

Exame direto no diagnóstico de *Paracoccidioides brasiliensis* realizados nos Laboratórios Regionais do Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, Brasil

Use of direct microscopic examination for *Paracoccidioides brasiliensis* diagnosis at Instituto Adolfo Lutz (IAL) Regional Laboratories Network, state of São Paulo, Brazil

RIALA6/1065

Sérgio S. MOREIRA^{1*}, Jaqueline O. SILVA², Maria do Carmo A. M. MEIRA³, Leonilda C. GALLE⁴, Elizabete C. A. RODRIGUES⁵, Milena Z. GARCIA⁶, Jane P. SANTOS¹⁰, Maria Cecília B. SOARES⁷, Aguida MARIA⁸, Rosana Bellan de OLIVEIRA E SILVA⁹

* Endereço para correspondência: Seção de Micologia, Instituto Adolfo Lutz, Regional Campinas, Rua São Carlos, 720, Vila Industrial, Campinas/SP, Brasil, CEP 13.035-420. Telefone: (55 19) 3272-7977, fax (55 19) 3273-1698, e-mail: ssmoreira@ial.sp.gov.br
Laboratórios Regionais do Instituto Adolfo Lutz: Campinas¹; Ribeirão Preto²; Sorocaba³; Presidente Prudente⁴, São José do Rio Preto⁵; Bauru⁶; Santos⁷; Taubaté⁸; Rio Claro⁹, Laboratório I – Araçatuba – DIR VI¹⁰.
Recebido: 30/06/2005 – Aceito para publicação: 20/06/2006

RESUMO

Paracoccidioidomicose (PCM) é uma doença sistêmica causada pelo fungo dimórfico *Paracoccidioides brasiliensis*. Apresenta-se como infecção pulmonar primária assintomática, aguda, sub-aguda ou crônica. Para ratificar a importância do exame direto, de baixo custo e complexidade, no diagnóstico da PCM, foi realizado um levantamento de amostras clínicas nos Laboratórios Regionais do IAL (LR-IAL) e Laboratório I Araçatuba – DIR VI, no período de janeiro de 1996 a dezembro de 2002. Foram analisadas 3807 amostras de origem pulmonar e 25 amostras extrapulmonares, preparadas de acordo com suas peculiaridades. Detectou-se significativa quantidade de solicitações de exames com informações incompletas quanto aos dados do paciente. Foi demonstrada positividade em 4% das amostras pulmonares (predominando no adulto do sexo masculino) assim como em amostras extrapulmonares (88%). A diferença na demanda natural das solicitações para este diagnóstico, entre os Regionais, pode estar relacionada com endemicidade da região, busca e/ou suspeita da doença e encaminhamento das amostras para os Laboratórios de Referência da Rede Pública. Após 98 anos da descrição pioneira por Adolfo Lutz, a doença ainda é foco de preocupação para a Saúde Pública.

Palavras-Chave . paracoccidioidomicose, epidemiologia, exame direto, diagnóstico.

ABSTRACT

Paracoccidioidomycosis (PCM), an autochthonous disease from Latin America, is a systemic disease caused by a dimorphic fungus *Paracoccidioides brasiliensis*. It is supposed that this microorganism infects hosts when conidia in aerosol form are inhaled by individuals, causing primary acute, subacute, or even chronic lung infection. In order to give evidence of the significance in diagnosing PCM by means of direct microscopic examination, which is of low cost, and easy to perform assay, a study was carried out analyzing clinical samples from IAL Regional Laboratories Network collected during the period from January 1996 to December 2002. A total of 3,807 clinical samples from lung, and 25 extra-pulmonary clinical samples were prepared by conventional procedures. Significant quantity of exam request forms with incomplete data on patient age, profession, and birthplace was observed. Additionally, samples from male patients were more frequently requested for PCM diagnosis than from female subjects. Positive lung samples were detected in 4%, being predominantly from male patient aged from 31 to 70 years old. Positive extra-lung samples were also detected, which demonstrated the presence of this disease in other organs. Although PCM mortality rate have still been increasing in Brazil, due to systemic mycosis, PCM has not included among diseases for compulsory notification yet. PCM has still been a focus of Public Health attention even 98 years have passed since the first description was made by the investigator Adolfo Lutz.

Key Words. paracoccidioidomycosis, epidemiology, direct microscopic examination, laboratory diagnosis.

INTRODUÇÃO

A paracoccidioidomicose (PCM) é uma doença sistêmica, causada por *Paracoccidioides brasiliensis*, fungo dimórfico, conhecido apenas em sua forma assexuada, considerado saprobiota do solo. Adolfo Lutz, no Brasil, descreveu a doença em 1908, enquanto Diretor do Instituto Bacteriológico de São Paulo. Em sua publicação, o autor descreve os aspectos clínicos, histopatológicos e microbiológicos, reconhecendo a natureza fúngica do microrganismo¹.

A PCM, antigamente denominada Blastomicose Sul Americana, é doença sistêmica autóctone da América Latina, com a maior casuística registrada no Brasil, Argentina, Colômbia e Venezuela^{2,3,4}. Acredita-se que a porta de entrada do microrganismo seja através da inalação dos conídios, levando à uma infecção pulmonar primária cuja forma pode ser desde assintomática, a aguda, sub-aguda ou crônica. Pode ocorrer disseminação para outros órgãos e sistemas, notadamente a mucosa oral, as glândulas adrenais, o sistema retículo endotelial, a pele, o trato genital e raramente o Sistema Nervoso Central^{5,6,7,8,9}.

A prevalência da PCM é variável nos países autóctones e, também, em um mesmo país, nas suas diferentes regiões¹⁰. O maior número de casos tem sido assinalado no Brasil, onde a prevalência, os aspectos clínicos e epidemiológicos variam conforme a região¹¹. Portanto, no Brasil a doença é um importante problema de Saúde Pública em que o número de casos excede a 6.000^{3,12}. Em regiões altamente endêmicas, a doença é estimada em 1 a 3 casos por 100.000 habitantes¹³.

Inquéritos epidemiológicos utilizando testes cutâneos com paracoccidioidina demonstram que a paracoccidioidomicose é endêmica em quase todos os estados brasileiros^{14,15,16}.

A incidência ocorre predominantemente em adultos do sexo masculino entre 30 e 60 anos de idade, habitantes ou trabalhadores da zona rural^{2,3,17}. Em um estudo de 422 casos de PCM, entre 1980 e 1999, Paniago et al.¹⁷ encontraram como média de idade 43,4 anos, com a proporção entre o sexo masculino e feminino de 10:1 e 45,5% dos doentes eram trabalhadores rurais. Assim, a importância da PCM em saúde coletiva, está ligada aos custos sociais e econômicos derivados não apenas da doença em atividade, que ocorre em indivíduos na sua fase mais produtiva de vida, como também das freqüentes seqüelas secundárias a esta micose, motivo comum de incapacitação para o trabalho².

A PCM é rara em crianças abaixo de 14 anos de idade e, portanto, em um estudo realizado por Gonçalves et al.¹⁸ foi demonstrada que em 15 anos houve 36 casos da doença na forma aguda em crianças entre 3 e 12 anos de idade, nativas de zona rural do estado do Rio de Janeiro. Outros autores têm chamado a atenção sobre a importância de se valorizar epidemiologicamente as crianças que apresentavam a fase aguda ou subaguda da PCM, especialmente porque estas crianças na

América Latina estão envolvidas nas diversas atividades agropecuárias desde os primeiros anos de vida. Estes dados servem como marcadores para rastreamento mais direcionado até o micro ambiente onde se suspeita que viva o fungo e de onde se origina a infecção humana^{13,19}.

A associação de PCM e AIDS tem sido pouco relatada; e uma das razões é a PCM prevalecer em áreas rurais e a AIDS ocorrer em áreas predominantemente urbanas^{20,21}.

É incontestável o fato de que o diagnóstico de certeza de processos infecciosos derive da demonstração e do reconhecimento do agente, incluindo exame a fresco. No exame direto, o agente *P.brasiliensis*, é observado como célula hialina, arredondada, única ou com brotamentos, assumindo às vezes os aspectos de “mickey mouse” e roda de leme; as paredes são birrefringentes e esverdeadas. No citoplasma, núcleos e organelas são observados.

O presente trabalho teve por objetivo mostrar a incidência da PCM no Estado de São Paulo, através dos diagnósticos do agente etiológico da PCM, realizados nos Laboratórios Regionais do Instituto Adolfo Lutz (LR-IAL). Estudos regionais de casos isolados contribuem para o melhor conhecimento da endemia.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram analisadas 3807 amostras clínicas de origem pulmonar (escarro, lavado bronco-alveolar, lavado brônquico, escovado brônquico) e 25 extrapulmonar (hemocultura, aspirado de linfonodos, lesão ganglionar e bucal), de pacientes atendidos pela área de abrangência dos LR-IAL de Campinas, Ribeirão Preto, Sorocaba, Presidente Prudente, São José do Rio Preto, Bauru, Santos, Taubaté, Rio Claro e Laboratório I Araçatuba- DIR VI, para diagnóstico de doença fúngica, no período de janeiro de 1996 a dezembro de 2002.

Os materiais líquidos (lavado brônquico, escovado brônquico, lavado bronco-alveolar) foram centrifugados a 10.000 x g por 15 minutos, com o objetivo de concentrar o material a ser analisado. Outros materiais como escarro e aspirado de linfonodos foram submetidos a digestão com agentes mucolíticos (N- acetil- cisteína) durante 24 horas e centrifugados. Após, os sedimentos foram colocados entre lâmina e lamínula para observação direta ao microscópio óptico.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

No período entre janeiro de 1996 a dezembro de 2002 foram realizados nos LR-IAL, 3832 exames à fresco para pesquisa de PCM em amostras clínicas de origem pulmonar (99,4%) e extra pulmonar (0,6%). A Figura 1 mostra a distribuição destas amostras nos diferentes Laboratórios Regionais. O maior número de exames ocorreu em amostras de escarro, devido de ser um material biológico de fácil coleta e

indicado para o diagnóstico diferencial de agentes associados à pneumopatias. Observou-se que o Regional de Sorocaba apresenta 53,4% do total de amostras; acredita-se que isto ocorra pelo fato de realizar também exame sorológico para PCM. Os Laboratórios Regionais de Rio Claro e Bauru iniciaram a realização do exame direto para PCM a partir do ano de 2000.

Verificou-se que em relação ao sexo, houve maior suspeita da doença no sexo masculino 66,2% (Figura 2) durante o período em estudo.

Em ambos os sexos, a faixa etária de maior suspeita foi de 31 a 70 anos, conforme indica a Figura 3. O volume de amostras sem informação da idade do paciente é ressaltado nesta figura, demonstrando falha no preenchimento correto da solicitação do exame.

A positividade encontrada dentre as amostras pulmonares analisadas foi de 4%, predominando, em todos os LR-IAL, a faixa etária de 31 a 60 anos, para ambos os sexos, conforme demonstrado na (Figura 4), estando de acordo com a literatura existente¹⁷.

Foram avaliadas 25 amostras de origem extrapulmonar, com diagnóstico positivo em 22 amostras (88%), demonstrando a presença desta doença em outros órgãos. Cermeño et al.²³ em um recente estudo da casuística das micoses em um Hospital Universitário na Venezuela, foi detectado 4,7% de micoses profundas com 1,7% de paracoccidioidomicose (n=8). A ocorrência da micose foi nos pulmões⁵, em mucosa de orofaringe² e ganglionar¹. Micose ganglionar também tem sido detectada por outros autores²⁴.

A positividade do exame direto não foi homogênea entre os diferentes laboratórios. O Laboratório Regional de Rio Claro detectou maior positividade nas amostras (11,5%), seguido de Santos (8,8%), Campinas (8%), Araçatuba (7,3%), Taubaté (3,6%), Ribeirão Preto (3,1%), Sorocaba (3,1%), Presidente Prudente (2,7%), São José do Rio Preto (1,4%) e Bauru (1,3%). Acreditamos que esta diferença de positividade entre os Regionais se deve a uma demanda espontânea das regiões, de acordo com a sintomatologia do paciente que procura a unidade

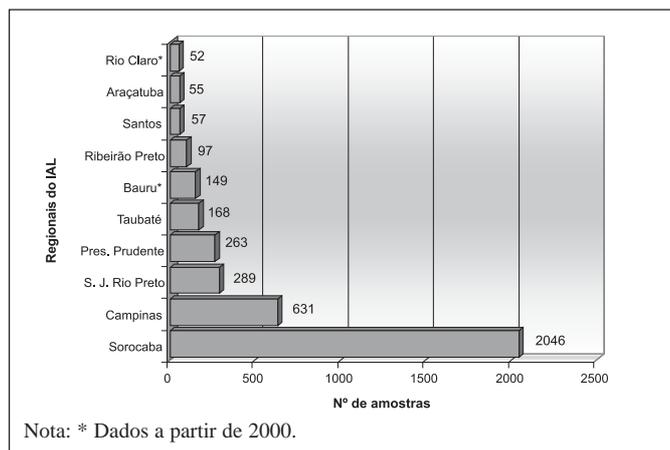


Figura 1. Distribuição de amostras de origem pulmonar recebidas para diagnóstico de paracoccidioidomicose realizados no período de janeiro de 1996 a dezembro de 2002, nos Laboratórios Regionais do Instituto Adolfo Lutz.

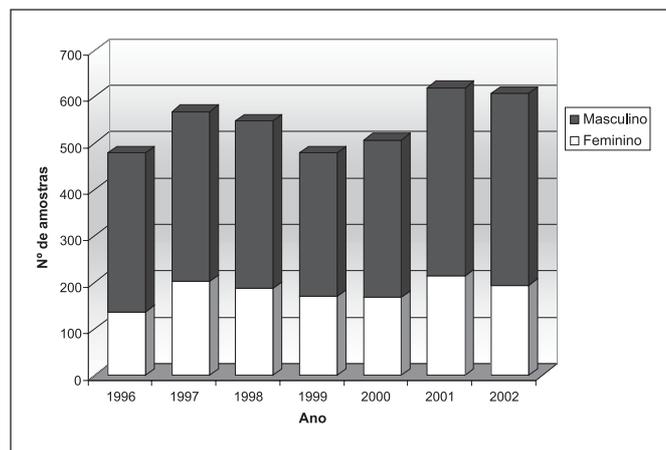


Figura 2. Distribuição anual das amostras de origem pulmonar, recebidas nos Laboratórios Regionais do Instituto Adolfo Lutz, para o diagnóstico de paracoccidioidomicose, em relação ao sexo, no período de janeiro de 1996 a dezembro de 2002.

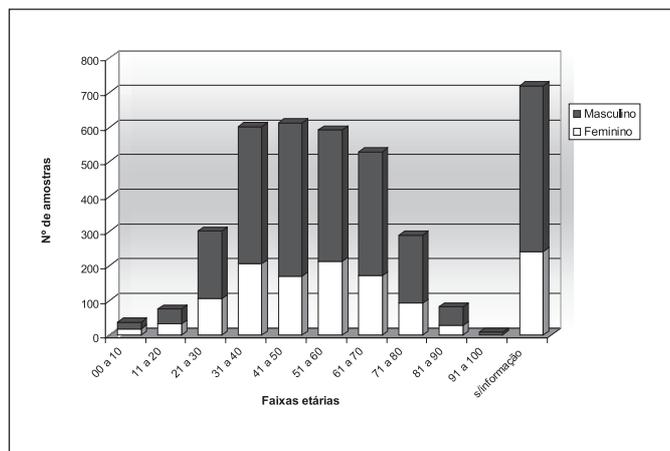


Figura 3. Distribuição por faixa etária e sexo, de amostras de origem pulmonar, recebidas nos Laboratórios Regionais do Instituto Adolfo Lutz, para o diagnóstico de paracoccidioidomicose, no período entre janeiro de 1996 a dezembro de 2002.

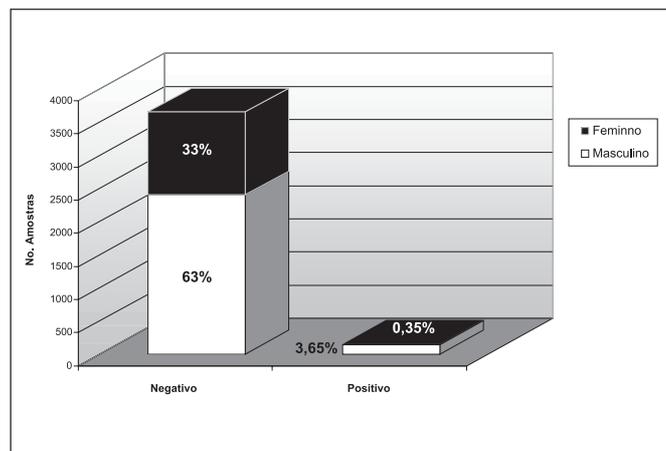


Figura 4. Diagnóstico de *Paracoccidioides brasiliensis* em espécimes clínicos de origem pulmonar examinados por exame direto nos Laboratórios Regionais do Instituto Adolfo Lutz, entre janeiro de 96 a dezembro de 2002.

de doenças respiratórias (serviço especializado/ pneumologia) da rede de atendimento do Sistema Único de Saúde.

A PCM, no Brasil, destaca-se como oitava causa de mortalidade entre as doenças predominantemente crônicas e a mais elevada taxa de mortalidade entre as micoses sistêmicas. Segundo Coutinho et al.²² a taxa de mortalidade anual é de 1,45/milhão de habitante, podendo ser usada como indicador para definir a doença como importante agravo de saúde no Brasil apesar de não ser considerada doença de notificação obrigatória em todas as regiões.

Os dados encontrados têm valor epidemiológico, pois, demonstram a incidência da PCM, doença de grande importância e comprometimento, nas regiões de abrangência dos LR-IAL. Ressalta - se também a importância do diagnóstico através do exame direto que apesar da baixa complexibilidade e custo, devem ser realizados por profissionais capacitados. Segundo Brummer et al.²⁵ o melhor e mais rápido caminho para estabelecer o diagnóstico deste agente fúngico é o exame direto a partir de amostras clínicas que permitam sua detecção. Em uma série de estudos por diferentes grupos na América Latina, a sensibilidade do exame direto variou entre 85 a 100%.

CONCLUSÕES

O diagnóstico definitivo da PCM é obtido principalmente por exame a fresco do material biológico através do exame direto, que ressaltamos ser de baixo custo e baixa complexidade, no entanto, requer profissional qualificado e com treinamento para reconhecimento da estrutura do agente no material analisado.

A diferença na demanda natural das solicitações para este diagnóstico entre os LR-IAL, pode estar relacionada com endemicidade da região, busca e/ou suspeita da doença e encaminhamento das amostras para os Laboratórios de referência da Rede Pública.

Observamos que os estudos epidemiológicos poderiam ser realizados caso o preenchimento das requisições de exames fossem realizados com maior critério e rigor. Porém, a casuística estudada neste trabalho apresentou dados suficientes que corroboram com a literatura existente¹⁷.

Após 98 anos da descrição pioneira por Adolfo Lutz, a PCM ainda é foco de preocupação para a Saúde Pública, pois a taxa de positividade variou de 1,3 a 11,5% nos exames direto realizados na rede dos LR-IAL, podendo ser ainda maior caso fosse uma doença de notificação.

REFERÊNCIAS

1. Lutz A. Uma micose pseudococcídica localizada na boca e observada no Brasil: contribuição ao conhecimento das hifoblastomicoses americanas. *Brasil Méd* 1908; 22: 121-4.
2. Telles F. Paracoccidioidomicose. *Boletim Epidemiológico da Secretaria de Estado da Saúde no Paraná*. [http://www.saude.pr.gov.br/] 03/11/2003
3. Lacaz CS, Porto E, Martins JEC. Paracoccidioidomicose. In: Lacaz CS, Porto E, Martins JEC. *Micologia médica: fungos, actinomicetos e algas de interesse médico* 8ª ed. São Paulo: Ed. Savier; 1991. p.248-98.
4. Negroni R. Paracoccidioidomycosis (South American Blastomycosis, Lutz Mycosis). *Int J Derm* 1993; 32: 847-59.
5. Severo LC, Kauer CL, Oliveira FM, Rigati RA, Hartmann AA, Londero AT. Paracoccidioidomycosis of the male genital tract. Report of eleven cases and review of Brazilian literature. *Rev Inst Med Trop* 2000; 42: 38-40.
6. Bastos AGD, Martins AG, Cunha FC, Marques MPC, Melo PP, Tomita S, Alonso VMO. Paracoccidioidomicose Laríngea. Estudo retrospectivo de 21 anos. *Rev Brás Otorrinolaringologia* 2001; 67: 84-5.
7. Villa LA, Tobón A, Restrepo A, Calle D, Rosero DS, Gómez BL. Central Nervous System Paracoccidioidomycosis. Reports of a case successfully treated with Itraconazol. *Rev Inst Med Trop S Paulo* 2000; 42: 231-4.
8. Pereira W C, Raphael A, Sallum J. Lesões neurológicas na blastomicose sul americana. Estudo anátomo-patológico de 14 casos. *Arq Neuropsiquiatr* 1965; 23: 95-112.
9. Pla MP, Hartung C, Medonza P, Stukanoff A, Moreno M J. Neuroparacoccidioidomycosis: case reports and review. *Mycopathologia* 1994; 127: 139-44.
10. Greer DL, Retrepo A. La epidemiologia de la paracoccidioidomycosis. *Bol de la Of Sanit Panamericana* 1977; 82: 428-45.
11. Veras KN. Paracoccidioidomicose. Estudo epidemiológico e clínico de pacientes internados no Hospital de Doenças Infecto-Contagiosas (HIDC) em Teresina, Piauí. Identificação de reservatórios nos Estados do Pará e Maranhão [Tese de Mestrado]. Teresina PI: Instituto Oswaldo Cruz/ Universidade Federal do Piauí, 1995. 156 pp.
12. Londero AT, Ramos CD. Paracoccidioidomicose: estudo clínico micológico de 260 casos observados no interior do Rio Grande do Sul. *J. Pneumol* 1990; 16:129-32.
13. Restrepo-Moreno, A. Ecology of *Paracoccidioides brasiliensis*. In: Franco M, Lacaz CM., Restrepo-Moreno A, Delnegro G. editores. *Paracoccidioidomycosis*. Boca Raton: CRC Press, 1994.
14. Fava SDC, Favaretto C, Costa E, Cucel C. Distribuição geográfica e mortalidade da Paracoccidioidomicose no Estado de São Paulo. *Rev Microbiol* 1987; 18: 349-56.
15. Pereira AJCS, Barbosa W. Inquérito intradérmico para paracoccidioidomicose em Goiânia, *Rev Patol Trop* 1988; 17: 157-86.
16. Silva-Vergara ML, Martinez R. Inquérito epidemiológico com paracoccidioidina e histoplasmina em área agrícola de café em Ibiá, Minas Gerais, Brasil. *Rev Iberoam Micol* 1998; 15: 294-7.
17. Paniago AMM, Aguiar JIA, Aguiar ES, Cunha RV, Pereira GROL, Londero AT, Wanke B. Paracoccidioidomicose: estudo clínico e epidemiológico de 422 casos observados no Estado de Mato Grosso do Sul. *Rev Soc Bras Med Trop* 2003; 36:455-9.
18. Gonçalves AJR, Londero AT, Terra GMF, Rosebaum R, Abreu TF, Nogueira SA. Paracoccidioidomycosis in children in the State of Rio de Janeiro (Brasil). Geographic distribution and the study of a "reservarea". *Rev Med Trop S Paulo* 1998; 40: 11-3.
19. Wanke B, Londero AT. Epidemiology and Paracoccidioidomycosis Infection. In: Franco M, Lacaz CM., Restrepo-Moreno A, Delnegro G. editores. *Paracoccidioidomycosis*. Boca Raton: CRC Press, 1994. p.109-20.
20. Tobón AM, Orozco B, Estrada Santiago JA, Ramillo E, Bedout C, Arango M, Restrepo A. Paracoccidioidomycosis and AIDS: Report of the first two colombian cases. *Rev Med Trop S Paulo* 1998; 40: 377-81.
21. Aires MA, Alves CAC, Ferreira AV, Moreira IM, Pappalardo MCSM, Peluso D, Silva RJC. Bone Paracoccidioidomycosis in an HIV-Positive Patient. *Braz J Infect Dis* 1997; 1: 260-5.
22. Coutinho Z.F, Silva D, Lazerda M. Paracoccidioidomycosis mortality in Brazil (1980 – 1995). *Cad Saúde Pública* 2002; 18(5): 1441-54.
23. Cermeño JR, Hernández I, Godoy G, Cabello I, Cermeño JJ, Orellán Y, Blanco Y. Casuística de las micosis en el Hospital Universitario "Ruiz Y Páez. Ciudad Bolívar, Venezuela, 2002. *Invest Clin* 2005; 46: 37-42.
24. Fernando OP, Ciro MV, Juan Carlos FL, Rosario VM, Juan AP, Kristien VB, Oscar NC, Jorge AZ, Beatriz BR, Eduardo GH. Micosis ganglionar: Report de 7 casos en el Hospital Nacional Cayetano Heredia Lima-Perú y Revisión de la literatura. *Rev Med Hered* 2004; 15 (4): 211-7.
25. Brummer E, Castaneda E, Restrepo A. Paracoccidioidomycosis an update. *Clin Microbiol Rev* 1993; 6(2): 89-117.