

UNIVERSIDADE FEDERAL ALFENAS - UNIFAL

EVANDRO MONTEIRO DE SÁ MAGALHÃES

**ANÁLISE DA PREVALÊNCIA DE INFECÇÃO PELO *Paracoccidioides  
brasilensis* EM ÁREAS RURAIS DE ALFENAS, MINAS GERAIS**

ALFENAS-MG

2013

EVANDRO MONTEIRO DE SÁ MAGALHÃES

**ANÁLISE DA PREVALÊNCIA DE INFECÇÃO PELO *Paracoccidioides  
brasilensis* EM ÁREAS RURAIS DE ALFENAS, MINAS GERAIS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biociências Aplicadas à Saúde como parte dos requisitos para a obtenção do Grau de Mestre pela Universidade Federal de Alfenas.

Área de concentração: Doenças Infecciosas e Parasitárias.

Orientador: Prof. Dr. Luiz Cosme Cotta Malaquias

Alfenas-MG

2013

Magalhães, Evandro Monteiro de Sá.  
Análise da prevalência de infecção pelo *Paracoccidioides  
brasiliensis* em áreas rurais de Alfenas, Minas Gerais / Evandro  
Monteiro de Sá Magalhães. - 2013.  
87 f. -

Orientador: Luiz Cosme Cotta Malaquias.  
Dissertação (Mestrado em Biociências Aplicadas à Saúde) -  
Universidade Federal de Alfenas, Alfenas, MG, 2013.  
Bibliografia.

1. Paracoccidioidomicose. 2. Epidemiologia. 3. Inquéritos  
Epidemiológicos. 4. Testes Intradérmicos. I. Malaquias, Luiz Cosme  
Cotta. II. Título.

CDD: 614.4



UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALFENAS-MG

INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS

---

ANÁLISE DA PREVALÊNCIA DE INFECÇÃO PELO *Paracoccidioides brasiliensis* EM ÁREAS RURAIS DE ALFENAS, MINAS GERAIS

A banca abaixo-assinada, aprova a Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Biociências Aplicadas à Saúde da Universidade Federal de Alfenas - UNIFAL/MG. Área de concentração: doenças infecciosas e parasitárias.

Aprovado em: 24, 06, 2013

Prof. Dr.: Mario León/Silva Vergara (Membro Externo)

Instituição: Universidade Federal do Triângulo Mineiro-UFTM

Prof. Dr.: Eva Burger (Membro Interno)

Instituição: Universidade Federal de Alfenas-MG

Prof. Dr.: Luiz Cosme Cotta Malaquias (Orientador)

Instituição: Universidade Federal de Alfenas-MG

*“Que a energia da boa intenção que permeou todos os momentos da elaboração deste projeto possa se unir a tantas outras e o seu resultado possa ser útil ao nosso Semelhante. Pequeno tijolo dedicado à Construção de um Mundo Bem Melhor para Todos.”*

## **AGRADECIMENTOS**

Ao Criador, que em sua infinita misericórdia nos oferece o livre arbítrio para que, a cada dia de nossas vidas, possamos abrir uma nova página e escrever um belo capítulo.

À minha família, Avani, Francisco, Renato e Luíza, que souberam, de forma sublime, me compreender, muitas vezes contemporizando nos momentos mais difíceis, meu eterno agradecimento.

Especial agradecimento ao Prof. Dr. Luiz Cosme Malaquias, que muito além do refinado conhecimento científico é agraciado por muitas virtudes, dentre elas, o altruísmo e a bondade. Tenho a honra e o privilégio de considerá-lo um amigo.

Ao Prof. Dr. Eric Batista Ferreira do Instituto de Ciências Exatas da Universidade Federal de Alfenas (Unifal/MG), pela inestimável ajuda na elaboração dos dados estatísticos deste trabalho.

À Prof. Dr. Tânia Regina Grão Velloso, pelo incentivo e entusiasmo que marcaram sua presença na Unifal/MG.

Ao Prof. Dr. Zoilo Pires de Camargo, pesquisador titular do Laboratório de Micologia Médica Molecular da Universidade Federal do Estado de São Paulo (UNIFESP), pela doação do antígeno utilizado na pesquisa.

À enfermeira Sônia Maria de Souza Lima Paes, da Secretaria Municipal de Saúde de Alfenas, que gentilmente realizou o treinamento para a realização dos testes cutâneos.

Aos colegas de curso, pela oportunidade de conviver e de compartilhar conhecimentos técnicos, mas acima de tudo de dividir sonhos e objetivos.

A todos os professores e profissionais do Programa de Pós-Graduação em Biociências Aplicadas a Saúde, pela dedicação e valiosos pelos conhecimentos compartilhados.

Aos meus colegas do CIAS-UNIFAL, e a nosso Coordenador Pró-Reitor Júlio Cesar Barbosa, pela compreensão e pelo estímulo ao aprimoramento.

A todos os pacientes, que voluntariamente concordaram em participar deste trabalho, por genuíno desprendimento e desejo de ajuda ao próximo.

“Senhor,

Conceda-me a serenidade para aceitar as coisas que não posso mudar,  
a coragem para mudar as coisas que posso,  
e a sabedoria para reconhecer a diferença.”

(SÃO FRANCISCO DE ASSIS)

## RESUMO

A paracoccidioidomicose é uma micose profunda, negligenciada, endêmica em áreas rurais da América Latina, considerada importante problema de saúde pública. Estudos epidemiológicos da infecção pelo *Paracoccidioides brasiliensis* são baseados principalmente em inquéritos com testes cutâneos com paracoccidioidina. Objetivou-se estimar a prevalência da sensibilização cutânea ao *P. brasiliensis* em moradores de áreas rurais do município de Alfenas/MG e verificar fatores de riscos associados à infecção. Foi realizado um estudo transversal de base populacional utilizando testes intradérmicos com paracoccidioidina em 542 indivíduos selecionados por demanda espontânea. Os participantes foram submetidos à entrevista com preenchimento de ficha cadastral com dados epidemiológicos e ao teste de intradermorreação com aplicação de 0,1 mL de paracoccidioidina no antebraço esquerdo. A leitura do teste foi realizada 48 horas após aplicação, sendo considerados reatores positivos os indivíduos com medida da induração de diâmetro igual ou maior a 5 mm. Das 542 pessoas estudadas, a prevalência de positividade ao teste cutâneo foi de 46,67%, com predomínio do gênero masculino. Observou-se um aumento da prevalência da infecção paracoccidioidica com o aumento da idade. Houve diferença estatisticamente significativa somente para gênero masculino, que foi de 56,30%. As variáveis profissão, etilismo e tabagismo não se mostraram significativas ou associadas ao risco de infecção paracoccidioidica. Há uma relevância da Paracoccidioidomicose-infecção nessas áreas rurais, portanto, sugere-se outros estudos clínico-epidemiológicos dessa micose na região Sul do Estado de Minas Gerais.

**Palavras-chave:** Paracoccidioidomicose. Epidemiologia. Inquéritos epidemiológicos. Testes intradérmicos.



## ABSTRACT

The paracoccidioidomycosis is a deep mycosis, neglected, endemic in rural areas of Latin America, considered an important public health problem. Epidemiological studies of *Paracoccidioides brasiliensis* infection are mostly based on surveys with skin tests with paracoccidioidin. This study aimed to estimate the prevalence of skin sensitization to *P. brasiliensis* in residents of rural areas the Alfenas/MG and verify risk factors associated with infection. We conducted a population-based cross-sectional study using intradermal tests with paracoccidioidin in 542 individuals selected through spontaneous. Participants underwent an interview to fill a registration form with epidemiological data and test with intradermal administration of 0.1 mL of paracoccidioidin left forearm. The reading test was performed 48 hours after application were considered positive reactors individuals with measurement of induration diameter equal to or greater than 5 mm. Of the 542 people studied, the prevalence of positive skin test was 46.67%, with a predominance of males. There was an increase in the prevalence of infection paracoccidioidica with increasing age. Difference was statistically significant only for males, which was 56.30%. Variables profession, alcoholism and smoking were not significant or associated with the risk of infection paracoccidioidica. There is a relevance of paracoccidioidomycosis-infection in these rural areas, therefore, suggest other clinical and epidemiological studies of this mycosis in the southern region of Minas Gerais.

**Keywords:** Paracoccidioidomycosis. Epidemiology. Health Surveys. Intradermal tests.

## LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - Inquéritos populacionais com Paracoccidioidina e gp43 em diferentes áreas da América do Sul.....	30
TABELA 2 - Distribuição de frequência das variáveis de IRDM, gênero, profissão, tabagismo e etilismo.....	59
TABELA 3 - Distribuição da IRDM estratificada por gênero, profissão, faixa etária, tabagismo e etilismo.....	61
TABELA 4 - Estimativa dos parâmetros do modelo de regressão logística, razão de possibilidades e seu intervalo com 95% de confiança para a prevalência de infecção pelo <i>P. brasiliensis</i> (IRDM positiva), apenas para variáveis significativas.....	62

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Fotografia ilustrando <i>P. brasiliensis</i> .....	20
Figura 2 -	Fotografia ilustrando leveduras de <i>P. brasiliensis</i> .....	21
Figura 3 -	Mapa da distribuição da paracoccidiodomicose na América Latina.....	25
Figura 4 -	Manifestações clínicas da paracoccidiodomicose.....	42
Figura 5 -	Imagens radiológicas na paracoccidiodomicose.....	44
Figura 6 -	Acometimento oral na forma crônica da paracoccidiodomicose.....	44
Figura 7 -	Aspectos clínicos da forma crônica da paracoccidiodomicose.....	44
Figura 8 -	Mapa do Estado de Minas Gerais com localização do município de Alfenas.....	53
Figura 9 -	Fotografias de demonstração do procedimento do teste intradérmico.....	55
Figura 10 -	Fotografia ilustrativa do aspecto da reação positiva. Teste intradérmico com formação de flictema.....	55
Figura 11 -	Fotografia ilustrativa da leitura da IRDM 48h após a aplicação do Antígeno.....	56
Figura 12 -	Esquema utilizado para a aplicação e leitura dos testes de intradermorreação (IRDM) na população de áreas rurais do município de Alfenas, Sul do Estado de Minas Gerais.....	57

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

<b>AIDS</b>	- Síndrome da Imunodeficiência Adquirida
<b>BCG</b>	- Bacilo <i>Calmette-Guérin</i>
<b>CLR</b>	- Receptores de Lecitina tipo C-like
<b>ELISA</b>	- Enzyme Linked Immunosorbent Assay
<b>GM-CSF</b>	- Fator Estimulador de Colônia de Macrófago e Granulócito
<b>gp43</b>	- Glicoproteína 43 kDa
<b>IRDM</b>	- Intradermorreação
<b>IBGE</b>	- Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
<b>IgE</b>	- Imunoglobulina E
<b>IL</b>	- Interleucina
<b>IFN-<math>\gamma</math></b>	- Interferon Gama
<b>KDa</b>	- Kilodáltons
<b>KOH</b>	- Hidróxido de Potássio
<b>PAMPs</b>	- Padrão Molecular Associado a Patógenos
<b><i>P. brasiliensis</i></b>	- <i>Paracoccidioides brasiliensis</i>
<b>PCM</b>	- Paracoccidioidomicose
<b>PMN</b>	- Polimorfonucleares
<b>PPD</b>	- Derivado Purificado da Proteína
<b>PRRs</b>	- Receptores de Reconhecimento de Padrões
<b>TGF</b>	- Transforming Growth Factor
<b>Th</b>	- Linfócito T Helper
<b>TNF-<math>\alpha</math></b>	- Fator de Necrose Tumoral alfa
<b>VHS</b>	- Velocidade de Hemossedimentação
<b>SNC</b>	- Sistema Nervoso Central
<b>SIH/SUS</b>	- Sistema de Internações Hospitalares do Sistema Único de Saúde
<b>TLRS</b>	- Toll-like receptors
<b>UNIFAL-MG</b>	- Universidade Federal de Alfenas – Minas Gerais

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>11</b>
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	<b>16</b>
2.1	OBJETIVO GERAL.....	16
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	16
<b>3</b>	<b>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	<b>17</b>
3.1	ASPECTOS HISTÓRICOS.....	17
3.2	AGENTE ETIOLÓGICO-BIOLOGIA DO FUNGO.....	19
3.3	ECOLOGIA.....	22
3.4	EPIDEMIOLOGIA.....	24
<b>3.4.1</b>	<b>Da paracoccidioidomicose doença</b> .....	<b>25</b>
<b>3.4.2</b>	<b>Paracoccidioidomicose-infecção e inquéritos epidemiológicos</b> .....	<b>28</b>
<b>3.4.3</b>	<b>Distribuição da paracoccidioidomicose por idade e gênero</b> .....	<b>30</b>
<b>3.4.4</b>	<b>Distribuição da PCM por atividade ocupacional e por hábitos de vida</b> .....	<b>32</b>
3.5	IMUNOPATOGENIA E PATOLOGIA.....	34
3.6	FORMAS E MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS.....	39
3.7	DIAGNÓSTICO LABORATORIAL.....	45
3.8	TRATAMENTO.....	48
<b>4</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	<b>52</b>
4.1	LOCAL DE REALIZAÇÃO DO ESTUDO.....	52
4.2	TIPO DE ESTUDO.....	53
4.3	PROCEDIMENTO DE INOCULAÇÃO E LEITURA DA IRDM COM PARACOCCIDIOIDINA.....	54
4.4	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	57
4.5	COMITÊ DE ÉTICA.....	57
<b>5</b>	<b>RESULTADOS</b> .....	<b>59</b>
<b>6</b>	<b>DISCUSSÃO</b> .....	<b>63</b>
<b>7</b>	<b>CONCLUSÃO</b> .....	<b>67</b>
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>68</b>
	<b>APÊNDICES</b> .....	<b>82</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A Paracoccidioidomicose (PCM) é uma micose sistêmica endêmica na América Latina, causada pelo fungo *Paracoccidioides brasiliensis* (*P. brasiliensis*) (SAN-BLAS GIOCONDA; SAN-BLAS, 1994; RESTREPO et al., 2011). O *P. brasiliensis* é um fungo termo-dimórfico, pois se apresenta sob duas formas: micélio e levedura. A primeira, forma micelial, é encontrada na natureza à temperatura de 18 a 25° C e produtora dos esporos ou conídeos infectantes, que quando inalados pelos hospedeiros susceptíveis podem se transformar em células leveduriformes em seus tecidos (LACAZ et al., 2002). Esse processo morfogênético é reversível, implicando a capacidade de adaptação às mudanças das condições ambientais, sendo que a conversão da fase micelial para a de levedura segue a cronologia da infecção, permitindo sobrevivência do fungo e sua invasão aos tecidos do hospedeiro (RESTREPO, 2011; SAN-BLAS; BURGER, 2011).

Recentemente, ferramentas moleculares têm sido utilizadas para a revisão da taxonomia de fungos patogênicos para o homem. O uso dessa metodologia tem mostrado que o *P. brasiliensis* não é uma única espécie, mas um complexo que inclui, no mínimo, três subespécies: S1, presente no Brasil, na Argentina, no Paraguai, no Peru e na Venezuela; PS2, presente no Brasil e Venezuela; e PS3 restrita à Colômbia. Entretanto, o impacto clínico dessa diversidade genotípica ainda necessita de maior esclarecimento (MATUTE et al., 2006; COLOMBO et al., 2011). Outras análises observaram o isolado Pb01, que é atualmente descrito como uma nova espécie de *Paracoccidioides*, denominada *Paracoccidioides lutzii*, em homenagem ao médico Adolfo Lutz (TEIXEIRA et al., 2009).

O parasita é uma célula eucariota, opcionalmente intracelular com uma membrana celular de quitina, com dupla parede de tecido birrefringente, que se reproduz com ou sem gemulação e tem diâmetro variando de 5 a 25 µm (QUEIROZ-TELLES, 1994; SILVA; SARAIVA, 2008).

Sua distribuição é heterogênea, com áreas de alta e baixa endemicidade, de acordo com as características climáticas e agrícolas da região. O *P. brasiliensis* cresce em solo argiloso ou arenoso e com umidade favorável, o que aponta para a possibilidade de vida saprofítica em solo rico em material orgânico e úmido e protegido da luz solar. Algumas atividades agrícolas, como a plantação de café,

podem estar relacionadas com a infecção. Apesar dessa estreita relação entre o ambiente rural e a vegetação, seu nicho ecológico ainda não foi completamente definido, o que dificulta o conhecimento da real forma e do momento em que os indivíduos são infectados pelo fungo (MARTINEZ, 2010; BAGAGLI et al., 2008).

Além disso, a descoberta de hospedeiros naturais silvestres, particularmente o tatu de nove bandas (*Dasypus novemcinctus*) e o desenvolvimento e a aplicação de ferramentas de biologia molecular, abrem-se novas perspectivas de conhecimento sobre a ecologia do *P. brasiliensis* (SILVA-VERGARA et al., 2000; RICHINI-PEREIRA et al., 2009).

A maioria dos casos de PCM é relatada no Brasil (em torno de 80% dos casos), seguido de Venezuela, Colômbia, Equador e Argentina, sendo considerada de distribuição limitada à América Latina (RESTREPO et al., 2011; COLOMBO et al., 2011). No entanto, existem relatos de casos em países fora dessas áreas, onde todas as pessoas que contraíram a doença haviam morado ou visitado regiões endêmicas da América Latina, antes do surgimento das manifestações clínicas. Desse modo, a PCM é considerada também uma doença de viajantes (RESTREPO; GÓMEZ; TOBÓN, 2012; NUCCI; COLOMBO; QUEIROZ-TELLES, 2009; MARQUES, 2012).

No Brasil, a infecção assintomática demonstrada pelo teste cutâneo com paracoccidioidina, é encontrada praticamente em todas as regiões com maior prevalência no Sudeste, Sul e Centro-oeste. Estima-se que aproximadamente 10% dos indivíduos da população estejam infectados pelo fungo, excedendo outras doenças negligenciadas, tais como esquistossomose e leishmaniose. Entretanto, a maioria dos indivíduos não apresenta sintomatologia clínica (MARTINEZ, 2010; AMEEN; TALHARI; TALHARI, SINÉSIO, 2009; MOREIRA, 2008).

A PCM representa um importante problema de saúde pública por seu potencial incapacitante e por provocar mortes prematuras. No Brasil, com exceção de alguns Estados (Mato Grosso do Sul, Minas Gerais e São Paulo), a doença não é de notificação obrigatória, não sendo inserida em programas governamentais direcionados à prevenção, ao diagnóstico e ao tratamento dessa importante micose e de suas complicações e sequelas (RESTREPO et al., 2011; BELLISSIMO-RODRIGUES et al., 2011; MARTINEZ, 2010). Segundo Marques (2012) e Martinez (2009), o efeito da PCM na saúde pública relaciona-se com alguns aspectos como: a demora no diagnóstico, o resultado da evolução silenciosa da doença, a dificuldade

de acesso aos serviços de saúde; pouca experiência clínica de seu reconhecimento, além da semelhança com outras patologias granulomatosas como a tuberculose.

Coutinho (2002) relatou uma taxa de mortalidade por PCM no Brasil de 1,45/milhão de habitantes no período de 1980 a 1985, representando a oitava causa de morte dentre as doenças infecciosas crônicas e a mais alta entre as infecções micóticas sistêmicas. Também Prado et al. (2009) observaram que a PCM foi a principal causa de óbitos dentre as micoses sistêmicas no período de 1996-2006. A maior taxa de mortalidade foi encontrada na região Sudeste, especialmente nos estados de São Paulo, de Minas Gerais, do Rio de Janeiro e, na região Sul, nos estados do Paraná e do Rio Grande do Sul.

A prevalência da infecção paracoccidioídica é avaliada principalmente por testes de intradermoreação. Este apresenta grande variação conforme a região estudada e a quantidade de indivíduos sensibilizados pelo *P. brasiliensis*, tendendo a aumentar com a expansão das fronteiras agrícolas (COLOMBO et al., 2011; WANKE; LONDERO, 1994). No estado de Minas Gerais, Silva-Vergara e Martinez (1998) observaram elevada prevalência de infecção em área agrícola de café e Bellissimo-Rodrigues et al. (2011) alta proporção de casos de PCM aguda e subaguda.

A PCM ocorre predominantemente em indivíduos adultos do sexo masculino, habitantes ou trabalhadores de zona rural ou peri-urbana, sendo considerada doença de caráter ocupacional (BELLISSIMO-RODRIGUES et al., 2011; MARTINEZ, 2004). Acomete, em mais de 80%, indivíduos adultos em fase de maior produtividade da vida (faixa etária dos 30-60 anos) com predomínio na quarta década de vida (COLOMBO et al., 2011; NUCCI; COLOMBO; QUEIROZ-TELLES, 2009; PANIAGO et al., 2003).

A infecção pelo *P. brasiliensis* é adquirida a partir das primeiras décadas de vida por inalação de partículas fúngicas, nessa fase, a manifestação clínica frequentemente se resolve espontaneamente sem intervenção médica. Entretanto, o fungo pode persistir de forma latente e ser reativado posteriormente (reativação endógena), em parte, devido às alterações do sistema imune do hospedeiro (RESTREPO et al., 2011, BENARD et al., 2005). Entre alguns prováveis fatores desencadeantes da PCM doença, cita-se o alcoolismo, o tabagismo e a desnutrição, e outras condições de imunodepressão como, AIDS, transplante de órgãos e neoplasias (MARTINEZ, 2009; PANIAGO et al., 2003; SANTOS et al., 2003).



A principal via de infecção do fungo é a inalatória. Este se instala primariamente nos pulmões, a partir dos quais ocorre a disseminação linfática ou hematogênica para diferentes regiões do organismo (RESTREPO et al., 2011; SHIKANAI-YASUDA et al., 2006).

A PCM manifesta-se, principalmente, pelo acometimento pulmonar de curso crônico, frequentemente associado ao envolvimento cutâneo-mucoso e, eventualmente, por lesões disseminadas extrapulmonares (WANKE; AIDÊ, 2009; MARQUES, 2012). As formas clínicas apresentadas pela doença podem ser resumidas em aguda e crônica, sendo esta última a mais frequente no adulto. Quando o diagnóstico e o tratamento são feitos tardiamente, pode levar às formas disseminadas graves e letais, com comprometimento rápido e progressivo dos pulmões, do tegumento, dos gânglios, do baço, do fígado e dos órgãos linfoides do tubo digestivo (RESTREPO et al., 2011; SHIKANAI-YASUDA et al., 2006; LACAZ et al., 2002).

Em relação ao diagnóstico laboratorial, nenhum procedimento é considerado superior ao reconhecimento do *P. brasiliensis* em espécimes biológicas oriundas de amostras clínicas e/ou de cortes histológicos de tecidos. Entretanto, nem sempre se encontra nessas situações ideais e, dessa forma os testes sorológicos, como a imunodifusão dupla, podem ser de grande valor no auxílio do diagnóstico e no acompanhamento terapêutico (CAMARGO, 2004).

A avaliação da imunidade celular *in vivo* (hipersensibilidade tipo tardia) pode ser realizada através do teste de intradermorreação utilizando antígenos do fungo (paracoccidioidina) e analisada pelo diâmetro da endureção no local de aplicação do antígeno. Esse teste relaciona-se com a imunocompetência do indivíduo. Embora não seja utilizado como exame de diagnóstico, pode informar sobre o possível contato com o fungo. Nesse sentido, tem sido utilizado, frequentemente, em inquéritos epidemiológicos em indivíduos normais com o objetivo de identificar e de delimitar áreas endêmicas (MARQUES, 2010; CAMARGO, 2004).

O tratamento da PCM é muito longo e com frequentes recidivas. O *P. brasiliensis* possui sensibilidade à maioria dos fármacos antifúngicos, podendo vários destes serem utilizados para o tratamento da micose, inclusive os sulfamídicos (TRAVASSOS et al., 2008). Embora o tratamento antifúngico tenha a função primordial de reduzir a carga fúngica, o controle em longo prazo das infecções micóticas envolve uma resposta imune eficaz. A combinação de terapêutica

farmacológica e de uma vacina eficaz poderia, potencialmente, tratar os casos mais graves da PCM, reduzindo período de tratamento, prevenindo recaídas e sequelas (TRAVASSOS; TABORDA, 2008, 2012; MAGALHAES et al., 2012).

A micose apresenta critérios de cura clínicos e imunológicos. O clínico inclui regressão das manifestações clínicas e cicatrização das lesões. O imunológico se traduz na negatificação do título de anticorpo ou na estabilização em valores baixos (1:2) (MARQUES, 2010; PALMEIRO; CHERUBINI; YURGEL, 2005). Os pacientes com PCM possuem risco potencial de uma reativação tardia, após terem apresentado uma possível cura. Atribui-se a “cura aparente” ao fato de os fármacos diminuírem a quantidade de fungos no organismo, permitindo a recuperação da imunidade celular e o consequente restabelecimento do equilíbrio entre parasito e hospedeiro. Assim, as diferentes modalidades terapêuticas não dispensam o acompanhamento clínico, sendo importante a realização de exames uma vez ao ano, mantida por, no mínimo, dois anos após a interrupção da terapêutica (SHIKANAI-YASUDA et al., 2006).

Mesmo após 100 anos da descrição original da PCM (LUTZ, 1908) e inegáveis avanços na compreensão da biologia do fungo, de sua imunopatologia, do diagnóstico e do tratamento, a doença persiste como uma das mais prevalentes infecções fúngicas sistêmicas da América Latina (MARTINEZ, 2010; NUCCI; COLOMBO; QUEIROZ-TELLES, 2009). Recentemente, foi inserida entre as doenças negligenciadas de significativo impacto na saúde pública e que não tem sido devidamente quantificada por falta de informações disponíveis (MARTINEZ, 2010; LIESE; ROSENBERG; SCHRATZ, 2010; HOTEZ et al., 2008; IGREJA, 2011).

Diante do exposto, buscou-se estimar, pela primeira vez, a prevalência da sensibilização ao *P. brasiliensis*, através da intradermorreação (IRDM) com paracoccidioidina, em áreas rurais do município de Alfenas, MG. Também objetivou-se avaliar alguns fatores de risco que podem estar associados à infecção.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

Realizar levantamento epidemiológico da infecção pelo *P. brasiliensis* através da intradermorreação em moradores de localidades rurais de Alfenas/MG.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar a prevalência da paracoccidiodomicose-infecção em localidades rurais do município de Alfenas-MG, por meio da paracoccidiodina Gp43;
- Caracterizar os moradores quanto ao contato pelo *P. brasiliensis* em relação a gênero, profissão, faixa etária, hábitos tabagistas e etilistas;
- Analisar fatores de risco associados à infecção paracoccidiodica.

### 3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1 ASPECTOS HISTÓRICOS

A primeira descrição da doença foi feita pelo cientista e médico brasileiro Adolfo Lutz (1908) em relato sobre dois pacientes hospitalizados na Santa Casa de São Paulo com lesões de região oral e com adenopatias cervicais rotuladas como “Micose Pseudococcidioica”. Em artigo intitulado “Contribuição ao conhecimento das Hifoblastomicoses Americanas”, Lutz descreveu os aspectos clínicos, histopatológicos e microbiológicos dessa micose bem como a natureza termodimórfica do agente, diferenciando-o do fungo *Coccidioides immitis*, descrito anteriormente (LACAZ et al., 2002; MARQUES, 2010).

Splendore (1912), biólogo italiano então residindo no Brasil, descreveu a doença e seu agente etiológico de forma detalhada e propôs a denominação de *Zymonema brasiliense* ao fungo. Nos anos seguintes, a micose suscitou grande interesse clínico-científico com relato de vários novos casos no Estado de São Paulo até que Almeida (1930) publicou, de forma detalhada, as características do fungo, propondo a denominação *Paracoccidioides brasiliensis*, universalmente aceita até os dias atuais. A doença foi referida por várias denominações como blasto micose brasileira, granuloma paracoccidioídico, blastomicose sul-americana, micose de Lutz, moléstia de Lutz-Splendore, dentre outras. Entretanto, o nome Paracoccidioidomicose surge do gênero criado por Almeida e torna-se universalmente aceito, a partir de 1971, quando seu uso foi recomendado durante o Simpósio sobre a micose realizado em Medellín, Colômbia (LACAZ et al., 2002).

Além desses autores pioneiros, outros importantes cientistas têm contribuído no avanço do conhecimento de vários aspectos da doença. Pablo Negroni (*apud* MARQUES, 2010, p. 295), na Argentina, em 1931, demonstrou *in vitro* o dimorfismo térmico do *P. brasiliensis* e também conseguiu isolar o fungo a partir de amostras do solo de região endêmica. Almeida e Lacaz (1941) sintetizaram antígeno para aplicação em testes de intradermorreação e criaram o termo “paracoccidioidina”. Fava Netto (1955, 1961) descreveu o uso do antígeno polissacarídeo como substrato nas reações de fixação de complemento, de precipitação em tubos e ao

teste de intradermorreação com paracocidiodina. Mais recentemente, Puccia et al. (1986) conseguiram caracterizar o antígeno exocelular de massa molecular de 43 kDa considerado específico do *P. brasiliensis* e utilizado atualmente nas técnicas de imunoprecipitação, de imunodifusão, de imunoeletroforese e de intradermorreação. Destaca-se também o trabalho de Del Negro et al. (1991) a respeito da sensibilidade, de especificidade e da eficiência dos diferentes testes sorológicos na PCM.

Em relação ao tratamento, Ribeiro (1940) propôs a sulfapiridina como opção terapêutica e, posteriormente, Lacaz e Sampaio (1958) relataram os primeiros e satisfatórios resultados obtidos com uso da anfotericina B. Quanto aos derivados azólicos, o cetoconazol e itraconazol, Cucé, Wroclawski e Sampaio (1980); Restrepo et al. (1987); Borelli (1987) e Negroni et al. (1987) obtiveram resultados clínicos satisfatórios com uso dessas drogas.

Naiff et al. (1986) relataram o aspecto enzoótico da PCM em tatus (*Dasypus novemcinctus*) capturados no sul do estado do Pará, fornecendo novos conhecimentos sobre a ecologia do fungo.

Franco et al. (1987) ordenaram e classificaram as diferentes formas clínicas que se tornaram referência mundial.

Em 2006, foi realizado o consenso brasileiro sobre o manejo da Paracoccidioidomicose com o objetivo de se estabelecer as diretrizes para a abordagem clínica, diagnóstica e para o tratamento da PCM, objetivando auxiliar os profissionais da saúde no atendimento primário e secundário da micose (SHIKANAI-YASUDA et al., 2006).

O conhecimento a respeito da espécie do fungo tem evoluído de forma significativa com a aplicação de ferramentas de biologia molecular e de bioinformática. Matute et al. (2006) realizaram estudo filogenético por genealogia de *multi loci*, constatando um complexo de três espécies crípticas em *P. brasiliensis*.

O ano de 2008 foi marcado por completar 100 anos de sua primeira descrição e o periódico Mycopathologia dedicou edição histórica comemorativa com vários capítulos de revisão sobre diferentes aspectos da PCM (SOARES et al., 2008). Por sua importância clínico-social, a PCM continua sendo objeto de intensa pesquisa nos dias atuais.

### 3.2 AGENTE ETIOLÓGICO-BIOLOGIA DO FUNGO

Existe uma grande diversidade fúngica, porém os de importância médica com potencial para desenvolver micoses sistêmicas possuem algumas características micológicas e ecológicas próprias como dimorfismo, distribuição geográfica limitada a áreas endêmicas, formas saprofíticas produtoras de propágulos infectantes capazes de penetrar no hospedeiro, principalmente pela via inalatória (CHAKRABARTI, 2005).

O estudo de filogenia com o objetivo de determinar a real posição do patógeno na árvore da vida é importante para definir sua taxonomia como também para indicar tendências evolutivas e forças biológicas que atuam sobre a espécie. Durante muito tempo, o *P. brasiliensis* foi considerado um fungo imperfeito devido à incapacidade em se detectar a sua fase sexual ou teleomórfica. Nos últimos anos, com os avanços das técnicas biomoleculares, o *P. brasiliensis* foi classificado na família *Onygenaceae* (ordem *Onygenales*, filo *Ascomycota*), sendo proposta uma nova família denominada de *Ajellomycetaceae* que compreende um grupo monofilético, englobando os gêneros anamorfos *Blastomyces dermatitidis*, *Emmonsia parva*, *Histoplasma capsulatum* e *Paracoccidioides* (BAGAGLI et al., 2008).

Estudos ou análises genéticas apontam variabilidade genética e cepas que correlacionam com determinados aspectos geográficos. Pelo menos três distintas espécies filogenéticas foram propostas após estudos genotípicos de 65 amostras, relacionadas com a área geográfica de origem: S1, formado por 38 isolados da Argentina, Brasil, Venezuela e Peru; PS2, formado por 6 isolados do Brasil e da Venezuela; e o PS3, constituído por 21 isolados procedentes da Colômbia. Todas as três espécies relatadas apresentaram capacidade de induzir doença em hospedeiros humanos e animais, no entanto, uma menor virulência foi observada nos isolados da espécie PS2 (MATUTE et al., 2006; BAGAGLI et al., 2008; SAN-BLAS; BURGER, 2011).

Outras análises foram realizadas com o objetivo de se estabelecer relações filogenéticas entre os diversos isolados de *P. brasiliensis*, sendo observado que o isolado Pb01 constituía uma nova espécie (Pb01-like). Esta é atualmente descrita como uma nova espécie de *Paracoccidioides*, denominada *P. lutzii*, em homenagem ao médico Adolfo Lutz (TEIXEIRA et al., 2009).

O *P. brasiliensis* é considerado um fungo termo-dimórfico, pois se apresenta sob duas formas: micélio e levedura (FIGURA 1). A primeira é a forma micelial encontrada na natureza à temperatura de 25°C e produtora dos esporos ou conídios infectantes que quando inalados pelos hospedeiros susceptíveis transformam-se em células leveduriformes em seus tecidos (LACAZ et al., 2002). Esse processo morfo genético é reversível, implica na capacidade de adaptação às mudanças das condições ambientais onde a conversão da fase micelial para levedura segue cronologia da infecção, permitindo sobrevivência do fungo e sua invasão nos tecidos do hospedeiro. Tal processo está ligado à indução de genes específicos, através de vias bioquímicas que modulam a síntese de diferentes componentes determinando a forma final da célula (RESTREPO et al., 2011; SAN BLAS; BURGER, 2011).

Essa segunda forma cresce em tecidos e em culturas a temperaturas de 35 a 37°C como levedura e são as responsáveis pela doença (SAN BLAS; NIÑO-VEGA, 2008). Em espécimes histológicos, escarro, secreções purulentas e em outros materiais de indivíduos doentes, apresenta-se microscopicamente de forma arredondada ou ovalada, parede espessa com duplo contorno e proeminentes vacúolos lipídicos intracitoplasmáticos. As leveduras podem apresentar-se de forma isolada ou agregados, únicos ou múltiplos brotamentos, configurando imagens microscópicas bastante sugestivas e utilizadas para facilitar o reconhecimento do fungo. Estes brotamentos de tamanhos variados são blastoconídeos dispostos ao redor da célula mãe à qual estão ligados por pontes celulares estreitas e curtas e que formam imagens conhecidas como “roda de leme” ou “Mickey Mouse” (FIGURA 2) (MARTINEZ, 2009; RESTREPO et al., 2011).

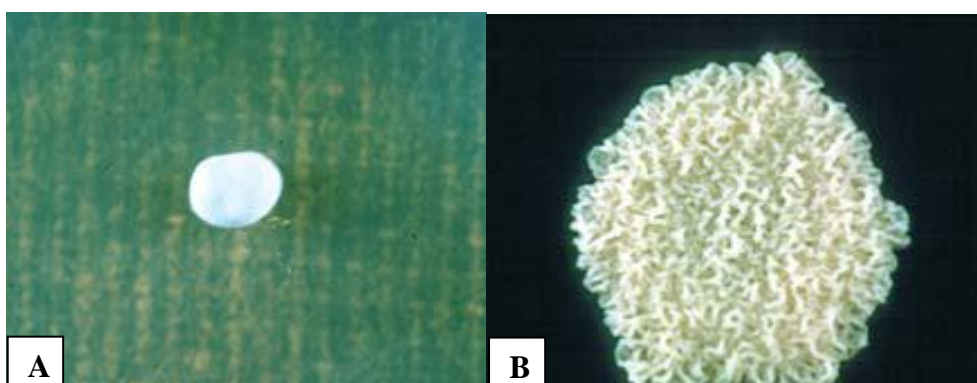


FIGURA 1 - Fotografia ilustrando *P. brasiliensis*

- a) Fase micelial
- b) Fase leveduriforme

Fonte: SHIKANAI-YASUDA et al., 2006.

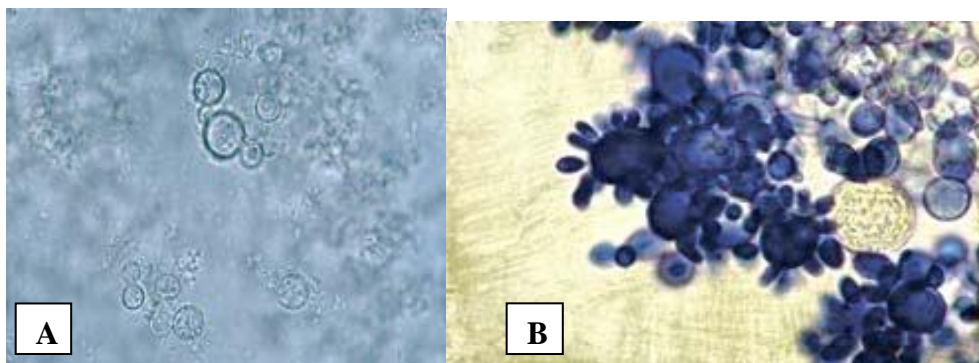


FIGURA 2 - Fotografia ilustrando leveduras de *P. brasiliensis*

a) Exame a fresco em KOH

b) Corado pelo lacto fenol mostrando células leveduriformes com múltiplos brotamentos

Fonte: SHIKANAI-YASUDA et al., 2006

O parasita é uma célula eucariota, opcionalmente intracelular, com uma membrana celular de quitina, com dupla parede de tecido birrefringente; se reproduz com ou sem gemulação e tem diâmetro variando de 5 a 25  $\mu\text{m}$  (SILVA; SARAIVA 2008). A parede da célula fúngica contém uma matriz extracelular constituída de complexo polissacárido-proteína, regulada e alterada durante o ciclo celular em resposta às mudanças das condições ambientais e estresse. A ausência de quitina e  $\beta$ -1,3 glucana em mamíferos, aliado ao fato de serem essenciais para o fungo, tornam-se alvos potenciais para a síntese e para o desenvolvimento de drogas antifúngicas (SAN BLAS; NIÑO-VEGA, 2008).

A composição da parede celular do *P. brasiliensis* apresenta algumas características peculiares às formas encontradas: forma leveduriforme, apresenta-se mais espessa que a micelial (0,2 - 0,6  $\mu\text{m}$ ), constituindo-se de uma camada externa de microfibrilas entrelaçadas ( $\alpha$  - glucana) e eletrodensa e uma camada interna mais espessa e homogênea de quitina. A  $\alpha$ -1,3 glucana está presente exclusivamente nessa forma que também contém uma pequena porcentagem de  $\beta$ -glucana e quitina. A parede da forma miceliana é mais fina, com espessura entre 80 e 150 nm, também com camada externa eletrodensa, delgada e com raras fibrilas ( $\beta$ -glucana) e uma camada interna menos eletrondensa e com delicadas fibrilas de quitina (MARTINEZ, 2004). A galactomanana encontra-se presente em ambas as formas.

Isolados de *P. brasiliensis* não são igualmente virulentos, como tem sido demonstrado por análise polimórfica de DNA amplificado, com algumas cepas que desencadeiam infecções mais localizadas e outras dando origem a doença disseminada. Nesse processo, determinados genes codificam proteínas ligadas ao metabolismo, à estrutura da parede celular e à secreção de determinados fatores,



contribuindo para a evasão do fungo aos mecanismos de defesa do hospedeiro (RESTREPO et al, 2011).

A patogenicidade e a capacidade de invasão do fungo parecem estar associadas à  $\alpha$ -1,3 glucana e proteases, tais como gp43 (glicoproteína de 43 kDa). Esta constitui o principal antígeno secretado pelo *P. brasiliensis* e o mais específico para o diagnóstico da infecção (SILVA; SARAIVA 2008; PUCCIA et al., 1986). A nova espécie denominada *P. lutzii* não expressa a glicoproteína gp43, o que pode implicar dificuldade de diagnóstico laboratorial (ARANTES, 2012).

Recentemente, têm sido intensificados os estudos da parede celular do *P. brasiliensis* com foco em sua constituição glicoproteica, características imunoestimulatórias, propriedades de adesão e possibilidade de alvo terapêutico, levando-se em consideração sua natureza dinâmica e as mudanças que podem ocorrer quando o fungo infecta o hospedeiro humano (PUCCIA et al., 2011).

### 3.3 ECOLOGIA

A PCM possui distribuição geográfica limitada e diretamente relacionada ao clima. A maior parte dos casos ocorre em áreas tropicais e subtropicais, com solos ácidos, temperatura entre 17 a 24°C, em altitudes a partir do nível do mar a 1500 m, com verões chuvosos e invernos secos. Nesses ambientes, o fungo existe como um saprófita das plantas e dos solos (RESTREPO et al., 2011; LACAZ et al, 2002). No entanto, o *P. brasiliensis* é um fungo de difícil isolamento ambiental e seu nicho ecológico ainda não foi devidamente esclarecido. Tal fato dificulta a adoção de medidas de prevenção para evitar novas infecções (DIAZ, 2007).

Theodoro et al. (2005) sugeriram que alguns tipos de solos favoreçam a produção de conídios e de infecção do hospedeiro humano e podem prolongar a sobrevivência do fungo no meio ambiente. Corroborando com essa hipótese, Terçarioli et al. (2007) observaram que solos que apresentam texturas argilosas ou arenosas e grande umidade favorecem o crescimento do fungo. Por outro lado, observou-se pouco ou nenhum crescimento em condições de baixa umidade e em solos com altos teores de alumínio trocável. Esses achados reforçam a suposição que o fungo tenha vida saprófita em solo rico em material orgânico e úmido.

Silva-Vergara et al. (1998) investigaram a hipótese de que a infecção do hospedeiro humano pelo *P. brasiliensis* poderia estar ligada às plantações de café, sendo coletadas amostras de solo, de folhas e de frutos de café em fazendas do município de Ibiá-MG, as quais foram cultivadas e inoculadas em camundongos. O *P. brasiliensis* foi isolado a partir de culturas de lesões hepáticas de um animal inoculado. Esse isolado foi submetido a testes de análise antigênicos contra soro do paciente com PCM e avaliação de padrão de proteínas por eletroforese em gel (SDS-PAGE), observando-se expressão de gp43, considerado o antígeno dominante do *P. brasiliensis*. Esse isolamento de *P. brasiliensis* do solo em área agrícola de plantação de café sugere que este é um dos seus *habitats* e apoia a hipótese de aquisição de PCM durante a atividade agrícola nessas áreas.

A PCM infecção apresenta longo período de latência, ausência de surtos epidêmicos, escassez de relatórios sobre casos agudos, além de frequentes migrações populacionais de áreas endêmicas, o que tem dificultado o rastreamento do fungo em seu ambiente (BAGAGLI et al., 2008; RESTREPO; MCEWEN; CASTANEDA, 2001).

O conhecimento sobre a ecologia do fungo tem sido ampliado nos últimos anos, principalmente pela descoberta de vários hospedeiros naturais silvestres, pelo desenvolvimento e do uso de ferramentas biomoleculares e por aplicação de metodologia de geoprocessamento (BARROZO et al., 2009; THEODORO; BAGAGLI; OLIVEIRA, 2008). A participação de animais no ciclo biológico do fungo tem sido cogitada em virtude de sua identificação em fezes de morcego, de pinguim, em vísceras de macaco, de tatu e de cães dentre outros, assim como pela observação de reações sorológicas e de testes de intradermorreação em animais domésticos e selvagens (MARTINEZ, 2009; RICHINI-PEREIRA et al., 2009).

A demonstração de elevada incidência de infecção por *P. brasiliensis* no tatu de nove bandas (*Dasypus novemcinctus*), que normalmente evoluiu na América do Sul e que vive em contato direto com o solo devido a seus hábitos de vida (escavação do solo), trouxe novas perspectivas para a compreensão da ecologia do fungo e de sua evolução, além da possibilidade de servir como indicador epidemiológico da presença do fungo (BAGAGLI et al., 2008; SILVA-VERGARA et al., 2000). Esses animais apresentam hábito escavatório e sua distribuição geográfica coincide com a observada na PCM, além disso, o contato com os mesmos sugere ser fator de risco

para infecção paracoccidióidica em indivíduos residentes de áreas endêmicas da micose (CADAVID; RESTREPO, 1993).

O *P. brasiliensis* isolados de tatus apresentam significativa variação quanto à virulência, do perfil antigênico e molecular. No entanto, essa variabilidade não parece correlacionar-se com o hospedeiro sendo indistinguíveis dos isolados clínicos, indicando mesmo “ecofenótipo” em animais e humanos. As características do animal como baixa temperatura corporal, baixa resposta imunológica, constantes contatos com o fungo no solo, favorecem a aquisição de repetidas infecções (BAGAGLI et al., 2008).

Bagagli et al. (2008) assinalam que um mesmo organismo pode, em alguns casos, ocupar mais de um nicho ecológico durante o seu ciclo de vida e certamente isso ocorre com o *P. brasiliensis* e com outros fungos termodimórficos patogênicos: durante sua fase micelial saprofítica sofrem influência de diferentes condições e recursos, tais como mudanças frequentes de temperatura e de umidade, além de competição com outros micro-organismos. Por outro lado, durante a fase patogênica (levedura) esses fungos devem adaptar-se a um *habitat* diferente, onde poderiam ocupar diferentes nichos nos diferentes órgãos, de acordo com condições como temperatura, influências hormonais e resposta do sistema imunológico.

Mesmo após 100 anos de descoberta do *P. brasiliensis*, vários aspectos de sua ecologia ainda não foram solucionados, pois trata-se de um micro-organismo de difícil isolamento pelos métodos convencionais de amostras ambientais (solo, água e fezes de animais). Recentemente, Arantes et al. (2012) apresentaram trabalho em que amostras de aerossóis foram coletadas como uma nova opção para detecção ambiental desse patógeno, posicionando um amostrador de ar ciclônico na entrada da toca do tatu. Os métodos incluíram cultura direta, técnica de cultivo por extinção e Nested PCR da sequência da codificação do rRNA. Embora o patógeno não possa ser isolado por meio de estratégias de cultura, a amostragem de aerossol associada com a detecção molecular por meio de Nested PCR mostrou-se um bom método para descobrir *Paracoccidioides* spp. no meio ambiente.

### 3.4 EPIDEMIOLOGIA

### 3.4.1 Da paracoccidioidomicose doença

A paracoccidioidomicose é uma micose profunda de natureza granulomatosa autóctone e limitada ao continente americano, ocorrendo como doença endêmica na América Latina, nas regiões situadas entre 20° ao Norte e 35° ao Sul do Equador, estendendo-se do México à Argentina (FIGURA 3). Sua distribuição nesse espaço territorial é bastante variável sendo mais de 80% dos casos clínicos referidos no Brasil, seguida pela Venezuela, pela Colômbia, pelo Equador e pela Argentina (MARQUES, 2012; COLOMBO et al., 2011). Não há relatos de casos autóctones em Belize e Nicarágua na América Central ou no Chile, na Guiana Francesa e Suriname na América do Sul, com exceção de um caso em Trinidad, em Granada e em Guadalupe. As Ilhas do Caribe parecem estar livres dessa micose (RESTREPO et al., 2011).

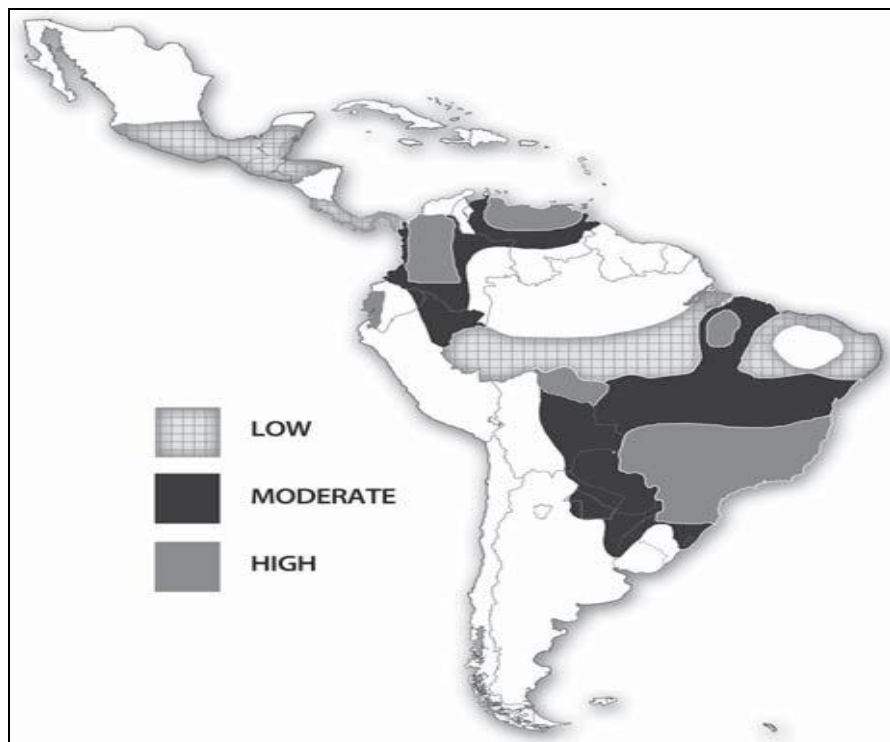


FIGURA 3 - Mapa da distribuição da paracoccidioidomicose na América Latina  
Fonte: Colombo et al. (2011).

Segundo Marques (2010), no Brasil, existe marcante contraste entre distantes regiões sendo sua incidência rara nas regiões áridas e semiáridas do Nordeste e elevadas nas regiões Centro e Sudoeste do país. Alterações ambientais como a

expansão da fronteira agrícola, na região Norte do Brasil, têm sido associada ao aumento do número de casos nessa região.

Recentemente, a PCM foi apontada como problema de saúde pública em países fora dessas áreas de distribuição como no Japão, nos Estados Unidos e em alguns países da Europa, entretanto, todos os indivíduos tinham morado ou visitado regiões endêmicas da América Latina antes do surgimento das manifestações clínicas. Na maioria dos casos, a doença foi diagnosticada em média 14 anos (6 meses a 60 anos), após a partida da zona endêmica. A observação do aumento de relato de casos importados da PCM relaciona-se com o aumento de viagens internacionais, com o ecoturismo e com fenômenos migratórios (SIFUENTES-OSORNIO; CORZO-LEÓN; PONCE-DE-LEÓN, 2012; MARQUES, 2012).

Segundo Calle et al. (2001) e Restrepo et al. (2011), algumas condições climáticas e ecológicas são favoráveis à sobrevivência do *P. brasiliensis*. A maioria dos casos é visto em regiões com pluviosidade entre 500-2.500 mm/ano, com altitude entre o nível do mar e os 1.500 m, com solos férteis e frequentemente ácidos e com cobertura vegetal, com clima temperado ou quente com variação de temperatura entre 17-24°C, com invernos relativamente curtos, com florestas abundantes, com culturas de café e de tabaco.

Simões, Marques e Bagagli (2004) e Barrozo et al. (2009), utilizando dados de incidência geográfica e delimitação espacial, exploraram as influências climáticas na PCM estabelecendo correlações ecológicas relacionadas com a distribuição dessa infecção em área endêmica do Sudeste brasileiro.

Algumas atividades agrícolas, particularmente o cultivo de café, podem estar relacionadas com a infecção (SILVA-VERGARA et al., 1998). Apesar dessa estreita relação entre o ambiente rural e a vegetação, seu nicho ecológico ainda não foi completamente definido, o que dificulta o conhecimento da real forma e do momento que os indivíduos são infectados pelo fungo (MARTINEZ, 2009; BAGAGLI et al., 2008).

A PCM é a infecção fúngica sistêmica mais prevalente no Brasil, entretanto seu real impacto na saúde pública não tem sido completamente avaliado. Recentemente foi incluída na lista das doenças negligenciadas, cujo impacto sobre a saúde pública não foi quantificado, devido à falta de informações disponíveis. Essas doenças compartilham algumas características epidemiológicas, clínicas e sociais que resultam em baixa visibilidade como um problema de saúde pública. Isso é aplicável

à PCM e, com a exceção de algumas medidas em alguns estados, não existem programas governamentais dirigidos a essa micose (MARTINEZ, 2010).

Recentemente, o Ministério da Saúde disponibilizou um documento denominado “proposta de vigilância epidemiológica da Paracocidiodomicose”. Destacou sua concentração nas regiões Sul, Sudeste e Centro-oeste e casos em áreas de colonização mais recente, em que desmatamento e novas práticas agrícolas contribuem para que a PCM seja considerada uma micose emergente nos Estados do Maranhão, Tocantins, Pará, Mato Grosso, Rondônia, Acre e Amazonas. Além disso, reforça que o conhecimento a respeito de áreas endêmicas e de dados epidemiológicos baseiam-se em relato de série de casos clínicos e de inquéritos intradérmicos e que existe subnotificação pelo Sistema de Internações Hospitalares do Sistema Único de Saúde (SIH/SUS) (BRASIL, 2012).

Coutinho (2002) relatou uma taxa de incidência anual de 1-3 por 100.000 habitantes, e, com base em 3181 mortes que se sabe terem ocorrido como resultado de PCM, uma taxa média de mortalidade anual de 1,45 por milhão/habitantes foi estimada, com distribuição espacial não homogênea, entre as regiões do Brasil. Os autores concluíram que a PCM foi a oitava causa de morte, dentre as infecções crônicas parasitárias, e a mais elevada dentre as micoses sistêmicas. A maioria das mortes ocorreu em homens (84,75%) e nos grupos etários mais velhos.

Bittencourt, Oliveira e Coutinho (2005) analisaram 551 mortes da micose no Estado do Paraná, no Brasil, com uma taxa de mortalidade média anual de 3,48 por milhão/habitantes, representando não só a quinta causa de morte entre as doenças infecciosas crônicas, mas também a maior taxa de mortalidade entre as micoses sistêmicas.

Segundo Prado et al. (2009), a PCM foi a principal causa de óbitos dentre as micoses sistêmicas no período de 1996-2006 com uma taxa de 0,9-1,0/milhão de habitantes, sendo mais elevada na região Sudeste, especialmente nos estados de São Paulo, de Minas Gerais, de Rio de Janeiro e na região Sul (Paraná e Rio Grande do Sul). Considerando as taxas de mortalidade atribuídas à PCM, foi possível estimar o número de novos casos anuais no Brasil em 3360 e uma incidência de 1 a 3 casos/100.000 habitantes (SHIKANAI-YASUDA, 2006).

Bellissimo-Rodrigues et al. (2011), na maior série de casos já publicados, analisaram mil pacientes com PCM no período 1980-1999, observando que, para o

município de Ribeirão Preto, a taxa média de incidência anual foi de 2,70 casos/100.000 habitantes.

O expressivo número anual de novos pacientes, o grande contingente de casos com acompanhamento prolongado, aliado às características médico-sociais específicos da doença, dimensiona a PCM como um problema de saúde pública no Brasil e enfatiza sua condição de doença negligenciada (MARTINEZ, 2010).

### **3.4.2 Paracoccidioidomicose-infecção e inquéritos epidemiológicos**

A PCM infecção não seguida de manifestações clínicas é caracterizada pelo encontro de intradermorreação positiva após aplicação de paracocidiodina em indivíduos normais. Sua existência é confirmada pelo encontro casual do fungo em lesões cicatriciais de peças de necropsia (MELO; LONDERO, 1983) e em relatos de casos em que se observou a presença de lesões sugestivas de complexo primário paracoccidióidico (MARTINEZ; MOYA, 2009). Ao contrário de outras micoses profundas como a histoplasmose, a infecção paracoccidióidica raramente é diagnosticada pela escassez de sintomatologia e pela ausência de surtos epidêmicos (MARTINEZ, 2004).

A extensão da PCM infecção vem sendo historicamente constatada por meio de inquéritos populacionais em vários estados brasileiros e países vizinhos através de aplicação intradérmica de antígeno polissacarídeo ou de outros extratos de antígenos do *P. brasiliensis*. Esses inquéritos, utilizando a paracocidiodina, auxiliam a mapear e quantificar a relevância de determinadas áreas endêmicas (LACAZ et al., 2002; MARQUEZ, 2010). Informações geradas por esses testes sugerem que taxas de prevalência da infecção podem atingir valores elevados (50 a 75%) principalmente em trabalhadores de áreas rurais endêmicas (NUCCI; COLOMBO; QUEIROZ-TELLES, 2009; FAVA; FAVA NETO, 1998).

De acordo com Colombo et al. (2011), há estimativas de que aproximadamente 10 milhões de indivíduos estejam infectados na América Latina e aproximadamente 1-2% potencialmente desenvolverão a doença. A infecção é usualmente adquirida durante as primeiras décadas de vida (pico de incidência entre os 10 e 20 anos de

idade), as manifestações clínicas são incomuns nessa faixa etária e geralmente acontecem por reativação de infecção latente (FERREIRA, 2009).

A maioria dos inquéritos no Brasil utiliza intradermorreação à paracoccidioidina como método rotineiro para se avaliar, em parte, a resposta imune celular induzida pelo *P. brasiliensis*. Esse método consiste em injetar via intradérmica na face anterior do antebraço, 0,1mL do antígeno padronizado a partir de cultura do *P. brasiliensis*. A leitura é realizada 48 horas após a injeção, considerando-se como positivas reações com infiltrado (enduração) superior a 5 mm no seu maior diâmetro (FAVA; FAVA NETO, 1998).

Segundo Camargo (2004), a reação de hipersensibilidade do tipo tardio (DTH) é uma forma simples de avaliação da imunidade celular *in vivo*, sendo útil como procedimento para a determinação da competência imunológica do paciente, na avaliação de contato prévio com o fungo. Esse procedimento adicionado aos dados clínicos, pode auxiliar na determinação do prognóstico e do acompanhamento. Entretanto, não é utilizado como método de diagnóstico da doença, pois a maioria dos antígenos utilizados nesses testes são preparações complexas que podem induzir reações cruzadas com determinantes antigênicos de outros fungos.

Atualmente, tem-se valorizado o uso de antígenos purificados em testes de intradermorreação com promissores resultados com uso da glicoproteína gp43 que, quando utilizada como paracoccidioidina (IRDM), evidenciou, por estudo imunohistoquímico, intenso infiltrado perivascular de linfócitos T CD4<sup>+</sup>, macrófagos e histiócitos (SARAIVA et al., 1996; PUCCIA; TAKAOKA; TRAVASSOS, 1991; CAMARGO, 2004). A gp43 é uma glicoproteína de 43 kDa considerada componente antigênico imunodominante do *P. brasiliensis*, reconhecida por 100% dos anticorpos de pacientes e associada à virulência e mecanismos de escape do fungo. Além disso, apresenta efeitos proteolíticos sobre o colágeno, sobre a elastina e sobre a caseína. Além disso, facilita a adesão do *P. brasiliensis* às células epiteliais do hospedeiro (PARISE-FORTES et al., 2011; MENDES-GIANNINI et al., 2008).

Mais recentemente, alguns autores têm utilizado o exoantígeno purificado gp43 em inquéritos epidemiológicos para a delimitação de áreas endêmicas (KALMAR et al., 2004; FORNAJEIRO et al., 2005; SARTI et al., 2011).

No Brasil, a paracoccidioidina é utilizada em inquéritos epidemiológicos com o objetivo de avaliar a prevalência da PCM infecção com resultados não homogêneos, com taxas de positividade variando desde 2 %, entre crianças de diferentes áreas do



Rio de Janeiro, até 82% em Cachoeira do Sul (FAVA; FAVA NETO, 1998).

Na Colômbia, a prevalência de sensibilização ao *P. brasiliensis* pode atingir até 77% da população de determinadas áreas rurais (CADAVID; RESTREPO, 1993), enquanto na Venezuela, as taxas de prevalência da infecção nos últimos anos oscilaram entre cerca de 10,2 % (CERMEÑO et al., 2009) a 19,7% (CERMEÑO et al., 2005).

A Argentina apresenta menores taxas de prevalência da PCM em relação aos demais países da América Latina, sendo observado uma variação de prevalência entre 1,6% (MANGIATERRA et al., 1996) a 10,2% (KOMAID; DURÁN; KESTELMAN, 1999).

Na tabela 1, pode-se observar a prevalência heterogenea da PCM infecção em diversos inquéritos epidemiológicos realizados com testes de intradermorreação em diferentes áreas e regiões geográficas da América do Sul.

Tabela 1- Inquéritos populacionais com paracoccidioidina e gp43 em diferentes áreas da América do Sul

Local	Antígeno	Prevalência	Autor
Brasil (BA)	Paracoccidioidina	5,6%	De Andrade, et al., 1984*
Brasil (SP)	Paracoccidioidina	49,6%	Bagatin, 1986*
Brasil (GO)	Paracoccidioidina	19,4%	Pereira,1988
Brasil (AL)	Paracoccidioidina	11,2%	Santos; Pedrosa,1990*
Brasil (CE)	Paracoccidioidina	32,1%	Diógenes et al., 1990*
Brasil (SP)	Paracoccidioidina	68,7%	Fava,1996*
Brasil (MG)	Paracoccidioidina	13,43%	Rodrigues; Resende,1996
Brasil (RS)	Paracoccidioidina	82%	Zembrzuski et al.,1996*
Brasil (MG)	Paracoccidioidina	49,5%	Silva-Vergara,1998
Brasil (MT)	gp43	4%	Kalmar et al., 2004
Brasil (PR)	gp43	43%	Fornajeiro et al., 2005
Brasil (MS)	gp43	12,2%	Sarti et al., 2011
Brasil (MS)	gp43	45,8%	Marques et al., 2013
Venezuela	Paracoccidioidina	19,7%	Cermeño et al., 2005
Venezuela	Paracoccidioidina	10,2%	Cermeño et al., 2009
Argentina	Paracoccidioidina	1,6%	Mangiaterra et al., 1996
Argentina	Paracoccidioidina	4,4-10,2%	Komaid et al., 1999
Colômbia	Paracoccidioidina	9,9%	Restrepo et al., 1968
Colômbia	Paracoccidioidina	29-77%	Cadavid; Restrepo, 1993

\*Fonte: Adaptado de Fava; Fava Neto (1998).

### 3.4.3 Distribuição da paracoccidioidomicose por idade e gênero

A PCM infecção é adquirida principalmente nas duas primeiras décadas de vida, apresentando taxas de incidência mais elevadas entre os 10 e 20 anos de idade (SHIKANAI-YASUDA et al., 2006). A distribuição da doença e da mortalidade, segundo a faixa etária indica predomínio em indivíduos adultos do sexo masculino entre 30 a 60 anos, sendo a quarta década de vida a mais frequente, o que aponta para acometimento clínico em momento mais produtivo da vida (SHANKAR et al., 2011; WANKE; AIDÊ, 2009; PANIAGO et al., 2003).

Embora a coexistência da infecção PCM e HIV ser pouco frequente (4-5%), segundo as observações dos dois maiores estudos de série de casos publicados no Brasil (BELLISSIMO-RODRIGUES et al., 2011; MOREJON; MACHADO; MARTINEZ, 2009), essa condição tem revelado uma tendência de acometimento em idade mais jovem, em média de 34 anos.

A PCM é relativamente incomum em crianças e em adolescentes, com diferenças regionais, sendo esta faixa responsável por menos de 10% de todos os pacientes (PANIAGO et al., 2003; FERREIRA; 2009). Essa baixa incidência da doença em crianças poderia estar relacionada ao período de latência prolongado, fazendo com que a infecção adquirida na infância seja manifestada clinicamente muitos anos mais tarde, aliado a menor oportunidade de entrar em contato com o agente etiológico (LACAZ et al., 2002; MARTINEZ, 2009).

Por outro lado Rios-Gonçalves et al. (1998) considera que o aumento do número de casos na infância em áreas onde a micose já havia sido considerada rara pode sugerir que mudanças de fronteiras agrícolas (colonização), com remoção de florestas nativas, provavelmente têm exposto as crianças a propágulos de fungos, levando a aumento da incidência da doença.

As diferenças de gênero são uma das mais importantes características dessa doença fúngica sistêmica, com homens adultos exibindo a doença clínica com muito mais frequência que as mulheres (LACAZ et al., 2002; RESTREPO et al., 2011; BELLISSIMO-RODRIGUES et al., 2011). Dados obtidos de diferentes estudos de série, compreendendo 5500 pacientes, revelaram que 5.045 eram do sexo masculino e 455 do sexo feminino para uma relação homem/mulher de 11,1:1 (SHANKAR et al., 2011). Bellissimo-Rodrigues et al. (2011) encontraram uma relação homem/mulher de 6:1. No entanto, existem variações importantes desde 5:1

conforme relatado por Blotta et al. (1999), no Brasil, a 70:1, como observado por Shankar et al. (2011) para a Colômbia.

A nítida diferença na incidência de PCM entre homens e mulheres adultos tem sido explicada por razões hormonais. Severo et al. (1988) observaram que entre 27 mulheres com a doença clinicamente manifestada 70% apresentavam sinais de menopausa e em 11%, a histerectomia foi realizada indicando o efeito protetor dos hormônios femininos. Segundo Shankar et al. (2011), em uma série de 95 crianças com PCM coletados de vários relatórios brasileiros, havia 51 meninos e 44 meninas para um relação homem/mulher de 1,1:1. Tais resultados contrastam com resultados dos adultos e, considerando que em crianças a expressão hormonal ainda não foi completamente desenvolvida essa distribuição similar reforça o papel protetor dos hormônios na PCM.

Estudos experimentais em modelos animais demonstram o efeito protetor hormonal, fornecendo suporte para o papel do beta-estradiol na resistência inata das fêmeas à PCM. O *P. brasiliensis* apresenta receptores para estrógeno em sua parede e secreta uma proteína de ligação ao beta estradiol regulando, a expressão proteica e dificultando ou bloqueando a transformação de micélios ou conídeos em células de levedura infectante. Por outro lado, nos machos, os conídeos transformam-se mais rapidamente em células leveduriformes e multiplicam ativamente, resultando em infecção progressiva. Além disso, a capacidade do hormônio em modular a produção de citocinas pode estar associada à melhora da resposta imune (RESTREPO, et al., 1984; SHANKAR et al., 2011). Embora a mulher possa ser infectada precocemente, estrógenos parecem afetar a transição micelio-levedura e aumentar a secreção de interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) e níveis de células Th1 e diminuição dos níveis de interleucina-10 (IL-10), como demonstrado em modelos experimentais (SIFUENTES-OSORNIO; CORZO-LEÓN; PONCE-DE-LEÓN, 2012; PINZAN et al., 2010).

#### **3.4.4 Distribuição da PCM por atividade ocupacional e por hábitos de vida**

A PCM acomete principalmente trabalhadores rurais adultos, do sexo masculino, que mantêm contato frequente com a vegetação e com o solo, em

período de vida mais produtivo, implicando importante repercussão social e econômica. Além disso, esses indivíduos, geralmente, apresentam menor nível socioeconômico e de escolaridade como também hábitos de tabagismo e de etilismo que podem contribuir para essa situação (PARISE-FORTES et al., 2011).

Diversos autores têm apontado maior prevalência da PCM entre trabalhadores rurais engajados em atividades agrícolas. Aproximadamente 60% dos pacientes com PCM ativa trabalham ou já trabalharam em atividades relacionadas à agricultura, particularmente, em plantações de café, de tabaco e de algodão. Portanto, lavradores e/ou operadores de máquinas agrícolas podem ser considerados grupo alvo e com condições predisponentes para o desenvolvimento da PCM (KAMIKAWA et al., 2012; COLOMBO et al., 2011; NUCCI; COLOMBO; QUEIROZ-TELLES, 2009). Entretanto, esse cenário epidemiológico pode ser alterado de acordo com novas práticas agrícolas, bem como com o uso de pesticidas e de prática de queimadas (COLOMBO et al., 2011; RESTREPO et al., 2011).

Embora a residência em áreas rurais seja um traço comum entre os indivíduos com PCM, o aumento do fluxo migratório para áreas urbanas ou periurbanas leva à mudança de atividade ocupacional, o que reflete a importância de ser realizada uma apurada história clínica pregressa (MARTINEZ, 2010). Outras condições ou atividades profissionais relacionadas à construção civil, ao ecoturismo, à jardinagem, a atividades de lazer em parques ou terrenos baldios são passíveis de possível infecção e necessitam ser valorizadas mesmo na ausência de atividade agrícola primária (MARQUEZ, 2010; KAMIKAWA et al., 2012).

O tabagismo é um hábito comum entre os pacientes portadores de PCM, sendo considerado um fator predisponente para várias infecções pulmonares, incluindo as granulomatosas como a tuberculose e PCM, por seu potencial de causar alterações na microestrutura pulmonar (BELLISSIMO-RODRIGUES et al., 2011). Alguns mecanismos fisiopatológicos como disfunção da mecânica ciliar, diminuição da resposta imune e defeitos na resposta imunológica dos macrófagos poderiam ampliar a infecção (RABAHI, 2012).

Evidências clínico-epidemiológicas e experimentais têm apontado que fatores ou hábitos associados como o tabagismo e o consumo de álcool podem favorecer o surgimento da PCM, pois, potencialmente, interferem nos mecanismos de defesa do hospedeiro com implicações no estado de infecção. O álcool potencialmente diminui a atividade mucociliar e a produção de surfactante, podendo, dessa forma, afetar a

mucosa respiratória ao ser metabolizado em acetaldeído pela microbiota bacteriana superficial, além de contribuir para o estado de desnutrição (MARTINEZ; MOYA, 1992; PARISE-FORTES et al., 2011).

Santos et al. (2003), em estudo de caso-controle realizado em área endêmica do estado do Espírito Santo, observaram que o risco de desenvolvimento da PCM era 14 vezes maior em fumantes que em não fumantes e 3,6 vezes maior entre os indivíduos que consumiam acima de 50 g/dia de álcool. Os autores concluíram que o tabagismo se apresenta como fator de risco para o desenvolvimento da PCM e o consumo de álcool atuaria como um cofator em associação com o tabagismo.

### 3.5 IMUNOPATOGENIA E PATOLOGIA

A PCM infecção é adquirida através da inalação de partículas ou propágulos infectantes e está associada à participação do indivíduo em atividades rurais, sejam de trabalho, de viagem ou de lazer (NUCCI; COLOMBO; QUEIROZ-TELLES, 2009). O *P. brasiliensis* tem como estrutura filamentos contendo propágulos (conídios) que, uma vez inalados, atingem os bronquíolos terminais e alvéolos pulmonares, dando origem à forma de levedura do fungo induzindo à infecção que pode disseminar-se por via linfohematogênica para outros tecidos do organismo (SHIKANAI-YASUDA et al., 2006).

De forma semelhante a outras micoses sistêmicas endêmicas, a via inalatória é a de contágio habitual do fungo, comprovado por meio de modelos experimentais e de achados clínicos. Outras formas possíveis de contágio como traumas em pele ou mucosas são consideradas de caráter excepcional (FERREIRA; QUEIROZ-TELLES, 2010).

Uma vez que tenha atingido os pulmões, o *P. brasiliensis* pode ser destruído pela resistência natural ou inespecífica do hospedeiro, representado pelas células fagocitárias, ou multiplicar-se e formar foco de infecção, o qual envolve linfonodos hilares e mediastinais, caracterizando o complexo primário da PCM (MOREIRA, 2008; FERREIRA; QUEIROZ-TELLES, 2010).

A infecção, nesse momento, apresenta-se clinicamente assintomática ou pouco sintomática, podendo evoluir para diferentes formas com resolução e com

cicatrização completa do complexo primário de forma espontânea ou com manutenção de focos metastáticos quiescentes em qualquer órgão. Excepcionalmente, poderá haver progressão dessas lesões primárias com desenvolvimento da forma aguda ou subaguda (FRANCO et al., 1987; MARQUES, 2010). A forma de infecção assintomática ou oligossintomática pode ser presumida por meio de teste cutâneo de hipersensibilidade tardia com paracoccidiodina, principalmente em indivíduos residentes ou ex-residentes de áreas endêmicas da PCM. O encontro do complexo primário em necropsias de pacientes falecidos por causas diversas corrobora para o entendimento dessa forma de evolução da PCM (FERREIRA; QUEIROZ-TELLES, 2010).

Tem sido postulado que os conídeos infectantes, ao atingirem os pulmões, interagem inicialmente com proteínas da matriz extracelular, expressas predominantemente em células epiteliais dos pulmões e macrófagos alveolares e células dendríticas pulmonares, através de moléculas de adesão existentes na superfície do *P. brasiliensis* (PARISE-FORTES et al., 2011). Além disso, há relatos de que diversos tipos morfológicos do fungo (conídio, leveduras e micélio) exibem moléculas tipo adesina, que se ligam a proteínas da matriz extracelular tais como fibronectina, fibrinogênio e laminina e às células epiteliais (CANO et al., 2012). A ativação de células pulmonares, principalmente com a participação de macrófagos alveolares, após interação com antígenos do fungo, inicia o processo inflamatório por meio da produção de citocinas próinflamatórias e quimiocinas, com indução de expressão de moléculas de adesão na superfície de leucócitos (CANO et al. 2012; BENARD, 2008).

A infecção alveolar inicial pode ser exudativa ou granulomatosa, caracterizada inicialmente por resposta inflamatória neutrofílica, seguida por infiltrado mononuclear composto por macrófagos e células linfomononucleares (CAMARGO; FRANCO, 2000). Em modelos animais de PCM, essas células tornam-se aparentes já nos primeiros quatro dias e se transformam gradualmente em células epitelioides e células gigantes multinucleadas. Após uma semana, observa-se a formação do granuloma epitelióide que é a marca dessa micose (CANO et al., 2012; RESTREPO et al., 2011). Esse é constituído por um arranjo nodular de células epitelióides e gigantes do tipo *Langhans* e corpo estranho que tendem a cercar o *P. brasiliensis*. É frequente a presença de área supurativa central e de exsudato inflamatório rico em linfócitos, plasmócitos e eosinófilos que circundam ou permeam a reação

granulomatosa. Podem-se verificar graus diferentes de fibrose circundando o granuloma ou áreas de necrose que serão substituídas por fibrose cicatricial (CAMARGO; FRANCO, 2000).

Estudos de autópsia em humanos têm revelado que a fibrose pulmonar é resultado de ativa e progressiva infecção, caracterizada por intensa resposta inflamatória centrada no granuloma (LACAZ et al., 2002). O desenvolvimento da fibrose na PCM é um evento de caráter progressivo como resultado de estímulo antigênico persistente e conseqüente processo inflamatório crônico com localização de fibrose preferencialmente em regiões peri-hilares e ao longo do feixe bronco-vascular. A limitação funcional induzida pelo estabelecimento da fibrose pulmonar pode potencialmente evoluir para *cor pulmonale* e grave incapacidade pulmonar e finalmente óbito (CANO et al., 2012).

O desenvolvimento e a disseminação da doença como também sua gravidade são dependentes de fatores relacionados ao fungo, tais como virulência, antigenicidade, condições ambientais, carga parasitária e, principalmente, ao hospedeiro em efetuar uma resposta imune eficaz. Estudos clínicos e experimentais sugerem a interação entre mecanismos de defesa específicos e não específicos na determinação da resistência ao fungo (BENARD, 2008). Os mecanismos de defesa que atuam sobre o fungo são numerosos e complexos, compreendendo a participação da imunidade inata e adquirida que operam de forma harmoniosa e interdependente. Essa resposta imune do hospedeiro, além de complexa, é multifatorial (BURGER, 2010).

O *P. brasiliensis* apresenta uma estrutura antigênica complexa, com epítomos que se relacionam com a imunopatogenicidade. O mais importante componente antigênico do *P. brasiliensis* é uma glicoproteína de superfície da parede do fungo com 43 kDa (gp43), um Ag que está relacionado ao fator de virulência e/ou de evasão fúngica. A glicoproteína gp43 tem atividade proteolítica sobre colágeno, elastina e caseína com importância na instalação do *P. brasiliensis* nos tecidos (PARISE-FORTES et al., 2011).

No hospedeiro, os antígenos do fungo ativam a resposta imune natural e a resposta imune específica. Para a primeira, o fungo e componentes de sua parede celular podem ativar o sistema complemento e induzir quimiotaxia de neutrófilos, relacionando-se, dessa forma, com a reação inflamatória que ocorre na PCM. Com isso, o balanço existente entre os sinais pró e anti-inflamatórios é fundamental na

interação agente-hospedeiro e necessita de ação coordenada da resposta imune inata e adquirida (RESTREPO et al., 2011; BURGER, 2010).

O papel de neutrófilos na PCM é controverso e não está totalmente esclarecido. Em modelos experimentais, o papel dessas células vem sendo comprovado. Quando não ativados, estas apresentam atividade fungistática e podem se transformar em fungicidas por efeito de IFN- $\gamma$ . Além disso, podem ser ativadas por mecanismo oxidativo dependente de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e de anión superóxido e por ação de algumas citocinas como IFN- $\gamma$ , GM-CSF, IL-1 e IL-15 (PARISE-FORTES et al., 2011).

Os polimorfonucleares (PMN) encontram-se presentes nos tecidos parasitados com atividade fungicida contra o *P. brasiliensis*, sendo importante nos estágios iniciais da infecção, contribuindo para o desenvolvimento de efetiva resposta imune ao fungo. Esses também produzem prostaglandinas E2 e leucotrienos, contribuindo para a perpetuação do processo inflamatório (RESTREPO et al., 2011). Por outro lado, quando os PMN são desafiados com *P. brasiliensis*, *in vitro*, passam a produzir altos níveis de IL-8, desencadeando um processo antiapoptótico dos neutrófilos, favorecendo a multiplicação e sobrevivência do fungo no interior da célula fagocitária (PARISE-FORTES et al., 2011).

Estudos experimentais e em humanos demonstram que a resistência ao *P. brasiliensis* é dependente das atividades de células T *helper* e de macrófagos/monócitos, sendo mediados por IFN- $\gamma$  e TNF- $\alpha$ , que são importantes citocinas nesse processo imune. No decorrer desse processo, os linfócitos CD4<sup>+</sup> Th1 sintetizam citocinas (IL-12, IFN- $\gamma$  e TNF- $\alpha$ ), que têm ação protetora ao hospedeiro, evitando a disseminação do fungo. O TNF- $\alpha$  age sobre macrófagos, modulando e amplificando a resposta imune, promovendo uma reação granulomatosa e atividade fungicida mediada por macrófagos (PARISE-FORTES et al., 2011). Finalmente, para demonstrar o importante papel do TNF- $\alpha$  na resposta imune efetiva contra agentes intracelulares, pode-se citar o aumento de risco de doenças infecciosas graves durante terapêutica imunobiológica com anti TNF- $\alpha$  (TSIODRAS et al., 2008).

A modulação da atividade celular, incluindo a fagocitose, se faz pela interação entre moléculas de superfície do agente invasor (PAMPs) e receptores homólogos (PPRs) presentes na membrana celular de diferentes células do organismo como macrófagos, monócitos, células dendríticas, linfócitos T, linfócitos B e células endoteliais. O *P. brasiliensis* utiliza receptores semelhantes a Toll (TLRS,



Toll-like receptors) e receptores de lecitina tipo C-like (CLR), que são proteínas transmembrânicas as quais reconhecem estruturas moleculares de patógenos (PAMPs), ativando a síntese e a liberação de citocinas pró-inflamatórias e indução de expressão de moléculas coestimulatórias que promovem a estimulação da resposta imune adaptativa fagocitária. O *P. brasiliensis* utiliza os receptores TLR2 e TLR4 para invadir macrófagos e iniciar a infecção (BURGER, 2010; PARISE-FORTES et al., 2011).

Semelhantemente ao que acontece em outras infecções causadas por patógenos intracelulares, a resposta imune celular é crucial para o controle da infecção pelo *P. brasiliensis*. Entretanto, existe uma dicotomia entre a resposta imune humoral e a celular na PCM, manifestada pelo encontro de elevados níveis de anticorpos e de baixa proliferação de células T, sugerindo padrão imunológico Th2 predominante em indivíduos que apresentam pouca capacidade de controle da infecção. Esses achados são corroborados pela observação de que, na forma aguda ou subaguda da PCM, os pacientes apresentam uma ineficiente resposta aos testes cutâneos de hipersensibilidade celular tardia (RESTREPO et al., 2011).

A regulação imune na PCM encontra-se associada a padrões de resposta celular do tipo Th1, Th2 e células T regulatórias (TRegs CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup>). Vários estudos confirmam que pacientes saudáveis tendem à resolução da infecção, no local da infecção, por meio do desenvolvimento do padrão de resposta Th1, com formação de granulomas densos (BENARD, 2008). Normalmente, a ocorrência das formas clínicas da PCM justifica-se pela incapacidade de se desenvolver uma resposta Th1 efetiva e de se formar em granulomas densos. Nesses casos, existe a tendência ao desvio para outros padrões de resposta imune, como a Th2, que resulta em incapacidade de conter o desenvolvimento e a disseminação da infecção (BENARD, 2008; RESTREPO et al., 2011).

Os pacientes que apresentam formas benignas da PCM manifestam baixos títulos de anticorpos específicos com respostas positivas de hipersensibilidade tardia. Por outro lado, nas formas graves disseminadas, encontram-se altos títulos de anticorpos e de anergia aos testes cutâneos de hipersensibilidade tardia. Pacientes com essas formas graves, com doença em atividade, apresentam depressão da resposta imune celular, caracterizada por diminuição da síntese de citocinas de padrão Th1 como IL-2, IFN- $\gamma$  e IL-12, e aumento dos níveis de IL-4, IL-5 e IL-10 e de anticorpos dos isotipos IgE, IgG4 e IgA e intensa eosinofilia. Esse

comportamento corresponde à resposta de padrão Th2 que não confere proteção ao hospedeiro (PARISE-FORTES et al., 2011; RESTREPO et al., 2011). Pacientes com a forma crônica de moderada gravidade manifestam resposta intermediária entre os padrões Th1 e Th2.

As células TReg são importantes no controle da resposta imune, principalmente no balanço delicado entre sinais ativadores e inibitórios do sistema imune. A ausência dessas células associa-se à exacerbação de resposta inflamatória com potencial para desenvolvimento de doenças autoimunes. Por outro lado, sua ativação excessiva pode associar-se a maior susceptibilidade aos patógenos (FERREIRA; QUEIROZ-TELLES, 2010).

Conhecer as alterações na resposta imunológica do hospedeiro induzido pela infecção é importante para compreender a necessidade de tratamento prolongado, até o estabelecimento de uma eficiente resposta imune celular. Com isso, pode haver ou não recidiva da doença devido à persistência de células leveduriformes quiescentes no interior de granulomas, por razões ainda não completamente estabelecidas (SHIKANAI-YASUDA et al., 2006). Além disso, os avanços no conhecimento da imunologia da PCM têm favorecido o melhor esclarecimento da história natural dessa micose e de suas manifestações clínicas e de subsídios para novas propostas terapêuticas e desenvolvimento de medidas profiláticas, como as vacinas. A imunização terapêutica com antígenos fúngicos potencialmente pode provocar uma resposta imune celular eficiente, evitando recaídas da doença. As vacinas de peptídeos e de DNA parecem as mais promissoras para a imunização humana (TRAVASSOS et al., 2008; MAGALHAES et al., 2012).

### 3.6 FORMAS E MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS

A PCM apresenta manifestações clínicas diversas, agrupadas de acordo com a duração da doença e com os tipos de órgãos acometidos. A grande variabilidade de manifestações clínicas reflete a complexidade da relação agente/hospedeiro e das muitas variáveis que permeiam essa interação (CANO et al., 2012; RESTREPO et al., 2011; MARQUES, 2010). A classificação mais utilizada é uma adaptação da classificação proposta durante o Colóquio Internacional sobre Paracoccidioidomicose

realizado em 1986 na Colômbia (FRANCO et al., 1987). Essa classificação foi adaptada e proposta pelo consenso brasileiro de paracoccidiodomicose (SHIKANAI-YASUDA et al., 2006):

- a) Paracoccidiodomicose infecção
- b) Paracoccidiodomicose doença
  - Forma aguda/subaguda
  - Forma crônica 

{	- unifocal
}	- multifocal
  - Forma residual ou sequelar
- c) Paracoccidiodomicose associada à imunossupressão

A infecção primária secundária à inalação de propágulos infectantes, normalmente, é assintomática ou oligossintomática. Entretanto, potencialmente, pode evoluir para diferentes formas da doença, dependendo de aspectos como idade e *status* imune do hospedeiro, tamanho e/ou virulência da carga infectante inalada (CANO et al., 2012; FERREIRA; QUEIROZ-TELLES, 2010).

Indivíduo com adequada resposta imune celular usualmente controla a invasão fúngica. Assim, fungos podem permanecer quiescentes e a infecção latente é estabelecida. Sua observação pode ser evidenciada por meio de reação intradérmica positiva à paracoccidiodina. Desse modo, inquéritos epidemiológicos de infecção demonstram e auxiliam na identificação de áreas endêmicas (RESTREPO et al., 2011; LACAZ et al., 2002).

A PCM aguda ou subaguda ou forma juvenil acomete menos de 10% dos casos, dependendo das séries e local geográfico, com predomínio em crianças e em adolescentes sem relação com gênero e eventualmente entre adultos acima de 30 anos (FERREIRA, 2009). Envolve prioritariamente os órgãos do sistema monocítico-fagocitário, produzindo linfadenomegalias, hepatomegalia, esplenomegalia, e disfunção de medula óssea, além de envolvimento ósteo-articular e digestório (MENDES-GIANNINI; DEL NEGRO; GONCALVES, 2010).

Em contraste com a forma crônica, o envolvimento pulmonar com manifestação clínica é relativamente raro (NUCCI; COLOMBO; QUEIROZ-TELLES, 2009), embora estudos por imagem de alta resolução tenham revelado anormalidades pulmonares na quase totalidade dos casos (SHANKAR et al., 2011). Apresenta-se como doença febril de curso mais rápido com piora evidente do estado geral, o que frequentemente motiva atendimento médico mais precoce (SHIKANAI-YASUDA et

al., 2006). O comprometimento cutâneo é frequente com lesões inicialmente papuloacneiformes com evolução para lesões nodulares, ulceradas ou vegetantes, com envolvimento incomum de mucosas (FIGURA 4) (MARQUES et al., 2007; MARQUES, 2012).

A forma crônica da PCM é responsável por mais de 90% dos casos de acometimento clínico, afetando principalmente os indivíduos do sexo masculino com idade entre 30 e 50 anos. Essa forma usualmente progride de forma lenta o que retarda a procura por assistência médica até meses do início da doença com implicações no prognóstico (NUCCI; COLOMO; QUEIROZ-TELLES, 2009). Portanto, essa patologia se caracteriza pela evolução crônica com predomínio de sintomas de adinamia, febre, fraqueza, tosse e dispneia. O acometimento pulmonar está presente na maioria dos pacientes e os pulmões podem ser o único órgão acometido em até 25% dos casos (WANKE; AIDÊ, 2009).

Embora os pulmões sejam os mais acometidos, sintomas respiratórios são tardios e tendem a estar relacionados ou confundidos com o tabagismo (hábito frequente nesse grupo) (RESTREPO et al., 2011). Os sintomas podem ser referidos em único órgão ou sistema (forma unifocal) ou em vários órgãos (multifocal). O fungo pode disseminar-se para qualquer parte do organismo, tornando-se à PCM uma doença polimórfica. A doença envolve comumente os pulmões e as mucosas do trato respiratório superior, a orofaringe, a pele, as cadeias linfáticas e as glândulas adrenais (NUCCI; COLOMBO; QUEIROZ-TELLES, 2009; RESTREPO et al., 2011).

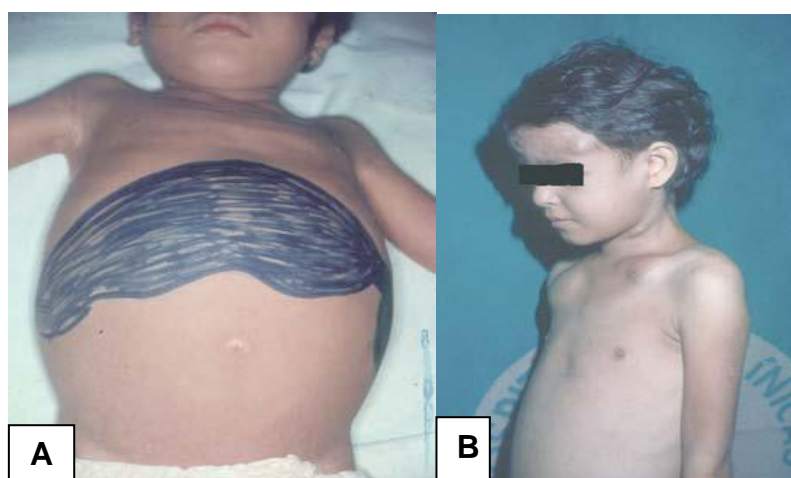




FIGURA 4 - Manifestações clínicas da paracoccidioidomicose  
 A e B crianças apresentando a forma aguda da doença  
 a) Acometimento linfático-abdominal com ascite e hepatoesplenomegalia  
 b) Notar abscessos em regiões frontal e clavicular, resultantes do acometimento osteo-articular.  
 C e D jovens com a forma aguda/subaguda (tipo juvenil)  
 c) Massas ganglionares em região supra-clavicular, cervical e submandibular  
 d) Lesões de aspecto pápulo-nodular e ulceradas, todas resultantes de disseminação hematogênica

Fonte: Adaptado SHIKANAI-YASUDA et al. (2006).

O exame físico revela poucas anormalidades mesmo em pacientes com achado de extenso comprometimento radiológico, caracterizando a típica dissociação clínico-radiológica (WANKE; AIDÉ, 2009; CANO et al., 2012). Os sintomas respiratórios tornam-se presentes somente após vários meses ou anos, sendo a tosse crônica produtiva observada em aproximadamente metade dos casos, a hemoptise, em 10% e dor torácica, raramente. A escassez de sintomas respiratórios explica o motivo pelo qual os pacientes procuram atendimento em serviços de saúde, em virtude principalmente de manifestações extrapulmonares, tais como a presença de lesões cutâneo-mucosas (RESTREPO et al., 2011; CANO et al., 2012).

Dispneia progressiva é indício de doença evolutiva com acometimento da função pulmonar ou de trocas gasosas como também alerta para a possibilidade de complicações associadas. O exame radiológico do tórax evidencia infiltrado interstício-alveolar preferencialmente em lobos inferiores e em áreas centrais, poupando os ápices pulmonares (FIGURA 5). Evolutivamente esses infiltrados adquirem aspecto fibronodular e cicatricial mesmo diante de tratamento antifúngico adequado (MARCHIORI et al., 2011; RESTREPO et al., 2011). A fibrose pulmonar é uma das mais importantes complicações que pode atingir até 60 % dos pacientes sendo acompanhada de áreas de enfisema pulmonar, de bolhas e de cavidades.

Alterações de função pulmonar são frequentemente notadas com predomínio de distúrbio ventilatório do tipo obstrutivo (RESTREPO et al., 2011; CANO et al., 2012).

Em metade dos casos, as lesões de mucosa oral podem ser observadas preferencialmente na gengiva e no palato duro, seguido de orofaringe e de laringe. As lesões da cavidade oral apresentam-se de forma ulcerada, com microgranulações e pontilhado hemorrágico com aspecto denominado estomatite moriforme, geralmente associados a outros sinais e sintomas que incluem sialorreia, sangramento, abaulamento gengival, odinofagia que provocam perda de peso e piora do estado geral (FIGURA 6) (FERREIRA; QUEIROZ-TELLES, 2010).

O envolvimento cutâneo nas formas crônicas ocorre em menor proporção que na forma aguda/subaguda, originando-se de disseminação hematogênica ou por contiguidade de lesões preexistentes (MARQUES et al., 2007). As lesões são polimórficas, únicas ou múltiplas de localização preferencial em face, especialmente em região perioral, seguida por extremidades e tronco (FIGURA 7) (MARQUES, 2010). Tipicamente, são lesões ulceradas, nodulares ou ulcero-vegetantes com edema labial (RESTREPO et al., 2011). O comprometimento cutâneo-mucoso da PCM, além de frequente, é de grande importância para o clínico e para o odontólogo, pois permite suspeita clínica precoce e proporciona fácil acesso a biópsia e à confirmação diagnóstica (MARQUES, 2012; SILVA, 2012).

Em relação ao envolvimento multissistêmico da PCM, é importante valorizar a disseminação para as glândulas suprarrenais por sua elevada frequência (90% em estudos de autópsia) e principalmente pelo potencial evolutivo para a insuficiência adrenal com necessidade de suplementação hormonal (RESTREPO et al., 2011).

O envolvimento do sistema nervoso central é observado em aproximadamente 15% dos pacientes (9,9 a 27% dos casos), podendo atingir até 36% em estudos de necropsia, além de constituir local de primeira manifestação da PCM em até 20% dos casos, (RESTREPO et al., 2011; PEDROSO et al., 2009). O comprometimento resulta de lesões granulomatosas que envolvem meninges, parênquima cerebral, medula espinhal e vasos sanguíneos, o qual pode gerar sinais e sintomas como convulsões, paresias, sinais cerebelares, cefaleia, papiledema e hidrocefalia. O diagnóstico é difícil, mas é auxiliado por informações epidemiológicas, por lesões típicas em outros órgãos, por achados de imagem e de testes sorológicos (ALMEIDA et al., 2004; PEDROSO et al., 2009). A elevada morbimortalidade e principalmente as sequelas impostas aos sobreviventes alertam para a necessidade de se

considerar a PCM entre os diagnósticos diferenciais de processos expansivos e/ou meningoencefálicos do sistema nervoso central (PEDROSO et al., 2009).

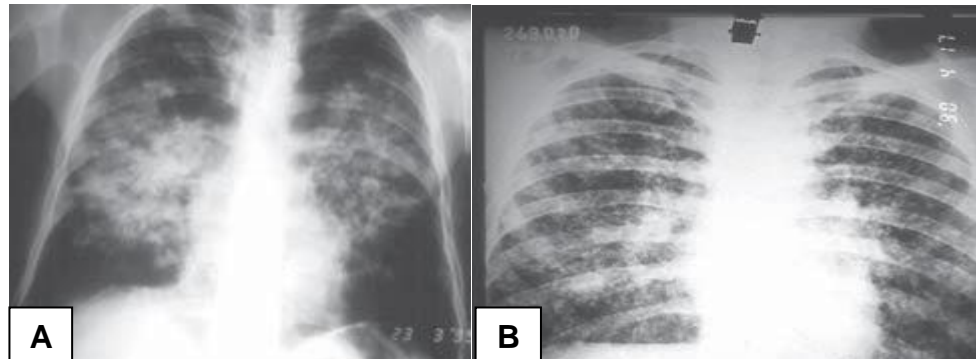


FIGURA 5 - Imagens radiológicas na paracoccidioidomicose  
a) Radiologia convencional mostrando imagem em “asa de borboleta”  
b) Opacidades nodulares e micronodulares difusas

Fonte: Adaptado Shikanai-Yasuda et al. (2006).

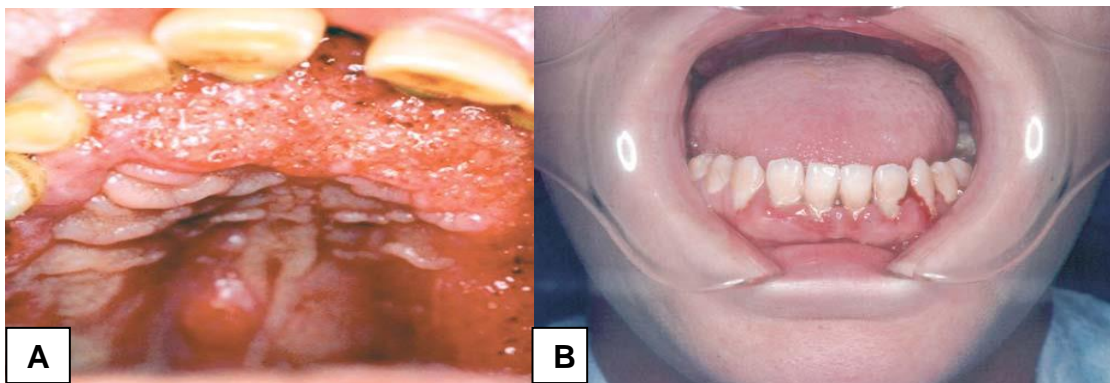


FIGURA 6 - Acometimento oral na forma crônica da paracoccidioidomicose  
a) Estomatite moriforme  
b) Gengivoestomatite

Fonte: Adaptado Shikanai-Yasuda et al. (2006).



FIGURA 7 - Aspectos clínicos da forma crônica da paracoccidioidomicose  
a) Lesões cutâneas em face resultantes de disseminação hematogênica. Lesões papulosas e úlcero-crostosas  
b) Acometimento peri-oral e mentoniano

Fonte: Adaptado Shikanai-Yasuda et al. (2006).

Outro aspecto relevante da PCM é o acometimento simultâneo com outras infecções, especialmente com a tuberculose e com o HIV infecção. A associação tuberculose-PCM pode ocorrer em 5 a 10% dos casos, sendo o erro de diagnóstico bastante comum em virtude das similaridades de apresentação clínico-radiológico. É frequente a prescrição de tratamento isolado para tuberculose, levando-se à progressão da micose (QUAGLIATO JUNIOR et al., 2007).

A associação entre PCM e HIV é pouco frequente em relação a outras micoses sistêmicas, provavelmente pelo predomínio urbano em contraste com endemicidade rural da PCM e profilaxia precoce para *Pneumocystis* com sulfametoxazol-trimetropim que também é efetiva para PCM (SARTI et al., 2011). Aspectos clínicos da PCM, associada ao HIV/AIDS, aproximam-se dos observados na forma aguda/subaguda da doença, sem preferência de gênero, com achados como febre, perda de peso, linfadenomegalia generalizada, hepatoesplenomegalia, além de lesões cutâneas. Cerca de 50% dos pacientes HIV positivos parecem desenvolver uma forma mista da PCM (NUCCI; COLOMBO; QUEIROZ-TELLES, 2009; BENARD; DUARTE, 2000). A PCM é uma micose profunda com predomínio de processo inflamatório granulomatoso crônico que leva ao desenvolvimento de fibrose. A presença de citocinas inflamatórias como TNF- $\alpha$  e TGF- $\beta$  estimulam o acúmulo de colágeno e a formação de fibrose, que podem estabelecer lesões residuais e sequelares graves, refletidas pelas alterações estruturais e funcionais dos órgãos acometidos (CANO et al., 2012; SHIKANAI-YASUDA et al., 2006). Segundo Shikanai-Yasuda et al. (2006), o impacto social e econômico dessas sequelas não tem sido avaliado adequadamente pela comunidade científica e por autoridades governamentais.

O diagnóstico diferencial da PCM depende da forma de apresentação e do tipo de órgão acometido. Patologias infecciosas (tuberculose, leishmaniose, esporotricose, hanseníase, actinomicose, histoplasmose), neoplasias (linfoma, carcinoma) e doenças granulomatosas não infecciosas como a sarcoidose, também devem ser incluídas como diagnóstico diferencial (AMEEN; TALHARI; TALHARI SINÉSIO, 2009; RESTREPO et al., 2011).

### 3.7 DIAGNÓSTICO LABORATORIAL



O diagnóstico definitivo da PCM é fundamentado na visualização e no reconhecimento microscópico de elementos fúngicos, sugestivos de *P. brasiliensis*, a partir de exame a fresco, de biópsia e de exame histopatológico de amostras oriundas de tecidos suspeitos, de raspado de lesões, de secreções ou de fluidos (MENDES-GIANNINI; DEL NEGRO; GONCALVES, 2010). Todas as amostras são preparadas de acordo com suas características e com sua finalidade diagnóstica. As amostras mais comuns são provenientes do trato respiratório, dos gânglios e de lesões mucocutâneas (NUCCI; COLOMBO; QUEIROZ-TELLES, 2009).

No exame micológico direto, o *P. brasiliensis* pode ser visualizado como célula arredondada, hialina, única ou com células-filhas com únicos ou múltiplos brotamentos. Suas paredes são birrefringentes e esverdeadas (MARQUES, 2010). O tamanho e o aspecto de gemulação múltipla do *P. brasiliensis* fazem distinção de outras micoses sistêmicas (MATINEZ, 2004). O isolamento do fungo pode ser obtido por intermédio de cultura, utilizando-se meios de cultura seletivos ou não seletivos, mas que requerem tempo de crescimento prolongado usualmente acima de 30 dias. Além disso, esse método pode ser limitado pelo crescimento de bactérias contaminantes potencialmente presentes em fluidos orgânicos (RESTREPO et al., 2011; NUCCI; COLOMBO; QUEIROZ-TELLES, 2009). Espécimes oriundos de biópsia tecidual mostram formação granulomatosa com células gigantes, multinucleadas e infiltrados polimorfonucleares. Colorações especiais podem ser utilizadas para melhor observar os elementos fúngicos que caracteristicamente se apresentam como células arredondadas, de diâmetro entre 2 a 40µm, isoladas ou agrupadas, com parede birrefringente, com brotamentos simples ou múltiplos com presença de célula mãe cercada de “brotos” comumente chamada de “aspecto em roda de leme” (MENDES-GIANNINI; DEL NEGRO; GONCALVES, 2010; AMEEN; TALHARI; TALHARI SINÉSIO, 2009).

Embora o diagnóstico de certeza de processos infecciosos recaia sobre a demonstração do agente etiológico, várias situações clínicas limitam o acesso à lesão dificultando a coleta de espécimes biológicas para a análise (MOREIRA, 2008). Durante as últimas décadas, importantes inovações em métodos de diagnóstico sorológicos têm sido observadas. A pesquisa sorológica de anticorpos e de antígenos específicos, empregando diferentes técnicas, além do potencial diagnóstico, possibilita monitorar a evolução da doença durante e após o seu tratamento (NUCCI; COLOMBO; QUEIROZ-TELLES, 2009; MOREIRA, 2008).

Diversos testes sorológicos estão disponíveis, incluindo imunodifusão dupla (ID) contraímunoeletroforese (CIE), ensaios imunoenzimáticos tais como ELISA, MELISA (Memory Lymphocyte Immunostimulation Assay), *DotBlot*, *Western Blot*, *Inhibition-ELISA*. Esses testes mostram diferentes taxas de sensibilidade e de especificidade e possível reatividade cruzada com outros fungos, especialmente com o *Histoplasma capsulatum* (NUCCI; COLOMBO; QUEIROZ-TELLES, 2009; CAMARGO, 2008). A ID qualitativa e quantitativa é a prova sorológica mais frequentemente utilizada para o diagnóstico inicial de pacientes suspeitos de PCM. Trata-se de teste de elevada especificidade e sensibilidade (65 a 100%) dependendo do tipo de antígeno utilizado. Quando se utiliza a gp43 como antígeno, os resultados mostram que o teste de ID atinge sensibilidade de 84,3% e 98,9%, de especificidade (CAMARGO, 2008).

Recentemente, alguns autores têm demonstrado o valor da detecção de antígenos específicos do *P. brasiliensis* (gp43 e gp70) em espécimes clínicos com PCM, utilizando, ensaios imunoenzimáticos. A monitorização de antígenos tem potencial para o diagnóstico e avaliação da resposta terapêutica (NUCCI; COLOMBO; QUEIROZ-TELLES, 2009). Além disso, a detecção de antígeno em líquido cerebrospinal e lavado broncoalveolar aumenta a sensibilidade diagnóstica da PCM do SNC e do trato respiratório (CAMARGO, 2008).

O desenvolvimento de métodos moleculares tem sido implementado na última década. Através da técnica da reação em cadeia de polimerase (PCR) ou de suas variantes, o *P. brasiliensis* pode ser detectado para fins de diagnóstico com elevada sensibilidade e especificidade (RESTREPO et al., 2011). Divergências sequencias de DNA de *P. brasiliensis* de uso potencial para diagnóstico já foram relatadas, porém poucas foram aplicadas em amostras clínicas. Entretanto, embora bastante promissora, essa metodologia necessita de mais experiência e de estudos para ser incluída na rotina laboratorial (MENDES-GIANNINI; DEL NEGRO; GONÇALVES, 2010).

Exames laboratoriais de fácil acesso podem ser realizados de acordo com a forma clínica encontrada. A diretriz brasileira de manejo da PCM sugere alguns exames, como o radiograma de tórax (PA e perfil); a ultrassonografia abdominal; o hemograma completo; a velocidade de hemossedimentação (VHS); as provas bioquímicas hepáticas (ALT, AST, gGT, fosfatase alcalina); a eletroforese de proteínas; a avaliação renal e metabólica (creatinina, Na e K). Outros exames mais

complexos podem ser solicitados diante de suspeita clínica ou de alterações de exames complementares (SHIKANAI-YASUDA et al., 2006).

### 3.8 TRATAMENTO

O manejo terapêutico da PCM inclui, além do tratamento antifúngico específico, medidas de suporte gerais como nutrição adequada, controle de doenças associadas, cessação do tabagismo e do alcoolismo, além de reabilitação de sequelas existentes (SILVA, 2012; RESTREPO et al., 2011). É recomendável monitoramento periódico por avaliação clínica-laboratorial até atingir critérios de cura, pois o tratamento da PCM é longo e com elevada frequência de recaídas e de sequelas (NUCCI; COLOMBO; QUEIROZ-TELLES, 2009; SHIKANAI-YASUDA et al., 2006). O tratamento da PCM consiste em duas fases: ataque e manutenção. A primeira fase baseia-se no controle dos sinais e de sintomas da doença e na redução da carga parasitária, a fim de recuperar a imunidade celular do indivíduo infectado. A seguir, faz-se a terapêutica de manutenção por tempo prolongado, visando à redução do risco de recorrência da doença (PALMEIRO; CHERUBINI; YURGEL, 2005).

O *P. brasiliensis* é um fungo sensível à maioria dos antifúngicos (sulfonamidas, derivados azólicos e anfotericina B), o que facilita o tratamento, pois aumenta o número de medicamentos a utilizar. A escolha da droga e da duração de uso desta depende da forma clínica e da gravidade da doença. Outro aspecto a ser considerado é o real acesso ao tipo de medicação em diferentes localidades (MARQUES, 2012; SILVA, 2012).

O tratamento da PCM iniciou-se com uso dos sulfamídicos. Atualmente, a associação do sulfametoxazol com o trimetoprim é a mais utilizada na terapêutica de formas leves e moderadas em nível ambulatorial (RESTREPO et al., 2011; SHIKANAI-YASUDA et al., 2006). Essas drogas estão facilmente disponíveis em regiões endêmicas com custo reduzido e relativamente bem toleradas. Entretanto, requerem longo período de tratamento (acima de 24 meses), menor índice de aderência e com taxas de recidiva e resistência entre 15 e 25% (RESTREPO et al., 2011; AMEEM; TALHARI; TALHARI SINÉSIO, 2009). Esses fármacos atuam de

maneira sinérgica inibindo a síntese do ácido fólico, e conseqüentemente a síntese do DNA da célula fúngica, exercendo, assim, ação fungistática. Os efeitos colaterais possíveis incluem reação de hipersensibilidade, anemia megaloblástica, trombocitopenia, intolerância gástrica, hepatopatia e cefaleia. A formulação para uso parenteral pode ser empregada no tratamento da neuro PCM ou como alternativa nos casos graves da doença (MARQUES, 2010).

Apesar da escassez de informações disponíveis em estudos comparativos dos diversos esquemas terapêuticos disponíveis, sugere-se que o itraconazol seja a opção terapêutica que melhor permite o manejo das formas leves e moderadas da doença e com duração de tratamento reduzido (SHIKANAI-YASUDA et al., 2006; NUCCI; COLOMBO; QUEIROZ-TELLES, 2009). Apresenta eficácia clínica de 90 a 98% dos casos e com baixos índices de recidiva (0-15%), dependendo das comorbidades associadas e da condição imunológica do indivíduo (AMEEN; TALHARI; TALHARI SINÉSIO, 2009; RESTREPO et al., 2011).

O itraconazol é administrado na posologia de 100 a 300 mg/dia por 6 a 12 meses, dependendo da resposta clínica e sorológica. Embora considerado, atualmente, o agente de escolha para a maioria dos pacientes com PCM, o medicamento apresenta custo elevado e sua formulação parenteral para casos mais graves não é disponibilizada em vários países (RESTREPO et al., 2011). O cetoconazol, outro imidazólico alternativo para o tratamento da PCM, embora tenha custo mais reduzido em relação a outros azoles, não é considerado droga de escolha em virtude dos importantes efeitos colaterais e das interações medicamentosas (SILVA, 2012; TRAVASSOS; TABORDA; COLOMBO, 2008). Em estudo piloto comparativo com itraconazol, o antifúngico triazólico voriconazol mostrou eficácia terapêutica semelhante. Apresenta boa penetração no sistema nervoso central, o que aponta para a possibilidade de uso na terapêutica da neuro PCM. Entretanto, são necessários mais estudos para avaliar sua real eficácia no tratamento da PCM (QUEIROZ-TELLES et al., 2007; NUCCI; COLOMBO; QUEIROZ-TELLES, 2009). Resultados preliminares têm sugerido que o posaconazol apresenta também efetividade no tratamento das formas subaguda e crônica da PCM (TOBON; AGUDELO; RESTREPO, 2008; NUCCI; COLOMBO; QUEIROZ-TELLES, 2009).

A anfotericina B, um antimicrobiano poliênico de alta eficácia contra o *P. brasiliensis*, é reservada para os casos graves e refratários (NUCCI; COLOMBO;

QUEIROZ-TELLES, 2009; TRAVASSOS; TABORDA; COLOMBO, 2008). Necessita de hospitalização do paciente para a administração intravenosa e possui elevada toxicidade sistêmica (nefro, cardio, mielo e hepatotoxicidade). A dose recomendada é de 0,75-1 mg/kg diariamente até o paciente ser capaz de iniciar ou retornar ao esquema oral com itraconazol ou com trimetropin-sulfametoxazol. Com esse regime terapêutico, ainda ocorrem recaídas em até 15% dos casos (RESTREPO et al., 2011).

A certeza de obtenção de cura para pacientes portadores de PCM não é tão simples, pois há alto risco de reativação tardia, motivo pelo qual se emprega o termo “cura aparente ou cura clínica” (SHIKANAI-YASUDA et al., 2006). Para o estabelecimento da cura, é necessária avaliação de critérios clínicos, micológicos, radiológicos e sorológicos (NUCCI; COLOMBO; QUEIROZ-TELLES, 2009). Assim, se faz necessário, ao término do tratamento, o acompanhamento ambulatorial dos pacientes, uma vez ao ano, com a realização de exame clínico e sorológico (SHIKANAI-YASUDA et al., 2006).

As principais limitações do manejo terapêutico da PCM recaem sobre o longo período de tratamento antifúngico com custos e toxicidade, aliado à alta frequência de abandono, de recaídas e de sequelas. Nesse sentido, novas opções terapêuticas podem ser necessárias (TRAVASSOS; TABORDA; COLOMBO, 2008; NUCCI; COLOMBO; QUEIROZ-TELLES, 2009; SILVA, 2012). Uma estratégia alternativa teoricamente válida é o desenvolvimento de vacinas. Drogas antifúngicas reduzem a carga fúngica, permitindo controle em longo prazo e eventual erradicação do agente agressor pelo sistema imune do hospedeiro. A estimulação da resposta imune Th1 do hospedeiro parece ser um caminho promissor para se alcançar em novas opções terapêuticas. Nesse sentido, o uso de vacinas de antígenos do *P. brasiliensis*, de células dendríticas ou de substâncias químicas com potencial semelhante poderiam induzir tal efeito em hospedeiros (RUAS; CARVALHO; ROQUE-BARREIRA, 2012; TRAVASSOS; TABORDA, 2012; SILVA, 2012).

Recentemente, o P10, um peptídeo derivado do antígeno imunodominante gp43, tem sido testado como vacina em modelos animais, isolado ou associado à quimioterapia. Esse antígeno foi capaz de induzir forte resposta imune de padrão Th1, mediada por INF- $\gamma$  e IL-12, reduzindo a carga fúngica (MARQUES et al., 2007; TRAVASSOS et al., 2008). Rittner et al. (2012) investigaram, em modelo animal de PCM, a eficácia da imunização com plasmídeo P10 e/ou IL-12 antes ou após

infecção pelo plasmídeo, sendo observada eficácia terapêutica. Esses plasmídeos seriam candidatos potenciais para o uso em humanos de forma profilática e/ou adjuvante à terapêutica convencional. Ruas, Carvalho, Roque-Barreira (2012) investigaram o uso de uma lectina de planta (ArtinM), em modelo murino, sendo evidenciada propriedade imunomodulatória de padrão Th1, o que possivelmente motivará novos estudos.

## 4 MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1 LOCAL DE REALIZAÇÃO DO ESTUDO

O estudo foi realizado na cidade de Alfenas, Minas Gerais. Município localizado ao Sul de Minas Gerais, que se encontra a 335 km da capital do Estado, Belo Horizonte, a 304 km de São Paulo e a 407 km do Rio de Janeiro (INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA, 2010). Faz parte de uma microrregião geográfica que compreende as seguintes cidades: Alterosa, Areado, Carmo do Rio Claro, Carvalhópolis, Divisa Nova, Fama, Machado, Paraguaçu, Poço Fundo, Conceição Aparecida, Serrania (FIGURA 8). Apresenta-se como referência regional de saúde, no sentido de concentrar diversos serviços, incluindo atendimento médico secundário e terciário, que atende à população de várias cidades de seu entorno (SES-MG, 2011).

A região de Alfenas possui clima tropical mesotérmico, temperatura média anual de 19,6°C e um índice pluviométrico anual de 1592,7 mm. Possui uma área geográfica de 848,320 km<sup>2</sup> e está situada numa altitude média de 768 m, com latitude 21°25'44" S e longitude de 45°56'49" W. Possui 73.774 habitantes, sendo 36.081 homens e 37.693 mulheres, destes 2533 homens e 2065 mulheres vivem em área rural (6,2%) (BRASIL, 2011; IBGE, 2010).

Semelhantemente a outros municípios localizados no entorno da represa de Furnas, ocorre forte integração entre os meios rural e urbano, envolvendo principalmente demanda de serviços. Apresenta quinze localidades rurais (Bárbaras, São Tomé, Paineiras, Matão, Esteves, Harmonia, Baguari, Espigão, Mandassaia, Barranco Alto, Serrinha, Corujas, Pinhas, Glória e Fazenda Santa Maria) que são atendidas por programa de saúde da família (PSF) com cerca de 2647 indivíduos cadastrados (SECRETARIA MUNICIPAL DE SAÚDE DE ALFENAS, 2011). A principal atividade econômica do município é o agronegócio, além de atividades industriais e comerciais, atuando como grande centro produtor e exportador de café (IBGE, 2010).



FIGURA 8 - Mapa do Estado de Minas Gerais com localização do município de Alfenas  
Fonte: IBGE (2010).

#### 4.2 TIPO DE ESTUDO

Foi realizado um estudo epidemiológico transversal e quantitativo, contando com 557 indivíduos, dos quais 15 não compareceram para a leitura de 48h da IRDM. A amostra final foi de 542 indivíduos de ambos os sexos, moradores de doze áreas rurais do município de Alfenas/MG, que foram submetidos à IRDM com paracoccidiodina, no período de maio a dezembro de 2009. A participação dos indivíduos do estudo se deu por demanda espontânea, em ambos os sexos e com idade superior a 10 anos, sendo excluídas as gestantes. Foi realizado preenchimento de ficha cadastral (APÊNDICE A) com dados pessoais contendo nome completo, data de nascimento, profissão, estado civil, gênero, local de residência, cidade de nascimento, telefone, informações relativas ao estado de saúde geral, relato de doenças prévias, medicações em uso, braço em que foi realizado o teste de IRDM, data e resultado. Além disso, todos os participantes assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido (APÊNDICE B), concordando em participar do estudo e permitindo a utilização dos dados, para fins científicos.

A amostra, mesmo sendo selecionada por conveniência (não aleatória), dos participantes, possui características comuns a toda população, sendo considerada representativa. Em relação ao tamanho da amostra, considerando-se uma



população de 4598 pessoas residentes em área rural e uma prevalência esperada de 40%, um erro máximo admitido na pesquisa de 5% e 95% de confiança, 369 indivíduos, esta seria suficiente para dar precisão ao estudo.

#### 4.3 PROCEDIMENTO DE INOCULAÇÃO E LEITURA DA IRDM COM PARACOCCIDIOIDINA

O antígeno utilizado neste estudo foi o exoantígeno *P. brasiliensis* (cepa B-339) produzido e gentilmente cedido pelo Prof. Dr. Zoilo Pires de Camargo, pesquisador titular do Laboratório de Micologia Médica Molecular da Universidade Federal do Estado de São Paulo-UNIFESP (Escola Paulista de Medicina).

À execução e à interpretação do teste com antígeno gp43 da PCM, seguiu-se protocolo adotado para teste tuberculínico descrito a seguir: Injeção de 0,1mL de solução de antígeno bruto (60 µg/mL) no terço médio ventral do antebraço de preferência o esquerdo, na camada mais superficial da pele, intradérmica, para facilitar sua leitura (SMELTZER; BARE, 2002; CAMARGO, 2004). O procedimento de aplicação do antígeno intradérmico foi realizado utilizando-se seringas do tipo tuberculina descartáveis da marca BD (26G X 3/8).

As leituras foram realizadas por dois leitores previamente treinados pela enfermeira Sônia de Souza Lima Paes, leitora padrão de testes de intradermorreação da Secretaria Municipal de Saúde de Alfenas. Todo o material utilizado, incluindo luvas de procedimento de látex, máscaras, seringas de 1 mL e agulhas, foram de material descartável e seguiram as normas preconizadas de biossegurança.

Quando a injeção é realizada corretamente, há formação de pequena pápula pálida com aproximadamente 10 mm de diâmetro, aspecto de casca de laranja, mantendo-se endurecida por cerca de 10 minutos (FIGURA 9).

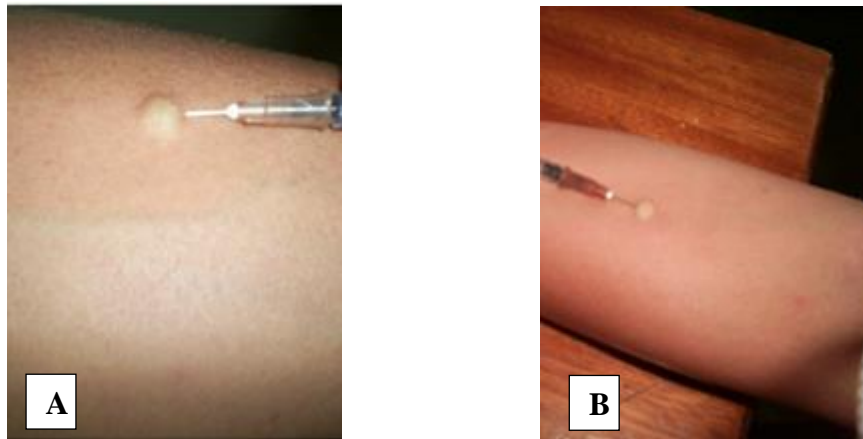


FIGURA 9 - Fotografias de demonstração do procedimento do teste intradérmico  
 a) Procedimento de injeção intradérmica  
 b) Formação da pápula pálida com aproximadamente 10 mm

Fonte: do autor.

A leitura foi realizada dois dias após a administração da injeção intradérmica (48h). A reação positiva se observa quando há uma infiltração nodular, plana e irregular, acompanhada de área eritematosa (avermelhada) de extensão mais ou menos delimitada (FIGURA10).



FIGURA 10 - Fotografia ilustrativa do aspecto da reação positiva  
 Teste intradérmico com formação de flictema

Fonte: do autor.

Foi medido o diâmetro da endureção com uma régua milimétrica e se anotou o resultado em mm (FIGURA11).



FIGURA 11 - Fotografia ilustrativa da leitura da IRDM 48h após a aplicação do Antígeno  
Fonte: do autor.

Interpretação do teste IRDM:

0 - 4 mm = Negativo;

Igual ou acima de 5 mm = Positivo.

Na Figura 12, encontra-se demonstrado o esquema proposto de aplicação e de leitura dos testes de intradermoreação (IRDM).

Foram coletadas amostras de sangue, para a realização do hemograma, de raios-X de tórax e de testes sorológicos (imunodifusão dupla em gel de agarose e ensaio imunoenzimático - Elisa) das pessoas com resultado positivo (e alguns indivíduos com resultado negativo, para controle) (dados não mostrados). Todos os indivíduos com resultado positivo ao teste de IRDM com paracoccidioidina foram submetidos à avaliação por médico pneumologista (único examinador) da UNIFAL-MG, com o objetivo de se identificarem sinais clínicos da doença ou de sequelas decorrentes desta. Foi realizado preenchimento de ficha de anamnese clínica (APÊNDICE C).

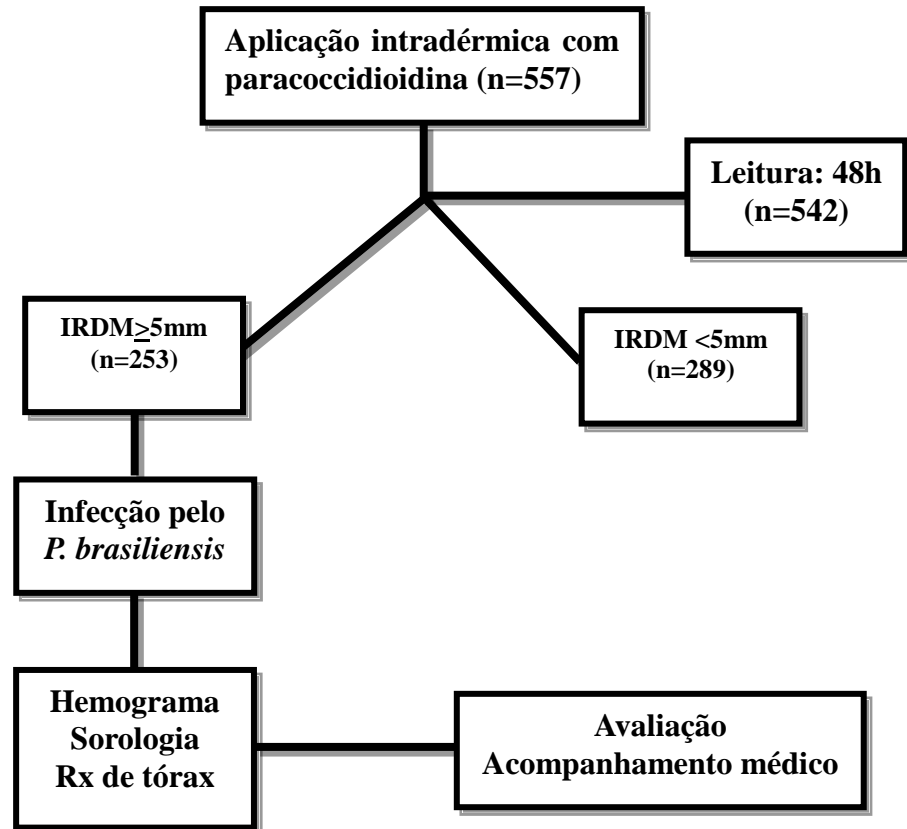


FIGURA 12 - Esquema utilizado para a aplicação e leitura dos testes de IRDM (intradermorreação) na população de áreas rurais do município de Alfenas, Sul do estado de Minas Gerais  
Fonte: do autor.

#### 4.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Foi estruturado um banco de dados com as informações disponíveis, utilizando-se o programa Excel. A análise estatística dos dados foi realizada, utilizando-se o *software* R (R CORE TEAM, 2012). Foi realizada análise da distribuição de frequência das principais variáveis, com o objetivo de se caracterizar a população. A existência de associação entre as variáveis categóricas foi verificada por meio do teste de Qui-quadrado.

Foi realizada análise de regressão logística para confirmação, visando informar o *odds-ratio*, para os fatores que foram considerados significativos.

#### 4.5 COMITÊ DE ÉTICA

O estudo obedeceu às normas das Resoluções 196/1996 e 347/2005 do Conselho Nacional de Saúde para pesquisa envolvendo seres humanos, sendo aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UNIFAL/MG, de acordo com o protocolo número 23087.004231/2008-41.

Todos os participantes assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) após terem sido informados e devidamente esclarecidos dos objetivos do estudo e da segurança e sigilo dos dados encontrados.

## 5 RESULTADOS

O inquérito epidemiológico realizado em áreas rurais na cidade Alfenas/MG, contou com 542 participantes, sendo realizada a IRDM com paracoccidiodina. Destes, 253 foram positivos, correspondendo a 46,67% (IC<sub>95%</sub> 0,42 a 0,51). Porém, nenhum dos indivíduos reatores apresentou sintomatologia clínica ou evidência laboratorial ou radiológica da doença ou sequela decorrente desta.

Com relação ao gênero, 270 (49,82%), eram do sexo masculino e 272 (50,18%), do sexo feminino. A idade média dos indivíduos submetidos ao teste de IRDM foi de 43 anos, variando de 11 a 86 anos. Referente à profissão, a maioria referiu atividade regular em área rural (53,50%), o que pode estar associado a maior exposição desses indivíduos ao *P. brasiliensis*. Com relação aos hábitos tabagistas, 29,33% eram fumantes e 20,67% possuíam hábitos etilistas (TABELA 2).

TABELA 2 - Distribuição de frequência das variáveis IRDM, gênero, profissão, tabagismo e etilismo.

Variável		Número de indivíduos	%
IRDM	Negativa	289	53,33
	Positiva	253	46,67
	Total	542	100,0
Gênero	Masculino	270	49,82
	Feminino	272	50,18
	Total	542	100,0
Profissão	Lavrador	290	53,50
	Outros	252	46,50
	Total	542	100,0
Tabagista	Sim	159	29,33
	Não	383	70,67
	Total	542	100,0
Etilismo	Sim	112	20,67
	Não	430	79,33
	Total	542	100,0

Fonte: do autor.

A tabela 3 mostra a distribuição de IRDM estratificada por gênero, profissão, por faixa etária, por tabagismo e por etilismo. Foram observados no gênero

masculino, 56,30% (IC<sub>95%</sub> 0,50 a 0,62) com positividade para paracoccidioidina, e no gênero feminino, 37,13% (IC<sub>95%</sub> 0,31 a 0,43) apresentaram teste de IRDM positivos. Houve diferença estatisticamente significativa entre os sexos ( $p < 0,001$ ). Entre os indivíduos acima de 30 anos, 55,88% demonstraram sensibilização pelo *P.brasiliensis*.

A taxa de prevalência da sensibilização foi elevando-se progressivamente com o aumento da faixa etária. A faixa etária de 11 a 29 anos foi de 35,37%; a faixa etária de 30 a 49 anos, 49,56% ( $p < 0,01$ ); atingindo seu maior índice na faixa etária acima de 50 anos, com 52,66% ( $p < 0,01$ ).

Quanto à profissão (trabalho em lavoura), 48,28% foram positivos, entre os tabagistas obtiveram-se 52,2%, de positividade ao teste, e em relação ao consumo de bebidas alcoólicas, 55,36%. Entretanto, não se observou associação estatisticamente significativa entre a IRDM positiva (sensibilização) com a atividade profissional e o tabagismo ( $p > 0,05$ ). Já o etilismo, mostrou-se influente na proporção da IRDM positiva ( $p < 0,05$ ), o que não se manteve na análise de regressão logística.

Para confirmar os achados apresentados na tabela 3, foi ajustado um modelo de regressão logística envolvendo, inicialmente, as covariáveis estudadas (gênero, faixa etária, profissão, tabagismo e etilismo). Desse modelo, apenas as variáveis gênero e faixa etária mostraram-se significativas. Em seguida, foi ajustado um modelo mais restrito, contendo apenas esses dois fatores (gênero e faixa etária). Desse ajuste, concluiu-se que ambos permaneceram significativos, no modelo, e ser do gênero masculino, representa fator agravante; por outro lado, ser jovem demonstra efeito protetor (TABELA 4).

TABELA 3 - Distribuição da IRDM estratificada por gênero, profissão, faixa etária, tabagismo e etilismo

Variável	IRDM				Total		p-valor*
	Positiva		Negativa		N	%	
	N	%	N	%			
(253)		(289)		(542)			
<b>Faixa etária</b>							
11-29	52	35,37	95	64,63	147	27,12	
30-49	112	49,56	114	50,44	226	41,70	0,004674
> 50	89	52,66	80	47,34	169	31,18	
<b>Gênero</b>							
Feminino	101	37,13	171	62,87	272	50,18	0,00001
Masculino	152	56,30	118	43,70	270	49,82	
<b>Profissão</b>							
Lavrador*	140	48,28	150	51,72	290	53,51	0,4758
Não lavrador	113	44,84	139	55,16	252	46,49	
<b>Tabagismo</b>							
Sim**	83	52,20	76	47,80	159	29,34	0,1174
Não	170	44,39	213	55,61	407	70,66	
<b>Etilismo</b>							
Sim**	62	55,36	50	44,64	112	20,66	0,04994
Não	191	44,42	239	55,58	430	79,33	

\* Refere-se ao teste de independência de Qui-quadrado, a 5% de significância.

\*\* Essa classe contém os indivíduos atuais e ex-tabagistas

Fonte: do autor.



TABELA 4 - Estimativa dos parâmetros do modelo de regressão logística, razão de possibilidades e seu intervalo com 95% de confiança para a prevalência de infecção pelo *P. brasiliensis* (IRDM positiva), apenas para variáveis significativas

Variáveis	Estimativa	Razão de Odds	IC <sub>95%</sub>	p-valor
Sexo masculino	0,768424	2,16	1,53 a 3,05	1,33 x 10 <sup>-5</sup>
11 a 29 anos	-0.68334	0,50	0,32 a 0,81	0.00372
30 a 49 anos	-0.03918	0,96	0,63 a 1,46	0,85085

Fonte: do autor.

## 6 DISCUSSÃO

Para Lacaz et al. (2002), o estudo da prevalência de infecção pelo *P. brasiliensis* e fundamenta-se principalmente em inquéritos epidemiológicos, utilizando-se testes cutâneos com paracoccidiodina, tanto no Brasil, como em diferentes regiões da América Latina, os quais fornecem valiosos subsídios quanto à indicação de áreas endêmicas da micose. Esse tipo de estudo, portanto, é uma boa ferramenta para se conhecer o perfil epidemiológico da doença em uma dada região. No entanto, há amplas variações que vão desde 2% de sensibilização, na região urbana do Rio de Janeiro, a 82% entre soldados no Sul do Brasil (FAVA; FAVA NETO, 1998).

Buscou-se demonstrar, pela primeira vez a prevalência da PCM infecção na região sul de Minas Gerais, avaliada por IRDM com paracoccidiodina, e obtendo-se prevalência de 46,67% (TABELA 2). No Brasil, país responsável por mais de 80% dos casos de PCM na América Latina, existe ampla variabilidade na prevalência da infecção paracoccidiodica entre as diversas regiões. Foi observada prevalência de 49,5% na área agrícola de café em Ibiá, Minas Gerais (SILVA-VERGARA; MARTÍNEZ, 1998) e 43%, na região Noroeste do estado do Paraná (FORNAJEIRO et al., 2005), o que se aproxima dos dados encontrados neste estudo.

Segundo Carandina e Magaldi (1974), a positividade para intradermorreação em moradores de uma comunidade rural de Botucatu, SP, foi de 13%. Inquéritos epidemiológicos realizados na região Norte e Nordeste do Brasil têm demonstrado uma menor prevalência da sensibilização ao *P. brasiliensis* (DIÓGENES et al., 1990; COIMBRA JUNIOR et al., 1994; KALMAR et al., 2004).

A variação em inquéritos, utilizando-se a IRDM, em outros países também é demonstrada. Estudo realizado em diferentes áreas rurais da Colômbia demonstrou, segundo Cadavid e Restrepo (1993) uma variação de 29% a 77% na prevalência da paracoccidiodomicose-infecção. De acordo com Cermeno et al. (2004, 2005, 2009), a Venezuela apresentou uma prevalência da infecção nos últimos anos, avaliada por testes cutâneos com variabilidade de 13,2% a 19,7%. Na Argentina, a infecção paracoccidiodica mostrou baixa prevalência variando, de 1,6% (MANGIATERRA et al., 1996) a 10,25% (KOMAI; DURÁN; KESTELMAN, 1999).

Essa variabilidade pode estar relacionada às características das populações

estudadas e à natureza, à concentração e à padronização dos antígenos utilizados, além da composição química e da presença do fungo no solo (SILVA-VERGARA et al., 1998; ONO et al., 2002).

A paracoccidioidina polissacarídica obtida de diferentes cepas do *P. brasiliensis*, classicamente, é o antígeno mais utilizado para estudos de inquérito epidemiológico. Entretanto, esse antígeno pode induzir reação cruzada com antígenos de outros fungos como *Histoplasma capsulatum*, *Coccidioides immitis* e *Sporothrix schenckii* (LACAZ et al., 2002; SILVA-VERGARA et al., 1998; SARAIVA et al., 1996).

Segundo Albornoz-Bastardo e Albornoz (1971), Silva-Vergara e Martínez (1998), Cermeno et al. (2009), a co-positividade para histoplasmina e paracoccidioidina não implicam necessariamente uma relação de dependência uma vez que é comum a coexistência dos fungos numa mesma área. Entretanto, assinalam que não se pode afastar o fenômeno de reatividade cruzada. Mais recentemente, alguns autores têm sugerido, em função de sua especificidade, a utilização da glicoproteína gp43 para estudos de inquérito epidemiológico da PCM (KALMAR et al., 2004; FORNAJEIRO et al., 2005; SARTI et al., 2011).

Todos os entrevistados submetidos à IRDM eram moradores de áreas rurais do município de Alfenas e 53,50% relataram serem lavradores (TABELA 2). Entretanto, entre os reatores à paracoccidioidina, a profissão lavrador foi observada em 48,28%, não sendo estatisticamente significativa como variável de risco para positividade à IRDM (TABELA 3). Apesar de não ter sido encontrada diferença estatística, os moradores residem em área endêmica e realizam trabalhos esporádicos na lavoura, como a colheita do café, por exemplo.

No entanto, segundo alguns autores (BELLISSIMO-RODRIGUES et al., 2011; SHIKANAI-YASUDA et al., 2006; BITTENCOURT; OLIVEIRA; COUTINHO, 2005), a infecção pelo *P. brasiliensis* ocorre com maior frequência em áreas rurais, podendo a PCM ser incluída como doença de cunho ou agravo ocupacional. Em relação à doença, aproximadamente 60% dos pacientes com PCM ativa trabalham ou já trabalharam em atividade agrícola ou em profissões relacionadas, notadamente em lavouras de café, de tabaco e de algodão (NUCCI; COLOMBO; QUEIROZ-TELLES, 2009; PANIAGO et al., 2003; LACAZ et al., 2002). Por sua vez, Ono et al. (2002) e Queiroz-Telles (2008) têm enfatizado mudanças de práticas agrícolas como a substituição de lavouras de café por cana de açúcar, implicando o uso intensivo de

inseticidas e de queima do solo em várias áreas onde a PCM é endêmica. Nesse sentido, o fungo supostamente presente no solo seria destruído e, conseqüentemente, a prevalência da exposição e sensibilização humana poderia declinar.

A PCM acomete principalmente trabalhadores rurais do sexo masculino expostos ao fungo no ambiente rural ou suburbano, especialmente em plantações de café, de tabaco e de algodão (SILVA-VERGARA; MARTINEZ, 1998; RESTREPO; GÓMEZ; TOBÓN, 2012). Em relação ao gênero, foi observada uma positividade à paracoccidioidina de 56,30% nos homens e 37,13%, nas mulheres ( $p < 0,01$ ) (TABELA 3). A análise de regressão confirmou esses achados (TABELA 4).

O predomínio do gênero masculino encontrado neste estudo está em acordo com os estudos da PCM doença observada entre adultos em que a proporção de homens é muito maior que entre as mulheres (BELLISSIMO-RODRIGUES et al., 2011; RESTREPO et al., 2011). Segundo Bellissimo-Rodrigues et al. (2011), no maior estudo de série brasileiro totalizando 1.000 indivíduos, a relação encontrada de homem mulher foi de 6:1. Corroborando com esses dados, Fornajeiro et al. (2005) e Mangiaterra et al. (1999) encontraram maior positividade entre os homens. Sugere-se que essa ampla diferença na incidência da PCM entre homens adultos e mulheres deva-se a diferenças hormonais. O estrógeno possui a capacidade de inibir a transformação da fase de micélio para levedura do *P.brasiliensis* e, por conseqüência, essa inibição confere maior resistência das mulheres ao desenvolvimento da doença (RESTREPO et al., 1984; RESTREPO et al., 2011; SHANKAR et al., 2011).

Observou-se o aumento da prevalência de forma significativa com a idade ( $p < 0,01$ ), indicando, provavelmente, maior chance de sensibilização ao fungo para moradores de áreas endêmicas. A prevalência na faixa etária de 30 a 50 anos foi de 49,56%, com uma média de idade de 43 anos. A análise de regressão logística confirmou a tendência de aumento do risco de infecção com o aumento da faixa etária (TABELA 4).

A distribuição da doença é relativamente incomum em crianças e adolescentes. Nessa faixa etária, a prevalência é de aproximadamente 2% em menores de 10 anos, e 8%, abaixo dos 20 anos de idade (CANO et al., 2012; SHANKAR et al., 2011; BELLISSIMO-RODRIGUES et al., 2011), contrastando com a forma adulta que ocorre predominantemente entre os 30 a 60 anos de idade com predomínio na

quarta década de vida (BELLISSIMO-RODRIGUES et al., 2011; NUCCI; COLOMBO; QUEIROZ-TELLES, 2009; PANIAGO et al., 2003). Qualquer indivíduo exposto ao fungo encontra-se suscetível à infecção, entretanto a taxa de infecção aumenta com a idade (FAVA; FAVA NETTO, 1998; CERMENO et al., 2009; SILVA-VERGARA, MARTINEZ, 1998). Neste estudo, observou-se um aumento da prevalência da sensibilização ao *P. brasiliensis* com o aumento da idade e sexo masculino (TABELA 3 e 4).

Alguns hábitos de vida podem estar relacionados tanto com a aquisição da infecção, quanto como o desenvolvimento da PCM doença. Entre outros fatores desencadeantes da doença, têm sido citados o tabagismo e o etilismo (SHAIKANAI-YASUDA et al., 2006; SANTOS et al., 2003). No presente estudo, 29,33% dos indivíduos relataram ser fumantes e 20,67%, etilistas (TABELA 2). Foi observado que, entre os fumantes, 52,20% eram reativos ao teste de IRDM e, em relação aos etilistas 55,36% mostraram-se positivos. Portanto, a variável etilismo foi estatisticamente significativa quanto à reatividade ao teste cutâneo na amostragem estudada ( $p < 0,05$ ) TABELA 3, dado não confirmado em análise de regressão logística (TABELA 4). Os prováveis mecanismos pelos quais o uso do tabaco interfere ou favorece o desenvolvimento da infecção parecem estar relacionados com alteração na atividade mucociliar, com diminuição da resposta imune e defeitos na resposta imunológica dos macrófagos, favorecendo a susceptibilidade à infecção pelo *P. brasiliensis*. Em relação ao etilismo, o mesmo atuaria como cofator de risco associado ao tabagismo (SANTOS et al., 2003). Segundo Ribeiro et al. (2009), entre os pacientes HIV positivos com micoses sistêmicas que faziam uso de bebidas alcoólicas, 54,1% evoluíram para óbito durante o tratamento da micose. Entre os não etilistas, apenas 12,5% evoluíram para esse desfecho.

## 7 CONCLUSÃO

Encontramos alta prevalência (46,67%) de infecção pelo *P. brasiliensis* em moradores residentes em áreas rurais positivos para o teste da IRDM com paracoccidioidina. As principais características sociodemográficas dos reatores positivos ao teste da sensibilização cutânea ao *P. brasiliensis* encontrado neste estudo foram: sexo masculino e tendência de aumento do risco de infecção paracoccidioidica associado ao aumento da faixa etária. Outros fatores de risco como o tipo de profissão, o tabagismo e o etilismo não se mostraram estatisticamente significativos.

O teste de IRDM demonstrou-se uma importante ferramenta para identificar se o indivíduo já foi ou não sensibilizado pelo antígeno, favorecendo a possibilidade de acompanhamento para futuro diagnóstico e tratamento precoce. Além disso, com a realização do teste, pode-se sugerir tratar-se de uma doença endêmica em localidades rurais de Alfenas. Os resultados observados demonstram uma elevada prevalência da sensibilização cutânea ao *P. brasiliensis* em áreas rurais do município de Alfenas-MG. Nesse sentido os dados apontam a necessidade de implantação de políticas de saúde pública para essa micose na região.

## REFERÊNCIAS

ALBORNOZ-BASTARDO, M. C.; ALBORNOZ, R. M. Estudio de la sensibilidad específica en residentes de una área endêmica a la paracoccidioidomicosis em Venezuela. **Mycopathologia et Mycologia Applicada**, v. 45, n. 2, p. 65-75, Oct. 1971.

ALMEIDA, S. M. et al. Central nervous system paracoccidioidomycosis: clinical features and laboratorial findings. **Journal of Infection**, London, v. 48, n. 2, p. 193-198, Feb. 2004.

ALMEIDA, F. P.; LACAZ, C. S. – I. Intradermo-reação com paracoccidioidina no diagnóstico de granuloma paracoccidióidico. II. A reação de Montenegro no granuloma para-coccidióidico. **Folia Clinica et Biologica**, São Paulo, v. 13, p. 177-182, 1941.

ALMEIDA F. P. Estudos comparativos do granuloma coccidióidico nos Estados Unidos e no Brasil. Novo gênero para o parasita brasileiro. **Anais da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo**, São Paulo, v. 5, n. 2, p. 125-142, 1930.

AMEEN, M.; TALHARI, C.; TALHARI SINESIO. Advances in paracoccidioidomycosis. **Clinical and Experimental Dermatology**, Oxford, v. 35, n. 6, p. 576-580, Aug. 2009.

ARANTES, T. D. et al. Detection of *Paracoccidioides* spp. In environmental aerosol samples. **Medical Mycology**, Oxford, v. 51, n. 1, p. 83-92, Jan. 2012.

ARANTES, T. D. **Detecção de *paracoccidioides* sp. em amostras ambientais aerossóis**. 2012.75f. Dissertação (Mestrado em Biologia Geral e Aplicada) – Faculdade Júlio de Mesquita Filho, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2012.

BAGAGLI, E. et al. *Paracoccidioides brasiliensis*: phylogenetic and ecological aspects. **Mycopathologia**, The Hague, v. 165, n. 4-5, p. 197-207, Apr. 2008.

BAGATIN, E. Inquérito epidemiológico com a paracoccidioidina na região de Sorocaba, estado de São Paulo. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, Rio de Janeiro, v. 61, n. 1, p. 5-8, 1986.

BARROZO, L. V. et al. Climate and acute/subacute Paracoccidioidomycosis in a hyperendemic area in Brazil. **International Journal of Epidemiology**, London, v. 38, n. 6, p. 1642-1649, Dec. 2009.

BELLISIMO-RODRIGUES, F. et al. Paracoccidioidomycosis epidemiological features of a 1,000-cases series from a hyperendemic area on the southeast of Brazil. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Baltimore, v. 85, n. 3, p. 546-550, Sep. 2011.

BENARD, G. An overview of the immunopathology of human paracoccidioidomycosis. **Mycopathologia**, The Hague, v. 165, n. 4-5, p. 209-221, Apr./Mai. 2008.

BENARD, G. et al. Contribution to the natural history of paracoccidioidomycosis: identification of the primary pulmonary infection in the severe acute form of the disease--a case report. **Clinical infectious diseases**, Chicago, v. 40, n. 1, p. e1-4, Jan. 2005.

BENARD, G.; DUARTE, A. J. Paracoccidioidomycosis: a model for evaluation of the effects of human immunodeficiency virus on the natural history of endemic tropical diseases. **Clinical Infectious Diseases**, Chicago, v. 31, n. 4, p. 1032-1039, Oct. 2000.

BITTENCOURT, J. I. M.; OLIVEIRA, R. M.; COUTINHO, Z. F. Paracoccidioidomycosis mortality in the State of Paraná, Brazil, 1980-1998. **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 21, n. 6, p. 1856-1864, Nov./Dec. 2005.

BLOTTA, M. H. et al. Endemic regions of paracoccidioidomycosis in Brazil: a clinical and epidemiologic study of case in the Southeast Region. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Baltimore, v. 61, n. 3, p. 390-394, Sep. 1999.

BORELLI, D. Clinical trial of Itraconazole in the treatment of deep mycosis and Leishmaniosis. **Reviews of Infectious Diseases**, v. suppl. 1, p. S57-63, Jan./Feb. 1987.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Proposta de Vigilância Epidemiológica da Paracoccidioidomicose**. Brasília, 2012. [Documento preliminar]. Disponível em: <[http://www.sgc.goias.gov.br/upload/arquivos/2012-05/proposta\\_ve-pbmicose.pdf](http://www.sgc.goias.gov.br/upload/arquivos/2012-05/proposta_ve-pbmicose.pdf)>. Acesso em: 4 nov. 2012.



BRASIL. Ministério da Saúde. População residente por município. Informações em saúde. 2011. Disponível em: <<http://www.datasus.gov.br>>. Acesso em: 12 nov. 2011.

BURGER, E. Imunologia das micoses. In: ZAITZ, C. et al. (Org.). **Compêndio de micologia médica**. 2. ed. São Paulo: Guanabara Koogan, 2010. p. 108-22.

CADAVID, D.; RESTREPO, A. Factors associated with *Paracoccidioides brasiliensis* infection among permanente residentes of three endêmic areas in Colombia. **Epidemiology and Infection**, Cambridge, v. 111, n. 1, p. 121-133, Aug. 1993.

CALLE, D. et al. Paracoccidioidomycosis in Colombia: an ecological study. **Epidemiology and Infection**, Cambridge, v. 126, n. 2, p. 309-315, Apr. 2001.

CAMARGO, Z. P. Serology of paracoccidioidomycosis. **Mycopathologia**, The Hague, v. 165, n. 4-5, p. 289-302, Apr./May. 2008.

CAMARGO, Z. P. Diagnóstico Imunológico das Infecções Fúngicas. In: SIDRIM, J. J. C., ROCHA, M. F. G. **Micologia médica à luz de autores contemporâneos**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004. p. 302-317.

CAMARGO, Z. P.; FRANCO, M. F. Current knowledge on pathogenesis and immunodiagnosis of paracoccidioidomycosis. **Revista Iberoamericana de Micologia**, Barcelona, v. 17, n. 2, p. 41-48, jun. 2000.

CANO, L. E. et al. Pulmonary Paracoccidioidomycosis: Clinical, Immunological and Histopathological Aspects. In: Irusen, E. M. (edit.). **Lung diseases - selected state of the art reviews**. [S.l]: InTech, 2012. Cap. 16, p. 359-391.

CARANDINA, L.; MAGALDI, C. Inquérito sobre blastomicose sul-americana pela intradermoreação em uma comunidade rural do município de Botucatu, SP (Brasil). **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, v. 8, n. 2, p. 171-180, 1974.

CERMENO, J. R. et al. Epidemiological study of paracoccidioidomycosis and histoplasmosis in a suburb of San Félix city, Bolívar state, Venezuela. **Investigación Clínica**, Maracaibo, v. 50, n. 2, p. 213-220, Jun. 2009.

CERMENO, J.R. et al. Histoplasmine and paracoccidioidine epidemiological study in Uputa, Bolivar stat, Venezuela. **Tropical Medicine and International Health**, Oxford, v. 10, n.3, p. 216-219, Mar. 2005.

CERMENO, J.R. et al. Epidemiological survey of histoplasmine and paracoccidioidine ski reativity in an agricultural area in Bolivar stat, Venezuela. **European Journal of Epidemiology**, Rome, v. 19, n. 2, p. 189-193, Feb. 2004.

CHAKRABARTI, A. Microbiology of systemical fungal infections. **Journal of Postgraduate Medicine**, Bombay, v. 51, n. supl. 1, p. S16-20, 2005.

COIMBRA JUNIOR, C. E. et al. Paracoccidioidin and histoplasmin sensitivity in Tupi-Mondé Ameridian populations from Brasilian Amazonia. **Annals of Tropical Medicine and Parasitology**, Liverpool, v. 88, n. 2, p. 197-207, 1994.

COLOMBO, A. L. et al. Epidemiology of endemic systemic fungal infections in Latin America. **Medical Mycology**, Oxford, v. 49, n. 8, p. 785-798, Nov. 2011.

COUTINHO, Z. F. Paracoccidioidomycosis mortality in Brazil (1980-1995). **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 18, n. 5, p. 1441-1454, Sep./Oct. 2002.

CUCÉ, L. C.; WROCLAWSKI, E. L. SAMPAIO, S. A. Treatment of Paracoccidioidomycosis, candidiasis, chromomycosis, lobomycosis and mycetoma with ketoconazole. **International Journal of Dermatology**, Philadelphia, v. 19, n. 9, p. 405-408, Sep. 1980.

DE ANDRADE, J. A. et al. Survey on paracoccidioidin in a population of Bahia (Brazil). **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, São Paulo, v. 26, n. 1, p. 1-6, Jan./Feb. 1984.

DEL-NEGRO, G. M. B. et al. The sensitivity, specificity and efficiency values of some serological tests used in the diagnosis of paracoccidioidomycosis. **Revista do Instituto de Medicina Tropical**, São Paulo, v. 33, n. 4, p. 277–280, 1991.

DÍAZ, I. A. C. On the unknown ecological niche of *Paracoccidioides brasiliensis*: our hypothesis of 1989: present status and perspectives. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, São Paulo, v. 49, n. 2, p. 131-134, Mar./Apr. 2007.

DIÓGENES, M.J.N. et al. Reações à histoplasmina e paracoccidioidinana Serra de Pereiro (Estado do Ceará – Brasil). **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, São Paulo, v. 32, n. 2, p. 116-120, Mar./Apr. 1990.

FAVA, S.C.; FAVA NETTO, C. Epidemiologic surveys of histoplamin and paracoccidioidin sensitivity in Brazil. **Revista Instituto Medicina Tropical São**

Paulo, São Paulo, v. 40, n. 3, p.155-164, Mai./Jun. 1998.

FAVA-NETTO, C. Contribuição para o estudo imunológico da blastomicose de Lutz. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v. 21, p. 99-194, 1961.

FAVA NETTO, C. Estudos quantitativos sobre a fixação do complemento na blastomicose Sul Americana com antígeno polissacarídico. **Arquivos de Cirurgia Clínica e Experimental**, São Paulo, v. 18, p. 197-254, 1955.

FERREIRA, S. M.; QUEIROZ-TELLES, F. Paracoccidiodomicose (Blastomicose Sul-Americana). In: VERONESI, R.; FOCACCIA, R. **Tratado de infectologia**. 4. ed. São Paulo: Atheneu, 2010, cap. 83.2, p. 1525-1529.

FERREIRA, M. S. Paracoccidiodomycosis. **Paediatric Respiratory Reviews**, London, v. 10, n. 4, p. 161-155, Dec. 2009.

FORNAJEIRO, N. et. al. Inquérito epidemiológico sobre a paracoccidiodomicose utilizando a gp43 em dois municípios do noroeste do Paraná, Brasil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Brasília, v. 38, n. 2, p. 191-193, Mar./Apr. 2005.

FRANCO, M. et al. Paracoccidiodomycosis: a recently proposed classification of its clinical forms. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Brasília, v. 20, n. 2, p. 129-132, Apr./Jun. 1987.

HOTEZ, P. J. et al. The neglected tropical diseases of Latin America and the Caribbean: a review of disease burden and distribution and a road map for control and elimination. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, San Francisco, v. 2, n. 9, p. e300, Sep. 2008.

IGREJA, R. P. Infections disease control in Brazil. **The Lancet**, v. 378, n. 9797, p. 1135, set. 2011.

IBGE - INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA.

**Contagem da população 2010**. 2010. Disponível em:

<[www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/censo2010/resultados\\_dou/MG2010.pdf](http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/censo2010/resultados_dou/MG2010.pdf)>. Acesso em: 12 nov. 2011.

KALMAR, E.M.et al. Paracoccidiodomycosis: an epidemiologic survey in a pediatric population from the Brazilian Amazon using skin tests. **American Journal of**

**Tropical Medicine and Hygiene**, Baltimore, v. 71, n. 1, p. 82-86, Jul. 2004.

KAMIKAWA, C. M. et al. Retrospective sero epidemiological analysis of patients with suspicion of paracoccidioidomycosis in São Paulo State, Brazil. **Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases**, Botucatu, v. 18, n. 3, p. 264-271, 2012.

KOMAID, A. V. G.; DURÁN, E.; KESTELMAN, I. B. Histoplasmosis and Paracoccidioidomycosis in northwestern Argentina III. Epidemiological survey in Vipos, La Toma, and Choromoro - Trancas, Tucumán, Argentina. **European Journal of Epidemiology**, Rome, v. 15, n. 4, p. 383-8, Apr. 1999.

LACAZ, C. S. et al. Paracoccidioidomicose. In: LACAZ C. et al. (edit.). **Tratado de micologia médica Lacaz**. 9. ed. São Paulo, Brasil: Sarvier, 2002. p. 639-729.

LACAZ C. S; Sampaio A. P. Tratamento da blastomicose sulamericana com anfotericina B. **Revista da Associação Paulista de Medicina**, São Paulo, v. 52, p. 443, 1958.

LIESE, B.; ROSENBERG, M.; SCHRATZ, A. Programmes, partnerships, and governance for elimination and control of neglected tropical diseases. **The Lancet**, v. 375, n. 9708, p. 67-76, Jan. 2010.

LUTZ, A. Uma mycose pseudococcidica localizada na boca e observada no Brazil. Contribuição ao conhecimento das hyphoblastomycoses americanas. **Brasil Médico**, Rio de Janeiro, v. 22, n. 15, p. 141-144, 1908.

MAGALHAES, A. et al. Prophylactic and therapeutic vaccination using dendritic cells primed with peptide 10 derived from the 43-kilodalton glycoprotein of *Paracoccidioides brasiliensis*. **Clinical and Vaccine Immunology**, v. 19, n. 1, p. 23-29, Jan. 2012.

MANGIATERRA, M. L. et al. *Paracoccidioidis brasiliensis* infection in a subtropical region with importante environmental changes. **Bulletin de la Société de pathologie exotique**, Paris, v. 92, n. 3, p.173-176, Jul. 1999.

MANGIATERRA, M. et al. Histoplasmin and paracoccidioidin skin reactivity in infantile population of northern Argentina. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, São Paulo, v. 38, n. 5, p. 349-353, Sep./Oct. 1996.

MARCHIORI, E. et al. Paracoccidioidomycosis: high-resolution computed tomography-pathologic correlation. **European Journal of Radiology**, Amsterdam, v. 77, n. 1, p. 80-4, Jan. 2011.

MARQUES, S. A. Paracoccidioidomycosis. **Clinics in Dermatology**, Philadelphia, v. 30, n. 6, p. 610-615, Nov./Dec. 2012.

MARQUES, S. A. Paracoccidioidomicose. In: ZAITZ, C. et al. **Compêndio de micologia médica**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2010. p. 294-312.

MARQUES, S. A. et al. Paracoccidioidomicose: frequência, morfologia e patogênese de lesões tegumentares. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, Rio de Janeiro, v. 82, n. 5, p. 411-417, Sep./Oct. 2007.

MARTINEZ, R. Paracoccidioidomycosis: the dimension of the problem of a neglected disease. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Brasília, v. 43, n. 4, p. 480, Jul./Aug. 2010.

MARTINEZ, R.; MOYA, M. J. Primary complex of paracoccidioidomycosis and hypereosinophilia. **Jornal Brasileiro de Pneumologia**, Brasília, v. 35, n. 12, p. 1259-1262, Dec. 2009.

MARTINEZ, R. Paracoccidioidomicose (Blastomicose Sul-Americana) Etiologia e Ecologia. In: VERONESI, R.; FOCACCIA, R. **Tratado de infectologia**. 4. ed. São Paulo: Atheneu, 2009. cap. 83, p. 515-1518.

MARTINEZ, R. Paracoccidioidomicose. In: SIDRIM, J. J. C., ROCHA, M. F. G. **Micologia Médica à Luz de Autores Contemporâneos**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004. cap. 21, p. 204-21.

MARTINEZ, R.; MOYA, M. J. The relationship between paracoccidioidomycosis and alcoholism. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, v. 26, n. 1, p. 12-16, Feb. 1992.

MATUTE, D. R. et al. Cryptic speciation and recombination in the fungus *Paracoccidioides brasiliensis* as revealed by gene genealogies. **Molecular Biology and Evolution**, Chicago, v. 23, n. 1, p. 65-73, Jan. 2006.

MELO, I. S.; LONDERO, A. T. Spontaneously resolving pulmonar lesions in paracoccidioidomycosis. **Mycopathologia**, The Hague, v. 82, n. 1, p. 57-59, Apr. 1983.

MENDES-GIANNINI, M. J. S.; DEL NEGRO, G. M. B.; GONCALVES, E. G. Paracoccidioidomicose (Blastomicose sul-americana). In: FOCACCIA, R.; VERONEZI, R. (Org.). **Tratado de Infectologia**. 4. ed. São Paulo: Atheneu, 2010, p. 1533-1539.

MENDES-GIANNINI, M. J. et al. Interations of *Paracoccidioides brasiliensis* with host cells: recent advances. **Mycopathologia**, The Hague, v. 165, n. 4-5, p. 237-248, Apr./Mai. 2008.

MOREIRA, A. P. V. Paracoccidioidomicose: histórico, etiologia, epidemiologia patogênese, formas clínicas, diagnóstico laboratorial e antígenos. **Boletim Epidemiológico Paulista**, São Paulo, v. 5, n. 51, p. 12-24, Marc. 2008.

MOREJÓN, K. M.; MACHADO, A. A.; MARTINEZ, R. Paracoccidioidomycosis in patients infected with and not infected with human immunodeficiency virus: a case-control study. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Baltimore, v. 80, n. 3, p. 359-366, Mar. 2009.

NAIFF, R. D. et al. Enzootic paracoccidioidomycosis in armadillos (*Dasypus novemcinctus*) in the State of Pará. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, São Paulo, v. 28, n. 1, p.19-27, Jan./Feb. 1986.

NEGRONI, R. et al. Oral treatment of Paracoccidioidomycosis and Histoplasmosis with itraconazole in humans. **Reviews of Infectious Diseases**, v. 9, n. supl. 1, p. 47-50, Jan./Feb. 1987.

NUCCI, M.; COLOMBO, A. L.; QUEIROZ-TELLES, F. Paracoccidioidomycosis. **Current Fungal Infection Reports**, v. 3, n. 1, p. 15-20, 2009.

ONO, M. A. et al. Inhibition of *Paracoccidioides brasiliensis* by pesticides: is this a partial explanation for the difficulty in isolating this fungus from the soil? **Medical Mycology**, Oxford, v. 40, n. 5, p. 493-499, Oct. 2002.

PALMEIRO, M.; CHERUBINI, K.; YURGEL, L.S. Paracoccidioidomicose - Revisão da literatura. **Scientia Medica**, Porto Alegre, v. 15, n. 4, out./dez. 2005.

PANIAGO, A. M. M. et al. Paracoccidioidomicose: estudo clínico e epidemiológico de 422 casos observados no Estado do Mato Grosso do Sul. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 36, n. 4, p. 455-459, Jul./Aug. 2003.

PARISE-FORTES, M. R. et al. Imunologia da paracoccidioidomicose. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, Rio de Janeiro, v. 86, n.3, p. 516-525, Mai./Jun. 2011.

PEDROSO, V. S. et al. Paracoccidioidomycosis compromising the central nervous system: a systematic review of the literature. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 42, n. 6, nov./dez. 2009.

PEREIRA, A. J. C. S. Inquérito intradérmico para paracoccidioidomicose em Goiânia. **Revista de Patologia Tropical**, Goiânia, v. 17, p. 157-186, 1988.

PINZAN, C. F. et al. Immunological basis for the gender differences in murine *Paracoccidioides brasiliensis* infection. **PLoS ONE**, San Francisco, v. 5, n. 5, p. e10757, 2010.

PRADO, M. et al. Mortality due to systemic mycoses as a primary cause of death or in association with AIDS in Brazil: a review from 1996 to 2006. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 104, n. 3, p. 513-521, Jan./May. 2009.

PUCCIA, R. et al. The *Paracoccidioides* cell wall: past and present layers toward understanding interaction with the host. **Frontiers in Microbiology**, v. 2, n. 257, p 1-7, Dec. 2011.

PUCCIA, R.; TAKAOKA, D. T.; TRAVASSOS, L. R. Purification of the 43 kDa glycoprotein from exocellular components excreted by *Paracoccidioides brasiliensis* in liquid culture (TOM medium). **Journal of Medical and Veterinary Mycology**, Oxfordshire, v. 29, n. 1, p. 57-60, 1991.

PUCCIA, R. et al. Exocellular components of *Paracoccidioides brasiliensis*: identification of a specific antigen. **Infection and Immunity**, v. 53, n. 1, p. 199-206, Jul. 1986.

QUAGLIATO JUNIOR, R. et al. Association between paracoccidioidomycosis and tuberculosis: reality and misdiagnosis. **Jornal Brasileiro de Pneumologia**, Brasília, v. 33, n. 3, p. 295-300, Jun. 2007.

QUEIROZ-TELLES, F. Influence of alternating coffee and sugar cane agriculture in the incidence of paracoccidioidomycosis in Brazil. **Biomedica**, v. 28, n. supl. 1, p. 129. Aug. 2008.

QUEIROZ-TELLES, F. et al. An open-label comparative pilot study of oral voriconazole and itraconazole for long-term treatment of paracoccidioidomycosis. **Clinical Infectious Diseases**, Chicago, v. 45, n. 11, p. 1462-1469, Dec. 2007.

QUEIROZ-TELLES, F. *Paracoccidioides brasiliensis* ultrastructural findings. In: FRANCO, M. et al (edit.). *Paracoccidioidomycosis*. Boca Raton: CRC, 1994. Press, p. 27-47.

RABAHI, M. F. Tuberculose e Tabagismo. **Pulmão**, Rio de Janeiro, v. 21, n. 1, p. 46-49, 2012.

R CORE TEAM. **R: A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. 2012. Disponível em: <<http://www.R-project.org/>>. Acesso em: 12 nov. 2011.

RESTREPO, A.; GÓMEZ, B. L.; TOBÓN, A. Paracoccidioidomycose: Latin America's Own Fungal Disorder. **Current Fungal Infection Reports**, v. 6, p. 303-311, Oct. 2012.

RESTREPO, A. et al. Paracoccidioidomycose. In: KAUFFMAN, C.A. et al. (edit.). **Essentials of Clinicals Mycology**. 2. ed. Springer: New York, 2011. p. 367-85.

RESTREPO, A.; MCEWEN, J. G.; CASTANEDA, E. The habitat of *Paracoccidioides brasiliensis*: how far from solving the riddle? **Medical Mycology**, Oxford, v. 39, n. 3, p. 233-241, Jun. 2001.

RESTREPO, A. et al. Itraconazole in the treatment of paracoccidioidomycoses: a preliminary report. **Reviews of Infectious Diseases**, v. 9, n. supl. 1, p. S51-6, Jan./Feb. 1987.

RESTREPO, A. et al. Estrogens inhibit mycelium-to-yeast transformation in the fungus *Paracoccidioides brasiliensis*: implications for resistance off males to paracoccidioidomycosis. **Infection and Immunity**, v. 46, n. 2, p. 346-53, Nov. 1984.



RESTREPO, A. et al. Distribution of paracoccidioidin sensitivity in Colombia. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Baltimore, v. 17, n. 1 p. 25-37, Jan. 1968.

RIBEIRO, L.C. et al. Micoses sistêmicas: fatores associados ao óbito em pacientes com infecção pelo vírus da imunodeficiência humana, Cuiabá, estado de Mato Grosso, 2005-2008. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Brasília, v. 42, n. 6, p. 698-705, Dec. 2009.

RIBEIRO, D. O. Nova terapêutica para a blastomicose. **Publicações Médicas**, São Paulo, v. 12, n. 1, p. 36-54, 1940.

RICHINI-PEREIRA, V. B. et al. Molecular approaches for eco-epidemiological studies of *Paracoccidioides brasiliensis*. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 104, n. 4, p. 636-643, Jul. 2009.

RIOS-GONÇALVES, A. J. et al. Paracoccidioidomycosis in children in the state of Rio de Janeiro (Brazil). Geographic distribution and the study of a "reservarea". **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, São Paulo, 40, n. 1, p. 11-13, Jan./Feb. 1998.

RITTNER, G. M. et al. Therapeutic DNA vaccine encoding peptide P10 against experimental paracoccidioidomycosis. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, San Francisco, v. 6, n. 2, p. e1519, 2012.

RODRIGUES, M. T.; DE RESENDE, M. A. Epidemiologic skin test survey of sensitivity to paracoccidioidin, histoplasmin and sporotrichin among gold mine workers of Morro Velho Mining, Brazil. **Mycopathologia**, The Hauge, v. 135, n. 2, p. 89-98, 1996.

RUAS, L. P.; CARVALHO, F. C.; ROQUE-BARREIRA, M. C.. ArtinM offers new perspectives in the development of antifungal therapy. **Frontiers in Microbiology**, v. 3, 218, 2012.

SAN-BLAS, G.; BURGER, E. Experimental medical mycological research in Latin America - a 2000-2009 overview. **Revista Iberoamericana de Micologia**, Barcelona, v. 28, n. 1, p. 1-25, Jan./Mar. 2011.

SAN-BLAS, G.; NIÑO-VEGA, G. Paracoccidioides brasiliensis: chemical and molecular tools for research on cell walls, antifungals, diagnosis, taxonomy. **Mycopathologia**, The Hauge, v.165, n. 4-5, p. 183-195, Apr./May. 2008.

SAN-BLAS G.; SAN-BLAS F. Biochemistry of *P. brasiliensis* dimorphism. In: FRANCO, M.; LACAS, C. S.; DEL NEGRO, G. **Paracoccidioidomycosis**. Boca Raton: CRC Press, 1994. p. 49-66.

SANTOS, W. A. et al. Associação entre tabagismo e paracoccidioidomicose: um estudo de caso-controle no Estado do Espírito Santo, Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 19, n. 1, p. 245-253, Jan./Feb. 2003.

SANTOS, M. C.; PEDROSA, C. M. Epidemiologic survey with histoplasmin and paracoccidioidine in Arapiraca-Alagoas. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Brasília, v. 23, n. 4, p. 231-235, Oct./Dec. 1990.

SARAIVA, E. C. O. et al. *Paracoccidioides brasiliensis*-gp43 used as paracoccidioidin. **Journal of Medical and Veterinary Mycology**, Oxfordshire, v. 34, n. 3, p. 155-161, Jun./Jul. 1996.

SARTI, E. C. et al. Paracoccidioidal infection in HIV patients at an endemic area of paracoccidioidomycosis in Brazil. **Mycopathologia**, The Hauge, v. 173, n. 2-3, Mar. 2011.

SES-MG - Secretaria de Estado da Saúde de Minas Gerais. **Mapa do plano Diretor de Regionalização**. 2011. Disponível em: <[www.saude.mg.gov.br](http://www.saude.mg.gov.br)>. Acesso em: 12 nov. 2011.

SECRETARIA MUNICIPAL DE SAÚDE DE ALFENAS. Coordenação Geral de Vigilância em Saúde. Alfenas. 2011. Dados internos.

SEVERO, L. C. et al. Paracoccidiomycosis in women. **Revista Iberoamericana de Micología**, Barcelona, v. 15, p. 88-89, 1988.

SHANKAR, J. et al. Hormones and the resistance of women to paracoccidioidomycosis. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 24, n. 2, p. 296-313, Apr. 2011.

SHIKANAI-YASUDA, M. A. et al. Consenso em paracoccidioidomicose. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 39, n. 3, p. 297-310, mai./jun. 2006.

SIFUENTES-OSORNIO, J.; CORZO-LEÓN D. E.; PONCE-DE-LEÓN, L. A. Epidemiology of Invasive Fungal Infections in Latin America. **Current Fungal Infection Reports**, v. 6, n. 1, p. 23–34, jan. 2012.

SILVA, M. A. A. **Inter-relação de aspectos clínicos, histomorfométricos e imunoistoquímicos na paracoccidiodomicose oral**. 2012. 80 f. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Odontologia da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

SILVA, M. R.; SARAIVA, L. E. Paracoccidiodomycosis. **Dermatology Clinic**, v. 26, n. 2, p. 257-269, Apr. 2008.

SILVA-VERGARA, M. L. et al. Isolation of *Paracoccidioides brasiliensis* from armadillos (*Dasypus novemcinctus*) in an area where the fungus was recently isolated from soil. **Medical Mycology**, Oxford, v. 38, n. 3, p.193-199, Jun. 2000.

SILVA-VERGARA, M. L. et al. Isolation of *Paracoccidioides brasiliensis* strain from the soil of a coffee plantation in Ibiá, State of Minas Gerais, Brazil. **Medical Mycology**, Oxford, v. 36, n. 1, p. 37-42, Feb. 1998.

SILVA-VERGARA, M. L.; MARTINEZ, R. Inquérito epidemiológico com paracoccidiodina e histoplasmina em área agrícola de café em Ibiá, Minas Gerais, Brasil. **Revista Iberoamericana de Micologia**, Barcelona, v. 15, n. 4, p. 294-297, Dec. 1998.

SIMÕES, L. B.; MARQUES, S. A.; BAGAGLI, E. Distribution of paracoccidiodomycosis: determination of ecologic correlates through spatial analyses. **Medical Mycology**, Oxford, v. 42, n. 6, p. 517-523, Dec. 2004.

SMELTZER, S. S.; BARE, B. G. **Brunner e Suddarth: Tratado de Enfermagem médico-cirúrgica**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. v. 1, cap. 5.

SOARES, C. M. A. et al. A Centennial: discovery of *Paracoccidioides brasiliensis*. **Mycopathologia**, The Hauge, v. 165, n. 4-5, p. 179-181, Apr./May. 2008.

SPLENDRE, A. Zymonema com localizzazione nella cavità della bocca osservata in Brasile. **Bulletin of the Exotic Pathology Society**, v. 5, p. 313-319, 1912.

TEIXEIRA, M. M. et al. Phylogenetic analysis reveals a high level of speciation in the *Paracoccidioides* genus. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, San Diego, v. 52, n. 2, p. 273-83, Aug. 2009.

TERÇARIOLI, G. R. et al. Ecological study of *Paracoccidioides brasiliensis* in soil: growth ability, conidia production and molecular detection. **BMC Microbiology**, London, v. 7, n. 92, Oct. 2007.

THEODORO, R. C.; BAGAGLI, E.; Oliveira, C. Phylogenetic analysis of PRP8 intein in *Paracoccidioides brasiliensis* species complex. **Fungal Genetics and Biology**, Orlando, v. 45, n. 9, p. 1284-1291, Sep. 2008.

THEODORO, R. C. et al. Molecular detection of *Paracoccidioides brasiliensis* in soil. **Medical Mycology**, Oxford, v. 43, n. 8, p. 725-729, Dec. 2005.

TRAVASSOS, L. R.; TABORDA, C. P. Paracoccidioidomycosis vaccine. **Human Vaccines and Immunotherapeutics**, v. 8, n. 10, p. 1450-1453, Oct. 2012.

TRAVASSOS, L. R. et al. Attempts at a peptide vaccine against paracoccidioidomycosis, adjuvant to chemotherapy. **Mycopathologia**, The Hague, v. 165, n. 4-5, p. 341-352, Apr./May. 2008.

TRAVASSOS, L. R.; TABORDA, C. P.; COLOMBO, A. L. Treatment options for paracoccidioidomycosis and new strategies investigated. **Expert Review of Anti-Infective Therapy**, v. 6, n. 2, p. 251-262, Apr. 2008.

TSIODRAS, S. et al. Fungal infections complicating tumor necrosis factor alpha blockade therapy. **Mayo Clinic Proceedings**, England, v. 83, n. 2, p. 181-194, Feb. 2008.

ZEMBRZUSKI, M. M. et al. An intradermal test with histoplasmin and paracoccidioidin in 2 regions of Rio Grande do Sul. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Brasília, v. 29, n. 1, Jan./Feb. 1996.

WANKE, B.; AIDÊ, M. A. Capítulo 6 - Paracoccidioidomicose. **Jornal Brasileiro de Pneumologia**, São Paulo, v. 35, n. 12, p. 1245-1249, Dec. 2009.

WANKE, B.; LONDERO, A. T. Epidemiology and a paracoccidioidomycosis infection. In: FRANCO, M. et al. **Paracoccidioidomycosis**. Boca Raton: CRC Press, 1994. p. 109-120.

## APÊNDICE A – FICHA CADASTRAL

Estudo: “ANÁLISE DA PREVALÊNCIA DE INFECÇÃO PELO *Paracoccidioides brasiliensis* EM ÁREAS RURAIS DE ALFENAS, MINAS GERAIS”

### Dados do paciente

Nome: \_\_\_\_\_

Idade: \_\_\_\_\_ Sexo: \_\_\_\_\_ Estado civil : \_\_\_\_\_

Profissão e dados relativos à mesma: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Endereço: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Telefone: \_\_\_\_\_ Localidade: \_\_\_\_\_

Agravos: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Medicação: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

### Dados Laboratoriais

IRDM: Negativo:  Positivo:  ( \_\_\_\_\_ mm data: \_\_\_\_\_ )

IDD: Negativo:  Positivo:  (titulação: \_\_\_\_\_ data: \_\_\_\_\_ )

ELISA: Negativo:  Positivo:  (D.O.: \_\_\_\_\_ data: \_\_\_\_\_ )

Rx: \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

Hemograma: \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

**Diagnóstico** Negativo:                       Positivo:

\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

Forma clínica: \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

Tempo aproximado da micose ou da suspeita: \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

**Tratamento** (Início – Duração –Terapêuticacomplicações): \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

## APÊNDICE B - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

### TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

#### **ANÁLISE DA PREVALÊNCIA DE INFECÇÃO PELO *Paracoccidioides brasiliensis* EM ÁREAS RURAIS DE ALFENAS, MINAS GERAIS**

A Paracoccidioidomicose é uma doença causada por fungo, endêmica em cidades localizadas no Sul de Minas Gerais, tornando-se grave quando não tratada precocemente. A UNIFAL-MG recebe vários pacientes com suspeita de infecção funcionando como referência diagnóstica na região. Este trabalho visa à identificação de portadores da doença e de indivíduos infectados assintomáticos. Dessa forma, poder-se-á avaliar a realidade, contribuir para adoção de medidas preventivas, bem como encaminhar os infectados para tratamento e/ou acompanhamento. Este último, para os indivíduos infectados assintomáticos.

A identificação se fará pelo teste intradérmico, injetando 0,1 mL de solução de antígeno bruto no terço médio ventral do antebraço, na camada mais superficial da pele. Nesse local, se formará imediatamente uma pequena pápula, com aspecto de casca de laranja que desaparecerá posteriormente. Após dois dias (48 horas), será feita a leitura, devendo os participantes retornar ao local do exame no horário previamente estabelecido. De acordo com os resultados, serão realizadas as primeiras orientações e encaminhamentos. Para a realização do teste, será utilizada proteína antigênica, previamente preparada para testes intradérmicos pelo Prof. Zoilo Pires de Camargo da UNIFESP (Universidade Federal de São Paulo – Escola Paulista de Medicina). O teste não traz qualquer risco para os participantes.

Com base nos motivos expostos para esta pesquisa, pelo presente instrumento que atende às exigências legais, eu, \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_,  
portador da cédula de identificação n° \_\_\_\_\_, ou certidão de nascimento n° \_\_\_\_\_, (ou responsável pelo menor) \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_, após leitura e

entendimento do termo de consentimento livre e esclarecido, devidamente explicado, detalhadamente, ciente dos serviços e dos procedimentos aos quais serei submetido, não restando quaisquer dúvidas a respeito, firmo meu Consentimento Livre e Esclarecido em concordância de participar do trabalho proposto, no que lhe é cabível, sem remuneração, conforme este documento. Esta pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa, da Universidade Federal de Alfenas, com o certificado **CAAE**: 23087.004231/2008-41.

Fica claro que, como participante ou como representante legal, posso a qualquer momento retirar meu consentimento livre e esclarecido e deixar de participar deste estudo, e estou ciente de que todo trabalho realizado torna-se informação confidencial guardada por força do sigilo profissional. Permito apenas a divulgação dos dados sem minha identificação para fins acadêmicos em eventos científicos e periódicos.

Recebi essas informações anteriormente aos procedimentos pela acadêmica, responsável juntamente com o convite para participar deste projeto.

Por estarem entendidos e confirmados, assinam o presente termo.

Alfenas, \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_

---

Assinatura do participante

---

Assinatura do acadêmico(a)



## APÊNDICE C - FICHA DE ANAMNESE CLÍNICA

Projeto: "DIVULGAÇÃO DA PARACOCCIDIOIDOMICOSE E IDENTIFICAÇÃO, COM ACOMPANHAMENTO CLÍNICO DOS PACIENTES, NAS ÁREAS RURAIS DE ALFENAS"

### FICHA DE ANAMNESE

Nome: \_\_\_\_\_

IDADE-----SEXO-----COR-----NATURAL-----PROCEDENCIA-----

RESIDENCIA-----D/N-----

HISTORIA DA MOLESTIA ATUAL (HMA)

ANTECEDENTES PESSOAIS

INVESTIGAÇÃO SOBRE DEMAIS APAREHOS -ISDA

EXAME FÍSICO

HIPÓTESE DE DIAGNÓSTICO

PLANO PROPEDEUTICO E TERAPEUTICO