PARACOCCIDIOIDOMICOSE, UMA ENDEMIA BRASILEIRA: NOVAS DESCOBERTAS, NOVOS DESAFIOS

Camila Oliveira Silva e Souza[1], Felippe Antonio Goes Scorsioni[1], Rita de Cássia Buzinaro Ajala[2], Marcus Vinicius Pimenta Rodrigues[1], Daniela Vanessa Moris[1]

Universidade do Oeste Paulista – UNOESTE, [1]Curso de Biomedicina, [2]Faculdade de Medicina, Presidente Prudente, SP.
e-mail: marcusvinicius@unoeste.br

RESUMO

A paracoccidioidomicose (PCM), micose sistêmica causada pelo fungo termodimórfico *Paracoccidioides brasiliensis* afetando principalmente a população rural das Américas Latina e do Sul, sendo no Brasil é registrado 80% dos casos. A PCM é observada em pacientes que tiveram ou se encontram em contato direto e prolongado com o solo, como os trabalhadores rurais, sendo que as manifestações clínicas apresentam-se por infecção ou doença. A característica principal da resposta imunológica da PCM é a formação dos granulomas. Reações de imunodifusão dupla e os testes imunoenzimáticos são amplamente utilizados e constituem uma alta importância no diagnóstico de PCM. Sendo que o tratamento terapêutico deve ir além da terapia antifúngica convencional, e os pacientes devem ter acompanhamento médico constante até o termino da doença, cura. É apresentada aqui uma revisão da literatura atual concentrando-se na importância clinica, imunologia, métodos de diagnostico e tratamento da paracoccidioidomicose.

Palavras-chave: Paracoccidioidomicose, *P. brasiliensis,* infecção, doença.

PARACOCCIDIOIDOMYCOSIS, A BRAZILIAN ENDEMIC DISEASE: NEW DISCOVERIES AND CHALLENGES

ABSTRACT

The paracoccidioidomycosis (PCM), a systemic mycosis caused by the thermally dimorphic fungus Paracoccidioides brasiliensis mainly affecting the rural population of Latin and South America, and in Brazil it is 80% of the cases. The PCM is observed in patients who have had or are in direct and prolonged contact with the soil such as agricultural workers, the clinical manifestations of which are shown by infection or disease. The main feature of the immune response of the PCM is the formation of granulomas. Double immunodiffusion reactions and enzyme immunoassays are widely used and are a highly important in the diagnosis of PCM. Since the therapeutic treatment must go beyond conventional antifungal therapy, and patients should have constant medical supervision until the end of illness, healing. A review of current literature focusing on clinical importance, immunology, diagnostic methods and treatment of paracoccidioidomycosis appears here.

Keywords: Paracoccidioidomycosis*, P. brasiliensi*s, infection, disease.

INTRODUÇÃO

A paracoccidioidomicose (PCM) é uma micose sistêmica causada por fungos termodimórficos do complexo *Paracoccidioides brasiliensis* e por *Paracoccidioides lutzii*. Foi descrita pela primeira vez por Adolpho Lutz em 1908, que encontrou fungos de formato esféricos, em lesões bucais de dois pacientes com manifestações clínicas que incluíam amolecimento dos dentes e comprometimento de mucosa oral, laringe, linfonodos, glândula salivar e traqueia. Lutz registrou que o exame histopatológico desses pacientes revelava reação tuberculóide com fungos, células gigantes, células epitelióides e fungos com exo-esporulação. Esse pesquisador também isolou o fungo em cultivo, demonstrou a existência das fases micelial em cultivo à temperatura ambiente e leveduriforme em pacientes infectados, e reproduziu a doença em cobaias[1].

Confinada à América Latina, é endêmica em área que se estende do México à Argentina. Apesar de incompletos, os dados disponíveis indicam maior incidência dessa micose no Brasil, com registro de 80% dos casos da doença no mundo, e é diagnosticada com grande frequência no Estado de São Paulo[1-5].

Por não ser doença de notificação compulsória no Brasil, a real prevalência da PCM não pode ser calculada. Coutinho et al.[6] estudaram 3181 óbitos por PCM no Brasil, entre 1980 e 1995, e demonstraram a importância dessa micose, destacando que constituía a oitava causa de mortalidade por doença predominantemente crônica ou repetitiva, entre as infecciosas e parasitárias, e a mais elevada taxa de mortalidade entre as micoses sistêmicas. Outros autores também relataram que a taxa média de mortalidade anual era de 1,45 para um milhão de habitantes, representando, então, um grande problema de saúde publica[7-11]. No Estado de São Paulo, a paracoccidioidomicose passou a ser de notificação obrigatória a partir de junho de 2009.

Apesar de existirem áreas endêmicas bem definidas para este patógeno, o nicho ecológico de sua fase sapróbia continua mal caracterizado, devido ao pequeno número de vezes em que o fungo foi isolado do ambiente, ao longo período de latência da doença. Alguns estudos também relataram o isolamento de *P. brasiliensis* em áreas consideradas não endêmicas para esta doença. Além disso, há casos na Europa, na Espanha, essa abrangência se deve ao decorrente fluxo migratório de pessoas nas ultimas décadas[6-8,12-14].

O fungo

Uma das principais características desse fungo imperfeito é o dimorfismo

térmico. Em tecidos humanos e em culturas mantidas a 37°C apresenta-se na fase leveduriforme, sua forma patogênica, com parede rica em α-glucana. Em temperatura ambiente apresentasse na fase filamentosa, sua forma infectante, que ocorre em natureza, com parede rica em β-glucana. Por meio da microscopia direta podem-se observar as formas de leveduras do *P.brasiliensis* com características ovais, esféricas ou elípticas com presença de uma parede birrefringente com ligação de células filhas conhecidas como broto de diâmetro menor, esta forma é caracterizada pelo nome de "roda de leme" ou "*Mickey mouse*" sendo observada nos tecidos ou amostras biológicas infectadas[15,16].

Recentemente, foi descrito que a PCM pode ser causada por um complexo de espécies, subdividas no complexo *Paracoccidioides brasiliensis* composta pelos variaveis S1, PS2, PS3 e PS4[17,18], e pelo, *Paracoccidioides lutzii*[19] que é uma espécie atualmente restrita a região centro-oeste recentemente descoberta[20].

Patogenia

Admite-se que a infecção seja adquirida quando propágulos da fase micelial do fungo são inalados, instalando-se nos alvéolos pulmonares. A seguir, o fungo passa à fase leveduriforme, transformação considerada fundamental para que se estabeleça a infecção. O fungo pode, então, se disseminar por via hematogênica e/ou linfática para qualquer parte do organismo[21].

Ao entrar no organismo, *P. brasiliensis* pode ser destruído imediatamente ou multiplicar-se, produzindo uma lesão de inoculação e se disseminando para linfonodos regionais. A infecção então pode regredir ou progredir, dependendo de fatores ligados ao fungo e ao hospedeiro. A regressão pode ser acompanhada de destruição de todos os fungos, formando-se cicatriz local estéril ou se acompanhar da persistência de focos quiescentes, com fungos viáveis. A progressão da infecção determina o aparecimento de sinais e sintomas, o que caracteriza a doença ativa. Os focos latentes podem apresentar reativação, denominada reinfecção endógena, e levar ao desenvolvimento da doença ativa[21].

Manifestações clínicas

A infecção é muito mais frequente que a doença, pois muitos indivíduos se infectam com o fungo, mantêm focos latentes por toda a vida e nunca adoecem. A infecção ocorre em indivíduos sadios que habitam áreas endêmicas, e que se apresentam positivos para o teste intradérmico da paracoccidioidina, que é realizado com objetivo de levantamento epidemiológico[11,12,22,23]. Indivíduos que

tiveram contato com o *P. brasiliensis* adquiriram a infecção, e mantem focos latentes por toda vida, estes desenvolvem uma resposta Th-1 geradora de resistência[3,21].

Estima-se que aproximadamente 10 mil pessoas tenham sido infectadas pelo fungo, porém 2% desenvolvem a doença ativa. Sendo que as manifestações clínicas da PCM se relacionam, em geral, ao comprometimento de pulmões, pele, mucosa das vias aerodigestivas superiores, adrenais e de órgãos ricos no sistema fagocítico mononuclear, tais como fígado, baço, linfonodos e medula óssea. No entanto, a PCM pode comprometer qualquer órgão, aparelho ou sistema[24].

A PCM pode se apresentar sob três formas clínicas principais: forma aguda ou subaguda, forma crônica e forma residual. A forma aguda ou subaguda, também chamada forma juvenil, é responsável por 20 a 25% dos casos, acomete em geral crianças, adolescentes e adultos jovens, caracteriza-se por apresentar instalação mais rápida, de algumas semanas a poucos meses e apresentar envolvimento predominante do sistema reticulo endotelial, isto é, baço, fígado, nódulos linfáticos e medula óssea. Nessa forma clínica as manifestações pulmonares são menos frequentes e a presença de lesões de mucosa das vias aéreas superiores e digestivas são raras. Nos tecidos são encontrados muitos fungos em multiplicação[25-27].

A forma crônica ou do adulto ocorre em 75% a 80% dos casos, e geralmente acomete indivíduos com idade superior a 30 anos e que apresentam história clínica de longa duração. Nestes casos, as manifestações pulmonares são muito frequentes e em geral associadas ao comprometimento de outros órgãos, tais como mucosa das vias aéreas superiores e digestivas, pele, adrenais e, por vezes, manifestações na mucosa nasal, urinária e anal, além de sistema nervoso central[28-31].

Predomina em indivíduos do sexo masculino, com razão de masculinidade de 7,2:1, e é mais prevalente na faixa etária entre 30 e 59 anos[32]. O estrogênio pode explicar a menor prevalência de PCM em pacientes do sexo feminino, pois retarda ou impede as transições da fase micélial para a fase leveduriforme, necessária para que o fungo atinja a fase patogênica, o que explicaria menor número de mulheres afetadas pela doença na idade adulta e a observação da mesma prevalência em ambos os sexos em pacientes com idade inferior a 13 anos[27-33].

As manifestações pulmonares são mais frequentes, 98% dos pacientes apresentam alterações pulmonares diagnosticadas através de exames radiológicos com anormalidades na distorção

arquitetural relacionada com a disseminação do fungo através dos vasos linfáticos, levando subsequentemente a formação de fibrose e enfisema pulmonar[34,35].

Com o avanço da tecnologia de imagem, nas últimas décadas houve crescentes números de casos de PCM relacionando com o sistema nervoso central (SNC), ocorrendo entorno de 12,5% dos casos diagnosticados, constatando que é mais frequente do que se admitia (9,9%), sendo nomeada como neuroparacoccidioidomicose (NPCM), poucos trabalhos na literatura estabelecem comparações entre paciente e a forma neurológica da doença[36].

A doença está associada com custo sócio econômico por afetar indivíduos na idade produtiva, levando a sequelas que incapacitam o trabalho[37]. As formas residuais, também denominadas sequelar, são observadas após tratamento e se caracterizam pelas manifestações clínicas ligadas às sequelas entre as quais se destacam fibrose e enfisema pulmonar e síndrome de Addison[30,31].

Mecanismos imunologicos

Os doentes com PCM revelam comprometimento imune celular específico, isto é, resposta deficiente a antígenos de *P. brasiliensis*, mas não aos de outros agentes infecciosos[38].

Após o contato com o *P. brasiliensis* desencadeia uma cascata de reações inflamatórias com predominância de uma migração de neutrófilos para o sitio inflamatório, sendo que posteriormente essas células são substituídas por macrófagos que se arranjam em nódulos frouxos, células gigantes multinucleadas do tipo de Langhans e corpos estranhos contendo um grande aglomerado do fungo. Esse mecanismo leva a formação do granuloma que é o representante da resposta imune-especifica do hospedeiro contra o agente[39].

A formação do granuloma é intimamente relacionada à resposta imune do hospedeiro e a componentes como β-1-3 glucana presente na parede celular do fungo que quando se liga a Dectina-1 desencadeia a sinalização celular e leva a interação do fungo com o patógeno induzindo a uma fagocitose[40-42].

Falhas na apresentação do antígeno, excesso de antígenos e de imunocomplexos circulantes e deficiência de receptores para interleucina-2 (IL-2) parecem estar ligados a uma resposta insatisfatória das células T. O comprometimento da resposta das células T se acompanha de diminuição da atividade fungicida dos macrófagos. Portanto, os pacientes apresentam comprometimento do perfil Th1 da resposta imune celular, com baixos níveis de TNF-a, IFN-g e IL-2, associado à manutenção ou à elevação da produção de

IL-5, IL-10 e TGF-b, que caracteriza a exacerbação do perfil Th2[38,41,42].

A produção de anticorpos específicos se encontra aumentada em pacientes com as formas aguda e crônica da PCM[43] e facilitam a opsonização de células fúngicas, porém, não se conhece outra ação dos anticorpos na defesa do hospedeiro. Além disso, a gravidade da doença tem relação inversa com a resposta imune celular e direta com os níveis séricos de anticorpos específicos[44,45].

Imunidade celular na PCM

Como em outras doenças causadas por microrganismos intracelulares, a imunidade da PCM depende de uma resposta imune celular efetiva do hospedeiro. De modo geral, os pacientes apresentam depressão da resposta imune celular. Foi observado, por exemplo, que pacientes com a doença exibiram diminuição na produção de citocinas de perfil Th1, quando comparados com doentes curados[46].

Na PCM humana e murina, vários estudos recentes tem focalizado o papel de mediadores como quimiocinas, leucotrienos, receptores de reconhecimento de padrões moleculares associados aos patógenos (PAMPs) e, ainda, diferentes subtipos leucocitários circulantes[47-54]. Esses últimos têm se mostrado importantes no controle das doenças infecciosas. Cavassani et al.[52] demonstraram aumento de células T regulatórias circulantes em pacientes com PCM em atividade. Esse resultado chama a atenção para a quantidade de células mononucleares no sangue periférico de pacientes com PCM que, apesar de não diferir da observada em indivíduos sadios, é possível que existam diferenças nas subpopulações circulantes[54].

Métodos de diagnostico

O diagnóstico da PCM é feito pela demonstração do *P. brasiliensis*, seu agente etiológico, em materiais clínicos. O microscópio óptico comum permite sua visualização, de forma que a morfologia e a reprodução características permitem sua identificação. Assim, o encontro de formas típicas da fase leveduriforme em materiais clínicos, isto é, em “mickey-mouse” ou em “roda de leme”, permitem a confirmação da etiologia paracoccidióidica[55,56].

A pesquisa do *P. brasiliensis* em lesões cutâneas ou mucosas e em material de linfonodos é em geral positiva, pela grande quantidade de fungos aí existentes. Ao contrário, a pesquisa desse fungo no escarro é mais difícil. Esse exame foi feito inicialmente por meio de simples exame direto e a fresco, entre lâmina e lamínula. A seguir, sugeriu-se clarificar o material com soda ou[57,58] a homogeneização do escarro, que contribuíram para aumentar a sensibilidade do método[59].

A técnica da cito-inclusão do escarro também foi padronizada para identificação do *P. brasiliensis*, utilizando-se a coloração pela prata, que também pode ser visualizado, em menor frequência, quando as colorações de Shorr e Giemsa são utilizadas[60].

A pesquisa do fungo em fragmentos de tecido é feita por exames histopatológicos, com cortes corados pela hematoxilina-eosina e pelo Gomori-Grocott[61,62.] O cultivo do *P. brasiliensis* deve ser feito em um dos seguintes meios: Mycosel ou Mycobiotic agar, SABHI , agar-Sabouraudia ou agar extrato de levedura. Quando escarro é o material clínico em exame, deve-se digeri-lo com pancreatina ou N-acetil-L-cisteína para, a seguir, semeá-lo em meios específicos, à temperatura ambiente. Infelizmente, o crescimento do fungo em cultivo é demorado, podendo ser necessários mais de 30 dias para sua observação[63].

A detecção de anticorpos séricos anti-*P. brasiliensis* tem valor preditivo, pois existem vários antígenos comuns ao *P. brasiliensis* e a outros fungos, em especial o *H. capsulatum*, que têm levado a reações cruzadas[64]. Na detecção de anticorpos séricos anti-*P. brasiliensis* foram utilizadas as reações de fixação de complemento[63,65-67], precipitação em tubos, precipitação em gel de ágar – imunodifusão dupla em gel de ágar (IDD) e contraimunoeletroforese, imunofluorescência indireta e os métodos imunoenzimáticos[68,69].

Em passado mais recente, o diagnóstico sorológico baseado na identificação de anticorpos passou a contar com a utilização de antígenos altamente purificados e bem caracterizados, como a gp-43, que poderiam substituir preparações derivadas de células totais, relativamente crus, ou filtrados de cultura. A utilização desses novos antígenos proporciona aumento da sensibilidade e da reprodutibilidade dos testes utilizados em pacientes imunocompetentes[70-72].

Para reduzir, portanto os níveis de reações cruzadas foram empregados outros testes sorológicos tais como Bot-Blot, Western Blot e Immunoblotting que utilizam como principio a eletroforese de proteínas, que tem como garantia a presença de marcadores como o gp-43 sendo portanto de alta sensibilidade e eficaz para o diagnostico da doença, monitorização terapêutica e acompanhamento dos pacientes, sendo uma ferramenta essencial. Essas técnicas ainda não são empregadas com frequência em laboratórios de analises clinicas devido ao seu elevado custo[73-76].

Técnicas moleculares são promissoras para o diagnostico definitivo da doença, pois possuem alta especificidade e sensibilidade devido à presença do DNA – ribossomal que é presente dentro da estrutura dos isolado,

gerando primers para a região especifica a ser analisada, sendo também útil para diferenciar se é doença ou infecção, gerando um grande avanço em relação às outras técnicas convencionais utilizadas [77-79].

Tratamento da paracoccidioidomicose

O tratamento da PCM consiste em duas fases: inicial ou de ataque e de manutenção. O tratamento de ataque persiste até que se observem cura clínica e normalização da velocidade de hemossedimentação. O tratamento de manutenção deve ser mantido até um ano após as curas micológica, radiológica e sorológica. As drogas eficazes contra a PCM compreendem três grupos: anfotericina B, do grupo dos antibióticos poliênicos; sulfadiazina e associação sulfametoxazol-trimetoprim; e azólicos, entre os quais se destacam o cetoconazol, derivado imidazólico e o itraconazol, derivado triazólico de primeira geração[80-82].

A associação sulfametoxazol-trimetoprim também denominada cotrimoxazol (CMX), revelou-se muito eficaz no tratamento da PCM. Queixas de intolerância gástrica são relatadas em alguns casos, sendo necessária a substituição da medicação. A hepatotoxicidade é observada com frequência, com discreto aumento dos níveis séricos de aminotransferases, bilirrubinas, fosfatase alcalina e γ-glutamiltransferase. Além disso, também se observa alterações da função renal, com discreto aumento dos níveis séricos de ureia e creatinina. O CMX apresenta vantagem de ser distribuído gratuitamente pelos serviços ligados ao Ministério da Saúde e Secretaria de Saúde do Estado de São Paulo, para tratamento de doenças bacterianas e da PCM. Assim, os resultados satisfatórios observados no tratamento da PCM, associada à sua distribuição gratuita, fizeram com que o CMX se tornasse a droga de escolha no tratamento da maior parte dos pacientes com essa micose sistêmica[83-86].

O itraconazol (ITC), na maioria dos casos relatados na literatura, é considerado uma excelente opção no tratamento da PCM, devido sua eficácia e tolerabilidade. Derivado triazólico de primeira geração com uma afinidade seletiva pelo citocromo P-450 da célula fúngica, esta característica permite que pequenas concentrações do itraconazol dificultem a biossíntese do ergosterol, sem interferir nas substâncias dependentes do citocromo P-450 humano, como o colesterol[87-89].

CONCLUSÃO

A paracoccidioidomicose é uma doença sistêmica que não deve ser negligenciada pelas autoridades de saúde publica, pois é grande causadora de invalidade e mortes nas faixas etárias

adultas. As manifestações clínicas que incluem comprometimento do sistema linfático, pulmonar e lesões muco-cutâneas são na maioria das vezes os principais sinais para solicitar a confirmação laboratorial. Neste sentido, a identificação de exames laboratoriais adequados para confirmação da hipótese clínica é importante em serviços de rotina para pacientes com paracoccidioido-micose. Além disso, sabe-se que a PCM apresenta capacidade de se reativar, pois, a despeito de um tratamento eficaz, não ocorre esterilização dos sítios de lesão, observando-se a presença de fungos quiescentes que podem ser a origem de reativação da doença. A duração do tratamento ainda constitui aspecto muito discutido entre os estudiosos da PCM e alguns autores propõem que a medicação seja suspensa após recuperação da imunidade celular específica, que seria responsável pela eliminação, em estado latente, dos fungos que não tivessem sido eliminados pelo tratamento. Por outro lado, há exames que se revelam alterados após a utilização do antifúngico, refletindo sua toxicidade. Entre eles destacam-se os que avaliam função hepato e renal.

A taxa média de mortalidade anual era de 1,45 para um milhão de habitantes, demonstrando a grande magnitude e a baixa visibilidade dessa micose, Essa taxa representa a mais elevada entre as micoses sistêmicas, reforçando a importância da notificação obrigatória. No Estado de São Paulo, a paracoccidioidomicose passou a ser de notificação obrigatória a partir de junho de 2009, passando a permitir a liberação da medicação anti-fúngica. Apesar do Manual de Vigilância e Controle da Paracoccidioido-micose recomendar que as referências ambulatoriais do Estado realizem a notificação, isto não acontece de fato. O não seguimento das recomendações propostas causa prejuízos não apenas aos pacientes, mas também ao Sistema de Vigilância e Controle, uma vez que impossibilita o conhecimento da incidência e da prevalência da micose no Estado de São Paulo, assim como a tomada de medidas de “controle e prevenção” em relação à doença.

AGRADECIMENTO

Agradeço à Universidade do Oeste Paulista pela possibilidade de realização deste trabalho.

CONFLITO DE INTERESSE

Os autores declaram não haver qualquer potencial conflito de interesse que possa interferir na imparcialidade deste trabalho científico.

REFERÊNCIAS

1. Abreu e Silva MA, Salum FG, Figueiredo MA, Cherubini K. Important aspects of oral

paracoccidioidomycosis: a literature review. Mycology. 2013;56(3):189-99. DOI: http://dx.doi.org/10.1111/myc.12017.

2. San-Blas G, Nino-Vega G, Iturriaga T. Paracoccidioides brasiliensis and paracoccidioidomycosis: molecular approaches to morphogenesis, diagnosis, epidemiology, taxonomy and genetics. Med Mycol. 2002;40(3):225-42.

3. Marques SA. Paracoccidioidomycosis: epidemiological, clinical, diagnostic and treatment up-dating. An Bras Dermatol. 2013;88(5):700-11. DOI: http://dx.doi.org/10.1590/abd1806-4841.20132463.

4. Santos RDS, Lima PDS, de Paula LB, Reis AADS, Barbosa MSO. Patógeno humano Paracoccidioides brasiliensis e a Paracoccidioidomicose: uma abordagem médica e molecular. Rev da Univer Vale do Rio Verde. 2011;9(2)281-95.

5. Paniago AM, *et al.* Paracoccidioidomycosis: a clinical and epidemiological study of 422 cases observed in Mato Grosso do Sul. Rev Soc Bras Med Trop. 2003;36(4):455-9.

6. Coutinho ZF, *et al.* Paracoccidioidomycosis mortality in Brazil (1980-1995). Cad Saúde Pública. 2002;18(5):1441-54.

7. Matos WB, Dos Santos GM, Silva VE, Rosario Goncalves EG, Silva AR. Paracoccidioidomycosis in the state of Maranhao, Brazil: geographical and clinical aspects. Rev Soc Bras Med Trop. 2012;45(3):385-90.

8. Buitrago MJ, Bernal-Martinez L, Castelli MV, Rodriguez-Tudela JL, Cuenca-Estrella M. Histoplasmosis and paracoccidioidomycosis in a non-endemic area: a review of cases and diagnosis. J Tarvel Med. 2011;18(1):26-33. DOI: http://dx.doi.org/10.1111/j.1708-8305.2010.00477.x.

9. Barrozo LV, *et al.* First description of a cluster of acute/subacute paracoccidioidomycosis cases and its association with a climatic anomaly. PLoS Negl Trop Dis. 2010;4(3):1-4. DOI: http://dx.doi.org/10.1371/journal.pntd.0000643.

10. Carvalhosa AAB, França DCC, Queiroz RR, Moimaz SAS, Garbin CAS. Paracoccidioidomycosis prevalence in a public laboratory of the Brazilian unified health system. J Oral Diag. 2012;1(1):31-5.

11. Netto CF, Neto JM, Guerra MA, Costa EO. Epidemic histoplasmosis. New outbreak in the North of the coast of the State of Sao Paulo. Epidemiological survey with histoplasmin and paracoccidioidina. Rev Inst Med Trop Sao Paulo. 1976;18(2):108-12.

12. Montenegro MR. Clinical forms of paracoccidioidomycosis. Rev Inst Med Trop Sao Paulo. 1986;28(3):203-4.

13. Konno AY, Maricato JT, Konno FT, Mariano M, Lopes JD. Peptides from Paracoccidioides brasiliensis GP43 inhibit macrophage functions and inflammatory response. Microbes Infect. 2009;11(1):92-99. DOI: http://dx.doi.org/10.1016/j.micinf.2008.10.011.

14. Vieira GdeD, Alves TDA, Lima SM, Camargo LM, Sousa CM. Paracoccidioidomycosis in a western Brazilian Amazon State: clinical-epidemiologic profile and spatial distribution of the disease. Rev Soc Bras Med Trop. 2014;47(1):63-8. DOI: http://dx.doi.org/10.1590/0037-8682-0225-2013.

15. Camargo ZP, de Franco MF. Current knowledge on pathogenesis and immunodiagnosis of paracoccidioidomycosis. Rev Iberoam Micol. 2000;17(2):41-8.

16. Bocca AL, *et al.* Paracoccidioidomycosis: eco-epidemiology, taxonomy and clinical and therapeutic issues. Future Microbiol. 2013;8(9):1777-91. DOI: http://dx.doi.org/:10.2217/fmb.13.68.

17. Matute DR, *et al.* Cryptic speciation and recombination in the fungus Paracoccidioides brasiliensis as revealed by gene genealogies. Mol Biol Evol. 2006;23(1):65-73. DOI: http://dx.doi.org/10.1093/molbev/msj008.

18. Theodoro RC, *et al.* Molecular detection of Paracoccidioides brasiliensis in soil. Med Mycol. 2005;43(8):725-9.

19. Teixeira MM, Theodoro RC, Nino-Vega G, Bagagli E, Felipe MS. Paracoccidioides species complex: ecology, phylogeny, sexual reproduction, and virulence. PLos Pathog. 2014;10(10):1-4, DOI: http://dx.doi.org/10.1371/journal.ppat.1004397.

20. Villalobos-Duno H, San-Blas G, Paulinkevicius M, Sanchez-Martin Y, Nino-Veja G. Biochemical characterization of Paracoccidioides brasiliensis alpha-1,3-glucanase Agn1p, and its functionality by heterologous Expression in Schizosaccharomyces pombe. PLos One. 2013;8(6):1-12. DOI: http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0066853.

21. Franco M. Host-parasite relationships in paracoccidioidomycosis. J Med Vet Mycol. 1987;25(1):5-18.

22. Magalhaes EM, *et al.* Prevalence of paracoccidioidomycosis infection by intradermal reaction in rural areas in alfenas, minas gerais, Brazil. Rev Inst Med Trop Sao Paulo. 2014;56(4):281-5.

23. Silva-Vergara ML, Martinez R. Inquerito epidemiologico com paracoccidioidina e histoplasmina em area agricola de cafe em Ibia, Minas Gerais, Brasil. Rev Iberoam Micol. 1998;15(4):294-7.

24. Almeida OP, Jorge Junior J, Scully C. Paracoccidioidomycosis of the mouth: an emerging deep mycosis. Crit Rev Oral Biol Med. 2003;14(4):268-74.

25. Nogueira MG, Andrade GM, Tonelli E. Clinical evolution of paracoccidioidomycosis in 38 children and teenagers. Mycopathologia. 2006;162(2):73-81. DOI: http://dx.doi.org/10.1007/s11046-005-3653-7.

26. Silva SS, Paes HC, Soares CM, Fernandes L, Felipe MS. Insights into the pathobiology of Paracoccidioides brasiliensis from transcriptome analysis - advances and perspectives. Mycopathologia. 2008;165(4):249-58.

27. Borges-Walmsley MI, Chen D, Shu X, Walmsley AR. The pathobiology of Paracoccidioides brasiliensis. Trends Microbiol. 2002;10(2):80-7.

28. Londero AT, Severo LC. The gamut of progressive pulmonary paracoccidioidomycosis. Mycopathologia. 1981;75(2):65-74.

29. Dias PH, *et al.* Genitourinary paracoccidioidomycosis complicated with urinary outflow obstruction-a report of two cases and a review of the literature. Clinics (Sao Paulo). 2010;65(11):1207-10.

31. Mendes RP. The gamut of clinical manifestations. In: Franco M, Lacaz CS, Restrepo-Moreno A, Del Negro G. Paracoccidioidomycosis. Boca Raton: CRCPress; 1994. p.233-58.

31. Manual de Vigilância e Controle da Paracoccidioidomicose. Secretaria de Estado da Sáude - Coordenadoria de Controle de Doenças - Centro de Vigilância

Epidemiológica Prof. Alexandre Vranjac. São Paulo, 2008.

32. Moreto TC, Marques M, Oliveira MLSC, Moris DV, Carvalho LR, Mendes RP. Accuracy of routine diagnostic used in paracoccidioidomycosis patients attended at a university hospital. Trans R Soc Trop Med Hyg. 2011;105:473-8.

33. Shankar J, Restrepo A, Clemons KV, Stevens DA. Hormones and the resistance of women to paracoccidioidomycosis. Clin Microbiol Rev. 2011;24(2):296-313. DOI: http://dx.doi.org/10.1128/CMR.00062-10.

34. Costa NA, *et al.* The lung in paracoccidioidomycosis: new insights into old problems. Clinics (São Paulo). 2013;86(4):441-8. DOI: http://dx.doi.org/10.6061/clinics/2013(04)02

35. Freitas RMC, *et al*. Pulmonary paracoccidoidomycosis: radiology and clinical-epidemiological evaluation. Rev Soc Bras Med Trop. 2010;43(6):651-6.

36. Pedroso VS, Vilela Mde C, Pedroso ER, Teixeira AL. Paracoccidioidomycosis compromising the central nervous system: a systematic review of the literature. Rev Soc Bras Med Trop. 2009;42(6):691-7.

37. Ambrósio AVA, *et al*. Paracoccidioidomycosis disease (Lutz-Splendore-Almeida) – clinical manifestations. Rev Med Minas Gerais. 2014;24(1):67-73.

38. Benard G, *et al.* Antigen-specific immunosuppression in paracoccidioidomycosis. Am J Trop Med Hyg. 1996;54(1):7-12.

39. Fortes MR, Miot HA, Kurokawa CS, Marques M, Marques SA. Immunology of paracoccidioidomycosis. An Bras Dermatol. 2011;86(3):516-24.

40. Loures FV. *et al.* Dectin-1 induces M1 macrophages and prominent expansion of CD8+IL-17+ cells in pulmonary Paracoccidioidomycosis. J Infect Dis. 2014;210(5):762-3. DOI: http://dx.doi.org/10.1093/infdis/jiu136.

41. Castro LF, *et al.* Characterization of the immune response in human paracoccidioidomycosis. J Infect. 2013;67(5):470-85. DOI: http://dx.doi.org/10.1016/j.jinf.2013.07.019.

42. Rigobello FF, Marquez AS, Lopes JD, Nakanishi-Ito FA, Itano EN. Patients with chronic-form paracoccidioidomycosis present high serum levels of IgE anti-paracoccidioides brasiliensis Gp70. Mycopathologia. 2013;175(3):307-13. DOI: http://dx.doi.org/10.1007/s11046-013-9624-5.

43. Bueno JP, *et al.* IgG, IgM and IgA antibody response for the diagnosis and follow-up of paracoccidioidomycosis: comparison of counterimmunoelectrophoresis and complement fixation. J Med Vet Mycol. 1997;35(3):213-7.

44. Mota NG, *et al.* Correlation between cell-mediated immunity and clinical forms of paracoccidioidomycosis. Trans R Soc Trop Med Hyg. 1985;79(6):765-72.

45. Biagioni L, *et al.* Serology of paracoccidioidomycosis. II. Correlation between class-specific antibodies and clinical forms of the disease. Trans R Soc Trop Med Hyg. 1984;78(5):617-21.

46. Benard G, *et al.* Imbalance of IL-2, IFN-gamma and IL-10 secretion in the immunosuppression associated with human paracoccidioidomycosis. Cytokine. 2011;13(4):248-52. DOI: http://dx.doi.org/10.1006/cyto.2000.0824.

47. Souto JT, *et al.* Chemokine production and leukocyte recruitment to the lungs of

Paracoccidioides brasiliensis-infected mice is modulated by interferon-gamma. Am J Pathol. 2003;163(2):583-90.

48. Michelin MA, Figueiredo F, Cunha FQ. Involvement of prostaglandins in the immunosuppression occurring during experimental infection by Paracoccidioides brasiliensis. Exp Parasitol. 2002;102:170-7.

49. Bordon AP, *et al.* Prostaglandin E(2) production by high and low virulent strains of Paracoccidioides brasiliensis. Mycopathology. 2007;163(3):129-35. DOI: http://dx.doi.org/10.1007/s11046-007-0098-1.

50. Calich VL, *et al.* Toll-like receptors and fungal infections: the role of TLR2, TLR4 and MyD88 in paracoccidioidomycosis. FEMS Immunol Med Microbiol. 2008;53(1):1-7. DOI: http://dx.doi.org/10.1111/j.1574-695X.2008.00378.x.

51. Peracoli MT, *et al.* Studies of natural killer cells in patients with paracoccidioidomycosis. J Med Vet Mycol. 1991;29(6):373-80.

52. Cavassani KA, *et al.* Systemic and local characterization of regulatory T cells in a chronic fungal infection in humans. J Immunol. 2006;177(9):5811-18.

53. Chiarella AP, *et al.* The relative importance of CD4+ and CD8+T cells in immunity to pulmonary paracoccidioidomycosis. Microbes Infect. 2007;9(9):1078-88. DOI: http://dx.doi.org/10.1016/j.micinf.2007.04.016.

54. Bozzi A, *et al.* Analysis of memory T cells in the human paracoccidioidomycosis before and during chemotherapy treatment. Immunol Lett. 2007;114(1):23-30. DOI: http://dx.doi.org/10.1016/j.imlet.2007.08.004.

55. Lauand F. Contribuição para o estudo da morfologia do Paracoccidioides brasiliensis nos tecidos orais. Rev Inst Med Trop São Paulo 1966;8:69-78.

56. Almeida F. Formas pequenas de P. brasiliensis, B. dermatitidis e H. capsulatum nos tecidos. An Fac Med Univ São Paulo 1954;28:141-8.

57. Lacaz CS. Técnica Micológica. Métodos de coloração e cultivo de cogumelos. Técnica geral de identificação dos fungos de interesse médico. Exames micológicos de uso corrente. Provas imunoalérgicas empregadas no diagnóstico das micoses. Preparo de alérgenos e vacinas. In: Lacaz CS. Manual de Micologia Médica. 3.ed. Rio de Janeiro: Atheneu; 1960. p.506-23.

58. Arango M, Castañeda E. Muestras: obtención, procesamientos y remisión. In: Arango M, Castañeda E. Micosis humanas. Procedimientos diagnosticos. Exámenes directos. Santafé de Bogotá: Editorial Presencia; 1995. p.15-33.

59. Lopes OSS. Descrição de uma técnica de concentração para pesquisa do Paracoccidioides brasiliensis no escarro. Hospital (Rio de Janeiro) 1955;47(5):69-79.

60. Iwama MMC. Cell-block preparation for cytodiagnosis of pulmonary paracoccidioidomycosis. Chest. 1979;75(2):212.

61. Rios-Gonçalves AJ, Vieira ARM, Carvalho FG. A importância da impregnação argêntea no diagnóstico da paracoccidioidomicose. J Pneumol. 1988(14):27-31.

62. Almeida F. Aspectos histológicos dos casos de blastomycose verificados em São Paulo. Brasil Med. 1929;43:483-9.

63. Fava Netto C. Estudos quantitativos sobre a fixação do complemento na blastomicose

sul-americana, com antígeno polissacarídico. Arq Cirurg Clin Exp. 1995;18:197-254.

64. Negroni R. Estúdio de lãs reacciones immunológicas cruzadas em algunas micosis profundas por médio de la micro-inmunodifusion. Rev Asoc Argent Microbiol. 1970;35(2):274-6.

65.Netto CF. Reação de fixação de complemento conglutinante na blastomicose sul-americana. Rev Inst Med Trop São Paulo. 1971; 3:272-8.

66. Netto, CF. Contribuição para o estudo imunológico da blastomicose de Lutz (blastomicose sul-americana). Rev Inst A Lutz. 1961; 21: 99-194.

67. Fava Netto C, Costa EO, Yasuda PH. Contribuição à sorologia da paracoccidioidomicose. Comparação entre reações de fixação de complemento pelas técnicas de Wadsworth, Maltaner & Maltaner e micrométodo e reações de precipitação em meio líquido e gel de agar. Rev Inst Med Trop São Paulo. 1987;18:349-56.

68. Restrepo A, Moncada LH. Indirect fluorescent-antibody and quantitative agar-gel immunodiffusion tests for the serological diagnosis of paracoccidioidomycosis. Appl Microbiol. 1972;24(1):132-7.

69. Silva MIC, Franco M. Reação de microimunodifusão em gel de agar no diagnóstico sorológic. Rev Inst Med Trop São Paulo. 1989;31:40-3.

70. Hamilton, AJ. Serodiagnosis of histoplasmosis, paracoccidioidomycosis and penicilliosis marneffei; current status and future trends. Med Mycol. 1988;36(6):351-64.

71. Puccia R, Takaoka DT, Travassos LR. Purification of the 43 kDa glycoprotein from exocellular components excreted by Paracoccidioides brasiliensis in liquid culture (TOM medium). J Med Vet Mycol. 1991;29(1):57-60.

72. Camargo Z, Unterkircher C, Campoy SP, Travassos LR. Production of Paracoccidioides brasiliensis exoantigens for immunodiffusion tests. J Clin Microbiol. 1988;26(10):2147-51.

73. Jesus Carlos N, *et al.* Immunoblotting of soluble antigens in Paracoccidioides brasiliensis culture. Microbiol Immunol. 2014;58(3):212-4. DOI: http://dx.doi.org/10.1111/1348-0421.12137.

74. Bertoni TA, Perenha-Viana MC, Patussi EV, Cardoso RF, Svidzinski TI. Western blotting is an efficient tool for differential diagnosis of paracoccidioidomycosis and pulmonary tuberculosis. Clin Vaccine Immunol. 212;19(11):1887-88. DOI: http://dx.doi.org/10.1128/CVI.00252-12.

75. Perenha-Viana MCZ, Brockelt SR, Machado LNC, Svidzinshi TIE. Serological Diagnosis of Paracoccidioidomycosis througth a Western Blot Techinique. Clin Vaccine Immunol. 2012;19(4):616-9.

76. Martins R, Marques S, Alves M, Fecchio D, de Franco MF. Serological follow-up of patients with paracoccidioidomycosis treated with itraconazole using Dot-blot, ELISA and western-blot. Rev Inst Med Trop São Paulo. 1997;39(5):261-9.

77. Sandhu GS, Aleff RA, Kline BC, da Silva Lacaz C. Molecular detection and identification of Paracoccidioides brasiliensis. J Clin Microbiol. 1977;35(7):1894-6.

78. Lindsley MD, Hurst SF, Iqbal NJ. Rapid Identification of Dimorphic and Yeast-Like Fungal Pathogens Using Specific DNA Probes. J Clin Microbiol. 2011;39(10):3505-11.

79. Dias L, de Carvalho LF, Romano CC. Application of PCR in serum samples for diagnosis of paracoccidioidomycosis in the

southern Bahia-Brazil. PLoS Negl Trop Dis. 2012;6(11):1-5. DOI: http://dx.doi.org/10.1371/journal.pntd.0001909.

80. Shikanai-yasuda MA, Telles Filho F, Mendes R. Guideliness in paracoccidioidomycosis. Rev Soc Bras Med Trop. 2006;39:297-310.

81. Cunha AC, Almeida FP. O hemograma e o mielograma na granulomatose paracoccidióidica (Blastomicose Sul-Americana). An Fac Med. 1948;24-26.

82. Shikanai-Yasuda MA, *et al.* Comprometimento da medula óssea e eosinofilia na paracoccidioidomicose. Rev Inst Med Trop. 1982;34:85.

83. Martinez R, Almeida MF. Efeito do tratamento da blastomicose sul-americana (paracoccidioidomicose) sobre parâmetros do metabolismo do ferro. Rev Inst Med Trop. 1978;20:190.

84. Fiorillo AM, *et al.* Estudo das proteínas séricas na blastomicose sul-americana. Rev Soc Bras Med Trop. 1972;6:117.

85. Marquez AS, Moreira AP, Leonello PC, Nakanishi FA, Itano EN. Serum proteins and fractions, HDL-cholesterol and total IgG and IgE levels in cases of acute and chronic paracoccidioidomycosis. Rev Soc Bras Med Trop. 2009;42(3):245-9.

86. Nogueira MGS, Andrade GMQ, Tonelli EDS, Goes AM. Aspectos laboratoriais evolutivos de crianças em tratamento da paracoccidioidomicose. Rev Soc Bras Med Trop. 2006;39(5):478-83.

87. Barbosa W. Ação da sulfametoxazol associada ao trimetoprim na terapêutica da blastomicose sul-americana. Rev Patol Trop. 1973;3(2):329-39.

88. Maranjo MS, Trujilo M, Murena MI, Restrepo P, Gomez I, Restrepo A. Treatment of paracoccidioidomycosis with itraconazole. J Med Vet Mycol. 1990;28:67-76.

89. Mendes RP, *et al.* Evaluation of itraconazole in the treatment of paracoccidioidomycosis (PBM). Rev Argent Micol.1992;15:86.

Recebido para publicação em 13/11/2014
Revisado em 02/02/2015
Aceito em 07/04/2016