

**Boletim Epidemiológico Paulista**

ISSN 1806-423-X  
ISSN 1806-4272 – online

# **BEPA** 51

**PUBLICAÇÃO MENSAL SOBRE AGRAVOS À SAÚDE PÚBLICA**  
Volume 5 Número 51 março/2008

# BEPA

## Boletim Epidemiológico Paulista

PUBLICAÇÃO MENSAL SOBRE AGRAVOS À SAÚDE PÚBLICA ISSN 1806-423-X

Volume 5 Nº 51

março de 2008

### Nesta Edição

**Intoxicação alimentar em refeitório de supermercado no município de São Paulo, SP, setembro de 2007** ..... 4  
*Foodborne intoxication at supermarket restaurant in the city of São Paulo, SP, September 2007*

**Paracoccidioidomicose: histórico, etiologia, epidemiologia, patogênese, formas clínicas, diagnóstico laboratorial e antígenos** ..... 11  
*Paracoccidioidomycosis: historical, etiologic agent, epidemiology, pathogenesis, clinical forms, laboratory diagnosis and antigens*

**Instruções aos Autores** ..... 25  
*Author's Instructions*



### Expediente

O Boletim Epidemiológico Paulista é uma publicação mensal da Coordenação de Controle de Doenças (CCD) da Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo.  
Av. Dr. Arnaldo, 351 – 1º andar, sala 135  
CEP: 01246-000 – São Paulo – Brasil  
Tel.: (55) 11 3066-8823 e 3066-8825  
bepa@saude.sp.gov.br

#### Coordenadora

Clelia Maria Sarmento de Souza Aranda

#### Editora Geral

Clelia Maria Sarmento de Souza Aranda

#### Editores Associados

Afonso Viviane Junior – Suceu/SP  
Ana Freitas Ribeiro – CVE/CCD/SES-SP  
Fernando Fiuza – Instituto Clemente Ferreira/CCD/SES-SP  
José Carlos do Carmo – Cerest/CCD/SES-SP  
Marcos da Cunha Lopes Virmond – ILSL/CCD/SES-SP  
Maria Clara Gianna – CRT/DST/Aids/CCD/SES-SP  
Maria Cristina Megid – CVS/CCD/SES-SP  
Marta Lopes Salomão – IAL/CCD/SES-SP  
Neide Yume Takaoka – Instituto Pasteur/CCD/SES-SP

#### Consultores Científicos

Carlos Magno Castelo Branco Fortaleza  
FM/Unesp/Botucatu/SP  
Cristiano Corrêa de Azevedo Marques – CCD/SES-SP  
Eliseu Alves Waldman – FSP/USP/SP  
José Cássio de Moraes – FCM-SC/SP  
Luiz Eduardo Batista – CCD/SES-SP  
Luiz Jacintho da Silva – FM/Unicamp  
Maria Bernadete de Paula Eduardo – CCD/SES-SP  
Vilma Pinheiro Gawyszewsk – CCD/SES-SP

#### Coordenação Editorial

Cecília Abdalla  
Cláudia Malinverni  
Leticia Maria de Campos  
Sylia Rehder

#### Núcleo de Comunicação – CCD

#### Projeto gráfico/editoração eletrônica

Marcos Rosado – Nive/CVE  
Zilda M Souza – Nive/CVE

Endereço eletrônico: <http://www.ccd.saude.sp.gov.br>

Os artigos publicados são da responsabilidade dos autores. É permitida a reprodução parcial ou total desta obra, desde que citada a fonte e que não seja para venda ou qualquer fim comercial. Para republicação de qualquer material, solicitar autorização dos editores.

## Intoxicação alimentar em refeitório de supermercado no município de São Paulo, SP, setembro de 2007

### Foodborne intoxication at supermarket restaurant in the city of São Paulo, SP, September 2007

Geraldine Madalosso<sup>1</sup>, Sheila do Nascimento Brito<sup>1</sup>, Eliana Izabel Pavanello<sup>1</sup>, Maria Izabel de Abreu Aleixo Lopes<sup>2</sup>, Ana Maria Bara Bresolin<sup>3</sup>, Luiz Cláudio Ferreira Espíndola<sup>3</sup>, Sônia Regina T. S. Ramos<sup>3</sup>, Evanise Segala Araújo<sup>4</sup>, Mioko Jakabi<sup>5</sup>, Dulce M. de A. Gomes Junqueira<sup>6</sup>, Inês Suarez Romano<sup>7</sup>, Maria Bernadete de Paula Eduardo<sup>8</sup>

<sup>1</sup>Vigilância Epidemiológica das Doenças de Transmissão Alimentar, do Centro de Controle de Doenças, da Coordenação de Vigilância em Saúde, da Secretaria Municipal de Saúde de São Paulo (CCD/COVISA/SMS-SP)

<sup>2</sup>Supervisão de Vigilância à Saúde da Mooca e Aricanduva (SUVIS/SMS-SP)

<sup>3</sup>Gerência do Centro de Controle de Doenças (CCD/COVISA/SMS-SP)

<sup>4</sup>Sub-Gerência de Alimentos (COVISA/SMS-SP)

<sup>5</sup>Instituto Adolfo Lutz Central, da Coordenadoria de Controle de Doenças, da Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo (IAL/CCD/SES-SP)

<sup>6</sup>Central de Vigilância Epidemiológica do Centro de Vigilância Epidemiológica "Prof. Alexandre Vranjac" (CVE/CCD/SES/SP)

<sup>7</sup>Coordenação de Vigilância em Saúde (COVISA/SMS-SP)

#### Resumo

Em 7 de setembro de 2007, o Hospital Benedito Montenegro do município de São Paulo (MSP) notificou dez casos de intoxicação alimentar, com um óbito, entre funcionários de um supermercado na Zona Leste, que se alimentaram em refeitório do estabelecimento no período de 3 a 7 de setembro. Este trabalho resume a investigação que possibilitou a identificação de 39 casos entre 170 comensais (taxa de ataque = 23%) e de vários alimentos como fonte de contaminação, servidos em diferentes dias, deixados em temperatura ambiente, inclusive sobras dos dias anteriores. Toxinas de *Bacillus cereus* (enterotoxina) e *Clostridium perfringens* tipo A foram identificadas em amostras de fezes de seis pacientes. O óbito notificado teve como diagnóstico a doença meningocócica (DM), confirmado por exames laboratoriais (*N. meningitidis* sorogrupo C). As ações sanitárias desencadeadas para o controle do surto compreenderam a interdição sanitária do estabelecimento e orientações técnicas para correção dos itens não-conformes com as boas práticas de preparação de alimentos.

**Palavras-chave:** doenças transmitidas por alimentos; intoxicação alimentar; vigilância epidemiológica.

#### Abstract

On September 7, 2007, the Hospital Benedito Montenegro at the city of São Paulo (MSP) notified 10 foodborne intoxication cases with one death among workers of a supermarket in the east zone, who had their meals at the restaurant of this establishment, from 3 to 7 September. This report summarizes the investigation which permitted the identification of 39 cases among 170 persons (incidence rate = 23%) and various prepared foods as source of contamination, offered during distinct days, stored at room temperature, including leftovers of the days before. Toxins of *Bacillus cereus* (enterotoxin) and *Clostridium perfringens* type A were identified in stool samples of six patients. The death was diagnosed as meningococcal disease, confirmed by laboratorial tests (*N. meningitidis* serogroup C). Sanitary measures were taken for outbreak control, such as interdiction of the establishment restaurant and technique orientation in order to correct the items that were in no compliance to the good practices for food handling.

**Key-words:** Foodborne diseases; foodborne intoxication; epidemiologic surveillance.

## Introdução

As intoxicações alimentares são causadas, em geral, por toxinas pré-formadas ou por multiplicação de microrganismos em alimentos cozidos, deixados à temperatura ambiente por tempo prolongado e consumidos sem reaquecimento ou reaquecimento inadequado. *Bacillus cereus*, *Clostridium perfringens* e *Staphylococcus aureus* são as bactérias formadoras de toxinas mais comumente envolvidas em surtos por intoxicação alimentar.

O *B. cereus* é uma bactéria Gram-positiva, aeróbia facultativa, formadora de esporos, produtora de dois tipos de toxina – diarréica (termolábil) e emética (termoestável). Causa diarréia, vômito e dores abdominais, em geral sem complicações. O período de incubação varia de 1 a 6 horas nos casos em que o vômito é predominante; de 6 a 24 horas em que a diarréia é predominante. A síndrome emética está associada mais comumente ao consumo de arroz cozido contaminado, mantido em temperatura ambiente. A síndrome diarréica, geralmente acompanhada de cólicas abdominais, é produzida pela ingestão de alimentos contaminados com esporos da bactéria, que produz a enterotoxina no trato gastrointestinal. São vários os erros cometidos na manipulação de alimentos como carnes e vegetais apontados como causa de surtos de diarréia pelo agente. Há relatos de doença invasiva ou contaminação que incluem infecções sistêmicas e piogênicas graves, gangrena, meningite séptica, celulite, abscessos pulmonares, endocardite e morte, principalmente em recém-nascidos prematuros, imunossuprimidos, neutropênicos e pacientes em uso de cateteres vasculares em unidades de terapia intensiva<sup>1,2</sup>.

O *C. perfringens* é um Gram-positivo, anaeróbio, produtor de esporos. A doença é caracterizada por início súbito de cólica abdominal acompanhada de diarréia líquida, com duração em torno de 24 horas; vômitos e febre são pouco freqüentes. O período de incubação varia de 6 a 24 horas, em geral de 8 a 12 horas. O quadro é indistinguível da síndrome produzida pela toxina diarréica de *B. cereus*. Um quadro grave pode ser causado pela ingestão de cepas tipo C, que provocam a enterite necrosante ou doença de Pigbel (dor abdominal aguda, diarréia sanguinolenta, vômitos, choque e peritonite), com 40% de letalidade. A maioria dos surtos está associada a produtos cárneos aquecidos ou reaquecidos inadequadamente, como carnes cozidas, tortas de carne, molhos com carne, peru ou frango<sup>3,4</sup>.

O *Staphylococcus aureus* é uma bactéria Gram-positiva, sendo que algumas cepas produzem uma toxina protéica termoestável que causa doença em humanos. A toxina é produto da multiplicação da bactéria nos alimentos deixados em temperaturas inadequadas. A intoxicação alimentar estafilocócica

geralmente apresenta início abrupto e violento, com predominância de sintomas gastrointestinais do trato superior, como náusea, vômitos e cólicas, e com intervalo curto entre o início dos sintomas e a ingestão do alimento contaminado, de 30 minutos a 8 horas, em média de 2 a 4 horas. A doença se assemelha ao quadro produzido pela toxina emética do *B. cereus*. A recuperação ocorre em cerca de dois dias, porém em alguns casos pode levar mais tempo ou exigir hospitalização. A morte é rara; contudo, pode ocorrer em crianças, idosos e indivíduos debilitados<sup>5</sup>.

Em publicação do Centro de Prevenção e Controle de Doenças (CDC, Atlanta, EUA) sobre os dados do Sistema de Vigilância das Doenças Transmitidas por Alimentos, no período de 1998 a 2002, foram detectados 268 surtos causados por esses agentes, que corresponde a 22,6% dos surtos com etiologia bacteriana confirmada<sup>6</sup>. No Estado de São Paulo, entre os 1.047 surtos de doenças de origem alimentar notificados no mesmo período, 71 (6,8%) foram devido a esses agentes<sup>7</sup>. O baixo percentual aqui observado pode ser explicado pela dificuldade de realização dos testes em amostras de fezes de pacientes pelos laboratórios de saúde pública de referência, com identificação dos agentes somente nas situações em que houve sobras de alimentos para análise.

Em 7/9/2007, o Hospital Benedito Montenegro notificou à Coordenação da Vigilância em Saúde (COVISA), da Secretaria Municipal de Saúde de São Paulo, e esta à Central de Vigilância do Centro de Vigilância Epidemiológica “Prof. Alexandre Vranjac” (CVE) – órgão da Coordenadoria de Controle de Doenças, da Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo (CCD/SES/SP) –, a ocorrência de um óbito e nove casos de gastroenterite com história comum de ingestão de alimentos no refeitório de um supermercado na Zona Leste de São Paulo, de 3 a 7 de setembro de 2007. O presente trabalho resume os achados da investigação do surto de intoxicação alimentar por *C. perfringens* do tipo A e por *B. cereus* (toxina diarréica), relacionados à ingestão de alimentos oferecidos no período citado.

## Métodos

### Investigação epidemiológica

Os estudos analíticos de coorte foram conduzidos entrevistando-se doentes e não-doentes que almoçaram no refeitório, no período de 3 a 7 de setembro, utilizando-se o formulário de investigação de surtos de doenças transmitidas por alimentos (DTA) do CVE.

Definiu-se como caso todo o indivíduo com diarreia ou outro sintoma gastrointestinal que almoçou pelo menos um dia no refeitório, no período. Considerou-se

como caso confirmado por critério laboratorial o doente com presença do agente etiológico/toxina nas fezes, e por critério clínico-epidemiológico o que consumiu os alimentos servidos no período e não realizou exames laboratoriais. Definiu-se como controle todo o indivíduo sadio que fez a refeição pelo menos um dia no refeitório, no período já citado. Considerou-se surto a ocorrência de dois casos ou mais da doença devido à ingestão de um alimento comum.

Para os estudos analíticos foram testadas as hipóteses para três diferentes coortes de comensais: 1) coortes de comensais que se alimentaram das refeições servidas em cada dia, de 3 a 7 de setembro; 2) a coorte restrita ao grupo de pessoas que freqüentou o refeitório todos os dias, de 3 a 7 de setembro e 3) a coorte do grupo de comensais que se alimentou somente nos dias 3 e 4 de setembro, já que o início dos sintomas se deu a partir do dia 5.

A análise estatística foi realizada utilizando-se o aplicativo Epi Info Windows, versão 3.3.2.

### Investigação laboratorial

As amostras de fezes coletadas de seis pacientes internados com sintomas gastrintestinais foram testadas para vírus, parasitas, bactérias e presença de toxinas. Oito amostras de sangue e de urina foram inoculadas para pesquisa de bactérias (culturas). Para o caso que evoluiu para o óbito foram recuperados soro e vísceras, não havendo material para realização de hemocultura ou coprocultura.

No soro, foram realizados contraímunoelctroforese (CIE), PCR (reação da cadeia em polimerase) em tempo real e genogrupagem para *Neisseria meningitidis*. Nas vísceras, foi realizado exame anátomopatológico. Os testes confirmatórios tanto para o caso de doença meningocócica quanto para os de gastroenterite foram realizados pelo Instituto Adolfo Lutz Central (IAL/CCD/SES-SP).

### Investigação sanitária

Na inspeção sanitária foram observadas as condições estruturais e de funcionamento do refeitório, rastreando-se os alimentos utilizados e identificando-se os fatores de risco que contribuíram para a ocorrência do surto.

### Resultados e discussão

#### Investigação epidemiológica

Entre as 170 pessoas entrevistadas, que almoçaram pelo menos em um dos dias no refeitório no período de 3 a 7 de setembro, foram identificados 39 doentes, excluindo-se o óbito, e 131 não-doentes,

com uma taxa de ataque (TA) de 23%. Nas amostras de fezes analisadas foram identificadas toxinas de *Clostridium perfringens* tipo A e de *Bacillus cereus* (enterotoxina). Entretanto, não foi possível realizar testes para a toxina estafilocócica.

O óbito notificado teve como diagnóstico a doença meningocócica (DM), confirmado por CIE sérica, PCR em tempo real e genogrupagem (*N. meningitidis* sorogrupo C). O exame anatomopatológico de vísceras evidenciou congestão generalizada e necrose isquêmica da cortical interna de supra-renal, possivelmente secundárias ao choque terminal. O caso/óbito de DM não relacionada à transmissão alimentar foi excluído das análises a seguir apresentadas.

Na Tabela 1 observa-se a distribuição dos sinais e sintomas dos casos de gastroenterite identificados no inquérito epidemiológico (N= 39).

Tabela 1. Distribuição dos sinais e sintomas dos pacientes com gastroenterite aguda (N = 39). Refeitório de supermercado, município de São Paulo, setembro de 2007.

Sinais e sintomas	N	%
Diarréia	28	71,8%
Cólica abdominal	27	69,2%
Náusea	14	35,9%
Cefaléia	7	17,9%
Vômito	5	12,8%
Mal-estar	3	7,7%
Febre	2	5,1%
Epigastria	1	2,6%
Dor lombar	1	2,6%

Fonte: DDTHA/CVE e DTA/CCD/SMS-SP

O início dos sintomas dos 39 casos variou entre os dias 5 e 9 de setembro, com a seguinte distribuição percentual: quatro casos (10,2%) no dia 5, 12 casos (30,8%) no dia 6, 17 casos (43,6%) no dia 7, cinco casos (12,8%) no dia 8 e um caso (2,6%) no dia 9. A duração da doença variou de 1 a 4 dias, com mediana de 1 dia, e todos evoluíram para a cura. O início dos sintomas dos nove casos internados por diarréia (excluída a paciente com DM) variou entre 5 e 7 de setembro. Todos os casos receberam hidratação venosa e medicação sintomática (sem uso de antibióticos) e evoluíram com sintomatologia leve, sem complicações. A curva epidêmica segundo o dia do início dos sintomas dos 39 casos está demonstrada na Figura 1.

Considerando-se os dois agentes etiológicos e seus períodos de incubação de aproximadamente 6 a 24 horas e o padrão da curva epidêmica, deduz-se que o grupo de doentes de cada dia pode ter-se exposto a alimentos contaminados no dia imediatamente anterior e/ou no próprio dia do início dos sintomas.

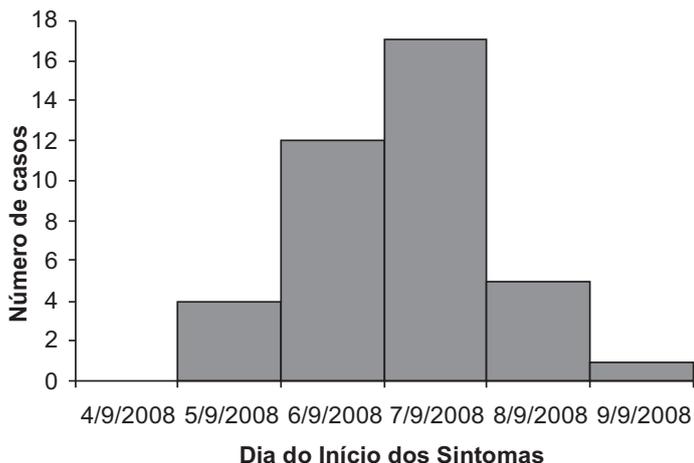


Figura 1. Distribuição dos casos do surto de gastroenterite segundo o dia de início dos sintomas (N = 39). Refeitório de supermercado, município de São Paulo, setembro de 2007.

A curva epidêmica abaixo (Figura 2) apresenta os 39 casos com sintomas gastrintestinais, segundo o intervalo de horas (6 em 6 horas) e sugere fortemente uma fonte contínua de infecção, ou seja, os alimentos de risco servidos a cada dia favoreciam a intoxicação e o aparecimento de novos casos, devido à ingestão no próprio dia ou no dia imediatamente anterior.

Este fato também foi corroborado pelos achados da inspeção sanitária, que constatou que os alimentos não eram armazenados em freezer ou geladeiras; permaneciam expostos à temperatura ambiente durante as refeições por um longo período de tempo, desde o seu preparo na parte da manhã até serem servidos entre 11 e 15 horas. Além disso, as sobras desses alimentos, não-refrigeradas, eram servidas no dia seguinte.

Cabe destacar que os doentes com diarreia permaneceram almoçando nos demais dias, isto é, não deixaram de comparecer ao trabalho e se expuseram novamente aos alimentos servidos no refeitório.

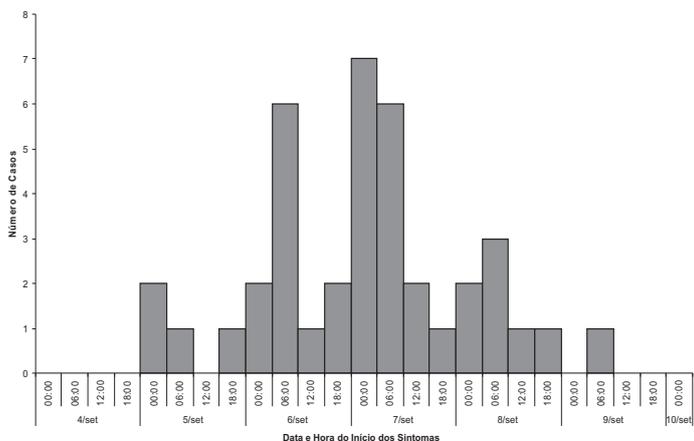


Figura 2. Distribuição dos casos do surto de gastroenterite segundo dia e hora de início dos sintomas (N = 39). Refeitório de supermercado, município de São Paulo, setembro de 2007.

A seguir, observa-se a distribuição dos pacientes segundo o atendimento médico recebido (Tabela 2).

Tabela 2. Distribuição dos pacientes segundo o atendimento médico recebido. Refeitório de supermercado, município de São Paulo, setembro de 2007.

Atendimento médico	n	%
Hospitalização	9	23,1
PS/PA/UBS	16	41,0
não procuraram serviço médico	14	35,9
<b>Total</b>	<b>39</b>	<b>100,0</b>

Fonte: DDTHA/CVE e DTA/CCD/SMS-SP  
PS = pronto-socorro; PA = pronto-atendimento; UBS = Unidade Básica de Saúde

A distribuição dos doentes e comensais segundo o sexo é apresentada na Tabela 3.

Tabela 3. Distribuição dos doentes e comensais segundo sexo. Refeitório de supermercado, município de São Paulo, setembro de 2007.

SEXO	Doentes		Total de comensais		Taxa de ataque (%)
	n	%	n	%	
<b>Feminino</b>	18	46,1	49	28,8	36,7
<b>Masculino</b>	21	53,9	121	71,2	17,4
<b>Total</b>	39	100,0	170	100,0	22,9

Fonte: DDTHA/CVE e DTA/CCD/SMS SP

A frequência de casos entre o sexo masculino foi maior, porém o risco de adoecimento foi maior na população do sexo feminino, com taxa de ataque de 36,7%. A população masculina era maior que a feminina, pois, além dos funcionários do supermercado, fornecedores e prestadores de serviço também freqüentaram o refeitório naquela semana, já que o supermercado ainda estava em obras e tinha sido recentemente inaugurado.

A distribuição dos doentes e comensais segundo a faixa etária é apresentada na Tabela 4. A idade média foi de 22 anos e a variação, de 18 a 37 anos.

Tabela 4. Distribuição de doentes e comensais segundo a faixa etária. Refeitório de supermercado, município de São Paulo, setembro de 2007.

Faixa etária	Doentes		Total de comensais		Taxa de ataque (%)
	n	%	n	%	
<b>0-4 anos</b>	0	0	0	0	0
<b>5-19 anos</b>	6	15,4	23	13,5	26,1
<b>20-49 anos</b>	33	84,6	145	85,3	22,8
<b>50 anos e mais</b>	0	0	2	1,2	0
<b>Total</b>	39	100,0	170	100,0	22,9

Fonte: DDTHA/CVE e DTA/CCD/SMS SP

Entre os 39 doentes, 32 freqüentaram o refeitório nos dias 3 ou 4 ou em ambos os dias; a maioria dos 32 fez refeições também nos dias 5, 6 e 7. Dos 39 doentes, somente 17 (43,6%) freqüentaram o refeitório todos os dias. Dos 131 comensais não-doentes, somente 60 (45,8%) freqüentaram o refeitório todos os dias. Isto significa que entre os 170 comensais entrevistados somente 77 (17 doentes e 60 não-doentes) se expuseram de forma similar aos fatores de risco, expondo-se aos cardápios oferecidos entre os dias 3 e 7 de setembro. Destes 17 doentes, três casos (17,6%) relataram início dos sintomas em 5 de setembro; seis (35,3%) no dia 6; sete (41,2%) no dia 7 e um caso (5,9%) no dia 8. Dos 23 doentes e 80 não-doentes que comeram em ambos os dias 3 e 4 de setembro, quatro casos (17,4%) relataram início dos sintomas no dia 5; sete (30,4%) no dia 6; 11 (48%) no dia 7 e um (4,3%) no dia 8. Há que se destacar também que entre os usuários do refeitório incluíam-se, além de funcionários do supermercado, fornecedores e prestadores de serviços.

A análise das refeições suspeitas segundo o dia de consumo pelos comensais mostrou resultados significativos (Tabela 5).

No estudo em questão, considerou-se o número de doentes (casos) e de não-doentes (controles) expostos a cada cardápio, retirando-se, contudo, os casos com

início de sintomas nos dias anteriores à refeição estudada. Permaneceram os controles presentes no dia estudado, lembrando, porém, que os mesmos não necessariamente estiveram presentes nos dias anteriores, com possibilidade de viés e possível explicação para a perda da força estatística observada, por exemplo, no caso do strogonoff, do pernil frito e da salsicha (exposições anteriores não similares pelos dois grupos em estudo, no dia anterior).

Considerando os vieses devido a exposições não necessariamente similares entre os doentes (casos) e não-doentes (controles) nos vários dias, buscou-se um grupo de pessoas que tivesse em comum exposições contínuas, isto é, que tenha freqüentado todos os dias o refeitório do supermercado, no período estudado. Definiu-se, assim, para o estudo analítico de coorte como doente (caso) e não-doente (controle) aqueles que freqüentaram o refeitório todos os dias de 3 a 7 de setembro, isto é, expuseram-se às mesmas condições de risco. Para este período foram identificados 17 doentes (casos) e 60 não-doentes (sadios) que almoçaram todos os dias no refeitório.

Os resultados com RR >1 são apresentados na Tabela 6, sendo que somente o chuchu refogado (5 de setembro) e o pão com salsicha (6 de setembro) apresentaram significância estatística.

**Tabela 5. Análise univariada do risco associado aos alimentos servidos nas refeições de 3 a 7 de setembro, referente às coortes de comensais em cada dia de exposição. Refeitório de supermercado, município de São Paulo.**

Refeição suspeita	Consumiram o alimento						Não consumiram o alimento				RA (%)	RR	IC	p-value
	Data	TA (%)	Alimento	Doentes (a)	Não-doentes (b)	Total (a + b)	% Doentes	Doentes (c)	Não-doentes (d)	Total (c + d)				
3/set	30	Strogonoff	20	52	72	27,8	5	31	36	13,9	13,9	2,00	0,82-4,89	0,170
4/set	23,3	Strogonoff	7	11	18	38,9	23	88	111	20,7	18,2	1,88	0,95-3,72	0,090
3 e/ou 4/set	23,9	Strogonoff	25	63	88	28,4	7	39	46	15,2	13,2	1,87	0,87-3,99	0,090
5/set	29,4	Chuchu refogado	3	1	4	75	27	101	128	21,1	53,9	3,56	1,84-6,86	0,036
		Pernil Frito	2	1	3	66,7	28	101	129	21,7	45,0	3,07	1,29-7,29	0,130
6/set	28,4	Salsicha	30	97	127	23,6	1	12	13	7,7	15,9	3,07	0,46-20,72	0,300
		Pão c/ salsicha	14	18	32	43,8	17	91	108	15,7	28,0	2,78	1,55-5,0	0,001
7/set	12,7	Lingüiça	14	93	107	13,1	1	10	11	9,1	2,1	1,44	0,21-9,93	1,000
		Suco	14	89	103	13,6	1	14	15	6,7	6,9	2,04	0,29-14,40	0,690

Fonte: DDTHA/CVE e SMS/SP

**Tabela 6. Análise univariada do risco associado aos alimentos servidos nas refeições de 3 a 7 de setembro, referente à coorte de comensais que almoçaram todos os dias no refeitório. Refeitório de supermercado, município de São Paulo.**

Alimento	Consumiram o alimento				Não consumiram o alimento				RA (%)	RR	IC 95%	p-value
	Doentes (a)	Não-doentes (b)	Total (a + b)	% de Doentes	Doentes (c)	Não-doentes (d)	Total (c + d)	% de Doentes				
Strogonoff 03	15	40	55	27,3	2	20	22	9,1	18,2	3,00	0,75-12,05	0,13
Carne frita 03	1	1	2	50	16	59	75	21,3	28,7	2,34	0,55-10,02	0,39
Strogonoff sobras 04	3	3	6	50	14	57	71	19,7	30,3	2,54	1,00-6,41	0,12
Chuchu 05	2	0	2	100	15	60	75	20	80	5,00	3,18-7,83	0,046
Salsicha 06	16	52	68	23,5	1	8	9	11,1	12,4	2,12	0,32-14,12	0,67
Pernil sobras 06	1	1	2	50	16	59	75	21,3	28,7	2,34	0,55-10,02	0,39
Pão c/ salsicha 06	9	9	18	50	8	51	59	13,6	36,4	3,69	1,67-8,15	0,001
Lingüiça 07	16	53	69	23,2	1	7	8	12,5	10,7	1,86	0,28-12,19	0,67
Purê sobras 07	1	1	2	50	16	59	75	21,3	28,7	2,34	0,55-10,02	0,39
Hamburguer 07	1	0	1	100	16	60	76	21,1	78,9	4,75	3,07-7,34	0,22
Pão doce 07	2	4	6	33,3	15	56	71	21,1	12,2	1,58	0,47-5,33	0,61

Fonte: DDTHA/CVE e SMS/SP

Considerando-se, ainda, o tempo de incubação do *C. perfringens* e *B. cereus* e o aparecimento de casos a partir do dia 5 de setembro, foi testada a hipótese referente à frequência de pessoas em ambos os dias 3 e 4 de setembro, obtendo-se 23 doentes e 80 não-doentes (103 comensais). Os alimentos que apresentaram  $RR > 1$  são apresentados na Tabela 7, porém nenhum resultado foi estatisticamente significativo.

A constatação de que em cada dia era servido um determinado cardápio, sem prévio planejamento, explica a dificuldade de realizar o inquérito alimentar com os doentes e não-doentes, fato ainda agravado pelo oferecimento de complementações improvisadas de alimentos e sobras do cardápio do dia anterior. Apesar de toda a mobilização feita para se entrevistar o universo dos comensais envolvidos no surto, é provável que tenham ocorrido perdas, especialmente, de não-doentes prestadores de serviços; e, ainda, houve a dificuldade dos comensais em lembrar-se do que comeram a cada dia. Essas limitações podem ter dificultado a obtenção de dados mais precisos e, por conseguinte, a perda da significância estatística nos estudos analíticos realizados para cada coorte de comensais.

A ocorrência simultânea do óbito por DM entre os funcionários envolvidos no surto de gastroenterite dificultou o raciocínio epidemiológico no início da investigação, pela sintomatologia inicial do caso com diarreia e vômitos semelhante ao quadro apresentado pelos outros doentes do surto. Apesar da confirmação laboratorial do diagnóstico de DM, não foi possível estabelecer vínculo epidemiológico do caso com surto, uma vez que no quadro clínico da DM a diarreia pode ocorrer como sintoma de gravidade. Além disso, o quadro fulminante impossibilitou a coleta de amostra de fezes para a pesquisa de toxinas dos agentes etiológicos do surto.

### Investigação sanitária

Durante a inspeção sanitária foi possível a identifi-

cação de fatores de risco que contribuíram para a ocorrência do surto, entre eles:

- armazenamento de alimentos em condições inadequadas de higiene e organização;
- estocagem de alimentos em locais com obras inacabadas ou em andamento;
- ausência de cardápios previamente planejados, sendo incluídas preparações de última hora e sobras que eram servidas no dia seguinte;
- falhas nos procedimentos de manutenção e controle dos alimentos em temperatura de segurança, pela ausência de equipamentos adequados;
- ausência de guarda de amostras de alimentos preparados, o que impossibilitou a coleta de amostras de alimentos para análise laboratorial;
- ausência de desinfecção de verduras, legumes e frutas;
- presença de funcionários sem treinamento adequado e sem realização de exames médicos obrigatórios;
- implantação de serviço de alimentação para coletividades sem orientação e supervisão de profissional técnico habilitado e
- falta de estrutura/equipamentos para produzir 200 refeições/dia para funcionários e fornecedores.

Pela falta de equipamentos como geladeiras e freezer na cozinha e utilização inadequada de balcão térmico no refeitório, os alimentos preparados ficavam expostos à temperatura inadequada durante as refeições e as sobras desses alimentos, não-refrigeradas, eram servidas no dia seguinte, corroborando para a sobrevivência e multiplicação de agentes e conseqüente produção de toxinas. Essas irregularidades comprometiam a qualidade e inocuidade dos alimentos manipulados no local, sendo tomado como medida administrativa para controle de surtos a interdição do refeitório de

Tabela 7. Análise univariada do risco associado aos alimentos servidos para o grupo de pessoas que freqüentou o refeitório nos dias 3 e 4 de setembro com  $RR > 1$ . Refeitório de supermercado, município de São Paulo.

Refeições dias 3 e 4/set	Consumiram o alimento				Não consumiram o alimento				RA (%)	RR	IC 95%	p-value
	Doentes (a)	Não-doentes (b)	Total (a + b)	%de Doentes	Doentes (c)	Não-doentes (d)	Total (c + d)	%de Doentes				
Strogonoff 03	18	52	70	25,7	5	28	33	15,2	10,6	1,70	0,69-4,18	0,23
Farofa 03	2	4	6	33,3	21	76	97	21,6	11,7	1,54	0,47-5,08	0,61
Strogonoff sobras 04	4	5	9	44,4	19	75	94	20,2	24,2	2,20	0,96-5,06	0,11

Fonte: DDTHA/CVE e SMS/SP

funcionários e do estabelecimento, devido às obras inacabadas no setor de armazenamento, além de orientações técnicas.

### Conclusão

O surto acometeu 39 pessoas e foi causado por *C. perfringens* do tipo A e por *B. cereus* (enterotoxina), associados a vários alimentos servidos no período de 3 a 7 de setembro de 2007.

Cabe destacar que foram inúmeras as dificuldades e limitações encontradas durante o inquérito realizado, como a ausência de cardápio previamente planejado, complementações improvisadas e as sobras que foram servidas no dia seguinte.

O paciente notificado que evoluiu para o óbito teve o diagnóstico de doença meningocócica (DM) confirmado por exames laboratoriais (*N. meningitidis* sorogrupo C), não sendo possível estabelecer se estava associado também ao surto de gastroenterite pelo quadro de meningococcemia, que poderia incluir a diarreia como sintoma de gravidade, e pela ausência de amostra de fezes para pesquisa de toxinas dos agentes etiológicos do surto.

A interdição do refeitório e as orientações para adequações foram medidas importantes para interrupção de casos de intoxicação alimentar e prevenção de surtos semelhantes.

### Referências bibliográficas

1. Secretaria de Estado da Saúde. Centro de Vigilância Epidemiológica "Prof. Alexandre Vranjac". InformeNet DTA – *Bacillus cereus*. Disponível em: [www.cve.saude.sp.gov.br/html/hidrica/bacillus\\_cereus.htm](http://www.cve.saude.sp.gov.br/html/hidrica/bacillus_cereus.htm).
2. American Academy of Pediatrics. *Bacillus cereus* Infections. In: Pickering LK, ed. 2006 Red Book: Report of the Committee on Infectious Diseases. 27<sup>th</sup> ed. Elk Grove Village, IL: American Academy of Pediatrics; 2006.
3. Secretaria de Estado da Saúde. Centro de Vigilância Epidemiológica Prof. Alexandre Vranjac. InformeNet DTA – *Clostridium perfringens*. Disponível em: [www.cve.saude.sp.gov.br/html/hidrica/clostridium.htm](http://www.cve.saude.sp.gov.br/html/hidrica/clostridium.htm).
4. American Academy of Pediatrics. *Clostridium perfringens* - Food Poisoning. In: Pickering LK,

### Agradecimentos

À Equipe da Sub-gerência de Vigilância Sanitária em Alimentos/COVISA/SMS/SP pelas ações sanitárias imediatas desencadeadas no momento da notificação.

À SUVIS Mooca/Aricanduva/SMS/SP - Vigilâncias Epidemiológica e Sanitária pela dedicação no trabalho do inquérito epidemiológico do surto em conjunto com o CCD/COVISA/SMS.

Às equipes das SUVIS Vila Prudente/Sapopemba e SUVIS Itaquera/SMS/SP que colaboraram na busca ativa de casos e dados de internação hospitalar.

Às alunas do EpiSUS/SP: Renata D'Avila Couto e Thais Cláudia Roma de Oliveira que colaboraram com a investigação realizando visita hospitalar aos pacientes internados e coleta de informações em prontuários.

A Ricardo Albemaz e Telma Carvalhanas, da Divisão de Doenças de Transmissão Respiratória (DDTR/CVE/CCD/SES-SP), que participaram da discussão dos casos e sugestões para o processamento e análise dos dados.

Às equipes do Instituto Adolfo Lutz, dos Setores de Enterobactérias, Virologia, Enteroparasitoses e Microbiologia de Alimentos, pelo rastreamento das amostras dos pacientes, o que possibilitou a identificação dos agentes causadores do surto alimentar e do óbito de DM.

ed. 2006 Red Book: Report of the Committee on Infectious Diseases. 27<sup>th</sup> ed. Elk Grove Village, IL: American Academy of Pediatrics; 2006.

5. Secretaria de Estado da Saúde. Centro de Vigilância Epidemiológica "Prof. Alexandre Vranjac". InformeNet DTA – *Staphylococcus aureus*. Disponível em: [www.cve.saude.sp.gov.br/html/hidrica/staphylo.htm](http://www.cve.saude.sp.gov.br/html/hidrica/staphylo.htm).
6. Center for Disease Control and Prevention. Surveillance for Foodborne Disease Outbreaks – United States, 1998-2002. MMWR. 2006;55 (SS-10).
7. Secretaria de Estado da Saúde. Centro de Vigilância Epidemiológica "Prof. Alexandre Vranjac". Tabelas/Planilhas de Surtos (1998 a 2002). Disponível em: [www.cve.saude.sp.gov.br/html/hidrica/hidri\\_estat.html](http://www.cve.saude.sp.gov.br/html/hidrica/hidri_estat.html).

#### Correspondência/Correspondence to:

Geraldine Madalosso  
Rua Santa Isabel, 181 – 7º andar – Vila Buarque – CEP 01221-010  
E-mail: [gmadalosso@prefeitura.sp.gov.br](mailto:gmadalosso@prefeitura.sp.gov.br)

## Paracoccidioidomicose: histórico, etiologia, epidemiologia, patogênese, formas clínicas, diagnóstico laboratorial e antígenos

### *Paracoccidioidomycosis: historical, etiologic agent, epidemiology, pathogenesis, clinical forms, laboratory diagnosis and antigens*

Adriana Pardini Vicentini Moreira

Laboratório de Imunodiagnóstico das Micoses  
Seção de Imunologia do Serviço de Microbiologia e Imunologia  
Divisão de Biologia Médica  
Instituto Adolfo Lutz (IAL)  
Coordenadoria de Controle de Doenças (CCD)  
Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo (SES-SP)

#### Resumo

No centésimo aniversário da publicação do primeiro caso de paracoccidioidomicose, são apresentadas informações relacionadas ao histórico, agente etiológico, epidemiologia, patogênese, formas clínicas, diagnóstico laboratorial e antígenos. Apesar do expressivo avanço em diversas áreas do conhecimento, a micose descrita por Adolpho Lutz em 1908 ainda demonstra altas taxas de mortalidade e letalidade e baixa visibilidade, configurando-se como oitava causa de mortalidade por doença predominantemente crônica ou repetitiva entre as infecciosas e parasitárias, e a maior taxa de mortalidade entre as micoses sistêmicas.

**Palavras-chave:** *Paracoccidioides brasiliensis*; epidemiologia; patogênese; formas clínicas; diagnóstico; antígenos.

#### Abstract

In the 100<sup>th</sup> birthday of the first published case of paracoccidioidomycosis this review summarizes some knowledge about historical, etiologic agent, epidemiology, pathogenesis, clinical forms, laboratory diagnosis and antigens. Despite the significant advances in many areas of knowledge, the mycosis described by Adolpho Lutz in 1908, showed high mortality and lethality rates and low visibility representing the eighth most common cause of death from predominantly chronic or recurrent types of infectious and parasitic diseases.

**Key words:** *Paracoccidioides brasiliensis*; epidemiology; pathogenesis; paracoccidioidomycosis diagnosis; *P. brasiliensis* antigens.

## Histórico

Há 100 anos, Adolpho Lutz<sup>1,2</sup>, no Instituto Bacteriológico de São Paulo, descreveu pela primeira vez a paracoccidiodomicose (PCM), ao verificar em lesões bucais de dois pacientes a existência de fungos de natureza dimórfica distintas do *Coccidioides immitis*<sup>3,4</sup>.

Em 1º de abril de 1908, o periódico *Brazil-Médico*<sup>1</sup> publicava a primeira parte dos resultados, fruto de minuciosos estudos iniciados em 1905<sup>5</sup> por Adolpho Lutz. No artigo “Uma mycose pseudococcidica localizada na bocca e observada no Brazil. Contribuição ao conhecimento das *hyphoblastomicoses* americanas”, Lutz descreveu a paracoccidiodomicose como uma doença que se caracterizava por apresentar lesões muito graves, com presença de úlceras que tomavam conta da boca e destruíam a mucosa da gengiva e o véu palatino e dolorosa repercussão ganglionar, qualificando-a como micose pseudococcidica após identificar seu agente causal, bem como seu modo característico de reprodução. Ao verificar semelhanças morfológicas com micoses anteriormente descritas na Argentina e nos Estados Unidos, incluiu-a em um grupo por ele denominado de hifoblastomicoses americanas<sup>3</sup>.

Após a descrição da doença, fatal na ocasião pela inexistência de terapia específica, seguiu-se longo período de análise e estudo das lesões cutâneas e mucosas, freqüentemente relatadas pelos pacientes acometidos pela enfermidade, na tentativa de isolamento do agente causal. Em 1912, Alfonso Splendore classificou o agente etiológico da paracoccidiodomicose dentro do gênero *Zymonema*, propondo a denominação de *Zymonema brasiliensis*<sup>3,4</sup>.

A classificação definitiva e consensualmente aceita foi feita por Floriano Paulo de Almeida, graças a estudo comparativo realizado entre o granuloma coccidióico nos Estados Unidos e no Brasil, demonstrando que eram indiscutíveis e notáveis as diferenças entre ambas as patologias<sup>6,3,4</sup>. Nesse estudo, confirmou os achados anteriormente descritos por Lutz<sup>1,2</sup>, estabelecendo, assim, as diferenças entre o agente etiológico da paracoccidiodomicose e o *C. immitis*, com o qual era freqüentemente confundido<sup>6</sup>. Em 1930, após diversos estudos, criou o gênero *Paracoccidioides* dentro do reino *Fungi*, revalidando também a espécie *brasiliensis*, criada por Splendore<sup>3,4,5,6</sup>.

Segundo Lacaz<sup>4</sup>, com a observação e o relato de casos isolados da doença em outros países da América do Sul, a mesma passou a ser chamada de blastomicose sul-americana, doença de Lutz, doença de Lutz-Splendore-Almeida, pois Splendore foi o primeiro a cultivar o patógeno e Almeida, o

autor do primeiro estudo abrangente sobre a doença<sup>6</sup>. Porém, a oficialização do termo paracoccidiodomicose foi estabelecida em 1971, em Medellín, Colômbia, durante reunião de micologistas do continente americano, sendo mundialmente aceita desde então<sup>4</sup>.

## Agente etiológico

*Paracoccidioides brasiliensis* é o agente etiológico da PCM, micose de alta endemicidade na América Latina<sup>7</sup>.

Taxonomicamente encontra-se no Reino *Fungi*, Filo *Ascomycota*, Classe *Pleomycetes*, Ordem *Onigenales*, Família *Onygenaceae*, Gênero *Paracoccidioides* e Espécie *brasiliensis*<sup>8,9</sup>.

*P. brasiliensis* apresenta dimorfismo termo-dependente, crescendo à temperatura ambiente sob a forma de colônias brancas, aderentes ao meio. Microscopicamente, observa-se hifas delgadas, hialinas, septadas, multinucleadas e ramificadas com produção de clamidósporos terminais ou intercalares, conídios e ausência de corpo de frutificação, sendo denominada de saprofítica<sup>7</sup> ou micélio<sup>10</sup>. Quando cultivado a 35°C-37°C, em meios enriquecidos desenvolve colônias de coloração creme, chamadas cerebriformes ou leveduriformes. Ao microscópico verifica-se a presença de células arredondadas ou ovais, multinucleadas, com paredes celulares espessas, birrefringentes, rodeadas por multibrotamentos, constituindo a variante L (levedura). Esta fase é conhecida também como parasitária, pois é encontrada causando lesões nos tecidos do hospedeiro humano ou animal<sup>10</sup>.

## Epidemiologia

A PCM é micose sistêmica, de natureza granulomatosa crônica, que acomete freqüentemente os pulmões, o sistema fagocítico macrofágico e tecidos mucocutâneos, podendo disseminar-se por via linfo-hematogênica para tecidos e órgãos adjacentes<sup>11</sup>.

Indivíduos do sexo masculino com idade entre 30 a 50 anos, ou seja, em fase produtiva, são os mais acometidos pela doença, principalmente aqueles que exercem atividades relacionadas à agropecuária<sup>12</sup>.

Até o momento, não foram totalmente esclarecidos o hábitat natural e as condições de vida saprofítica de *P. brasiliensis*<sup>13</sup>. Em função das características ecológicas das regiões endêmicas acredita-se que o patógeno habite preferencialmente ambiente úmido, com temperaturas médias anuais entre 18°C a 24°C e índices pluviométricos elevados (900 mm a 1.800 mm)<sup>7</sup>.

A micose apresenta distribuição geográfica restrita a países da América Latina, apresentando maior incidência no Brasil, Venezuela e Colômbia<sup>14,9,13</sup>.

A PCM não é doença de notificação compulsória, portanto, sua real prevalência não pode ser calculada. No entanto, estima-se que a taxa anual de incidência entre a população brasileira seja de 1-3 por 100.000 habitantes e a de mortalidade, de 0,14 por 100.000 habitantes<sup>15</sup>.

Coutinho e cols<sup>15</sup> estudaram 3.181 óbitos por PCM no Brasil, por um período de 15 anos, demonstrando a grande magnitude e baixa visibilidade da doença, destacando-a como oitava causa de mortalidade por doença predominantemente crônica ou repetitiva entre as infecciosas e parasitárias, superior à leishmaniose, e a mais elevada taxa de mortalidade entre as micoses sistêmicas.

Estima-se que nas regiões endêmicas existam, aproximadamente, 10 milhões de pessoas infectadas por *P. brasiliensis*. No entanto, a maioria não apresenta sintomas clínicos<sup>13</sup>.

No Brasil é encontrada em quase todas as regiões do território nacional: Sul, Sudeste, Centro-Oeste e Norte, sendo que casos esporádicos da doença têm sido relatados no Nordeste. No Estado de São Paulo tem sido relatada principalmente na região central<sup>16</sup>.

A enfermidade é considerada um grave problema de saúde pública devido à existência de extensas áreas endêmicas associadas às importantes repercussões econômico-produtivas dos indivíduos acometidos<sup>12,16</sup>.

Apesar de existirem áreas endêmicas bem definidas, o caráter casual e não repetitivo das observações, aliado às dificuldades de isolamento do agente etiológico, dificulta a exata localização do patógeno no ambiente. Além disso, a falta de surtos epidêmicos, o prolongado período de latência da doença e as freqüentes migrações das populações de áreas endêmicas tornam praticamente impossível a identificação do local onde a infecção foi adquirida<sup>7</sup>.

O isolamento desta espécie fúngica tem sido descrito a partir de fezes de pingüins da Antártida<sup>17</sup>, em amostras de solo<sup>18-23</sup>, ração de cachorro contaminada com solo<sup>24</sup>, trato intestinal de morcegos frugívoros<sup>25</sup> e também de tatus<sup>26-32</sup>.

A literatura tem relatado o sucesso obtido no isolamento de *P. brasiliensis* a partir de vísceras (fígado, baço, linfonodos e pulmões) do tatu de nove bandas (*Dasyurus novemcinctus*)<sup>26-32</sup>. Para tanto, tem-se utilizado, além das técnicas micológicas tradicionais (cultivo e isolamento de células leveduriformes), métodos moleculares, como a técnica de reação de polimerase em cadeia (PCR), visando à amplificação do DNA empregando-se primers específicos.

Segundo Franco e cols.<sup>20</sup>, a combinação dos métodos micológicos e moleculares na análise de 81 tatus investigados permitiu aos autores, em seu conjunto, êxito na obtenção de 29 amostras com características macro e micromorfológicas compatíveis com *P. brasiliensis*. Segundo os autores, a demonstração da patogenicidade/virulência<sup>31</sup> inoculando-se células fúngicas isoladas das vísceras de tatus em animais susceptíveis; a produção de antígenos e avaliação de seu potencial antigênico, pela reação de imunodifusão dupla frente a soros de pacientes com PCM confirmada; a demonstração da imunoreatividade de frações antigênicas, como a glicoproteína de 43.000 daltons ou gp43, pela técnica de *immunoblotting*; a extração e amplificação de DNA fúngico e a detecção pela técnica de PCR do gene que codifica a gp43<sup>32</sup> conferiram grau de certeza inquestionável aos resultados obtidos, demonstrando-se capazes de atender aos requisitos de confiabilidade para o isolamento de *P. brasiliensis* a partir de vísceras de tatus.

Esses resultados comprovam a presença de *P. brasiliensis* no solo em razão da constatação da ocorrência do mesmo, em alta freqüência, em tatus da espécie *D. novemcinctus*<sup>26-32</sup>, animais de hábito escavatório, cuja distribuição geográfica coincide com a observada na PCM<sup>13</sup>. O fato de tatus de nove bandas não apresentarem hábito migratório, visto que não costumam distanciar-se de sua toca, abre perspectivas para que se delimite com maior precisão a reservárea do patógeno, possibilitando, conseqüentemente, determinar a região ou área na qual o homem é infectado. Pode-se dizer, portanto, que o contato com tatus está intimamente relacionado com maior risco de infecção, principalmente nos indivíduos que residem nas áreas endêmicas<sup>33</sup>.

Recentemente foram relatados casos da doença em cães<sup>34-37</sup>, sendo obtida cultura fúngica apenas para um caso. Ono e cols<sup>36</sup> avaliaram a presença de anticorpos anti-gp43 de *P. brasiliensis* em amostras de soro de 305 cães das regiões urbana, periurbana e rural de Londrina, Paraná, usando o ELISA, observando índices de positividade de 14%, 48,8% e 89,5%, respectivamente. Quando submetidos à avaliação da resposta imunológica do tipo tardio (HTT), empregando gp43 como antígeno, verificou-se que os cães da área periurbana apresentaram 13,1% de positividade e os da rural, 38,1%. A detecção de altos títulos de anticorpos anti-gp43, associada à forte positividade na intradermoreação, levou ao sacrifício de seis cães, na tentativa de isolamento do agente etiológico. Apesar da utilização de metodologia semelhante àquela descrita para o isolamento em tatus, nesses cães a investigação foi negativa.

Fagundes<sup>37</sup> avaliou a presença de anticorpos anti-*P. brasiliensis*, empregando as técnicas de ELISA e imunodifusão dupla, frente a soros de 282 cães da zona rural de Botucatu (SP). A reatividade por ELISA foi de 35% e as amostras com altos títulos de anticorpos avaliadas por *immunoblotting* revelaram a presença de frações antigênicas bem definidas e específicas, embora com padrões de intensidade variável. Não se observou reatividade ao *P. brasiliensis* pela imunodifusão dupla. Os animais que apresentaram reatividade de forte intensidade frente ao antígeno fúngico foram avaliados clínica e radiologicamente, não evidenciando, contudo, sinais de PCM-doença.

A implantação, a implementação e o avanço das técnicas moleculares têm auxiliado de forma expressiva no isolamento de *P. brasiliensis* a partir de amostras de solo, principalmente daquelas coletadas de áreas sabidamente endêmicas para a doença<sup>13,20,22,23</sup>.

Neste sentido, Ono e cols.<sup>21</sup> avaliaram a interferência de produtos químicos utilizados na agricultura no desenvolvimento de *P. brasiliensis*. Os autores avaliaram seis fungicidas, dois herbicidas e dois inseticidas frente a cinco amostras de *P. brasiliensis* isoladas do meio ambiente e cinco isoladas de pacientes, demonstrando que o cultivo destes isolados a 35°C em ágar Sabouraud-dextrose, acrescido de concentrações distintas de cada um dos compostos químicos, impediu o desenvolvimento *in vitro* de *P. brasiliensis*. Estes resultados podem explicar parcialmente a dificuldade muitas vezes observada no isolamento de *P. brasiliensis* a partir de amostras de solo<sup>20</sup>.

## Patogênese

Durante muito tempo acreditou-se que o mecanismo de infecção humana ocorria pela via oral, visto que grande número de pacientes que relatavam hábito de mascar capins apresentava lesões em mucosa da cavidade oral.

González-Ochoa<sup>38</sup> consolidou a hipótese de que o mecanismo de infecção da PCM ocorria pela via área superior, por meio da inalação de formas fúngicas diminutas denominadas de conídeos. Uma vez inalados, sob os efeitos da temperatura corpórea do hospedeiro, alguns sistemas enzimáticos do patógeno são ativados, permitindo a transformação da forma infectante em parasitária<sup>39,11</sup>. Segundo o autor, as manifestações em mucosa oral e cutânea seriam secundárias e resultantes da disseminação linfohematogênica do fungo, a partir do tecido pulmonar.

Desde então esta via de infecção é a mais aceita, sendo evidenciada por vários aspectos, destacando-se: as tentativas infrutíferas de isolamento de *P. brasiliensis* a partir de gramíneas e outros vegetais<sup>40</sup>; o freqüente achado de lesões pulmonares

em exames de autopsias<sup>41</sup>; e o isolamento de *P. brasiliensis* em amostras de escarro e lavado brônquico de pacientes portadores de lesões pulmonares inaparentes<sup>41,42,11</sup>.

Uma vez inalado, o fungo pode ser destruído no parênquima pulmonar por células fagocíticas inespecíficas ou multiplicar-se e produzir foco de infecção, o qual é drenado para o linfonodo regional localizado no hilo pulmonar, caracterizando, assim, o complexo primário na PCM. No entanto, essas lesões podem regredir espontaneamente em indivíduos imunocompetentes, com destruição total ou parcial do fungo<sup>43</sup>, caracterizando a forma subclínica da doença<sup>44</sup>.

Eventualmente, os fungos contidos no complexo primário podem disseminar-se por via hematogênica e/ou linfática, atingindo outros órgãos, causando a forma juvenil ou aguda<sup>45</sup>. No entanto, muitos indivíduos permanecem com o complexo primário cicatricial contendo fungos viáveis, denominados de lesões quiescentes, que podem evoluir para PCM crônica muitos anos após a infecção<sup>11</sup>. Nos tecidos a reatividade do hospedeiro induz reação inflamatória, que culmina na formação de granuloma, o qual foi inicialmente descrito por Motta<sup>46</sup>. O granuloma representa uma resposta do hospedeiro ao agente agressor, ou seja, o *P. brasiliensis*, na tentativa de bloquear e restringir seu desenvolvimento, impedindo sua multiplicação e disseminação para órgãos e tecidos adjacentes<sup>11</sup>. A evolução do granuloma parece estar intimamente relacionada ao tipo de resposta imune desencadeada pelo hospedeiro, bem como aos componentes de parede liberados pelo patógeno<sup>47</sup>. Fatores relacionados ao *P. brasiliensis*, como virulência, patogenicidade e composição antigênica, e ao hospedeiro, como suscetibilidade genética, faixa etária, sexo, tabagismo, etilismo, desnutrição e deficiência do sistema imunológico, estão associados às manifestações clínicas da doença<sup>48</sup>.

San-Blas e San-Blas<sup>49</sup>, verificaram que polissacarídeos como  $\alpha$ -(1,3) glucana e  $\beta$ -(1,3) lucana estão relacionados ao dimorfismo fúngico e à virulência deste patógeno. Os autores, ao estudarem diferentes isolados de *P. brasiliensis*, sugeriram que a  $\alpha$ -1,3 glucana protege o fungo contra enzimas digestivas produzidas pelos leucócitos e macrófagos do hospedeiro. Segundo San-Blas<sup>50</sup>, o parasitismo por *P. brasiliensis* ocorre quando este se transforma em levedura no início do processo infeccioso, evadindo-se, assim, da ação de enzimas fagocíticas, uma vez que os fagócitos humanos são capazes de produzir apenas  $\beta$ -glucanases, as quais digerem somente a  $\alpha$ -(1,3) glucana.

Dentre os fatores próprios do fungo capazes de aumentar sua patogenicidade, os mais freqüentes

são os lípidos e os polissacarídeos<sup>50</sup> e, mais recentemente, a glicoproteína de 43 kDa, antígeno imunodominante de *P. brasiliensis*<sup>51-52</sup>.

### Formas clínicas

A classificação adotada leva em consideração as manifestações clínicas e os parâmetros imunológicos da patologia, apresentando três diferentes formas: PCM-infecção, PCM-doença e PCM-residual<sup>53-56</sup>.

A PCM-infecção é observada em indivíduos que apresentam positividade em testes cutâneos frente à paracoccidioidina, sendo considerada a forma assintomática da doença. Nestes indivíduos a imunidade celular encontra-se preservada, observando-se intensas reações intradérmicas<sup>11</sup>.

A PCM-doença pode manifestar-se sob duas formas: a aguda (tipo juvenil) e a crônica (tipo adulta). A forma aguda representa menos de 10% da casuística geral desta patologia, sendo a mais grave e a que afeta jovens de ambos os sexos, os quais apresentam acentuada depressão da resposta imunocelular e elevados títulos de anticorpos<sup>11</sup>. Normalmente, é originada de uma infecção primária, disseminando-se rapidamente por meio das vias linfáticas para o sistema monocítico-macrofágico, causando hepatoesplenomegalia e possível disfunção medular. As lesões em mucosas são pouco freqüentes, ocorrendo em 15% a 20% dos casos; o acometimento pulmonar é raro, estando presente em apenas 5% a 11% dos pacientes<sup>11,54,55</sup>. A crônica representa 90% dos casos e acomete, freqüentemente, adultos do sexo masculino em idade produtiva, ou seja, entre 30 a 50 anos. A doença surge a partir de um foco quiescente<sup>55</sup>, caracterizando-se por apresentar curso de evolução lento, podendo comprometer um único órgão (unifocal) ou disseminar-se para outros órgãos (multifocal)<sup>11</sup>.

A residual constitui forma clínica importante pela freqüência com que se manifesta, mesmo após tratamento eficaz. As principais seqüelas relacionam-se ao comprometimento pulmonar, adrenal, laríngeo, digestivo, encefálico e tegumentar.

### Diagnóstico laboratorial

#### Micológico

Na PCM, como em outras micoses, o diagnóstico considerado como padrão-ouro é o isolamento do agente etiológico em cultura. Para o isolamento de *P. brasiliensis* recomenda-se o emprego de meios de cultura enriquecidos com extrato de levedura, contendo antibióticos ou, ainda, ágar infusão de cérebro e coração (BHI). O material semeado é incubado a 25°C-30°C, crescendo lentamente (15 a 30 dias), sob

a forma de micélio, apresentando colônias brancas ou amarronzadas, cotonosas ou glabrasas<sup>57,58</sup>.

Na maioria das vezes, as leveduras de *P. brasiliensis* podem ser facilmente visualizadas ao microscópio óptico. Normalmente, empregam-se secreções do trato respiratório, raspado e crostas de lesões ulceradas, tecidos de biópsia, pus de gânglios, urina e LCR, entre outros. Em material de punção ganglionar, por exemplo, visualizam-se células globosas, ovais ou elípticas com 5µm a 25µm de diâmetro, inclusões citoplasmáticas e multibrotamentos com parede de duplo contorno refringente.

Nos casos em que a biópsia é possível e menos lesiva para o paciente, colorações especiais como o Gomori-Grocott ou ácido periódico de Schiff podem auxiliar no diagnóstico, por meio da observação nos granulomas de células típicas multibrotantes. As células em múltiplo brotamento são esféricas (10µm a 20µm de diâmetro) e os brotos esféricos ou em forma de limão encontram-se dispostos ao redor da célula-mãe<sup>57</sup>.

Importante salientar que a PCM, principalmente em sua forma pulmonar, deve ser diferenciada de outras micoses e da tuberculose. Os achados clínicos e radiológicos são inespecíficos; no entanto, calcificação extensa, efusão pleural e localização apical são indicativas de histoplasmose e tuberculose. O diagnóstico diferencial com leishmaniose também assume grande importância, uma vez que as regiões endêmicas para esta patologia coincidem muitas vezes com as da PCM, sendo que as lesões orais, cutâneas e de fossas nasais são bastante semelhantes. O comprometimento do sistema linfático simula doença de Hodgkin e outras doenças malignas<sup>57</sup>.

#### Sorológico

É evidente o fato de que o diagnóstico de certeza de processos infecciosos derive da demonstração do agente etiológico em preparados histológicos, exame a fresco ou cultivo<sup>3,57,58</sup>. No entanto, em algumas situações o estado físico ou clínico dos pacientes impossibilita o acesso ao local da lesão, impedindo assim a coleta do material biológico<sup>59</sup>.

Historicamente, na PCM a pesquisa de anticorpos<sup>59-64</sup> e antígenos<sup>66-67</sup> específicos no soro de pacientes empregando-se técnicas sorológicas, além de importante auxílio diagnóstico, tem a função de monitorar o curso da doença durante e pós-tratamento<sup>61,65-68</sup>, permitindo a obtenção de resultados mais rápidos, quando comparados aos exames de cultura e histopatológico<sup>3,57</sup>, sendo que em alguns casos se traduz na primeira indicação da natureza micótica da doença, principalmente naqueles indivíduos com sinais clínicos inaparentes<sup>3</sup>. A técnica

utilizada, portanto, há que aliar sensibilidade à especificidade<sup>69,70</sup>, para que o valor preditivo<sup>71</sup> seja máximo e reprodutível.

Apesar de técnicas sorológicas como imunodifusão dupla (ID)<sup>59,60,62,68</sup>, imunofluorescência indireta<sup>72</sup>, contraímunoeletroforese<sup>61,64,69</sup>, ELISA<sup>73-78,60-62,65-68</sup> e *immunoblotting*<sup>79-83,60,62,73</sup> serem empregadas para o diagnóstico confirmatório da PCM, visando à pesquisa de anticorpos e/ou antígenos, os índices de resultado falso-positivos e falso-negativos ainda são muito elevados, estando a especificidade e sensibilidade da técnica diretamente relacionadas ao antígeno empregado<sup>62</sup>.

Segundo Fava-Netto<sup>84</sup>, o primeiro teste amplamente utilizado no diagnóstico e acompanhamento de pacientes com PCM foi a fixação de complemento, desenvolvido por Moses<sup>85</sup>, empregando como antígeno extrato de *P. brasiliensis* em salina, obtendo sensibilidade de 80%. Posteriormente, o emprego de antígeno polissacarídico de *P. brasiliensis* elevou a sensibilidade da técnica para 90%<sup>86</sup>. Contudo, devido a sua baixa especificidade e às dificuldades metodológicas envolvidas, como a instabilidade das hemáceas e do complemento, esta técnica agora é raramente utilizada<sup>60</sup>.

A ID foi primeiramente utilizada no diagnóstico da PCM por Ferri<sup>87</sup> e permanece há 47 anos como método de escolha, empregado rotineiramente pelos laboratórios clínicos devido ao seu fácil procedimento, baixo custo operacional, sensibilidade entre 65% a 100%, especificidade e valor preditivo de 100%. Além disso, esta técnica consente que os clínicos realizem o acompanhamento sorológico dos pacientes, verificando a diminuição dos títulos de anticorpos anti-*P. brasiliensis*, permitindo também avaliar a eficácia da terapia antifúngica<sup>62</sup>.

Na ID, quando se utiliza como antígeno filtrado de cultura obtido a partir de leveduras de *P. brasiliensis* frente a soros de pacientes com suspeita clínica de PCM, é possível detectar até três linhas de precipitação: linha 1 (perto do orifício do antígeno), linha 2 (posição intermediária) e linha 3 (perto do orifício do soro). A linha 1 é detectada em aproximadamente 95% a 98% dos soros de pacientes portadores de doença ativa, sendo a última a desaparecer após a instauração da terapia antifúngica<sup>88</sup>. A linha 2 tem sido identificada em 60% a 65% dos casos, sendo a segunda a desaparecer após o início do tratamento específico, enquanto a terceira linha tem sido observada em apenas 30% a 35% dos casos, sendo a primeira a desaparecer. O número de bandas observadas no ensaio de ID está intimamente relacionado à severidade da doença<sup>60,69</sup>.

Segundo Siqueira<sup>69</sup>, os resultados da ID podem variar devido a diferentes parâmetros, entre os quais a preparação antigênica utilizada, a forma da doença e o início do tratamento.

O teste de ELISA tem sido utilizado para a detecção de anticorpos em quase todas as micoses sistêmicas, senão em todas. Apesar disso, em relação ao imunodiagnóstico da paracoccidioidomicose a técnica ainda oferece grandes porcentagens de reatividade cruzada, principalmente frente a soros de pacientes com histoplasmose, candidíase, doença de Jorge Lobo e, recentemente, frente a soros de pessoas aparentemente saudáveis, residentes em áreas endêmicas para PCM<sup>60,62,78</sup>.

O teste de ELISA para o sorodiagnóstico da PCM foi utilizado primeiramente por Arango<sup>89</sup> e depois, simultaneamente, por Camargo e cols.<sup>74</sup> e Mendes-Giannini e cols.<sup>90</sup>, que comprovaram a existência de reatividade cruzada frente a soros heterólogos. Entretanto, os autores demonstraram que a absorção dos soros de pacientes com PCM com células de *Candida albicans* ou *Histoplasma capsulatum* tornava a reação mais específica<sup>62</sup>.

Del Negro e cols.<sup>68</sup> avaliaram pelo método clássico de ELISA o perfil de reatividade de 43 amostras de soro de pacientes com doença ativa, verificando que soros de pacientes com a forma crônica unifocal apresentaram baixa densidade óptica, com três pacientes apresentando valores próximos ao cut off, observando ainda a existência de reatividade cruzada frente a soros de pacientes com doença de Jorge Lobo e histoplasmose.

Visando minimizar os altos índices de reatividade cruzada e, conseqüentemente, otimizar a especificidade da técnica de ELISA para o diagnóstico da PCM, Albuquerque e cols.<sup>78</sup> empregaram como antígeno a fração de 43 kDa de *P. brasiliensis* tratada com diferentes concentrações de metaperiodato de sódio, avaliando-se parâmetros como: a pré-absorção dos sorotestes com antígenos de *C. albicans* e/ou *H. capsulatum* e a diluição dos soros de pacientes com PCM com galactose. Entretanto, os autores obtiveram especificidade máxima de 84%, sugerindo que nenhum dos procedimentos adotados foi suficiente na eliminação da reatividade cruzada.

Técnicas imunoenzimáticas do tipo Western-Blot ou *immunoblotting* (IB) possuem alta sensibilidade e foram empregadas originalmente para caracterizar a resposta imune humoral aos antígenos de *P. brasiliensis*<sup>62</sup>.

Camargo e cols.<sup>79</sup> avaliaram por IB a capacidade discriminatória de exoantígeno obtido a partir de filtrado de cultura da amostra B-339 de *P. brasiliensis*

frente a 97 soros de pacientes com PCM (25 soros de pacientes antes do tratamento antifúngico e 72 soros de pacientes na vigência de terapia específica) e a frente a soros heterólogos, bem como de indivíduos saudáveis residentes em zona endêmica para esta patologia. A análise dos resultados demonstrou que anticorpos anti-*P. brasiliensis* da classe IgG reagiram preferencialmente frente a quatro frações antigênicas: 70, 52, 43 e 20-21 kDa, sendo observado que a fração de 43 kDa (gp43) foi reconhecida por 100% dos soros de pacientes com PCM e a de 70 kDa (gp70), por 96%.

Mendes-Giannini e cols.<sup>64</sup> detectaram por *immunoblotting* a presença da gp43 em 28 soros de pacientes com PCM, divididos em três grupos. Grupo 1, constituído de 12 soros de pacientes portadores da forma juvenil, avaliados em três diferentes períodos: antes, 10 e 24 meses pós-tratamento. Grupo 2: cinco soros de pacientes com a forma crônica, que não se encontravam na vigência de tratamento. Grupo 3: seis soros de pacientes considerados clinicamente curados há mais de um ano. Soros de indivíduos saudáveis foram utilizados como controle da reação. Em relação aos pacientes com PCM juvenil, verificou-se que 100% das amostras obtidas antes do início do tratamento reconheceram de forma específica a gp43 e que a partir do décimo mês de quimioterapia a detecção da mesma acontecia com menor frequência, tornando-se indetectável após 24 meses de tratamento. Observou-se que 100% dos soros de pacientes com PCM crônica reagiram frente à fração de 43 kDa e que a mesma não foi detectada por soros de pacientes considerados clinicamente curados.

Blotta e Camargo<sup>80</sup> avaliaram por IB 60 soros de pacientes com PCM, observando que 100% dos soros reconheciam de forma específica a gp43. Ortiz e cols.<sup>81</sup> demonstraram que o antígeno recombinante de 27 kDa era reconhecido por IB por 91% dos soros com PCM avaliados, não sendo observada reatividade cruzada frente a soros heterólogos. Este achado é de considerável interesse, visto que proteínas recombinantes fornecem uma fonte altamente reprodutível de antígenos definidos.

Takahachi e cols.<sup>82</sup> avaliaram por *immunoblotting* 78 soros de pacientes com suspeita clínica de PCM, que apresentaram ausência de reatividade pela ID. Os autores empregaram como antígeno filtrado de cultura da amostra B-339 de *P. brasiliensis*, observando que das 78 amostras, 51 (65,4%) reagiram de forma específica frente à gp43.

Segundo Del Negro e cols.<sup>91</sup>, são raros os casos de pacientes que apresentam ausência de

reatividade pelas provas de ID e contraímuno-elektroforese. Entretanto, quando isto ocorre e os soros são avaliados por *immunoblotting* os mesmos reagem frente à gp43.

Da Silva e cols.<sup>83</sup> avaliaram por *immunoblotting* 23 soros de pacientes com confirmação clínica e micológica de PCM e com ausência de anticorpos anti-*P. brasiliensis*, pela ID, frente a duas preparações antigênicas distintas, observando que 95,4% dos soros reconheceram de forma específica a gp43 e 100%, gp70, descritas como marcadores sorológicos da doença.

Vidal e cols.<sup>92</sup> relatam o caso de um paciente com resposta sorológica atípica, ou seja, o não reconhecimento por *immunoblotting* da gp43; reagindo, contudo, frente à fração antigênica de 70 kDa, descrita na literatura como sendo reconhecida por aproximadamente 96% dos soros de pacientes com PCM<sup>79</sup>.

Os resultados de Vidal e cols.<sup>92</sup> e Da Silva e cols.<sup>83</sup> podem ser explicados, talvez, pelos achados de Berzaghi e cols.<sup>93</sup>, sendo que a ausência de reatividade à gp43 pelas provas de ID e IB se deva a não secreção/expressão desta molécula pela amostra fúngica responsável pela infecção dos pacientes; ou ainda pelos achados de Campos e cols.<sup>94</sup>, relacionados à existência de diferentes isoformas da molécula de 43 kDa.

Chamou a atenção de Neves e cols.<sup>95</sup> o fato de pacientes com PCM ativa apresentarem ausência de reatividade frente a antígenos de *P. brasiliensis* pela ID. Os autores observaram que estes pacientes continham baixos níveis de IgG e IgG1 específicas, quando comparados aos elevados níveis de IgG2 de pacientes com ID positivas. Os mesmos sugerem que a ausência de reatividade na ID pode estar relacionada à produção de IgG2 de baixa afinidade direcionada a epítopos glicídicos.

## Molecular

Bialek e cols.<sup>8</sup> utilizaram a técnica de Nested PCR para detectar fragmentos de DNA de *P. brasiliensis*, empregando uma seqüência do gene da gp43 como alvo. A PCR foi realizada com DNA obtido de homogenato de pulmão de 23 camundongos infectados com conídios de *P. brasiliensis*, DNA de camundongos não infectados e de camundongos infectados com *H. capsulatum*. Os autores observaram que os 23 homogenatos foram positivos pela técnica de Nested PCR, sugerindo que, pelo fato de ser uma metodologia sensível e específica, poderá ser utilizada no diagnóstico da PCM em amostras de tecido.

Gomes e cols.<sup>96</sup> relataram o emprego da PCR para a detecção de DNA de *P. brasiliensis* na saliva de 11

pacientes com a forma crônica da PCM. Segundo os autores, 100% das amostras analisadas foram positivas, apresentando uma banda de 0,6 kb.

Devido a sua alta sensibilidade e especificidade, é inevitável que a identificação molecular de fragmentos de DNA de *P. brasiliensis* pela PCR, com aplicabilidade diagnóstica, seja brevemente implantada para o diagnóstico da paracoccidiodomicose.

### Antígenos de *P. brasiliensis*

*P. brasiliensis* apresenta em sua constituição uma multiplicidade de componentes antigênicos<sup>97</sup>, alguns próprios da espécie e outros comuns aos demais fungos. Segundo Restrepo e cols.<sup>98</sup>, estes antígenos podem ser extraídos da parede celular do fungo, do conteúdo citoplasmático ou, ainda, do filtrado de cultura. Contudo, dados da literatura demonstram variabilidade na metodologia utilizada pelos diferentes laboratórios com o objetivo de produzir antígenos de *P. brasiliensis*<sup>58</sup>. Entre estas, pode-se citar: a escolha da amostra fúngica, tamanho do inóculo, meio de cultura, período, forma e temperatura de incubação. A grande heterogeneidade destes parâmetros muitas vezes interfere no produto final e compromete a especificidade, estabilidade e reprodutibilidade dos antígenos, características de vital importância no imunodiagnóstico da PCM e de outras micoses<sup>99,58,70</sup>. A reatividade cruzada, comumente observada nestes casos, pode ser explicada pela grande similaridade antigênica entre os fungos dimórficos, particularmente *H. capsulatum* e *Lacazia loboi*<sup>100,101</sup>.

Pesquisas visando à obtenção de antígenos de *P. brasiliensis* vêm sendo realizadas desde o início do século passado. Na década de 1920, Arêa Leão<sup>102</sup> obteve antígenos com o objetivo de utilizá-los na avaliação da imunidade humoral de pacientes com PCM. Lacaz<sup>103</sup> os obteve com a mesma finalidade; contudo, os antígenos não se conservaram. Fava Netto<sup>86</sup> relatou a obtenção de antígeno polissacarídico, empregando-o em ensaios de fixação de complemento e precipitação em tubos. Este mesmo antígeno foi utilizado para ensaios de intradermoreação, objetivando analisar a hipersensibilidade do tipo tardio (HTT).

A partir de 1960, as pesquisas relacionadas à caracterização de antígenos de *P. brasiliensis* apresentaram aumento significativo. Estudos foram realizados testando-se diferentes parâmetros, entre

os quais podem ser citados: a natureza química, bem como diferentes concentrações dos nutrientes utilizados no preparo de meios sintéticos, pH, temperatura, período de incubação, amostras fúngicas utilizadas, condições de aeração e processamento do antígeno obtido<sup>104-108</sup>.

Um dos mais importantes avanços e contribuições ao estudo e caracterização de antígenos de *P. brasiliensis* foi a identificação e purificação da glicoproteína de 43 kDa, descrita como antígeno exocelular e imunodominante<sup>88</sup>. A gp43, porém, não é totalmente específica, visto que sua fração glicídica contém epítomos capazes de serem reconhecidos por soro heterólogo, principalmente os que contêm anticorpos anti-*H. capsulaum*<sup>100,101</sup>.

Dados da literatura indicam que a preparação antigênica adequada e com aplicabilidade no sorodiagnóstico deve conter, em sua composição, a molécula de 43.000 daltons<sup>80</sup>. Neste sentido, há necessidade de escolher adequadamente a amostra a ser utilizada para este propósito, pois, conforme demonstrado por Campos e cols.<sup>94</sup>, existem amostras de *P. brasiliensis* que não expressam gp43.

Berzaghi e cols.<sup>93</sup> relataram que as culturas de *P. brasiliensis* seriam compostas por diferentes clones, e por alguma razão apenas alguns destes expressariam a molécula de 43 kDa. Para avaliar esta hipótese, obtiveram clones de três diferentes amostras de *P. brasiliensis* (113, B-339 e 18), avaliando-os quanto à capacidade de expressar gp43. Os autores verificaram por *immunoblotting* que os exoantígenos produzidos a partir de clones das amostras 113 e 339 apresentavam gp43 e que dos 26 clones obtidos da amostra 18, quatro não secretavam esta molécula. Avaliando os clones não secretadores de gp43 verificaram que após dez subcultivos, estes clones voltaram a expressar, de maneira extremamente variável, a glicoproteína de 43 kDa. Segundo os autores, este fenômeno pode ser possivelmente explicado por algum problema molecular no mecanismo de expressão da molécula de 43 kDa.

### Considerações finais

Mesmo após ter sido descrita há 100 anos, e apesar dos expressivos avanços que permitiram a melhor compreensão da epidemiologia, patogênese, diagnóstico clínico e laboratorial, a paracoccidiodomicose ainda apresenta no Brasil alta prevalência, altas taxas de mortalidade e letalidade, podendo ser considerada uma doença negligenciada.

## Referências bibliográficas

1. Lutz A. Uma mycose pseudococcidica localizada na bocca e observada no Brazil. Contribuição ao conhecimento das hyphoblastomicoses americanas. Brazil Médico. 1908;13:121-24.
2. Lutz A. Uma mycose pseudococcidica localizada na bocca e observada no Brazil. Contribuição ao conhecimento das hyphoblastomicoses americanas. Brazil Médico. 1908;15:141-44.
3. Lacaz CS. Paracoccidoidomicose. In: Lacaz CS, Porto E, Martins JEC, Heins-Vaccari E, Melo NT. Tratado de Micologia Médica Lacaz. São Paulo: Sarvier; 2002.
4. Lacaz CS. Evolução dos conhecimentos sobre a paracoccidoidomicose. Um pouco de sua história. In: Del Negro G, Lacaz CS, Fiorillo AM. Paracoccidoidomicose-Blastomicose Sul-Americana. São Paulo: Sarvier-Eduso;1982.
5. Biblioteca Virtual Adolpho Lutz. Disponível em: <http://www.bvslutz.coc.fiocruz.br>.
6. Almeida FP. Estudos comparativos do granuloma coccidiótico nos Estados Unidos e no Brasil: novo gênero para o parasito brasileiro. An Fac Med S. Paulo. 1930;5:125-41.
7. Restrepo A. The Ecology of *Paracoccidioides brasiliensis*: a puzzle still unsolved. Sabouraudia. 1985;23(5):323-34.
8. Bialek R, Ibricevic A, Aepinus C, Najvar LK, Fothergill AW, Knobloch J, Graybill JR. Detection of *Paracoccidioides brasiliensis* in tissue samples by a nested PCR assay. J Clin Microbiol. 2000;38(8):2940-2.
9. San-Blas G, Nino-Vega G, Iturriaga T. *Paracoccidioides brasiliensis* and paracoccidoidomycosis: molecular approaches to morphogenesis, diagnosis, epidemiology, taxonomy and genetics. Med Mycol. 2002;40(3):225-42.
10. Lacaz CS. *Paracoccidioides brasiliensis*: Morphology; Evolutionary Cycle; Maintenance during Saprophytic Life; Biology; Virulence; Taxonom. In: Franco MF, Lacaz CS, Restrepo A, Del Negro G. Paracoccidoidomycosis. CRC Press, Boca Raton, USA. 1994.
11. Franco M. Host-parasite relationships in paracoccidoidomycosis. J Med Vet Mycol. 1986;25:5-18.
12. Blotta MH, Mamoni RL, Oliveira SJ, Nouer AS, Papaioannou PM, Gouveia A, Camargo ZP. Endemic regions of paracoccidoidomycosis in Brazil: a clinical and epidemiologic study of 584 cases in the southeast region. Am J Trop Med Hyg. 1999;61(3):390-4.
13. Restrepo A, McEwen JG, Castaneda E. The habitat of *Paracoccidioides brasiliensis*: how far from solving the riddle? Med Mycol. 2001;39(3):233-41.
14. Calle D, Rosero DS, Orozco LC, Camargo D, Castaneda E, Restrepo A. Paracoccidoidomycosis in Colombia: an ecological study. Epidemiol Infect. 2001;126(2):309-15.
15. Coutinho ZF, Silva D, Lazera M, Petri V, Oliveira RM, Sabroza PC, et al. Paracoccidoidomycosis mortality in Brazil (1980-1995). Cad. Saúde Pública. 2002;18(5):1441-54.
16. Marques SA, Franco MF, Mendes RP, Silva NC, Baccili C, Curcelli ED, et al. Epidemiologic aspects of paracoccidoidomycosis in the endemic area of Botucatu (São Paulo - Brazil). Rev Inst Med Trop São Paulo. 1983;25(2):87-92.
17. Guezelle E. Aislamiento de *Paracoccidioides* sp. de heces de pinguino de la Antártida, res. B2. In: Resúmenes IV Encuentro Internacional sobre Paracoccidoidomycosis; 1989; Caracas, Venezuela.
18. Shome SK, Batista AC. Ocorrência de *Paracoccidioides brasiliensis* in the soil of Recife, Brazil. Rev Fac Med Fed Ceará. 1963;3:90-4.
19. Silva-Vergara ML, Martinez R, Chadu A, Madeira M, Freitas-Silva-G, Leite Maffei CM. Isolation of a *Paracoccidioides brasiliensis* strain from the soil of a coffee plantation in Ibiá, State of Minas Gerais, Brazil. Med Mycol. 1998;36(1):37-42.
20. Franco M, Bagagli E, Scapolio S, Lacaz CSA critical analysis of isolation of *Paracoccidioides brasiliensis* from soil. Med Mycol. 2000;38(3):185-91.
21. 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):493-9.
22. Theodoro RC, Candeias JM, Araujo JPr, Bosco S, Macoris AS, Oadula LO, Franco M, Bagagli E. Molecular detection of *Paracoccidioides brasiliensis* in soil. Med Mycol. 2005;43(8):725-9.

23. Terçarioli GR, Bagagli E, Reis GM, Theodoro RC, Bosco S, Macoris AS, Richini-Pereira VB. Ecological study of *Paracoccidioides brasiliensis* in soil: growth ability, conidia production and molecular detection. *BMC Microbiol.* 2007;22:7:92.
24. Ferreira MS, Freitas LH, Lacaz CS, Del Negro GM, Melo NT, Garcia NM, Assis CM, Salebian A, Heins-Vaccari EM. Isolation and characterization of a *Paracoccidioides brasiliensis* strain from a dogfood probably contaminated with soil in Uberlandia, Brazil. *J Med Vet Mycol.* 1990;28(3):253-6.
25. Grosse E, Tamsitt J. *Paracoccidioides brasiliensis* recovered from the intestinal tract of three bats (*Artibeus lituratus*) in Colombia S.A. *Sabouraudia.* 1965;4:124-25.
26. Naiff R, Barretto T. Novos registros de *Paracoccidioides brasiliensis* em tatus (*Dasypus novemcinctus*). In: Proceedings Congresso Brasileiro Parasitologia; 1989; Rio de Janeiro, Brazil: Sociedade Brasileira de Parasitologia. Abstract 197.
27. Naiff RD, Ferreira LC, Barret TV, Naiff MF, Arias JR. Enzootic paracoccidioidomycosis in armadillos (*Dasypus novemcinctus*) in the State of Para. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo.* 1986;28(1):19-27.
28. Bagagli E, Sabo A, Coelho KI et al. Isolation of *Paracoccidioides brasiliensis* from armadillos (*Dasypus novemcinctus*) captured in na endemic area of paracoccidioidomycosis. *Am J Trop Med Hyg.* 1998;58:505-12.
29. Corredor GG, Castano JH, Peralta LA et al. Isolation of *Paracoccidioides brasiliensis* from the nine-banded armadillo *Dasypus novemcinctus*, in na endemic area for paracoccidioidomycosis in Colombia. *Rev Iberoam Micol.* 1999;16:216-20.
30. Silva-Vergara ML, Martinez R. Role of the aramdillo *Dasypus novemcinctus* in the epidemiology of paracoccidioidomycosis. *Mycopathologia.* 1999;144:131-33.
31. Helder Barbosa F, Montenegro MR, Bagagli E. Virulence profiles of ten *Paracoccidioides brasiliensis* isolates obtained from armadillos (*Dasypus novemcinctus*). *Med Mycol.* 2003;41:89-96.
32. Helder Barbosa F, Morais FV, Montenegro MR, Kuramae EE, Taylor JW, Montes B, Puccia R, Bagagli E. Sequence comparison of the internal transcribed spacer regions and gp 43 in *Paracoccidioides brasiliensis* for patients and armadillos *Dasypus novemcinctus*. *J Clin Microbiol.* 2003;41:5735-7.
33. Cadavid D, Restrepo A. Factors associated with *Paracoccidioides brasiliensis* infection among permanent residents of three endemic areas in Colombia. *Epidemiol Infect.* 1993;111:121-33.
34. Ricci G, Mota FT., Wakamatsu A, Serafim RC, Borra RC, Franco, M. Canine paracoccidioidomycosis. *Med Mycol.* 2004;42:379-83.
35. Farias MR, Werner J, Muro MD, Marues SA, Marques MEA, Franco MF, Ribeiro MG, Custodio CC, Condas LAZ, Bosco SMG, Bagagli E. Canine paracoccidioidomycosis: case report of generalized lymphadenitis. *Rev Inst Med Trop.* 2005;47(14):64.
36. Ono MA, Bracarense APFRL, Morais HAS, Trapp SM, Belitardo DR. Canine paracoccidioidomycosis: a seroepidemiologic study. *Med Mycol.* 2001;39(3):277-82.
37. Fagundes R. Pesquisa da paracoccidioidomycose em cães (*Canis familiaris*) na região endêmica de Botucatu, São Paulo [Dissertação de Mestrado]. Botucatu: Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia de Botucatu; 2002.
38. González-Ochoa A. Clasificación clinica de las micosis. *Rev Int Salubr Enferm Trop.* 1956;16:1.
39. San-Blas G, San-Blas F. Molecular aspects of dimorphism. *Crit Rev Microbiol.* 1984;11(2):101-27.
40. Alquati SAB. *Paracoccidioides brasiliensis* não ocorre na forma endofítica em gramíneas da região de Botucatu-SP-Brasil. [Dissertação de Mestrado] Botucatu: Faculdade de Medicina de Botucatu; 1999.
41. Montenegro MR, Franco M. In: Franco MF, Lacaz CS, Restrepo A, Del Negro. *Paracoccidioidomycosis.* CRC, Boca Raton, USA, 1994.
42. Restrepo A, Robledo M, Giraldo R, Hernadez H, Sierra F, Gutierrez F, Londono F, Lopez R. Calle G. The gamut of paracoccidioidomycosis. *Am J Med.* 1976;61(1):33-42.
43. Lopez RC, Restrepo A. Spontaneous regression of pulmonary paracoccidioidomycosis. *Mycopathol.* 1983;83:187-9.
44. Lacaz CS, Passos Filho MCR, Fava Netto C, Macarron R. Contribuição para o estudo da Blastomicose-infecção: inquérito com paracoccidioidina. Estudo sorológico e clínico

- radiológico dos paracoccidioidinos-positivos. Rev Inst Med Trop São Paulo. 1959;1:245-59.
45. Londero AT, Del Negro G. Paracoccidioidomicose. J Pneumol. 1986;12:41-60.
46. Motta LC. Granulomatose paracoccidioica. An Fac Med São Paulo. 1935;11:293.
47. Figueiredo F, Silva CL, Alves LMC, Rossil MA. Participation of *Paracoccidioides brasiliensis* lipids and polysaccharides in the evaluation of granulomas. Braz J Med Biol Res. 1986;19:615.
48. Londero AT. Epidemiologia. In: Paracoccidioidomicose (Blastomicose sul-americana). Del negro G, Lacaz CS, Fiorillo A. São Paulo: Sarvier-Edusp; 1982. p. 85-90.
49. San-Blas G, San-Blas F. *Paracoccidioides brasiliensis*: cell wall structure and virulence. Mycopathol. 1977;62(2):77-86.
50. San-Blas G. The cell wall of fungal human pathogens: its possible role in host-parasite relationship. Mycopathol. 1982;79(3):159-84.
51. Vicentini AP, Gesztesi J-L, Franco MF, De Souza W, De Moraes JZ, Travassos LR, Lopes JD.. Binding of *P. Brasiliensis* to laminin through surface glycoprotein gp43 leads to enhancement of fungal pathogenesis. Infect Immun. 1994;62(4):1465-9.
52. Lopes JD, Moura-Campos MC, Vicentini AP, Gesztesi JL, De Souza W, Camargo ZP. Characterization of glycoprotein gp43, the major laminin-binding protein of *Paracoccidioides brasiliensis*. Braz J Med Biol Res. 1994;27(9):2309-13.
53. Franco M, Montenegro MR, Mendes RP, Marques SA, Dillon NL, Mota NG. Paracoccidioidomycosis: a recently proposed classification of this clinical forms. Rev Soc Bras Med Trop. 1987;20(2):129-32.
54. Mendes RP. The Gamut of clinical manifestation. In: Franco M, Lacaz CS, Restrepo A. Del Negro G. Paracoccidioidomycosis. CRC Press, Boca Raton, Flórida, USA, 1994.
55. Del Negro GMB, Lacaz CS, Zamith VA, Siqueira AM. General and clinical aspects: polar forms of Paracoccidioidomycosis, the disease in childhood. In: Franco M, Lacaz CS, Restrepo A. Del Negro G. Paracoccidioidomycosis. CRC Press, Boca Raton, Flórida, USA, 1994.
56. Franco M, Mendes RP, Moscardi-Bacchi M, Rezkallah-Iwasso M, Montenegro MRG. Paracoccidioidomycosis. Bailliere's Clinical Tropical Medicine and Communicable Diseases. 1989.
57. Mendes-Giannini MJS, Melhem MC. Infecções fúngicas. In: Ferreira AW, Àvila SLM Diagnóstico Laboratorial das principais doenças infecciosas e auto-imunes. Guanabara-Koogan: São Paulo; 2001.
58. Camargo ZP, Franco MF. Current knowledge on pathogenesis and immunodiagnosis of paracoccidioidomycosis. Rev Iberoam Micol. 2000;17(2):41-8.
59. Ferreira-da-Cruz MF, Francesconi-do Vale AC, Espinera MC, Wamke B, Galvão Castro BO. Study of antibodies in paracoccidioidomycosis: follow-up of patients during and after treatment. J Med Vet Mycol. 1990;28(2):151-7.
60. Mendes-Giannini MJS, Del Negro GB, Siqueira AM. Serodiagnosis, In: Franco M, Lacaz CS, Restrepo A. Del Negro G. Paracoccidioidomycosis. CRC Press, Boca Raton, Flórida, USA, 1994.
61. Hamilton AJ. Serodiagnosis of histoplasmosis, paracoccidioidomycosis and penicilliosis marneffeii; current status and future trends. Med Mycol. 1998;36:351-64.
62. Elias Costa MR, Da Silva Lacaz C, Kawasaki M, De Camargo ZP. Conventional versus molecular diagnostic tests. Med Mycol. 2000;38 Suppl 1:139-45.
63. Bueno JP, Mendes-Giannini MJ, Del Negro GM, Assis CM, Takiguti CK, Shikanai-Yasuda MA. IgG, IgM and IgA antibody response for the diagnosis and follow-up of paracoccidioidomycosis: comparison of counterimmunoelectrophoresis and complement fixation. J Med Vet Mycol. 1997;35(3):213-7.
64. Mendes-Giannini MJS, Bueno JP, Shikanai-Yasuda MA, Ferreira AW, Masuda A. Detection of the 43,000-molecular-weight glycoprotein in sera of patients with paracoccidioidomycosis. J Clin Microbiol. 1989;27(12):2842-5.
65. Salina MA, Shikanai-Yasuda MA, Mendes RP, Barraviera B, Mendes Giannini MJ. Detection of circulating *Paracoccidioides brasiliensis* antigen in urine of paracoccidioidomycosis patients before and during treatment. J Clin Microbiol. 1998;36(6):1723-8.
66. Rodrigues MC, Cassaguerra CM, Lacaz CS. Antigenemia in paracoccidioidomycosis. Probable demonstration of circulating antigen by counterimmunoelectrophoresis test.

- Preliminary report. Rev Inst Med Trop São Paulo. 1984;26(5):285.
67. Gomez BL, Figueroa JI, Hamilton AJ, Diez S, Rojas M, Tobon AM, Hay RJ, Restrepo A. Antigenemia in patients with paracoccidioidomycosis: detection of the 87-kilodalton determinant during and after antifungal therapy. J Clin Microbiol. 1998; 36(11):3309-16.
68. Del Negro GM, Pereira CN, Andrade HF, Palacios SA, Vidal MSM, Charbel CE, Benard G. Evaluation of tests for antibody response in the follow-up of patients with acute and chronic forms of paracoccidioidomycosis. J Med Microbiol. 2000;49(1):37-46.
69. Siqueira AM. Avaliação da sensibilidade e especificidade de algumas provas sorológicas no diagnóstico, prognóstico e controle de cura da paracoccidioidomicose. Caracterização do antígeno E<sub>2</sub> de *Paracoccidioides brasiliensis*. [Tese de Doutorado]. São Paulo: Universidade de São Paulo; 1982.
70. Del Negro GM, Garcia NM, Rodrigues EG, Cano MI, de Aguiar MS, Lirio Vde S, Lacaz CS. The sensitivity, specificity and efficiency values of some serological tests used in the diagnosis of paracoccidioidomycosis. Rev Inst Med Trop São Paulo. 1991;33(4):277-80.
71. Cano LE, Restrepo A. Predictive value of serologic tests in the diagnosis and follow-up of patients with paracoccidioidomycosis. Rev Inst Med Trop São Paulo. 1987;29:276-283.
72. Franco M, Fava-Netto C, Chamma LG. Reação de imunofluorescência indireta para o diagnóstico da blastomicose sul-americana. Padronização da reação para comparação dos resultados com a reação de fixação de complemento. Rev Inst Med Trop São Paulo. 1973;15:393-8.
73. Do Valle AC, 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):373-7.
74. Camargo ZP, Guesdon JL, Drouhet E, Improvisil L. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) in the paracoccidioidomycosis. Comparison with counterimmunoelectrophoresis and erythro-immunoassay. Mycopathol. 1984;88(1):31-7.
75. Camargo ZP, Gesztesi JL, Saraiva EC, Taborda CP, Vicentini AP, Lopes JD. Monoclonal antibody capture enzyme immunoassay for detection of *Paracoccidioides brasiliensis* antibodies in paracoccidioidomycosis. J Clin Microbiol. 1994;32(10):2377-81.
76. Marques-da-Silva SH, Colombo AL, Blotta MH, Queiroz-Telles F, Balthazar AB, Lopes JD, de Camargo ZP. Diagnosis of Paracoccidioidomycosis by detection of antigen and antibody in bronchoalveolar lavage fluids. Clin Vaccine Immunol. 2006;13(12):1363-6.
77. Da Silva SH, Colombo AL, Blotta MH, Queiroz-Telles F, Lopes JD, de Camargo ZP. Diagnosis of neuroparacoccidioidomycosis by detection of circulating antigen and antibody in cerebrospinal fluid. J Clin Microbiol. 2005;43(9):4680-3.
78. Albuquerque CF, da Silva SH, Camargo ZP. Improvement of the specificity of an enzyme-linked immunosorbent assay for diagnosis of paracoccidioidomycosis. J Clin Microbiol. 2005;43:1944-6.
79. Camargo ZP, Unterkircher C, Travassos LR. Identification of antigenic polypeptides of *Paracoccidioides brasiliensis* by immunoblotting. J Med Vet Mycol. 1989;27(6):407-12.
80. Blotta MHS, Camargo ZP. Immunological response to cell-free antigens of *Paracoccidioides brasiliensis*: relationship with clinical forms of paracoccidioidomycosis. J Clin Microbiol. 1993;31(3):671-6.
81. Ortiz BL, Diez S, Uran ME, Rivas JM, Romero M, Caicedo V, Restrepo A, McEwen JG. Use of the 27-kilodalton recombinant protein from *Paracoccidioides brasiliensis* in serodiagnosis of paracoccidioidomycosis. Clin Diagn Lab Immunol. 1998;5(6):826-30.
82. Takahachi G; Guilhermetti E; Silva JA; Svidzinski TIE. Importância do western blot no diagnóstico seguro da Paracoccidioidomicose. VII Encontro Internacional sobre Paracoccidioidomicose. 1999; Resumo B-01, p.87.
83. Silva DF, Assis CM, Zamboni IM, Barreto LC, Kohara VS, Vicentini-Moreira AP. Use of immunoblotting assay improves the sensitivity of paracoccidioidomycosis diagnosis. Aceito para publicação no J Venom Anim Toxins Incl Trop Dis.
84. Fava Netto C. Estudos quantitativos sobre a fixação do complemento na blastomicose

- sul-americana, com antígeno polissacarídeo. Arq Cir Clin Exp. 1955;18:197-254.
85. Moses A. Fixação de complemento na blastomicose. Mem Inst Oswaldo Cruz. 1916;8:68-70.
86. Fava-Netto C. Contribuição para o estudo imunológico da blastomicose de Lutz. Rev Inst Adolfo Lutz. 1961;21:99-194.
87. Ferri RG. Estudo imunológico de antígenos intracelulares. Hospital. 1961;59:917-24.
88. Puccia R, Schenkman S, Gorin PA, Travassos LR. Exocelular components of *Paracoccidioides brasiliensis*. Identification of a specific antigen. Infect Immun. 1986;53(1):199-206.
89. Arango M, Oropeza F, Andreson O, Contreras C, Bianco N, Yarzabal L. Circulating immune complexes and in vitro cell reactivity in paracoccidioidomycosis. Mycopathol. 1982;79:153-58.
90. Mendes-Giannini MJ, Camargo ME, Lacaz CS, Ferreira AW. Immunoenzymatic absorption test for serodiagnosis of paracoccidioidomycosis. J Clin Microbiol. 1984;20(1):103-8.
91. Del Negro GM, Benard G, Assis CM, Vidal MSM, Gardia 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. J Med Vet Mycol. 1995;33:113-116.
92. Vidal MS, Benard G, de Brito T, Dantas KC, Pereira CN, França FO, da Silva AM, Martins JE. Atypical serological response marked by a lack of detectable anti-gp43 antibodies in a patient with disseminated paracoccidioidomycosis. J Clin Microbiol. 2005;43(6):3014-6.
93. Berzaghi R, da Silva SH, de Camargo ZP. Variable gp43 secretion by *Paracoccidioides brasiliensis* clones obtained by two different culture methods. J Clin Microbiol. 2005;43:491-3.
94. Campos MC, Geszteski JL, Vicentini AP, Lopes JD, Camargo ZP. Expression and isoforms of gp43 in different strains of *Paracoccidioides brasiliensis*. J Med Vet Mycol. 1995;33(4):223-7.
95. Neves AR, Mamoni RL, Rossi CL, Camargo ZP, Blotta MHS. Negative immunodiffusion test results obtained with sera of paracoccidioidomycosis patients may be related to low-affinity immunoglobulin G2 antibodies directed against carbohydrate epitopes. Clin Diagn Lab Immunol. 2003 Sep;10(5):802-7.
96. Gomes GM, Cisalpino PS, Taborda CP, de Camargo ZP. PCR for diagnosis of paracoccidioidomycosis. J Clin Microbiol. 2000;38(9):3478-80.
97. Yarzabal LA, De Albornoz MB, De Cabral NA, Santiago AR. Specific double diffusion microtechnique for the diagnosis of aspergillosis and paracoccidioidomycosis using monospecific antisera. Sabouraudia. 1978;16(1):55-62.
98. Restrepo A, Cano LE, Tabares AM. A comparison of mycelial filtrate - and yeast lysate-paracoccidioidin in patients with paracoccidioidomycosis. Mycopathol. 1983;84(1):49-54.
99. Silva DF. Análise da estabilidade de exoantígenos de *Paracoccidioides brasiliensis*. [Dissertação de Mestrado]. São Paulo: Coordenadoria de Controle de Doenças; 2005, p.169.
100. Puccia R, Travassos LR. 43-kilodalton glycoprotein from *Paracoccidioides brasiliensis*: immunochemical reactions with sera from patients with paracoccidioidomycosis, histoplasmosis, or Jorge Lobo's disease. J Clin Microbiol. 1991;29(8):1610-5.
101. Puccia R, Travassos LR. 43-kilodalton glycoprotein from *Paracoccidioides brasiliensis*: immunochemical reactions with sera from patients with paracoccidioidomycosis, histoplasmosis, or Jorge Lobo's disease. J Clin Microbiol. 1991;29(8):1610-5.
102. Arêa-Leão AE Réactions sérologiques dans l'actinomyose. Comp Rend Soc Biol. 1928;99:878-80.
103. Lacaz CS. Novos dados em relação a blastomicose sul-americana e seu agente etiológico. Rev Med Cir São Paulo. 1949;IX:59-96.
104. Fava Netto C, Vegas VS, Sciammaméa IM, Guarnieri DB. Antígeno polissacarídeo do *Paracoccidioides brasiliensis*. Estudo do tempo de cultivo do *Paracoccidioides brasiliensis*, necessário ao preparo do antígeno. Rev Inst Adolfo Lutz. 1969;11:177-81.
105. Assis CM. Antígenos de *Paracoccidioides brasiliensis* solúveis em NaCl 0,85%. [Dissertação de Mestrado]. São Paulo: Universidade de São Paulo; 1990, p.96.

106. Camargo ZP, Unterkircher C, Campoy SP, Travassos LR. Production of *Paracoccidioides brasiliensis* exoantigens for immunodiffusion tests. *J Clin Microbiol.* 1988;26(10):2147-51.
107. Casotto M. Characterization of the cellular antigens of *Paracoccidioides brasiliensis* yeast form. *J Clin Microbiol.* 1990;28(6):1188-93.
108. Camargo ZP, Berzaghi R, Amaral CC, Silva SH. Simplified method for producing *Paracoccidioides brasiliensis* exoantigens for use in immunodiffusion tests. *Med Mycol.* 2003;41(6):539-42.

**Correspondência/Correspondence to:**

Adriana Pardini Vicentini Moreira  
Instituto Adolfo Lutz – Laboratório de Imunodiagnóstico das Micoses – Seção de Imunologia  
Av. Dr. Arnaldo, 351 – 11º andar – Sala 1.109  
Te.: (+55) 11 3068-2899/2900  
Fax: (+55) 11 3068-2898  
E-mail: apardini@jal.sp.gov.br

## Instruções aos Autores

O **Boletim Epidemiológico Paulista (Bepa)** publicação mensal da Coordenadoria de Controle de Doenças, órgão da Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo (CCD/SES-SP) veicula artigos relacionados aos agravos à saúde pública ocorridos nas diversas áreas de controle, assistência e diagnóstico laboratorial do Sistema Único de Saúde de São Paulo (SUS-SP). Além de disseminar informações entre os profissionais de saúde de maneira rápida e precisa, o Bepa tem como objetivo incentivar a produção de trabalhos que subsidiem as ações de prevenção e controle de doenças na rede pública, apoiando, ainda, a atuação dos profissionais do sistema de saúde privado, promovendo a atualização e o aprimoramento de ambos.

Os documentos que podem ser publicados neste boletim estão divididos nas seguintes categorias:

1. **Artigos originais** – destinados à divulgação de resultados de pesquisa original inédita, que possam ser replicados e/ou generalizados. Devem ter de 2.000 a 4.000 palavras, excluindo tabelas, figuras e referências.

2. **Revisão** – Avaliação crítica sistematizada da literatura sobre assunto relevante à saúde pública. Devem ser descritos os procedimentos adotados, esclarecendo a delimitação e limites do tema. Extensão máxima: 5.000 palavras.

3. **Comunicações breves** – São artigos curtos destinados à divulgação de resultados de pesquisa. No máximo 1.500 palavras, uma tabela/figura e cinco referências.

4. **Informe epidemiológico** – Textos que têm por objetivo apresentar ocorrências relevantes para a saúde coletiva, bem como divulgar dados dos sistemas de informação sobre doenças e agravos. Máximo de 3.000 palavras.

5. **Informe técnico** – Trabalhos que têm por objetivo definir procedimentos, condutas e normas técnicas das ações e atividades desenvolvidas no âmbito da saúde coletiva. No máximo 5.000 palavras.

A estrutura dos textos produzidos para a publicação deverá adequar-se ao estilo Vancouver, cujas linhas gerais seguem abaixo.

• **Página de identificação** – Título do artigo, conciso e completo, em Português e Inglês; nome completo de todos os autores; indicação da instituição à qual cada autor está afiliado; indicação do autor responsável pela troca de correspondência; se subvencionado, indicar nome da agência de fomento que concedeu o auxílio e respectivo nome do processo; se foi extraído de dissertação ou tese, indicar título, ano e instituição em que foi apresentada.

• **Resumo** – Todos os textos, à exceção dos

• **Informes técnicos**, deverão ter resumo em Português e em Inglês (*Abstract*), dimensionado entre 150 palavras (**comunicações breves**) e no máximo 250 palavras (**artigos originais, revisões, atualizações e informes epidemiológicos**). Para os artigos originais, o resumo deve destacar os propósitos do estudo, procedimentos básicos adotados (seleção de sujeitos de estudo ou animais de laboratório, métodos analíticos e observacionais), principais descobertas e conclusões. Devem ser enfatizados novos e importantes aspectos do estudo ou das observações. Uma vez que os resumos são a principal parte indexada do artigo em muitos bancos de dados eletrônicos, e a única parte que alguns leitores lêem, os autores precisam lembrar que eles devem refletir, cuidadosamente, o conteúdo do artigo. Para os demais textos, o resumo deve ser narrativo, mas com as mesmas informações.

• **Descritores (unitermos ou palavras-chave)** – Seguindo-se ao resumo, devem ser indicados no mínimo três e no máximo dez descritores do conteúdo, que têm por objetivo facilitar indexações cruzadas dos textos e podem ser publicados juntamente com o resumo. Em Português, os descritores deverão ser extraídos do vocabulário “Descritores em Ciências em Saúde” (DeCS), da Bireme. Em Inglês, do “Medical Subject Headings” (Mesh). Caso não sejam encontrados descritores adequados à temática abordada, termos ou expressões de uso corrente poderão ser empregados.

• **Introdução** – Contextualiza o estudo, a natureza dos problemas tratados e sua significância. A introdução deve ser curta, definir o problema estudado, sintetizar sua importância e destacar as lacunas do conhecimento abordadas.

• **Metodologia (Métodos)** – A metodologia deve incluir apenas informação disponível no momento em que foi escrito o plano ou protocolo do estudo; toda a informação obtida durante a condução do estudo pertence à seção de resultados. Deve conter descrição, clara e sucinta, acompanhada da respectiva citação bibliográfica, dos procedimentos adotados, a população estudada (universo e amostra), instrumentos de medida e, se aplicável, método de validação e método estatístico.

• **Resultados** – Devem ser apresentados em seqüência lógica no texto, tabelas e figuras, colocando as descobertas principais ou mais importantes primeiro. Os resultados encontrados devem ser descritos sem incluir interpretações e/ou comparações. Sempre que possível, devem ser apresentados em tabelas e figuras auto-explicativas e com análise estatística, evitando-se sua repetição no texto.

- **Discussão** – Deve enfatizar os novos e importantes aspectos do estudo e as conclusões que dele derivam, sem repetir material colocado nas seções de introdução e resultados. Deve começar com a apreciação das limitações do estudo, seguida da comparação com a literatura e da interpretação dos autores, apresentando, quando for o caso, novas hipóteses.

- **Conclusão** – Traz as conclusões relevantes, considerando os objetivos do trabalho e formas de continuidade. Se tais aspectos já estiverem incluídos na discussão, a conclusão não deve ser escrita.

- **Referências bibliográficas** – A exatidão das referências bibliográficas é de responsabilidade dos autores.

- **Citações bibliográficas no texto, tabelas e figuras:** deverão ser colocadas em ordem numérica, em algarismo arábico, sobrescrito, após a citação, constando da lista de referências bibliográficas. Exemplo:

“Os fatores de risco para a infecção cardiovascular estão relacionados à imunocompetência do hospedeiro<sup>1</sup>.”

- **Referências bibliográficas:** devem ser numeradas consecutivamente, obedecendo à ordem em que aparecem pela primeira vez no texto, de acordo com o estilo Vancouver. A ordem de citação no texto obedecerá esta numeração. Até seis autores, citam-se todos os nomes; acima disso, apenas os seis primeiros, seguidos da expressão em Latim “*et al*”. É recomendável não ultrapassar o número de 30 referências bibliográficas por texto.

- A) Artigos de periódicos** – As abreviaturas dos títulos dos periódicos citados devem estar de acordo com o *Index Medicus*, e marcadas em negrito.

Exemplo:

1. Ponce de Leon P; Valverde J e Zdero M. Preliminary studies on antigenic mimicry of *Ascaris Lumbricoides*. **Rev Lat-amer Microbiol** 1992; 34:33-38.

2. Cunha MCN, Zorzatto JR, Castro LLC. Avaliação do uso de Medicamentos na rede pública municipal de Campo Grande, MS. **Rev Bras Cien Farmacêuticas** 2002; 38:217-27.

- B) Livros** A citação de livros deve seguir o exemplo abaixo:

3. Medronho RA. Geoprocessamento e saúde: uma nova abordagem do espaço no processo saúde-doença. Primeira edição. Rio de Janeiro: Fiocruz/CICT/NECT.

- C) Capítulos de livro** – Já ao referenciar capítulos de livros, os autores deverão adotar o modelo a seguir:

4. Arnau JM, Laporte JR. Promoção do uso racional de medicamentos e preparação de guias farmacológicos. *In*: Laporte JR, Tognoni G, Rozenfeld

S. Epidemiologia do medicamento: princípios gerais. São Paulo: Hucitec; Rio de Janeiro: Abrasco; 1989.

#### **D) Dissertações e teses:**

5. Moreira MMS. Trabalho, qualidade de vida e envelhecimento [dissertação]. Rio de Janeiro: Escola Nacional de Saúde Pública; 2000. p. 100.

#### **E) Trabalhos de congressos, simpósios, encontros, seminários e outros:**

6. Barboza *et al*. Descentralização das políticas públicas em DST/Aids no Estado de São Paulo. *In*: III Encontro do Programa de Pós-Graduação em Infecções e Saúde Pública; 2004 ago; São Paulo: Rev IAL. P. 34 [resumo 32-SC].

#### **F) Periódicos e artigos eletrônicos:**

7. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). Síntese de indicadores sociais 2000. [Boletim on-line]. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br> [2004 mar 5]

#### **G) Publicações e documentos de organizações governamentais:**

8. Brasil. Decreto 793, de 5 de abril de 1993. Altera os Decretos 74.170, de 10 de junho de 1974, e 79.094, de 5 de janeiro de 1977, que regulamentam, respectivamente, as Leis 5991, de 17 de janeiro de 1973, e 6360, de 23 de setembro de 1976, e dá outras providências. Brasília (DF): Diário Oficial da União; 6 abr 1993. Seção 1. p. 4397.

9. Organización Mundial de la Salud (OMS). Como investigar el uso de medicamentos em los servicios de salud. Indicadores seleccionados del uso de medicamentos. Ginebra; 1993. (DAP. 93.1).

Casos não contemplados nesta instrução devem ser citados conforme indicação do Committee of Medical Journals Editors (*Grupo Vancouver*) (<http://www.cmje.org>).

**Tabelas** – Devem ser apresentadas em folhas separadas, numeradas consecutivamente com algarismos arábicos, na ordem em que forem citadas no texto. A cada uma deve ser atribuído um título breve, **NÃO SE UTILIZANDO TRAÇOS INTERNOS HORIZONTAIS OU VERTICAIS**. Notas explicativas devem ser colocadas no rodapé das tabelas e não no cabeçalho ou título.

**Quadros** – São identificados como tabelas, seguindo uma única numeração em todo o texto.

**Figuras** – Fotografias, desenhos, gráficos etc., citados como figuras, devem ser numerados consecutivamente com algarismos arábicos, na ordem em que foram mencionados no texto, por número e título abreviado no trabalho. As legendas devem ser apresentadas em folha à parte; as ilustrações devem ser suficientemente claras para permitir sua reprodução. Não são permitidas figuras que representem os mesmos dados.



**SECRETARIA  
DA SAÚDE**

