

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS – UFMG
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS - ICB
DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGIA**

**MICOSES SISTÊMICAS CAUSADAS POR FUNGOS DIMÓRFICOS QUE
ACOMETEM O HOMEM ATRAVÉS DO TRATO RESPIRATÓRIO: Manifestações
Clínicas, Diagnóstico, Tratamento, Epidemiologia e Prevenção**

**Belo Horizonte
2016**

WANESSA COSTA SILVA

**MICOSES SISTÊMICAS CAUSADAS POR FUNGOS DIMÓRFICOS QUE
ACOMETEM O HOMEM ATRAVÉS DO TRATO RESPIRATÓRIO: Manifestações
Clínicas, Diagnóstico, Tratamento, Epidemiologia e Prevenção**

Trabalho de conclusão de Curso apresentado à
Universidade Federal de Minas Gerais como parte das
exigências do Curso de Pós-graduação para a obtenção
do título de Especialista em Microbiologia.

Orientadora: Dr.^a Ludmila de Matos Baltazar

**Belo Horizonte
2016**

Dedico este trabalho primeiramente a Deus. E em segundo, a minha amada família.

AGRADECIMENTOS

Ao meu soberano Deus, razão maior de minha vida. Agradeço a ti por ter me dado saúde e força para superar as dificuldades e seguir sempre adiante.

A minha família, pelo amor, incentivo, e apoio nas horas difíceis.

A minha orientadora Dr.^a Ludmila Baltazar, pelo suporte no pouco tempo que lhe coube, pelas suas correções e incentivos.

Ao professor Dr. Luiz Henrique Rosa, pela amizade e apoio durante a escrita deste trabalho.

A esta Universidade, seu corpo docente, direção e administração, pela oportunidade e a confiança em mim depositadas.

E a todos que direta ou indiretamente fizeram parte da minha formação, meu muito obrigada.

“Não é o mais forte que sobrevive. Nem o mais inteligente. Mas o que melhor se adapta às mudanças”.

Charles Darwin

RESUMO

As micoses sistêmicas são infecções profundas causadas por fungos patogênicos, cujo a maioria são adquiridas através da exposição e inalação de fragmentos ou esporos pelo trato respiratório. Estes fungos são em maioria sapróbios, apresentando forma filamentosa quando livres no meio ambiente. Após a inalação e chegada aos pulmões, os esporos se diferenciam em leveduras ou outras formas com especialidades peculiares, tal como as esférulas. A maioria das infecções fúngicas pulmonares são de caráter assintomáticas e muitas vezes limitadas pelo sistema imune do hospedeiro. Entretanto, em alguns indivíduos a doença se dissemina invadindo outros órgãos adjacentes, causando graves lesões nos tecidos, que podem resultar na morte do paciente.

Dentre os fungos causadores de micoses sistêmicas que acometem o indivíduo através do trato respiratório, se destacam os fungos dimórficos *Paracoccidioides brasiliensis*, *Histoplasma capsulatum*, *Coccidioides immitis* e *Blastomyces dermatitidis*, principais agentes etiológicos que irão fazer parte deste trabalho.

O diagnóstico rápido dessas micoses é de grande importância tanto para o tratamento do indivíduo quanto para a notificação de casos e registro epidemiológico dessas doenças.

Essas micoses são endêmicas, encontradas e distribuídas geograficamente pelas Américas, principalmente em países latinos como o Brasil.

Dentre os vários tipos de micoses sistêmicas já descritas pela literatura, este trabalho irá abordar apenas a paracoccidioidomicose, histoplasmose, coccidioidomicose e a blastomicose.

Palavras-chave: Micoses sistêmicas. Fungos dimórficos. Paracoccidioidomicose. Histoplasmose. Coccidioidomicose. Blastomicose. Trato respiratório.

ABSTRACT

Systemic mycoses are deep infections caused by pathogenic fungi, most of which are acquired through exposure and inhalation of fragments or spores by the respiratory tract. These fungi are mostly saprobic, presenting filamentous form when free in the environment. After inhalation and arrival in the lungs, the spores differentiate into yeasts or other forms with peculiar specialties, such as the spherules. Most pulmonary fungal infections are asymptomatic and often limited by the host's immune system. However, in some individuals the disease spreads invading other adjacent organs, causing severe tissue damage, which can result in the death of the patient.

Paracoccidioides brasiliensis, *Histoplasma capsulatum*, *Coccidioides immitis* and *Blastomyces dermatitidis*, the main etiological agents that will be part of this work, stand out among the fungi that cause systemic mycoses that affect the individual through the respiratory tract.

The rapid diagnosis of these mycoses is of great importance both for the treatment of the individual and for the notification of cases and epidemiological record of these diseases.

These mycoses are endemic, found and distributed geographically throughout the Americas, especially in Latin countries such as Brazil.

Among the several types of systemic mycoses already described in the literature, this work will address only paracoccidioidomycosis, histoplasmosis, coccidioidomycosis and blastomycosis.

Keyword: Systemic mycoses. Dimorphic fungi. Paracoccidioidomycosis. Histoplasmosis. Coccidioidomycosis. Blastomycosis. Respiratory tract.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Exemplos de dimorfismos. Características micromorfológicas das espécies <i>Paracoccidioides brasiliensis</i> e <i>Histoplasma capsulatum</i>	15
Figura 2 - Exemplos de dimorfismos. Características micromorfológicas das espécies <i>Blastomyces dermatitidis</i> e <i>Coccidioides immitis</i>	16
Figura 3 - Ciclo biológico do fungo <i>Paracoccidioides brasiliensis</i>	24
Figura 4 - Forma clínica aguda e crônica de PCM	30
Figura 5 - Sequelas cicatriciais causadas por PCM	31
Figura 6 - Exame anatomo-patológico para diagnóstico de PCM	32
Figura 7 - Exame direto para diagnóstico de PCM.....	33
Figura 8 - Diagnóstico radiológico e tomográfico da PCM	34
Figura 9 - Ciclo biológico do <i>Histoplasma capsulatum</i>	37
Figura 10 - Histoplasmose pulmonar aguda.....	40
Figura 11 - Histoplasmose disseminada	42
Figura 12 - Histoplasmose cutânea e oral.....	42
Figura 13 - Diagnóstico histológico de histoplasmose clássica.....	44
Figura 14 - Ciclo biológico do fungo <i>Coccidioides immitis</i>	48
Figura 15 - Coccidioidomicose cutânea	50
Figura 16 - Exame direto para diagnóstico de coccidioidomicose.....	51
Figura 17 - Diagnóstico histológico de coccidioidomicose	52
Figura 18 - Diagnóstico tomográfico de coccidioidomicose.....	53
Figura 19 - Ciclo biológico do fungo <i>Blastomyces dermatitidis</i>	56
Figura 20 - Blastomicose extrapulmonar.....	60
Figura 21 - Diagnóstico histológico de blastomicose.....	61

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- AIDS – Síndrome da Imunodeficiência Adquirida
- BHI – *Brain Heart Infusion*
- Bd – *Blastomyces dermatitidis*
- CIE – Contraímunoeletroforese
- CO₂ – Dióxido de carbono
- Ci – *Coccidioides immitis*
- CR3 – Receptor do Complemento 3
- DNA - Ácido Desoxirribonucleico
- DPOC – Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica
- ELISA – *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*
- EPI's – Equipamentos de Proteção Individuais
- Hc. – *Histoplasma capsulatum*
- HIV – Vírus da Imunodeficiência Humana
- IB – ImunoBlot
- ID – Imunodifusão Dupla
- IFI – Imunofluorescência Indireta
- IFN-β – Interferon Beta
- IFN-γ – Interferon Gama
- IgA – Imunoglobulina A
- IgE – Imunoglobulina E
- IgG – Imunoglobulina G
- IL-2 – Interleucina 2
- IL-4 – Interleucina 4
- IL-5 – Interleucina 5
- IL-10 – Interleucina 10
- iNOS – Óxido Nítrico Sintase Induzida
- KOH – Hidróxido de Potássio
- MEC – Matriz Extracelular
- MHC-II – Complexo Principal de Histocompatibilidade II
- NK – *Natural Killer*
- NO – Óxido Nítrico
- PAS – *Periodic acid-Schiff*

PCM – Paracoccidioidomicose

PCR – Reação em Cadeia da Polimerase

Pb – *Paracoccidioides brasiliensis*

PNM – Polimorfonucleares

SDRA – Síndrome do Desconforto Respiratório Agudo

SNC – Sistema Nervoso Central

SNPs – Polimorfismos de Nucleotídeo Único

TNF- α – *Tumor Necrosis Factor Alpha*

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	08
2 OBJETIVOS	11
2.1 Objetivo Geral	11
2.2 Objetivo Específico	11
3 METODOLOGIA	12
4 REVISÃO DE LITERATURA	13
4.1 Características gerais das micoses sistêmicas e de seus agentes etiológicos	13
4.1.1 Dimorfismo	14
4.1.2 Outros fatores de virulência.....	17
4.1.3 A resposta imune do hospedeiro frente a infecção fúngica.....	18
4.1.4 Principais fármacos utilizados no tratamento de micoses sistêmicas	20
4.2 Paracoccidioidomicose	21
4.2.1 A resposta imune do indivíduo acometido por PCM.....	27
4.2.2 Manifestações clínicas	28
4.2.3 Diagnósticos clínicos e laboratoriais da PCM.....	31
4.2.4 Tratamento da PCM	35
4.3 Histoplasmose	35
4.3.1 A resposta imune do indivíduo acometido por histoplasmose.....	39
4.3.2 Manifestações clínicas	39
4.3.3 Diagnósticos clínicos e laboratoriais da histoplasmose.....	43
4.3.4 Tratamento da histoplasmose	45
4.4 Coccidioidomicose	46
4.4.1 A resposta imune do indivíduo acometido por coccidioidomicose.....	49
4.4.2 Manifestações clínicas	49
4.4.3 Diagnósticos clínicos e laboratoriais da coccidioidomicose.....	51
4.4.4 Tratamento da coccidioidomicose	53
4.5 Blastomicose	54
4.5.1 A resposta imune do indivíduo acometido por blastomicose.....	58
4.5.2 Manifestações clínicas	58
4.5.3 Diagnósticos clínicos e laboratoriais da blastomicose.....	60
4.5.4 Tratamento da blastomicose	62

4.6 Prevenção	63
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS	65
REFERÊNCIAS.....	67

1 INTRODUÇÃO

As micoses sistêmicas são micoses profundas, cuja infecção geralmente ocorre por inalação de propágulos infecciosos, tendo portanto, o pulmão como órgão primário de infecção. Seus principais agentes etiológicos são fungos dimórficos (PALMEIRA, 2014). No entanto, existem também outros fungos dimórficos e oportunistas, causadores de infecções sistêmicas, como algumas espécies do gênero *Candida spp.* e *Cryptococcus spp.*, porém não irão fazer parte deste trabalho (CASTELO et al., 2009).

Dimorfismo é uma característica apresentada por fungos que variam sua morfologia dependendo de fatores como, temperatura, disponibilidade de nutrientes e tensão de oxigênio. Tais fungos podem ora se apresentar na fase filamentosa e ora na fase leveduriforme (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 2004).

Dentre as principais micoses causadas por fungos dimórficos destacam-se a paracoccidioidomicose, histoplasmose, coccidioidomicose e blastomicose (BARBIERI; ISHIDA, 2016).

A paracoccidioidomicose (PCM) é uma micose cujo principal agente etiológico é o fungo *Paracoccidioides brasiliensis*. Considerado um fungo dimórfico que pode provocar uma doença inflamatória crônica granulomatosa que acomete os pulmões, podendo se disseminar para demais tecidos (FORTES et al., 2011).

A histoplasmose, também apresenta características de uma doença granulomatosa, com predileção pelos pulmões, podendo se disseminar. Porém o agente etiológico é o fungo *Histoplasma capsulatum* (AIDE, 2009).

A coccidioidomicose é outra importante micose que acomete o homem e uma grande variedade de animais e é causada pelo fungo dimórfico *Coccidioides immitis*. Pode se apresentar como infecção pulmonar benigna, de resolução espontânea em 60% dos casos, ou acometer outros órgãos a partir dos pulmões (DEUS FILHO, 2009).

Por fim, a infecção sistêmica conhecida como blastomicose, é causada pelo fungo *Blastomyces dermatitidis*. Alguns indivíduos podem apresentar sintomas semelhantes aos da gripe. Porém, em outros, a infecção pode se tornar grave, também se disseminando dos pulmões para outros órgãos (CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION, 2016a).

De maneira geral, indivíduos imunocomprometidos ou não podem contrair uma infecção fúngica, já que os fungos são de vida livre, ou seja, encontram-se dispersos no meio ambiente, favorecendo assim o contato com seus esporos, os quais podem ser inalados pelo hospedeiro (CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION, 2016a). É interessante ressaltar que os indivíduos infectados por esses fungos, não são capazes de transmiti-las para outros indivíduos (LEVINSON, 2014).

A resposta imune possui papel fundamental no que diz respeito à defesa contra agentes infecciosos e pode impedir a sua disseminação para além do foco primário da infecção. Essa disseminação caso não seja contida pelo sistema imune do hospedeiro pode resultar no óbito do paciente. No entanto, na maioria dos casos de doenças infecciosas, o número de indivíduos expostos à infecção é superior ao dos que apresentam a patologia, indicando que a maioria das pessoas possui uma resposta imune eficaz capaz de destruir esses microrganismos e impedir a progressão da infecção (MACHADO *et al.*, 2004).

Embora haja um número considerável de fungos que possa causar doenças, a maioria cursa sem repercussão clínica. No Brasil destacam-se pela sua elevada morbidade as espécies *Paracoccidioides brasiliensis*, *Histoplasma capsulatum* e *Coccidioides immitis*, entre outras espécies patogênicas e oportunistas (CASTELO *et al.*, 2009). Já o *Blastomyces dermatitidis*, é o fungo causador de micoses endêmicas dimórficas que ocorrem predominantemente na América do Norte, mas que no entanto, já foi identificado em países da América do Sul (CASTILLO; KAUFFMAN; MICELI, 2016).

De forma geral, as lesões primárias de origem pulmonar apresentadas em paracoccidioidomicose, histoplasmoses, coccidioidomicose e blastomicose geralmente são dificilmente reconhecidas clinicamente em pacientes imunocompetentes. Desta forma, são difíceis de serem diagnosticadas e tratadas precocemente (BONIFAZ; GONZÁLEZ; ORTIZ, 2011).

No Brasil, essas micoses sistêmicas não são doenças de notificação compulsória e os dados disponíveis se referem aos casos publicados e estudos já realizados. O conhecimento de áreas endêmicas, dados de prevalência, incidência e morbidade destas micoses baseiam-se em relatos de casos clínicos e em inquéritos realizados a partir de reações intradérmicas observadas com resultados positivos (BRASIL, 2011).

De forma geral o habitat natural destes fungos são regiões geográficas específicas, e sua detecção bem como seus registros epidemiológicos podem ser dificultados pela não obrigatoriedade de notificação aos órgãos fiscalizadores e pelo fato de que muitas vezes as manifestações clínicas só aparecem tempos depois da exposição. Desta forma, se faz necessário o apoio dos órgãos de saúde, para que se garanta a notificação de casos, além de um maior investimento no estudo e pesquisa dessas micoses, que até hoje são bastante negligenciadas pelo mundo (PALMEIRA, 2014).

Sendo assim, este trabalho possui grande valor científico, no que diz respeito ao esclarecimento sobre os tipos de micoses sistêmicas causadas por fungos dimórficos, enfatizando seus agentes etiológicos e como estes se comportam no ambiente e no organismo humano, focando na interação entre fungo/hospedeiro. Além disso, este trabalho favorecer um maior entendimento ao leitor sobre essas infecções.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

- Realizar uma revisão bibliográfica sobre as micoses sistêmicas, enfatizando os fungos dimórficos como seus principais agentes etiológicos, suas características e como estes se comportam em todo o curso da infecção.

2.2 Objetivos Específicos

- Relatar as manifestações clínicas, o diagnóstico, tratamento, prevenção e epidemiologia dessas infecções fúngicas;
- Caracterizar o dimorfismo, e como ele ocorre entre os fungos causadores de micoses sistêmicas;
- Descrever os fatores de virulência e a resposta imune do indivíduo, focando na interação fungo/hospedeiro.

3 METODOLOGIA

Esta monografia é descritiva, baseada em pesquisa qualitativa e exploratória. Os dados foram obtidos a partir de uma revisão bibliográfica, utilizando como metodologia de composição o acesso à literatura corrente nas bases: Scielo, CDC, NCBI, Google acadêmico, onde foram utilizadas algumas palavras-chave (Micoses sistêmicas, fungos dimórficos, trato respiratório), além de artigos acadêmicos enviados pela orientadora desde trabalho e livros disponibilizados pelas bibliotecas da UFMG, tais como Micologia no Laboratório Clínico, Micologia: Métodos Laboratoriais de Diagnóstico das Micoses, Micologia: Ciências Farmacêuticas, Tratado de Micologia Médica Lacaz e Microbiologia Médica e Imunologia, sendo que estes exemplares foram consultados no período entre agosto e outubro de 2016.

Posteriormente, foi realizada uma seleção dentre os materiais coletados, onde foram descartados trabalhos irrelevantes a escrita dessa monografia. Após a análise de todo o material selecionado, foi verificado quão importante seria a utilização destes para a agregação de dados coerentes ao objetivo proposto neste trabalho. Todos os trabalhos que compõe esta monografia estão explicitamente citados no ítem referências bibliográficas.

4 REVISÃO DE LITERATURA

4.1 Características gerais das micoses sistêmicas e de seus agentes etiológicos

As micoses sistêmicas são basicamente caracterizadas como doenças graves, adquiridas por inalação de propágulos fúngicos, podendo causar lesões primariamente nos pulmões. Porém, em alguns casos, podem apresentar regressão espontânea. Quando isso não acontece, o fungo pode se disseminar pelo organismo através da corrente sanguínea, originando lesões extrapulmonares. Contribui para a infecção por inalação o fato de que os propágulos infecciosos estão dispersos no ar atmosférico, solo, detritos vegetais diversos, e excrementos de animais silvestres, tais como morcegos (LACAZ *et al.*, 2002).

Os agentes etiológicos mais comuns deste tipo de infecção são os fungos dimórficos: *Paracoccidioides brasiliensis*, *Histoplasma capsulatum*, *Coccidioides immitis* e o *Blastomyces dermatitidis*, causadores de micoses sistêmicas em hospedeiros tanto imunocomprometidos, quanto imunocompetentes (PALMEIRA, 2014).

Embora haja um grande número de fungos que possa causar infecções graves, a maioria regride sem repercussão clínica. As espécies como *Candida albicans* e *Cryptococcus neoformans*, são fungos oportunistas e causadores de micoses sistêmicas, e se destacam pela alta capacidade em causar morbidade no indivíduo (CASTELO *et al.*, 2009).

Os fungos causadores de micoses sistêmicas possuem vários fatores que permitem seu crescimento nas diversas condições tanto no ambiente quanto no hospedeiro, favorecendo a adaptação do microrganismo no ambiente, seja ele externo ou no organismo do hospedeiro, e, também no estabelecimento da doença. Esse conjunto de características é denominado fatores de virulência, e influenciam diretamente no desenvolvimento e curso da infecção no organismo do hospedeiro. Os fatores de virulência exercem importante papel, auxiliando na aderência, colonização, disseminação e habilidade do fungo para resistir a ambientes hostis, além de induzir mecanismos de escape da resposta imune do hospedeiro (KUROKAWA; SUGIZAKI; ERAÇOLI, 1998).

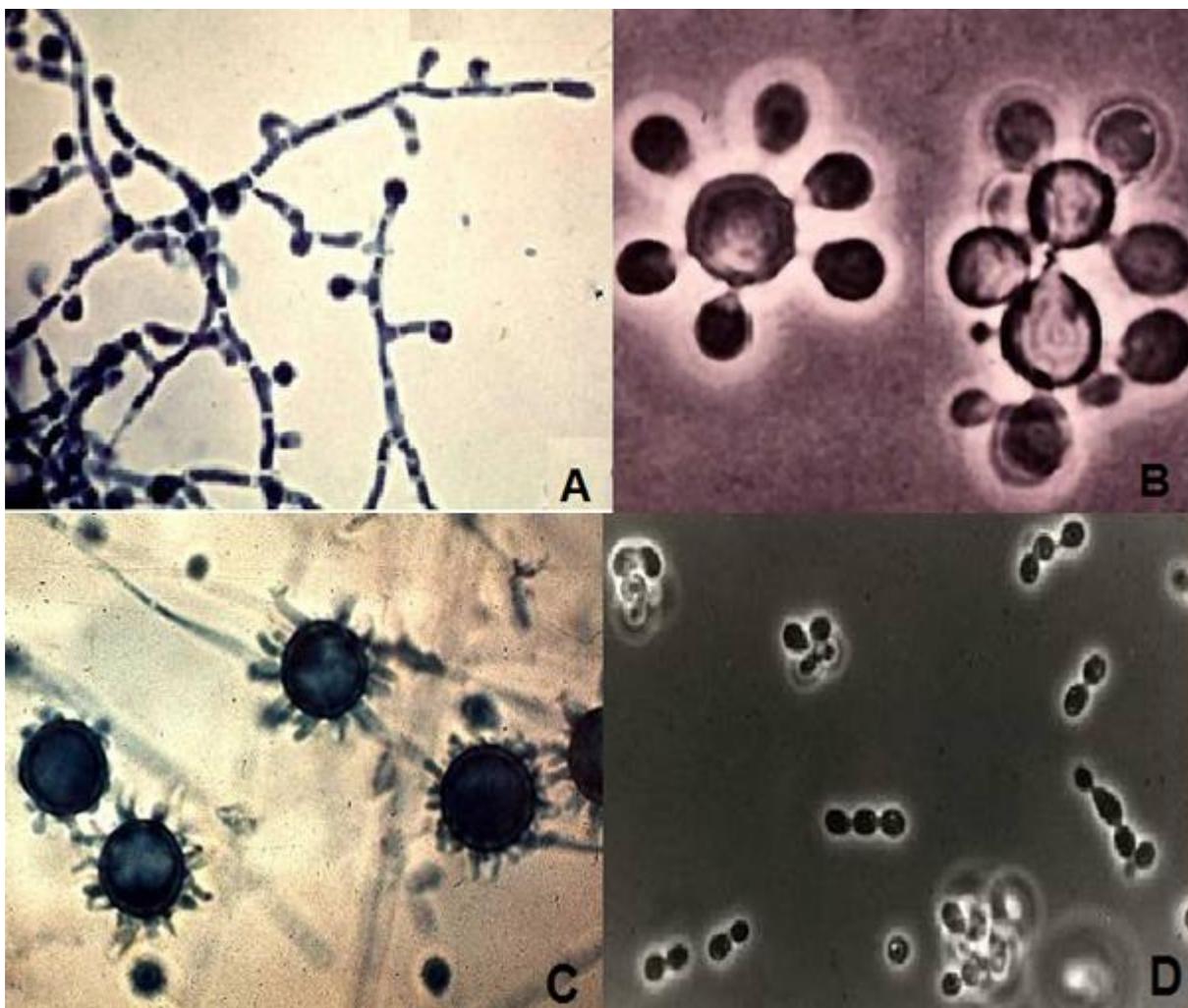
O dimorfismo é considerado um dos principais e mais importante fator de virulência para os fungos dimórficos (RIBEIRO, 2012).

4.1.1 Dimorfismo

O dimorfismo é a capacidade que alguns fungos apresentam de alterar a sua morfologia, mediante condições específicas de temperatura, bem como nutrientes, osmolaridade e estresse causados por drogas. O crescimento na fase leveduriforme ocorre em temperaturas em torno de 35-37°C. Os fungos dimórficos patogênicos são considerados fungos de crescimento lento, com período de incubação em torno de 15 dias ou mais. A identificação é feita após comprovação do dimorfismo, entre outros métodos, e pelo aspecto microscópico apresentado, que é característico de cada fase (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 2004).

Segundo Gauthier (2015), a capacidade de fungos patogênicos modificarem sua morfologia durante o seu ciclo de vida é bastante comum. Diferentes fatores podem influenciar as alterações morfológicas tais como temperatura, presença e quantidade de dióxido de carbono e nutrientes. Portanto, os fungos podem ser classificados em dimórficos térmicos ou não térmicos. Sendo que estes últimos sofrem as alterações morfológicas mediante disponibilidade de CO₂ e nutrientes. Os fungos termalmente dimórficos causam por ano milhões de infecções em seres humanos em todo o mundo, além de ser um importante fitopatógeno, causando, assim, grande impacto nas regiões agrícolas. A transição morfológica de hifa para levedura é crucial para garantir a patogenicidade, virulência, e ciclo de vida dos fungos dimórficos (FIG. 1 e 2), uma vez que o dimorfismo ajuda o fungo a evadir do sistema imune, pois altera os antígenos presentes na superfície destes fungos.

Figura 1 - Exemplos de dimorfismos. Características micromorfológicas das espécies *Paracoccidioides brasiliensis* e *Histoplasma capsulatum*.

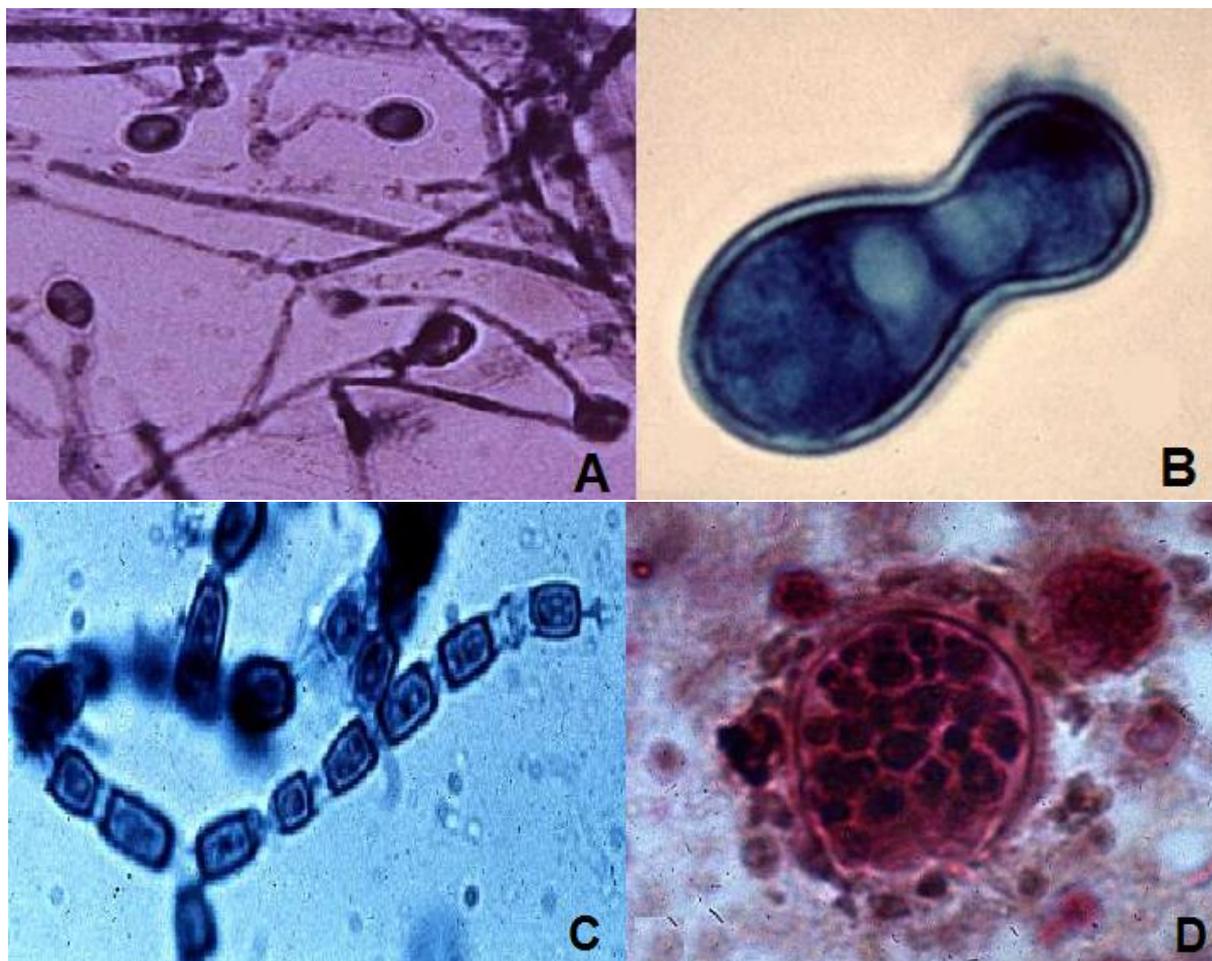


Fonte: VOLK, 2002.

Legenda: *Paracoccidioides brasiliensis*: A- Forma filamentosa, à temperatura ambiente de 25°C, evidenciando hifas septadas, hialinas, clamidoconídios e conídios de formas ovais, elevadas e infectantes. B- Células leveduriformes á 37°C, com múltiplos brotamentos, em forma de “roda de leme” ou “orelhas de Mickey Mouse”. *Histoplasma capsulatum*: C- Forma filamentosa, com presença de macroconídios tuberculados (artroconídios), com projeções tipo dedo e microconídios delgados infectantes. D- Células leveduriformes á 37°C, pequenas, arredondadas, com um ou dois brotos.

No solo, mediante temperatura de 22°C á 25°C, os fungos termalmente dimórficos crescem como micélios que produzem conídios (esporos) contagiosos. Com a manipulação do solo, ocorre a dispersão de aerossóis no ambiente, onde os conídios e os fragmentos de hifas são inalados, se instalando no pulmão do indivíduo. Este fragmento de hifa, no organismo do hospedeiro à 37°C transforma-se em levedura, podendo causar graves lesões pulmonares (GAUTHIER, 2015).

Figura 2 - Exemplos de dimorfismos. Características micromorfológicas das espécies *Blastomyces dermatitidis* e *Coccidioides immitis*.



Fonte: VOLK, 2002.

Legenda: *Blastomyces dermatitidis*: A- Amostra em lâmina, à temperatura ambiente de 25°C, evidenciando hifas ramificadas com microconídios esféricos ou ovoides em delicados conidióforos terminais ou laterais, como formas infectantes. B- Forma parasitária. Amostra a 37°C, com presença de grande levedura esférica, multinucleada com gemulação única de base estreita. *Coccidioides immitis*: C- Achado característico da fase saprófita a 25°C. Forma micelial, com presença arthroconídios infectantes, retangulares em “forma de barril” visualizados na cor azul devido ao corante lactofenol azul de algodão. D- Forma parasitária. Amostra a 37°C, com presença de esférulas contendo inúmeros endósporos.

Durante a transição morfológica ocorrem expressões de genes específicos para virulência e patogenicidade. Genes estágio-específicos são necessários para a expressão e manutenção da forma, bem como para a adaptação às novas condições ambientais. Por isso, a identificação de genes diferencialmente expressos em fungos é de fundamental importância para uma melhor compreensão dos mecanismos moleculares envolvidos no dimorfismo. As mudanças ambientais, principalmente a temperatura, resultam em mudanças de morfologia do fungo, como de filamentosso encontrado no solo para leveduriforme nos tecidos (SANTOS et al., 2012).

As espécies patogênicas *P. brasiliensis*, *H. capsulatum*, *C. immitis* e *B. dermatitidis*, pertencentes à família Ascomycota, são capazes de se converterem da forma filamentosa para a leveduriforme nos pulmões de humanos ou de outros hospedeiros mamíferos. Essa fase de transição caracteriza uma importância biológica para a virulência dos mesmos. O morfotipo das células fúngicas encontradas no ambiente diferem do morfotipo das células leveduriformes não somente no perfil ou aspecto celular, mas também na composição da parede celular, na presença de moléculas antigênicas e principalmente na expressão de fatores de virulência. Além disso, as células se adaptam a mudanças da temperatura ocorrendo múltiplas mudanças na composição lipídica da membrana plasmática no qual ocorre o remodelamento e reorganização da membrana. Portanto, o dimorfismo é considerado um mecanismo de defesa importante para a adaptação de fungos perante as condições adversas do hospedeiro humano, à invasão de tecidos e ao estabelecimento da doença (SANTOS et al., 2012).

4.1.2 Outros fatores de virulência

Os fungos produzem vários fatores que regulam de forma potente da resposta inflamatória do hospedeiro. Além de mascarar ou desordenar os sistemas de detecção e reconhecimento pelas células, os fungos podem evitar a inflamação e evadir do sistema imune do hospedeiro por meio da produção de diferentes fatores de virulência. A parede celular dos fungos é uma estrutura dinâmica que muda continuamente ao longo do seu ciclo celular durante a transição morfológica. Na maioria dos fungos patogênicos, o nível de α -1,3- glucana possui relação direta com a virulência do fungo (SANTOS et al., 2012). De forma geral, a quantidade de β -1,3- glucanas é maior em hifas que em leveduras. Isso é importante para evitar seu reconhecimento pelo receptor de dectina-1 (principal receptor de reconhecimento de glucanas) presente na superfície dos macrófagos e células dendríticas. Também é responsável pelo recrutamento de leucócitos e pela regulação de mediadores inflamatórios tais como os leucotrienos e citocinas proinflamatórias como TNF- α (RIBEIRO, 2012). Leveduras por sua vez apresentam elevada quantidade de α -1,3- glucanas, que estão associadas à virulência de *Pb*, *Hc*, *Ci* e *Bd*. Outros compostos de parede celular, tais como, moléculas de adesão e enzimas como lipases, proteinases, fosfolipases e lacases são considerados importantes para a

colonização e invasão de fungos em tecidos animais e humanos, e já foram observados em fungos dimórficos (BAGAGLI et al.; 2008).

O galactomanano situado na parte externa da parede celular é o principal polissacarídeo antigênico desses fungos (RIBEIRO, 2012).

A capacidade que estes fungos possuem de infectar e colonizar muitos tecidos sugere que eles usam uma variedade de moléculas de superfície para adesão (MARCOS et al., 2012). Tais moléculas de adesão quando expressas na superfície da célula fúngica, promovem a interação entre o fungo e as células do sistema imune do hospedeiro. Desta forma, permite que o patógeno escape da ação das células do sistema imune inato, facilitando o crescimento e multiplicação das leveduras no organismo (RIBEIRO, 2012).

Além disso, a melanina também é um componente presente na superfície celular destes fungos, capaz de camuflar componentes presentes na superfície, como a quitina e o β -1,3-glucana, inibindo o reconhecimento do fungo pelos macrófagos. Outra característica importante da melanina é o fato funcionar como um sistema antioxidante, protegendo a célula fúngica da ação de metabólitos produzidos pelos macrófagos, como o óxido nítrico (NO) (BAGAGLI et al.; 2008).

Além de proteger contra terapias antimicrobianas, esse pigmento também interfere na ação de drogas antifúngicas, diminuindo a sensibilidade dos fungos à anfotericina B e à caspofungina (RIBEIRO, 2012).

4.1.3 A resposta imune do hospedeiro frente a infecção fúngica

A resposta imune desenvolvida pelo hospedeiro durante uma infecção fúngica tem o papel de eliminar o fungo, limitando os danos colaterais para tecidos e restaurando a homeostase. Além disso, as interações entre fungos e o sistema imune do hospedeiro podem determinar se um fungo é definido como um comensal ou como um agente patogênico (ROMANI, 2011).

Segundo Romani (2011), durante o processo de infecção, ao ativar continuamente os receptores de reconhecimento de padrões (PRR) o fungo acaba promovendo a ativação celular e concomitante liberação de diversos mediadores inflamatórios que contribuem para a sua eliminação.

Existem algumas observações clínicas que sugerem uma relação inversa entre IFN- γ e a produção de IL-10 em pacientes com infecções fúngicas. Níveis

elevados de IL-10, que afetam negativamente a produção de IFN- γ , são detectados nos casos graves de infecções por fungos e isso tem sido associado à maior susceptibilidade a essas infecções. A produção de IL-10 bem como o efeito potente na resolução da inflamação pode ocorrer em resposta a infecção. Isto quer dizer que, no caso de infecções fúngicas crônicas, a produção de IL-10 atua como uma resposta dirigida e eficaz no hospedeiro mantendo a inflamação sob controle (ROMANI, 2011).

Vários mecanismos da imunidade inata, como ativação de fatores envolvidos com o sistema do complemento e atividade microbicida das células *natural killer* (NK) e de células fagocíticas, constituem funções importantes no combate a fungos patogênicos (FORTES *et al.*, 2011).

Após inalação e chegada dos propágulos fúngicos ao pulmão, as células pulmonares, principalmente macrófagos, são ativados desencadeando um processo inflamatório envolvendo a produção de citocinas pró-inflamatórias e quimiocinas. Este processo é caracterizado pela expressão de moléculas de adesão no hospedeiro e posteriormente pelo recrutamento de neutrófilos e macrófagos para o local da infecção. Em modelos *in vivo*, após a interação dos propágulos fúngicos com neutrófilos e macrófagos, estas células fagocíticas se tornam ativadas e expressam diferentes mediadores inflamatórios, tais como óxido nítrico, lisozimas e espécies reativas de oxigênio, como ânion superóxido e peróxido de hidrogênio, que podem exercer um efeito fungicida sobre os fungos. No entanto, se o fungo é capaz de superar esses mecanismos, torna-se inevitável a disseminação para outros órgãos e sistemas (GONZALEZ; HERNANDEZ, 2015).

Além de receptores específicos que reconhecem componentes da parede celular dos fungos, como resíduos de manose e glucanas. Cita-se ainda o receptor de dectina-1, localizada na superfície das células fagocíticas, que possui atividade fungicida, induzindo a produção de várias citocinas após sua ativação. O reconhecimento fúngico via dectina-1 pode induzir uma série de respostas celulares protetoras contra fungos e é responsável pela produção de metabólitos do oxigênio, como o peróxido de hidrogênio, durante a atividade de neutrófilos e macrófagos, entre outros (GONZALEZ; HERNANDEZ, 2015).

A infecção por fungos causadores de micoses sistêmicas, geralmente afeta primeiramente os pulmões, e no entanto, pode se apresentar autolimitada,

assintomática ou com algumas manifestações clínicas tais como febre cefaleia ou eritema (LACAZ et al., 2002).

Essas formas clínicas também podem variar, desde lesões cutâneas superficiais até quadros mais graves, como a disseminação da doença pelo organismo, que quando não diagnosticada e principalmente se não tratada adequadamente, pode resultar na morte do indivíduo (CAPONE et al., 2010).

4.1.4 Principais fármacos utilizados no tratamento de micoses sistêmicas

A disponibilidade de fármacos para o tratamento de infecções fúngicas sistêmicas é limitada. Nas últimas décadas, a anfotericina B e os azóis, representados principalmente por cetoconazol, fluconazol e itraconazol, têm sido usados como fármacos de primeira escolha na terapia das micoses sistêmicas. A anfotericina B tem como alvo principal a membrana celular dos fungos (FELIPPIN; SOUZA, 2006).

Segundo Filippin e Souza (2006), os polienos (representados pela anfotericina B e seus derivados) tem como mecanismo de ação a interação com o ergosterol, esteroide constituinte da membrana plasmática dos fungos, levando a formação de poros, resultando em um aumento na permeabilidade da célula fúngica, favorecendo o escape de íons, como o potássio e outros metabólitos dessa célula, causando sua morte. No entanto, as células do hospedeiro, como os eritrócitos, leucócitos, dentre outros polimorfonucleares sofrem também ação lítica deste antifúngico, devido sua alta afinidade pelo ergosterol, contribuindo para seus efeitos tóxicos deletérios ao hospedeiro. Essa ação lítica da anfotericina B sobre as células do sistema imune é pior em pacientes imunocomprometidos. A anfotericina B foi descoberta em 1953, produzida naturalmente pelo actinomiceto *Streptomyces nodosus*, que foi inicialmente isolado em meados de 1955. É considerada como antifúngico de escolha no tratamento da maioria das micoses sistêmicas. Mesmo sendo considerado altamente tóxico ao paciente, o seu uso garante grande efetividade no tratamento das infecções fúngicas, sendo muitas vezes associado com outros antifúngicos, como os azólicos, desde a década de 80 (FILIPPIN; SOUZA, 2006).

Atualmente novas formulações vem sendo testadas a fim amenizar sua nefrotoxicidade, pelo fato de seu uso terapêutico ser bastante agressivo devido a altas doses administradas. Tem sido testados a formação de complexos lipídicos, os

quais funcionam como carreadores da droga, diminuindo da sua toxicidade e aumentando sua eficácia terapêutica. Além disso, tenta-se ainda aprimorar os mecanismos farmacocinéticos dessas formulações para que sua distribuição seja adequada e atinja o órgão alvo desejado. Sobre o patógeno, a anfotericina B exerce atividade máxima em faixa de pH que varia entre 6,0 a 7,5, podendo conferir uma ação fungistática ou fungicida, que depende da concentração sérica e tecidual do antifúngico, além da suscetibilidade do fungo (FILIPPIN; SOUZA, 2006).

Já os azóis tem como mecanismo de ação a inibição da síntese do ergosterol, alterando, então, suas propriedades específicas além de sua formação, não sendo capaz de desempenhar funções básicas necessárias ao desenvolvimento do fungo (BERGOLD; GEORGIADIS, 2004).

Os azóis causam menos efeitos nocivos ao indivíduo que a anfotericina B, porém são menos potentes. Assim como a anfotericina B, podem ter ação fungistática ou fungicida. No entanto, já foram observados a seleção de algumas espécies de fungos resistentes a esse agente, devido seu uso indiscriminado, podendo apresentar também resistência cruzada com outras drogas (BERGOLD; GEORGIADIS, 2004).

4.2 Paracoccidioidomicose

A Paracoccidioidomicose (PCM), também conhecida como blastomicose sul-americana, é uma infecção sistêmica de caráter aguda ou crônica causada pelo fungo *Paracoccidioides brasiliensis*, primeiro fungo dimórfico a ser descoberto no Brasil. O primeiro caso foi descrito por Adolfo Lutz em 1908, após ter observado algumas lesões na boca de pacientes (SHIKANI-YASUDA et al., 2006).

Os fatores de risco para contrair esta infecção estão relacionados às profissões ou atividades relacionadas ao manejo do solo contaminado com o fungo, como por exemplo, atividades agrícolas, terraplanagem, preparo de solo, práticas de jardinagens, transporte de produtos vegetais, entre outros. Em todos os casos de ocorrência da PCM, observa-se que a grande maioria dos pacientes exerceu atividade agrícola nas duas primeiras décadas de vida, e que provavelmente nessa mesma época adquiriu a doença através da inalação de esporos, embora as manifestações clínicas tenham aparecido anos após exposição. A maioria destes pacientes, quando procuram os serviços de saúde, já deixaram as áreas endêmicas,

residindo em centros urbanos, trabalhando em locais não relacionados ao trato do solo, fato que dificulta a investigação epidemiológica (SHIKANI-YASUDA *et al.*, 2006).

Outro ponto importante é o fato de que os homens estão mais ligados profissionalmente à zona rural do que as mulheres, e fazem uso descontrolado de álcool e tabaco, que são fatores contribuintes para o surgimento desta micose (MEZZARI; FUENTEFRÍA, 2012).

No entanto, estudos apontam que a PCM possui maior prevalência em homens do que em mulheres, devido a produção de hormônios estrógenos, que estão inter-relacionados com a doença, pois estes hormônios promovem uma ação inibitória capaz de bloquear a transformação de micélio para à forma leveduriforme, uma vez que em sua parede celular há receptores para estrógeno. *In vitro* a transformação de micélio para levedura é totalmente inibida pelo estrógeno 17-beta-estradiol e por outro estrógeno não esteroide chamado de dietilestilbestrol, porém o mesmo não ocorre na presença de testosterona ou 17-alfa-estradiol. O mecanismo de ação de 17-beta-estradiol em *P. brasiliensis* ocorre via bloqueio da síntese de proteínas, responsável pela expressão de genes importantes para as transições morfológicas do fungo. Sendo assim, o hormônio estrógeno, por meio desse mecanismo, interfere diretamente no processo de patogenicidade do *P. brasiliensis*. A PCM é a única micose sistêmica com essa característica (MEZZARI; FUENTEFRÍA, 2012).

A PCM é uma doença fúngica endêmica nos países latino-americanos, e que apresenta uma maior prevalência na América do Sul. Esta micose possui grande impacto médico e social nas áreas de maior endemia, não só pelo grande número de casos, mas também devido a cronicidade da doença. O tratamento é prolongado e as sequelas que o indivíduo apresenta pode o incapacitar de trabalhar e de manter uma boa qualidade de vida. Dentre as diversas doenças granulomatosas crônicas no Brasil, é menos frequente do que a tuberculose, porém é mais comum que a histoplasmose. No entanto, a cobertura epidemiológica da doença é muitas vezes dificultada, devido à demora na detecção da infecção logo no princípio. Além da dificuldade de identificação do agente e principalmente devido à ausência de laboratórios nas áreas endêmicas com capacidade para diagnosticar a doença (MARTINEZ, 2015).

Os casos autóctones da PCM, ou seja, naturais da região, são limitadas ao continente americano, indo do México até a Argentina. Cerca de 80% dos casos registrados ocorreram no Brasil, e os demais ocorreram na Venezuela, Colômbia e Argentina. As áreas endêmicas existentes no Brasil vão desde a região Sudeste, envolvendo os estados de São Paulo, Rio de Janeiro, Minas Gerais, as regiões Centro-Oeste e Sul. Já foram relatados casos endêmicos ao longo da fronteira oriental da região amazônica, incluindo os estados do Pará, Maranhão e Tocantins. Além da região da Amazônia Ocidental e o estado de Rondônia, com casos registrados no início do século 21. A endemicidade da PCM é baixa em outras regiões do América do Sul, como no Uruguai, cuja situação epidemiológica ainda é desconhecida (MARTINEZ, 2015).

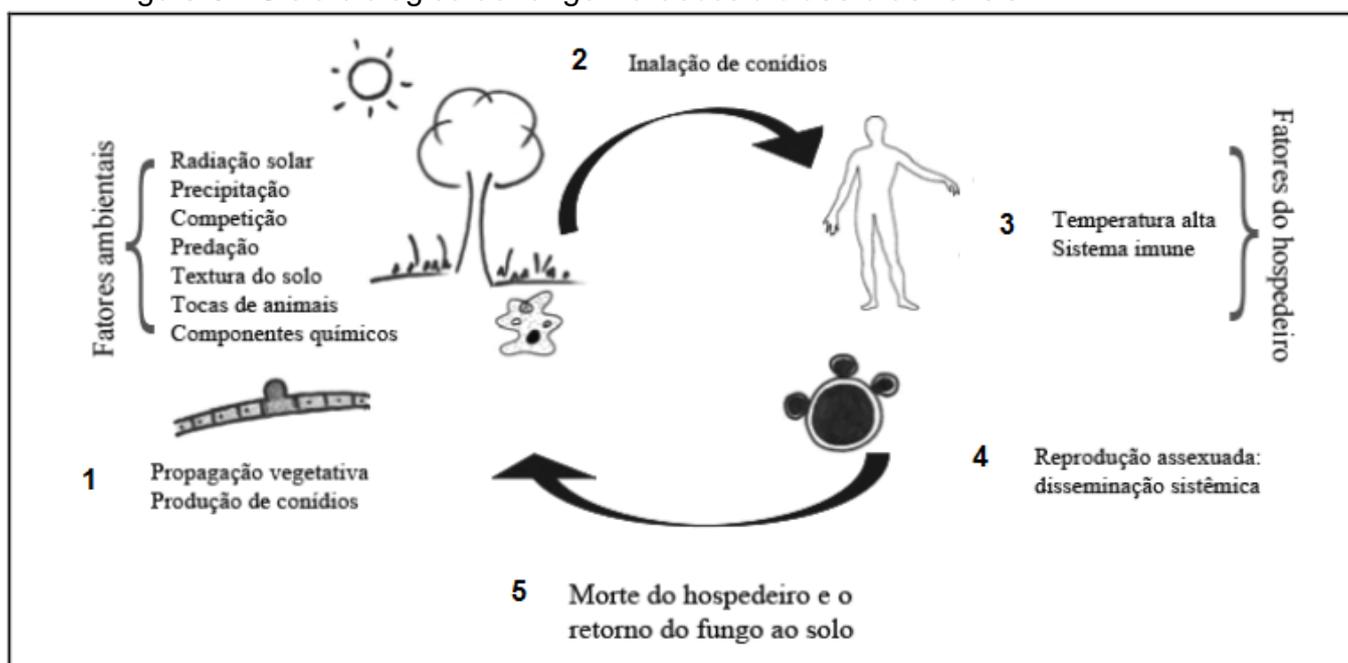
De acordo com Martinez (2015), algumas mudanças sociais e ambientais de certa forma influenciaram na epidemiologia desta micose. Cita-se por exemplo, na região sudeste do Brasil, o crescimento urbano e conseqüentemente o aumento populacional, as alterações nas práticas agrícolas, como por exemplo a mecanização da atividade agrícola, além da substituição de plantações de café por cana-de-açúcar. Já foram registrados e diagnosticados aproximadamente 60 casos de paracoccidiodomicose em países considerados não endêmicos, não pertencentes a América Latina. Na década de 80 estes casos foram observados nos Estados Unidos da América, Canadá, Espanha e outros países europeus, do Oriente Médio, Japão e África, sendo que em 2012 foram revistos alguns casos diagnosticados novamente na Espanha. Casos mais recentes da doença foram observados na Alemanha, Inglaterra, Espanha, França, Holanda e Japão, somando 60 casos. Em todos, os pacientes haviam relatado viagem (ou turística ou a trabalho) em um ou mais países da América do Sul, incluindo o Brasil, Venezuela, Bolívia, Equador, Argentina e Paraguai bem como regiões da América Central. Alguns deles já haviam deixado a área endêmica, onde já apresentavam manifestações clínicas da micose, porém a maioria deles apresentaram lesões cinco anos após o retorno ao país não endêmico.

A epidemiologia da PCM já foi traçada desde meados do século 20. No entanto, novos dados vêm mostrando que esta micose não é estável e pode sofrer várias alterações ao longo do tempo. Mais que o simples contato com a área rural ou floresta, o tipo de interação humana com o ambiente causa grande impacto nos casos de infecção por *Pb*. São exemplos, o desmatamento, prática extensiva e

contínua da agricultura e a migração humana para regiões quase inabitadas ou inexploradas, além do impacto ambiental provocada pelas grandes construções. Novas regiões endêmicas foram descobertas no Brasil desde a segunda metade do século 20, devido ao aumento na urbanização da população, muitas vezes em condições inadequadas, o que tem favorecido a ocorrência da doença nas periferias das cidades, principalmente da região sudeste. Na região do centro-oeste, a prevalência da forma aguda/subaguda da micose tende a ser reduzida (MARTINEZ, 2015).

A relação do fungo *Pb* com o meio ambiente ainda não está muito bem esclarecida, porém, sabe-se que o micélio é sua forma saprofítica na natureza, e que em condições favoráveis ocorre a produção de conídios, que permanecerão presentes no solo, água e plantas, em temperatura ambiente como formas infectantes. Desta forma, o hospedeiro se contamina através da inalação dos conídios (propágulos) e fragmentos micelianos, que irão alcançar os bronquíolos terminais e alvéolos pulmonares, onde o fungo assumirá a forma leveduriforme, causando a infecção, que posteriormente dependerá da resposta imune do hospedeiro para determinar a disseminação ou não desta infecção para os demais órgãos por via hematogênica ou linfática (FIG.3) (RESTREPO; CANO; GONZALEZ, 2015).

Figura 3 - Ciclo biológico do fungo *Paracoccidioides brasiliensis*.



Fonte: VAZ, 2014.

Legenda: 1- *Pb* em sua forma saprofítica, constante liberação de conídios infectantes no ambiente. 2- O indivíduo em contato com o fungo inala os conídios através trato respiratório. 3- O fungo sofre transição da forma filamentosa para leveduriforme no tecido pulmonar, onde essas leveduras sofreram a ação do sistema imune, afim de conter a infecção. 4- Falha do sistema imune, a infecção segue seu curso e se dissemina para outros órgãos. 5- Morte do hospedeiro e o fungo retorna ao ambiente.

Os conídios são inalados e durante este processo os propágulos passam pelo nariz, laringe, faringe, traqueia, alcançando os pulmões e interagindo com o epitélio dessas estruturas. No entanto, a interação dos conídios de *Pb* com células que formam parte do trato respiratório superior não tem sido descrita a fundo (RESTREPO; CANO; GONZALEZ, 2015).

Depois, o fungo sofre transição da forma filamentosa para levedura sendo esta última forma a responsável pelos sinais e sintomas da doença (MEZZARI; FUENTEFRÍA, 2012).

No tecido pulmonar, essa levedura apresenta uma parede espessa com múltiplos brotos (LEVINSON, 2014).

O *P. brasiliensis* é conhecido apenas em sua forma assexuada ou imperfeita. A observação do modo de reprodução deste se torna mais prática quando parte das estruturas do fungo estão fixadas em lâmina e coradas com azul-algodão, por exemplo, onde é possível visualizar a formação de cromídios (grânulos de cromatina) no citoplasma. Esses cromídios podem atravessar pequenas fendas ou furos existentes na parede celular, arrastando parte da massa citoplasmática para uma membrana envolvente. De modo a originar blastoconídios que estão ligados à célula-mãe, podendo ser observado o aspecto de “roda de leme”. Porém, mesmo com múltiplas esporulações externas em sua vida parasitária, não há formação de esporos verdadeiros no interior do citoplasma, se sim “falsos esporos” (LACAZ *et al.*, 2002).

O *P. brasiliensis* é desprovido de sistemas de mobilidade e foi capaz de desenvolver evolutivamente características antigênicas que permitem sua adesão e interação com os tecidos do hospedeiro, impedindo que o sistema imune seja efetivo e o destrua, garantindo assim sua sobrevivência. Os mecanismos imunopatológicos, ou seja, mecanismos que descrevem as reações imunes associadas às doenças, pelos quais ocorre a persistência da infecção latente, a invasão sistêmica e disseminação do fungo pelo organismo não são completamente esclarecidos,

apesar de já existirem inúmeras pesquisas relacionadas à fisiopatologia da doença e a biologia deste fungo (FORTES et al., 2011).

A capacidade de *Pb* causar uma micose sistêmica, com uma variedade de manifestações clínicas englobando desde formas localizadas a disseminada, que pode progredir para a morte do paciente se não corretamente tratada, depende do delicado balanço entre a virulência do fungo, a sua capacidade de colonizar e invadir os tecidos, além da resposta imune do hospedeiro. De fato, o *Pb* possui mecanismos que lhe permitem aderir, invadir, e ir além das barreiras impostas pelos tecidos do hospedeiro (MARCOS et al., 2012).

Investigações *in vivo* e *in vitro* têm sido realizadas a fim de identificar e compreender os mecanismos de patogenicidade do fungo *Pb*. Experimentos *in vivo*, demonstram que os conídios de *Pb* ao alcançarem os pulmões interagem com as proteínas da matriz extracelular, células epiteliais, macrófagos alveolares e células dendríticas pulmonares utilizando adesinas específicas de sua espécie (GONZALEZ; HERNANDEZ, 2015).

Várias proteínas de adesão produzidas por *Pb* foram descritas. Já foi demonstrado que a glicoproteína de 43-kDa (Gp43-kDa), que é um importante antígeno imunogênico, é capaz de se ligar especificamente a laminina, uma glicoproteína fundamental para a formação da matriz extracelular do hospedeiro. Gp43-kDa é um antígeno imunodominante, considerada um fator de virulência, uma vez que, possui efeitos proteolíticos no colágeno, elastina e caseína, além de possuir importante papel na aderência do fungo a célula do hospedeiro, sendo portanto considerado um marcador antigênico de superfície. *Pb* também apresenta outras duas proteínas em sua superfície celular, de 32 e 19 kDa que interagem com várias proteínas da ECM além da laminina, tais como, fibronectina (proteína presente na ECM) e fibrinogênio (glicoproteína plasmática que age no final da cascata de coagulação sanguínea). A malato sintase existente na superfície da parede celular de *Pb*, entres outras proteínas como a triose-fosfato isomerase, gliceraldeído-3-fosfato e a enolase estão inteiramente associadas à ligação do fungo à ECM, contribuindo também para a sua adesão aos tecidos do hospedeiro e para a disseminação do fungo (MARCOS et al., 2012).

4.2.1 A resposta imune do indivíduo acometido por PCM

Durante o processo de infecção, ocorre a interação inicial das células fagocíticas com *Pb*. Este fato tem sido descrito como sendo, em parte, mediada por vários receptores, como receptor do complemento-3 (CR3), que tem função protéica de adesão celular necessária para a quimiotaxia e fagocitose, receptores do tipo Toll 2 e 4, que estão presentes nos macrófagos, células dendríticas, neutrófilos e leucócitos polimorfonucleares (PMN), sendo esses responsáveis pelo reconhecimento dos padrões moleculares associados aos patógenos (PAMPs), induzindo a ativação da resposta imune e contribuindo para a eliminação do fungo (GONZALEZ; HERNANDEZ, 2015).

Além disso, em pacientes com PCM ocorre ativação policlonal de linfócitos B (aumento na quantidade de linfócitos devido a um processo infeccioso), resultando na produção de anticorpos específicos, principalmente IgA, IgG e IgE, para combater o fungo. Em pacientes com PCM na forma grave foi observado um aumento considerável na produção de citocinas envolvidas com a resposta do tipo T auxiliar 2 (Th2), como IL-10, com potente atividade anti-inflamatória, IL-4, que induz a proliferação e diferenciação de células B, e IL-5, envolvida na ativação e diferenciação dos eosinófilos. Enquanto que os níveis das citocinas envolvidas na resposta do tipo T auxiliar 1 (Th1), como IFN- γ e IL-2, estão diminuídos. Ainda, os linfócitos T citotóxicos (T CD8+) estão envolvidos no controle da carga fúngica, enquanto que os linfócitos T CD4+ estão envolvidas na resposta de hipersensibilidade do tipo tardia com a produção de anticorpos protetores específicos (GONZALEZ; HERNANDEZ, 2015).

Granulomas podem ser formados afim de conter a replicação e disseminação do *Pb*. Este granuloma é formado por células epitelióides e células gigantes multinucleadas, que são identificadas na forma crônica da doença. Já na forma aguda, estes granulomas podem evoluir, causando destruição tecidual e fibrose (ALMEIDA, 2008).

A PCM não é uma doença que acomete somente indivíduos imunossuprimidos. Entretanto, existem registros de casos desta micose, associados à infecção pelo HIV, neoplasias e, em alguns casos raros, a transplantes de órgãos (SHIKANI-YASUDA et al., 2006).

4.2.2 Manifestações clínicas

Após a infecção, o fungo *Pb* pode ser destruído no tecido pulmonar, devido a ação de células imunes residentes ou pode evadir desse sistema e se multiplicar. A PCM é categorizada classicamente em forma aguda ou subaguda e crônica. As manifestações clínicas irão depender da virulência da cepa infectante de *P. brasiliensis*, do grau de infecção, do tipo de resposta imunológica desencadeada no indivíduo e dos tecidos infectados, além de características intrínsecas do hospedeiro (FORTES et al., 2011).

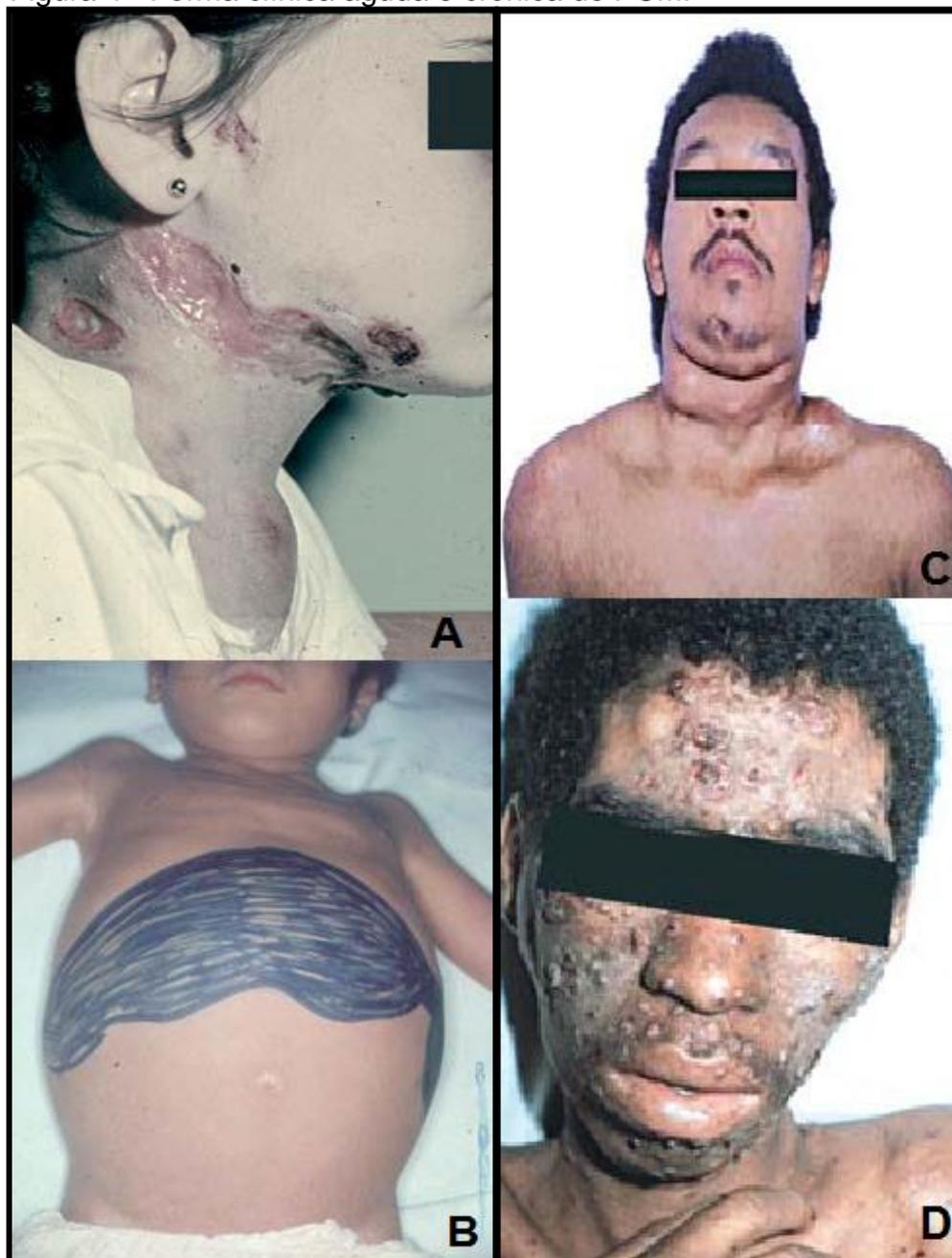
Quando não diagnosticada e tratada devidamente, a doença pode avançar na forma disseminada, tornando-se grave e letal, envolvendo de maneira rápida e progressiva os pulmões, tegumento, baço, fígado, linfonodos, entre outros (SHIKANI-YASUDA et al., 2006).

No adulto, a infecção pode ser assintomática, onde em alguns casos pode ser contida pelo sistema imune do hospedeiro, ou apresentar forma clínica predominantemente crônica, podendo ser leve, moderada ou grave. Mas quando acomete crianças ou adolescentes pode apresentar forma aguda ou subaguda, moderada ou grave (SHIKANI-YASUDA et al., 2006).

Segundo Fortes et al. (2011), a forma aguda ou subaguda ou “tipo juvenil”, acomete mais comumente crianças, adolescentes ou jovens com idade inferior a 30 anos de ambos os sexos. Geralmente se desenvolve a partir de uma lesão primária pulmonar não detectada, com progressão rápida, culminando numa disseminação linfática e hematogênica para órgãos do sistema monocítico-fagocitário, levando a um comprometimento importante da condição clínica do paciente. Com isso, há um aumento da produção de anticorpos específicos, além de uma diminuição grave da resposta imune celular. Os índices de mortalidade associados à PCM estão principalmente associados a essa forma clínica. A PCM juvenil podem ainda ser dividida em dois subtipos: subtipo grave e moderado. No subtipo grave, caracterizado por uma história curta, ocorre instalação e progressão rápidas, comprometendo de forma importante o estado físico do indivíduo. Pode acometer além do tecido pulmonar, os nódulos linfáticos, fígado, baço e medula óssea. O subtipo moderado é caracterizado por instalação e progressão lentas. Ocorrendo uma intensa alteração do estado geral do indivíduo, comprometendo apenas um sistema ou uma cadeia linfática (LACAZ, 2002).

A forma crônica, também denominada “do adulto”, é a mais observada na clínica. Esta forma se desenvolve a partir do complexo primário pulmonar ou da reativação de foco pulmonar em fase latente ou metastático. Na maioria dos casos tem início nos pulmões progredindo lentamente. É mais observada em adultos do sexo masculino com mais de 30 anos de idade. O indivíduo apresenta quadro clínico de duração prolongada, acima de seis meses de história clínica na maioria dos casos, havendo um comprometimento pulmonar e tegumentar, de forma cutânea e/ou mucosa (FIG.4). As lesões podem permanecer localizadas, do tipo clínico unifocal, que pode se manifestar por sinais e sintomas referidos a um único órgão, podendo ser os pulmões, as supra-renais, pele ou o sistema nervoso. Pode ser observada também depressão da imunidade celular e presença moderada de anticorpos, com possibilidade de disseminação para vários órgãos e sistemas, sendo esse o tipo multifocal, onde o indivíduo manifesta sintomas referidos em mais de um órgão, como os pulmões, pele, mucosas e pulmões, ou supra-renais e pulmões, apresentando alterações na resposta imune celular e humoral, com variáveis níveis de gravidade (FORTES et al., 2011).

Figura 4 - Forma clínica aguda e crônica de PCM.



Fonte: SHIKANAI-YASUDA *et al.*, 2006.

Legenda: A- Criança do sexo feminino, portadora de PCM forma aguda, apresentando importante acometimento linfático com abscessos. B- Criança apresentando comprometimento do abdômen, por ascite e hepatoesplenomegalia. C- Homem portador de PCM fase crônica, apresentando massas ganglionares em região supraclavicular, cervical e submandibular. D- Lesões pápulo-nodulares e ulceradas, resultantes de disseminação hematogênica na PCM do tipo crônica.

As formas residuais ou sequelas apresentadas pelo indivíduo se manifestam através de sintomas e sinais que estão relacionados com cicatrizes de lesões ativas progressivas, como o enfisema pulmonar, estenose da laringe ou da traqueia (FIG. 5) (LACAZ, 2002).

Figura 5 - Sequelas cicatriciais causadas por PCM.



Fonte: SHIKANI-YASUDA *et al.*, 2006.

Legenda: A- Sequela em face, boca e mucosa oral, decorrentes de tratamento de PCM.

B- Homem traqueostomizado, devido ao acometimento dos pulmões.

C- Radiografia dos pulmões evidenciando fibrose pulmonar.

Esta micose tem morbidade e mortalidade com taxas comparáveis aos de outras infecções parasitárias endêmicas crônicas e é considerada uma doença profissional. E devido a sequelas apresentadas pelos indivíduos acometidos, seu impacto médico-social pode se estender por anos após o tratamento com antifúngico (MARTINEZ, 2015).

4.2.3 Diagnósticos clínicos e laboratoriais da PCM

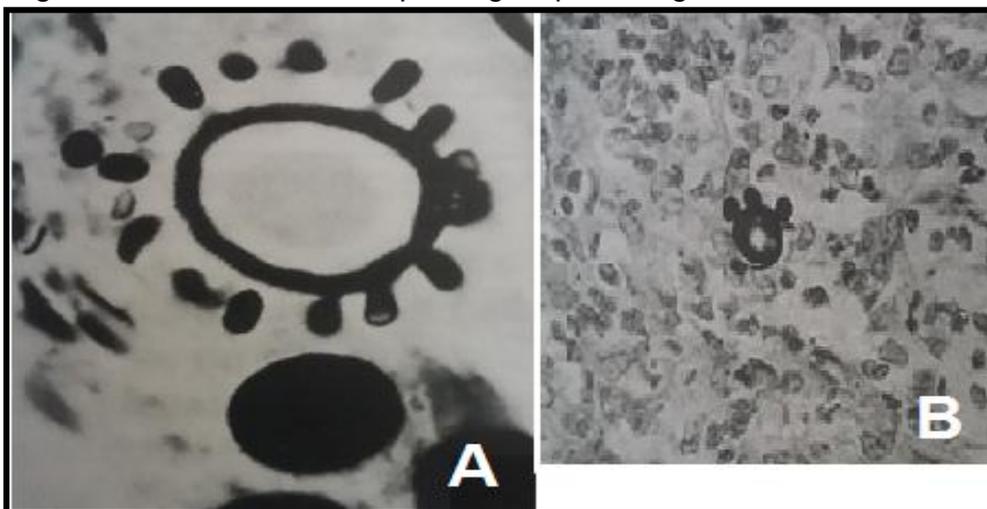
Pelo fato da paracoccidiodomicose ser uma infecção sistêmica, qualquer órgão e tecido pode ser acometido. O profissional de saúde, durante a análise do paciente, deve observar com atenção todos os sinais clínicos e o estado geral do mesmo, tendo a experiência e conhecimento para presumir quais órgãos e sistemas que são mais frequentemente acometidos de acordo com as formas de apresentação da doença: PCM aguda/subaguda e PCM crônica. Conforme rotina habitual de atendimento médico, os pacientes devem ser submetidos a exame físico geral detalhado, que inclui avaliação de peso e altura, para permitir a caracterização do estado nutricional, além de uma revisão do histórico do paciente, importante para determinar como o indivíduo contraiu a infecção (SHIKANI-YASUDA *et al.*, 2006).

Os métodos utilizados para identificação e diagnóstico de paracoccidiodomicose são caracterizados por exame direto, cultura, além de métodos imunológicos (MEZZARI; FUENTEFRÍA, 2012).

O padrão ouro para o diagnóstico de PCM é a detecção de elementos fúngicos sugestivos de *Pb* em exame a fresco de escarro ou outros espécimes clínicos como raspado de lesão, pús, secreções, exudatos, aspirado de linfonodos e/ou fragmentos de biópsia de órgãos supostamente acometidos (FIG. 6) (SHIKANI-YASUDA *et al.*, 2006).

Em exames a fresco, acrescenta-se uma gota de hidróxido de potássio (KOH) 10-40% sob a amostra em lâmina e lamínula, onde são visualizadas leveduras de forma arredondada, hialinas, com parede espessa com gemulação lateral múltipla de base fina, de tamanho menor que a célula-mãe. Já na cultura em ágar Sabouraud dextrose ou ágar Sabouraud com Cloranfenicol e Cicloheximida, incubada em temperatura variando entre 25-30°C, por 21 dias, há o crescimento da forma filamentosa onde são identificadas características macroscópicas como colônias de superfície branco-amarelada e cotonosa, tipo pipoca estourada. Microscopicamente são identificadas hifas septadas com clamidoconídios e conídios. Porém em temperatura entre 35 e 37°C, em meio a caldo de infusão de cérebro-coração, *Brain Heart Infusion* (BHI), há o crescimento de colônias leveduriformes de cor creme com aspecto enrugado ou cerebriforme. Nesta mesma temperatura são observadas as formas leveduriformes com múltiplos brotamentos laterais, demonstrando a forma de “roda de leme”, característica deste fungo (FIG.7). É extremamente importante a verificação da transição morfológica para um diagnóstico preciso (MEZZARI; FUENTEFRÍA, 2012). Em cortes de tecido de biópsia, o *P. brasiliensis* pode ser identificado usando método de coloração como Gomori, Gridley, entre outros (MINAMI, 2003).

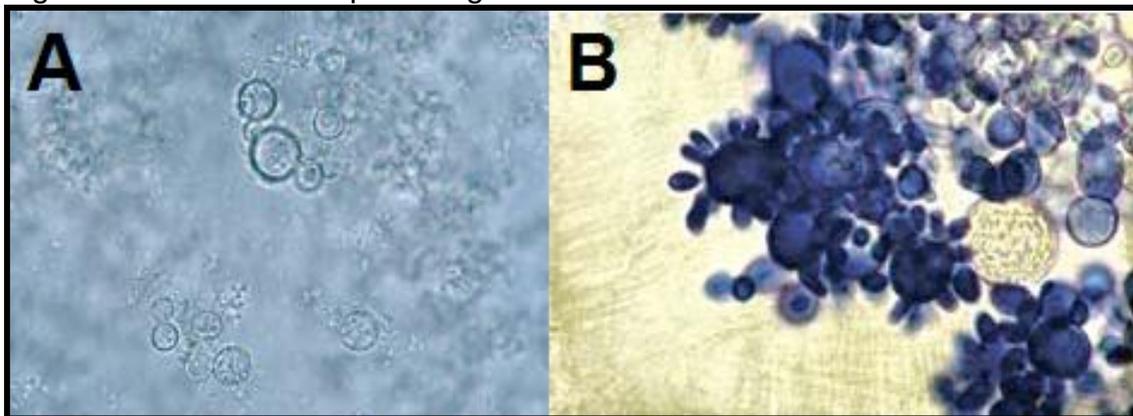
Figura 6 - Exame anatomo-patológico para diagnóstico de PCM.



Fonte: LACAZ, 2002.

Legenda: A- Corte histológico de biópsia corado pelo método de Gomori, onde é possível notar célula leveduriforme com multibrotamentos. B- Presença de célula leveduriforme com brotamentos em aspirado de linfonodo.

Figura 7 - Exame direto para diagnóstico de PCM.



Fonte: SHIKANI-YASUDA *et al.*, 2006.

Legenda: *P. brasiliensis*. A- Exame a fresco em lâmina com KOH 10%. B – Células leveduriformes com múltiplos brotamentos de cultura à 37°C, coradas pelo lactofenol.

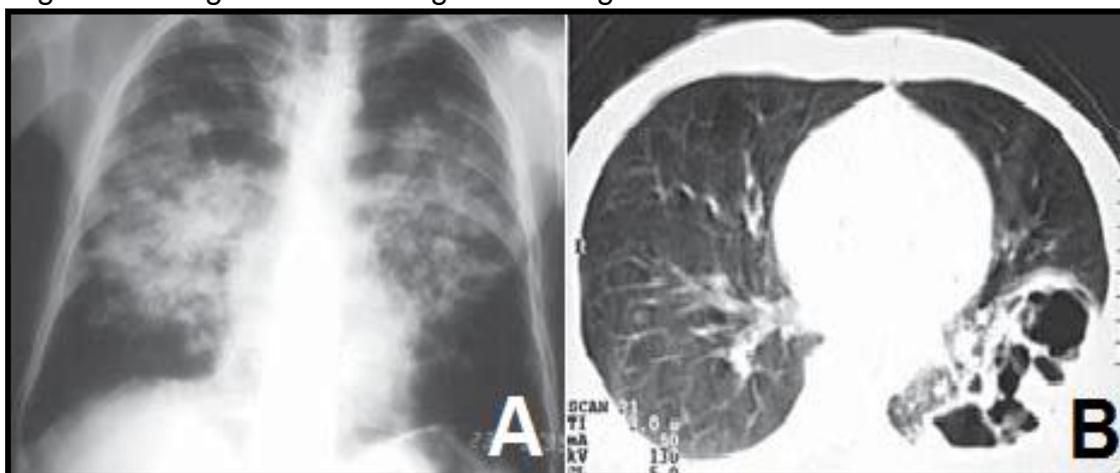
Os métodos imunológicos são realizados através da quantificação de anticorpos específicos produzidos pelo paciente infectado por *Pb*. Desta forma, este método se torna mais fácil, rápido e até mesmo mais sensível que o diagnóstico micológico. A glicoproteína Gp43 é um antígeno secretado pelo fungo durante seu crescimento. Ela é usada nos testes de intradermoreação, com a finalidade de levantar dados epidemiológicos relacionados à PCM, pelo fato de ser realizado principalmente em áreas endêmicas (MEZZARI; FUENTEFRIA, 2012).

Outro método que pode ser utilizado no diagnóstico de PCM são as provas sorológicas específicas. Essas possuem importância não apenas no auxílio do diagnóstico, mas também, na avaliação da resposta do hospedeiro, para um tratamento específico e adequado. Alguns métodos já são utilizados como referência nos serviços de saúde para pesquisa de antígenos e anticorpos específicos na PCM, como a imunodifusão dupla (ID), contraímuno eletroforese (CIE), imunofluorescência indireta (IFI), ensaio imunoenzimático (ELISA) e imunoBlot (IB). Uma vez padronizadas e com a utilização de antígenos apropriados, essas técnicas demonstram alto grau de sensibilidade que varia de 85 a 100%. A quantidade de anticorpos específicos anti-*P. brasiliensis* presentes nas titulações irá depender da gravidade das formas clínicas. Assim, são encontrados números elevados na forma

aguda/subaguda da doença. Resultados falso-negativos podem ocorrer, porém estão mais associados a lesões muito localizadas e a indivíduos imunocomprometidos. A especificidade dos testes sorológicos irá depender do tipo de técnica usada, apresentando valores de 85% ou próximos de 100%. De modo que é necessário em imunodifusão dupla ou em qualquer outro teste para diagnóstico de PCM, a utilização de soros titulados, para melhor interpretação dos resultados, mediante resposta terapêutica, pois a quantidade de anticorpos presentes nas titulações diminui bruscamente com o controle clínico da doença. Sendo assim, é esperado que haja negativação ou estabilização em diluição de 1:2 para que possa ser elaborado um método terapêutico adequado e eficaz para o paciente (SHIKANAI-YASUDA *et al.*, 2006).

Segundo Shikanai-Yasuda *et al.* (2006), o método de ensaio imunoenzimático ligado a enzimas, ou *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (ELISA), é considerado alternativo para o diagnóstico da PCM, pois é mais rápido e mais adequado para análise de grande quantidade de soros. Além disso, é mais sensível. No entanto, seu grau de especificidade é menor, em comparação com a imunodifusão dupla, e exige uma padronização e interpretação dos resultados positivos mais rigorosos e cuidadosos. Já o imunoblot permite especificar os tipos de anticorpos séricos contra os diversos marcadores antigênicos do fungo. Há também exames auxiliares, como radiografia (tórax PA e Perfil) e tomografia computadorizada, que podem contribuir para o diagnóstico da PCM (FIG. 8) (SHIKANI-YASUDA *et al.*, 2006).

Figura 8 - Diagnóstico radiológico e tomográfico da PCM.



Fonte: SHIKANAI-YASUDA *et al.*, 2006.

Legenda: A- Radiografia de tórax mostrando acometimento pulmonar por PCM, apresentado uma imagem em forma de “asa de borboleta”. B - Tomografia de pulmão de um paciente com PCM, onde há presença de múltiplas cavitações.

4.2.4 Tratamento da PCM

O tratamento da paracoccidiodomicose pode ser realizado com a utilização de derivados sulfamídicos ou sulfas, anfotericina B ou derivados azólicos. O uso de sulfas é uma excelente opção terapêutica devida sua comprovada eficácia, boa tolerância do indivíduo e baixo custo. Porém, há um ponto negativo, seu longo tempo de uso, que dura aproximadamente 24 meses. Um fato que compromete a continuidade do tratamento, pois muitas vezes os pacientes desistem de seguir com a terapia devido ao prolongado tempo. A administração de 2 comprimidos via oral de 12/12h de sulfametoxazol associado à trimetopima na dose de 400 e 80 mg/dia respectivamente, é indicado no começo do tratamento como dose de manutenção, no entanto, pode ser reduzida pela metade após 3 a 4 semanas do início do tratamento. Uma alternativa para substituir o uso de sulfa é a administração de derivados imidazólicos. Dentre eles, o itraconazol, que é o mais utilizado até hoje, sendo recomendado a dose de 200 mg/dia por um período mínimo de 9 meses, demonstrando excelente resposta terapêutica (CAPONE *et al.*, 2010).

4.3 Histoplasmose

A Histoplasmose é uma micose sistêmica causada pelo fungo dimórfico *Histoplasma capsulatum*. A doença foi pela primeira vez descrita por Samuel Taylor Darling, no Panamá, a partir de necropsias realizadas em três casos disseminados da doença, nos anos de 1905 e 1906. Dois casos em especial eram provenientes da Ilha de Martinica, onde hoje esta micose é reconhecidamente endêmica. Este patologista erroneamente descreveu a histoplasmose como sendo uma doença causada por um protozoário encapsulado, por obter certa similaridade com a leishmaniose visceral. Porém, somente em 1934, este microrganismo foi corretamente identificado como um fungo com dimorfismo térmico (FERREIRA; BORGES, 2009).

A histoplasmose humana é uma doença cosmopolita, capaz de originar uma infecção micótica sistêmica que pode comprometer os pulmões, além do sistema mononuclear fagocitário (MEZZAR; FUENTEFRIA, 2012).

Segundo Ferreira e Borges (2009), o *H. capsulatum* habita solo rico em fezes de aves e morcegos, que servem como um excelente meio de crescimento para o microrganismo, podendo persistir no ambiente, após a contaminação, por longos períodos de tempo. As aves não são boas hospedeiras, no que diz respeito ao acondicionamento do fungo, devido à alta temperatura corporal que elas possuem, mas os morcegos podem ser portadores crônicos, excretando formas viáveis em suas fezes contaminados com o fungo. Desta forma, cavernas onde habitam morcegos, galinheiros, telhados de casas abandonadas tornaram-se ótimos ambientes para o *H. capsulatum*. Assim, indivíduos que frequentam cavernas ou para lazer ou as utilizam como moradia, podem entrar em contato com o fungo, sendo na maioria das vezes portadores assintomáticos. Pois, já se sabe que menos de 1% dos indivíduos infectados manifestam sintomas evoluindo para um quadro patológico (ALMEIDA, 2008).

A histoplasmose é caracterizada como uma doença de incidência mundial, sendo que a área de maior prevalência é a região centro-oeste do território norte-americano, que corresponde especificamente à região dos vales dos grandes rios americanos, Ohio, Mississippi e Missouri (AIDÉ, 2009).

Em Países como o México, Honduras, Guatemala, Nicarágua, Panamá, além de várias ilhas do Caribe, como Jamaica, Porto Rico, Martinica e Cuba, já foram notificados vários casos de histoplasmose. Em diversos países sul-americanos também foram relatados casos da doença, principalmente na Venezuela, Colômbia, Peru, Brasil, Argentina e Uruguai (FERREIRA; BORGES, 2009).

Já no Brasil, a enfermidade é rara, se tratando de suas formas clássicas, porém frequentes quando são associadas à síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS) (MEZZARI; FUENTEFRIA, 2012). Segundo Aidé (2009), o estado do Rio de Janeiro, possui 18 microepidemias descritas, sendo responsável pelo maior número de casos.

Segundo Ferreira e Borges (2009), no Brasil, antes epidemia de AIDS, era raro o diagnóstico de histoplasmose. Porém, nas décadas de 80 a 90, centenas de casos desta micose, principalmente na sua forma disseminada, foram observados em portadores da síndrome. Desta forma, a histoplasmose passou a ser frequentemente vista em nosso meio. No entanto, tem ocorrido epidemias de histoplasmose aguda em áreas endêmicas e não endêmicas após a exposição a ambientes contaminados com o fungo. Estes surtos já foram relatados no Brasil, nos

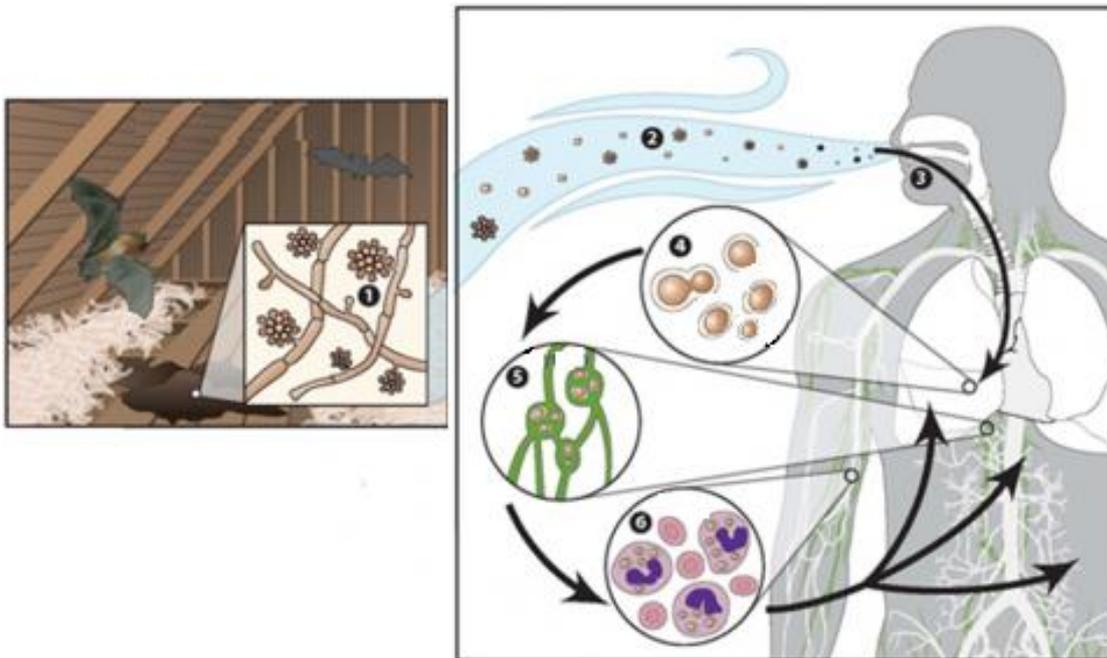
estados de São Paulo, Rio de Janeiro, Espírito Santo, Mato Grosso e Minas Gerais. Nessas áreas endêmicas de histoplasmose, mais de 80% da população, com idade superior a 20 anos, apresentaram reações cutâneas positivas ao teste de hipersensibilidade à histoplasmina. A prova cutânea é um método simples e eficaz no que diz respeito a detecção de infecções antigas, assintomáticas e subclínicas, favorecendo o reconhecimento da endemicidade desta micose em uma determinada região.

São dois os agentes etiológicos da histoplasmose, *H. capsulatum* e o *H. duboisii*, sendo esse último identificados e descritos na África, onde co-existem. Também foram encontrados no Sudeste Asiático, precisamente na Tailândia, Malásia, Indonésia, Índia e Vietnã. Raramente há casos diagnosticados na Europa, porém, o aparecimento de casos esporádicos de histoplasmose estão relacionados a imigrantes provenientes de áreas endêmicas da África. No entanto, já foram observados alguns casos na Itália sem ligação com imigrantes (FERREIRA; BORGES, 2009).

O *H. capsulatum* em sua forma filamentosa apresenta dois tipos de esporos assexuados, chamados de macroconídios tuberculados, que possui parede espessada e projeções semelhantes a dedos que são de grande importância para identificação laboratorial, e microconídios, que são esporos menores com parede fina e lisa (LEVINSON, 2014).

De acordo com Almeida (2008), a infecção se inicia geralmente através da inalação dos microconídios que estão dispersos na natureza, principalmente em solos com guano de morcegos, ricos em nitrogênio. Uma vez nos pulmões os macrófagos fagocitam esses esporos, que em algumas horas sofrerão transição a forma de leveduras. Estes macrófagos desempenham papel importante como células efetoras do hospedeiro, a fim de combater à histoplasmose (FIG. 9) (LEVINSON, 2014). Em parasitismo e em cultivos a 37°C, essas leveduras apresentam-se arredondadas com um ou dois brotos (AIDÉ, 2009).

Figura 9 - Ciclo biológico do fungo *Histoplasma capsulatum*.



Fonte: CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION, 2015a.

Legenda: 1- Presença da forma filamentosa, hifas com macroconídios tuberculados e microconídios infectantes em guano de morcegos. 2- Inalação de pequenos fragmentos fúngicos através do trato respiratório. 3- Entrada do fungo pelo trato respiratório até o tecido pulmonar. 4- Transição da forma filamentosa para leveduriforme, apresentando leveduras simples com um ou dois brotos. 5- Leveduras no interior dos alvéolos pulmonares. 6- Leveduras fagocitadas por macrófagos.

O sucesso deste fungo, uma vez no interior das células do hospedeiro, dependerá exclusivamente da sua conversão da fase filamentosa para a fase leveduriforme. Essa conversão é extremamente importante para a estrutura da parede celular, formação de moléculas antigênicas e a expressão de genes de virulência. Em resposta a altas condições de temperatura e outras situações adversas que o fungo encontra no hospedeiro, o *Hc* expressa vários genes específicos enquanto levedura, que facilitam sua sobrevivência. Alguns estudos têm demonstrado que a transição morfológica do fungo bem como a expressão de genes de virulência é controlada, por exemplo, por dois reguladores transcricionais: o gene histidina quinase DRK1, responsável por sinalizar o momento ideal para que o fungo sofra as mudança de forma e o gene *ryp1*, que exerce importante papel como regulador transcricional da conversão da fase filamentosa para leveduriforme. Esses genes estão relacionados ao controle da transição morfológica, expressão de genes de virulência e patogenicidade (RIBEIRO, 2012).

Desta forma o fungo é capaz de sobreviver no interior dos fagossomas presentes no citoplasma dos macrófagos. Além disso, essa sobrevivência se deve em parte por meio da produção de substâncias alcalinas, como o bicarbonato e

amônia, responsáveis pela elevação do pH, impedindo então que haja ativação de enzimas proteolíticas importantes para destruição do fungo. Desta forma estas leveduras impedem a sua eliminação pelos macrófagos, transformando essas células em carreadoras, disseminando-se para outros sítios anatômicos (LEVINSON, 2014).

4.3.1 A resposta imune do indivíduo acometido por histoplasmose

A maioria dos conídeos de *Hc* depois de inalados, chegam intactos aos alvéolos pulmonares, desencadeando uma resposta inflamatória no hospedeiro. Essa resposta é composta de linfócitos e macrófagos, porém não são totalmente capazes de destruir o microrganismo. O fungo se multiplica no interior de linfócitos e macrófagos e a partir dos pulmões ganham os linfonodos para-hilares (linfonodos encontrados no hilo pulmonar), e mediastinais, e posteriormente a circulação sistêmica, resultando no surgimento de focos inflamatórios em outros órgãos, como baço e medula óssea (FERREIRA; BORGES, 2009).

Após duas ou três semanas do início da infecção, uma resposta celular do tipo Th1 é desenvolvida, levando a produção de IFN- γ e outras citocinas, ativando-os e tornando-os capazes de lisar as leveduras intracelulares do *Hc*. Essa resposta irá promover a formação de granulomas epitelióides, com presença de células gigantes e necrose caseosa, que logo irá fibrosar e calcificar. Alguns anticorpos específicos também serão produzidos em resposta a infecção. Esse tipo de resposta imune muitas vezes leva à cura da infecção primária, o que torna o indivíduo resistente a reinfecções. Fungos viáveis podem ainda estar presentes nas áreas cicatrizadas por vários anos, predispondo a reativação da infecção em casos de imunodepressão (FERREIRA; BORGES, 2009).

4.3.2 Manifestações clínicas

A histoplasmose clássica pode se manifestar nas formas leves, graves e disseminadas e atinge desde crianças a jovens e adultos. Mas, a gravidade das manifestações clínicas depende da forma do contágio, ou seja, da quantidade do inóculo fúngico que foi assimilado pelo organismo, e principalmente pelas condições imunológicas do hospedeiro. Esta micose pode apresentar formas clínicas

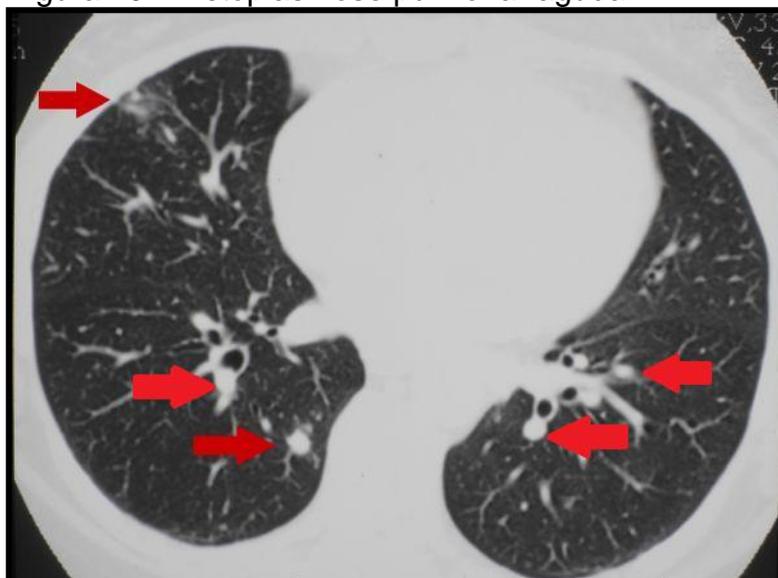
assintomáticas, que são muito comuns nesta infecção, além de formas agudas, pulmonar crônica e disseminada (MEZZARI; FUENTEFRIA, 2012).

Existem alguns casos em que a infecção permanece assintomática e os granulomas formados cicatrizam por calcificação (LEVINSON, 2014).

De acordo com Mezzari e Fuentefria (2012), as formas assintomática e aguda, podem acometer principalmente indivíduos saudáveis. São resultantes de uma infecção pulmonar primária, que geralmente regride espontaneamente. Ocorre devido à exposição a ambientes altamente infectantes. Suas manifestações clínicas podem se apresentar de forma simples, como uma gripe, até uma pneumonia grave, sendo necessário o uso de suporte ventilatório.

Os sintomas mais comuns associados à forma aguda são febre, calafrios, cefaléia, mialgias, perda do apetite, tosse, dispnéia e dor torácica, sendo que alguns pacientes desenvolvem artrite ou artralguas associadas a quadros de eritema nodoso. Em alguns casos excepcionais, os linfonodos acometidos podem aumentar de tamanho, colabando e comprimindo estruturas intratorácicas tais como traqueia, esôfago, brônquios e grandes vasos, como veia cava inferior. Quadro de pericardite com derrame pleural pode ocorrer na histoplasmose aguda, podendo evoluir-se cronicamente, sendo comparada com a infecção pericárdica ocasionada por tuberculose. A doença pode regredir em alguns casos, levando à formação de nódulos cálcicos disseminados em ambos os lóbulos pulmonares (FIG. 10). No caso de reinfecções, pode ocorrer o desenvolvimento de um novo quadro clínico, porém mais leve, e de curta duração (FERREIRA; BORGES, 2009).

Figura 10 - Histoplasmose pulmonar aguda.



Fonte: PNEUMOIMAGEM, 2012.

Legenda: As setas indicam presença de múltiplos nódulos pulmonares com distribuição difusa, evidenciando que este indivíduo inalou grande quantidade de propágulos infectantes.

As formas pulmonar crônica e disseminada acometem principalmente indivíduos imunocomprometidos, sendo eles portadores de AIDS, indivíduos com algum tipo de neoplasia, transplantados. Estes possuem quadro progressivo. Esta micose progride, havendo o surgimento de focos infecciosos extrapulmonares e extraganglionares, de caráter agudo ou crônico. Porém a forma crônica ocorre a partir de infecção exógena, no indivíduo com alguma alteração no parênquima pulmonar. O *Hc* permanece num estado latente nos pulmões e em outros órgãos, mas viável para se reativar em situações de desequilíbrio entre hospedeiro e patógeno (MEZZARI; FUENTEFRÍA, 2012).

Em indivíduos tabagistas, e com idade acima dos 50 anos ou portadores de doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC), a histoplasmose pulmonar crônica pode progredir lentamente gerando uma fibrose na cavidade do pulmão, de caráter crônico que pode acomete principalmente os lobos pulmonares superiores. Neste estado o indivíduo pode apresentar febre baixa no período da tarde, perda de peso, sudorese noturna, dor torácica e tosse com expectoração sanguinolenta. Essa forma clínica evolui para a insuficiência respiratória ou à caquexia, além disso, é fatal na maioria dos casos (FERREIRA; BORGES, 2009).

De acordo com Ferreira e Borges (2009), a infecção primária pelo *Hc*, pode evoluir para um quadro de disseminação para todo o organismo do hospedeiro, principalmente para órgãos ricos em macrófagos, tais como fígado, baço, linfonodos, medula óssea e glândulas adrenais. Pacientes com AIDS apresentam na maioria das vezes uma progressão rápida da doença com febre alta, anorexia intensa com perda de peso, mal-estar, inchaço generalizado dos nódulos linfáticos, hepatoesplenomegalia, além de lesões cutâneas e mucosas localizadas ou disseminadas (FIG. 11). As lesões mucosas ulceradas não são frequentes, porém lesões cutâneas são muito observadas nos casos de histoplasmose de origem Latina. Podem se apresentar sob a forma de pápulas, nódulos, ulcerações e lesões semelhantes a calos localizadas ou ulceradas.

Figura 11 - Histoplasmose disseminada.



Fonte: FERREIRA; BORGES, 2009.

Legenda: A- Paciente com AIDS, apresentando lesões cutâneas ulceradas. B- Forma cutânea disseminada em paciente com AIDS.

A histoplasmose cutânea manifesta-se inicialmente no indivíduo com o aparecimento de um "cancro", com linfangite (inflamação de um ou mais vasos linfáticos), posteriormente, o surgimento de lesões nodulares gomatosas, celulite, úlceras, paniculite (nódulos inflamatórios no tecido adiposo) ou lesões verrucosas. Essas lesões também são muito observadas em pacientes com AIDS. Em casos crônicos progressivos as lesões podem se estender para o nariz e cavidades nasais, mucosa oral, além da mucosa da laringe e da faringe, bem como os órgãos genitais com caráter ulcerativo eritematoso (FIG.12) (BONIFAZ; GONZÁLEZ & ORTIZ, 2011).

Figura 12 - Histoplasmose cutânea e oral.



Fonte: VIDAL, 2015.

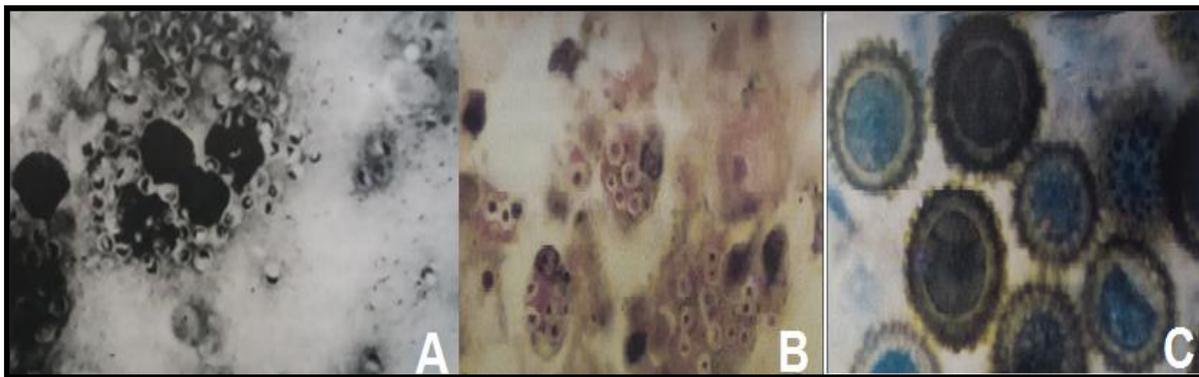
Legenda: A- Lesões cutâneas em forma de pápulas ulcerativas e eritematosas. B- Lesões no palato e mucosa oral.

4.3.3 Diagnósticos clínicos e laboratoriais da histoplasmose

Para o diagnóstico de histoplasmose, são utilizados métodos como, exame direto, cultura, exame anátomo-patológicos, métodos imunológicos e sorológicos (LACAZ *et al.*, 2002).

O exame direto é realizado utilizando esfregaço ou corte de tecido, que pode ser corado pela prata, Giemsa, hematoxilina-eosina ou PAS. Porém a visualização direta do fungo é dificultada pelo fato deste ter seu tamanho diminuído e por estar dentro de células fagocíticas próprias do sistema reticuloendotelial. A coloração pela prata permite identificar precisamente a presença do *Hc*, pois esta forma intracelular é muito confundida com *Leishmania* em corte histológico (FIG.13). Por esse motivo se faz necessário o isolamento do fungo em cultura para garantir que certamente se trata do fungo causador da histoplasmose. Deste modo a cultura é realizada utilizando meio ágar Sabouraud dextrose ou ágar Sabouraud com Cloranfenicol e Cicloheximida, que impedem o crescimento de bactérias e outros fungos contaminantes. Diferentes tipos de materiais clínicos podem ser utilizados, como biópsia, aspirado ou lavado brônquico, sangue, medula óssea entre outros. Em temperatura entre 25 e 30°C o crescimento é lento, que pode durar até quatro semanas. As colônias são filamentosas de cor branco-cotonosa e posteriormente adquirem a cor acastanhada com aspecto granuloso. Ao visualizar microscopicamente fragmentos do fungo, são identificados macroconídios com superfícies mamilonadas e com paredes lisas. Entre 35 e 37°C, em meio BHI, o *Hc* cresce em forma de leveduras, lisas de cor branco-amarelada. São visualizadas células leveduriformes, pequenas, ovoides com brotamento único e base estreita, caracterizando seus aspectos microscópicos (MEZZARI; FUENTEFRIA, 2012).

Figura 13 - Diagnóstico histológico de histoplasmose clássica.



Fonte: LACAZ *et al.*, 2002.

Legenda: A- Esfregaço de biópsia de medula óssea, corado pelo Giemsa, onde são observadas inúmeras células leveduriformes no interior de macrófagos, de formas ovoides e de parede fina. B e C- Cortes histológicos corados pela hematoxilina-eosina, evidenciando células leveduriformes esféricas intracelulares, e macroconídios tuberculados e esféricos (cultivo miceliano), respectivamente.

Testes sorológicos são muito utilizados no diagnóstico de histoplasmose, além de ser de grande importância nos estudos epidemiológicos. Dentre os métodos mais utilizados para detecção de anticorpos anti-*H. capsulatum*, se destacam a fixação de complemento e a imunodifusão dupla. Porém, estes, podem apresentar reações cruzadas com outras espécies de fungos patogênicos. Os testes com menores riscos de reações cruzadas são radioimunoensaio (RIA), ELISA, fixação do complemento (FC) e além de métodos moleculares como PCR e sondas genéticas. Através destes testes é possível detectar o antígeno circulante que se encontram presentes no soro dos pacientes no início da doença, e podem ser úteis no monitoramento dela durante o tratamento e nos casos de reativação (MEZZARI; FUENTEFRIA, 2012).

A dosagem de anticorpos em titulações realizadas com soro de pacientes na imunodifusão dupla pode representar uma boa escolha de diagnóstico em alguns casos de histoplasmose, principalmente pelo elevado grau de especificidade. Geralmente nesses testes são dosados anticorpos contra duas frações já conhecidas do fungo, o antígeno M e antígeno H. A fração M surge no início da infecção, onde anticorpos anti-M positivos e anti-H negativos são detectados, evidenciando uma infecção aguda. Posteriormente, surge a fração H, desta forma anticorpos anti-H e anti-M são observados, representando uma infecção crônica. Na fase aguda é necessário de 2 a 6 semanas para detecção de anticorpos no sangue do paciente. Já em pacientes imunodeprimidos, a resposta gera um número muito

pequeno de anticorpos, e nestes casos a dosagem de anticorpos em titulações se torna inviável para o diagnóstico de histoplasmose (ALMEIDA, 2008).

O método de fixação do complemento deve ser realizado para o diagnóstico de histoplasmose de forma benigna. Este método é capaz de detectar um percentual ligeiramente maior de anticorpos do que na imunodifusão dupla (LACAZ *et al.*, 2002).

Segundo Lacaz *et al.* (2002), a prova de histoplasmina é de grande interesse epidemiológico, pois o índice de positividade em determinada população serve para se conhecer a frequência em que a doença corre.

4.3.4 Tratamento da histoplasmose

O tratamento da histoplasmose é realizado dependendo do quadro clínico do paciente e principalmente das formas em que a doença se apresenta. Em alguns casos é indicado o tratamento com sulfametoxazol e trimetoprima na dose de 80-400 mg/dia, com duração de um a dois anos. Porém os derivados azólicos são uma segunda opção de escolha terapêutica. Dentre os demais antifúngicos utilizados, o itraconazol e fluconazol são frequentemente recomendados. Ambos são administrados em uma dose de 200-400 mg/dia, podendo ser reduzido gradativamente de acordo com a resposta do paciente. O fluconazol é indicado nos casos de comprometimento das meninges, pela sua capacidade de penetrar a barreira hematoencefálica, sendo administrado por via intravenosa em uma dose de 6 mg/kg/dia. Em casos graves e disseminados da doença, ou em pacientes com HIV/AIDS, é recomendado o desoxicolato de anfotericina B em doses entre 0,25 e 1 mg/kg/dia. Nos casos de pacientes assintomáticos com um teste de histoplasmina positivo e com achados radiológicos sugestivos de histoplasmose é indicada terapia preventiva com itraconazol na dose de 200 mg/dia por um período de dois a três meses, pois a imunossupressão em algum momento da vida deste indivíduo pode reativar a doença (BONIFAZ; GONZÁLEZ; ORTIZ, 2011).

Mezzari e Fuentefria (2012), afirmam que a histoplasmose pode atingir crianças, jovens e adultos e que quando não tratada adequadamente pode evoluir levando o indivíduo a óbito.

4.4 Coccidioidomicose

A coccidioidomicose é uma infecção sistêmica que acomete o homem e é causada pelo fungo dimórfico *Coccidioides immitis*, que habita preferencialmente solo. O primeiro caso da doença foi identificado em 1891, na Argentina, por Alejandro Posadas, estudante de medicina que detectou a infecção em um soldado oriundo do Chaco, pois o mesmo apresentava lesões cutâneas tumorais crônicas, que surgiam constantemente. Posadas e o patologista Robert Wernicke descreveram a doença como sendo causada por um parasita semelhante a protozoários coccídios, que até aquele momento era desconhecido. Já em 1894, Rixford registrou nos Estados Unidos dois primeiros casos, sendo eles em imigrantes recém-chegados à Califórnia. Estes imigrantes trabalhavam como agricultores no Vale do São Joaquim e, em 1896, Rixford e Gilchrist conseguiram identificar nas lesões um parasita similar ao de Posadas (DEUS FILHO, 2009).

Indivíduos que trabalham com o manejo do solo, tais como lavradores, militares, trabalhadores na construção de estradas e de transporte terrestre, arqueólogos, antropólogos, paleontólogos e zoologistas estão mais susceptíveis a contrair esta infecção, pois apresentam maior exposição ao *C. immitis*. Apesar do risco de exposição associado a ocupações intimamente relacionadas ao trato do solo, muitos casos são identificados em pessoas que não possuem esse tipo de ocupação, uma vez que, os arthroconídios se dispersam facilmente pelo ar. Porém, esta micose não é transmitida entre humanos, nem entre humanos e animais (BRASIL, 2011).

De acordo com Deus Filho (2009), a coccidioidomicose, também é conhecida por doença de Posadas-Wernicke, reumatismo do deserto, febre do Vale de São Joaquim ou granuloma coccidióidico.

A Coccidioidomicose, é endêmica em várias áreas das Américas, e restrita a regiões desertas ou semi-áridas. Possui maior prevalência no sudoeste dos Estados Unidos da América e Nordeste do México, porém já foram observados focos endêmicos na América Central e América do Sul. Pode afetar qualquer idade, raça ou gênero, sendo mais frequente em homens, e apresenta maior incidência no verão. É considerada uma doença de importante destaque entre arqueólogos, recrutas militares e trabalhadores que desempenham atividades em áreas endêmicas que promovam o contato com o fungo e seus propágulos. A definição da

área endêmica é baseada na observação e identificação de casos de coccidioomicose em humanos e animais, principalmente através da reação de hipersensibilidade em testes cutâneos com coccidioina. Animais domésticos e silvestres são muito suscetíveis, porém, o cão ainda é o melhor marcador epidemiológico desta micose, sendo que no Brasil, já foi diagnosticada a infecção por *C. immitis* em cães e tatus da espécie *Dasypus novemcinctus* (BRASIL, 2011).

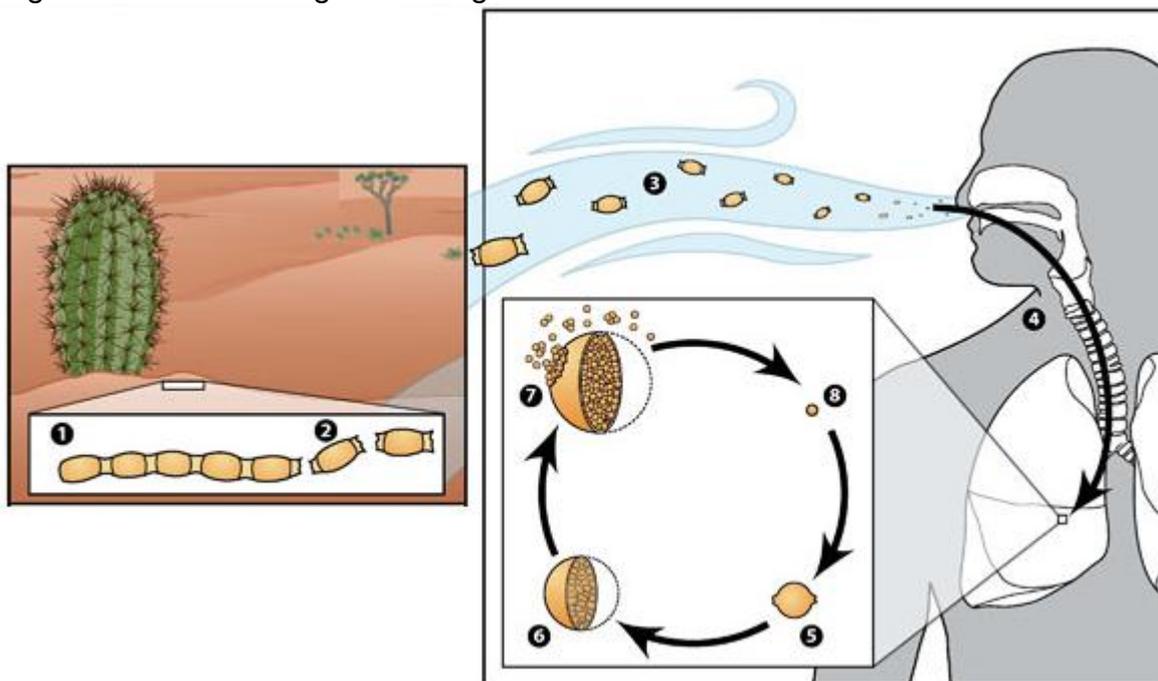
O Brasil era considerado área livre da doença até o final da década de 70, depois, foram surgindo os primeiros casos relatados em 1978 e 1979. No entanto, somente em 1998 o Brasil foi incluído no mapa epidemiológico de distribuição geográfica da coccidioomicose, devido ao aparecimento de surtos da forma pulmonar aguda que ocorreram no Piauí e Ceará, e a partir daí, o número de casos desta doença tem crescido, sendo diagnosticada em mais 2 estados brasileiros, sendo eles o Maranhão e Bahia, totalizando mais de 26 municípios. No entanto, segundo dados obtidos pelo Sistema de Internações Hospitalares do Sistema Único de Saúde, o SIH-SUS, no período de 1975 a 2007, ocorreram cerca de 100 casos de coccidioomicose registrados nos estados do Piauí e Maranhão, e até o momento não ultrapassaram 200 casos, no país (BRASIL, 2011).

A coccidioomicose é mais frequente no sexo masculino, de preferência em indivíduos entre 20 e 50 anos de idade. Desta forma a evolução da infecção dependerá da resposta imune desses hospedeiros, podendo apresentar forma aguda, subaguda ou crônica (LACAZ *et al.*, 2002).

A doença é adquirida pela inalação de artroconídios infectantes que estão presentes no solo, onde o fungo cresce saprofiticamente sob a forma filamentosa. Geralmente, apresenta-se como uma infecção pulmonar benigna e de resolução espontânea. Porém, há casos em que os indivíduos infectados desenvolvem quadros progressivos e graves, podendo atingir, além dos pulmões, outros órgãos como ossos, articulações e meninges por disseminação hematogênica ou linfática (DEUS FILHO, 2009).

Assim que alcançam o tecido pulmonar, os artroconídios assumem o formato de esférulas, podendo conter muitos endósporos, os quais poderão se romper liberando os endósporos em todo o tecido (FIG. 14). (LEVINSON, 2014).

Figura 14 - Ciclo biológico do fungo *Coccidioides immitis*.



Fonte: CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION, 2016b.

Legenda: 1- Forma saprofítica da espécie *C. immitis* no solo seco. 2- Fragmentação e separação dos arthroconídios, ficando dispersos pelo ambiente. 3- Inalação de arthroconídios infectantes pelo trato respiratório. 4- Entrada pela traqueia aos pulmões e instalação no tecido pulmonar. 5- Transformação em levedura. 6- Formação da esférula e produção de endósporos em seu interior. 7- Esférula madura e liberação de endósporos no parênquima pulmonar.

Os arthroconídios de *Ci* crescem nos pulmões antes de se transformarem em esférulas contendo endósporos. Cada endósporo é capaz de se desenvolver dentro de uma nova esférula, propagando um ciclo infeccioso dessa espécie (MEZZARI; FUENTEFRÍA, 2012). Essas esférulas possuem parede dupla, espessa e refratária, e quando se rompem liberam os endósporos que irão se diferenciar em novas esférulas (LEVINSON, 2014).

Mesmo sendo um fungo dimórfico, o *Ci* não é capaz de mudar sua forma filamentosa para leveduriforme *in vitro* com alterações na temperatura mesmo sendo entre 37 e 40°C, permanecendo como colônias de fungo filamentoso. A reversão só ocorre *in vivo*. A mudança *in vitro* só é obtida em meio de cultura de líquido de Converse, modificado por Levine, que contém uma mistura de sais e glicose, ou em meio modificado para reversão. O fungo deve ser incubado em microaerofilia, com atmosfera de 20% de CO₂ e em temperatura de 40°C, de 3 a 5 dias (MEZZARI; FUENTEFRÍA, 2012).

O *C. immitis* é o fungo mais virulento dentre todos os fungos dimórficos (MEZZARI; FUENTEFRÍA, 2012). Este fungo possui uma adesina específica na fase

parasitária chamada SOWgp, que é uma glicoproteína expressa na superfície de esférulas de *Ci*. Ela se liga às proteínas da matriz extracelular das células do hospedeiro, conferindo um importante papel tanto para sobrevivência quanto para sua patogenicidade (SANTOS *et al.*, 2012).

Com base em estudos já realizados acerca da doença, observou-se que não há associação desta micose com a Aids ou outra condição de imunossupressão do indivíduo (BRASIL, 2011).

4.4.1 A resposta imune do indivíduo acometido por coccidioomicose

Quando os artroconídios de *Ci* são inalados e se instalam nos alvéolos pulmonares, estes estimulam o sistema imune e ativam células polimorfonucleares (PNM) e macrófagos. A primeira resposta desenvolvida pelos propágulos infectantes do *Coccidioides spp.* é caracterizada por um influxo de células PNM, induzindo a produção de mediadores inflamatórios, tais como quimiocinas e interleucinas. Podendo ainda haver a ativação do sistema do complemento. Já na fase de esférula ocorre uma resposta inflamatória com presença de infiltração mononuclear, que se mantém durante todo o processo infeccioso, podendo resultar na formação de granulomas (MEDRANO, 2010).

A resposta a infecção por *Ci* geralmente resulta em uma reação de hipersensibilidade tardia, reduzindo a replicação do fungo, impedindo, portanto, a evolução da doença (LEVINSON, 2014). No início da resposta, os macrófagos fagocitam os artroconídios, mas não são eficientes em promover sua inativação enquanto não forem ativados ou sensibilizados pelos linfócitos T auxiliares do tipo Th1. Além disso, os linfócitos Th1, irão também ativar os linfócitos do tipo Th2, induzindo uma resposta humoral através das interleucinas IL-4, IL-5, IL-10 e IL-13 que são fundamentais no combate ao fungo (MEDRANO, 2010).

4.4.2 Manifestações clínicas

A coccidioomicose se manifesta em quatro formas distintas: forma assintomática, pulmonar aguda, cutânea primária e a forma disseminada. A forma pulmonar assintomática ocorre na maioria dos casos em que os indivíduos apresentam uma leve infecção respiratória, não aparente de rápida regressão, que é

detectada em testes cutâneos. Nos casos sintomáticos, o indivíduo apresenta quadros de tosse, expectoração, febre e dor torácica, até mesmo sintomas de pneumonia grave. Quando o quadro clínico é grave ou generalizado, quase sempre são fatais, pois acometem o baço, glândulas supra-renais, miocárdio e endocárdio. A predisposição a infecção, imunidade e a quantidade de artroconídios inalados irão determinar a intensidade da infecção (MEZZARI; FUENTEFRIA, 2012).

Lesões de órgãos intra-abdominais como o intestino e fígado podem ocorrer na coccidioidomicose. Alguns casos abdominais agudos já foram descritos, evidenciados após laparotomia exploratória, massas tumorais em forma de abscessos (LACAZ, 2002).

Segundo Bonifaz, González e Ortiz (2011), a coccidioidomicose pulmonar primária pode tomar um curso grave que se assemelha à tuberculose pulmonar. A pele pode ser acometida por disseminação secundária, através do sangue ou vasos linfáticos. Desta forma, há o aparecimento de nódulos linfáticos periféricos, abscessos, úlceras e cicatrizes de retração na pele. A forma cutânea primária é bastante rara, se manifestando apenas por inoculação devido a alguma lesão (FIG. 15). O envolvimento das meninges e o aparecimento de manifestações neurológicas, tais como dores de cabeça, distúrbios de memória ou perda de orientação também é raro. Estas manifestações clínicas são muito comuns em latino-americanos, negros, bem como pacientes imunocomprometidos (BONIFAZ; GONZÁLEZ; ORTIZ, 2011).

Figura 15 - Coccidioidomicose cutânea.



Fonte: BONIFAZ; GONZÁLEZ; ORTIZ, 2011.

Legenda: A- Lesão cutânea com o envolvimento de gânglios linfáticos. B- Disseminação cutânea secundária, apresentando nódulos e úlceras.

Na coccidioidomicose lesões ósteo-articulares são frequentes, e muitas vezes surgem de forma secundária, a partir de focos pulmonares ou cutâneos, onde o osso mais acometido são os da região do pé, coxa, costelas e vértebras (LACAZ, 2002).

4.4.3 Diagnósticos clínicos e laboratoriais da coccidioidomicose

O diagnóstico de coccidioidomicose é realizado através de exame micológico direto, utilizando secreções como, escarro, aspirado bronco alveolar, líquor, raspado, pus, e exame histopatológico de biópsias, cultura e testes imunológicos (MEZZARI; FUENTEFRIA, 2012).

De acordo com Mezzari e Fuentefria (2012), a pesquisa direta é realizada com KOH 10-40%, e os cortes histológicos são corados pelo ácido periódico-Schiff, ou *Periodic acid-Schiff* (PAS), prata ou hematoxilina-eosina, onde são observados esférulas de parede espessa, que se reproduz com a formação de endósporos de vários tamanhos, esporulam em seu interior (FIG. 16 e 17). Na cultura em ágar Sabouraud dextrose e ágar Sabouraud dextrose com Cloranfenicol e Cicloheximida, o *Ci* possui crescimento rápido, apresentando colônia algodoadosa, com micélios aéreos brancos que mudam para castanho. Microscopicamente, apresenta hifas hialinas, septadas e ramificadas, com artroconídios em “forma de barril”, além de clamidoconídios intercalados.

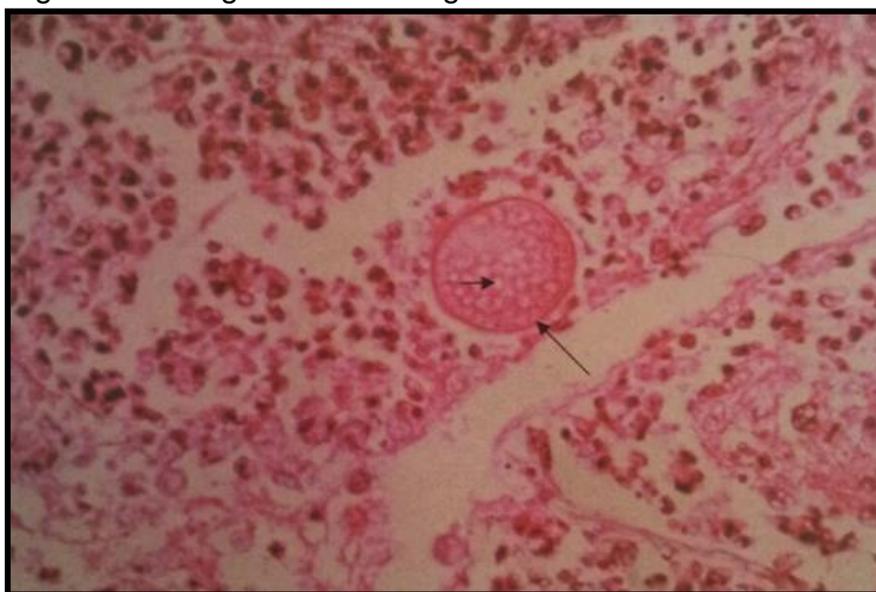
Figura 16 - Exame direto pra diagnóstico de coccidioidomicose.



Fonte: LACAZ *et al.*, 2002.

Legenda - Presença de esférulas com endósporos em seu interior em amostra de escarro com KOH a 20%.

Figura 17 - Diagnóstico histológico de coccidioidomicose.



Fonte: LEVINSON, 2014.

Legenda: Esférula com endósporo presente em corte histológico de tecido pulmonar corado pela hematoxilina-eosina.

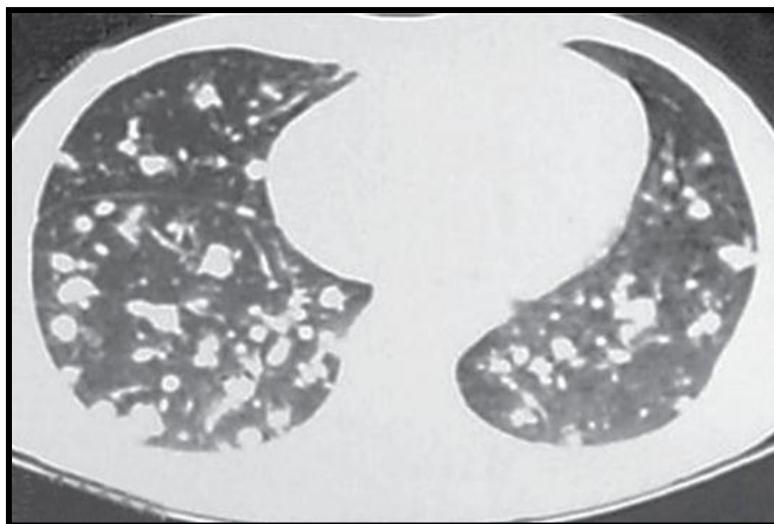
O método de intradermorreação também é eficaz para o diagnóstico de coccidioidomicose, porém não é confirmatório. A coccidioidina é um antígeno secretado em culturas de *Ci*. Após inoculação intradérmica desse antígenos é possível observar por um período de 24 a 48 horas uma reação de hipersensibilidade. Este método é um importante avanço epidemiológico no que diz respeito a identificação de áreas epidêmicas.

Provas sorológicas também são utilizadas no diagnóstico de coccidioidomicose, sendo elas a fixação do complemento, imunodifusão dupla e aglutinação de partículas de látex, que garantem resultados de grande valor prático. A fixação do complemento pode ser realizada utilizando a coccidioidina ou esferulina, sendo que a primeira confere maior especificidade. O método de ELISA, também pode ser aplicado no diagnóstico desta infecção, uma vez que os soros de indivíduos infectados com *Ci* não respondem adequadamente a reações de fixação do complemento. Em alguns casos eosinofilia prolongada, pode caracterizar

infecção disseminada, sendo esta considerada um marcador de agravamento da doença (LACAZ *et al.*,2002).

De acordo com Lacaz *et al.* (2002), exames radiológicos, como tomografia computadorizada dos pulmões, ossos e articulações, podem auxiliar no diagnóstico desta micose. As lesões pulmonares variam desde espessamento hilar, aumento do mediastino, lesões pneumônicas de infiltração, lesões nodulares e adenopatia de hilo, onde há um aumento dos gânglios linfáticos da região hilar (FIG. 18).

Figura 18 - Diagnóstico tomográfico de coccidioidomicose.



Fonte: TOGASHI *et al.*, 2009.

Legenda: Tomografia de pulmão, apresentando lesões nodulares difusas em ambos os lobos.

4.4.4 Tratamento da coccidioidomicose

De acordo com Bonifaz e colaboradores, (2011), em casos graves e disseminadas de coccidioidomicose é indicado o tratamento com desoxicolato de anfotericina B em doses entre 0,25 e 0,75 mg/kg, com progressão na administração até que se atinja uma dose total de 30 a 50 mg/dia. No entanto, pode ser administrado por via oral doses de itraconazol 300-400 mg/dia ou fluconazol 200-400 mg/dia. O itraconazol possui boa resposta no indivíduo, e é muito utilizado como tratamento monoterápico nos casos de infecção aguda limitada ou cutânea, e principalmente na manutenção da doença. Porém, o fluconazol é indicado nos casos de acometimento das meninges, pois consegue atravessar a barreira hematoencefálica. A duração do tratamento desta micose dependerá do estado

clínico do paciente. Isso significa que irá variar de indivíduo para indivíduo (BONIFAZ; GONZÁLEZ; ORTIZ, 2011).

O tratamento cirúrgico também pode ser indicado nos casos de lesões ou nódulos pulmonares ou em outros órgãos acometidos por coccidioomicose, através de ressecção desses nódulos, no caso de pacientes que não respondem bem à terapia antifúngica. O mesmo procedimento é realizado para lesões pulmonares fibrocavitárias ou cavitárias. A detecção de massa ou abscesso cerebral requer drenagem ou remoção cirúrgica. O desbridamento de lesões, com retirada do tecido necrosado, é uma medida auxiliar importante no tratamento. E para os casos de hipotassemia provocada pela anfotericina B, os níveis de potássio são reestabelecidos utilizando cloreto de potássio ou aspartato de potássio em doses de 2 a 10 g/dia por via oral (DEUSFILHO, 2009).

4.5 Blastomicose

A Blastomicose também conhecida como blastomicose “norte-americana” é considerada uma micose endêmica, causada pelo fungo dimórfico *Blastomyces dermatitidis*, com incidência predominantemente na região oriental da América do Norte (CASTILLO; KAUFFMAN; MICELI, 2016).

Caspar Gilchrist, em 1894 na cidade de Baltimore, identificou e descreveu um tipo de parasito observado em cortes histológicos de lesão verrucosa presentes na mão de um paciente da Filadélfia. Em 1896, o caso foi denominado como “dermatite blastomicética”. Porém, no mesmo ano Caspar juntamente com Stokes, obteve algumas amostras de um determinado fungo que foi isolado proveniente de um caso de blastomicose da face. Só em 1898, após vários estudos, denominaram o fungo como *B. dermatitidis* (LACAZ *et al.*, 2002).

Esse fungo cresce em solo úmido e rico em matéria orgânica, formando hifas com conídios em formato muito semelhante a uma pera. E se reproduz assexuadamente (LEVINSON, 2014). No entanto, em 1968, McDonough e Lewis descreveram a forma sexuada do *B. dermatitidis*, denominando-o como *Ajellomyces dermatitidis*, forma heterotática, que significa um tipo de reprodução sexuada que só ocorre entre hifas com linhagens positivas e negativas (LACAZ *et al.*, 2002).

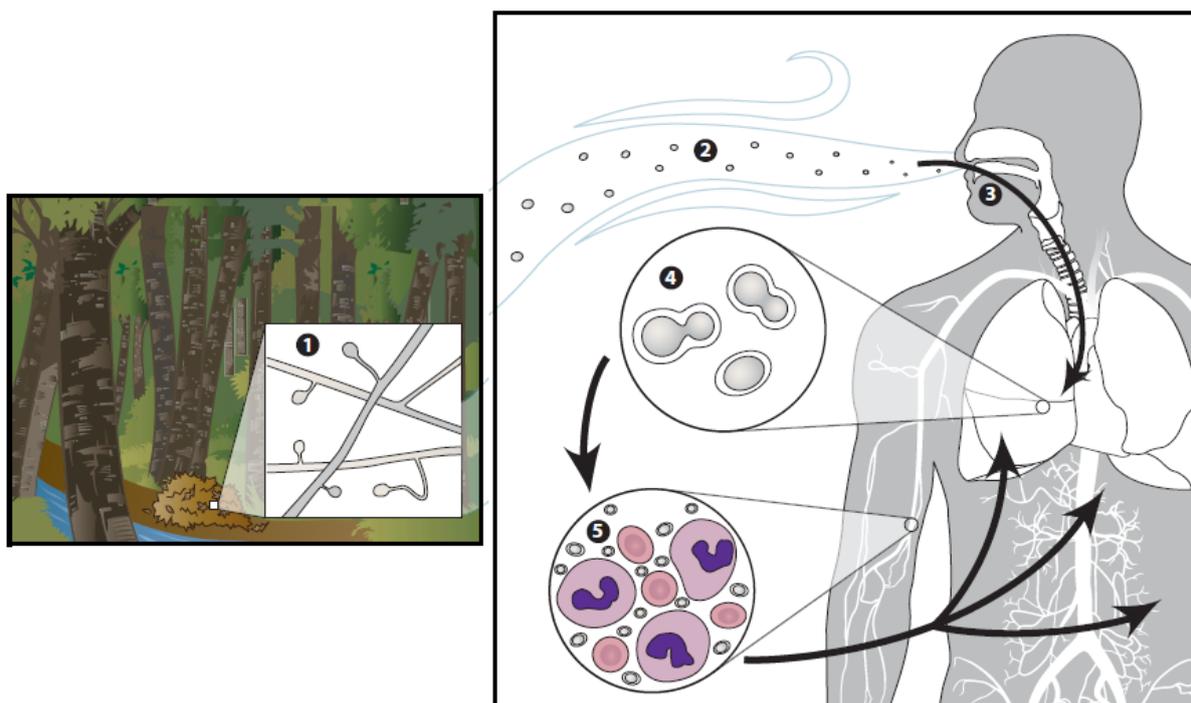
Este fungo pode infectar pacientes imunocompetentes, produzindo uma infecção pulmonar primária, que podem posteriormente disseminar para outros órgãos (ROCCO; CARMEN; KLEIN, 2011). A infecção é adquirida através da inalação dos conídios, que estão presentes no ambiente, sendo a forma saprofítica infectante. Uma vez nos pulmões ocorre a conversão para a fase de levedura (FIG. 19). (CASTILLO; KAUFFMAN; MICELI, 2016).

A Blastomicose é mais frequente nos vales do Mississippi e do rio Ohio, em estados localizados na região Centro-Oeste e em províncias canadenses que fazem fronteira com os Grandes Lagos da América do Norte. Embora já tenham sido registrados alguns casos nos estados da Florida, Colorado, Havaí, e em países como, Israel, Índia, África, além da América Central e América do Sul. No entanto, mesmo já sendo reconhecida endêmica em algumas áreas, a blastomicose ocorre em certas áreas com mais frequência do que em outras. Uma pesquisa realizada no estado de Wisconsin, nos Estados Unidos, demonstrou que a incidência anual média de blastomicose foi de 40,4 por 100.000 habitantes em apenas um município, e para uma área específica dentro desse município foi de 101,3 por 100.000 habitantes (CASTILLO; KAUFFMAN; MICELI, 2016).

De acordo com Castillo, Kauffman e Miceli (2016), os casos de blastomicose são mais comuns em homens do que em mulheres, provavelmente pelo fato de que os homens estão mais expostos ao agente devido a atividades que envolvem a manipulação do solo ou madeira. Há relatos de casos, onde a maior incidência foi observada entre as populações afro-americanas nos Estados Unidos e populações indígenas no Canadá. Além disso, foi descrito um surto ocorrido em alguns bairros do estado de Wisconsin, cuja infecção foi diagnosticada entre os imigrantes provenientes do sul da Ásia, de etnia Hmong.

O fungo *Bd* se apresenta em forma de micélio no solo, e nos tecidos apresenta levedura totalmente envolvida por uma parede celular dupla e refratária, com um broto em sua extremidade, simples e de base larga (LEVINSON, 2014). É muito difícil o isolamento deste fungo a partir de amostras de solo, devido aos requisitos ambientais específicos de que ele precisa para crescer, impedindo uma identificação precisa desta espécie (CASTILLO; KAUFFMAN; MICELI, 2016).

Figura 19 - Ciclo biológico do fungo *Blastomyces dermatitidis*.



Fonte: CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION, 2015b.

Legenda: 1- Forma saprofítica da espécie *B. dermatitidis* no solo úmido rico em matéria orgânica, apresentando hifas com conídios em “formato de pera”. 2- Inalação de conídios infectantes pelo trato respiratório. 3- Entrada pela traqueia aos pulmões e instalação no tecido pulmonar. 4- No pulmão ocorre a transformação em levedura contendo um único broto. 5- Chegada de macrófagos residentes e internalização do fungo e produção de citocinas no combate ao patógeno.

A maioria dos casos de infecção por *Bd* é assintomática ou se manifesta como uma doença não diagnosticada e autolimitada. Já a blastomicose sintomática pode apresentar-se como infecção pulmonar aguda ou crônica, onde um número pequeno de doentes progride para a forma grave, onde há um comprometimento dos pulmões, levando a síndrome do desconforto respiratório agudo (SDRA) (CASTILLO; KAUFFMAN; MICELI, 2016).

Segundo Rocco, Carmen e Klein (2011), a capacidade do *Bd* interagir e inativar a ação do sistema imune inato, em ambas as fases tanto precoce quanto tardia da infecção, é um dos fatores primordiais para garantir a virulência do patógeno. Macrófagos alveolares são as primeiras células a participarem dessa interação, pois entram em contato com o agente patogênico invasor no pulmão. Logo depois, ocorre a ativação de células T (linfócitos T) produtoras de citocinas.

Estudos demonstraram que as leveduras de *Bd* são capazes de sobreviver em co-culturas (cultivos mistos de células) na presença de macrófagos inativos ou até mesmo ativos. Além disso, este fungo possui um mecanismo capaz de interferir na ação antimicrobiana de macrófagos. Tal mecanismo diminui os níveis de NO

produzidos pelos macrófagos alveolares ativados no sobrenadante de co-culturas, além de interferir na atividade de iNOS (enzima óxido nítrico sintetase induzida) que também é responsável pela sua síntese (ROCCO; CARMEN; KLEIN, 2011).

A mudança de morfologia de *Bd* resulta no aumento de α -1,3-glucana, e diminuição de β -1,3-glucana, ambos, presentes na parede celular dos fungos. Além disso, na fase de levedura, este fungo expressa uma proteína chamada de BAD1, envolvida na sua interação com macrófagos nos alvéolos pulmonares. Essa proteína se liga a actina que também está presente na parede celular do fungo. Esta interação funcionará como uma molécula de adesão na superfície da célula fúngica, sendo um essencial fator de virulência. Esta molécula se liga em receptores do tipo complemento 3 e 4 (CR3, CD4) presentes em macrófagos e no tecido pulmonar do hospedeiro (SANTOS *et al.*, 2012).

As células leveduriformes de *Bd* também possuem em sua parede celular uma glicoproteína de 120 kDa, denominada WI-1. Essa glicoproteína tem participação fundamental no que diz respeito a patogênese do fungo, promovendo sua adesão a macrófagos, desencadeando uma potente resposta imune humoral e celular. Além disso, as leveduras de *Bd* são capazes de liberar grandes fragmentos de 85 kDa de GpWI-1, assim, o fungo consegue driblar a resposta imune, evadindo da resposta celular (MURRAY; ROSENTHAL; PFALLER, 2014).

O *B. dermatitidis* possui uma notável capacidade de resistir à fagocitose por macrófagos alveolares e até hoje, poucos estudos descreveram seus mecanismos de escape (ROCCO; CARMEN; KLEIN, 2011).

A forma clínica mais importante é a blastomicose pulmonar primária. Entretanto, há dois tipos de formas cutâneas que são bem diferenciadas, tais como a secundária, resultante da disseminação hematogênica a partir do pulmão, causando lesões nodulares e ulcerativas pelo corpo. Ou a forma cutânea primária, onde há o comprometimento da pele no local da inoculação traumática, porém é mais raro (BONIFAZ; GONZÁLEZ; ORTIZ, 2011).

A blastomicose ocorre com maior frequência no homem, com idade entre 20 e 40 anos. As mulheres normalmente não são acometidas, a menos que estejam sofrendo mudanças hormonais, como na gravidez, menopausa entre outras. Crianças raramente adquirem a infecção, porém quando acometidas apresentam quadros graves (MEZZARI; FUENTEFRÍA, 2012).

Há especulações de que fatores genéticos que predispõem a doença tem maior peso para o desenvolvimento da doença, do que a exposição ao ambiente contaminado por *Bd* (CASTILLO; KAUFFMAN; MICELI, 2016).

4.5.1 A resposta imune do indivíduo acometido por blastomicose

Na infecção por *Bd*, o indivíduo desencadeia uma resposta imune humoral e celular de forma exacerbada, onde são ativados macrófagos, linfócitos T e células NK, além da liberação de citocinas do tipo Th2 que favorecem o crescimento e diferenciação de linfócitos B, afim de eliminar o patógeno (MURRAY; ROSENTHAL; PFALLER, 2014).

Segundo Murray, Rosenthal e Pfaller (2014), a resposta imune mediada por linfócitos T contra *Bd* é fundamental, conferindo uma imunoproteção contra esse agente. Porém em alguns testes já realizados em camundongos imunizados com GpWI-1(glicoproteína WI-1), que mostraram uma forte resposta Th2 contra antígenos de *Bd*, morreram com uma infecção crônica e progressiva. No entanto, em cobaias expostos a infecção que obtiveram resposta do tipo Th1, foram capazes de deter a disseminação do patógeno, respondendo de forma eficaz ao tratamento, recuperando-se da doença. Isso mostra que uma resposta Th2 exacerbada até mesmo no homem, pode não ser útil e benéfica no combate a infecções por *B. dermatitidis*, retardando o processo de cura.

A produção de óxido nítrico em infecções por *Bd*, demonstrou ser essencial para que hospedeiro seja capaz de eliminar células fúngicas dos pulmões durante a infecção. Em contraste, a capacidade do hospedeiro para produzir óxido nítrico parece ser dispensável durante a infecção primária. Já se sabe que a produção de NO por macrófagos é tóxica ao fungo, sendo assim capaz de eliminar suas células leveduriformes (ROCCO; CARMEN; KLEIN, 2011).

4.5.2 Manifestações Clínicas

A blastomicose pode se apresentar de forma sintomática e assintomática. Nos casos sintomáticos as manifestações clínicas podem ser cutâneas, com evolução crônica, cutânea de inoculação primária ou pulmonar disseminada, podendo ser esta

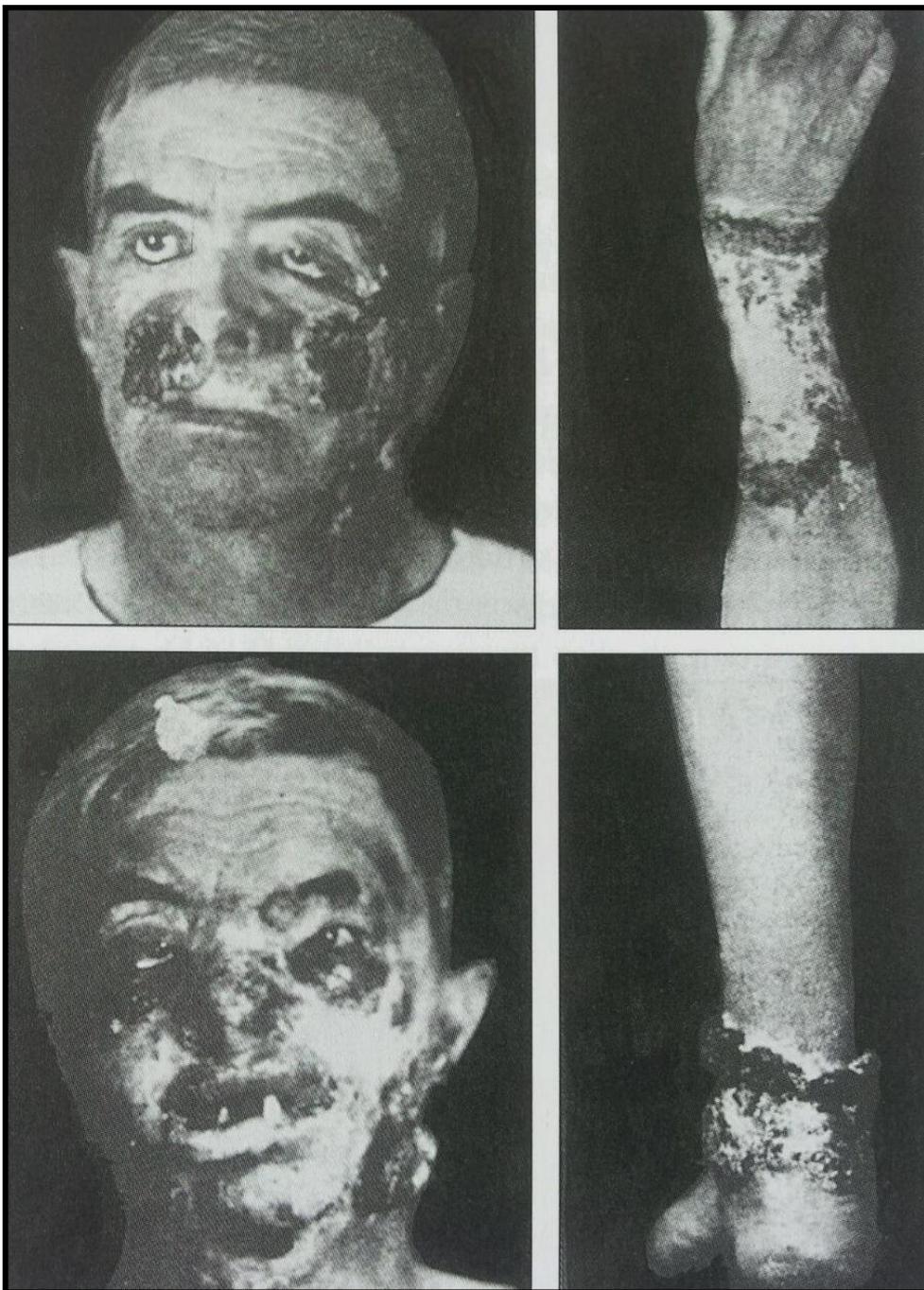
aguda ou crônica. Sendo que essa última ocorre por disseminação hematogênica, que pode acometer ossos, articulações, tecido cutâneo, além de outros órgãos (MEZZARI; FUENTEFRÍA, 2012).

A maioria dos pacientes com blastomicose permanecem assintomáticos. Esta doença acomete preferencialmente os pulmões, e os sintomas aparecem após período de incubação de 2 a 6 semanas. Na blastomicose aguda a infecção se restringe aos pulmões na maioria dos casos, e os indivíduos sintomáticos apresentam tosse com ou sem expectoração, febre, calafrios, mal-estar e dor pleurítica, semelhante a pneumonias bacterianas ou virais. Porém, podem apresentar melhora dentro de 2 a 3 semanas ou não. Desta forma, o indivíduo pode desenvolver dentro de uma semana a Síndrome do Desconforto Respiratório Agudo (SDRA), mesmo estando como tratamento em curso. Indivíduos imunocompetentes adquirem SDRA quando expostos a uma grande carga de conídios, ou devido a uma vigorosa resposta imune à infecção (CASTILLO; KAUFFMAN; MICELI, 2016).

De acordo com Castillo, Kauffman e Miceli (2016), na blastomicose crônica o indivíduo pode apresentar febre, perda de peso, sudorese noturna e tosse com expectoração sanguinolenta, semelhante à tuberculose. Já a blastomicose extrapulmonar surge a partir de uma infecção pulmonar primária, e pode se disseminar e afetar quase todos os órgãos, mais comumente a pele, os ossos, articulações, trato geniturinário. Sendo menos frequente o sistema nervoso central (SNC). Porém já foram relatados casos desta infecção envolvendo os olhos, glândulas endócrinas da laringe, mama, útero e do peritônio.

Os pacientes podem ainda apresentar manifestações cutâneas, onde há o aparecimento de lesões decorrentes da blastomicose extrapulmonar. Estas lesões podem surgir em qualquer local do corpo, podendo ser de aspecto verrucosa com bordas irregulares, com aparência de crosta ou ulcerativa com bordas afiadas e exsudato na base da úlcera (FIG. 20). Estas lesões podem também se manifestar em forma de nódulos arroxeados com pústulas, ou em forma de quelóides (CASTILLO; KAUFFMAN; MICELI, 2016).

Figura 20 - Blastomicose extrapulmonar.



Fonte: LACAZ, 2002.

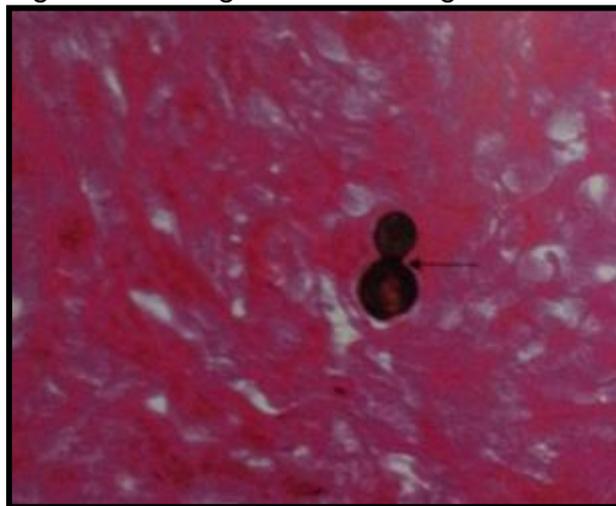
Legenda: Lesões cutâneas e articulares em paciente com blastomicose extrapulmonar disseminada.

4.5.3 Diagnósticos clínicos e laboratoriais da blastomicose

No diagnóstico de blastomicose são utilizados além do exame direto e cultura, métodos imunológicos e sorológicos como o ELISA, na busca por *B. dermatitidis*, porém este último é irrelevante e de pouco valor laboratorial. No exame direto,

amostras de escarro, biópsia de tecido, entre outros espécimes clínicos são usadas as colorações de PAS ou prata, onde são identificadas leveduras de formas arredondadas, globosas de paredes finas com brotamento único com base de implantação larga na célula-mãe (FIG. 21) (MEZZARI; FUENTEFRIA, 2012).

Figura 21 - Diagnóstico histológico de blastomicose.



Fonte: LEVINSON, 2014.

Legenda: Biópsia de tecido apresentando levedura com brotamento único de base larga apontada pela seta.

A visualização direta de *Bd* em tecidos ou fluidos corporais pode levar a um diagnóstico presuntivo rápido da blastomicose, sendo de grande importância clínica, no que diz respeito ao início da terapia antifúngica. Os corantes hematoxilina e eosina normalmente evidenciam uma resposta inflamatória granulomatosa, porém, os elementos fúngicos podem ser difíceis de serem visualizados (CASTILLO; KAUFFMAN; MICELI, 2016).

Segundo Mezzari e Fuentefria (2012), a cultura é realizada tanto em ágar Sabouraud dextrose, quanto em ágar Sabouraud dextrose com cloranfenicol e cicloheximida e BHI, incubada em temperaturas entre 25 e 30°C, por um período de 3 a 4 semanas. Onde observa-se colônias filamentosas de coloração branca ou marrom, com presença de sulcos ou lisa de centro elevado. Em sua micromorfologia são observadas hifas, conidióforos com conídios em sua extremidade com formatos redondos e globosos, parecidos com peras. Em BHI, á 35 e 37°C as colônias do fungo apresentam aspecto granular ou enrugado, de cor branca a creme, cujo seu aspecto microscópico apresenta células leveduriformes formados a partir de conídios.

Os testes sorológicos, que incluem a fixação de complemento, imunodifusão e imunoensaio enzimático, têm sido muito utilizados em estudos epidemiológicos, mas ainda não possuem grande significado clínico para o diagnóstico de blastomicose, pois conferem pouca sensibilidade e podem apresentar reatividade cruzada com outros fungos dimórficos, como *H. capsulatum*. Mas mesmo assim, existem testes de imunodiagnóstico em desenvolvimento para uso clínico tal como o imunoensaio enzimático utilizando o antígeno de superfície Bad-1. Os dados preliminares revelam alta sensibilidade e especificidade, de quase 100%, e baixa reatividade cruzada (menor que 10%) com *H. capsulatum*. Este pode ser um tipo de ensaio promissor no diagnóstico de blastomicose. O PCR em tempo real também já está em desenvolvimento para o diagnóstico rápido de blastomicose. Em alguns testes, usando o gene Bad-1, foi observada elevada sensibilidade e especificidade, onde não houve reação cruzada com *Hc* ou outros fungos dimórficos. No entanto, este ensaio ainda não se encontra disponível no mercado (CASTILLO; KAUFFMAN; MICELI, 2016).

4.5.4 Tratamento da blastomicose

O tratamento da blastomicose é indicado quando há uma resolução clínica baseado num diagnóstico preciso. A anfotericina B é recomendada para pacientes que apresentam a forma grave da doença com acometimento do SNC. No entanto, é administrada até o momento em que o paciente começa a apresentar melhora clínica que varia de 1 a 2 semanas. Porém, isso não se aplica a pacientes com acometimento do SNC, onde a dose é recomendada durante 4 a 6 semanas (HAGE; KNOX; WHEAT, 2012).

Outro antifúngico muito utilizado no tratamento tanto nas demais micoses quanto na blastomicose é o itraconazol, cujo seu uso é indicado por 6 a 12 meses após a interrupção da anfotericina B, sendo recomendado uma dose de 200 mg três vezes por dia, e que posteriormente é diminuída para duas vezes por dia por pelo menos 6 meses de uso, para os casos de infecções graves (HAGE; KNOX; WHEAT, 2012).

4.6 Prevenção

Até o momento não há maneiras de prevenção para todas as micoses sistêmicas citadas. Porém, evitar viagens para áreas endêmicas e a exposição a animais transmissores e aos lugares onde estes habitam, são considerados medidas de prevenção (LEVINSON, 2014).

Para alguns casos como histoplasmose, o uso de máscaras de proteção é recomendado para antropólogos, exploradores de cavernas, trabalhadores que lidam com guano e mineiros (BONIFAZ; GONZÁLEZ; ORTIZ, 2011).

Outra forma de prevenção é o cuidado em laboratório durante a manipulação de culturas dessas espécies de fungos (Pb, Hc, Ci e Bd) na forma filamentosa, pois estes apresentam alto grau de infecciosidade. O manipulador deve trabalhar com equipamentos de proteção individuais (EPI's) e em câmara de fluxo laminar de nível II de segurança (MEZZARI; FUENTEFRIA, 2012).

Já existem alguns testes de vacinas contra infecções por fungos pré-existentes, ou seja, vacinas que poderão ser administradas em indivíduos acometidos pela doença, afim de controlar a infecção. Um exemplo é a vacina contra coccidioidomicose, que contribui para eliminação das esférulas do fungo. Uma vez que, o nível de compreensão a respeito das interações fungo-hospedeiro progrediu ao ponto de que as vacinas contra fungos e doenças fúngicas podem se tornar uma realidade. Com efeito, o rastreamento de vias de sinalização em células dendríticas usando uma abordagem de sistemas de biologia poderia ser explorada para o desenvolvimento de vacinas quiméricas que podem levar a resistência e a tolerância do fungo em infecções fúngicas (ROMANI, 2011). Estudos recentes com antígenos recombinantes apresentaram resultados experimentais promissores na busca por uma vacina eficaz que promova a prevenção desta micose (DEUS FILHO, 2009).

De acordo com Romani (2011), algumas variações genéticas sofridas pelas moléculas que estão envolvidas no reconhecimento de fungos e que fazem parte do sistema imune inato podem justificar em parte, o motivo pelo qual é herdada pelo hospedeiro uma maior suscetibilidade a infecções fúngicas. Embora a análise dos traços genéticos que modulam a susceptibilidade a essas infecções seja algo muito complexo, esta pode permitir a identificação de marcadores genéticos para doenças fúngicas presentes em pacientes de alto risco, além de ajudar na avaliação do risco. Desta forma, a prevenção dessas infecções seria mais eficaz. Porém, compreender

e identificar quais pacientes estão mais susceptíveis a desenvolver uma infecção fúngica, capaz de oferecer danos a sua vida e até mesmo levar a sua morte, é atualmente uma grande necessidade clínica, que infelizmente ainda não foi atendida. Já se sabe que os polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs), que induz uma variação na sequência de DNA e que afeta somente uma base na sequência do genoma, pode interferir nos genes da imunidade inata em humanos. E este fato tem sido associado à susceptibilidade a infecções fúngicas e patologias.

De qualquer forma, o avanço na pesquisa dos diferentes patógenos tende a contribuir para uma melhor compreensão da resposta imune o que resulta no desenvolvimento de novas drogas e vacinas. (CASTELO et al., 2009).

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

As micoses sistêmicas abordadas neste trabalho apresentam algumas características semelhantes entre elas. Dentre estas se destacam a distribuição geográfica limitada, onde sua ocorrência é prevalente nas Américas, o habitat de seus agentes etiológicos, como o solo ou dejetos animais, e o trato respiratório que é a principal porta de entrada destes patógenos, onde irá influenciar diretamente no adoecimento do indivíduo.

Essas infecções fúngicas não são transmitidas homem a homem, nem de animal a homem. E seus agentes etiológicos apresentam-se como fungos dimórficos, isto é, em meio de cultura, entre 25 a 30°C, e na natureza apresentam colônias filamentosas, com hifas e conídios ou artroconídios. Já nos tecidos e em meios de cultivos especiais e específicos, entre 35 a 37 °C apresenta-se na forma de levedura ou parasitária.

Estas micoses na maioria das vezes são assintomáticas, porém, podem apresentar rápida evolução, com surgimento do quadro de doença grave e forma disseminada, originando lesões extrapulmonares. Além disso, pode ocorrer uma resposta celular do indivíduo a esses agentes, que consiste geralmente, em um processo granulomatoso, e, em alguns casos a doença pode deixar sequelas irreversíveis.

O diagnóstico destes patógenos nem sempre são rápidos, e com isso, há uma maior dificuldade para se iniciar um tratamento adequado e eficaz. Porém, quando diagnosticadas, o tratamento destas infecções é prolongado e provoca muitos efeitos colaterais. Por esses motivos, o paciente acaba abandonando a terapia medicamentosa, antes de uma cura completa, favorecendo a recidiva da doença.

Os fungos *P. brasiliensis*, *H. capsulatum*, *C. immitis* e o *B. dermatitidis*, são também conhecidos como patógenos endêmicos, uma vez que o seu habitat natural são regiões geográficas específicas, em que a infecção gerada por estes é adquirida pela inalação de esporos naquele ambiente específico e naquela localização geográfica. No entanto, a detecção destas micoses endêmicas pode ser dificultada pelo fato delas se manifestarem na maioria das vezes após o doente ter abandonado a área endêmica.

As infecções fúngicas estão longe de ser extintas, uma vez que se verifica cada vez mais a seleção de amostras resistentes aos antifúngicos disponíveis para o tratamento, e principalmente pela falta de investimento clínico e farmacêutico em alguns países, como o Brasil.

REFERÊNCIAS

- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Detecção e Identificação dos Fungos de Importância Médica**. [S. l.], mod. VII, 2004. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/servicosaude/microbiologia/mod_7_2004.pdf>. Acesso em: 03 maio 2016.
- AIDE, Miguel Abidon. Capítulo 4: histoplasmosse. **J. bras. pneumol.** [online], v.35, n.11, p.1145-1151, 2009.
- ALMEIDA, Sandro R. **Micologia**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S.A, 2008.
- BAGAGLI, Eduardo *et al.* *Paracoccidioides brasiliensis*: phylogenetic and ecological aspects. **Mycopathologia**, v.165, p.197–207, 2008.
- BARBIERI, Beatriz D.; ISHIDA, Kelly. Instituto de Ciências Biomédicas. Departamento de Microbiologia da Universidade de São Paulo. **Importância Médica dos Fungos**. 2016. Disponível em: <<http://www.icb.usp.br>>. Acesso em: 03 maio 2016.
- BERGOLD, A.M.; GEORGIADIS, S. Novidades em fármacos antifúngicos: uma revisão. **Visão Acadêmica**, v. 5, n. 2, p. 159-72, 2004.
- BONIFAZ, Alexandro; GONZÁLEZ, Denisse V.; ORTIZ, Ana M. P. Endemic systemic mycoses: coccidioidomycosis, histoplasmosis, paracoccidioidomycosis and blastomycosis. **Journal of the German**, Berlin, 2011.
- BRASIL. Ministério da Saúde. **Proposta de Vigilância e Controle da Coccidioidomicose**. Brasília, 2011.
- CAPONE, Domenico *et al.* Micoses Pulmonares. **Revista Hospital Universitário Pedro Ernesto**, Rio de Janeiro, v.9, 2010.
- CASTELO, Arlete A. M. *et al.* Resposta imune a doenças Infecciosas. **Medicina**, Ribeirão Preto, v.42, n.2, p.127-42 2009.
- CASTILLO, Caroline G.; KAUFFMAN, Carol A.; MICELI, Marisa H. **Blastomycosis**. *Infectious Disease Clinics of North America, USA*, v.30, p. 247-264, 2016.
- CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC). **Sources of Histoplasmosis**. 2015a. Disponível em: <<http://www.cdc.gov/fungal/diseases/histoplasmosis/causes.html>>. Acesso em: 27 jul. 2016.
- CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC). **Sources of Blastomycosis**. Page last updated, 2015b. Disponível em: <<http://www.cdc.gov/fungal/diseases/blastomycosis/causes.html>>. Acessado em: 15 ago. 2016.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC). **Definition of Blastomycosis**. 2016a. Disponível em: <<http://www.cdc.gov/fungal/diseases/blastomycosis/definition.html>> Acesso em: 03 maio 2016.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC). **Sources of Valley Fever (Coccidioidomycosis)**. 2016b. Disponível em: <<http://www.cdc.gov/fungal/diseases/coccidioidomycosis/causes.html>>. Acesso em: 15 out. 2016.

DEUS FILHO, Antônio. Capítulo 2: Coccidioidomicose. **J. bras. pneumol. [online]**. v.35, n.9, p.920-930, 2009.

FERREIRA, Marcelo S.; BORGES, Aécio S. Histoplasmose. Artigo de Revisão. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.42, n.2, p.192-198, 2009.

FILIPPIN, Fabíola B.; SOUZA, Liliete C. Eficiência terapêutica das formulações lipídicas de anfotericina B. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, Florianópolis, v. 42, n. 2, abr./jun., 2006

FORTES, Maria R. P. *et al.* Imunologia da Paracoccidioidomicose. **An. Bras. Dermatol.** Botucatu, v.86, n.3, p.516-524, 2011.

GAUTHIER, Gregory M. Dimorphism in Fungal Pathogens of Mammals, Plants, and Insects. **PLOS Pathogens**, EUA, v. 11, n.2, 2015

GONZALEZ, Angel; HERNANDEZ, Orville. New insights into a complex fungal pathogen: the case of *Paracoccidioides spp.* **Yeast Primer**, v. 33, p.113-128, Colombia, 2015.

HAGE, Chadi A.; KNOX, Kenneth S.; WHEAT, Lawrence J. Endemic mycoses: Overlooked causes of community acquired pneumonia. Review. **Respiratory Medicine**, v. 106, p. 769-776, 2012.

KUROKAWA, Cilmy S.; SUGIZAKI, Maria F.; PERAÇOLI, Maria T. S. Virulence Factors in fungi of systemic mycoses. **Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo**, São Paulo, v. 40, n. 3, 1998.

LACAZ, Carlos S. *et al.* Micose profundas: Formas polares: Bases gerais para sua classificação. In: _____. **Tratado de Micologia Médica Lacaz**. 9.ed. São Paulo: Sarvier, 2002. cap.11, p. 354-355 .

LEVINSON, Warren. **Microbiologia Médica e Imunologia**. 12 ed. Porto Alegre: AMGH, 2014.

MACHADO, Paulo R. L. *et al.* Educação Médica Continuada. **Mecanismos de resposta imune às infecções**. Serviço de Imunologia, Hospital Universitário Prof. Edgard Santos, Universidade Federal da Bahia/ Salvador. Brasil, 2004.

MARCOS, Caroline M. *et al.* Surface-expressed enolase contributes to the adhesion of *Paracoccidioides brasiliensis* to host cells. **Yeast Research**, v.12, n.5, p.557-570, Aug.2012.

MARTINEZ, Roberto. Epidemiology of Paracoccidioidomycosis. **Rev. Inst. Med. Trop.**, São Paulo, v.57, p.11-20, 2015.

MEDRANO, Delia J. A. **Perfil de sensibilidade de cepas de *Coccidioides posadasii* a associação de drogas antimicrobianas.** 157 f.Tese (Doutorado) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2010.

MEZZARI, Adelina; FUENTEFRIA, Alexandre M. **Micologia no Laboratório Clínico.** 1.ed. São Paulo: Manole, 2012.

MINAMI, Paulo S. **Micologia: Métodos Laboratoriais de Diagnóstico das Micoses.** 1. ed. São Paulo: Monole, 2003.

MURRAY, Patrick; ROSENTHAL, Ken S.; PFALLER, Michael A. Patogênese das doenças fúngicas. In:_____. **Microbiologia Médica.** 7.ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2014. Cap. 66, p. 611-613, 2014.

PALMEIRA, Sara J. G. **Micoses Sistêmicas.** 60f. Dissertação (Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias, Escola de Ciências e Tecnologias da Saúde. Lisboa, 2014.

PNEUMOIMAGEM. **O Banco de Imagens Médicas:** Histoplasmoze, 2012. Disponível em: <<http://www.pneumoimagem.com.br>> Acesso em: 18 set.2016.

RESTREPO, Angela; CANO, Elena L.; GONZALEZ, Ángel. The power of the small: the example of *Paracoccidioides brasiliensis* conidia. **Rev. Inst. Med. Trop.**, São Paulo, v.57, suppl. 19, p. 5-10, 2015.

RIBEIRO, Joyce F. ***Histoplasma capsulatum var.capsulatum*:** taxa de conversão in vitro, detecção do gene ryp1e estudo da diversidade genética de cepas brasileiras.115f. Tese (Doutorado em Microbiologia Médica) - Universidade Federal do Ceará. Faculdade de Medicina, Fortaleza, 2012.

ROCCO, Nicole M.; CARMEN, John C.; KLEIN, Bruce S. *Blastomyces dermatitidis* Yeast Cells Inhibit Nitric Oxide Production by Alveolar Macrophage Inducible Nitric Oxide Synthase. **Infection and Immunity.** v.79, n.6, p. 2385-2395, Jun. 2011

ROMANI, Luigina. Immunity to fungal infections. Reviews Volume 11 Department of Experimental Medicine and Biochemical Sciences. **Nature Reviews Immunology**, v. 11, p.275-288, Italy, Apr.2011.

SANTOS, Rodrigo S. *et al.* Mecanismos celulares e moleculares envolvidos no processo de transição dimórfica em fungos patogênicos humanos. **Revista da Universidade Vale do Rio Verde**, Três Corações, v. 10, n. 1, p. 105-116, 2012. Disponível em:

<<http://revistas.unincor.br/index.php/revistaunincor/article/view/604/pdf>>. Acesso em: 18 set.2016.

SHIKANI-YASUDA, Maria A. S. *et al.* **Consenso em paracoccidiodomicose.** *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, São Paulo, v.39, p. 297-310, 2006.

TOGASHI, Ricardo H. *et al.* Coccidiodomicose pulmonar e extrapulmonar: três casos em zona endêmica no interior do Ceará. Relato de caso. *J Bras Pneumol*, Ceará, v.35, n.3, p. 275-279, 2009.

VAZ, Alessandro F. **Análise proteômica comparativa do processo de diferenciação celular do fungo patogênico *Paracoccidioides brasiliensis*.** 2014.124f. Dissertação (Mestrado em Genética e Biologia Molecular) - Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2014.

VIDAL, José E. **Criptococose e Histoplasmose em pacientes infectados por HIV.** Instituto de Infectologia Emílio Ribas. Hospital das Clínicas. Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. São Paulo, 2015. Disponível em: <<http://pt.slideshare.net/euripedes/criptococose-e-histoplasmose>> Acesso em: 22 set. 2016.

VOLK, Thomas J. **Alternatively, you can see the Fungus of the Month pages listed alphabetically by genus.** 2002. Disponível em: <http://botit.botany.wisc.edu/toms_fungi/fotm.html>. Acesso em: 10 jul. 2016.