

Micoses Sistêmicas (endêmicas)

Carlos Pelleschi Taborda

Departamento de Microbiologia – ICB/USP

Chefe do Laboratório de Micologia Médica IMTSP/LIM53 - USP

2017

- Podemos dividir em dois grupos:
 - Micoses sistêmicas causadas por fungos dimórficos.
 - *Paracoccidioides brasiliensis*. *P. lutzii*, + 3 espécies??
 - *Histoplasma capsulatum* var. *capsulatum*
 - *Coccidioides posadasii* / *C. immitis*
 - *Blastomyces dermatitidis*
 - *Penicillium (Talaromyces) marneffe*
 - Micoses sistêmicas causadas por leveduras clássicas.
 - *Cryptococcus neoformans* e *C. gattii*
 - *Candida albicans* e outras espécies

Fungos causadores de micoses sistêmicas apresentam uma série de características em comum

- Distribuição geográfica definida
- Agentes são encontrados no solo e em dejetos de animais
- A principal porta de entrada são as vias aéreas superiores

Diagnóstico Laboratorial

Microbiológico e Imunológico

- Epidemiológico
- Clínico
- Micológico
 - Visualização direta
 - Histopatológico
 - Cultura
- Sorológico
 - Pesquisa de antígenos e anticorpos
- Teste cutâneo (?)

Material biológico

- Escarro
- Sangue
- Medula óssea
- Lavado brônquio-alveolar
- Líquor
- Tecido (pele, parênquima cerebral, osso, fígado, linfonodos, etc)
- Urina

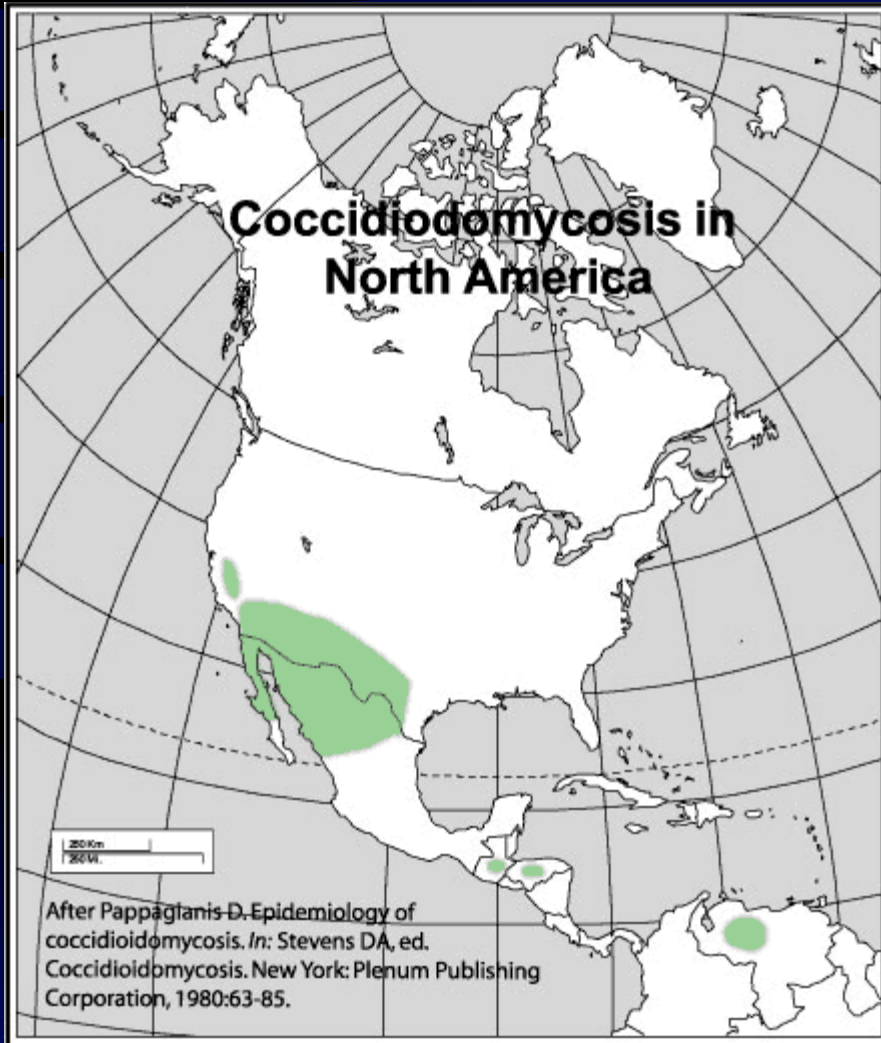
Histórico do Principais agentes

Hipóteses Diagnósticas

com base no quadro clínico

- Tuberculose
- Paracoccidioidomicose
- Histoplasmose
- Actinomicose
- Coccidioidomicose
- Leishmaniose
- Câncer
- Linfoma
- Hanseníase
- Sífilis.....

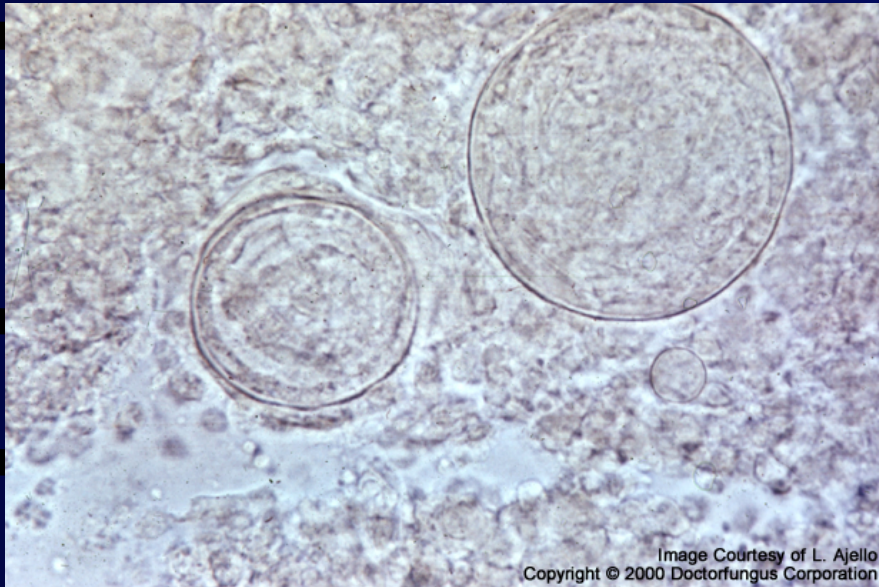
As duas espécies de *Coccidioides* são morfologicamente idênticas mas, geneticamente e epidemiologicamente distintas



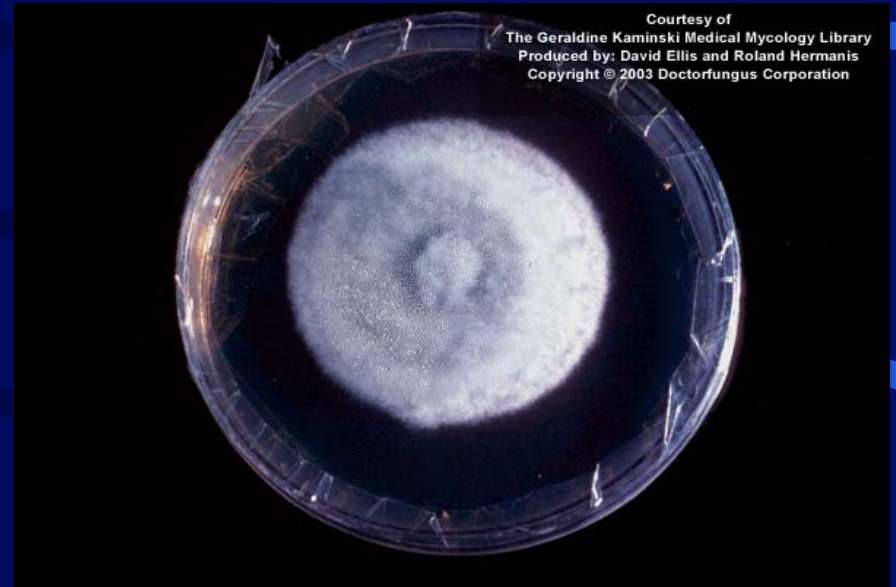
C. immitis é geograficamente limitado a região do vale San Joaquin California



C. posadasii é encontrado do sudoeste dos EUA, Mexico e América do Sul.



Esférulas contendo endosporos
Escarro KOH - aumento 400x



Cultura fase filamentosa

Histoplasmosis

- Histoplasmosis

Histoplasma capsulatum var. *capsulatum*



Histoplasma capsulatum var. *duboisii*

Histoplasma capsulatum var. *farcinosum* – histoplasmosis equina



Epidemiologia

- **Potenciais locais de contato**

- ◆ Galinheiros
- ◆ Pombais
- ◆ Prédios urbanos habitados por morcegos ou pombos
- ◆ Porões e sótãos
- ◆ Grutas e Cavernas
- ◆ Túneis e Minas abandonadas
- ◆ O fungo cresce em solo rico em fezes de aves e morcegos

- *H. capsulatum var. capsulatum*

- Descrita em várias parte do mundo entretanto, maior incidência nas Américas em especial no vale dos rios Mississippi e Ohio

- *H. capsulatum var. duboisii*

- Casos são relatados na África e na Europa

Atividades com significativo risco de infecção pelo *H. capsulatum*

- Geólogos
- Arqueólogos
- Veterinários
- Excursionistas
- Escoteiros

- Animais (cão, gato, equino, bovino)

- População de grandes cidades como São Paulo?

Tipos de abrigos

Abrigos naturais

Cavernas e fendas de rochas

Árvores

Ocos-de-árvores

Folhagem

Casca de árvores

Tendas” com folhagem



Abrigos Artificiais

- Interior de casa abandonadas
- Vão de dilatação de prédios e viadutos
- Porão de casa
- Sotão de casa
- Pontes



Formas Clínicas

- 1) histoplasmose no hospedeiro normal:
 - Primo-infecção assintomática e infecção pulmonar aguda;
- 2) histoplasmose em pacientes com DPOC:
 - Histoplasmose pulmonar crônica cavitária;
- 3) histoplasmose no hospedeiro imunocomprometido, dividida em:
 - Histoplasmose disseminada aguda, histoplasmose sub-aguda e histoplasmose crônica;

Forma pulmonar

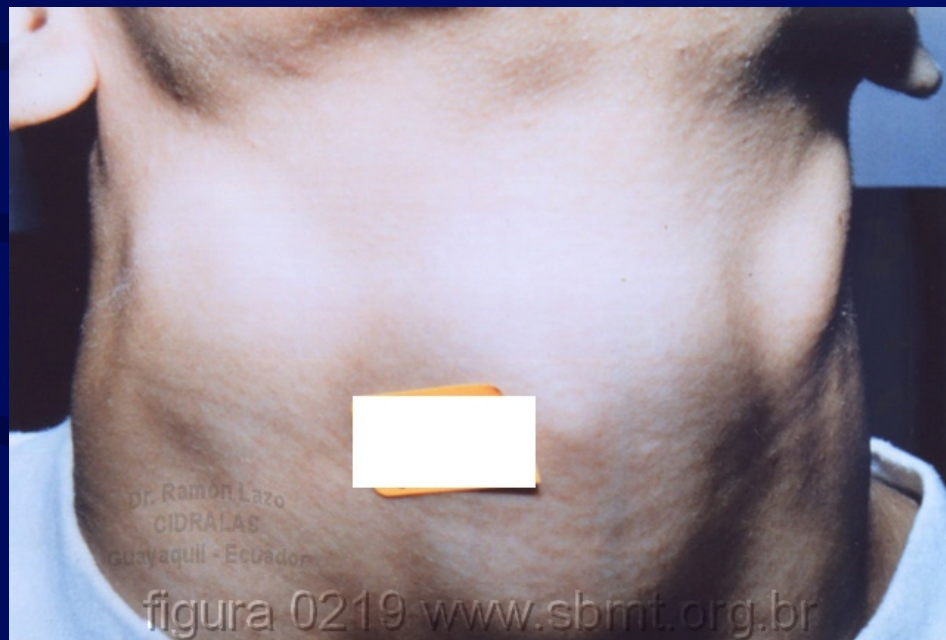


Acometimento gastrointestinal



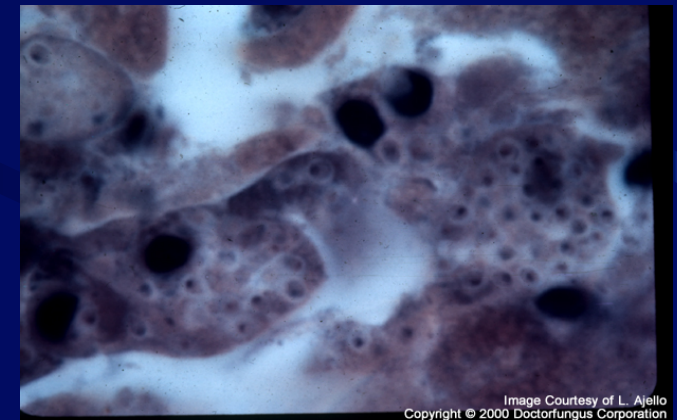
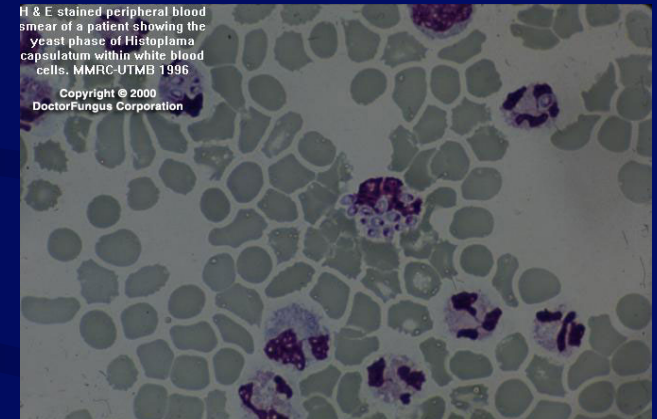
Figura 5 - Histoplasmose - Enema opaco demonstrando lesão tumoral no reto, confundida com adenocarcinoma, cuja biópsia demonstrou a presença do Histoplasma capsulatum (Caso 4).

Acometimento linfonodos e da mucosa oral

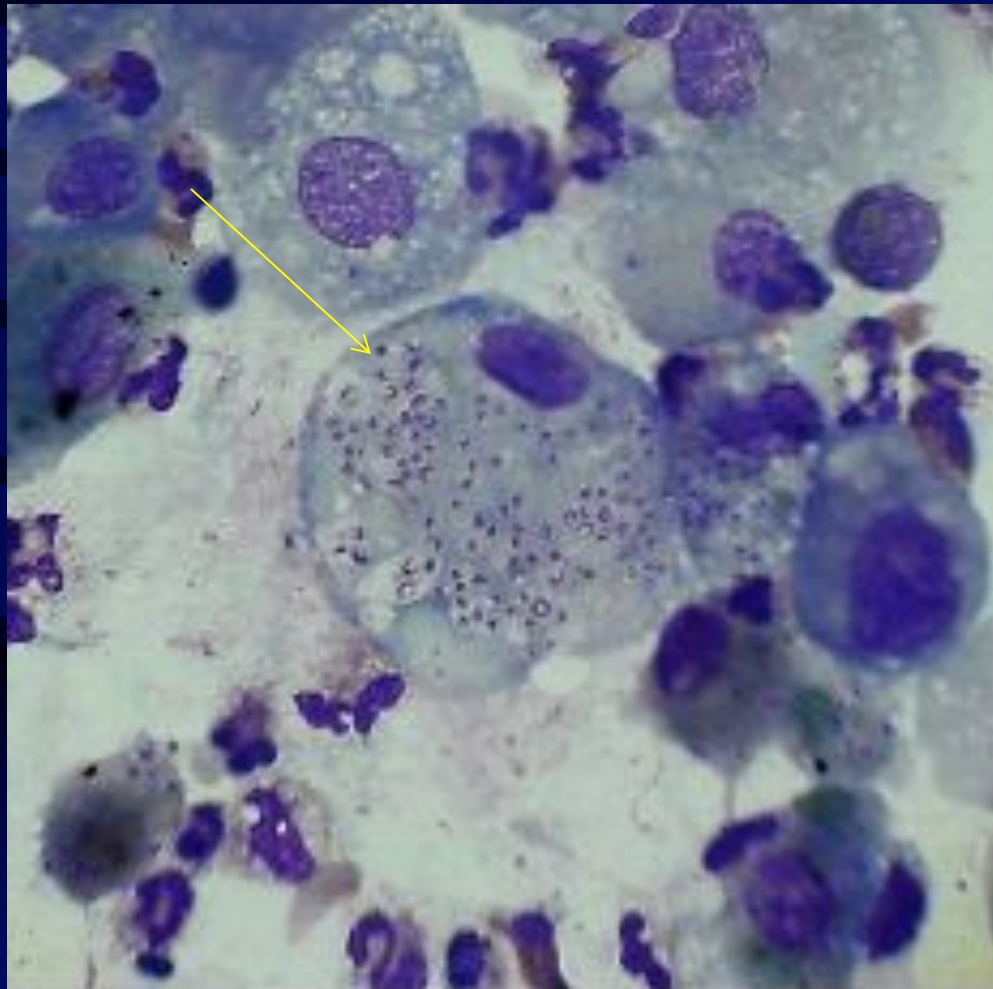


Exame Direto / Histopatológico

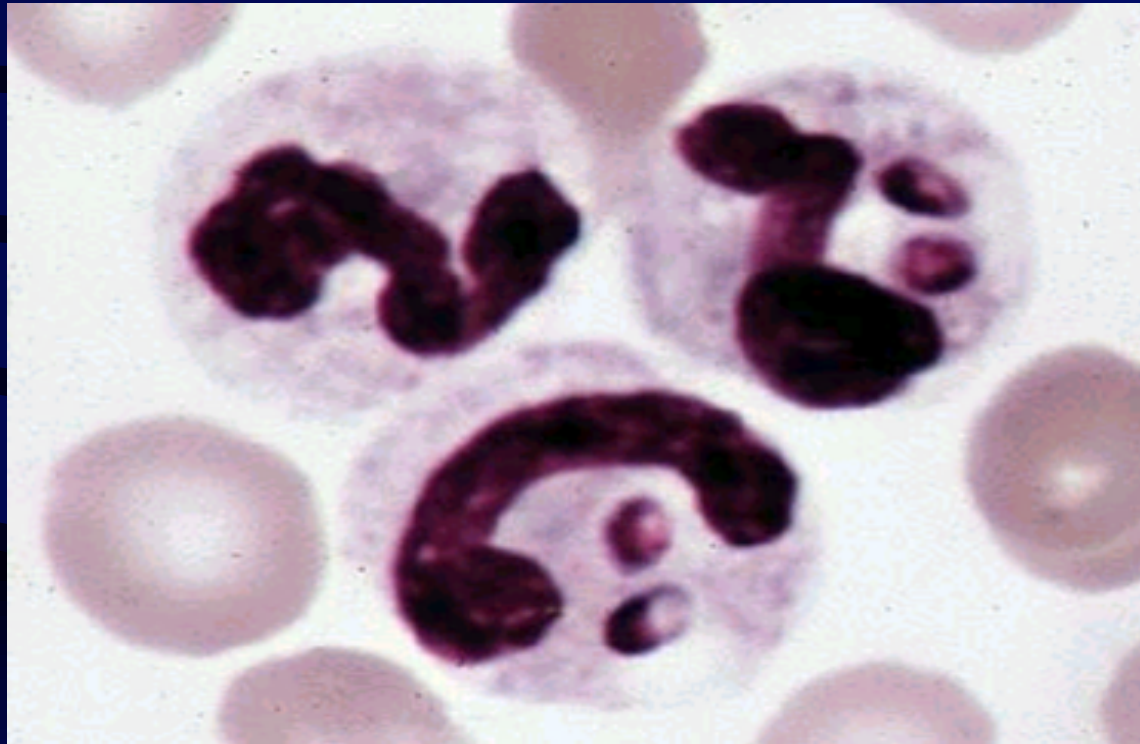
- Os cortes podem ser realizados a partir de pulmão, pele e coloração pelo H&E, PAS ou **Grocott é recomendado**
- Intenso parasitismo nas células do SRE é observado.
- Nos preparados corados pelo H&E, os microrganismos aparecem com halo claro ao seu redor.



Lavado brônquio-alveolar



Sangue periférico - Wright



BHI

S

S

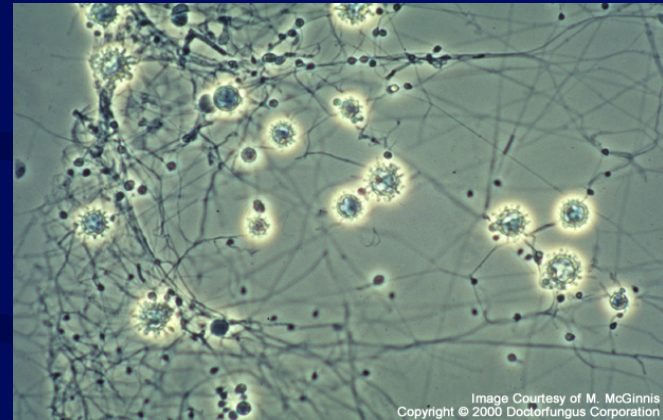
S



ML gema 37°C
reversão

Micromorfologia

- A análise da cultura na fase filamentosa observa-se hifas delicadas, septadas, macroconídios lisos ou equinulados, microconídios lisos.
- Na fase leveduriforme pode ser observado brotamento, o que raramente se observa nos tecidos.



Microcultivo

Diagnóstico laboratorial em pacientes AIDS

- Pesquisa de antígeno é muito importante
 - Resultado falso positivo para galactomanana de *Aspergillus* spp
- Identificação de leveduras em fagócitos no tecido
- Técnicas moleculares como PCR
- Técnicas sorológicas frequentemente negativas
- CULTURA

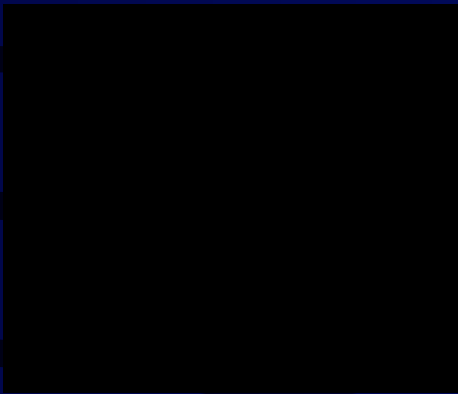
Histoplasmose – Infecção/Doença

- Infecção assintomática
 - Calcificações pulmonares e PPD negativo
 - Histoplasmina
 - Soroprevalência
 - Moradores de áreas endêmicas
 - Exposição de risco elevado



Dimorfismo térmico

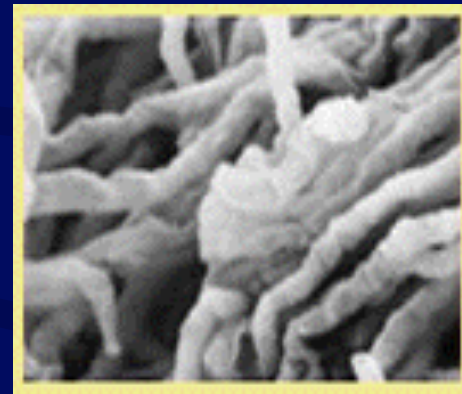
35-37°C



LEVEDURA



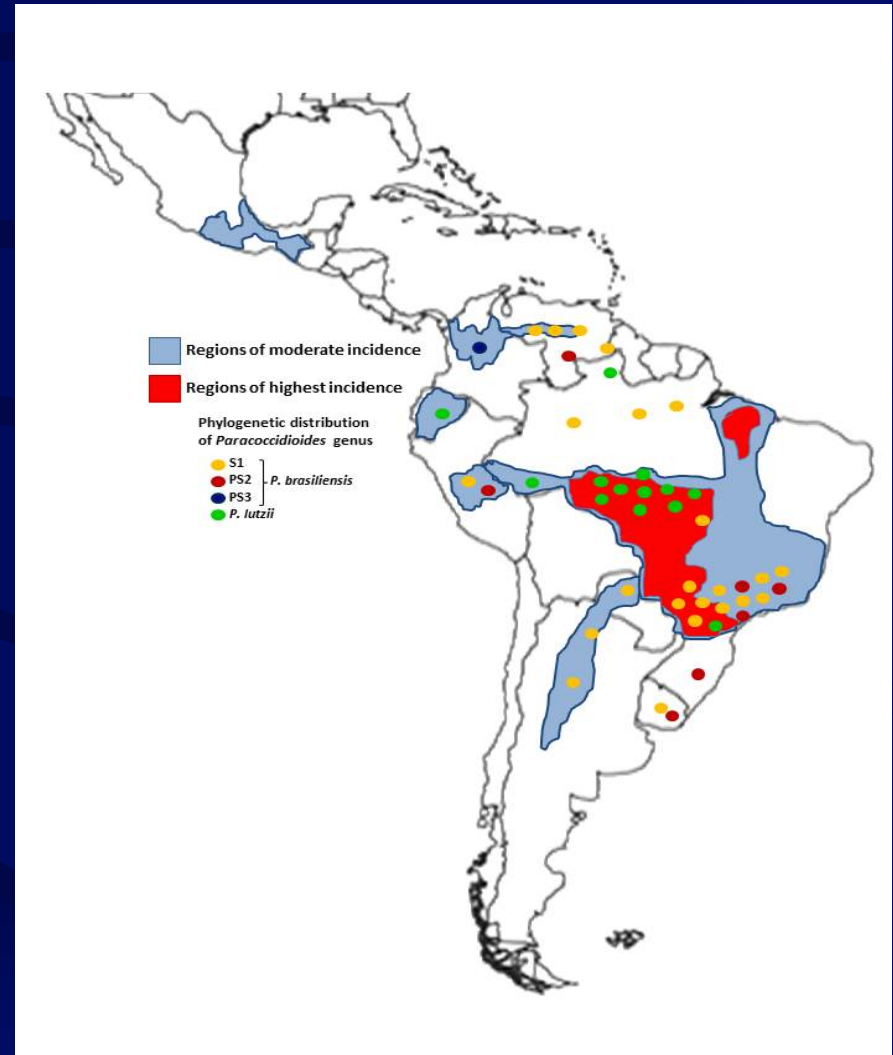
25-27°C



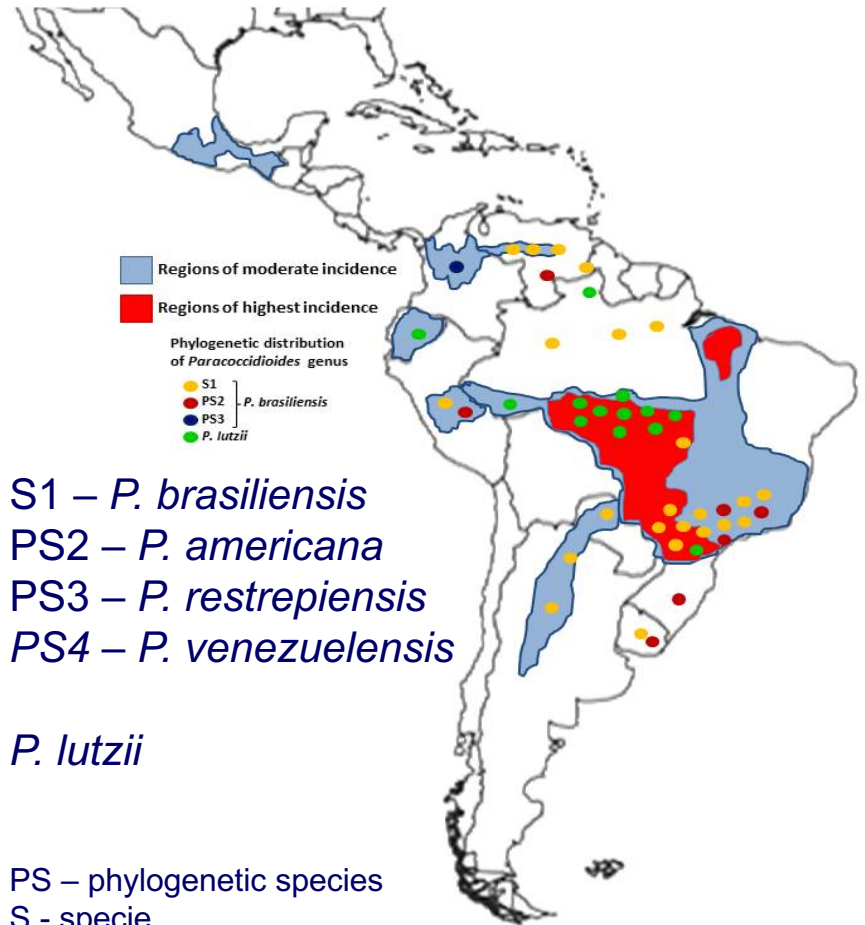
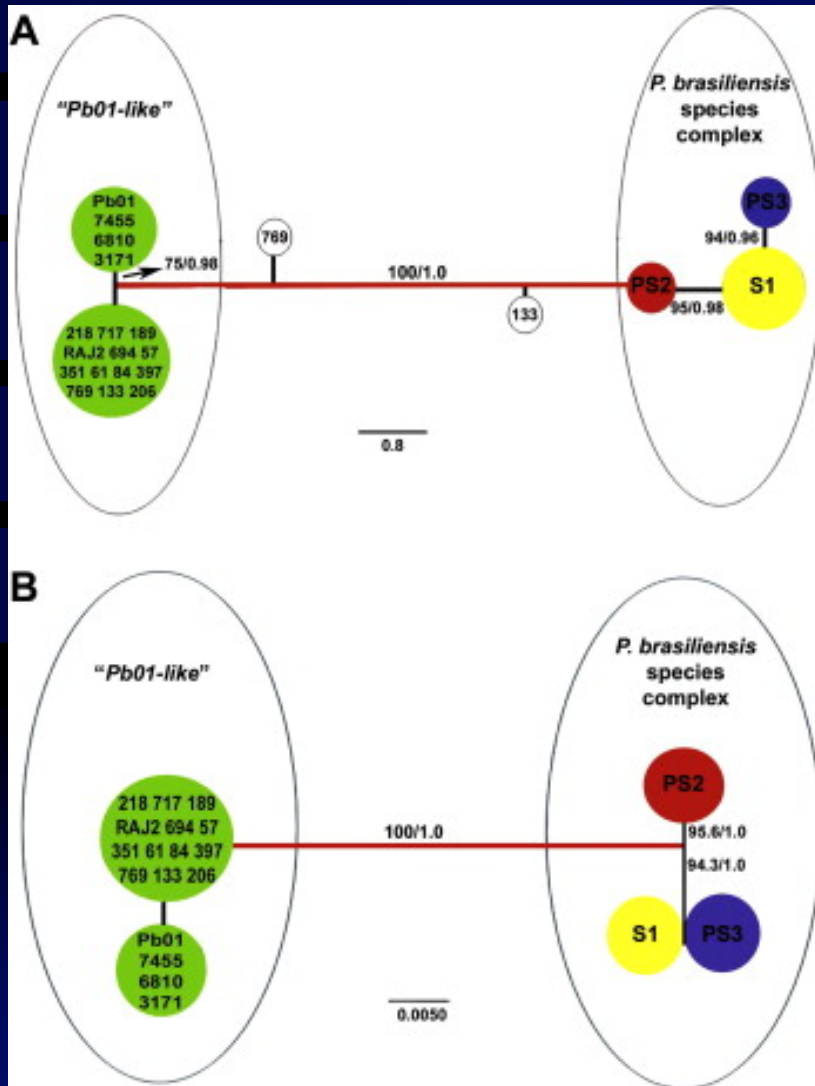
BOLOR

Epidemiologia

- Distribui-se pelas regiões tropicais e subtropicais da América Latina.
- Não foram registrados casos no Chile, Nicarágua, El Salvador, Guiana, Suriname e algumas ilhas do caribe.



Diferentes grupos filogenéticos e novas espécies



Epidemiologia

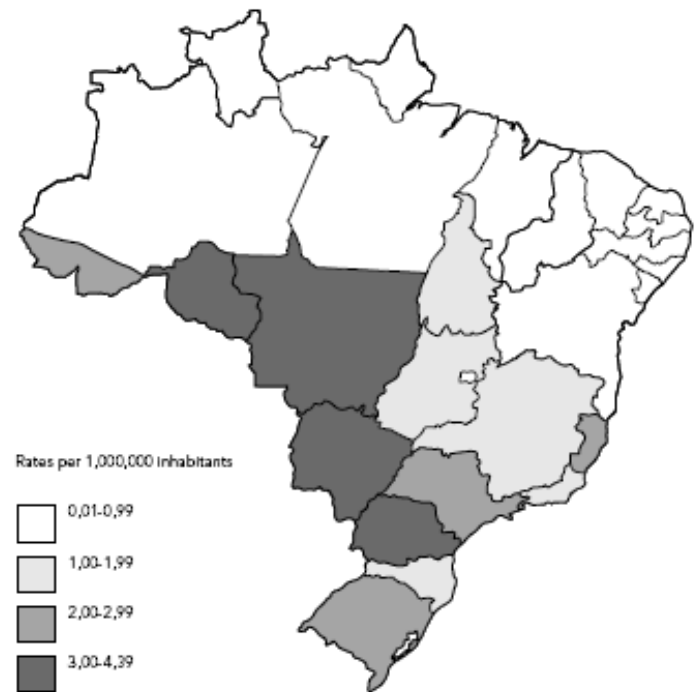
- Isolado do solo (4 vezes)
 - Primeira vez ocorreu na Venezuela a partir de solo de plantação de café.
 - Países que apresentam maior incidência da doença têm tradição cafeeira.
- Trato digestivo de alguns animais.
 - Tatu – suspeita-se que possa ser um reservatório do fungo na natureza e a sua distribuição geográfica
- Detecção molecular de genes relacionados ao *P. brasiliensis* em órgãos de animais silvestres atropelados nas estradas do interior do Estado de São Paulo:
 - Tatu
 - Cobaia
 - Porco-espinho
 - Quati
 - Furão

Epidemiologia

Brasil - 1980 – 1995:
3181 mortes
relacionadas com a
paracoccidioidomicose.

Coutinho et al., 2002

Mortalidade pela paracoccidioidomicose nos Estados brasileiros no período de 1980-1995



Fonte: IBGE e DATASUS/MS

-1,45 morte/milhão de pessoas.

- 8ª causa de mortalidade
entre as doenças
infecciosas e parasitárias.

Epidemiologia

- Afeta primariamente o sexo masculino e pessoas com mais de 30 anos.
 - Proporção de 15:1 (homem:mulher).
 - A menor incidência em mulheres parece estar relacionada a fatores hormonais.
- Indivíduos com atividade econômica ligada a agricultura são mais susceptíveis ao contato com fungo, entretanto tem sido relatado casos de pacientes que viveram toda a vida em região urbana.

Paracoccidiodomicose doença



Paracoccidioomicose doença

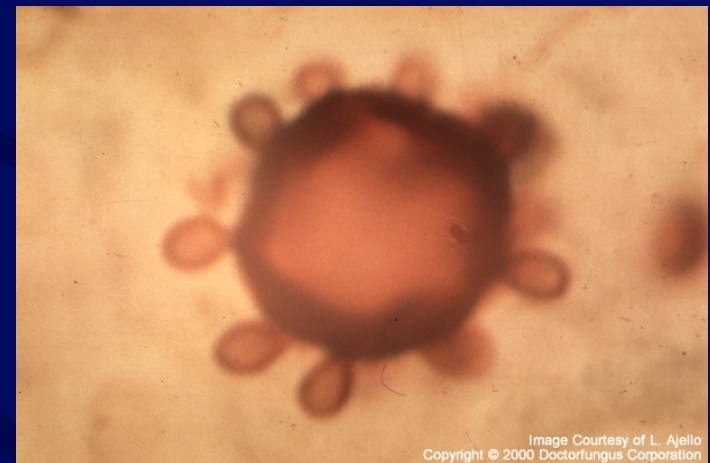
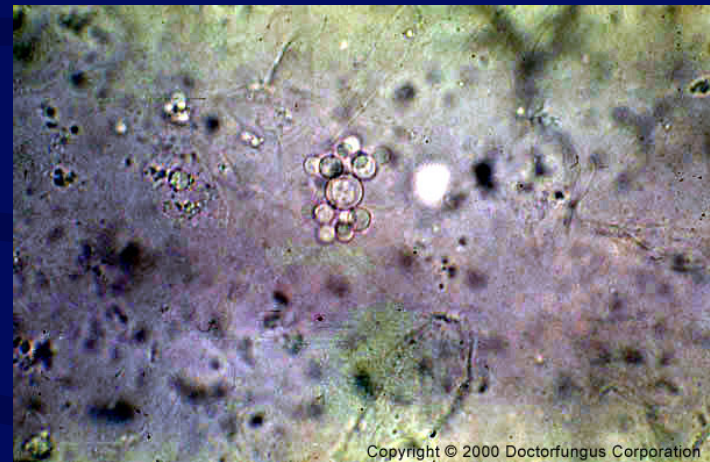
- Aguda ou subaguda (tipo juvenil)
 - 3 a 5% dos casos.
 - Rápida disseminação do fungo.
 - Acomete indivíduos jovens.
 - Forma mais grave e de pior prognóstico.
- Crônica (tipo adulto)
 - Unifocal ou multifocal.
 - Pode levar meses e anos para se tornar aparente.
 - Representa mais de 90% dos casos.
 - Mais frequente em indivíduos masculinos na faixa etária de 29 a 40 anos.

Diagnóstico Laboratorial

- Baseia-se no exame microscópico direto do espécime clínico.
 - Pus, escarro, raspados de lesões, biópsias, etc..
 - *P. brasiliensis* apresenta grande variedade morfológica podendo se apresentar como células isoladas, caliciformes, com um brotamento ou com muitos brotos e células catenuladas.

Exame direto

- Material processado com 10% de KOH – Exame direto
 - Células leveduriformes de 2 a 40 até 60 μm , de parede birrefringente, com três ou mais brotamentos, que se ligam à célula mãe por base estreita.



Isolamento

- A cultura permite a verificação de formas micelianas e de leveduras dependendo da temperatura empregada.
 - Inóculo do material clínico em ágar Sabouraud dextrose contendo ciclohexamida.
 - Fungo de crescimento lento (25 – 28° C), sendo necessário esperar até 4 semanas.
 - A transformação de bolor para levedura é necessária.

Características Macro/Microscópicas a 25° C

- Colônias brancas lisas, produzindo micélio aéreo curto.
- Microscopicamente observa-se hifas septadas, poucos conídios, alguns clamidoconídios.



Características Macro/Microscópicas a 37° C

- Colônias cerebriformes e brilhantes.
- Microscopicamente observa-se células arredondadas, com brotamentos, semelhantes às estruturas verificadas em parasitismo.

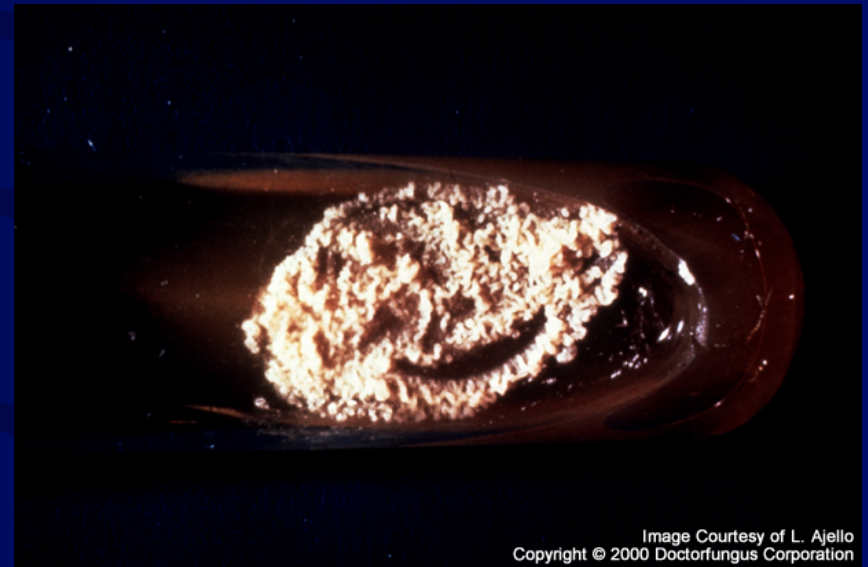
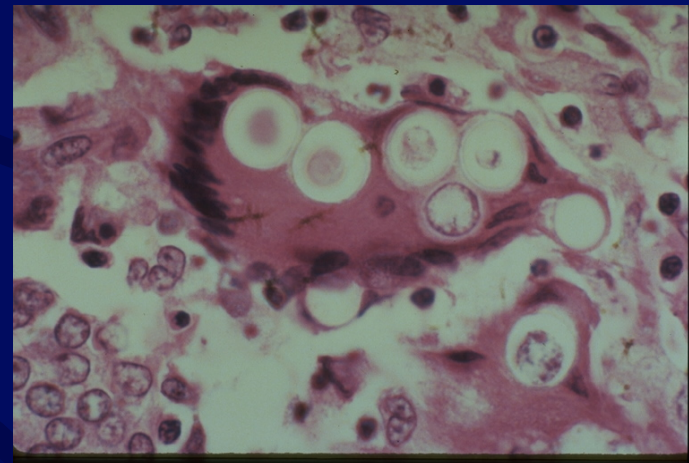


Image Courtesy of L. Ajello
Copyright © 2000 Doctorfungus Corporation

Histologia – Prata/HE

- Prata
 - Parede celular marrom para preto com um fundo esverdeado.
- HE
 - Cora todas células nucleadas



Sorologia

- Importante no auxílio ao diagnóstico e no acompanhamento do tratamento clínico.
 - Reação de precipitação em gel de agarose
 - Imunodifusão dupla e imunoeletroforese



Imunodifusão dupla

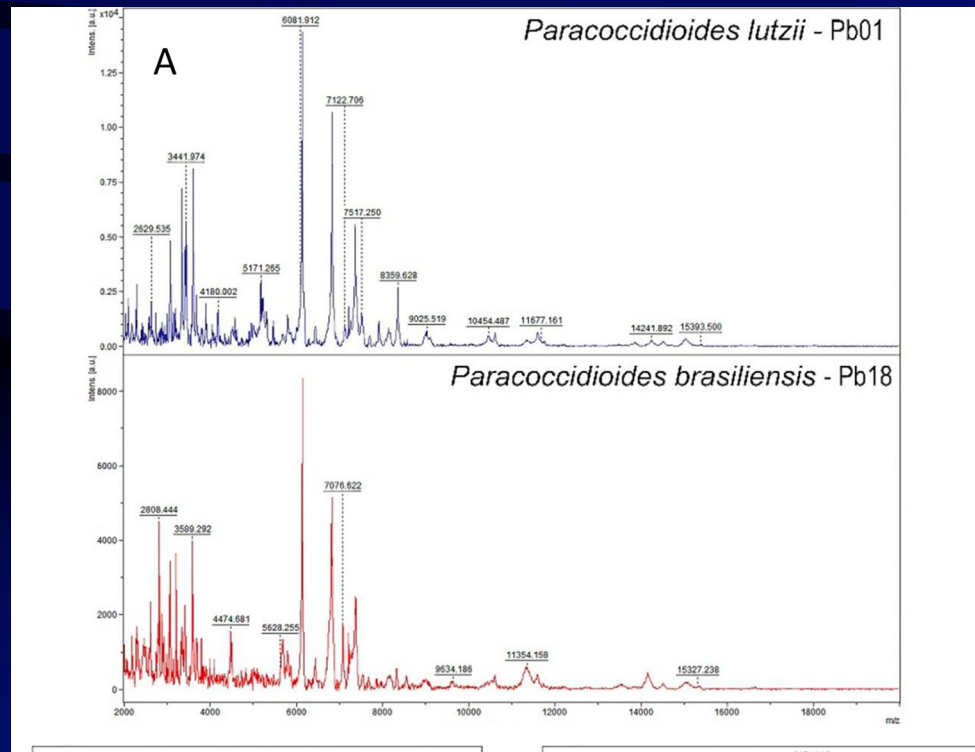
Diferenciação entre as espécies

JCM
Journals.ASM.org

Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization–Time of Flight Mass Spectrometry for Differentiation of the Dimorphic Fungal Species *Paracoccidioides brasiliensis* and *Paracoccidioides lutzii*

João Nobrega de Almeida, Jr.,^{a,b} Gilda M. B. Del Negro,^b Rafaella C. Grenfell,^c Monica S. M. Vidal,^b Danilo Y. Thomaz,^b Dulce S. Y. de Figueiredo,^b Eduardo Bagagli,^d Luiz Juliano,^c Gil Benard^b

Central Laboratory Division–LIM03, Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, São Paulo, Brazil^a; Laboratory of Medical Mycology–



Intradermorreação



Tratamento

- De acordo com a forma clínica e estado imunológico do paciente são adotados diferentes esquemas terapêuticos.
 - Sulfonamidas (sulfadiazina / sulfametoxazol-trimetoprim), anfotericina B, cetoconazol, itraconazol, fluconazol.
- Avaliação clínica micológica e sorológica dos pacientes deve ser feita, periodicamente, por longo prazo.
- Dose de manutenção, por um período aproximado de dois anos, após cura clínica, micológica e sorológica, tem sido preconizada.

Critérios de Cura

- Ausência de sinais clínicos
- Ausência de sinais de infecção pulmonar à radiografia do tórax
- Sorologia negativa por dois anos
 - imunodifusão