando diferentes perfis de suscetibilidade a triazóis (GARCIA-RUBIO et al., 2018). Lavergne et al., (2019) identificaram uma cepa de *A. fumigatus* com F46Y/M172V/N248T/D255E/E427K suscetível a azóis, enquanto Xu et al., (2020) identificaram uma cepa resistente a dois triazóis clínicos que continha o polimorfismo M172V. Embora há registros de isolados tanto resistentes quanto suscetíveis que possuam essas modificações (FRAAIJE et al., 2020; SABINO et al., 2015), nenhum desses polimorfismos é correlacionado com um fenótipo de resistência a triazóis (SIMON et al., 2021).

Figura 7. Comparação de segmentos do gene CYP51A de isolados de *A. fumigatus* com representantes suscetíveis (MG972984 e IA3C6) ao tebuconazol

Consensus Identity	Ser	Ser	170 Gly	Arg	Met	Asp	Ile	Ser	Ala
1. IA3C6 CYP51A translation	Ser	Ser	Gly	Arg	Met	Asp	Ile	Ser	Ala
2. IA3G3_2V CYP51A translation	Ser	Ser	Gly	Arg	Val	Asp	Ile	Ser	Ala
3. IA3G3V CYP51A translation	Ser	Ser	Gly	Arg	Met	Asp	Ile	Ser	Ala
4. IA4G3_1 CYP51A translation	Ser	Ser	Gly	Arg	Met	Asp	Ile	Ser	Ala
5. IA4G5 CYP51A translation	Ser	Ser	Gly	Arg	Met	Asp	Ile	Ser	Ala
6. MG972984 translation	Ser	Ser	Gly	Arg	Val	Asp	Ile	Ser	Ala

5. CONCLUSÕES

A prevalência de *A. fumigatus* em alimentos comercializados representa um risco à saúde humana, principalmente a de indivíduos imunocomprometidos.

Não se verificou a resistência ao tebuconazol em isolados de *Aspergillus fumigatus* obtidos de amostras de pimenta-do-reino em grão. Contudo, as diferenças de sensibilidade ao triazol indicam uma possível ameaça no futuro.

Frisa-se a importância de estudos que visem a detecção de *Aspergillus fumigatus* e de seu perfil de sensibilidade a azóis fármacos e agrícolas em amostras de alimentos que são consumidas *in natura*, como também investigar possíveis métodos de desinfecção para eliminação do fungo.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABAD, A.; FERNÁNDEZ-MOLINA, J. V.; BIKANDI, J.; RAMÍREZ, A.; MARGARETO, J.; SENDINO, J.; HERNANDO, F. L.; PONTÓN, J.; GARAIZAR, J.; REMENTERIA, A. What Makes *Aspergillus Fumigatus* a Successful Pathogen? Genes and Molecules Involved in Invasive Aspergillosis. **Revista iberoamericana de micologia**, v. 27, n. 4, p. 155–182, 23 out. 2010.

ABREU, D.; SILVA, D.; PLÁCIDO, J. Aspergilose broncopulmonar alérgica. **Revista portuguesa de imunoalergologia**, v. 30, n. 2, p. 85–100, 2022.

ALIXANDRE, R. D.; LIMA, P. A. M. D.; BERNABÉ, J. C. P.; MACETTE, H. A.; CATEM, D. D. S.; HOLTZ, F. G.; JACOMINO, G. R. de L.; ALIXANDRE, F. T. CONTEXTUALIZAÇÃO DA CULTURA DA PIMENTA-DO-REINO NO BRASIL. *Em: Ciências Agrárias: o avanço da ciência no Brasil - Volume 5.* [s.l.] Editora Científica Digital, 2022. p. 130–147.

ALMALIKI, H. S.; NIU, M.; KELLER, N. P.; YIN, G.; BENNETT, J. W. Mutational Analysis of *Aspergillus Fumigatus* Volatile Oxylipins in a Drosophila Eclosion Assay. **Journal of fungi (Basel, Switzerland)**, v. 9, n. 4, 2023.

ALVAREZ-MORENO, C.; LAVERGNE, R.; HAGEN, F.; MORIO, F.; MEIS, F.; F. PAPE, P. Fungicide-driven alterations in azole-resistant *Aspergillus fumigatus* are related to vegetable crops in Colombia, South America. **Mycologia**, [S.L.], v. 111, n. 2, p. 217-224, 4. 2019.<http://dx.doi.org/10.1080/00275514.2018.1557796>

ARRIEL, A. R. **Efeito dos fungicidas à base de tebuconazol e difenoconazol na mitose de *Lactuca sativa* L. e *Allium cepa* L.** Dissertação de mestrado acadêmico - Universidade Federal de Lavras, 2018.

BAGGIO, J. S. **Penetração de *Rhizopus stolonifer* em pêssegos não injuriados e progresso espaço-temporal da podridão mole.** Dissertação de Mestrado. Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” (ESALQ-USP), Piracicaba, 2012.

BEISSWENGER, C.; HESS, C.; BALS, R. *Aspergillus Fumigatus* Conidia Induce Interferon- β Signalling in Respiratory Epithelial Cells. **The European respiratory journal: official journal of the European Society for Clinical Respiratory Physiology**, v. 39, n. 2, p. 411–418, 2012.

BERGER, S.; EL CHAZLI, Y.; BABU, A. F.; COSTE, A. T. Azole Resistance in *Aspergillus fumigatus*: A Consequence of Antifungal Use in Agriculture? **Frontiers in microbiology**, v. 8, p. 1024, 2017.

BRACKIN, A. P.; SHELTON, J. M. G.; ABDOLRASOULI, A.; FISHER, M. C.; SEWELL, T. R. A Low-Cost Tebuconazole-Based Screening Test for Azole-Resistant *Aspergillus Fumigatus*. **Current protocols in microbiology**, v. 58, n. 1, p. e112, 2020.

BRUNN, Ariel; KADRI-ALABI, Zaharat; MOODLEY, Arshnee; GUARDABASSI, Luca; TAYLOR, P.; MATEUS, A.; WAAGE, J.. Characteristics and global occurrence of human pathogens harboring antimicrobial resistance in food crops: a scoping review. **Frontiers In Sustainable Food Systems**, [S.L.], v. 6, p. 1-19, 2022. <http://dx.doi.org/10.3389/fsufs.2022.824714>.

BURKS, C.; DARBY, A.; LONDOÑO, L. G.; MOMANY, M.; BREWER, M. T.. Azole-resistant *Aspergillus fumigatus* in the environment:: identifying key reservoirs and hotspots of antifungal resistance. **Plos Pathogens**. São Francisco, p. 1-15. 2021. Public Library of Science (PLOS). <http://dx.doi.org/10.1371/journal.ppat.1009711>

CAO, D.; WU, R.; DONG, S.; WANG, F.; JU, C.; YU, S.; XU, S.; FANG, H.; YU, Y. Triazole Resistance in *Aspergillus fumigatus* in Crop Plant Soil after Tebuconazole Applications. **Environmental pollution** , v. 266, n. Pt 1, p. 115124, 2020.

CARNEIRO, A. C. C.; LEMOS, A. C. M.; ARRUDA, S. M.; SANTANA, M. A. P. S. Prevalence of Allergic Bronchopulmonary Aspergillosis in Patients with Cystic Fibrosis in the State of Bahia, Brazil. **Jornal brasileiro de pneumologia: publicacao oficial da Sociedade Brasileira de Pneumologia e Tisiologia**, v. 34, n. 11, p. 900–906, 2008.

CARVALHO, L. I. C. ***Aspergillus* e aspergilose - Desafios no combate da doença.** Dissertação de Mestrado - Universidade Fernando Pessoa, Porto, 2013.

CDC, **Center of Disease Control and Prevention**. Azole-resistance *Aspergillus* infographic. Disponível em <https://www.cdc.gov/fungal/diseases/aspergillosis/azole-resistant-aspergillus.html>

CHALLA, S. Pathogenesis and Pathology of Invasive Aspergillosis. *Current fungal infection reports*, v. 12, n. 1, p. 23–32, 2018.

CHEN, Y.; DONG, F.; ZHAO, J.; FAN, H.; QIN, C.; LI, R.; VERWEIJ, P. E.; ZHENG, Y.; HAN, L. High Azole Resistance in *Aspergillus Fumigatus* Isolates from Strawberry Fields, China, 2018. **Emerging infectious diseases**, v. 26, n. 1, p. 81–89, jan. 2020.

CHRISTOVA, P. K.; SLAVOV, S. B. **Epicoccum nigrum – isolation, characterization and potential for biological control of Botrytis cinerea**. 2021

CHIARATTO, J. **Caracterização de fatores de transcrição de *Aspergillus fumigatus* importantes para respostas a diferentes estresses**. Dissertação de mestrado - Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto. Ribeirão Preto, 2019.

COPETTI, M. V.; IAMANAKA, B. T.; FRISVAD, J. C.; PEREIRA, J. L.; TANIWAKI, M. H. Mycobiota of Cocoa: From Farm to Chocolate. **Food microbiology**, v. 28, n. 8, p. 1499–1504, dez. 2011.

COSTA, B. Évelyn G. N.; OLIVEIRA, B. S. de .; CORREIA, D. C. da S.; FERNANDES, K. L. de A.; COELHO, L. B. dos M.; LEAL, M. M. F. V.; GUIMARÃES, M. A. L.; MAIA, P.; ALVES, Y. L. C.; LOCATELLI, G. O. Contaminações alimentares por *Aspergillus* spp. e o papel do nutricionista: uma revisão. **Evidência**, [S. l.], v. 20, n. 1, p. 69–80, 2020. DOI: 10.18593/eba.24708.

CUI, N.; HE, Y.; YAO, S.; ZHANG, H.; REN, J.; FANG, H.; YU, Y. Tebuconazole Induces Triazole-Resistance in *Aspergillus Fumigatus* in Liquid Medium and Soil. **The Science of the total environment**, v. 648, p. 1237–1243, 2019.

DOS REIS, T. F.; DE CASTRO, P. A.; BASTOS, R. W.; PINZAN, C. F.; SOUZA, P. F. N.; ACKLOO, S.; HOSSAIN, M. A.; DREWRY, D. H.; ALKHAZRAJI, S.; IBRAHIM, A. S.; JO, H.; LIGHTFOOT, J. D.; ADAMS, E. M.; FULLER, K. K.; DEGRADO, W. F.; GOLDMAN, G. H. A Host Defense Peptide Mimetic, Brilacidin, Potentiates Caspofungin Antifungal Activity against Human Pathogenic Fungi. **Nature communications**, v. 14, n. 1, p. 2052, 2023.

DOUGHTY, K. J.; SIEROTZKI, H.; SEMAR, M.; GOERTZ, A. Selection and Amplification of Fungicide Resistance in *Aspergillus fumigatus* in Relation to DMI Fungicide Use in Agronomic Settings: Hotspots versus Coldspots. **Microorganisms**, v. 9, n. 12, 2021. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.3390/microorganisms9122439>>.

DRAGO, P. D.; MANGEIRO, M. D.; CARMO, K. B.; SANTOS, M. M.; SARTORI, A. P. R.; DALEPRANE, F. Consorcio de Pimenta-do-Reino com as culturas de milho e feijão. **SEAGRO**, Anais de Semana Acadêmica do Curso de Agronomia do CCAE/UFES, v. 2, n. 1, 2018.

DRASKAU, M. K.; SVINGEN, T. Azole Fungicides and Their Endocrine Disrupting Properties: Perspectives on Sex Hormone-Dependent Reproductive Development. **Frontiers in toxicology**, v. 4, p. 883254, 2022.

EMBRAPA. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Manual de Segurança e Qualidade para a Cultura da Pimenta-do-Reino. Brasília: **Série Qualidade e Segurança dos Alimentos**, 65 p., 2004.

FAO & WHO Microbiological hazards in spices and dried aromatic herbs. Meeting report. Microbiological Risk Assessment Series n. 27, Roma, 2020.

FORCELLINI, C. A. Fungicidas inibidores da síntese de esteróis. I. Tiazoles. Revisão Anual de Patologia de Plantas, v.2, p.335-355, 1994.

FORTÚN, J.; MEIJE, Y.; FRESCO, G.; MORENO, S. Aspergilosis. Formas clínicas y tratamiento. **Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica**, v. 30, n. 4, p. 201–208, 2012.

FRAAIJE, B.; ATKINS, S.; HANLEY, S.; MACDONALD, A.; LUCAS, J. The Multi-Fungicide Resistance Status of *Aspergillus fumigatus* Populations in Arable Soils and the Wider European Environment. **Frontiers in microbiology**, v. 11, p. 599233, 2020.

FREIRE, C. O.; KOZAKIEWICZK, Z.; RUSSELL, R.; PATERSON, M. Mycoflora and mycotoxins in Brazilian black pepper, white pepper and Brazil nuts. **Mycopathologia**, v. 149, p.13-19, 2000.

GARCIA, M. V.; MALLMANN, C. A.; COPETTI, M. V. Aflatoxigenic and Ochratoxigenic Fungi and Their Mycotoxins in Spices Marketed in Brazil. **Food research international**, v. 106, p. 136–140, 2018.

GARCIA, M. V.; PARUSSOLO, Gi.; MORO, C. B. BERNARDI, A. O.; COPETTI, M. Vi. Fungi in spices and mycotoxigenic potential of some *Aspergillus* isolated. **Food Microbiology**, v. 73, p. 93-98, 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fm.2018.01.013>.

GARCIA-RUBIO, R.; ALCAZAR-FUOLI, L.; MONTEIRO, M. C.; MONZON, S.; CUESTA, I.; PELAEZ, T.; MELLADO, E. Insight into the Significance of *Aspergillus fumigatus* cyp51A Polymorphisms. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 62, n. 6, 2018. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1128/AAC.00241-18>>.

GARCIA-RUBIO, R.; MONTEIRO, M. C.; MELLADO, E. Azole Antifungal Drugs: Mode of Action and Resistance. *Em*: ZARAGOZA, Ó.; CASADEVALL, A. **Encyclopedia of Mycology**. Oxford: Elsevier, p. 427–437, 2021.

GATTI, M. J.; FRAGA, M. E.; MAGNOLI, C.; DALCERO, A. M.; ROSA, C. A. da Rocha. Mycological survey for potential aflatoxin and ochratoxin producers and their toxicological properties in harvested Brazilian black pepper. **Food Additives & Contaminants**, v. 20, n. 12, p. 1120-1126, 2003. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2018.01.013>

GOMES FILHO, J.; SANTOS, E. B. dos S.; AMORIM, E. P. da R. Controle da fusariose (*Fusarium solani* f. sp. piperis) em pimenta-do-reino cv. Bragantina com extratos brutos aquosos e fungicida. **Summa phytopathologica**, v. 46, n. 1, p. 49–52, 2020.

GRAIN, The rise of the superbugs - and why industrial farming is to blame. Espanha, 2019.

HARE, R. K.; GERTSEN, J. B.; ASTVAD, K. M. T.; DEGN, K. B.; LØKKE, A.; STEGGER, M.; ANDERSEN, P. S.; KRISTENSEN, L.; ARENDRUP, M. C. In Vivo Selection of a Unique Tandem Repeat Mediated Azole Resistance Mechanism (TR120) in *Aspergillus Fumigatus* cyp51A, Denmark. **Emerging infectious diseases**, v. 25, n. 3, p. 577–580, 2019.

HOFFMANN, K.; DISCHER, S.; VOIGT, K. Revision of the Genus *Absidia* (Mucorales, Zygomycetes) Based on Physiological, Phylogenetic, and Morphological Characters; Thermotolerant *Absidia* Spp. Form a Coherent Group, Mycocladiaceae Fam. Nov. **Mycological research**, v. 111, n. Pt 10, p. 1169–1183, out. 2007.

HOLLOMON, D. Does agricultural use of azole fungicides contribute to resistance in the human pathogen *Aspergillus fumigatus*? **Pest Management Science**, [S.L.], v. 73, n. 10, p. 1987-1993, 2017. <http://dx.doi.org/10.1002/ps.4607>.

HRYNKO, I.; KACZYŃSKI, P.; WOŁEJKO, E.; ŁOZOWICKA, B. Impact of Technological Processes on Tebuconazole Reduction in Selected Cereal Species and the Primary Cereal Product, and Dietary Exposure Assessment. **Food chemistry**, v. 422, p. 136249, 2023.

IBGE. **Levantamento sistemático de produção agrícola**. Safras agrícolas da Pimenta-do-reino., Disponível em <https://sidra.ibge.gov.br/tabela/6588#resultado> Acessado em: 22 Jan 2023

JØRGENSEN, K. M.; HELLEBERG, M.; HARE, R. K.; JØRGENSEN, L. N.; ARENDRUP, M. C. Dissection of the Activity of Agricultural Fungicides against Clinical *Aspergillus* Isolates with and without Environmentally and Medically Induced Azole Resistance. **Journal of fungi (Basel, Switzerland)**, v. 7, n. 3, 11, 2021. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.3390/jof7030205>>.

KANG, S E.; SUMABAT, Leilani G.; MELIE, T.; MANGUM, B.; MOMANY, M.; BREWER, M. T. Evidence for the agricultural origin of resistance to multiple antimicrobials in *Aspergillus fumigatus*, a fungal pathogen of humans. **G3**. p. 1-9. 2022. <https://doi.org/10.1093/g3journal/jkab427>.

KOREN FERNÁNDEZ, L.; ALONSO CHARTERINA, S.; ALCALÁ-GALIANO RUBIO, A.; SÁNCHEZ NISTAL, M. A. [The different manifestations of pulmonary aspergillosis: multidetector computed tomography findings]. **Radiologia**, v. 56, n. 6, p. 496–504, 2014.

KRISHNAMOORTHY, B.; PARTHASARATHY, V. A. Improvement of Black Pepper. **CAB Reviews Perspectives in Agriculture Veterinary Science Nutrition and Natural Resources**, v. 2010, n. 003, p. 1–12, 2010.

KULAS, J.; TUCOVIC, D.; ZELJKOVIC, M.; POPOVIC, D.; POPOV ALEKSANDROV, A.; UKROPINA, M.; CAKIC MILOSEVIC, M.; GLAMOCLIJA, J.; KATARANOVSKI, M.; MIRKOV, I. Proinflammatory Effects of Environmental Cadmium Boost Resistance to Opportunistic Pathogen *Aspergillus fumigatus*: Implications for Sustained Low-Level Pulmonary Inflammation? **Toxicology**, v. 447, p. 152634, 2021.

LAVERGNE, R.-A.; MORIO, F.; DANNER-BOUCHER, I.; HOREAU-LANGLARD, D.; DAVID, V.; HAGEN, F.; MEIS, J. F.; LE PAPE, P. One Year Prospective Survey of Azole Resistance in *Aspergillus fumigatus* at a French Cystic Fibrosis Reference

Centre: Prevalence and Mechanisms of Resistance. **The Journal of antimicrobial chemotherapy**, v. 74, n. 7, p. 1884–1889, 2019.

LEE, W.-Y.; LEE, R.; PARK, H.-J. Tebuconazole Induces ER-Stress-Mediated Cell Death in Bovine Mammary Epithelial Cell Lines. **Toxics**, v. 11, n. 4, 2023. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.3390/toxics11040397>>.

MADIGAN, M. T.; MARTINKO, J. M.; PARKER, J. Microbiologia de Brock. 10a Ed. São Paulo: **Prentice Hall do Brasil**, 2004.

MAERTENS, J. A.; RAAD, I. I.; MARR, K. A.; PATTERSON, T. F.; KONTOYIANNIS, D. P.; CORNELLY, O. A.; BOW, E. J.; RAHAV, G.; NEOFYTOS, D.; AOUN, M.; BADDLEY, J. W.; GILADI, M.; HEINZ, W. J.; HERBRECHT, R.; HOPE, W.; KARTHAUS, M.; LEE, D.-G.; LORTHOLARY, O.; MORRISON, V. A.; OREN, I.; SELLESLAG, D.; SHOHAM, S.; THOMPSON, G. R., 3rd; LEE, M.; MAHER, R. M.; SCHMITT-HOFFMANN, A.-H.; ZEIHNER, B.; ULLMANN, A. J. Isavuconazole versus Voriconazole for Primary Treatment of Invasive Mould Disease Caused by *Aspergillus* and Other Filamentous Fungi (SECURE): A Phase 3, Randomised-Controlled, Non-Inferiority Trial. **The Lancet**, v. 387, n. 10020, p. 760–769, 2016.

MAHGUBI, A. EI.; PUEL, O.; BAILLY., S.; TADRIST, S.; QUERIN, A.; OUADIA, A.; OSWALD, I.P.; BAILLY, J.D.. Distribution and toxigenicity of *Aspergillus* section Flavi in spices marketed in Morocco. **Food Control**, [S.L.], v. 32, n. 1, p. 143-148, 2013.

MAN, A.; MARE, A.; TOMA, F.; CURTICĂPEAN, A.; SANTACROCE, L. Health Threats from contamination of spices commercialized in Romania: risks of fungal and bacterial infections. **Endocrine, Metabolic & Immune Disorders: Drug Targets..** [S.L.], p. 197-204., 2016. <https://doi.org/10.2174/1871530316666160823145817>

MANSOURI, M.; ZIBAFAR, E.; HASHEMI, S. J.; GERAMI SHOAR, M.; DAIE GHAZVINI, R. The Study of Fungal Contamination in Three Current Packed Spices in the Markets of Tehran: Brief Report. **Daru: journal of Faculty of Pharmacy, Tehran University of Medical Sciences**, v. 73, n. 3, p. 226–230, 2015.

MESQUITA ROCHA S *Aspergillus fumigatus*: general aspects and importance in contemporary medicine. **J Health Sci Inst** 37:169–73, 2019.

MOREIRA K. O, W.; MARTINS, B. H.; ALVES, F. L. MACHADO, R. C. S.; MENDONÇA, S.A.; SILVA, L. T. R. Production chain of black pepper in Brazil. **Nucleus**, v.18, n.2, p. 101–116, 2021. <https://doi.org/10.3738/1982.2278.3826>

MURRAY, P. R.; ROSENTHAL, K. S.; PFTALLER, M. A. Microbiologia médica. 9. ed. 856 p. **Editora Guanabara** Koogan, Rio de Janeiro, 2022.

NGUEGWOUO, E.; SONE, L. E.; TCHUENCHIEU, A.; TENE, H. M.; MOUNCHIGAM, E.; NJAYOU, N. F.; NAMA, G. M. Ochratoxin A in black pepper, white pepper and clove sold in Yaoundé (Cameroon) markets: contamination levels and consumers' practices increasing health risk. **International Journal of Food Contamination**, 2018) DOI 10.1186/s40550-017-0063-9

NORDIN, S.; SAMSUDIN, N. A.; ESAH, E. M.; ZAKARIA, L.; SELAMAT, J.; RAHMAN, M. A. H.; MAHROR, N. Prevalence, Identification and Mycotoxigenic Potential of Fungi

in Common Spices Used in Local Malaysian Cuisines. **Foods (Basel, Switzerland)**, v. 11, n. 17, 2022. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.3390/foods11172548>>.

NURTJAHJA, K.; ZUHRA, C. F.; SEMBIRING, H.; BUNGSU, A.; SIMANULLANG, J.; SILALAH, J. E.; GULTOM, B. N. L.; SARTINI, S. Fungal contamination spices from Indonesia with emphasis on *Aspergillus flavus*. **Czech Journal of Food Science**, v. 37, n. 5, p. 338–344, 31 out. 2019.

OLIVEIRA, P. A.; ARRUDA, G. L.; PEDRO, F. G. G.; OLIVEIRA, J. L.; HANH, R.; TAKAHARA, D. Contaminação fúngica em especiarias desidratadas comercializadas no Mercado do Porto de Cuiabá-MT. **Brazilian Journal of Food Research**, Campo Mourão, v. 7, n. 1, p. 149-160, 2016.

PARACAMPO, N. E. N.; ABREU, L. F.; DE LEMOS, O. F.; BOTH, J. P. C. QUALITY OF BLACK PEPPER PRODUCED IN NORTHEASTERN PARÁ. **REVISTA DE AGRICULTURA NEOTROPICAL**, v. 9, n. 3, p. e7020–e7020, 2022.

PITT, J. I.; HOCKING, A. D. **Fungi and food spoilage**. 3. ed. New York: Springer, 524 p., 2009.

PODBIELSKA, M.; KUS-LIŚKIEWICZ, M.; JAGUSZTYN, B.; SZPYRKA, E. Effect of Microorganisms on Degradation of Fluopyram and Tebuconazole in Laboratory and Field Studies. **Environmental science and pollution research international**, v. 30, n. 16, p. 47727–47741, 2023.

QI, J.; CHENG, W.; GAO, Z.; CHEN, Y.; SHIPTON, M. L.; FURKERT, D.; CHIN, A. C.; RILEY, A. M.; FIEDLER, D.; POTTER, B. V. L.; FU, C. Itraconazole Inhibits Endothelial Cell Migration by Disrupting Inositol Pyrophosphate-Dependent Focal Adhesion Dynamics and Cytoskeletal Remodeling. **Biomedicine & pharmacotherapy** v. 161, p. 114449, 2023.

RANI SK, S & SAXENA, N. Fungal Contamination of some Common Spices. **J Plant Sci Curr Res** 5: 014, 2022.

RUSSO, A.; TISEO, G.; FALCONE, M.; MENICHETTI, F. Pulmonary Aspergillosis: An Evolving Challenge for Diagnosis and Treatment. **Infectious diseases and therapy**, v. 9, n. 3, p. 511–524, 2020.

SA, M. M. **Aspergilose invasiva: Diagnóstico clínico, laboratorial e terapêutica preconizada**. Trabalho de conclusão de curso - Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2018.

SABINO, R.; FERREIRA, J. A. G.; MOSS, R. B.; VALENTE, J.; VERÍSSIMO, C.; CAROLINO, E.; CLEMONS, K. V.; EVERSON, C.; BANAEI, N.; PENNER, J.; STEVENS, D. A. Molecular Epidemiology of *Aspergillus* Collected from Cystic Fibrosis Patients. **Journal of cystic fibrosis: official journal of the European Cystic Fibrosis Society**, v. 14, n. 4, p. 474–481, 2015.

SANTOS-MIRANDA, A.; JOVIANO-SANTOS, J. V.; CRUZ-NASCIMENTO, T.; NERI, E. A.; SOUZA, D. S.; MARQUES, L. P.; KRIEGER, J. E.; ROMAN-CAMPOS, D. The Fungicide Tebuconazole Induces Electromechanical Cardiotoxicity in Murine Heart and Human Cardiomyocytes Derived from Induced Pluripotent Stem Cells. **Toxicology letters**, v. 359, p. 96–105, 2022.

SERRANO, R.; GUSMÃO, L.; AMORIM, A.; ARAUJO, R. Rapid Identification of *Aspergillus fumigatus* within the Section Fumigati. **BMC microbiology**, v. 11, p. 82, 2011.

SHEMESH, E.; HANF, B.; HAGAG, S.; ATTIAS, S.; SHADKCHAN, Y.; FICHTMAN, B.; HAREL, A.; KRÜGER, T.; BRAKHAGE, A. A.; KNIEMEYER, O.; OSHEROV, N. Phenotypic and Proteomic Analysis of the *Aspergillus fumigatus* Δ PrtT, Δ XprG and Δ XprG/ Δ PrtT Protease-Deficient Mutants. **Frontiers in microbiology**, v. 8, p. 2490, 2017.

SILVA, R. P. A. **Microbiota e Incidência de Aflatoxinas e Ocratoxina A em pimenta preta (*Piper nigrum* L.) comercializada no Brasil.** Dissertação de mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Campinas, SP: ITAL -Instituto Tecnologia de Alimentos, 2017.

SIMON, L.; DÉMÉAUTIS, T.; DUPONT, D.; KRAMER, R.; GARNIER, H.; DURIEU, I.; SÉNÉCHAL, A.; REIX, P.; COURAUD, S.; DEVOUASSOUX, G.; LINA, B.; RABODONIRINA, M.; WALLON, M.; DANNAOUI, E.; PERSAT, F.; MENOTTI, J. Azole Resistance in *Aspergillus fumigatus* Isolates from Respiratory Specimens in Lyon University Hospitals, France: Prevalence and Mechanisms Involved. **International journal of antimicrobial agents**, v. 58, n. 6, p. 106447, 2021.

SINDIVEG, Sindicato Nacional da Indústria de Produtos para Defesa Vegetal. **Mercado total de defensivos agrícolas por produto aplicado.** São Paulo, 2022

SUETH-SANTIAGO, V.; FRANKLIM, T. N.; LOPES, N. D.; LIMA, M. E. F. de. CYP51: Is it a good idea? **Revista Virtual de Química**, v. 7, n. 2, 2015. Disponível em: <<http://www.gnresearch.org/doi/10.5935/1984-6835.20150024>>.

TRUONG, P. L.; DUYEN, V. T. C.; VAN TOI, V. Rapid Detection of Tebuconazole Based on Aptasensor and Aggregation of Silver Nanoparticles. **Journal of nanomaterials**, v. 2021, 2021. Disponível em: <<https://www.hindawi.com/journals/jnm/2021/5532477/>>. Acesso em: 12 jun. 2023.

VERGARA, G. E.; ROURA, N.; DEL CASTILLO, M.; MORA, A.; ALCORTA, S. C.; MORMANDI, R.; CERVIO, A.; SALVAT, J. [Cervical aspergillosis with dissemination to the central nervous system: Case reports and review of the literature]. **Surgical neurology international**, v. 6, n. Suppl 20, p. S524–9, 2015.

VERWEIJ, P. E.; ARENDRUP, M. C.; ALASTRUEY-IZQUIERDO, A.; GOLD, J. A. W.; LOCKHART, S. R.; CHILLER, T.; WHITE, P. L. Dual Use of Antifungals in Medicine and Agriculture: How Do We Help Prevent Resistance Developing in Human Pathogens? **Drug resistance updates: reviews and commentaries in antimicrobial and anticancer chemotherapy**, v. 65, p. 100885, 2022.

VIDAL, F. Evolução do cultivo de pimenta-do-reino na área de atuação BNB. **Caderno setorial ETENE**. v. 136, p.1-7., 2022

WANG, S.; GONG, L.; MO, Y. ZHANG, J. JIANG, Z.; TIAN, Z. SHAO, C. Resveratrol attenuates inflammation and apoptosis through alleviating endoplasmic reticulum stress via Akt/mTOR pathway in fungus-induced allergic airways inflammation.

International Immunopharmacology. [S.L.], 2022.
<https://doi.org/10.1016/j.intimp.2021.108489>.

WIEDNER, S. D.; BURNUM, K. E.; PEDERSON, L. M.; ANDERSON, L. N.; FORTUIN, S.; CHAUVIGNÉ-HINES, L. M.; SHUKLA, A. K.; ANSONG, C.; PANISKO, E. A.; SMITH, R. D.; WRIGHT, A. T. Multiplexed Activity-Based Protein Profiling of the Human Pathogen *Aspergillus fumigatus* Reveals Large Functional Changes upon Exposure to Human Serum. **The Journal of biological chemistry**, v. 287, n. 40, p. 33447–33459, 2012.

XU, Y.; CHEN, M.; ZHU, J.; GERRITS VAN DEN ENDE, B.; CHEN, A. J.; AL-HATMI, A. M. S.; LI, L.; ZHANG, Q.; XU, J.; LIAO, W.; CHEN, Y. *Aspergillus* Species in Lower Respiratory Tract of Hospitalized Patients from Shanghai, China: Species Diversity and Emerging Azole Resistance. **Infection and drug resistance**, v. 13, p. 4663–4672, 2020.

YANG, G.; CUI, S.; MA, N.; SONG, Y.; MA, J.; HUANG, W.; ZHANG, Y.; XU, J. Genetic Structure and Triazole Antifungal Susceptibilities of *Alternaria Alternata* from Greenhouses in Kunming, China. **Microbiology spectrum**, v. 10, n. 3, p. e0038222, 2022.

YOGENDRARAJAH, P.; DESCHUYFFELEER, N. JACXSENS, L; SNEYERS, P.; MAENE, P.; SAEGER, S.; DEVLIEGHERED, F.; MEULENAERA, B. Mycological quality and mycotoxin contamination of Sri Lankan peppers (*Piper nigrum* L.) and subsequent exposure assessment. **Food Control.** [S.L.], p. 219-230. 2014.
<https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2014.01.025>

ZHOU, D.; KORFANTY, G. A.; MO, M.; WANG, R.; LI, X.; LI, H.; LI, S.; WU, J.-Y.; ZHANG, K.-Q.; ZHANG, Y.; XU, J. Extensive Genetic Diversity and Widespread Azole Resistance in Greenhouse Populations of *Aspergillus fumigatus* in Yunnan, China. **mSphere**, v. 6, n. 1, 2021. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1128/mSphere.00066-21>>.