

## ANEXO IV

Margem superior 3 cm

Configuração da página  
Papel A4

Tipo de Fonte:  
Times New Roman - TNR

Elemento textual - Espaçamento  
Entre linhas 1,5  
Tamanho da fonte: 12

MODELO

Margem esquerda 3 cm

Margem direita 2 cm

Margem inferior 2 cm

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
DEPARTAMENTO DE ANÁLISES CLÍNICAS E BIOMEDICINA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOCÊNCIAS E  
FISIOPATOLOGIA  
(Times 14 maiúsculo centralizado)

MODELO

THÂMARA ALINE BERTONI  
(Times 12 maiúsculo centralizado)

(Título: Times 14 centralizado, minúsculo)

Diagnóstico laboratorial diferencial entre tuberculose e paracoccidiodomicose

Maringá  
2013  
(Times 12 centralizado)

THÂMARA ALINE BERTONI  
(Times 12 maiúsculo centralizado)

(Título: Times 14 centralizado)

Diagnóstico laboratorial diferencial entre tuberculose e paracoccidiodomicose

MODELO

(Times 12 parágrafo justificado recuo esquerdo)

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biociências e Fisiopatologia do Departamento de Análises Clínicas e Biomedicina, Centro de Ciências da Saúde da Universidade Estadual de Maringá, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Biociências e Fisiopatologia

Área de concentração: Biociências e Fisiopatologia Aplicadas à Farmácia

Orientador: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Terezinha Inez Estivalet Svidzinski

Coorientador: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Eliana Valéria Patussi

Maringá

2013

(Times 12 centralizado)

Ficha Catalográfica – Elemento obrigatório\*

\*Elaborado pela Biblioteca Central

MODELO

Essa ficha deve ser impressa no verso da folha de rosto

"Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)"  
(Biblioteca Central - UEM, Maringá - PR., **Brasil**)

R696v

Rodrigues, Luzia Cleide, 1968-

Varição interanual da comunidade fitoplanctônica em ambientes da planície de inundação do alto rio Paraná : influência do regime hidrossedimentológico / Luzia Cleide Rodrigues. -- Maringá, 2007.  
vi, 63 f. : il.

Tese (doutorado em Ecologia de Ambientes Aquáticos Continentais)--Universidade Estadual de Maringá, Dep. de Biologia, 2007.

Orientador: Profª Drª Sueli Train.

1. Fitoplâncton de água doce - Ecologia - Variações interanuais - "El Nino" e "La Niña" - Planície de inundação - Alto rio Paraná. 2. Fitoplâncton de água doce - Barramento - Planície de inundação - Alto rio Paraná. I. Universidade Estadual de Maringá. Departamento de Biologia. Programa de Pós-Graduação em "Ecologia de Ambientes Aquáticos Continentais".

CDD 22. ed. -579.817609816  
NBR/CIP - 12899 AACR2

ERRATA<sup>\*</sup>  
(Times 14 maiúsculo centralizado)

RODRIGUES, Luzia Cleide. **Diagnóstico laboratorial diferencial entre tuberculose e paracoccidioidomicose**. Maringá, 2009. 47 f., il. Dissertação (Mestrado em Biociências Aplicadas à Farmácia)--Dep. de Análises Clínicas e Biomedicina, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2009.

Folha	Linha	Onde se lê	Leia-se
30	1	publicação	publicação

\*Elemento opcional.

# FOLHA DE APROVAÇÃO\*

(Times 14 maiúsculo centralizado)

THÂMARA ALINE BERTONI

(Times 12 maiúsculo centralizado)

(Título: Times 14 centralizado)

## Diagnóstico laboratorial diferencial entre tuberculose e paracoccidiodomicose

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biociências e Fisiopatologia do Departamento de Análises Clínicas e Biomedicina, Centro de Ciências da Saúde da Universidade Estadual de Maringá, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Biociências e Fisiopatologia pela Comissão Julgadora composta pelos membros:

### COMISSÃO JULGADORA

(orientador e os 2 titulares da defesa pública)

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Terezinha Inez Estivalet Svidzinski  
Universidade Estadual de Maringá (Presidente)

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Rosilene Fressatti Cardoso  
Universidade Estadual de Maringá

Prof. Dr. Jorge Juarez Vieira Teixeira  
Universidade Estadual de Maringá

Prof. Dr. Wagner Luiz Batista  
Universidade Federal de São Paulo

Prof. Dr. Divaldo Lyra Filho  
Universidade Federal de Sergipe

Aprovada em: 30 de março de 2009.

Local de defesa: Sala 05, Bloco J-90, *campus* da Universidade Estadual de Maringá.

\*Elemento obrigatório.

DEDICATÓRIA(S)\*  
(Times 14 maiúsculo centralizado)

MODELO

Dedico este trabalho a todos  
aqueles que contribuíram para  
sua realização.

\*Elemento opcional.

## AGRADECIMENTO(S)\*

(Times 14 maiúsculo centralizado)

Agradeço a Deus pai, pela sabedoria e inspiração.

Aos meus pais, Lourdes e Donizete, e a meu irmão Robson, pelo apoio, compreensão, amor, carinho e por sempre acreditarem e depositarem em mim toda confiança de que sou capaz. Sem vocês com certeza eu não teria conseguido.

Ao meu namorado, Johny, pelo incentivo e compreensão nos vários momentos em que tive que escolher a pesquisa ao namoro.

Aos funcionários, amigos e estagiários dos laboratórios de Micologia Médica e Bacteriologia – LEPAC, meus sinceros agradecimentos.

Aos pacientes, que permitiram a realização dos exames em seus materiais biológicos. Que esse trabalho possa vir ajudá-los cada vez mais em suas enfermidades; e àqueles falecidos sem o correto diagnóstico, que repousem na glória do Senhor.

A secretária do PBF, Luciane, pela dedicação e prontidão em me atender e ajudar tanto no âmbito profissional como no pessoal. Lú em muitos deles você foi um anjo que Deus colocou no meu caminho.

A minha co-orientadora, Valéria para os íntimos, pelo apoio científico e emocional, pela amizade, carinho e persistência depositados em mim. Com toda certeza hoje tenho mais que uma professora, tenho uma amiga para toda vida.

E a minha orientadora, Prof<sup>a</sup> Terezinha, toda minha gratidão e admiração. Obrigada pelos conhecimentos científicos, pelos ensinamentos de vida, companheirismo, amizade, dedicação e confiança transmitidos no decorrer desses oito anos de convivência. Muito obrigada pelas oportunidades oferecidas a mim e por sempre acreditar na minha capacidade. Estamos de parabéns!

\*Elemento obrigatório: O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001

**\*Elemento obrigatório, de acordo com a Portaria nº 206, de 4 de setembro de 2018 da CAPES.**



## EPÍGRAFE\*

(Times 14 maiúsculo centralizado)

MODELO

Se quiseres conhecer uma pessoa,  
não lhe pergunte o que pensa,  
mas sim o que ama.

(SANTO AGOSTINHO)

\*Elemento opcional.

(Título: Times 14 justificado)

## Diagnóstico laboratorial diferencial entre tuberculose e paracoccidioidomicose

### RESUMO

(Times 12 centralizado negrito)

A paracoccidioidomicose (PCM) e a tuberculose (TB) são doenças graves, fatais, com sintomatologia respiratória importante, entretanto só a TB é investigada rotineiramente. O objetivo deste estudo foi determinar a prevalência de PCM entre os pacientes sintomáticos respiratórios residentes em Maringá e o aprimoramento do diagnóstico laboratorial da PCM. Foram analisadas amostras de escarro e sangue de pacientes triados para o diagnóstico de TB, encaminhadas ao Laboratório de Ensino e Pesquisa em Análises Clínicas – LEPAC/UEM. De todos os pacientes foram realizados os seguintes métodos: 1) baciloscopia e cultura para bacilo-álcool-ácido resistentes (BAAR); 2) exame micológico direto, coloração metenamina-prata segundo Gomori-Grocott para investigar a presença de *Paracoccidioides brasiliensis*; 3) três técnicas sorológicas para PCM: Imunodifusão, ELISA e *Western blot* (WB). Os resultados foram divididos em dois artigos. No primeiro, “Paracoccidioidomicose e tuberculose: o erro diagnóstico ainda persiste” foi relatado o caso de um paciente portador de PCM, supostamente há 15 anos, que apesar das pesquisas de BAAR sempre negativas, foi tratado empiricamente para TB, por duas vezes sem sucesso. O correto diagnóstico somente ocorreu com este estudo, chamando a atenção para a importância da investigação paralela de TB e PCM. Já o segundo artigo “Contribuição do *Western blot* no diagnóstico diferencial entre paracoccidioidomicose e tuberculose pulmonar”, é um informe preliminar mostrando a contribuição do WB no diagnóstico diferencial entre essas doenças. Foi proposto um ponto de corte capaz de minimizar possíveis reações cruzadas entre TB e PCM, apresentando a técnica de WB como uma importante ferramenta a ser utilizada em laboratórios clínicos.

**Palavras-chave:** Paracoccidioidomicose. Tuberculose. *Western blot*. Diagnóstico diferencial.

Erro diagnóstico.

\*Elemento obrigatório.

(Título: Times 14 justificado)

## Differential laboratory diagnosis between tuberculosis and paracoccidioidomycosis

### **ABSTRACT**

(Times 12 centralizado negrito e itálico)

Paracoccidioidomycosis (PCM) and tuberculosis (TB) are serious and fatal diseases with important respiratory symptoms; however only TB is routinely investigated. The aim of this study was determine the PCM prevalence in pulmonary symptomatic patients living in Maringá and improve the laboratory diagnosis of PCM. Sputum and blood samples of patients attended at Laboratório de Ensino e Pesquisa em Análises Clínicas – LEPAC/UEM for TB diagnosis were analyzed. The following techniques were performed for all patients: 1) Acid fast smear and culture for mycobacteria; 2) direct mycological exam and special stain Gomori-Grocott methenamine silver to investigate the presence of *Paracoccidioides brasiliensis*; 3) three serologic techniques for PCM ( Immunodifusion, ELISA and Western blot -WB). The results were shown in two papers. In first, “Paracoccidioidomycosis and tuberculosis: misdiagnosis still persists” is a paracoccidioidomycosis case report of a patient that had symptoms during fifteen years, in spite of never have had a positive Acid fast smear, he received twice empirical treatment for TB with no success. The correct diagnosis occurred only with this study, and attracts attention to the importance to run a parallel investigation between TB and PCM. As a second paper “Western blot (WB) contribution in differential diagnosis between paracoccidioidomycosis and pulmonary tuberculosis”, is a preliminary study showing the contribution of the WB in the differential diagnosis between these diseases. It was proposed a cut-off to minimize cross reaction between both diseases, showing WB with a potential tool to be included in clinical laboratories.

**Keywords:** Paracoccidioidomycosis. Tuberculosis. Western blot. Differential diagnosis. Misdiagnosis.

Obs.: Conforme a norma da ABNT NBR 6022/2003 a palavra *Keywords* está escrita junta, em negrito e itálico.

\*Elemento obrigatório.

(Título: Times 14 maiúsculo  
centralizado)

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES\*

Figura 1 Exame micológico direto .....	29
Figura 2 <i>P. brasiliensis</i> em esfregaço de escarro corado pela técnica de Gomori-Grocott em aumento de 40X.....	29
Figura 3 Resultados da sorologia por Western blot.....	29

OBS: Conforme norma da ABNT NBR 14724:2005/2006 – Elemento opcional, que deve ser elaborado de acordo com a ordem apresentada no texto, com cada item designado por seu nome específico, acompanhado do respectivo número da página. Quando necessário, recomenda-se a elaboração de lista própria para cada tipo de ilustração (desenhos, esquemas, fluxogramas, fotografias, gráficos, mapas, organogramas, plantas, quadros, retratos e outros).  
Obs.: Neste item, fica a critério do autor a elaboração de lista de ilustrações para demonstração de quadros, figuras e gráficos; ou utilizar as listas separadamente, conforme exemplos seguintes.

\*Elemento opcional.

MODELO

Dissertação elaborada e formatada conforme as normas das publicações científicas: *Jornal Brasileiro de Pneumologia* (artigo 1)

Disponível em:

[http://www.scielo.br/scielo.php?pid=1806-3713&script=sci\\_serial](http://www.scielo.br/scielo.php?pid=1806-3713&script=sci_serial) e *Revista da*

*Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*.

(artigo 2) Disponível em:

<[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_serial&pid=0037-8682&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_serial&pid=0037-8682&lng=en&nrm=iso)>\*

Elemento obrigatório, de acordo com a Resolução N° 040/2008-CI/CCS art 38, parágrafo 1° e normas para defesa de dissertação PBF aprovadas por meio da

Portaria N° 033/2009-PBF

## SUMÁRIO\*

1	CAPÍTULO I.....	17
	Histórico .....	17
	O Fungo .....	18
	A Doença .....	19
	Diagnóstico.....	21
	Justificativa .....	22
	Objetivos.....	23
1.5	Referências Bibliográficas.....	24
2	CAPÍTULO II.....	28
	Paracoccidioomicose e tuberculose: a dificuldade de diagnóstico ainda persiste? .....	29
	Contribuição da técnica de <i>Western blot</i> no diagnóstico diferencial entre paracoccidioomicose e tuberculose pulmonar .....	40
3	CAPÍTULO III .....	48
	Conclusões.....	48
	Perspectivas Futuras .....	49

### \*Elemento obrigatório

**OBS: Conforme a NBR 14724:2005/2006, item Paginação:**

**“Todas as folhas do trabalho, a partir da folha de rosto, devem ser contadas sequencialmente, mas não numeradas. A numeração é colocada, a partir da primeira folha da parte textual, em algarismos arábicos, no canto superior direito da folha, a 2 cm da borda superior, ficando o último algarismo a 2 cm da borda direita da folha. Havendo apêndice e anexo, as suas folhas devem ser numeradas de maneira contínua e sua paginação deve dar seguimento à do texto principal”.**

## CAPÍTULO I

### HISTÓRICO

A micose sistêmica granulomatosa hoje definida como Paracoccidioidomicose (PCM ou Pb micose) já foi denominada de Blastomicose brasileira, Granuloma paracoccidióico, Blastomicose sul-americana, Moléstia de Lutz-Esplendore-Almeida, Moléstia de Almeida, Granulomatose blastomicóide tropical, Granuloma ganglionar maligno de origem blastomicética, Moléstia de Lutz, Granulomatose paracoccidióidica.

Completando o centenário de sua descoberta neste ano de 2008, a PCM assume importância cada vez maior, dado o aumento crescente dessa micose e, principalmente, em razão da gravidade de algumas de suas lesões anátomo-clínicas. Essa infecção de natureza fúngica tem sido bem estudada pelos pesquisadores brasileiros, sendo, todavia pouco conhecida dos dermatologistas e tropicalistas norte-americanos e europeus<sup>(1)</sup>.

A PCM foi observada pela primeira vez em 1908, no Brasil, por Adolpho Lutz (18/12/1855 – 6/10/1940) – um genial pesquisador brasileiro diplomado em Berna (Suíça) - o qual chamou a atenção para as lesões orais e linfadenopatia cervical encontradas em dois pacientes atendidos na Santa Casa de São Paulo<sup>(2)</sup>.

Diversos trabalhos, muito bem documentados por Splendore, contribuíram tanto para um estudo mais aprofundado da morfologia do fungo agente da PCM como para caracterização clínica da doença. Em 1910, em relatório apresentado ao IV Congresso Médico Latino-Americano, referindo-se aos casos de blastomicose observados até aquela época, Splendore afirmava: “*Esses casos, todos mais ou menos semelhantes entre si, são caracterizados pela localização primitiva da lesão na mucosa da boca*”. E, prosseguindo à página oito do seu trabalho, dizia: “*em dois casos, o início foi propriamente na comissura labial e num terceiro, na gengiva. Os pacientes se queixavam, com frequência de dificuldade de deglutição, alguns tinham enorme secreção salivar; quase todos acusavam extraordinário cansaço geral, sempre crescente*”<sup>(1)</sup>. No entanto, o trabalho fundamental de Splendore foi publicado na Itália, em 1912, no qual estudou quatro casos de PCM e descreveu com precisão os caracteres clínicos dessa infecção. Além disso, neste mesmo ano, propôs a denominação *Zymonema brasiliense* para designar o microrganismo causador dessa forma de micose profunda, extremamente difundida no Brasil.

Em 1930, Floriano Paulo de Almeida revalidou e redescreveu a espécie *brasiliense* de Splendore, dando ao referido microrganismo seu justo lugar em um novo gênero –

*Paracoccidioides*. Desde então, a maioria dos micologistas utilizam a denominação *Paracoccidioides brasiliensis* para designar o agente da PCM. Já o termo Paracoccidioidomicose foi instituído em 1971 na reunião de micologistas das Américas em Medellin e persiste, até hoje, como nomenclatura oficial<sup>(3)</sup>.

Não resta a menor dúvida de que a Lutz e Splendore devemos o estudo dos primeiros casos de PCM observados no Brasil.

## O FUNGO

*P. brasiliensis* é um fungo termo-dimórfico devido à sua capacidade de mudar da forma miceliária (infectante) para a leveduriforme (parasitária) pela diferença de temperatura, sendo este passo crucial para o estabelecimento da infecção pulmonar. No ambiente, temperatura de aproximadamente 25°C, *P. brasiliensis* desenvolve na forma filamentosa e está assim distribuído na natureza, na forma de propágulos infectantes chamados conídios. Esses quando inalados, irão se alojar nos pulmões, onde a temperatura é de 37°C que oferece aos conídios a oportunidade de transformação para leveduras e, então desenvolver a micose<sup>(4)</sup>.

O fungo agente da PCM é um microrganismo verdadeiramente patogênico, que se instala primeiramente nos pulmões e ali pode permanecer por anos circunscrito por um granuloma que é o resultado da resposta primária do hospedeiro produzida a fim de destruir e eliminar o microrganismo. Por alterações na relação fungo-hospedeiro ainda desconhecidas, após anos de quiescência o fungo se reativa e inicia o processo de multiplicação, provocando sérias alterações teciduais<sup>(2)</sup>.

Muitos estudos têm sido realizados a fim de elucidar o habitat natural do *P. brasiliensis*. Franco e colaboradores (5) descreveram como características favoráveis ao seu desenvolvimento solo úmido, rico em matéria orgânica e coberto por vegetação, em regiões com a temperatura em torno de 20°C sem variações drásticas. Existem alguns artigos sobre o isolamento de *P. brasiliensis* do solo, particularmente em áreas de cultivo de café no Brasil<sup>(6)</sup>. Restrepo, McEwen e Castañeda (7), em uma revisão sobre o habitat natural de *P. brasiliensis*, apresentam dados de muitos estudos confirmando a presença do fungo, pelo isolamento em meio de cultura e análise histopatológica, em tatus de nove cintas (*Dasybus novemcinctus*) originários de distintas regiões endêmicas do Brasil: Botucatu - São Paulo, Ibiá - Minas Gerais, Serra da Mesa - Goiás. Em um destes estudos a taxa de infecção aproximou-se de 75%<sup>(8)</sup>. Além disso, dados apontam não só a infecção dos tatus pelo *P. brasiliensis*, mas também a manifestação da doença nestes mamíferos, confirmada pela presença de granulomas encontrados no baço e pulmões destes animais.



Um número de potenciais fatores de virulência e outros eventos são considerados importantes para fungos invasivos, incluindo dimorfismo, crescimento em altas temperaturas, aderência a células do hospedeiro, componentes da parede celular, produção de enzimas como proteinases, lipases, fosfolipases - e outros<sup>(9)</sup>. Nos últimos anos vários grupos de pesquisadores têm investido grandes esforços para elucidar os diversos fatores de virulência do *P. brasiliensis*, tanto em sua forma miceliana como na leveduriforme. Estudos experimentais demonstram diferenças morfológicas entre linhagens distintas de *P. brasiliensis* isoladas de espécimes clínicos após passagem em animal<sup>(10)</sup>.

A produção de melanina é uma característica de resistência já identificada em outros fungos. Estudos *in vitro* mostram que células melanizadas de *Cryptococcus neoformans*, por exemplo, são menos susceptíveis aos danos causados pela luz UV que as células não melanizadas, tornando-os mais resistentes aos intempéries ambientais<sup>(11)</sup>. Silva *et al.* (12) demonstraram a produção de melanina por *P. brasiliensis in vitro*, o que contribuiu tanto para menor susceptibilidade do fungo a potentes drogas antifúngicas, particularmente anfotericina B, como contra a fagocitose. Portanto, a melanização pode apresentar importante impacto nos tratamentos de pacientes com PCM e pode ser um potencial marcador terapêutico no futuro.

Componentes da parede celular também parecem influenciar na virulência do *P. brasiliensis*. Estudos sugerem o envolvimento de paracoccina e quinina na organização da parede celular do fungo: quinina parece se acumular nos sítios de brotamento e pode ser passo crucial na divisão celular. A interação quinina/paracoccina pode estar envolvida na biogênese da parede celular e conseqüentemente no crescimento do *P. brasiliensis*<sup>(13)</sup>.

Em uma revisão sobre a virulência de *P. brasiliensis* baseada no transcriptoma, Tavares e colaboradores (9) puderam fornecer importantes informações sobre a fisiologia do complexo fungo *P. brasiliensis*. A comparação das seqüências de DNA com outros fungos permitiu a identificação de vários genes de virulência no agente da PCM, agrupando-o em cinco classes. Estas se distinguem por genes relacionados ao metabolismo, parede celular, detoxificação, fatores secretados e outros determinantes. Tais achados podem ser úteis, como ponto de partida, para um melhor entendimento molecular deste tão importante patógeno humano.

## A DOENÇA

A PCM está distribuída de forma endêmica na América Latina, principalmente no Brasil, Argentina, Colômbia e Venezuela, afetando com maior freqüência trabalhadores rurais<sup>(14)</sup>. De acordo com dados de inquéritos epidemiológicos realizados com

paracoccidiodina nestes países, acredita-se que em torno de 50% dos habitantes de zonas endêmicas tenham sido expostos ao agente desta micose. A faixa etária mais acometida situa-se entre 30 e 50 anos de idade e mais de 90% dos casos são do sexo masculino. Embora haja grandes variações entre as regiões, na média estima-se que cerca de 10% dos casos da doença ocorram até os 20 anos de idade e os demais ocorram em idade mais avançada<sup>(4)</sup>.

A taxa de acometimento da PCM em adultos varia entre 10 a 15 homens para 1 mulher, o que não ocorre na infância, onde a infecção e a doença se distribuem uniformemente entre ambos os sexos, com ligeiro predomínio do masculino em adultos jovens. A razão da maior frequência de acometimento em homens por essa micose baseia-se nas características estruturais do *P. brasiliensis* que apresenta receptores para o 17- $\beta$ -estradiol em seu citoplasma, este hormônio inibe a transformação de micélio para levedura. Portanto, as mulheres são menos afetadas entre a menarca e a menopausa, ou seja durante a idade fértil<sup>(15)</sup>. Neste momento vale a pena ressaltar que, nas últimas décadas muitas mulheres em idade fértil têm apresentado alterações hormonais importantes, tais como: Síndrome do ovário policístico, uso prolongado de contraceptivos orais, menopausa precoce e outros, o que pode tornar esse grupo tão susceptível quanto os homens, principalmente em área endêmica.

Os indivíduos acometidos pela PCM, usualmente encontram-se na fase mais produtiva da vida, sendo que a doença leva a impacto social e econômico, já que em muitas situações pode ser considerada uma doença ocupacional. Esta micose representa um importante problema de Saúde Pública devido ao seu alto potencial incapacitante e à quantidade de mortes prematuras que provoca<sup>(4)</sup>.

Os sinais e sintomas da PCM são muito variados. A doença varia quanto à gravidade envolvendo primeiramente os pulmões, com subsequente disseminação para outros órgãos e sistemas. As lesões secundárias podem ocorrer na pele, linfonodos e glândulas adrenais<sup>(16)</sup>. A interação fungo-hospedeiro sem a expressão da doença, ou seja, ausência de sinais e sintomas é conhecida como PCM infecção. Um desequilíbrio nesta interação leva a maior multiplicação fúngica e disseminação linfo-hematogênica e expressão da doença como forma aguda, mais comum em crianças e adultos jovens. A forma crônica reflete a reativação das lesões fúngicas nos pulmões (granulomas) ou qualquer outro órgão anos mais tarde, já na idade adulta. A evolução de infecção para doença, nestas diferentes formas clínicas, depende de muitos fatores, dos quais: meio ambiente, status imunológico do hospedeiro e virulência do parasito<sup>(17, 18)</sup>.

O controle da infecção depende da resposta imune celular efetiva, geralmente associada ao padrão Th1 de resposta imunológica, resultando na formação de granulomas

compactos. Esta organização da resposta imune celular permite o controle da replicação do fungo, mas formas quiescentes podem persistir no interior do granuloma<sup>(4)</sup>. Pacientes com PCM localizada, normalmente apresentam baixos níveis de anticorpos (Ac) específicos e resposta imune celular adequada. Enquanto que aqueles pacientes com a doença disseminada tipicamente mostram altos níveis de Ac específicos, ativação policlonal de células B, antigenemia e resposta imune celular deficiente<sup>(17, 18)</sup>.

## DIAGNÓSTICO

O diagnóstico definitivo da PCM inclui a visualização direta do patógeno: células características com múltiplos brotamentos em fluidos biológicos e/ou biópsias de tecidos, ou ainda o isolamento do fungo de material clínico em meio de cultura<sup>(19)</sup>. Ainda hoje é observada certa dificuldade no diagnóstico da PCM por várias razões: nem sempre o exame clínico é definitivo, pois as lesões e os sintomas ocasionados pelo fungo, algumas vezes não são exclusivos da PCM<sup>(20)</sup>. Além disso, a infecção primária pode ser assintomática e não detectada por raio X, pode apresentar quadro semelhante ao produzido por infecções pulmonares de origem bacteriana ou viral. As lesões buco faríngeas são muito semelhantes às de leishmaniose tegumentar, tuberculose, sífilis e processos neoplásicos<sup>(21, 22)</sup> exigindo diagnóstico diferencial com a forma crônica tipo adulto da PCM.

No entanto, grande atenção deve ser dada a Tuberculose (TB), devido à sobreposição da história clínica e epidemiologia. Dados indicam que as duas doenças podem coexistir numa frequência aproximada de 5,5 a 14,4% dos casos<sup>(23, 24)</sup>. A problemática maior é a própria indicação do tratamento empírico anti-TB uma vez que a sensibilidade da baciloscopia para TB é baixa<sup>(25)</sup>. Entretanto, como infelizmente a pesquisa para PCM no escarro ainda não está totalmente difundida, há o risco de pacientes com PCM serem tratados para TB.

Dessa forma um diagnóstico laboratorial específico, com a demonstração do fungo, faz-se necessário para a conclusão diagnóstica. Os testes sorológicos podem contribuir no diagnóstico e, sobretudo têm importante valor no monitoramento da terapêutica da doença. Entre as técnicas sorológicas disponíveis, a Imunodifusão Radial Dupla (ID) é a mais utilizada, e capaz de acompanhar a evolução da doença. Permite monitorar o tratamento através da observação da queda dos títulos de anticorpos, é de baixo custo e fácil exequibilidade técnica. O único inconveniente é a baixa sensibilidade, inerente às técnicas de precipitação em gel, pois fornecem resultados falso negativos, mesmo no início do tratamento perdendo, portanto a função de acompanhar a queda dos anticorpos e indicar o final do tratamento. Nesse sentido têm sido avaliadas outras técnicas mais sensíveis como o Ensaio

Imunoenzimático (ELISA) e Western Blot (WB), ambas já são utilizadas largamente em laboratórios de pesquisa com fungos patogênicos. Considerando a alta sensibilidade dessas técnicas, seria interessante incluí-las na investigação laboratorial da PCM, sobretudo em pacientes sintomáticos respiratórios e com resultado negativo à ID para a PCM e baciloscopia para BAAR.

Apesar de a PCM ser considerada endêmica na região noroeste do Paraná, ainda é pouco conhecida e documentada. Desde 1966 há relatos de casos PCM diagnosticados em Curitiba que foram considerados autóctones dessa região. Posteriormente alguns inquéritos epidemiológicos foram realizados sugerindo alta sensibilização da população aos antígenos de *P. brasiliensis*. Foram encontrados índices de 51% de positividade na região de Curitiba<sup>(26)</sup>, 50% em população rural de Londrina-PR<sup>(27)</sup> e 43% em operários de uma usina de álcool residentes em São Carlos do Ivaí e Paraíso do Norte<sup>(28)</sup>. Dois estudos desenvolvidos na região, baseados na detecção de anticorpos pelo teste de ELISA em indivíduos saudáveis, aceitos na triagem clínica para doação de sangue, mostraram a aplicação dessa técnica para o conhecimento da epidemiologia da PCM. Paralelamente indicam altos níveis de sensibilização ao fungo *P. brasiliensis* de indivíduos saudáveis residentes na região. Maluf (29) e colaboradores mostraram que de 680 soros de doadores de sangue provenientes de quatro municípios da região noroeste, 27% foram reatores aos antígenos de *P. brasiliensis* e a distribuição por município foi: Campo Mourão (42%), Maringá (34%), Cianorte (23%) e Umuarama (15%). Em Londrina 20% dos inquiridos estavam sensibilizados<sup>(30)</sup>. Além disso, registros de PCM em crianças nascidas e criadas na região<sup>(31)</sup> reforçam a preocupação com essa doença no estado do Paraná, pois comprovam a presença do fungo no local e, portanto inferem maiores riscos de desenvolvimento da PCM.

O presente projeto permitirá ao Laboratório de Ensino e Pesquisa em Análises Clínicas – LEPAC – UEM, a implantação de metodologias modernas e sofisticadas, de maior precisão e reprodutibilidade para o diagnóstico da PCM, tais como: ELISA e WB, em substituição à técnica atualmente utilizada, a ID.

## **JUSTIFICATIVA**

O diagnóstico rotineiro de tuberculose de modo geral é realizado pela pesquisa direta (Baciloscopia) de bacilos álcool-ácido resistentes (BAAR) em esfregaço de secreção pulmonar, utilizando a coloração de Ziehl-Neelsen. Apesar de que, nos pacientes

paucibacilares e nos doentes de AIDS a cultura direcionada para BAAR é sempre recomendada, pois aumenta a sensibilidade e permite a identificação da espécie de micobactéria e a realização do teste de susceptibilidade às drogas antituberculosas.

Da mesma forma o protocolo para diagnóstico rotineiro da PCM, nas rotinas laboratoriais nem sempre vem sendo aplicado. Neste sentido, a descoberta precoce de pessoas infectadas e o tratamento efetivo são metas primordiais para combater o recrudescimento da PCM. A necessidade de se conhecer e pesquisar os casos de PCM associado aos de tuberculose é importante na investigação do diagnóstico precoce, pois ambas as doenças tem semelhantes sinais e sintomas que podem confundir o clínico no diagnóstico das doenças. O laboratório por sua vez participa deste processo fornecendo suporte diagnóstico pelas técnicas microbiológicas que exercem importante influência na avaliação clínica e epidemiológica.

Normalmente a investigação clínica para tosse produtiva, emagrecimento com ou sem imagem radiológica, é para tuberculose, podendo existir uma falha na investigação de *P. brasilienses*. Podemos estar perdendo pacientes sem diagnóstico ou até com co-infecção entre as duas doenças. Salientando que a região do Noroeste do Paraná é zona endêmica para *P. brasilienses*, onde temos: clima, temperatura, solo e umidade do ar compatível para o desenvolvimento deste fungo, que causa tão grande poder incapacitante ao homem.

## **OBJETIVOS**

### **GERAL**

Aperfeiçoar o diagnóstico laboratorial diferencial entre tuberculose pulmonar e PCM, estabelecer a frequência de PCM em pacientes triados clinicamente como suspeitos de tuberculose e avaliar a proporção da co-infecção por *M. tuberculosis* e *P. brasilienses* em pacientes atendidos no serviço público de Maringá.

### **ESPECÍFICOS**

Determinar a prevalência de PCM entre os pacientes sintomáticos respiratórios residentes em Maringá, verificando a proporção das associações com a tuberculose.

Aprimorar o diagnóstico laboratorial da PCM, confirmando os casos detectados por meio do exame micológico direto através da pesquisa sorológica pelas técnicas de Imunodifusão radial, ELISA clássica e *Western blot*.

Detectar e encaminhar os indivíduos infectados com *P. brasiliensis* para atendimento junto à rede pública de saúde do município, viabilizando diagnóstico clínico e laboratorial, tratamento adequado inclusive com fornecimento da medicação.

Realizar levantamento epidemiológico sobre a prevalência de PCM-doença e PCM-infecção elaborando e divulgando a série histórica da doença no município de Maringá. Contribuindo para a efetiva implantação e execução do protocolo da PCM em Maringá/PR.

Proporcionar interação entre os órgãos envolvidos de modo que enquanto subsídios técnico-científicos próprios da academia são transferidos aos serviços, o convívio e aplicação direta desses conhecimentos à rede básica de saúde fornecerão insumos e novos desafios que alimentarão futuros estudos sobre a PCM e seu agente etiológico o fungo *P. brasiliensis*.

### Referências Bibliográficas:

1. Lacaz CS, Porto E, Martins JEC, Heins-Vaccari EM, Melo NT. Paracoccidiodomicose. In Tratado de Micologia Médica Lacaz. Capítulo 27. Editora Sarvier, 9ª Edição. São Paulo; 2002. p.639-640.
2. Almeida OP, Jacks JJr. Paracoccidiodomycosis of the mouth: an emerging deep mycosis. Crit Rev Oral Biol Med 2003; 14(5):377-383.
3. Palmeiro M, Cherubini K, Yurgel LS. Paracoccidiodomicose – Revisão da Literatura. Scientia Medica, Porto Alegre: PUCRS 2005; 15(4):274-278.
4. Shikanai-Yasuda MA, Telles Filho FQ, Mendes RP, Colombo AL, Moretti ML e grupo de consultores do consenso em paracoccidiodomicose. Consenso em paracoccidiodomicose – Relatório Técnico. Rev Soc Bras Med Trop 2006; 39(3):297-310.
5. Franco M, Bagagli E, Scapoli S, Lacaz CS. A critical analysis of isolation of *Paracoccidioides brasiliensis* from soil. Med Mycol 2000; 38:15-191.

6. Silva-Vergara ML, Martinez R, Chadu A, Madeira M, Freitas-Silva G, Maffei CML. Isolation of a *Paracoccidioides brasiliensis* strain from the soil of a coffee plantation in Ibia, State of Minas Gerais, Brazil. *Med Mycol* 1998; 36:37-42.
7. Restrepo A., McEwen JG & Castañeda E. The habitat of *Paracoccidioides brasiliensis*: how far from solving the riddle? *Med Mycol* 2001; 39(3):233-241.
8. Bagagli E, Sano A, Coelho KI, Alquati S, Miyaji M, Camargo ZP, Gomes GM, Franco M, Montenegro MR. Isolation of *paracoccidioides brasiliensis* from armadillos (*Dasypus noveminctus*) captured in an endemic area of paracoccidioidomycosis. *The American Soc Trop Med Hygiene* 1998; 58(4):505-512.
9. Tavares AH, Silva SS, Bernardes VV, Maranhão AQ, Kyaw CM, Poças-Fonseca M, Silva-Pereira I. Virulence insights from the *Paracoccidioides brasiliensis* transcriptome. *Gen Molecular Research* 2005; 4(2): 372-389.
10. Svidzinski TIE, Miranda Neto MH, Santana RG, Fischman O & Colombo AL. *Paracoccidioides brasiliensis* isolates obtained from patients with acute and chronic disease exhibit morphological differences after animal passage. *Rev Inst Med Trop S Paulo* 1999; 41(5):279-283.
11. Wang' Y and Casadevalli A. Decreased susceptibility of melanized *Cryptococcus neoformans* to UV light. *Appl Environ Microbiol* 1994; 60(10):3864-3866.
12. Silva MB, Marques AF, Nosanchuk JD, Casadevall A, Travassos LR, Tabora CP. Melanin in the dimorphic fungal pathogen *Paracoccidioides brasiliensis*: effects on phagocytosis, intracellular resistance and drug susceptibility. *Microbes and Infection* 2006; 8:197-205.
13. Ganiko L, Puccia R, Mariano VS, Sant'Anna OA, Freymüller E, Roque-Barreira MC, Travassos LR. Paracoccin, an N-acetyl-glucosamine-binding lectin of *Paracoccidioides brasiliensis*, is involved in fungal growth. *Microbes and Infection* 2007; 9:695-703.
14. Silva SHM, Colombo AL, Blotta MHSL, Lopes JD, Queiroz-Telles F, Camargo ZP. Detection of Circulating gp43 Antigen in Serum, Cerebrospinal Fluid, and Bronchoalveolar Lavage Fluid of Patients with Paracoccidioidomycosis. *J Clin Microbiol* 2003; 41(8):3675-3680.
15. Restrepo A, Salazar ME, Cano LE, Stover P, Feldman D, Stevens DA. Estrogens inhibit mycelium to yeast transformation in the fungus *Paracoccidioides brasiliensis*. *Infect Immunol* 1984; 46:346-353.

16. Díez S, Gómez BL, McEwen JG, Restrepo A, Hay RJ, Hamilton AJ. Combined use of *Paracoccidioides brasiliensis* recombinant 27-Kilodalton and purified 87-Kilodalton antigens in an enzyme-linked immunosorbent assay for serodiagnosis of paracoccidioidomycosis. *J Clin Microbiol* 2003; 41(4):1536–1542.
17. Calich VLG e Kazhino SS. Cytokines produced by susceptible and resistant mice in the course of *Paracoccidioides brasiliensis* infection. *Braz J Med Biol Research* 1998; 31:615-623.
18. Sadahiro A, Drogo CL, Oshiro TM, Shikanai-Yasuda MA. Cinética da produção de IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , IL-10 e IL-4 por células mononucleares, de pacientes curados de paracoccidioidomicose, estimuladas com peptídeos da gp43. *Rev Soc Bras Med Trop* 2007; 40(2):156-162.
19. Albuquerque CF, Silva SHM, Camargo ZP. Improvement of the specificity of an enzyme-linked immunosorbent assay for diagnosis of paracoccidioidomycosis. *J Clin Microbiol* 2005; 43(4):1944-1946.
20. Negroni R. Paracoccidioidomycosis (southamerican blastomycosis, Lutz's mycosis) Review. *International J Dermatology* 1993; 32(12):847-859.
21. Svidzinski TIE, Martins ACM, Caçador NP. Um caso clínico de paracoccidioidomicose: importância da biópsia em seu diagnóstico. *Rev Universidade de Maringá* 1997; 19:611-624.
22. Verli FD, Marinho SA, Souza SC, Figueiredo MA, Yurgel LS. Clinical-epidemiologic profile of paracoccidioidomycosis at the Stomatology Department of Sao Lucas Hospital, Pontificia Universidade Católica of Rio Grande do Sul. *Rev Soc Bras Med Trop* 2005; 38(3):234-237.
23. Quagliato RJ, Grangeia TAG, Massucio RAC, De Capitani EM, Rezende SM, Balthazar AB. Association between paracoccidioidomycosis and tuberculosis: reality and misdiagnosis. *J Bras Pneumol*. 2007;33(3):295-300.
24. Santo AH. Tendência da mortalidade relacionada à paracoccidioidomicose, Estado de São Paulo, Brasil, 1985 a 2005: estudo usando causas múltiplas de morte. *Rev Panam Salud Publica* 2008;23(5):313–324.
25. Filho AC, Kritski AL, Barreto AW, Lemos ACM, Netto AR, Guimarães CA *et al*. II Congresso brasileiro de tuberculose – diretrizes brasileiras para tuberculose 2004. *J Bras Pneumol* 2004;30(Supl 1).



26. Rebelatto, CLK. Estudo de associação entre os antígenos HLA-A,B,C, DR e DQ e a paracoccidiodomicose infecção [dissertação-Mestrado em genética]. Curitiba: Universidade Federal do Paraná; 1996.
27. Somensi DC, Somensi CC, Itano EN, Camargo ZP, Oliveira OLP. A utilização da gp43 de *Paracoccidioides brasiliensis* em testes intradérmicos na região de Londrina- PR. *Rev Farmácia Química* 1997; 29:14.
28. Fornajeiro N, Maluf MLF, Takahachi G, Svidzinski TIE. Paracoccidiodomycosis epidemiological survey using gp43, in two cities of northwestern region of Parana, Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop* 2005; 38(2):191-193.
29. Maluf MLF, Pereira SRC, Takahachi G, Svidzinski TIE. Prevalence of paracoccidiodomycosis infection determined by sorologic test in donors' blood in the Northwest of Paraná, Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop* 2003; 36(1): 11-16.
30. Botteon FAG, Camargo ZP, Benard G, Coelhos RF, Chamone DAF, Itano EN. Paracoccidioides brasiliensis- reactive antibodies in Brazilian blood donors. *Med Mycol* 2002; 40:387-391.
31. Wingeter MA, Faiola RV, Maluf MLF, Guilhermetti E, Mota VA, Svidzinski TIE. Paracoccidiodomicose tipo juvenil: relato de dois casos em Maringá. *Arquivos da Apadec. Maringá*. 2004; 8(n. supl):1-6.

## CAPÍTULO II

MODELO

**Artigo: “PARACOCCIDIOIDOMICOSE E TUBERCULOSE: O ERRO  
DIAGNÓSTICO AINDA PERSISTE.”**

## PARACOCCIDIOIDOMICOSE E TUBERCULOSE: O ERRO DIAGNÓSTICO AINDA PERSISTE

### PARACOCCIDIOIDOMYCOSIS AND TUBERCULOSIS: MISDIAGNOSIS STILL PERSIST

Thâmara Aline Bertoni<sup>1</sup>, Elisa Keiko Hirayama Takao<sup>2</sup>, José Ricardo Colleti Dias<sup>3</sup>, Terezinha Inez Estivalet Svidzinski<sup>4</sup>.

#### Resumo

É relatado um caso de paciente portador de paracoccidioomicose, supostamente há 15 anos, que apesar das pesquisas de bacilo-álcool-ácido resistentes sempre resultarem negativas, foi tratado empiricamente para tuberculose por duas vezes sem sucesso. Recentemente, o fungo *Paracoccidioides brasiliensis* foi encontrado em exame micológico direto e em esfregaço corado com metenamina-prata segundo Gomori-Grocott. O teste de Imunodifusão Radial Dupla foi negativo, porém testes de maior sensibilidade, ELISA e Western blot, resultaram positivos. Este caso chama a atenção para a importância da investigação paralela de tuberculose e paracoccidioomicose.

**Descritores:** Paracoccidioomicose; tuberculose; erro diagnóstico.

#### Abstract

This study report a case of patient with paracoccidioomycosis, has fifteen years, in spite of never had a positive baciloscopia exam, he received empirical treatment for tuberculosis twice without success. Recently *Paracoccidioides brasiliensis* was found in a direct mycological exam and in a special stain, Gomori-Grocott methenamine silver. Double immunodiffusion test showing negative result, however more sensible techniques like ELISA and Western blot were positive. This case attracts attention to the importance of parallel investigation between tuberculosis and paracoccidioomycosis.

**Keywords:** Paracoccidioomycosis; tuberculosis; misdiagnosis.

---

<sup>1</sup> Programa de Pós-Graduação em Análises Clínicas da Universidade Estadual de Maringá, Maringá, PR.

<sup>2</sup>Laboratório de Micobactérias, Universidade Estadual de Maringá. <sup>3</sup>Médico infectologista da Secretaria de Saúde de Maringá-Paraná. <sup>4</sup>Disciplina de Micologia Médica, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, PR.

**Endereço para correspondência:** Profa. Dra. Terezinha Inez Estivalet Svidzinski. Disciplina de Micologia Médica/Departamento de Análises Clínicas/UEM. Av. Colombo 5790, bloco J90 sala 11, CEP: 87020-900 - Maringá, PR.

Tel: 55 44 3261-4809; Fax: 55 44-3261-4959.

e-mail: tiesvidzinski@uem.br

Comitê Permanente de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos. Registrado no CONEP em 10/02/1998. Nº do Parecer = 302/2006.

Suporte financeiro: Fundação Araucária. Processo nº: 8843.

## INTRODUÇÃO

A Paracocidiodomicose (PCM) é uma micose sistêmica grave, importante problema de Saúde Pública, se apresenta sob duas principais formas clínicas: aguda ou subaguda (juvenil) e crônica (adulto). A faixa etária mais acometida é entre 30 e 50 anos de idade, fase mais produtiva da vida, e mais de 90% dos casos são do sexo masculino<sup>(1)</sup>.

A mortalidade por PCM é alta e os estudos apontam a doença como a oitava causa de óbito dentre as doenças infecciosas e parasitárias predominantemente crônicas no Brasil<sup>(1)</sup> sendo no Paraná classificada em quinto lugar nesse grupo de doenças. O índice de mortalidade é considerável, foram documentadas taxas de 3,48 mortes/milhão de habitantes<sup>(2)</sup>.

Na clínica, o diagnóstico de PCM é considerado simples, porém o grande número de outras afecções com as quais pode ser confundida acaba dificultando um pouco. A forma crônica exige diagnóstico diferencial com doenças que envolvem as mucosas como câncer, leishmaniose cutâneo-mucosa, sífilis secundária ou terciária, sarcoidose, histoplasmose<sup>(2-4)</sup>. No entanto, grande atenção deve ser dada a tuberculose (TB) devido à sobreposição da história clínica e epidemiológica. Além disso, as duas doenças podem coexistir numa frequência aproximada de 5,5 a 14,4% dos casos<sup>(5, 6)</sup>. A problemática maior é a própria indicação do tratamento empírico anti-TB uma vez que a sensibilidade da baciloscopia para TB é baixa (varia de 50 a 80%)<sup>(7)</sup>.

Neste relato, o diagnóstico de PCM ocorreu tardiamente, em função da implantação de um projeto de pesquisa, por meio de técnicas simples de visualização do fungo em escarro, após aproximadamente 15 anos de investigação, diagnósticos e tratamentos equivocados para TB.

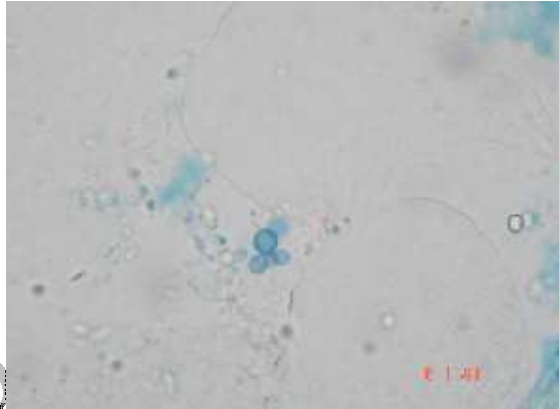
## RELATO DE CASO

Homem de 74 anos, portador de Diabetes Mellitus insulino-dependente em tratamento, diagnóstico de doença pulmonar obstrutiva crônica há 15 anos e quadro de depressão. História de tabagismo e etilismo por cerca de 30 anos. Residiu em região de Mirandópolis, interior do estado de São Paulo até aproximadamente os 20 anos de idade. Como ocupação principal foi motorista de caminhão, transportando agrotóxicos por mais de 30 anos. Há 15 anos queixava de dor torácica e tosse produtiva crônica, além de dispnéia progressiva aos pequenos e médios esforços. Na época, foram realizadas inúmeras baciloscopias de escarro, todas negativas, vários exames radiológicos de tórax mostravam infiltrado pulmonar, com derrame pleural à esquerda em algumas situações.

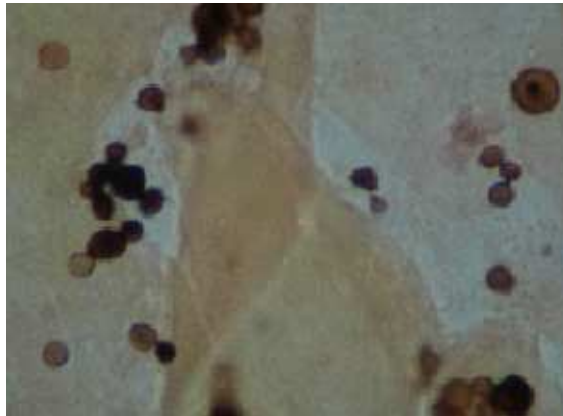
Recebeu tratamento empírico para TB por duas ocasiões: há 15 anos, no início da história e recentemente, uma vez que as imagens ao Raio X de tórax se mantinham com infiltração em ápice bilateral. Nessa ocasião a pesquisa de BAAR manteve-se negativa apesar de uma reação de PPD forte, igual a 10mm.

Este tratamento não resultou em melhora, ao contrário, houve piora do estado geral do paciente, emagrecimento e permanência das imagens pulmonares, mesmo com o tratamento para TB. Somente nesta fase, amostras de escarro e sangue do paciente foram incluídas em um projeto do laboratório de micologia para a pesquisa de PCM.

Cinco amostras de escarro foram analisadas, das quais duas exibiram estruturas fúngicas compatíveis com *Paracoccidioides brasiliensis* (Figura 1). Estes achados foram confirmados pela técnica de impregnação pela metenamina-prata, segundo Gomori-Grocott, em esfregaços de escarro (Figura 2). O teste de Imunodifusão Radial Dupla<sup>(8)</sup>, exame sorológico de rotina, apresentou resultado negativo, porém testes de maior sensibilidade ELISA<sup>(9)</sup> e Western blot<sup>(10)</sup> (Figura 3) foram positivos.



**Figura 1-** Exame micológico direto de amostras de escarro fluidificadas com dithioerythritol (Sigma® D-8161) e preparadas a fresco com tinta QuinK + KOH 20% evidenciando estruturas compatíveis com *P. brasiliensis* em aumento de 40X.



**Figura 2 -** *P. brasiliensis* em esfregaço de escarro corado pela técnica de Gomori-Grocott em aumento de 40X.



**Figura 3 –** Resultados da sorologia por *Western blot* realizada para confirmação do caso: Linha (+): soro do paciente revelando a presença de anticorpos produzidos contra o componente de 43kDa; Linha (-): soro controle negativo; Linha (PM): padrão de pesos moleculares.

## DISCUSSÃO

A combinação de PCM e TB é reconhecida de longa data<sup>(11)</sup>, podendo ocorrer de forma simultânea ou sequencial. O diagnóstico equivocado é raro em pacientes atendidos por profissionais experientes, mais comum nas fases iniciais da doença, período em que os sinais clínicos e radiológicos, nem sempre permitem clara distinção entre as doenças<sup>(5)</sup>.

A PCM tem como agente o fungo termodimórfico *P. brasiliensis*, que infecta o homem através da inalação de conídios, estruturas de reprodução do fungo produzidas na fase filamentosa (25°C) presente em solos úmidos de regiões com temperaturas amenas (em torno de 20°C)<sup>(12)</sup>. É uma micose de grande interesse e prevalência nos países da América Latina, evolui frequentemente para o óbito se não diagnosticada precocemente e tratada de forma específica<sup>(1)</sup>.

Apesar da infecção primária ocorrer por via inalatória, o fungo costuma atingir vários órgãos e sistemas, por disseminação hematogênica, originando ampla gama de manifestações clínicas, mas sem evidências de transmissão homem-homem<sup>(13)</sup>.

O diagnóstico de PCM é confirmado pela demonstração direta das células multibrotantes características em amostras biológicas, ou o isolamento do fungo destes espécimes. Acredita-se que os casos de PCM sejam subestimados no Brasil, especialmente no interior do país, justificado por vários fatores: variabilidade de manifestações clínicas, semelhança com várias outras doenças, menor divulgação das micoses, que acabam negligenciando a PCM em relação à TB. Em regiões distantes dos grandes centros ainda não é rotineira a exclusão da PCM pela investigação laboratorial, ou seja, aparentemente PCM ainda não é incluída entre as hipóteses diagnósticas de sintomáticos respiratórios. Contudo, testes de intradermorreação indicam que mais de 40% da população que vive em áreas endêmicas teve contato com o fungo<sup>(14)</sup>, este é um indicativo epidemiológico importante que

justifica a investigação da PCM em todos os respiradores sintomáticos, residentes nessas regiões.

Além do contato com o fungo e da falha nos mecanismos de defesa do hospedeiro, alguns hábitos de vida contribuem para o desenvolvimento da PCM como etilismo crônico, desnutrição e tabagismo, todos relatados pelo paciente sujeito deste relato. Essas condições são comuns em trabalhadores rurais de baixo nível sócio-econômico e representam riscos importantes na progressão da doença, pois interferem na formação do granuloma e no mecanismo de defesa do hospedeiro. O paciente aqui investigado assumiu o hábito de ter consumido álcool diariamente por mais de trinta anos, o que segundo Martinez & Moya (15) teria grande importância na patogenia da forma crônica da PCM.

Por outro lado, a TB continua sendo causa de grande preocupação, a Organização Mundial da Saúde estima que um terço da população mundial esteja infectada com *Mycobacterium tuberculosis*. Destes, oito milhões de pessoas anualmente desenvolvem TB ativa e dois milhões morrem por essa doença a cada ano. A história clínica e imagens radiológicas permitem fundamentar uma suspeita de TB, mas que deve ser confirmada. O achado do bacilo álcool-ácido resistente (BAAR) em espécimes como escarro ou lavado brônquico, é o método confirmatório da tuberculose pulmonar. No entanto, a sensibilidade deste método é reconhecidamente baixa, variando entre 50 e 80%<sup>(7)</sup>. Considerando que aproximadamente metade dos pacientes com TB pode apresentar baciloscopia do escarro negativa, é indicado o início do tratamento com tuberculostáticos, visando beneficiar o paciente e contribuindo para o controle da TB na comunidade<sup>(16)</sup>. Contudo essa recomendação é justamente um dos fatores responsáveis pelo tratamento equivocado da PCM.

Os preditores para a presença de TB pulmonar quando a baciloscopia resulta negativa, incluem: teste da tuberculina, linfadenopatia cervical ou mediastinal, lesões cavitárias nos pulmões, história de contato com TB, tosse por mais de 3 semanas e perda de peso<sup>(7)</sup>. No



entanto, estes sinais não podem ser atribuídos indubitavelmente a TB. Segundo Lee *et al.* (16), um Raio X de tórax inicial com “áreas de neblina” consolidadas poderia ser um sinal independente para implementação de tratamento empírico anti-TB. No entanto, alterações radiológicas causadas na PCM e TB não são específicas nem fecham diagnóstico para qualquer das doenças. Imagens radiológicas alteradas em tórax são freqüentes no exame de rotina de pacientes com doenças pulmonares. Porém, as imagens encontradas podem ser semelhantes em vários tipos de agressões inflamatórias impostas ao parênquima pulmonar<sup>(17)</sup>.

Neste relato, o tratamento empírico para TB foi realizado por duas vezes, não consecutivas, ambas sem confirmação laboratorial, portanto sem sucesso terapêutico. O diagnóstico de PCM somente ocorreu depois de 15 anos de sinais e sintomas clínicos progressivos e debilitantes e imagens radiológicas inespecíficas. Além disso, a confirmação da PCM ocorreu devido à implantação de um projeto de pesquisa, que investiga PCM em todas as amostras de escarro encaminhadas para pesquisa de BAAR. Desde que recebeu o diagnóstico laboratorial de PCM, o paciente encontra-se em acompanhamento com infectologista recebendo Itraconazol 200mg/dia, segundo preconiza a Secretaria de Saúde do Estado do Paraná<sup>(1)</sup>.

Entre os testes sorológicos, a Imunodifusão Radial Dupla é o único validado, é simples, de baixo custo e de grande importância para o acompanhamento do tratamento da PCM. Seu ponto limitante é a baixa sensibilidade, um resultado negativo, como ocorreu neste caso, não exclui a possibilidade de PCM<sup>(18)</sup>, além de inviabilizar a monitorização do tratamento. Testes mais sensíveis como ELISA e Western blot prometem incrementar a sensibilidade e especificidade dos métodos imunológicos para diagnóstico e acompanhamento da PCM. A evidência de anticorpos produzidos contra o componente de 43kDa, considerado específico de *P. brasiliensis*, está de acordo com o achado inquestionável do fungo no escarro.

A decisão de submeter o relato deste paciente visa chamar a atenção dos pneumologistas para a importância da investigação paralela de TB e PCM. Somente dessa forma será possível a confirmação da co-morbidade e afastar o risco de doentes de PCM serem tratados para TB, mesmo sem o achado microbiológico de BAAR, preocupação registrada desde 1968<sup>(11)</sup>. Não é mais permitido considerar apenas teoricamente o fato das duas doenças se sobreporem clínica e epidemiologicamente. Informações clássicas da literatura e da academia precisam ser refletidas na prática pela investigação das duas doenças concomitantemente.

#### **REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:**

- 1 Shikanai-Yasuda MA, Telles Filho FQ, Mendes RP, Colombo AL, Moretti ML e Grupo de Consultores do Consenso em Paracoccidioidomicose. Relatório Técnico - Consenso em paracoccidioidomicose. Rev Soc Bras Med Trop 2006;39(3):297-310.
- 2 Bittencourt JIM, Oliveira RM, Coutinho ZF. Paracoccidioidomycosis mortality in the State of Paraná, Brazil, 1980/1998. Cad Saúde Pública 2005;21(6):1856-64.
- 3 Negroni BR. Paracoccidioidomycosis. In: Torres Rodriguez JM. Introducción a la Micología Médica. México: Ed. Panamericana; 1995. p. 263-73.
- 4 Pato AM, Giusiano G, Mangiaterra M. Paracoccidioidomycosis asociada a otras patologías respiratorias en un hospital de Corrientes, Argentina. Rev Argentina Microbiol 2007;39:161-5.
- 5 Quagliato RJ, Grangeia TAG, Massucio RAC, De Capitani EM, Rezende SM, Balthazar AB. Association between paracoccidioidomycosis and tuberculosis: reality and misdiagnosis. J Bras de Pneumol 2007;33(3):295-300.

- 6 Santo AH. Tendência da mortalidade relacionada à paracoccidioidomicose, Estado de São Paulo, Brasil, 1985 a 2005: estudo usando causas múltiplas de morte. *Rev Panam Salud Publica* 2008;23(5):313–24.
- 7 Filho AC, Kritski AL, Barreto AW, Lemos ACM, Netto AR, Guimarães CA *et al.* II Congresso brasileiro de tuberculose – diretrizes brasileiras para tuberculose 2004. *J Bras Pneumol* 2004;30(Supl 1).
- 8 Camargo ZP, Unterkircher C, Campoy SP and Travassos LR. Production of *Paracoccidioides brasiliensis* exoantigens for Immunodiffusion tests. *J Clin Microbiol* 1988;26(10):2147-51.
- 9 Maluf MLF, Pereira SRC, Takahachi G, Svidzinski TIE. Prevalência de paracoccidioidomicose-infecção determinada através de teste sorológico em doadores de sangue na região Noroeste do Paraná, Brasil. *Rev Soc Brás Med Trop* 2003;36(1):11-16.
- 10 Valle ACF, Costa RLB, Fialho-Monteiro PC, Von Helder J, Muniz MM & Zancopé-Oliveira RM. Interpretation and clinical correlation of serological tests in paracoccidioidomycosis. *Med Mycol* 2001;39(4):373-77.
- 11 Rego AP, Manta M, Andrade E. Falhas no diagnóstico de internação em hospitais de tuberculose – A blastomicose sul-americana como causa de erro. *Rev Med Est Guanabara* 1968;35(3):104-12.
- 12 Franco M, Bagagli E, Scapolio S, Lacaz CS. A critical analysis of isolation of *Paracoccidioides brasiliensis* from soil. *Med Mycol* 2000;38:185-191.
- 13 Almeida OP, Jacks JJr. Paracoccidioidomycosis of the mouth: an emerging deep mycosis. *Crit Rev Oral Biol Med* 2003;14(5):377-83.
- 14 Fornajeiro N, Maluf MLF, Takahachi G, Svidzinski TIE. Inquérito epidemiológico sobre a paracoccidioidomicose utilizando a gp43 em dois municípios do noroeste do Paraná, Brasil. *Rev Soc Bras Med Trop* 2005;38(2):191-93.

- 15 Martinez R, Moya MJ. Associação entre paracoccidioidomicose e alcoolismo. *Rev Saúde Pública* 1992;26(1):12-16.
- 16 Lee WJ, Yoo CG, Kim YW, Han SK, Shim YS, Yim JJ. Response to empirical anti-tuberculosis treatment in patients with sputum smear-negative presumptive pulmonary tuberculosis. *Respiration* 2005;72:369–74.
- 17 Gomes E, Wingeter MA, Svidzinski TIE. Dissociação clínico-radiológica nas manifestações pulmonares da paracoccidioidomicose. *Rev Soc Bras Med Trop* 2008;41(5):454-58.
- 18 Blotta MHSL, Mamoni RL, Oliveira SJ, Noue´R SA, Papaiordanou PMO, Goveia A, Camargo ZP. Endemic regions of Paracoccidioidomycosis in Brazil: a clinical and epidemiologic study of 584 cases in the southeast region. *Am J Trop Med Hyg* 1999;61(3):390–94.

MODELO

**Artigo: “Contribuição da técnica de Western blot no diagnóstico diferencial entre paracoccidiodomicose e tuberculose pulmonar.”**

**CONTRIBUIÇÃO DA TÉCNICA DE WESTERN BLOT NO DIAGNÓSTICO  
DIFERENCIAL ENTRE PARACOCCIDIOIDOMICOSE E TUBERCULOSE  
PULMONAR**

**WESTERN BLOT CONTRIBUTION IN DIFFERENTIAL DIAGNOSIS BETWEEN  
PARACOCCIDIOIDOMYCOSIS AND PULMONARY TUBERCULOSIS**

Thâmara Aline Bertoni<sup>2</sup>, Maysa Cláudia Zolin Perenha Viana<sup>1</sup>, Eliana Valéria Patussi<sup>2</sup>,  
Rosilene Fressatti Cardoso<sup>3</sup>, Terezinha Inez Estivaleti Svidizinski<sup>2</sup>.

**RESUMO**

Foi realizado um estudo preliminar com o objetivo de padronizar a técnica de Western blot para contribuir no diagnóstico diferencial entre paracoccidiodomicose e tuberculose. É proposto um ponto de corte capaz de minimizar reações cruzadas entre as duas doenças mostrando potencial para ser incluída em laboratórios clínicos.

**Palavras-chaves:** Paracoccidiodomicose. Tuberculose. Western blott. Diagnóstico diferencial.

**ABSTRACT**

A preliminary study was performed with the aim to standardize a Western blot technique for differential diagnosis between paracoccidiodomycosis and tuberculosis. This study proposed a cut-off to minimize cross reaction between both diseases showing a potential tool to be included in clinical laboratories.

**Key-words:** Paracoccidiodomycosis. Tuberculosis. Western Blot. Differentiate diagnosis.

Paracoccidiodomicose (PCM) é uma micose sistêmica, de natureza granulomatosa, causada pelo fungo termo-dimórfico *Paracoccidioides brasiliensis*. É a oitava causa de morte no Brasil considerando as doenças infecciosas e parasitárias predominantemente crônicas, superando inclusive a leishmaniose, demonstrando que essa doença possui grande magnitude

<sup>2</sup> Programa de Pós-Graduação em Análises Clínicas da Universidade Estadual de Maringá, Maringá, PR.  
<sup>2</sup>Disciplina de Micologia Médica, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, PR. <sup>3</sup>Laboratório de Micobactérias, Universidade Estadual de Maringá.

**Endereço para correspondência:** Profa. Dra. Terezinha Inez Estivalet Svidizinski. Disciplina de Micologia Médica/Departamento de Análises Clínicas/UEM. Av. Colombo 5790, bloco J90 sala 11, CEP: 87020-900 - Maringá, PR.

Tel: 55 44 3261-4809; Fax: 55 44-3261-4959.

e-mail: tiesvidzinski@uem.br

Comitê Permanente de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos. Registrado no CONEP em 10/02/1998. Nº do Parecer = 302/2006.

Suporte financeiro: Fundação Araucária. Processo nº: 8843.

e pequena visibilidade<sup>5</sup>. Trata-se de uma doença grave que se apresenta com uma variada gama de sinais e sintomas clínicos classificados em duas formas: aguda ou subaguda “tipo juvenil”, por acometer principalmente crianças ou adolescentes, e a forma crônica “tipo adulto”. A primeira é a forma mais rara, porém mais grave, atinge gânglios linfáticos, baço, fígado, levando com frequência à disfunção da medula óssea. A maioria dos casos entretanto, evolui para a forma crônica, caracterizada por comprometimento pulmonar, lesões ulceradas de pele, mucosas (oral, nasal, gastrointestinal), baço e fígado e por linfadenopatia<sup>13</sup>.

O polimorfismo da apresentação clínica da PCM permite que esta doença seja incluída no diagnóstico diferencial de vários agravos humanos, de origem infecciosa ou não. Entre as doenças respiratórias, a diferenciação deve ser feita com a histoplasmose, coccidioidomicose, sarcoidose e principalmente com a tuberculose (TB)<sup>1 10</sup>.

A associação entre PCM e TB não é incomum, ocorre numa frequência que varia entre 5,5 a 15,8%<sup>9 11</sup> e, a determinação do diagnóstico diferencial entre elas, baseada unicamente em dados clínicos e radiológicos, pode ser difícil. As duas doenças podem ocorrer de forma simultânea ou seqüencial. Em aproximadamente 75% dos casos de PCM os pulmões são comprometidos, e as lesões pulmonares iniciais teriam características semelhantes ao complexo primário da tuberculose<sup>7</sup>. Segundo Quagliato *et al.* (2007), o erro diagnóstico pode ocorrer, especialmente em unidades básicas de saúde, em casos cuja apresentação clínica e radiológica não permite distinção clara entre as duas doenças. O tratamento incorreto aumenta a chance de seqüelas pulmonares, tais como fibrose, bronquiectasias e insuficiência respiratória crônica.

O diagnóstico definitivo da PCM é estabelecido pela visualização de células leveduriformes de *P. brasiliensis* em exame micológico direto a fresco ou em técnicas histopatológicas, alternativamente pode ser fornecido pelo isolamento e identificação do fungo em cultura. Da mesma forma o diagnóstico da TB é estabelecido pela pesquisa direta

dos bacilos-álcool-ácido resistentes (BAAR) e pelo isolamento e identificação do *Mycobacterium tuberculosis*. Essas técnicas, entretanto têm alguns importantes fatores limitantes que são inerentes aos próprios fundamentos de cada uma como o longo tempo para desenvolvimento e identificação dos agentes, baixa sensibilidade das técnicas diretas (baciloscopia e exame micológico direto). Além disso, o difícil acesso a amostras mais representativas implica que o escarro seja o material biológico de rotina para pesquisa de BAAR e *P. brasiliensis*. O escarro espontâneo ou induzido além de ser altamente contaminado, pode não conter microrganismos suficientes para o diagnóstico direto o que aliado à possibilidade dos indivíduos já terem recebido tratamento prévio, dificulta ainda mais o desenvolvimento dos agentes e confere ao diagnóstico microbiológico menor poder discriminatório.

Portanto, a busca de métodos diagnósticos indiretos que forneçam resultados mais rápidos e seguros é objetivo de muitos grupos de estudos. A sorologia para esta micose é de extrema importância, além de auxiliar no diagnóstico, é útil no controle de cura dos pacientes<sup>13</sup>. Testes sorológicos fornecem resultados precoces aos da cultura e histopatologia e poderiam ser bem utilizados para o diagnóstico da PCM<sup>2</sup>. Contudo ainda carecem de validação para uso rotineiro em laboratórios clínicos. O teste de Imunodifusão Radial Dupla (ID) é o método sorológico clássico o qual está padronizado e é aceito, sobretudo para monitorização da terapêutica da PCM, por meio do acompanhamento da queda de anticorpos. Porém para o diagnóstico de PCM tem contribuição limitada, é questionado pela sua baixa sensibilidade, um resultado negativo não excluiria a possibilidade da doença. Por outro lado testes mais sensíveis como os imunoenzimáticos (ELISA) e Western blot (WB) poderiam contribuir com um diagnóstico mais rápido além de servirem como bons indicadores da evolução do tratamento, por detectarem concentrações menores de anticorpos que a ID.



Neste sentido o presente trabalho objetiva apresentar e discutir resultados preliminares dos testes sorológicos: ID, ELISA e WB, aplicados a uma população triada para diagnóstico de TB, na intenção de contribuir com a padronização de métodos imunológicos mais seguros, rápidos e que possam ser úteis no diagnóstico diferencial entre TB e PCM.

Com a criação do “Centro Interdisciplinar para o Diagnóstico e Acompanhamento da Paracoccidiodomicose”, pacientes sintomáticos respiratórios, triados e encaminhados para pesquisa de TB foram simultaneamente investigados quanto à PCM. Realizaram-se exames de baciloscopia e cultura para BAAR, exame micológico direto a fresco (MD), ID<sup>3</sup> e ELISA<sup>8</sup>. A técnica de WB<sup>14</sup> somente foi empregada nas situações em que o diagnóstico para TB e/ou PCM eram positivos.

A técnica de ELISA utilizada neste estudo baseou-se em Maluf *et al.* (2003). O ponto de corte utilizado foi densidade óptica (DO)=1,0. Para padronização do método WB soro de cinco pacientes com PCM confirmada foram diluídos até 1:800. Destes um tinha resultado negativo à ID e quatro com ID positiva com títulos de 1:2, 1:4, 1:16 e 1:32. Ainda nesta bateria de padronização foi utilizado soro de um paciente com TB e sem PCM (excluída por critérios clínicos e laboratoriais). Os resultados de WB foram positivo até a diluição de 1:800 para os soros dos cinco pacientes com PCM. Já para o paciente com TB a reação de WB foi positiva até a diluição de 1:200, ou seja, até esta diluição há possibilidade de reações cruzadas entre PCM e TB. Diante deste panorama fixou-se como ponto de corte a diluição 1:400 para a técnica de WB<sup>13</sup>, título este que incluiu pacientes com baixos níveis de anticorpos em ID e excluiu resultados falso-positivos ou possível reação cruzada com TB.

No período de estudo compreendido entre Fevereiro de 2007 e Agosto de 2008 foram analisadas amostras de escarro de 540 pacientes. Destes somente foi possível obter amostras de sangue de 250 pacientes. Até o momento foi possível realizar todos os exames (BAAR, cultura para BK, MD, ID, ELISA e WB), de 134 deles dos quais 11 (8,2%) foram

confirmados com TB pulmonar e seis (4,5%) tiveram diagnóstico micológico (MD) positivo para PCM. Este dado é relevante visto que a população havia sido triada para pesquisa de TB, não havia nenhuma suspeita de PCM, comprovando que essa micose está sendo subvalorizada. Não houve concomitância das duas doenças, todas as amostras dos indivíduos TB positivos foram negativas para a pesquisa do fungo.

O perfil sorológico dos seis pacientes com PCM foi: somente um (16,7%) teve resultado positivo para ID, confirmando a baixa sensibilidade do método. Já em quatro deles (66,67%) foi encontrada DO superior a 1,0 ao teste de ELISA, enquanto todos os pacientes com PCM apresentaram resultado positivo para WB na diluição 1:400.

A especificidade dos testes sorológicos depende da qualidade do antígeno de *P. brasiliensis* utilizado e do grau de reações cruzadas com outras enfermidades originando resultados falso positivos<sup>4</sup>. A fim de eliminar estes interferentes e padronizar uma técnica de ELISA e WB reprodutível, utilizou-se para este estudo o antígeno de *P. brasiliensis* produzido pelo Centro de Produção e Pesquisa de Imunobiológicos (CPPI) e distribuído aos laboratórios públicos. Este é o antígeno utilizado para realização da ID há quase 10 anos<sup>3</sup>.

Nossos resultados preliminares permitem algumas conclusões importantes para a abordagem diagnóstica dessas duas doenças: ID realmente não tem valor diagnóstico, pois apenas detectaria um dos seis indivíduos positivos para PCM. ELISA foi mais sensível que ID, mas ainda carece de ajustes na padronização, pois com esse valor de corte teria detectado apenas quatro dos seis doentes de PCM, colocando em risco inclusive a sugestão de uso dessa técnica como ferramenta epidemiológica em inquéritos sorológicos<sup>6 8</sup>. Também não poderia servir de critério para diagnóstico definitivo de PCM tendo em vista uma reação falso-positiva em paciente de TB.

A maior contribuição deste estudo preliminar é, portanto, mostrar que a técnica de WB pode ser utilizada como ferramenta para firmar o diagnóstico diferencial entre TB e PCM,

encaminhando para tratamento seguro pelo menos seis pacientes, triados e encaminhados para pesquisa de BAAR e, excluiu a concomitância das duas doenças. Sem esta investigação sorológica, provavelmente estes pacientes não seriam diagnosticados corretamente, ou ainda, poderiam ter sido diagnosticados com TB devido a alterações radiológicas e indicação clínica de tratamento empírico anti-TB, podendo evoluir para óbito devido a PCM.

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

1. Bittencourt JIM, Oliveira RM, Coutinho ZF. Paracoccidioidomycosis mortality in the State of Paraná, Brazil, 1980/1998. *Cad. Saúde Pública*, Rio de Janeiro, 21(6):1856-1864, nov-dez, 2005.
2. Blotta MHSL, Mamoni RL, Oliveira SJ, Noue´R SA, Papaiordanou PMO, Goveia A, Camargo ZP. Endemic regions of Paracoccidioidomycosis in Brazil: a clinical and epidemiologic study of 584 cases in the southeast region. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 61(3):390–394, 1999.
3. Camargo ZP, Unterkircher C, Campoy SP and Travassos LR. Production of *Paracoccidioides brasiliensis* exoantigens for Immunodiffusion tests. *J Clin Microbiol* 26(10):2147-2151, oct, 1988.
4. Camargo ZP and Franco MF. Current knowledge on pathogenesis and immunodiagnosis of paracoccidioidomycosis. *Revista Iberoamericana de Micología* 17: 41-48, 2000.
5. Coutinho ZF, Silva D, Lazéra M, Petri V, Oliveira RM, Sabroza PC, et al. Paracoccidioidomycosis mortality in Brazil. *Cadernos de Saúde Pública* 18(5):1441–1454, 2002.
6. Del Negro GMB, Benard G, Assis CM, Vidal MSM, Garcia NM, Otani C, Shikanai-Yasuda MA, Lacaz CS. Lack of reactivity of paracoccidioidomycosis sera in the double

- immunodiffusion test with the gp43 antigen: report of two cases. *Medical Mycology* 33 (2):113 – 116, 1995.
7. Gomes E, Wingeter MA, Svidzinski TIE. Dissociação clínico-radiológica nas manifestações pulmonares da paracoccidiodomicose. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 4(5):454-458, 2008.
  8. Maluf MLF, Pereira SRC, Takahachi G, Svidzinski TIE. Prevalência de paracoccidiodomicose-infecção determinada através de teste sorológico em doadores de sangue na região Noroeste do Paraná, Brasil. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*. 36(1):11-16, 2003.
  9. Paniago AMM, Aguiar JIA, Aguiar ES, Cunha RV, Pereira GROL, Londero AT, et al. Paracoccidiodomycosis - A clinical and epidemiological study of 422 cases observed in Mato Grosso do Sul. *Revista da Sociedade Brasileira Medicina Tropical* 36(4):455-459, 2003.
  10. Pato AM, Giusiano G, Mangiaterra M. Paracoccidiodomycosis asociada a otras patologías respiratorias en un hospital de Corrientes, Argentina. *Revista Argentina de Microbiología* 39:161-165, 2007.
  11. Quagliato RJ, Grangeia TAG, Massucio RAC, De Capitani EM, Rezende SM, Balthazar AB. Association between paracoccidiodomycosis and tuberculosis: reality and misdiagnosis. *Jornal Brasileiro de Pneumologia* 33(3):295-300., 2007.
  12. Santo AH. Tendência da mortalidade relacionada à paracoccidiodomicose, Estado de São Paulo, Brasil, 1985 a 2005: estudo usando causas múltiplas de morte. *Revista Panamerivana Salud Pública* 23(5):313–324, 2008.
  13. Shikanai-Yasuda MA, Telles Filho FQ, Mendes RP, Colombo AL, Moretti ML e Grupo de Consultores do Consenso em Paracoccidiodomicose. Relatório Técnico - Consenso em

paracoccidioidomicose. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 39(3):297-310, mai-jun, 2006.

14. Valle ACF, Costa RLB, Fialho-Monteiro PC, Von Helder J, Muniz MM & Zancopé-Oliveira RM. Interpretation and clinical correlation of serological tests in paracoccidioidomycosis. *Medical Mycology* 39(4):373-377, aug, 2001.

MODELO

## CAPÍTULO III

### CONCLUSÕES

O estudo realizado com pacientes triados para pesquisa de BAAR e posteriormente avaliados para PCM mostrou que:

- 1) A parceria entre Saúde Pública e Pesquisa, aqui representados por Secretaria Municipal de Saúde de Maringá e Laboratório de Micologia Médica – LEPAC, é possível e, apesar das dificuldades, é capaz de trazer muitos benefícios tanto à comunidade social quanto à científica.
- 2) A investigação clínica da PCM ainda é subvalorizada pelos profissionais de saúde e acredita-se que o diagnóstico equivocado entre TB e PCM ainda seja realidade no meio clínico, visto que pelo menos um paciente de nossa casuística foi tratado para TB, por duas vezes sem sucesso, foi confirmado com PCM, graças à implantação de um projeto regional.
- 3) Western blot parece ser uma importante ferramenta para diagnóstico sorológico da PCM num futuro próximo, pois resultados preliminares mostram grande capacidade desta técnica em minimizar reações cruzadas entre as doenças pulmonares, TB e PCM.
- 4) É necessário alertar os profissionais da saúde para uma constante vigilância em relação à PCM, pois é uma micose importante, endêmica no Estado do Paraná e tem sido causa de mortes sem o adequado diagnóstico (dados não publicados).

## PERSPECTIVAS FUTURAS

Frente aos promissores resultados obtidos com a técnica de Western blot, faz-se necessário o seu aperfeiçoamento metodológico aumentando o número de pacientes testados, com o objetivo de padronizar um método seguro, sensível e específico para o diagnóstico e acompanhamento sorológico da PCM.

Análises adicionais também podem trazer benefícios em relação à coloração pela impregnação da prata (Gomori-Grocott), técnica que pode auxiliar o método clássico, micológico direto, na visualização direta de estruturas características de *P. brasiliensis*.

Além das melhorias laboratoriais que ainda podem ser alcançadas a partir destes resultados científicos, este trabalho contribui para a implantação, ainda incipiente, do projeto “CIDAP” para o adequado diagnóstico e acompanhamento de pacientes com PCM. No entanto, constante deve ser o contato mantido com profissionais envolvidos na Saúde Pública, para a ampliação deste protocolo e tratamento adequado de pacientes sintomáticos respiratórios.