

# Paracoccidioidomicose: Atualização Epidemiológica, Clínica e Terapêutica \*

## *Paracoccidioidomycosis: Epidemiological, Clinical and Treatment up-date.* \*

Silvio Alencar Marques<sup>1</sup>

**Resumo:** São apresentados dados de atualização epidemiológica, clínica, diagnóstica e terapêutica relativos à paracoccidioidomicose. Discute-se a importância epidemiológica resultante do isolamento do *Paracoccidioides brasiliensis* a partir do tatu (*Dasypus novemcinctus*) em regiões do Brasil e Colômbia, assim como dos resultados de inquéritos soroepidemiológicos em cães e do surgimento do primeiro caso de paracoccidioidomicose doença em cão. As dificuldades de isolamento do fungo a partir do solo são correlacionadas com novos informes de investigação epidemiológica. São apresentados aspectos clínicos das manifestações da forma aguda da doença, assim como das manifestações da neuroparacoccidioidomicose e da enfermidade associada à infecção pelo HIV. Discute-se o papel da sorologia e da técnica da PCR no diagnóstico e dos possíveis avanços no tratamento da paracoccidioidomicose com os novos derivados triazólicos.

**Palavras-chave:** diagnóstico; epidemiologia; paracoccidioidomicose; terapêutica.

**Summary:** *The present report provides new data related to the epidemiology, clinical aspects and treatment of paracoccidioidomycosis. The epidemiological impact of the isolation of Paracoccidioides brasiliensis from the armadillo (Dasypus novemcinctus) in areas of Brazil and Columbia, the results from seroepidemiologic study in dogs and the first case of paracoccidioidomycosis-disease on a dog are presented. New insights related to the classical difficulties of isolation of the fungus from soil are correlated with epidemiological data. Clinical manifestation of the acute form of the disease as well as aspects of the neuroparacoccidioidomycosis, and aspects of the association of the disease with the HIV infection are considered. The role of serology and PCR in the diagnosis, as well as the possible advances in the treatment of paracoccidioidomycosis with the new triazole derivatives are discussed.*

**Key-words:** *diagnosis; epidemiology; paracoccidioidomycosis; therapeutics.*

## INTRODUÇÃO

Paracoccidioidomicose constituiu-se no primeiro tema a ser abordado no espaço dedicado à Educação Médica Continuada em Dermatologia (EMC-D), que os Anais Brasileiros de Dermatologia têm oferecido de forma ininterrupta desde 1998.<sup>1</sup> Na presente edição tem-se como objetivo abordar a enfermidade segundo os avanços observados desde então, com ênfase na discussão epidemiológica, clínico-diagnóstica e terapêutica.

Como diversas enfermidades infecciosas, também a paracoccidioidomicose beneficiou-se, nos anos recentes, do constante avanço da ciência, em particular da biologia molecular. Persiste, contudo, o perfil de enfermidade de alta prevalência e morbidade a acometer parcelas da população com menor capacidade de acesso à atenção médica.

## INTRODUCTION

Paracoccidioidomycosis was the first theme to be approached in the space dedicated to Continuous Medical Education in Dermatology (EMC-D), that the Brazilian Annals of Dermatology has been offering in an uninterrupted manner since 1998.<sup>1</sup> In the present edition the objective was to approach the illness according to the progress since then, with emphasis on discussion of the epidemic, clinical, diagnostic and therapeutic aspects.

As in various other infectious illnesses, paracoccidioidomycosis has benefited, in recent years from the constant progress of science and in particular that of molecular biology. Nevertheless, there persists the profile of an illness with high prevalence and morbidity affecting sectors of the population with lesser capacity to access

Recebido em 11.03.2003. / Received in March, 03<sup>rd</sup> of 2003.

Aprovado pelo Conselho Editorial e aceito para publicação em 12.03.2003. / Approved by the Editorial Council and accepted for publication in March, 12<sup>th</sup> of 2003.

\* Trabalho realizado no Departamento de Dermatologia e Radioterapia da Faculdade de Medicina de Botucatu - Unesp / Work done at the Dept. of Dermatology and Radiotherapy, "Faculdade de Medicina de Botucatu - Unesp".

<sup>1</sup> Professor Livre Docente, Faculdade de Medicina de Botucatu - Unesp / Post Doctoral Professor, Faculdade de Medicina de Botucatu - Unesp.

Conseqüentemente, há que se manter a paracoccidiodomycose como objeto de atenção e estudo dos que praticam a dermatologia.

## EPIDEMIOLOGIA

Ao contrário do que é reconhecido como o micro-habitat do *Histoplasma capsulatum*, ou seja, solo enriquecido com fezes de aves ou morcegos, e do *Blastomyces dermatitidis*, descrito como áreas úmidas com vegetais em decomposição às margens de cursos d'água,<sup>2</sup> pouco se conhece em relação ao reservatório do *Paracoccidioides brasiliensis*, ou seja, seu habitat natural, área em que o fungo está presente como saprobíótico e em número capaz de produzir infecção. Tal definição não só se reveste de importância do ponto de vista acadêmico, mas também poder servir de base a iniciativas de cunho preventivo primário.

Neste sentido, dados positivos vêm-se acumulando desde o isolamento do *P. brasiliensis* a partir de vísceras do tatu (*Dasyurus novemcinctus*), por Naif *et al.*,<sup>3</sup> em 1986 e novamente em 1989, no sul do Estado do Pará.<sup>4</sup> Desde então, Macedo *et al.*,<sup>5</sup> em 1998, na região de Serra da Mesa, em Goiás; Bagagli *et al.*,<sup>6</sup> em 1998, em diferentes regiões da área endêmica de Botucatu, SP; Restrepo *et al.*,<sup>7</sup> em 1999, na Colômbia; e Silva-Vergara *et al.*,<sup>8</sup> em 2000, na região de Ibiá, MG, lograram o isolamento do *P. brasiliensis* a partir de tatus silvestres, capturados sob a devida licença de órgãos de defesa ambiental. Os autores obtiveram sucesso a partir de metodologias muito semelhantes. O procedimento constou de remoção asséptica de fígado, baço, gânglios e pulmões de animais capturados; inoculação em camundongos ou hamsters de homogeneizado em salina e antibióticos, de fração do coletado; semeadura de frações de tecido em diferentes meios de cultura contendo antibióticos e incubados a 37°C ou à temperatura ambiente e busca por histopatologia convencional ou por técnica de imunofluorescência e, ainda, amplificação de DNA mediante a técnica da *polymerase chain reaction* (PCR), utilizando-se primers específicos. A partir da combinação desses métodos, do total de 81 tatus investigados, os autores, em seu conjunto, obtiveram 29 isolados macro e micro morfologicamente compatíveis com o *P. brasiliensis*. Os testes de confirmação utilizados - tais como a demonstração de patogenicidade em animais susceptíveis, produção de exoantígeno e detecção de reação positiva por imunodifusão com soros de pacientes de paracoccidiodomycose, demonstração de componentes imunogênicos pela técnica de Western-blott, a qual documenta a presença de imunoprecipitado de 43 kDa, extração de DNA do fungo cultivado e demonstração da presença do gene que codifica a gp43 pela técnica do PCR - conferiram grau de certeza indiscutível aos achados e se demonstraram capazes de atender aos pressupostos requisitos de confiabilidade de isolados de animais ou do solo.<sup>9</sup>

O índice de infecção detectada diferiu entre os autores, variando de 20 a 75% de positividade dos animais investigados. Em um dos trabalhos, a positividade do isolamento correlacionou-se com animais capturados em áreas próximas a

medical attention. Consequently, one must maintain paracoccidiodomycosis as an object for attention and study among those that practice dermatology.

## EPIDEMIOLOGY

On the contrary to that recognized as the micro-habitat of *Histoplasma capsulatum*, i.e. soil enriched with feces of birds or bats, and *Blastomyces dermatitidis*, described as humid areas with vegetable matter in decomposition along the margins of minor water courses,<sup>2</sup> little is known in relation to the reservoir of *Paracoccidioides brasiliensis*. In other words, its natural habitat, the area in which the fungi is present as saprobiotic and in a quantity capable of causing infection. This definition is not only of importance from an academic standpoint, but also serves as a basis for primary prevention programs.

In this sense, positive data has been accumulating after the isolation of *P. brasiliensis* from the viscera of armadillos (*Dasyurus novemcinctus*), by Naif *et al.*,<sup>3</sup> in 1986 and again in 1989, in the south of the State of Pará.<sup>4</sup> Since then, Macedo *et al.*,<sup>5</sup> (1998) in the region of Serra da Mesa, in Goiás; Bagagli *et al.*,<sup>6</sup> (1998) in various areas of the endemic region of Botucatu, SP; Restrepo *et al.*,<sup>7</sup> (1999) in Columbia; and Silva-Vergara *et al.*,<sup>8</sup> (2000) in the region of Ibiá, MG, managed to isolate *P. brasiliensis* from wild armadillos, captured under the due license of environmental defense entities. The authors were successful using very similar methodologies. The procedure consisted of aseptically removing liver, spleen, ganglions and lungs of captured animals; inoculation in mice or hamsters after being homogenized in salt bed and antibiotics, of the fraction collected; inoculation of tissue fractions in different culture mediums containing antibiotics and incubated at 37°C or room temperature. The cultures were examined by conventional histopathology or by immunofluorescence technique and also amplification of DNA by polymerase chain reaction (PCR), using specific primers. Based on the combination of these methods, from the total of 81 armadillos investigated, the authors, as a whole, obtained 29 isolates which were macro and micro morphologically compatible with *P. brasiliensis*. The tests used for confirmation - such as demonstration of pathogenicity in susceptible animals, exoantigen production and detection of positive reaction to immunodiffusion with serum from patients with paracoccidiodomycosis, demonstration of immunogenic components by Western-blot technique, which documents the presence of immunoprecipitate of 43 kDa, extraction of DNA from the cultivated fungi and demonstration of the presence of the gene that codifies gp43 by PCR technique - in order to confer an unquestionable degree of certainty to the findings and were demonstrated to be capable of meeting the parameters required for reliability in the isolates from the animals or soil.<sup>9</sup>

The index of infection detected has differed among authors, varying from 20 to 75% positivity in the investigated animals. In one of the works, the positivity of the isolation was correlated to animals captured in areas close to water courses, where the native vegetation had been modified and substituted

curtos d'água, onde a vegetação natural havia sido modificada e substituída por distintas variedades de cultivo, vegetação secundária ou plantações de espécies não nativas, como *Pinus* e *Eucalyptus*, com altitude abaixo de 800m, temperatura entre média mínima de 14.8°C e média máxima de 25.8°C, e diferentes características de pH, composição e fertilidade do solo.<sup>7</sup> A técnica mais sensível para o isolamento do *P. brasiliensis* foi a inoculação de fragmentos de vísceras, homogeneizados e tratados com antibióticos diversos, na cavidade peritoneal e intratesticular de hamsters. Importante destacar a observação, em amostras do baço e pulmão de tatus capturados, de formas leveduriformes do fungo, detectadas por exame direto ou por histopatológico, neste último, em meio a processo inflamatório de padrão granulomatoso com formação de microabscessos.<sup>7,8</sup> Esses achados demonstram que alguns animais apresentavam, a rigor, paracoccidiodomicose doença e não apenas infecção. Os fatos de a distribuição territorial do *D. novemcinctus* na natureza se sobrepor, em grande parte, às áreas em que incide a paracoccidiodomicose doença e de ser animal de íntimo contacto com o solo, com hábitos de vida que não o afastam grandes distâncias de sua toca, permitem que se delimite com maior precisão a área de possível reservatório do *P. brasiliensis* e, conseqüentemente, aquela em que o paciente se contamina. Entretanto, investigações realizadas com exemplares de outros gêneros e espécies de tatus, como, por exemplo, *D. septemcinctus*, *D. kapplari* e *Euphractus sexcinctus*, que possuem hábitos semelhantes ao *D. novemcinctus*, resultaram negativas até o presente.<sup>10</sup>

Dados epidemiológicos adicionais, como os inquéritos soroepidemiológicos em população canina urbana e rural e o inquérito com paracoccidiodina em animais silvestres capturados, vieram ampliar os conhecimentos. Ono *et al.*,<sup>11</sup> utilizando metodologia tipo Elisa e imunodifusão, investigaram a prevalência de sorologia anti *P. brasiliensis* em 305 cães da zona urbana, periurbana e rural da região de Londrina, PR, e detectou índices de positividade de 14%, 48,8% e 89,5%, respectivamente, utilizando a técnica de Elisa. Quando submetidos ao teste intradérmico de paracoccidiodina, com preparados contendo a gp43, amostras de cães da zona periurbana apresentaram 13,1% de positividade, e as daqueles da zona rural, 38,1%. Aconcomitância de altos títulos observados à técnica de Elisa e a forte positividade à intradermoreação motivaram o sacrifício de seis cães, na tentativa de isolamento do *P. brasiliensis*. Apesar da utilização de metodologia semelhante àquela descrita para o isolamento em tatus, nesses cães a investigação foi negativa. Fagundes, em 2002,<sup>12</sup> investigou pela técnica sorológica tipo Elisa e por imunodifusão 282 cães da zona rural da área endêmica de Botucatu, SP. Detectou-se 35% de positividade sorológica, e aquelas amostras com altos títulos foram submetidas à confirmação com a técnica de Western-blotting, demonstrando-se bandas bem definidas, específicas, embora com padrões de intensidade variável. Os cães com sorologia fortemente positiva foram investigados clínica e radiologicamente, mas não se evidenciaram sinais de paracoccidiodomicose doença. Nos dois estudos, relativos a inquérito

by distinct types of crops, secondary vegetation or plantations of non-native species, such as Pine and Eucalyptus, with altitude below 800m, temperature between a minimum mean of 14.8°C and maximum mean of 25.8°C, and different pH characteristics, composition and fertility of the soil.<sup>7</sup> The most sensitive technique for the isolation of *P. brasiliensis* was the inoculation of fragments of viscera, homogenized and treated with diverse antibiotics, in the peritoneal and intratesticular cavity of hamsters. It is important to underscore the observation, in samples of the spleen and lung of captured armadillos, of yeast forms of the fungi, detected by direct exam or histopathology. In the latter, amidst the inflammatory process with a granulomatous pattern and formation of microabscesses.<sup>7,8</sup> These findings demonstrate that some animals presented strictly paracoccidiodomycosis disease and not just infection. The fact that the territorial distribution of *D. novemcinctus* in nature corresponds largely to the areas in which paracoccidiodomycosis occurs and that it is an animal in close contact with the soil and also the animals do not habitually travel great distances from their burrow, allows the area which is a possible reservoir of *P. brasiliensis* to be delimited with higher precision and consequently the area in which the patient was contaminated. However, investigations carried out with other genera and species of armadillos, such as *D. septemcinctus*, *D. kapplari* and *Euphractus sexcinctus*, which have similar habits to *D. novemcinctus*, have resulted negative until the present date.<sup>10</sup>

Additional epidemic data, such as findings from sero-epidemiological tests in urban and rural canine populations and investigations using paracoccidiodin in captured wild animals, will shed light on this aspect. Ono *et al.*,<sup>11</sup> using Elisa and immunodiffusion methodology investigated the prevalence of anti-*P. brasiliensis* serology in 305 dogs from urban, periurban and rural zones of the Londrina region, PR, and detected positivity rates of 14%, 48.8% and 89.5%, respectively, using Elisa technique. When submitted to intradermal paracoccidiodin test, with a preparation containing gp43, samples of dogs from the periurban zone presented 13.1% positivity compared to 38.1% among those from the rural area. The concomitance of high titers observed by Elisa technique and strong positivity to intradermoreaction motivated the sacrifice of six dogs, in an attempt to isolate *P. brasiliensis*. Despite the use of similar methodology to that described for isolation in armadillos, the investigation proved negative in these dogs. Fagundes, (2002)<sup>12</sup> undertook an investigation using Elisa serological type technique and immunodiffusion in 282 dogs from the rural zone of the endemic area of Botucatu, SP. A 35% serologic positivity was detected and those samples with high titers were submitted to confirmation with the Western-blot technique, demonstrating well defined, specific bands, although with patterns of variable intensity. The dogs with strongly positive serology were submitted to clinical and radiologic investigation, but no signs of paracoccidiodomycosis was demonstrated. In both studies, relative to seroepidemiological research in dogs, serological positivity was not observed when the immunodif-

soroepidemiológico em cães, não se observou positividade sorológica quando se utilizou a técnica de imunodifusão.

Em 2002<sup>13</sup> relatou-se o primeiro achado confirmado de paracoccidioidomicose doença em cão. Diagnosticou-se em fêmea da raça Doberman, de vida estritamente urbana, com manifestação clínica de enfartamento da cadeia ganglionar cervical, aparentemente isolada. O diagnóstico baseou-se no exame histopatológico do gânglio excisado e na demonstração de formas leveduriformes do *P. brasiliensis* em meio a infiltrado inflamatório crônico granulomatoso. Essa observação foi posteriormente confirmada por técnica imuno-histoquímica, utilizando-se anticorpo policlonal específico anti *P. brasiliensis*. O cão foi posteriormente tratado com Ketoconazol, com regressão do enfartamento ganglionar e cura aparente após dois anos de seguimento.<sup>13</sup>

A esses estudos soma-se o inquérito epidemiológico realizado por Costa *et al.*,<sup>14</sup> no qual 96 animais silvestres capturados no campo, igualmente sob licença ambiental, foram submetidos a intradermoreação de paracoccidioidina e histoplasmina. Observou-se positividade de 52,1% para paracoccidioidina, havendo, em 80% deles, concomitante positividade para histoplasmina. Entretanto, foi estatisticamente significativa o maior índice de positividade para paracoccidioidina em animais de hábitos terrestres, aqueles das famílias *Felidae* e *Procyonidae*, da ordem Carnivora, em relação àqueles de hábitos de vida arbórea da ordem *Primates*.<sup>14</sup> Esses achados se somam aos previamente descritos de isolamento do *P. brasiliensis* em fezes de morcego, *Artibeus lituratus*, em 1965 na Colômbia,<sup>15</sup> em vísceras de símio, *Saimiri sciureus*, em 1977 na Bolívia<sup>16</sup> e em fezes do pingüim *Pygoscelis adeliae*, na Antártida uruguaia em 1989.<sup>17</sup> Em consequência, amplia-se a percepção da existência de outros hospedeiros do *P. brasiliensis*, além do homem, assim como o conceito de territorialidade em que o *P. brasiliensis* está disponível como fungo saprobiótico.

O vínculo epidemiológico entre o *P. brasiliensis* e plantações de café foi exaustivamente investigado por Silva-Vergara,<sup>18</sup> que buscou o isolamento do fungo em 760 amostras de solo, frutos e folhas de *Coffea arabica*, coletadas em diferentes estações do ano. A localidade de Ibiá, MG, a 19°28'00" de latitude sul e 46°32'30" de longitude, região a 840m de altitude, com temperatura média de 19°C e pluviosidade de 1600mm/ano, foi a selecionada em função de ser área com número significativo de pacientes de paracoccidioidomicose. Apesar da dimensão da pesquisa e do cuidado técnico observado, obteve-se um único isolado, a partir de amostra de solo, pós-inoculação em camundongo.<sup>18</sup> Essa dificuldade de isolamento do *P. brasiliensis* a partir do solo, previamente percebida por outros pesquisadores, foi objeto de investigação por Ono *et al.*,<sup>19</sup> que estudaram o efeito de produtos químicos, comumente utilizados em plantações, como potenciais inibidores do isolamento do *P. brasiliensis* a partir do solo. Os autores detectaram que 10 diferentes compostos orgânicos, fungicidas, herbicidas e inseticidas, em todas as diluições e nos diferentes meios de cultura testados, impediram o crescimento (ED<sub>50</sub>), *in vitro*, de colônias do *P. brasiliensis* quando comparadas ao controle.

*fusion technique was used.*

*In 2002,<sup>13</sup> the first confirmed discovery of paracoccidioidomycosis in a dog was reported. It was diagnosed in a female Doberman, with a strictly urban life that presented clinical manifestation of infarct of the cervical ganglionic chain, which was apparently an isolated case. The diagnosis was based on histopathological exam of the excised ganglion and the demonstration of yeast forms of P. brasiliensis amid a chronic inflammatory granulomatous infiltrate. This observation was later confirmed by immunohistochemical technique, using polyclonal specific anti-P. brasiliensis antibody. The dog was later treated with Ketoconazole, with regression of the ganglionic infarct and apparent cure after two years of follow-up.<sup>13</sup>*

*Relative to these studies one should include the epidemic investigation by Costa et al.,<sup>14</sup> in which 96 wild animals captured in the field, again under environmental license, were submitted to paracoccidioidin and histoplasmin intradermoreaction. Positivity of 52.1% was observed for paracoccidioidin and 80% of these were concomitantly positive for histoplasmin. However, there was a statistically significant difference in the greater index of positivity for paracoccidioidin in animals with terrestrial habits, namely those of the Felidae and Procyonidae families of the Carnivorous order, in relation to those with arboreal habits belonging to the order of Primates.<sup>14</sup> These findings are summed to those previously described of isolation of P. brasiliensis in the feces of bats, Artibeus lituratus, in Columbia (1965),<sup>15</sup> in simian viscera, Saimiri sciureus, in Bolivia (1977)<sup>16</sup> and in feces of the penquin Pygoscelis adeliae, in Uruguayan Antarctica (1989).<sup>17</sup> Consequently, the perception of the existence of other hosts of P. brasiliensis has been broadened to include other animals than man, as well as the territorial concept in that P. brasiliensis is found as a saprobic fungi.*

*The epidemiological relationship between P. brasiliensis and coffee plantations was exhaustively investigated by Silva-Vergara,<sup>18</sup> who sought isolation of the fungi in 760 samples of the soil, fruit and leaves of Coffea arabica, collected in different seasons. The district of Ibiá, MG, at 19°28'00"S and 46°32'30" longitude, an area with an altitude of 840m, mean temperature 19°C and annual rainfall of 1600mm, was selected as it is an area with a significant number of paracoccidioidomycosis patients. Despite the extent of the research and technical care taken, only one isolate was obtained, from a soil sample and post-inoculation in a mouse.<sup>18</sup> Such difficulty in the isolation of P. brasiliensis from soil samples, as previously described by other researchers, motivated the investigation by Ono et al.,<sup>19</sup> who studied the effect of chemical products, commonly used in plantations, as potential inhibiting factors against the isolation of P. brasiliensis in soil. The authors detected ten different organic compounds, fungicides, herbicides and insecticides, which in all the dilutions and in the various culture mediums tested, impeded the in vitro growth (ED<sub>50</sub>) of colonies of P. brasiliensis when compared to the control. This finding provides an additional explanation, albeit partial, to the difficul-*

Esse dado fornece explicação, ainda que parcial, adicional às dificuldades de isolamento do *P. brasiliensis* a partir do solo.<sup>19</sup>

Autilização da técnica da PCR para a tentativa de isolamento do fungo diretamente de amostras de solo de áreas endêmicas vem, recentemente, revelando-se promissora. Resultados preliminares, utilizando-se sondas capazes de detectar gen específico de 27kDa, têm demonstrado a utilidade da técnica em amostras de solo experimentalmente contaminados pelo *P. brasiliensis*.<sup>10</sup> Aperfeiçoamento na técnica de extração de DNA e novas sondas têm sido desenvolvidos, buscando-se ampliar a sensibilidade e especificidade do método. O conjunto dos informes descritos permite vislumbrar breve e significativo avanço no conhecimento da epidemiologia do *P. brasiliensis* e, conseqüentemente, da paracoccidiodomicose.

## CLÍNICA

Observa-se conexão entre a epidemiologia e as manifestações clínicas da paracoccidiodomicose no relato dos casos incidentes em crianças diagnosticadas em Belém, PA.<sup>20</sup> Do total de 102 casos de paracoccidiodomicose diagnosticados entre 1985 e 1996, e relatados pela Clínica de Doenças Infecciosas e Parasitárias do Hospital Universitário da Universidade Federal do Pará, 13 pacientes (12,7%) eram crianças entre três e 13 anos de idade. Destaca-se que esses casos eram autóctones de diferentes reuniões do Estado do Pará, colocando definitivamente áreas da Amazônia no mapa da endemia. Acredita-se que nas áreas de colonização recente o percentual de casos na faixa etária infantil seja superior ao classicamente observado nas regiões endêmicas tradicionais, que compreendem entre três e 5% do total dos casos.<sup>21</sup> As manifestações clínicas, evidenciadas nas crianças observadas no Estado do Pará, foram as classicamente observadas na forma aguda/subaguda (tipo juvenil) da paracoccidiodomicose,<sup>22</sup> com adenomegalias superficiais presentes em 100% dos casos, hepatoesplenomegalia em nove casos, alargamento do mediastino em sete, massas intra-abdominais e ascite em três, lesões ósseas e icterícia em um paciente. Exemplos de formas clínicas aguda e subaguda, que podem acontecer no adulto jovem ou mesmo na meia-idade, estão representados nas figuras 1 e 2. Relato de caso, clínica e epidemiologicamente muito importante, refere-se a uma criança de sete anos, natural e procedente da área urbana da cidade do Rio de Janeiro.<sup>23</sup> A paciente queixou-se de dor osteoarticular e posteriormente diagnosticou-se osteomielite do calcâneo, tratada preliminarmente como lesão osteoarticular inespecífica e posteriormente como infecção bacteriana por período de até três meses. Apenas quando as lesões cutâneas, descritas como mollusum contagiosum-símile, e nódulos subcutâneos foram detectados é que se definiu o diagnóstico. Wanke<sup>24</sup> já havia demonstrado que 2% de crianças investigadas abaixo de 10 anos de idade, residentes na zona urbana da cidade do Rio de Janeiro, apresentavam positividade para paracoccidiodina, percentual que crescia para 10% naquelas que já se encontravam na segunda década de vida. Portanto, mesmo nos grandes centros, a paracoccidiodomicose tem que ser lembrada no raciocínio clínico

ty of isolating *P. brasiliensis* in soil.<sup>19</sup>

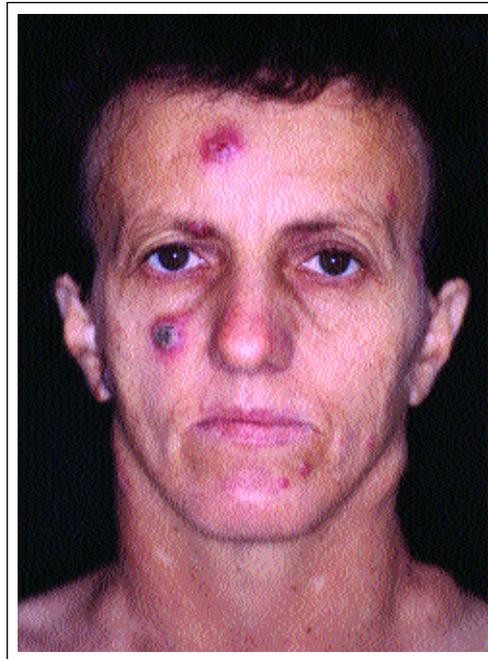
*The use of the PCR technique in an attempt to isolate the fungi directly in soil samples collected from endemic areas has recently proved to be promising. Preliminary results, using probes capable of detecting the specific 27kDa gen, have demonstrated the usefulness of the technique in soil samples experimentally contaminated with P. brasiliensis.<sup>10</sup> Improvements to the technique of extracting DNA and new probes have been developed, with a view to augmenting the sensitivity and specificity of the method. These facts taken as a whole point to significant advances in the near future in terms of clarifying the epidemiology of P. brasiliensis and, consequently, that of paracoccidiodomycosis.*

## CLINICAL

*A connection has been observed between the epidemiology and the clinical manifestations of paracoccidiodomycosis in the report of the incidence of cases among children diagnosed in Belém, PA.<sup>20</sup> Of the total 102 cases of paracoccidiodomycosis diagnosed between 1985 and 1996, and notified to the Clinic of Infectious and Parasitic Diseases of the Teaching Hospital of the Federal University of Pará, 13 patients (12.7%) were children between three and 13 years of age. It is underscored that these cases were autochthonous of different meetings of the State of Pará, placing areas of the Amazon definitively in the map of the endemic disease. It is believed that in areas of recent colonization the percentile of cases in the infantile age group is superior to that classically observed in the traditional endemic areas, which comprise between three and 5% of the total cases.<sup>21</sup> The clinical manifestations presented by children in the State of Pará, were like those classically observed in the acute/subacute form (juvenile type) of paracoccidiodomycosis,<sup>22</sup> with superficial adenomegaly present in 100% of the cases, hepatosplenomegaly in nine cases, enlargement of the mediastinal in seven, intra-abdominal masses and ascites in three, bone lesions and jaundice in one patient. Examples of acute and subacute clinical forms, which can occur in young or even middle-aged adults, are represented in figures 1 and 2. The very important clinical and epidemiological case report, refers to a seven-year-old child, born and resident in the urban area of Rio de Janeiro city.<sup>23</sup> The patient complained of osteoarticular pain, which was later diagnosed as osteomyelitis of the calcaneus, treated preliminary as a nonspecific osteoarticular lesion and later as a bacterial infection for a period of up to three months. The diagnosis was only reached when cutaneous lesions, described as mollusum contagiosum-like, and subcutaneous nodules were detected. Wanke<sup>24</sup> had already demonstrated that 2% of children investigated below 10 years of age and residents in the urban area of Rio de Janeiro city, presented positivity for paracoccidiodin, a percentage that grew to 10% among those already in the second decade of life. Therefore, even in the great municipalities, paracoccidiodomycosis has to be considered in the clinical reasoning relative to lymphoma-like pictures, of osteomyelitis, ascites or jaundice with undefined eti-*



**Figura 1:** Presença de gânglios enfartados e gânglios fistulizados e secretantes. Região cervical. Forma Aguda da paracoccidiodomicose em adulto jovem / **Figure 1:** Infarction of the ganglions as well as fistulous and secreting ganglions. Cervical region. Acute form of paracoccidiodomyco -  
s in a young adult



**Figura 2:** Presença de gânglios enfartados e lesões ulcerovegetantes. Face e região cervical. Forma aguda da paracoccidiodomicose em paciente adulto / **Figure 2:** Presence of infarction of the ganglions and ulcerous vegetative lesions. Facial and cervical regions. Acute form of paracoccidiodomy -  
cosis in an adult patient

relativo a quadros de linfoma-símile, de osteomielite, de ascite ou de icterícia de etiologia a esclarecer. Notável é o relato da síndrome oculoglandular de Parinaud associada à paracoccidiodomicose, caracterizada por conjuntivite granulomatosa específica acompanhada por gânglio cervical e linfonodo pré ou retroauricular igualmente específicos e de localização ipsilateral à lesão ocular.<sup>25</sup> A síndrome oculoglandular de Parinaud tem sido referida ocorrer em outras enfermidades fúngicas, como esporotricose e blastomicose, mas não ainda descrita associada à infecção pelo *P. brasiliensis*.<sup>25</sup>

O comprometimento neurológico na paracoccidiodomicose foi objeto de discussão a propósito de descrição de duas manifestações distintas, acometendo o sistema nervoso central<sup>26</sup> ou a medula espinhal.<sup>27</sup> O comprometimento neurológico usualmente faz parte de paracoccidiodomicose disseminada, mas com certa frequência é a manifestação inicial. É provavelmente mais freqüente do que o relatado e conseqüente à manifestação subclínica, ausência de exame neurológico de rotina ou ausência de investigação do SNC por tomografia computadorizada (TC) ou ressonância nuclear magnética. As manifestações clínicas preferenciais são aquelas compatíveis com processo expansivo centroencefálico (paracoccidiodoma), expressando-se por sinais e sintomas de hipertensão intracraniana e sinais neurológicos localizatórios.<sup>28</sup> Os sinais e sintomas conseqüentes à lesão da medula espinhal vão estar correlacionados com a localização e a gravidade da lesão. Importante salientar que, nas localizações raquimedulares, a análise isolada do líquor dificilmente define o diagnóstico. Os locais mais comuns da neuroparacoccidiodomicose são os hemisférios cerebrais, o cerebelo e, menos freqüentemente, o tálamo e a medula espinhal.<sup>29</sup> Estudos com TC demonstram lesões isoladas ou múltiplas, hipodensas, com halo hipercaptante após a injeção do contraste.<sup>26</sup> Há com freqüência edema perifocal e efeito de massa. Comprometimento

ology. Notable is the report of Parinaud's oculoglandular syndrome associated to paracoccidiodomyco -  
s, characterized by specific granular conjunctivitis accompanied by equally specific cervical ganglion and pre or retroauricular lymph node and with ipsilateral location to the ocular lesion.<sup>25</sup> Parinaud's oculoglandular syndrome has been reported to occur in other fungal illnesses, such as sporotrichosis and blastomycosis, but has not yet been described associated to infection by *P. brasiliensis*.<sup>25</sup>

Neurological involvement in paracoccidiodomyco -  
s has been the object of discussion regarding the description of two different manifestations, one involving the central nervous system<sup>26</sup> and the other the spinal cord.<sup>27</sup> Neurological involve -  
ment is usually a facet of disseminated paracoccidiodomyco -  
s, but with a certain frequency can be the initial manifesta -  
tion. It is probably more frequent than reported as a conse -  
quence of the subclinical manifestation, lack of routine neuro -  
logical exam or absence investigation of the CNS by compu -  
terized tomography (CT) or magnetic nuclear resonance. The clinical manifestations are usually those compatible with an expansive centroencephalic process (paracoccidiodoma), expressed by signs and symptoms of intracranial hypertension and localized neurological signs.<sup>28</sup> The signs and symptoms consequent to lesion of the spinal cord are correlated to the location and gravity of the lesion. It is important to underscore that, in rachimedular locations, an isolated analysis of the liquor rarely defines the diagnosis. The most common loca -  
tions for neuroparacoccidiodomyco -  
s are the cerebral hemi -  
spheres, the cerebellum and, less frequently, the thalamus and spinal cord.<sup>29</sup> Exams with CT demonstrate isolated or multiple very dense lesions, with hipercaption halo after injection of the contrast.<sup>26</sup> There is frequently perifocal edema and mass effect. Involvement of both the CNS and ocular can be the manifesta -  
tion of paracoccidiodomyco -  
s associated to acquired immun -

conjunto do SNC e ocular pode vir a se apresentar como manifestação de paracoccidiodomicose associada à síndrome de imunodeficiência adquirida (Aids), simulando toxoplasmose.<sup>30</sup>

Bernard & Duarte<sup>31</sup> e Marques *et al.*<sup>32</sup> apresentaram revisões relativas ao estudo da paracoccidiodomicose associada à Aids. O número de casos que puderam ser coletados, a maioria absoluta relatada em congressos e não publicada, somava à época 79 casos. Desde então, até o presente, após busca criteriosa e sistemática em diferentes bases de dados e após consulta aos anais e programas dos diferentes congressos de especialidades vinculadas ao tema, elevou-se o número de casos para 104, o que ainda é incomparavelmente menor do que o observado em relação à frequência de casos de histoplasmose associados à Aids. Tomando-se por base o notificado ao Ministério da Saúde até agosto/1999,<sup>33</sup> havia em torno de 2.500 casos notificados de histoplasmose associada à infecção pelo HIV, o que caracteriza uma flagrante distinção quando se compara o que ocorre com a incidência das duas enfermidades no paciente imunocompetente.<sup>32</sup> Aos casos observados e relatados no Brasil somam-se os primeiros casos de paracoccidiodomicose associada à Aids em pacientes na Colômbia.<sup>34</sup> As manifestações clínicas observadas nos casos de associação de paracoccidiodomicose e Aids são as mais variadas, mas predominam aquelas sugestivas de forma aguda/subaguda da enfermidade,<sup>31,32</sup> ou seja, tropismo para o sistema monocítico-fagocitário, expressando-se por gânglios enfiados cervicais ou generalizados, hepatoesplenomegalia, freqüentes lesões cutâneas, lesões ósseas, tendência à disseminação sistêmica e, eventualmente, associação com a tuberculose.<sup>35</sup> As manifestações cutâneas podem ser atípicas, como o demonstrado na figura 3. Nos casos em que a contagem de células CD4+ foi informada, observa-se que a paracoccidiodomicose é mais incidente em pacientes com número  $\leq 200$  células CD4+/mm<sup>3</sup>, caracterizando estados pronunciados de imunossupressão.<sup>31</sup> Nesses pacientes o índice de mortalidade específica é alto, em torno de 25 a 30%.<sup>36</sup> É importante salientar que não é fato raro a paracoccidiodomicose ser a primeira manifestação clínica reveladora de imunodeficiência HIV induzida. E, ainda que se observe uma redução de manifestações clínicas de qualquer ordem no decurso da evolução do paciente infectado pelo HIV, dada a eficácia e abrangência da terapêutica antirretroviral específica, é de esperar aumento numérico de casos da associação paracoccidiodomicose/Aids, conseqüentes à dissemi-

odeficiency syndrome (Aids), simulating toxoplasmosis.<sup>30</sup>

Bernard & Duarte<sup>31</sup> and Marques *et al.*<sup>32</sup> presented revisions relative to the study of paracoccidiodomycosis associated to Aids. The number of cases that could be found, the absolute majority of which reported in congresses and not published, totaled 79 cases. From then to the present date, after a careful and systematic search in various databases and after consultation of the annals and programs of the congresses of specialties linked to the theme, this number rose to 104 cases, which is still incomparably less than that observed in relation to the frequency of cases of histoplasmosis associated to Aids. Taking as a basis, cases notified to the Ministry of Health up until August/1999,<sup>33</sup> there were around 2,500 notified cases of histoplasmosis associated to the HIV infection, which characterizes a clear distinction when one compares the incidence of the two illnesses in immunocompetent patients.<sup>32</sup> To the cases observed and reported in Brazil one must add the first cases of paracoccidiodomycosis associated to Aids in Columbia.<sup>34</sup> The clinical manifestations observed in cases of paracoccidiodomycosis associated to Aids are most variable, but there is a predominance of those suggestive of the acute/subacute form of the disease,<sup>31,32</sup> i.e. tropism toward the monocytic-phagocytic system, as expressed by cervical or generalized infarction of the ganglions, hepatosplenomegaly, frequent cutaneous lesions, bone lesions, tendency to systemic dissemination and, eventually, association to tuberculosis.<sup>35</sup> The cutaneous manifestations can be atypical, as shown in figure 3. In the cases in which the CD4+ cell count was reported, it was observed that paracoccidiodomycosis is more frequent in patients with  $\leq 200$  cells CD4+/mm<sup>3</sup>, characterizing pronounced states of immunosuppression.<sup>31</sup> In these patients, the specific mortality rate is high, reaching 25 to 30%.<sup>36</sup> It is impor-

tant to point out that it is not rare for paracoccidiodomycosis to be the first clinical manifestation indicating HIV-induced immunodeficiency. Furthermore, a reduction in the various clinical manifestations is observed during the course of patients infected by HIV, given the effectiveness and broad scope of specific antiretroviral therapeutics. One can expect a numerical increase in the cases of paracoccidiodomycosis/Aids association, consequent to the spread of HIV infection to small



**Figura 3:** Lesões infiltrativas e ulceronecroticas localizadas no dorso do nariz. Paracoccidiodomicose associada a Aids

**Figure 3:** Infiltrating and necrotic ulcerous lesions located in the dorsal region of the nose. Paracoccidiodomycosis associated to Aids

nação da infecção pelo HIV para pequenos centros urbanos, superpondo-se às regiões em que a infecção pelo *P. brasiliensis* é mais prevalente. A descrição da ocorrência do segundo caso brasileiro de paracoccidiodomicose incidente em paciente pós-transplante registrou-o três meses após transplante renal e sob imunodeficiência induzida pela associação de prednisona, tacrolimus e micofenolato mofetil.<sup>37</sup> Diagnosticado por biópsia de lesão cutânea, o paciente foi tratado com Itraconazol, evoluindo para cura aparente.

Castro *et al.*<sup>38</sup> descreveram caso de paracoccidiodomicose de cavidade oral com perfuração do palato duro, constituindo manifestação inusitada e que se presta a diagnóstico diferencial com carcinoma espinocelular e leishmaniose. Manifestações estomatológicas de paracoccidiodomicose referentes a 187 pacientes reafirmaram as localizações principais da mucosa orofaríngea como sendo lábio inferior, mucosa jugal, palato, língua e região sublingual, nessa ordem.<sup>39</sup> Onze casos de paracoccidiodomicose de localização genital foram observados em 683 pacientes protocolados em Porto Alegre, RS.<sup>40</sup> Antes desse relato, apenas 18 casos de localização genital haviam sido descritos na literatura brasileira. Trata-se de expressão clínica incomum, que pode não reproduzir o padrão de microgranulação fina e de pontilhados hemorrágicos habitualmente observado nas mucosas. Protocolos clínicos bem conduzidos têm a força de ampliar tais casuísticas, como, por exemplo, o total de oito casos observados na casuística de 402 pacientes do Serviço de Dermatologia de Botucatu, SP, um dos quais reproduzidos na figura 4. Manifestação rara da paracoccidiodomicose é o comprometimento vascular específico. Cherri *et al.*<sup>41</sup> relatam caso de paciente com aortite e embolização específica para membros inferiores. Maldonado, em dissertação apresentada em 1996, aprofundou a discussão clínico-histopatológica de tais quadros e sugeriu tratar-se de manifestação associada a formas graves da enfermidade.<sup>42</sup>

## DIAGNÓSTICO

É axiomático o fato de que o diagnóstico de certeza de processos infecciosos derive da demonstração e do reconhecimento do agente em preparados histológicos (Figura 5), exame a fresco ou em cultivo. Tais procedimentos são entendidos como técnicas diretas de diagnóstico. As técnicas indiretas são aquelas que permitem inferir o diagnóstico com certo grau de certeza. As reações sorológicas constituem-se, na prática, na mais

*urban centers, especially in those areas in which infection by P. brasiliensis is more prevalent. The second Brazilian case has been described of paracoccidiodomycosis occurring in a post-transplant patient registered three months after renal transplant and under immunodeficiency induced by the association of prednisone, tacrolimus and mycophenolate mofetil.<sup>37</sup> This was diagnosed by biopsy of cutaneous lesion and the patient was treated with Itraconazole, coursing to an apparent cure.*

*Castro et al.<sup>38</sup> described case of paracoccidiodomycosis of the oral cavity with perforation of the hard palate, constituting an unusual manifestation and that serves as a differential diagnosis with squamous cell carcinoma and leishmaniasis. Stomatologic manifestations of paracoccidiodomycosis in 187 patients reaffirm the main locations in order of decreasing frequency as the oropharyngeal membrane, lower lip, jugal mucous membrane, palate, tongue and sublingual region.<sup>39</sup> Eleven cases of paracoccidiodomycosis located in the genital region were observed in 683 patient files in Porto Alegre, RS.<sup>40</sup> Prior to this report, only 18 cases of genital location had been described in the Brazilian literature. It is an uncommon clinical expression, that does not reproduce the fine microgranulation and dotted hemorrhagic patterns usually observed in the mucous membranes. Well-managed clinical protocols tend to augment the number of cases, such as, for instance, the total of eight cases observed in the files of 402 patients at the Dermatology Service of Botucatu, SP, one of which is reproduced in figure 4. A rare manifestation of paracoccidiodomycosis is specific vascular involvement. Cherri et al.<sup>41</sup> describe the case of a patient with aortitis and specific embolization of the inferior members. Maldonado, in a dissertation presented in 1996, furthered the clinical-histopathological discussion of such pictures and suggested that the manifestation is associated to serious forms of the disease.<sup>42</sup>*



**Figura 4 - Lesões ulceradas, de fundo secretante e bordas infiltradas. Paracoccidiodomicose genital**

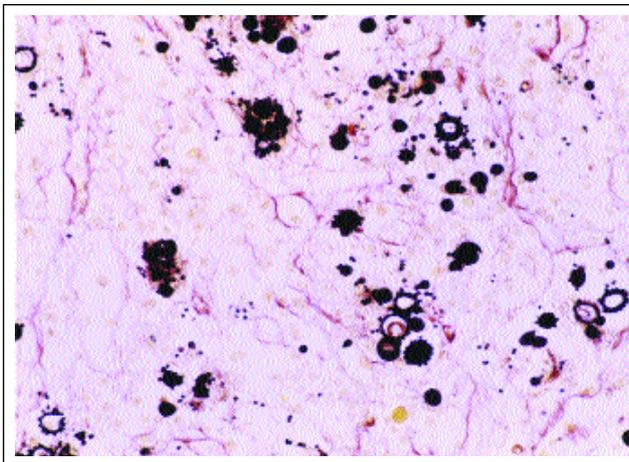
## DIAGNOSIS

*It is axiomatic that the diagnostic confirmation of infectious processes is in fact derived from the demonstration and recognition of the agent in freshly made histological preparations (Figure 5) or in culture mediums. Such procedures are understood as direct diagnostic techniques. Indirect techniques are defined as those that allow an inference of the diagnosis with a certain*

**Figure 4 - Ulcerated lesions, with secreting base and infiltrated borders. Genital paracoccidiodomycosis**

importante dessas técnicas auxiliares. Na paracoccidiodomicose, a sorologia, além de auxílio diagnóstico, tem a função de acompanhamento durante e pós-tratamento; a técnica utilizada, portanto, há que aliar sensibilidade à especificidade, para que o valor preditivo seja máximo e reproduzível. Para tanto, o substrato antigênico é parte fundamental da técnica, e, nesse sentido, o mais importante avanço foi a identificação e purificação da glicoproteína de 43kDa como o antígeno exocelular, imunodominante e relatado como específico do *P. brasiliensis*.<sup>43</sup> Conseqüentemente, se o preparado antigênico for composto apenas pela gp43, o esperado será especificidade de 100%. Agp43, porém, não é uma molécula totalmente específica, na medida em que sua fração carboidrato contém epítopes capazes de serem reconhecidos por soro heterólogo, principalmente soros contendo anticorpos anti-*Histoplasma capsulatum*.<sup>44</sup> Na rotina dos laboratórios de sorologia, os substratos antigênicos utilizados são obtidos de extratos sonicados de células leveduriformes em suspensão ou concentrados dializados de filtrados obtidos de culturas em fase leveduriforme.<sup>45</sup> Das técnicas utilizadas na paracoccidiodomicose, a imunodifusão (ID) é das mais importantes. Sob avaliação multicêntrica, utilizando o preparado antigênico denominado Ag7, constituído em torno de 90% pela gp43, a imunodifusão proporcionou resultados de sensibilidade igual a 84,3% e especificidade de 98,9%.<sup>46</sup> Valle *et al.*,<sup>47</sup> utilizando como substrato antigênico filtrado de cultura, em fase leveduriforme, concentrada e dializada de pool de cepas do *P. brasiliensis*, obteve 90,2% de sensibilidade diagnóstica no total de 245 pacientes em pré-tratamento. Esses dados conferem à ID papel relevante quanto ao auxílio diagnóstico, porém valor preditivo menor no seguimento durante e pós-tratamento. A técnica de contra-imunoeletoforese (CIE) tem sido igualmente muito utilizada e apresenta sensibilidade entre 77 e 100%, e especificidade acima de 95%, o que igualmente lhe confere adequada confiabilidade diagnóstica.<sup>46</sup> Dos métodos imunoenzimáticos, o *enzyme linked immunosorbent assay* (Elisa) tem obtido espaço à medida que o domínio da técnica se dissemina. A vantagem dessa técnica é sua sensibilidade em torno de 100% na experiência de diferentes serviços.<sup>46,48</sup> A possibilidade de reação cruzada com soro de pacientes de doença de Jorge Lobo ou histoplasmose induziu modificações técnicas, como a prévia absorção do soroteste com filtrado antigênico do *H. capsulatum* ou a utilização da gp43 como substrato antigênico em variação do clássico Elisa, denominado *capture enzyme assay* (EIA), no

**Figura 5:** Inúmeras células do *P. brasiliensis* apresentando uma ou múltiplas esporulações. Lesão de parede intestinal de paciente com forma aguda da paracoccidiodomicose. Grocott-Gomori (200x)



**Figure 5:** Innumerable *P. brasiliensis* cells, presenting for - mation of single or multiple spores. Lesion of intestinal wall in patient with the acute form of paracoccidiodomycosis. Grocott-Gomori (200x)

*degree of certainty. In practice serological reactions constitute the most important of these auxiliary techniques. In paracoccidiodomycosis, besides aiding the diagnosis serology has a monitoring function during and after treatment; therefore the technique used has to ally sensitivity and specificity, in order that the predictive value is maximized and reproducible. Consequently, the antigenic substrate is a fundamental part of the technique and, in that sense, the most important progress has been the identification and purification of glycoprotein 43kDa as the immunodominant exocellular antigen and reportedly specific to P. brasiliensis.<sup>43</sup> Consequently, if the antigenic preparation is composed of gp43 alone, one would expect 100% specificity. However gp43 is not a totally specific molecule, in that its carbohydrate fraction contains epitopes capable of being recognized by heterologous serum, mainly serums containing anti-Histoplasma capsulatum antibodies.<sup>44</sup> in the routine practice of serology laboratories, the antigenic substrates used are obtained by sonicated extracts of yeast cells in suspension or dialyzed concentrations of filtrates obtained from cultures in the yeast phase.<sup>45</sup> Of the techniques used in paracoccidiodomycosis, immunodiffusion (ID) is the most important. In a multicentric evaluation, using the antigenic preparation denominated Ag7, comprising approximately 90% of gp43, immunodiffusion provides sensitivity results equal to 84.3% and specificity of 98.9%.<sup>46</sup> Valle et al.,<sup>47</sup> using an antigenic substrate of filtered culture in yeast phase, which was concentrated and dialyzed from a pool of P. brasiliensis strains, obtained 90.2% diagnostic sensitivity in a total of 245 patients in the pre-treatment stage. These data confer ID a relevant role in aiding diagnosis, although the predictive value is lower in the follow-up during and after treatment. Likewise, the crossed-immunoelectrophoresis (CIE) technique has been much used and presents sensitivity between 77 and 100%, with specificity over 95%, which also confers an adequate diagnostic reliability.<sup>46</sup> Of the immunoenzymatic methods, the enzyme linked immunosorbent assay (Elisa) has been gaining space as its technique is disseminated. The advantage of ELISA is its sensitivity around 100%, in the experience of various services.<sup>46,48</sup> The possibility of a cross reaction with serum from patients with Lobo's disease or histoplasmosis has induced technical modifications, such as the prior absorption of the test serum with an antigenic filtrate of H. capsulatum or the use of gp43 as the antigenic substrate in the classic variation of Elisa, denominated capture enzyme assay (EIA), in which using the*

qual, utilizando-se o anticorpo monoclonal anti-gp43, obteve-se teste significativamente mais específico, em torno de 97 a 100%.<sup>46,49</sup> Na rotina, a alta sensibilidade da técnica Elisa transforma-a em instrumento valioso no acompanhamento do paciente sob tratamento. *Immunoblotting* é procedimento no qual antígenos são separados segundo seu peso molecular em coluna de gel de poliácridamida por eletroforese, transferidos para fitas de nitrocelulose, encubados com anti-soros, e, na seqüência, os pontos onde anticorpos se ligaram a antígenos são revelados por reagentes específicos. Afração IgG anti- *P. brasiliensis* reage com quatro componentes principais, de 70, 52, 43 e 20-21kDa, predominando a glicoproteína de 43kDa, sendo reconhecida por 100% dos soros de pacientes.<sup>46,50</sup> Embora a técnica *immunoblotting* seja extremamente sensível e específica, não é ainda acessível à rotina diagnóstica da paracoccidiodomicose. A técnica de captura de antígeno em fluidos corporais, como, por exemplo, a detecção de antigenúria, tem sido sugerida como método promissor para diagnosticar paracoccidiodomicose doença, avaliar eficácia de tratamento e detectar recaídas ainda em estádios subclínicos. As técnicas utilizadas para tanto são *immunoblotting* ou a denominada *competitive-Elisa*, capaz de detectar 6ng/ml de antígeno, com sensibilidade oscilando entre 75% (*Elisa-C*) e 91,7% (*immunoblotting*).<sup>49</sup>

É inegável que a identificação molecular da presença de *P. brasiliensis*, mediante a técnica da *polymerase chain reaction* (PCR), com finalidade diagnóstica, constituir-se-á em instrumento de rotina, com perspectiva de total sensibilidade e especificidade. A PCR é procedimento para ampliar regiões específicas de seqüência de moléculas de DNA. De forma simplificada, o processo constitui-se de três fases. Após extração do DNA do tecido, inicia-se o processo com a separação térmica da cadeia dupla do DNA em duas cadeias complementares; assim separadas, elas são hibridizadas com primers específicos, os quais correspondem a curtas seqüências de DNA complementar a trecho específico de DNA da cadeia alvo. Na seqüência, com a participação da DNA *polymerase*, produzem-se a extensão da cadeia e, de imediato, cópias de cadeia dupla, agora incorporando a seqüência específica desejada. As cópias "filhas", assim obtidas passam a constituir-se em modelo para a obtenção de milhões de cópias, que serão vistas pela eletroforese em gel de agarose. Essa metodologia oferece mais sensibilidade diagnóstica do que métodos histológicos de rotina. Até o presente várias seqüências de DNA do *P. brasiliensis* com potencial diagnóstico têm sido descritas, desde os relatos de Goldani *et al.*<sup>51</sup> e Goldani & Sugar.<sup>52</sup> Gomes *et al.*<sup>53</sup> desenvolveram primers derivados da seqüência do gene codificador da gp43, com a finalidade de detecção do fungo no escarro. Amostras de 11 pacientes com paracoccidiodomicose foram analisadas pela PCR, utilizando-se cinco pares distintos de primers. Em todas as análises observou-se banda de 0.6kb específica para o *P. brasiliensis*, sendo que o par de primers 5'ATAGAG GGAGAG CCATAT GTA CAAGGT-3' e, GGC TCC TCA AAG TCT GCC ATG AGG AAG-3' produziu as bandas mais visíveis no gel de agarose.<sup>53,54</sup> Entretanto, foi

*monoclonal anti-gp43 antibody, a significantly more specific test is obtained, reaching around 97 to 100%.<sup>46,49</sup> In routine practice, the high sensitivity of the Elisa technique renders it a valuable instrument in the attendance of patient's under treatment. Immunoblotting is a procedure in which antigens are separated according to their molecular weight in a column of polyacrylamide gel by electrophoresis, transferred to nitrocellulose ribbons, incubated with antisera, and, in sequence, the points where antibodies bind to antigens are revealed by specific reagents. The IgG anti-P. brasiliensis fraction reacts with four main components, namely 70, 52, 43 and 20-21kDa, with the glycoprotein of 43kDa predominating as it is recognized by 100% of the patient serums.<sup>46,50</sup> Although the immunoblotting technique is extremely sensitive and specific, it is still not accessible for the routine diagnosis of paracoccidiodomycosis. The technique involving isolation of an antigen in corporal fluids, such as for example the detection of antigenuria, has been suggested as a promising method to diagnose paracoccidiodomycosis, to evaluate treatment effectiveness and to detect relapses while still in a subclinical state. The techniques used for this are immunoblotting or the so-called competitive-Elisa (Elisa-C), capable of detecting 6ng/ml of antigen, with a sensitivity ranging between 75% (Elisa-C) and 91.7% (immunoblotting).<sup>49</sup>*

*It is undeniable that the molecular identification of the presence of P. brasiliensis, by polymerase chain reaction (PCR) for diagnostic purposes, will become a routine instrument, with the perspective of 100% sensitivity and specificity. PCR is a procedure to enlarge specific regions of the sequence of DNA molecules. In a simplified manner, the process comprises three phases. After extraction of DNA from tissue, the process begins with the thermal separation of the double chain of DNA into two complementary chains; once separated they are hybridized with specific primers, which correspond to short sequences of DNA complementary to the specific section of DNA in the target chain. Then, with the participation of DNA polymerase, the extension of the chain is produced and, immediately, double chain copies, now incorporating the specific sequence desired. The copies "daughters", thus obtained become the model for obtaining millions of copies, that will be visualized by the electrophoresis in agarose gel. This methodology offers a more sensitive diagnosis than routine histological methods. Until the present date, several sequences of P. brasiliensis DNA with a potential for diagnosis have been described, since the reports of Goldani et al.<sup>51</sup> and Goldani & Sugar.<sup>52</sup> Gomes et al.<sup>53</sup> have developed primers derived from the sequence of the gp43 encoder gene, with the purpose of detecting the fungi in spittle. Samples from 11 patients with paracoccidiodomycosis were analyzed by PCR, using five distinct pairs of primers. In all of the analyses the P. brasiliensis specific band 0.6kb was observed and the pair of primers 5'ATAGAG GGAGAG CCATAT GTA CAAGGT-3' and GGC TCC TCA AAG TCT GCC ATG AGG AAG-3' produced the most visible bands in the agarose gel.<sup>53,54</sup> However, polymorphism has been described in the genetic code of gp43, which*

descrito polimorfismo no código genético da gp43, o que faz com que primers delineados segundo regiões susceptíveis a substituições de nucleotídeos, possam resultar em diminuição da especificidade.<sup>55</sup> Eventuais fatores de erro com a técnica da PCR são a possibilidade de resultados falso-positivos, conseqüentes à contaminação ou ampliação não específica, e resultados falso-negativos decorrentes de questões técnicas relativas à extração do DNA ou má conservação do espécime biológico, permitindo a degradação do DNA. Há que se registrar que se trata de técnica ainda restrita a poucos serviços e mais como pesquisa do que como parte da rotina diagnóstica.

Complementando a discussão diagnóstica, é importante salientar o papel da biópsia aspirativa por agulha fina na obtenção de espécime para detecção citológica, ou pela PCR, do *P. brasiliensis*, a qual pode ser praticada mesmo para órgãos internos, com a agulha dirigida para a lesão alvo com o auxílio da ultra-sonografia.<sup>56</sup>

## TRATAMENTO

O tratamento da paracoccidiodomicose persiste como desafio não totalmente resolvido. Diferentes serviços seguem regras e preferências próprias, conseqüência da ausência de trabalhos que propiciem evidências científicas irrefutáveis. Recentemente, Shikanai-Yasuda *et al.*<sup>57</sup> relataram estudo randomizado, utilizando o itraconazol (50-100mg/dia), cetoconazol (200-400mg/dia) e a sulfadiazina (150mg/kg/dia fixos), restritos a casos clínicos moderados da paracoccidiodomicose. A variabilidade de dose utilizada, a manutenção pós-tratamento com sulfamídicos de lenta eliminação e o curto tempo de *follow-up*, entretanto, limitam a interpretação dos dados, embora seja indiscutível o mérito do estudo, cientificamente mais bem delineado do que o observado em publicações sobre terapêutica em paracoccidiodomicose. Ainda assim, mesmo o relato de casos isolados, como o sucesso terapêutico em único caso de paracoccidiodomicose multifocal com a utilização de 500mg/dia de Terbinafina e acompanhamento por dois anos pós-tratamento, deve ser informado.<sup>58</sup> O resultado observado no caso citado, de sucesso com o uso da terbinafina, é coerente com o observado em estudo *in vitro*, em que se compara a atividade da terbinafina e do itraconazol contra 28 cepas do *P. brasiliensis*, demonstrando-se que a terbinafina é muito eficaz contra o *P. brasiliensis*, *in vitro*.<sup>59</sup> Dietze *et al.*<sup>60</sup>, relatam falha terapêutica da anfotericina B coloidal (Amphocil®), utilizada na dose de 3mg/kg/dia por 28 dias, em quatro pacientes de forma juvenil da paracoccidiodomicose, um dos quais portador de co-infecção pelo HIV. Apesar da boa resposta inicial, com cura aparente, os três pacientes recaíram dentro de seis meses do término do esquema proposto. Um deles não respondeu desde o início do tratamento. É provável que, como previamente observado com a anfotericina B clássica, casos graves da enfermidade necessitem de séries de tratamento ou manutenção com sulfamídicos pós-tratamento.

Dos novos antifúngicos da família dos fármacos lipopetídicos, destacam-se as equinocandinas das quais a caspofungina, apesar de mecanismo de ação baseado na

*means that primers delineated according to regions susceptible to substitutions of nucleotides can result in a decrease in the specificity.*<sup>55</sup> *Eventual error factors using the PCR technique include the possibility of false-positive results, as a consequence of contamination or nonspecific amplification and false-negative due to technical questions relative to the extraction of DNA or inadequate conservation of the biological specimen, thereby allowing a degradation of the DNA. Furthermore the technique is still restricted to only a few services and even so used more in research than as part of the diagnostic routine.*

*Complementing the discussion of diagnostic aspects, it is important to point out the role of aspiration biopsy using a fine needle to obtain the specimen for cytological detection, or by PCR, of P. brasiliensis, which can be performed even in internal organs, with the needle guided to the target lesion with the aid of ultrasonography.*<sup>56</sup>

## TREATMENT

*The treatment of paracoccidiodomycosis remains a challenge that has yet to be totally resolved. The various services follow their own rules and preferences in consequence of a lack of works providing irrefutable scientific evidence. Recently, Shikanai-Yasuda et al.<sup>57</sup> described a randomized study, using itraconazole (50-100mg/day), ketoconazole (200-400mg/day) and sulfadiazine (150mg/kg/day fixed), restricted to moderate clinical cases of paracoccidiodomycosis. The variability in the dose used, the post-treatment maintenance with sulfamidic of slow elimination and the short follow-up period, however, limit interpretation of the data. Even so, the merit of the study is unquestionable, as it was scientifically better delineated than that observed in other publications regarding therapeutics for paracoccidiodomycosis. Nevertheless, even the report of isolated cases, such as the therapeutic success in a single case of multifocal paracoccidiodomycosis with the use of Terbinafine at 500mg/day and follow-up for two years post-treatment, should be published.<sup>58</sup> The successful result observed in the above mentioned case with the use of terbinafine, is coherent with the observations of in vitro studies, in which the activity of terbinafine is compared to that of itraconazole against 28 strains of P. brasiliensis, demonstrated that terbinafine is very effective against P. brasiliensis, in vitro.<sup>59</sup> Dietze et al.,<sup>60</sup> reported the therapeutic failure of colloidal amphotericin B (Amphocil®), using a dose of 3mg/kg/day for 28 days, in four patients with the juvenile form of paracoccidiodomycosis, one of which had a co-infection with HIV. Despite the good initial response, with apparent cure, three patients relapsed within six months of the end of the proposed regimen and did not respond even at the beginning of the treatment. It is probable that as previously observed with classic amphotericin B, serious cases of the illness require treatment in series or post-treatment maintenance with sulfamidic.*

*Regarding the new antifungal agents belonging to the family of lipopetidic drugs, the echino-candins spp stand out, of which caspofungin, in spite of an action mechanism based*

inibição da síntese de  $\beta$  1,3 glucana na parede do fungo,<sup>61</sup> não demonstrou eficácia *in vitro* contra o *P. brasiliensis*,<sup>62</sup> mas é superior aos azólicos em relação a diferentes cepas do gênero *Candida*.<sup>63</sup> Dos derivados triazólicos de segunda geração, o voriconazol, sintetizado em 1995 pelo Centro de Pesquisas Pfizer e obtido a partir de modificações na estrutura do fluconazol, tem-se mostrado eficaz contra o *Cryptococcus neoformans* e diferentes espécies de *Cândida*.<sup>61,64</sup> Resultados preliminares - baseados em dados clínicos, sorológicos e radiológicos<sup>62</sup> - de estudo multicêntrico e relativos a 42 pacientes de paracoccidiodomicose, tratados com dose diária de 400mg/dia por seis meses, são promissores. E, dada sua difusão no líquido cefalorraquidiano, pode vir a constituir-se em nova opção para a terapêutica da neuroparacoccidiodomicose.<sup>62</sup> O posaconazol, sintetizado pela Schering-Plough, igualmente derivado triazólico, tem-se mostrado eficaz mesmo contra fungos com resistência primária ao fluconazol, apresentando ação *in vitro* contra espécies de *Candida* e *Aspergillus* e, em animais de experimentação, tem demonstrado eficácia contra a histoplasmose e criptococose disseminada,<sup>61,65</sup> o que o torna possível opção também para os pacientes enfermos pelo *P. brasiliensis*.

Em resumo, a terapêutica da paracoccidiodomicose dispõe de arsenal, clássico e variado, de fármacos considerados eficazes, mas com limitações de toxicidade, de interação medicamentosa ou de custo, que não de ser sempre consideradas. Especificamente, a combinação sulfametoxazol-trimetropim, na dose de ataque de 2.400 a 3.200 mg/dia, o itraconazol na dose de ataque de 200mg/dia durante um ou dois meses e manutenção com 100mg/dia por período que pode variar de seis a oito meses, e anfotericina B, para casos graves, na dose de 0,5 a 1mg/kg/dia ou em dias alternados.<sup>1</sup> A estes últimos, abre-se a possibilidade de agregarem-se novas formulações de antifúngicos, desde que adequados à política de custos compatível com a realidade dos Serviços Públicos de Saúde e da clientela alvo. Sempre é mister lembrar que a terapêutica da paracoccidiodomicose vai além da escolha do fármaco. Possíveis e frequentes, co-morbidades, carência nutricional, anemia, problemas de aderência ao tratamento e atenção às circunstâncias sociais dos pacientes têm que ser valorizadas e fazer parte do plano terapêutico.

## CONCLUSÃO

Noventa e cinco anos depois da descrição pioneira por Adolfo Lutz,<sup>66</sup> a paracoccidiodomicose segue sendo enfermidade que requer consideração, interesse continuado e abordagem multidisciplinar.

O acúmulo de informes em curto espaço de tempo, aqui parcialmente relatado, demonstra o volume de estudos dedicados ao *P. brasiliensis* e à paracoccidiodomicose. Informes relativos a distintas áreas, incluindo aquela que trata das manifestações clínicas e terapêuticas, o que demonstra que permanece aberto o espaço para investigação e para a dedicação do dermatologista. □

*on inhibition of the synthesis of  $\beta$  1,3 glucan in the wall of the fungus,<sup>61</sup> failed to demonstrate in vitro effectiveness against P. brasiliensis,<sup>62</sup> but is superior to the azoles in relation to various strains of the Candida genus.<sup>63</sup> Of the second-generation triazole derivatives, voriconazole, synthesized in 1995 by the Pfizer Research Center and obtained from modifications to the structure of fluconazole, has been demonstrated to be effective against Cryptococcus neoformans and various species of Candida.<sup>61,64</sup> Preliminary results are promising - based on clinical, serological and radiological data<sup>62</sup> - in a multicenter study relative to 42 patients with paracoccidiodomyces, treated with a daily dose of 400mg/day for six months. Furthermore, given its diffusion in the cerebrospinal fluid, it could eventually constitute a new option for the therapeutics of neuroparacoccidiodomyces.<sup>62</sup> Posaconazole, synthesized by Schering-Plough hand also a triazolic derivative has been showing effectiveness even against fungi with primary resistance to fluconazole, presenting in vitro action against species of Candida and Aspergillus, while in animal models it has shown effectiveness against histoplasmosis and disseminated cryptococcosis,<sup>61,65</sup> which also makes it a possible option for patients with disease caused by P. brasiliensis.*

*In short, the therapeutics against paracoccidiodomyces counts on a, classic and varied arsenal of drugs considered effective, but with limitations due to toxicity, interaction medicamentous or cost, which is always a consideration. Specifically, the combination of sulfamethoxazole-trimethoprim, at a loading dose of 2,400 to 3,200 mg/day, itraconazole at a loading dose of 200mg/day for one or two months and maintenance of 100mg/day for a period that can vary from six to eight months and for serious cases amphotericin B at 0.5 to 1mg/kg/day or on alternate days.<sup>1</sup> To the latter, there is a further possibility of association with the new antifungal formulations, provided that this is in accordance with the cost policy compatible with the reality of the Public Health Services and the target clientele. It should always be kept in mind that the therapeutics for paracoccidiodomyces go beyond the choice of drug. Possible and frequent, co-morbidity, poor nutrition, anemia, problems of adherence to the treatment and attention to the patients' social circumstances have to be considered and are a part of the therapeutic planning.*

## CONCLUSION

*Ninety five years after the pioneering description by Adolfo Lutz,<sup>66</sup> paracoccidiodomyces is still an illness that requires consideration, continuous interest and a multidisciplinary approach. The accumulation of reports within a short space of time, as partially described here, demonstrates the volume of studies dedicated to P. brasiliensis and paracoccidiodomyces. Reports relative to distinct areas, including that dealing with the clinical manifestations and therapeutics, demonstrate that this remains an open field for the investigation and dedication of dermatologists.* □

**REFERÊNCIAS / REFERENCES**

1. Marques AS. Paracoccidioidomicose. *An bras Dermatol* 1998; 73(5): 455-69.
2. Kwon-Chung KJ, Bennet J E. *Medical Mycology*. Philadelphia: Lea & Febiger, 1992: 248-79.
3. Naif RD, Ferreira LCL, Barret TV et al. Paracoccidioidomicose em tatus (*Dasybus novemcinctus*) no Estado do Pará. *Ver Inst Med trop São Paulo*. 1986; 28(1): 19-27.
4. Naif RD, Barreto T. Novos registros de Paracoccidioides brasiliensis em tatus (*Dasybus novemcinctus*). *Anais do Congresso Brasileiro de Parasitologia*. Rio de Janeiro. 1989. Abstract 197.
5. Macedo R, Lacerda M, Trilles Reis R. Infecção natural de tatus por Paracoccidioides brasiliensis em Serra da Mesa, Goiás: Estudo preliminar. *Anais do II Congresso Brasileiro de Micologia*. Rio de Janeiro. 1998. Abstract 182.
6. Baglagi E, Sano A, Coelho KI et al. Isolation of Paracoccidioides brasiliensis from armadillos (*Dasybus novemcinctus*) captured in an endemic area of paracoccidioidomycosis. *Am J Trop Med Hyg* 1998; 58: 505-12.
7. Corredor GG, Castaño JH, Peralta LA et al. Isolation of Paracoccidioides brasiliensis from the nine-banded armadillo *Dasybus novemcinctus*, in an endemic area for paracoccidioidomycosis in Colombia. *Rev Iberoam Micol* 1999; 16(4): 216-20.
8. Silva-Vergara ML, Martinez R, Camargo ZP, Malta MHB, Maffei CML, Chadu JB. Isolation of Paracoccidioides brasiliensis from armadillos (*Dasybus novemcinctus*) in an area where the fungus was recently isolated from soil. *Med Mycol* 2000; 38(3): 193-9.
9. Franco M, Bagagli S, Scapolio S, Lacaz CS. A critical analysis of isolation of Paracoccidioides brasiliensis from soil. *Med Mycol* 2000; 38(3):185- 92.
10. Restrepo A, McEwen JG, Castañeda E. The habitat of Paracoccidioides brasiliensis: how far from solving the riddle? *Med Mycol* 2001; 39(3): 233-41.
11. Ono MA, Bracarense APFRL, Morais HAS, Trapp SM, Belitardo DR. Canine paracoccidioidomycosis: a seroepidemiological study. *Med Mycol* 2001; 39(3): 277- 85.
12. Fagundes RQ. Pesquisa da paracoccidioidomicose em cães (canis familiaris) na região endêmica de Botucatu, São Paulo. Dissertação de Mestrado. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia de Botucatu da Universidade Estadual Paulista - Unesp. 2002.
13. Ricci G, Silva IDCG, Mota FT, Wakamatsu A, Franco MF. Canine paracoccidioidomycosis: report on the first case of the literature. *ARBS. Ann Rev Bio Sciences. Special Issue* 2002.
14. Costa EO, Diniz LSM, Fava Netto C, Arruda C, Dagli MLZ. Delayed hypersensitive test with paracoccidioidin in captive Latin American wild animals. *J Med Vet Mycol* 1995; 33(1): 39-42.
15. Grosse E, Tamsitt J. Paracoccidioides brasiliensis recovered from the intestinal tract of three bats (*Artibeus lituratus*) in Colombia. *Sabouraudia* 1965; 4: 125-5.
16. Jhonson W, Lang C. Paracoccidioidomycosis (South American blastomycosis) in a squirrel monkey (*Samiri sciureus*). *Vet Pathol* 1977; 14: 368-71.
17. Garcia NM, Del Negro GMB, Heins-Vacari EM, Melo NT, Assis CM, Lacaz CS. Paracoccidioides brasiliensis, nova amostra isolada de fezes de um pingüim (*Pygocelis adeliae*). *Rev Inst Med trop São Paulo* 1993; 35: 227- 35.
18. Silva-Vergara ML, Martinez R, Chadu A, Madeira M, Freitas-Silva G, Maffei CML. Isolation of Paracoccidioides brasiliensis strain from the soil of a coffee plantation in Ibiá, State of Minas Gerais, Brazil. *Med Mycol* 1998; 36: 37-42.
19. Ono MA, Itano EN, Mizuno LT, Mizuno EHF, Camargo ZP. Inhibition of Paracoccidioides brasiliensis by pesticides: Is this a partial explanation for the difficulty in isolating this fungus from the soil? *Med Mycol* 2002; 40(5): 493- 50.
20. Fonseca ERS, Pardal PPO, Severo LC. Paracoccidioidomycose em crianças em Belém do Pará. *Rev Soc Bras Med Trop* 1999; 32(1):31-3.
21. Wanke B, Londero AT. Epidemiology and Paracoccidioidomycosis infection. In: Franco M, Lacaz CS, Restrepo-Moreno, Del Negro G, eds. *Paracoccidioidomycosis*. Boca Raton: CRC Press. 1994: 109-20.
22. Franco M, Montenegro MR, Mendes RP, Marques SA, Dillon NL, Mota NGS. Paracoccidioidomycosis: a recently proposed classification of its clinical forms. *Rev Soc Bras Med Trop* 1987; 20(2): 129-32.
23. Nogueira SA, Guedes AL, Wanke B. et al. Osteomyelitis caused by Paracoccidioides brasiliensis in a child from the metropolitan area of Rio de Janeiro. *J Trop Ped* 2001; 47: 311- 15.
24. Wanke B Paracoccidioidomycose. Inquérito intradérmico com paracoccidioidina em zona urbana do município do Rio de Janeiro. Tese. Universidade Federal do Rio de Janeiro. 1976.
25. Costa PSG, Hollanda BVS, Assis RVC, Costa SMCR, Valle LMC. Parinaud's oculoglandular syndrome associated with paracoccidioidomycosis. *Rev Inst Med trop São Paulo* 2002; 44(1): 49-52.
26. Pereira da Silva CEA, Cordeiro AF, Gollner AM, Cupoliolo SMN, Quesado-Filgueiras M, Curzio MF. Paracoccidioidomycose do Sistema Nervoso Central. Relato de caso. *Arq Neuropsiquiatr* 2000; 58(3-A): 741-7.
27. Valle ACF, Skacel M, Costa RL, Ribeiro CT, Montagna NA, Cruz LC. A case report of intraspinal paracoccidioidomycosis. *Rev Inst Med trop São Paulo* 1998; 40(3): 203-7.
28. Villa LA, Tóbon A, Restrepo A, et al. Central Nervous System paracoccidioidomycosis. Report of a case successfully treated with itraconazol. *Rev Inst Med trop São Paulo* 2000; 42(4): 231-4.
29. Pla MP, Hartung C, Mendoza P, Stukanoff A, Moreno MJ. Neuroparacoccidioidomycosis: case report and review. *Mycopathologia* 1994; 127: 139-44.
30. Finamor LP, Muccioli C, Martins MC, Rizzo LV, Belfort Jr R. Ocular and Central Nervous System paracoccidioidomycosis in a pregnant woman with the Acquired Immunodeficiency Syndrome. *Am J Ophthalmol* 2002; 134(3): 456- 459.
31. Bernard G, Duarte AJS. Paracoccidioidomycosis: a model for evaluation of the effects of Human Immunodeficiency Virus infection of the natural history of endemic tropical diseases. *Clin Infect Dis* 2000; 31: 1032-9.
32. Marques SA, Robles AM, Tortorano AM, Tuculet MA, Negroni R, Mendes RP. Mycoses associated with AIDS in the Third World. *Med Mycol* 2000; 38(suppl 1): 269-79.
33. Anônimo. Distribuição dos casos de AIDS no Brasil 1980-1999. *Boletim Epidemiológico AIDS-Ministério da Saúde do Brasil* 1999; 12: 25-53.
34. Tóbon AM, Orozco B, Estrada S. et al. Paracoccidioidomycosis and AIDS:report of the first two Colombian cases. *Rev Inst Med trop São Paulo* 1998; 40(6): 377-83.
35. Nogueira SA, Caiuby J, Vasconcelos V. et al. Paracoccidioidomycosis and tuberculosis in AIDS patients: report of two cases in Brazil. *Int J Infect Dis* 1998; 2: 168-72.
36. Marques SA, Shikanai-Yasuda MA. Paracoccidioidomycosis associated with immunosuppression, AIDS, and cancer. In: Franco

- M, Lacaz CS, Restrepo-Moreno A, Del Negro G, eds. Paracoccidioidomycosis. Boca Raton: CRC Press. 1994:393-405.
37. Ricci G, Silva IDCG, Oshima CTF, Machado, PGP, Franco MF. Paracoccidioidomycosis in a transplanted kidney patient. Report on the second case of the literature. ARBS. Ann Rev Bio Sci Special Issue 2002: 112.
38. Castro LGM, Muller AP, Mimura MA, Migliari DA. Hard palate perforation: an unusual finding in paracoccidioidomycosis. Int J Dermatol 2001; 40(4): 281-83.
39. Bisinelli JC, Telles FQ, Sobrinho JA, Rapoport A. Manifestações estomatológicas da paracoccidioidomycose. Rev bras Otorrinolaringol 2001; 67(5 pt-1):683-7.
40. Severo LC, Kauer CL, Oliveira F, Rigatti RA, Hartmann AA, Londero AT. Paracoccidioidomycosis of the male genital tract. Report of eleven cases and review of Brazilian literature. Rev Inst Med trop São Paulo. 2000; 42(1): 38-40.
41. Cherri J, Freitas MA, Llorach-Velludo MA, Piccinato CE. Paracoccidioidomycosis aortitis with embolization to the lower limbs. Report of a case and review of the literature. J Cardiovasc Surg 1998; 38(5): 573-6.
42. Maldonado MCJ. Comprometimento vascular na paracoccidioidomycose. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de São Paulo. 1996.
43. Puccia R, Schenkman S, Gorin PAJ, Travassos LR. Exocellular components of Paracoccidioides brasiliensis: identification of a specific antigen. Infect Immun 1986; 53: 199-06.
44. Puccia R, Travassos LR. 43-kilodalton glycoprotein from Paracoccidioides brasiliensis: immunochemical reactions with sera from patients with paracoccidioidomycosis, histoplasmosis and Jorge Lobo's disease. J Clin Microbiol 1991; 29: 2610-5.
45. Camargo ZP, Franco MF. Current knowledge on pathogenesis and immunodiagnosis of paracoccidioidomycosis. Rev Iberoam Micol 2000; 17(2): 41-8.
46. Restrepo A. Report of activities of the committee on paracoccidioidomycosis serodiagnosis. ISHAM Myc Newsletter. 1992; 59:4.
47. Valle ACF, Costa RLB, Fialho Monteiro Von Helder J, Muniz MM, Zancopé-Oliveira RM. Interpretation and clinical correlation of serological tests in paracoccidioidomycosis. Med Mycol 2001; 39(1): 373-7.
48. Del Negro GMB, Pereira CN, Andrade HF. Et al. Evaluation of tests for antibody response in the follow up of patients with acute and chronic forms of paracoccidioidomycosis. J Med Microbiol 2000; 49: 37-46.
49. Mendes-Giannini MJS, Del Negro GB, Siqueira AM. Serodiagnosis. In: Franco M, Lacaz CS, Restrepo-Moreno, Del Negro G, eds. Paracoccidioidomycosis. Boca Raton: CRC Press. 1994.345-363.
50. Camargo ZP, Unterkircher CS, Travassos ZP. Identification of antigenic polypeptides of Paracoccidioides brasiliensis by immunoblotting. J Med Vet Mycol 1989; 27:407- 12.
51. Goldani LZ, Maia AL, Sugar AM. Cloning and nucleotide sequence of a specific DNA fragment from Paracoccidioides brasiliensis. J Clin Microbiol 1995; 33: 1652-4.
52. Goldani LZ, Sugar AM. Use of the polymerase chain reaction to detect Paracoccidioides brasiliensis in murine paracoccidioidomycosis. Am J Trop Med Hyg 1998; 58: 152-3.
53. Gomes GM, Cisalpino PS, Taborda CP, Camargo ZP. PCR for diagnosis of paracoccidioidomycosis. J Clin Microbiol 2000; 38: 3478-80.
54. San-Blas G, Nino-Vega, G Iturriaga T. Paracoccidioides brasiliensis and paracoccidioidomycosis: Molecular approaches to morphogenesis, diagnosis, epidemiology, taxonomy and genetics. Med Mycol 2002; 40(3): 225-42.
55. Morais FV, Barros TF, Fukada MK, Cisalpino OS, Puccia R. Polymorphism in the gene coding for the immunodominant antigen gp43 from the pathogenic fungus Paracoccidioides brasiliensis. J Clin Microbiol 2000; 38: 3960-6.
56. Santos JW, Severo LC, Porto NS. Fine needle aspiration in the diagnosis of pulmonary diagnosis. Mycopathologia 1998; 143(2): 65-9.
57. Shikanai-Yasuda MA, Benard G, Higaki Y et al. Randomized trial with itraconazole, ketoconazole and sulfadiazine in paracoccidioidomycosis. Med Mycol 2002; 40(4): 411-8.
58. Ollague JM, Zurita AM, Calero G. Paracoccidioidomycosis (South American blastomycosis) successfully treated with terbinafine: first case report. Br J Dermatol 2000; 188-91.
59. Hahn RC, Fontes CJF, Batista RD, Hamdan JS. In vitro comparison of activities of terbinafine and itraconazole against Paracoccidioides brasiliensis. J Clin Microbiol 2002; 40(8): 2828-31.
60. Dietze R, Fowler Jr VG, Steiner, TS, Peçanha PP, Corey GR. Failure of Amphotericin B colloidal dispersion in the treatment of paracoccidioidomycosis. Am J Trop Med Hyg 1999; 60(5): 837-9.
61. Carrilo-Munoz AJ, Brio S, Quindóz G. Uma nueva generación de fármacos antifúngicos. Rev Iberoam Micol 2001; 18(1): 2-5.
62. Queirós-Telles F. Treatment of patients with paracoccidioidomycosis: new insights and approaches. ARBS. Ann Rev BioSci. Special Issue. 2002: 26-7.
63. Barchesi F, Schimizzi AM, Fothergill AW, Scalise G, Rinaldi MG. In vitro activities of the two new echinocandin antifungal MK-0991 against common and uncommon clinical isolates of Candida species. Eur J Microbiol Infect Dis 1999; 18: 302-4.
64. Barchesi F, Arzeni D, Fothergill AW, et al. In vitro activities of the new antifungal triazole SCH 56592 against common and emerging yeast pathogens. Antimicrob Agents Chemother 2000; 44: 226-9.
65. Connolly O, Wheat LJ, Schinziein-Bick C, et al. Comparison of a new triazole, posaconazole, with itraconazole and amphotericin B for the treatment of histoplasmosis following pulmonary challenge in immunocompromised mice. Antimicrob Agents Chemother 2000; 44: 2604-8.
66. Lutz A. Uma mycose pseudococcidica localisada na boca e observada no Brazil. Contribuição ao conhecimento das hyphoblastomycose americanas. Bras-Méd 1908; 22: 121- 4.

---

**ENDEREÇO PARA CORRESPONDÊNCIA: / MAILING ADDRESS:**

**Silvio Alencar Marques**  
**Faculdade de Medicina de Botucatu**  
**Departamento de Dermatologia**  
**Distrito de Rubião Júnior Botucatu SP**  
**Tel/Fax: (14) 6802-6015 / 6822- 4922**  
**E-mail: smarques@fmb.unesp.br**

## Questões e Resultados das Questões / Questions and Answers to Questions

1. O isolamento do *Paracoccidioides brasiliensis* a partir de animais silvestres ou domésticos tem importância na medida em que
  - a) auxilia na delimitação de áreas em que o fungo está disponível na natureza, ou seja, áreas de reservatório.
  - b) medidas preventivas, para se evitar o contágio com o fungo, podem ser instituídas, como, por exemplo, o combate ao hábito de consumir carne de tatu.
  - c) reforça os dados históricos de maior prevalência da doença em escavadores de poços na zona rural.
  - d) indica que o fungo está tão disponível na zona urbana quanto na rural.
2. Das técnicas utilizadas para obtenção do isolamento do *P. brasiliensis* a partir do tatu pode-se inferir que
  - a) a semeadura em diferentes meios de cultura de fragmentos de vísceras foi o método mais sensível.
  - b) a inoculação de homogeneizados de tecidos em animais de experimentação foi o método mais efetivo.
  - c) métodos histopatológicos só são úteis após infecção positiva em animais inoculados.
  - d) a técnica da PCR só é útil após infecção positiva em animais inoculados
3. O diagnóstico da paracoccidioidomicose doença no cão descrito como cão de vida urbana, por histopatologia e imuno-histoquímica, nos obriga às seguintes reflexões:
  - a) a questionar o diagnóstico, pois o cão é urbano, e o agente não foi cultivado.
  - b) o fato de ser cão de zona urbana não exclui eventual contágio em parques ou quintais.
  - c) a questionar o diagnóstico, pois reconhecer o *P. brasiliensis* em tecido animal é muito difícil.
  - d) a aceitar o diagnóstico, pois o tratamento com cetoconazol foi eficaz.
4. Casos suspeitos de paracoccidioidomicose, forma aguda, em crianças nos levam a
  - a) considerar diagnósticos diferenciais, como, por exemplo, doença linfoproliferativa.
  - b) investigar quadros associados, como, por exemplo, desnutrição, anemia e parasitoses.
  - c) proceder a exames com a finalidade de detectar visceromegalia ou massa ganglionar intra-abdominal.
  - d) afirmar que todas as respostas anteriores estão corretas.
5. Casos de paracoccidioidomicose, forma aguda (tipo juvenil),
  - a) podem ser indicativos de infecção recente e rapidamente progressiva.
  - b) podem oferecer indícios de doença autóctone.
  - c) são sinônimo de especial atenção e cuidados.
  - d) Todas as respostas anteriores estão corretas.
6. Paciente de 12 anos com história de febre vespertina, emagrecimento e icterícia há 60 dias. Veio encaminhada com forte suspeita de hepatite viral com atividade persistente e está em tratamento com antivirais. Não há adenomegalia superficial ou intra-abdominal aparente. Chamado devido a raras lesões acneiformes na região frontal e malar, você
  - a) não faria grandes conexões, pois as lesões acneiformes podem ter a ver com possível farmacodermia.
  - b) consideraria que icterícia é evento raro na paracoccidioidomicose, e, se não há adenomegalia, a possibilidade do diagnóstico é ínfima.
  - c) diria que lesão cutânea é possível na paracoccidioidomicose da forma aguda, mas não a do tipo acneiforme
  - d) Considerando que, em casos de diagnóstico em aberto há que valorizar todas as evidências, e, se as lesões acneiformes possuísssem base infiltrada, pensaria em processo infeccioso específico.
7. No caso anterior, que outros raciocínios seriam possíveis?
  - a) Icterícia na paracoccidioidomicose é sinônimo de adenomegalia comprimindo hilo hepático.
  - b) Caso seja icterícia relacionada de alguma maneira à paracoccidioidomicose, será melhor, pois não há que se preocupar com cirrose biliar.
  - c) Se a icterícia for conseqüente à retenção biliar, o diagnóstico de massa ganglionar extra-hepática está fechado.
  - d) Paracoccidioidomicose intra-hepática existe, pode cursar com icterícia e pode perfeitamente ocorrer sem adenomegalias visíveis.
8. Caso seja confirmada paracoccidioidomicose de forma aguda (tipo juvenil) no caso acima, um bom plano de investigação seria:
  - a) realizar cintilografia ou *screening* ósseo, pois há boa possibilidade de existirem lesões ósseas.
  - b) item a, mais perfil de laboratório com sorologia específica, hemograma, parasitológico e enzimas hepáticas, bilirrubinas.
  - c) item b, mais ultra-sonografia de abdômen, proteínas totais e frações, RX tórax.
  - d) sendo possíveis, todas as respostas acima são desejáveis.
9. Associação de paracoccidioidomicose e infecção pelo HIV não é, aparentemente, comum. Mas é possível considerar que
  - a) os números podem estar subestimados, na medida em que casos ocorrem e não são relatados, e a notificação não é atualizada.
  - b) a associação com a infecção pelo HIV é de esperar que ocorra com valores de  $CD4+ \leq 200$  células/mm<sup>3</sup>
  - c) a gravidade do caso e o índice de mortalidade nos obrigam a dar atenção redobrada a tais casos.
  - d) Todas as respostas acima estão corretas.

10. Para se firmar o diagnóstico de paracoccidiodomicose,

- exige-se a identificação do agente no exame direto, histopatológico ou cultivo.
- a compatibilidade sorológica não autoriza o tratamento de prova.
- tratamento de prova com bons resultados é demonstração irrefutável.
- não há fungo que se confunda morfológicamente com o *P. brasiliensis* no tecido.

11. A respeito dos testes sorológicos na paracoccidiodomicose, pode-se dizer que

- a técnica de Elisa apresenta sensibilidade diagnóstica expressiva.
- as técnicas de imunodifusão e contra-imunoeletroforese são testes que se caracterizam por expressiva especificidade.
- como os testes são mais úteis ao seguimento do paciente durante e pós-tratamento, é importante que o teste seja sensível.
- Todas as afirmativas acima estão corretas.

12. Firmado o diagnóstico, o plano terapêutico poderia ser delineado como se segue:

- atenção ao diagnóstico e tratamento de possíveis comorbidades.
- adequar proposta terapêutica às eventuais terapêuticas em uso.
- aderência ao tratamento pode contar mais do que a potência específica da droga.
- Todas as alternativas acima estão corretas.

13. Quando se opta pelo itraconazol no tratamento da paracoccidiodomicose, supõe-se que

- interação medicamentosa é algo incomum e não limita a escolha.
- interação medicamentosa é algo a ser pensado, principalmente se houver tuberculose associada.
- que seja droga com perfil de segurança adequado, mesmo em pacientes com histórico de consumo de bebidas alcoólicas.
- as alternativas b e c são as mais corretas.

14. Dos critérios de cura na paracoccidiodomicose,

- ambos podem ser aplicados no curto prazo pós-tratamento.
- o critério clínico é o mais fidedigno.
- o critério sorológico pode ser tomado como dado isolado e decisivo.
- Nenhuma das alternativas anteriores é correta.

15. Das novas drogas antifúngicas em experimentação ou já disponíveis,

- as da família das equinocandinas não parecem oferecer eficácia terapêutica na paracoccidiodomicose.
- derivados triazólicos de segunda geração, como o voriconazol, podem vir a ser opção na paracoccidiodomicose.
- eficácia contra histoplasmose ou contra criptococose não são bons indicativos de eficácia na paracoccidiodomicose.
- O posaconazol, apesar de ser derivado triazólico, não parece ter lugar entre as futuras opções na paracoccidiodomicose.

## GABARITO

Doenças Priônicas: avaliação dos riscos envolvidos na utilização de produtos de origem bovina  
2003; 78(1): 7-18

1- c	11- c
2- c	12- c
3- b	13- b
4- a	14- c
5- c	15- c
6- d	16- d
7- e	17- b
8- c	18- c
9- d	19- c
10- a	20- d