

Principais fungos causadores de micoses sistêmicas

Paracoccidioidomicose

2015

Carlos Pelleschi Taborda
Instituto de Ciências Biomédicas – Depto. Microbiologia
Laboratório de Micologia Médica – IMTSP/LIM-53

- Podemos dividir em três grupos:
 - Micoses sistêmicas causadas por fungos dimórficos.
 - *Paracoccidioides brasiliensis*/ *P. lutzii*
 - *Histoplasma capsulatum* var. *capsulatum*
 - *Coccidioides posadasii* / *C. immitis*
 - *Blastomyces dermatitidis*
 - *Penicillium marneffe*
 - Micoses sistêmicas causadas por leveduras clássicas.
 - *Cryptococcus neoformans* e *C. gattii*
 - *Candida albicans* e outras espécies
 - Micoses sistêmicas causadas por bolores presentes no ambiente.
 - *Aspergillus* spp.
 - *Fusarium* spp.
 - *Mucor* spp. e *Rhizopus* spp.

Paracoccidioides brasiliensis

e

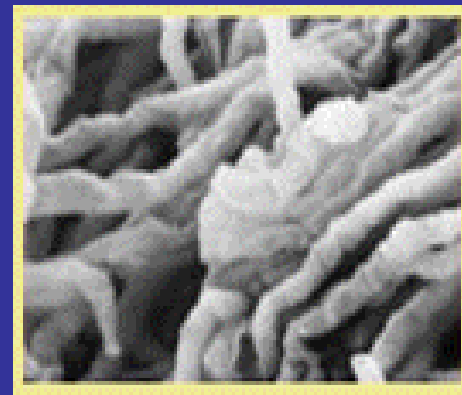
Paracoccidioides lutzii

Dimorfismo térmico

35-37°C



25-27°C



FORMA DE LEVEDURA

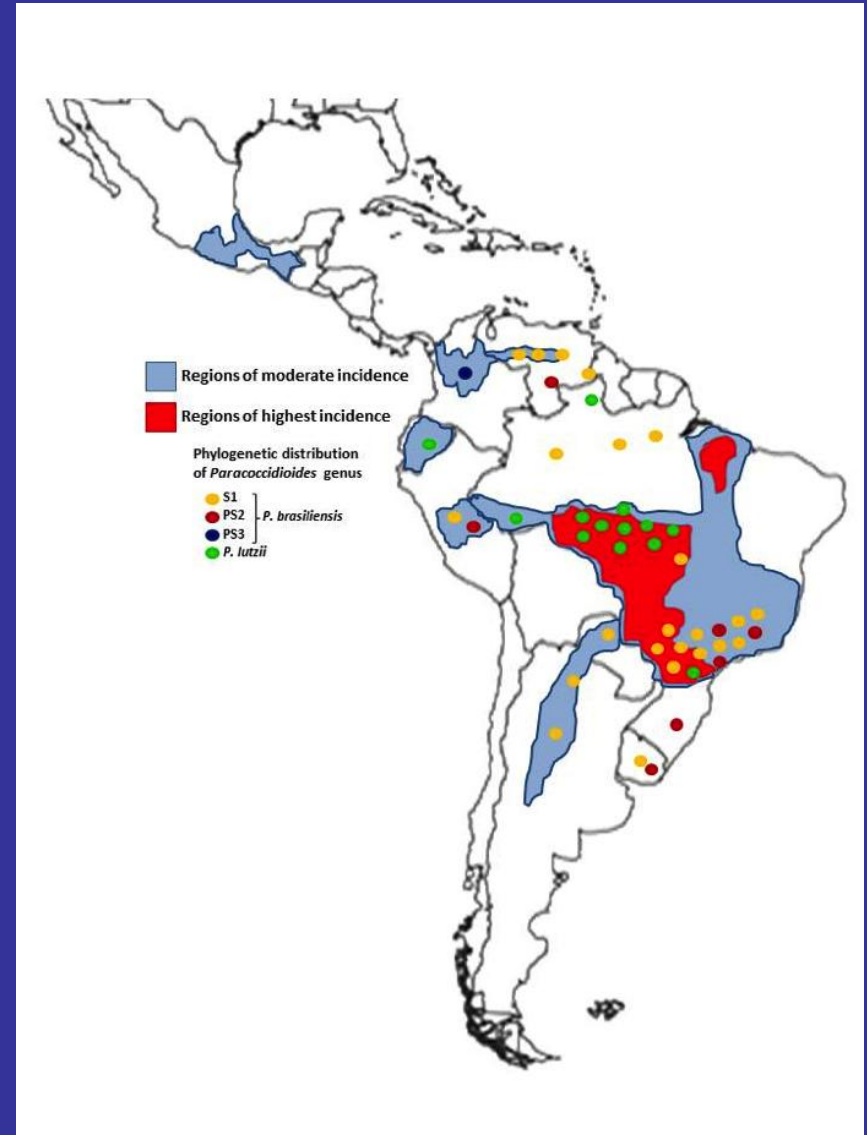
FORMA DE BOLOR

Epidemiologia

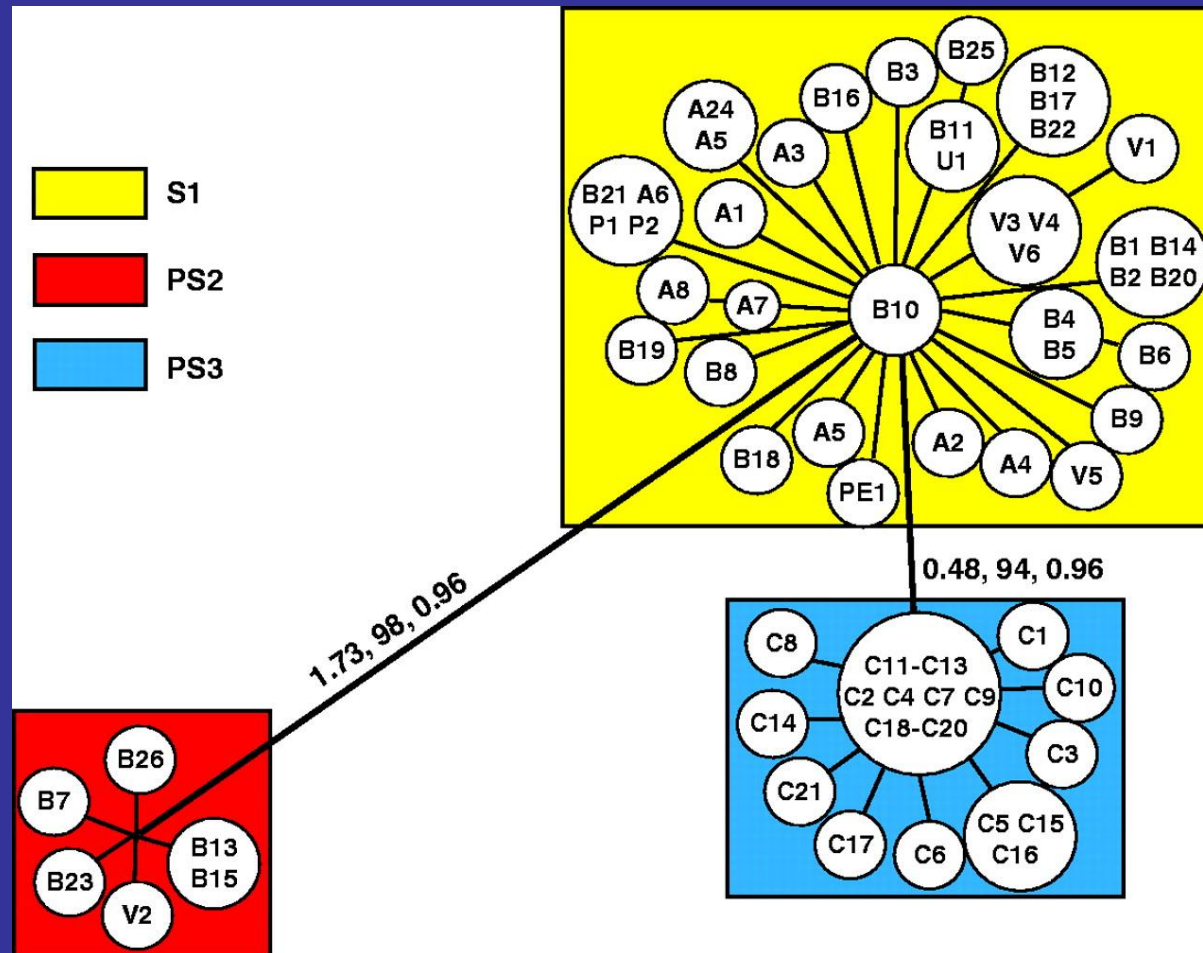
- Isolado do solo (4 vezes)
 - Primeira vez ocorreu na Venezuela a partir de solo de plantação de café.
 - Países que apresentam maior incidência da doença têm tradição cafeeira.
- Trato digestivo de alguns animais.
 - Tatu – suspeita-se que possa ser um reservatório do fungo na natureza e a sua distribuição geográfica coincide com a da paracoccidioidomicose.
- 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

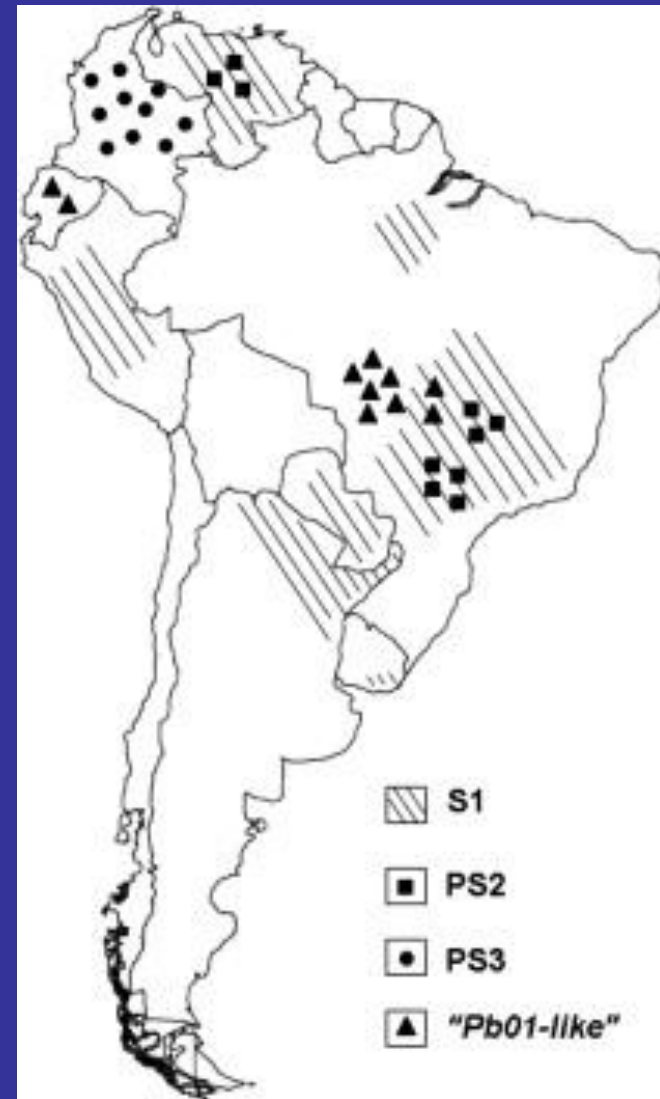
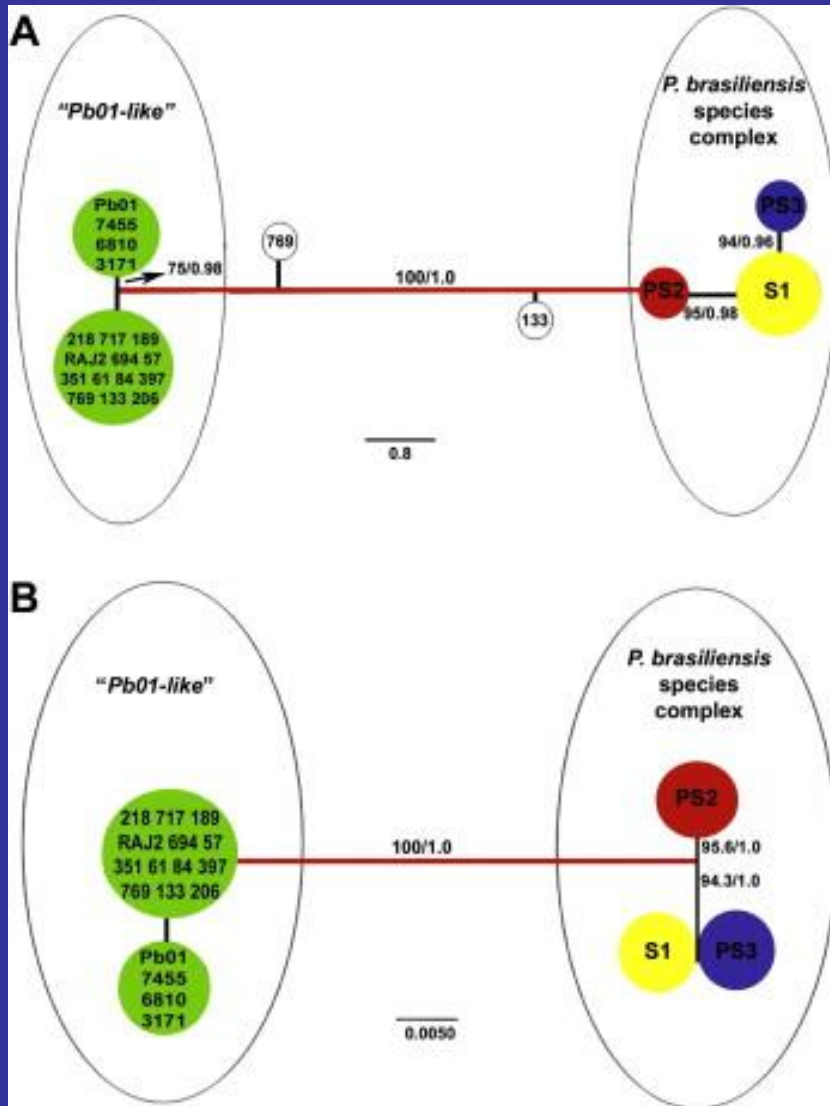
- Distribuiu-se pelas regiões tropicais e subtropicais da América Latina.
- Não foram registrados casos no Chile, Nicarágua, El Salvador, Guiana, Suriname e algumas ilhas do caribe.



Diferentes grupos filogenéticos



Pb01-like





Original Article

***Paracoccidioides lutzii* sp. nov.: biological and clinical implications**

Marcus de Melo Teixeira¹, Raquel Cordeiro Theodoro^{2,5}, Fabiana Freire Mendes de Oliveira¹, Gabriel Capella Machado², Rosane Christine Hahn³, Eduardo Bagagli², Gioconda San-Blas⁴ and Maria Sueli Soares Felipe^{1,*}

¹Instituto de Ciências Biológicas, Universidade de Brasília, Brasília, DF, Brazil, ²Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, SP, Brazil, ³Faculdade de Ciências Médicas, Universidade Federal de Mato Grosso, Cuiabá, MT, Brazil, ⁴Center of Microbiology and Cell Biology, Venezuelan Institute for Scientific Research (IVIC), Caracas, Venezuela and ⁵Departamento de Biologia Celular e Genética, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, RN, Brazil

*To whom correspondence should be addressed. E-mail: msueliunb@gmail.com

Received 9 May 2013; Revised 25 February 2013; Accepted 9 May 2013

Abstract

Paracoccidioides lutzii, formerly known as 'Pb01-like' strains in the *P. brasiliensis* complex, is proposed as a new species based on phylogenetic and comparative genomics data, recombination analysis, and morphological characteristics. Conidia of *P. lutzii* are elongated, different from those of *P. brasiliensis*. *P. lutzii* occurs in the central and northern regions of Brazil. Studies comparing *P. brasiliensis* and *P. lutzii* may have significant clinical consequences for the diagnosis and treatment of paracoccidioidomycosis.

Key words: *Paracoccidioides brasiliensis*, *Paracoccidioides lutzii*, paracoccidioidomycosis, speciation.

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.

Epidemiologia

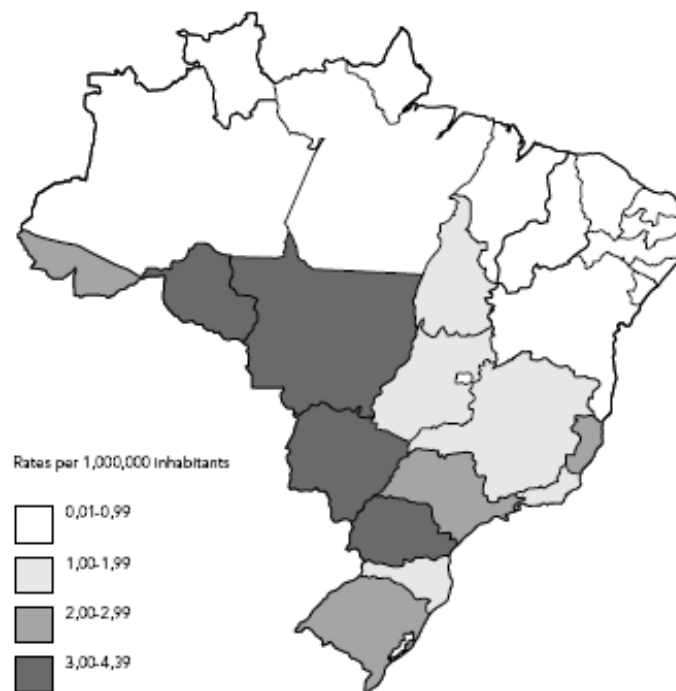
Coutinho *et al.*, 2002

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

-1,45 morte/milhão de pessoas;

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

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



Fonte: IBGE e DATASUS/MS

Mortality rate (crude and standardized) by paracoccidioidomycosis (Underlying cause –ICD - 10) in regions and States of Brazil. Period of 1996 to 2006

(Period)	1996-1998 (I)			1999-2001 (II)			2002-2004 (III)			2005-2006 (IV)		
Regions and States	Deaths	TBM	TPM	Deaths	TBM	TPM	Deaths	TBM	TPM	Deaths	TBM	TPM
North	11	1.0	0.9	19	1.5	1.5	25	1.8	1.9	17	1.1	1.4
Rondônia	5	3.7	3.1	9	6.9	6.9	12	8.2	8.7	6	3.9	4.8
Acre	1	2.7	2.3	2	3.6	3.6	3	5.6	6.0	1	1.5	1.8
Amazonas	-	-	-	-	-	-	0	0.1	0.1	-	-	-
Roraima	-	-	-	-	-	-	1	1.9	2.1	1	1.3	1.5
Para	3	0.5	0.4	5	0.8	0.8	5	0.8	0.8	6	0.8	1.0
Amapá	-	-	-	-	-	-	0	0.6	0.7	-	-	-
Tocantins	3	2.5	2.3	3	2.6	2.6	3	2.4	2.6	4	3.0	3.6
Northeast	6	0.1	0.1	4	0.1	0.1	8	0.2	0.2	4	0.1	0.1
Maranhão	1	0.2	0.2	1	0.2	0.2	4	0.6	0.6	2	0.3	0.4
Piauí	0	0.1	0.1	0	0.1	0.1	1	0.3	0.4	-	-	-
Ceara	1	0.1	0.1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Rio Grande do Norte	1	0.3	0.3	-	-	-	-	-	-	1	0.2	0.2
Paraíba	-	-	-	0	0.1	0.1	1	0.3	0.3	-	-	-
Pernambuco	-	-	-	-	-	-	1	0.1	0.1	1	0.1	0.1
Alagoas	-	-	-	-	-	-	0	0.1	0.1	-	-	-
Sergipe	0	0.2	0.2	0	0.2	0.2	-	-	-	-	-	-
Bahia	2	0.2	0.2	2	0.2	0.2	1	0.1	0.1	1	0.1	0.1
Southeast	87	1.3	1.1	79	1.1	1.1	78	1.0	1.1	74	0.9	1.1
Minas Gerais	22	1.3	1.2	18	1.0	1.0	19	1.0	1.1	24	1.2	1.5
Espírito Santo	6	2.0	1.7	3	0.9	0.9	5	1.5	1.6	3	0.7	0.9
Rio de Janeiro	10	0.7	0.6	8	0.6	0.6	6	0.4	0.4	11	0.7	0.8
São Paulo	50	1.4	1.3	50	1.3	1.4	48	1.2	1.3	37	0.9	1.1
South	49	2.0	1.8	45	1.8	1.8	38	1.5	1.5	36	1.3	1.6
Paraná	30	3.2	2.9	25	2.7	2.7	25	2.5	2.6	19	1.8	2.2
Santa Catarina	7	1.4	1.2	6	1.2	1.2	4	0.7	0.7	4	0.6	0.7
Rio Grande do Sul	12	1.2	1.1	13	1.3	1.3	9	0.9	0.9	14	1.2	1.4
Central West	18	1.6	1.4	26	2.2	2.2	26	2.1	2.3	17	1.3	1.5
Mato Grosso do Sul	4	2.0	1.8	5	2.3	2.3	3	1.5	1.6	3	1.1	1.3
Mato Grosso	10	4.2	3.6	14	5.6	5.6	17	6.3	6.7	8	2.8	3.3
Goiás	4	0.8	0.7	6	1.3	1.3	5	0.9	1.0	6	1.0	1.1
Federal District	0	0.2	0.2	1	0.3	0.3	1	0.6	0.7	1	0.2	0.2
Brazil	171	1.1	1.0	173	1.0	1.0	175	1.0	1.0	148	0.8	0.9

Epidemiologia

Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Vol. 104(3): 513-521, May 2009 513

Mortality due to systemic mycoses as a primary cause of death or in association with AIDS in Brazil: a review from 1996 to 2006

Marli Prado¹, Marcelo Barbosa da Silva², Ruy Laurenti¹, Luiz R Travassos³, Carlos P Taborda^{2/+}

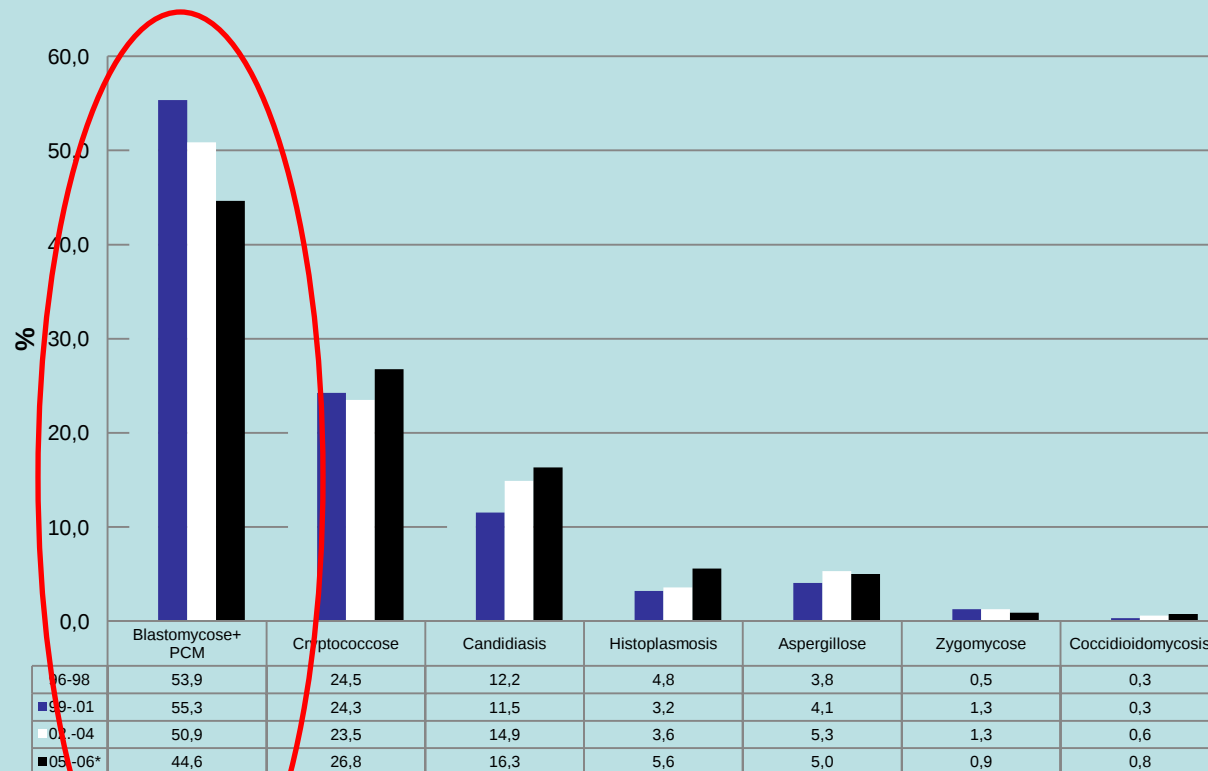
²Instituto de Ciências Biomédicas, Departamento de Microbiologia e Laboratório de Micologia Médica - LIM53 - Hospital de Clínicas da Faculdade de Medicina ¹Departamento de Epidemiologia, Escola de Saúde Pública, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil

³Departamento de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia, Universidade Federal de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil

Deaths caused by systemic mycoses such as paracoccidioidomycosis, cryptococcosis, histoplasmosis, candidiasis, aspergillosis, coccidioidomycosis and zygomycosis amounted to 3,583 between 1996-2006 in Brazil. When analysed as the underlying cause of death, paracoccidioidomycosis represented the most important cause of deaths among systemic mycoses (~ 51.2%). When considering AIDS as the underlying cause of death and the systemic mycoses as associated conditions, cryptococcosis (50.9%) appeared at the top of the list, followed by candidiasis (30.2%), histoplasmosis (10.1%) and others. This mortality analysis is useful in understanding the real situation of systemic mycoses in Brazil, since there is no mandatory notification of patients diagnosed with systemic mycoses in the official health system.

Key words: mortality - systemic mycoses - AIDS - deep mycoses

Frequência de mortes entre as micoses sistêmicas no 1996 to 2006



Mortalidade de AIDS associada a micoses sistêmicas

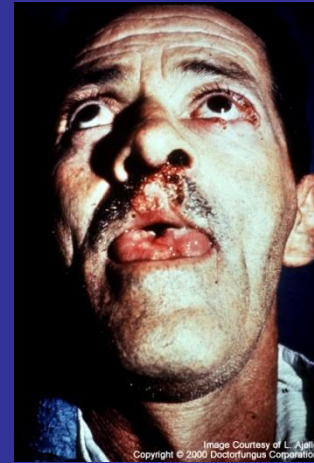
TABLE VIII

Number and frequency of mentions to systemic mycoses in deaths with underlying cause of AIDS in Brazil from 1996-2006^a

Mention (3C - ICD - 10)	n	%	Number per 1,000 deaths of AIDS
B45 Cryptococcosis	3001	50.9	23.89
B37 Candidiasis	1780	30.2	4.17
B39 Histoplasmosis	594	10.1	4.73
B44 Aspergillosis	427	7.2	3.40
B40 e B41 (Blastomycosis/Paracoccidioidomycosis)	84	1.4	0.67
B38 Coccidioidomycosis	11	0.2	0.09
B46 Zygomycosis	1	0.0	0.01
Total (systemic mycoses)	5.898	100.0	46.95

^a: preliminary data for 2006. Obits by AIDS as basic cause of death (Cod B20-24 - Chapter I - same infectious and parasitic disease - ICD - 10). Mention to systemic mycosis anywhere in part I or II of obit declaration with AIDS as the basic cause of death.

Paracoccidioidomycose doença



Paracoccidioidomicose doença

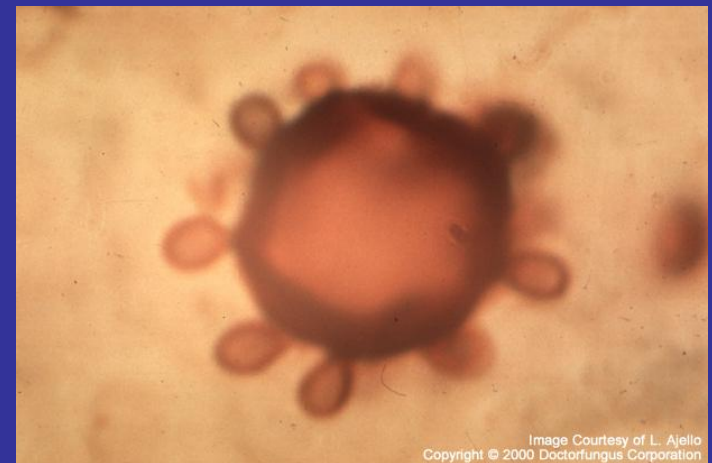
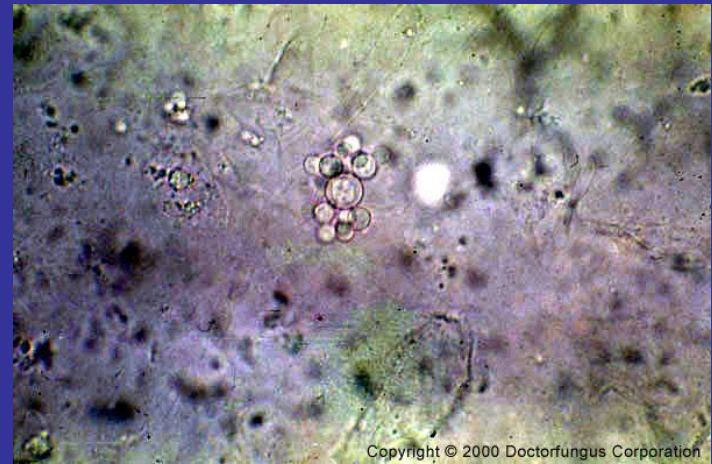
- Aguda ou subaguda (tipo juvenil)
 - 3 a 5% dos casos.
 - Rápida disseminação do fungo.
 - Acomete indivíduos jovens.
 - Forma mais grave e de pior prognóstico.
- Crônica (tipo adulto)
 - Unifocal ou multifocal.
 - Pode levar meses e anos para se tornar aparente.
 - Representa mais de 90% dos casos.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



Histologia

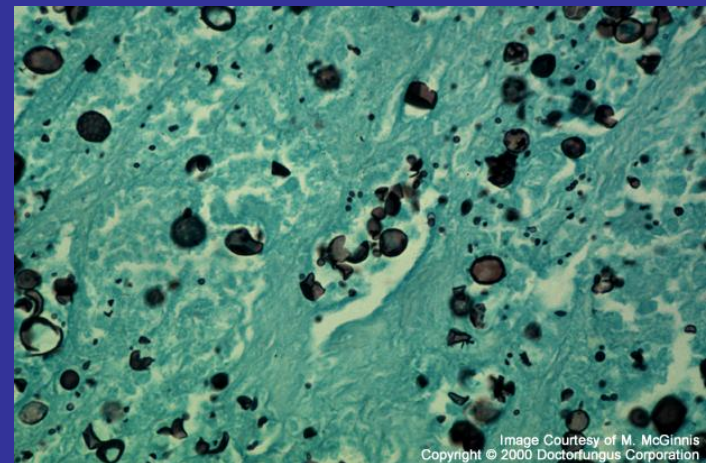
- Permanece umas das mais importantes ferramentas de diagnóstico na micologia.
 - Rápida, baixo custo e capaz de identificar o agente infeccioso.
- Colorações utilizadas
 - GMS (Gomori methenamine silver)
 - H&E (hematoxylin and eosin)

Histopatológico – Prata

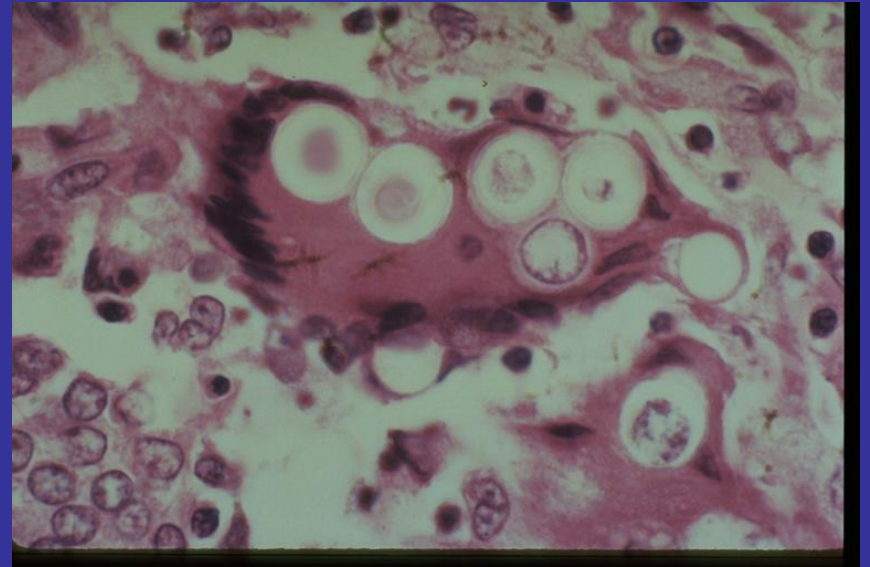
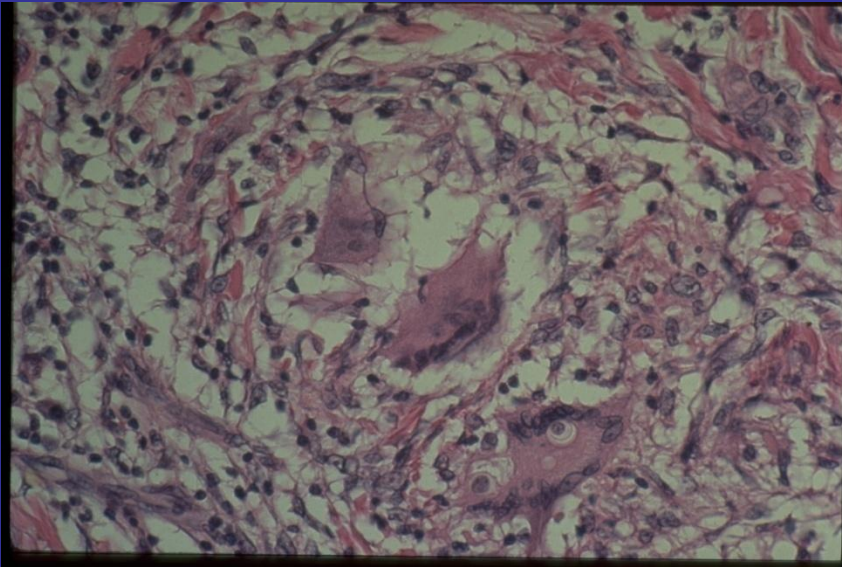
- Prata



- Parede celular marrom para preto com um fundo esverdeado.

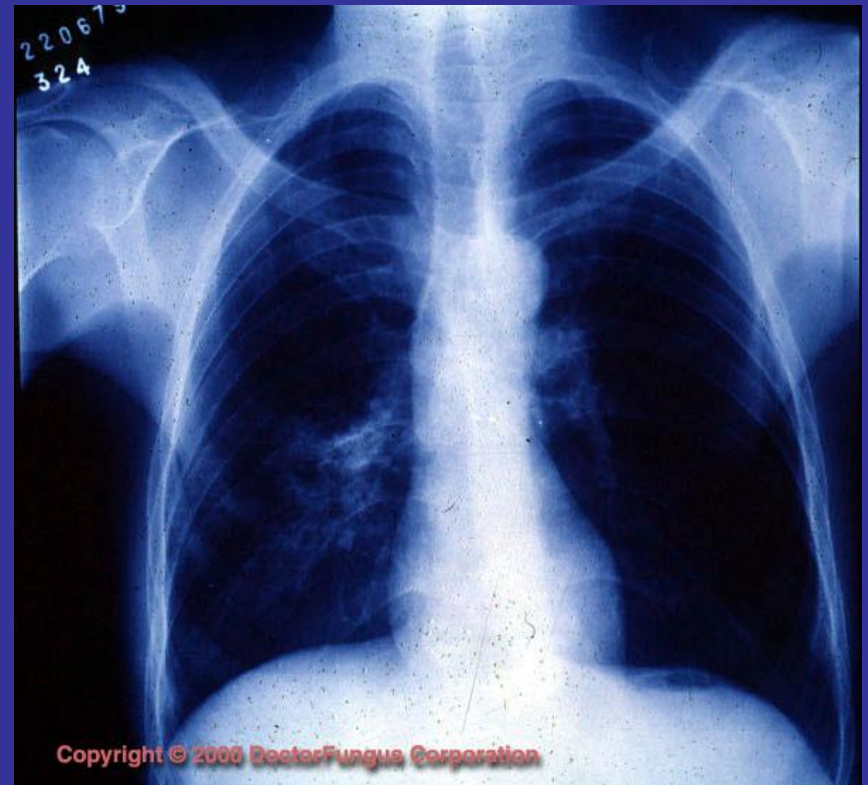


Histopatológico – H&E



Exames complementares

- Exame de raio-X.
 - Importante para demonstrar infiltrado pulmonar, entretanto não fecha diagnóstico.
- *In vivo*
 - O cobaio é particularmente sensível, apresentando orquite após 20 a 30 dias, quando inoculado por via intratesticular



Sorologia

- Importante no auxílio ao diagnóstico e no acompanhamento do tratamento clínico.
 - Reação de fixação de complemento
 - Reação de precipitação em gel de agarose
 - Imunodifusão dupla e imunoeletroforese
 - Hemaglutinação passiva
 - ELISA, Western blot e Dot Blot
 - Imunofluorescência

Sorologia

- Imunodifusão dupla
 - Auxilia no diagnóstico e no acompanhamento clínico dos pacientes.
 - Apresenta quase 100% de especificidade e sensibilidade.
 - Casos de falso negativo e falso positivo (*H.capsulatum*) já foram relatados.

P. brasiliensis x *P. lutzii*

Primeira observação de casos de PCM com sorologia negativa – Mato Grosso

Intradermorreação



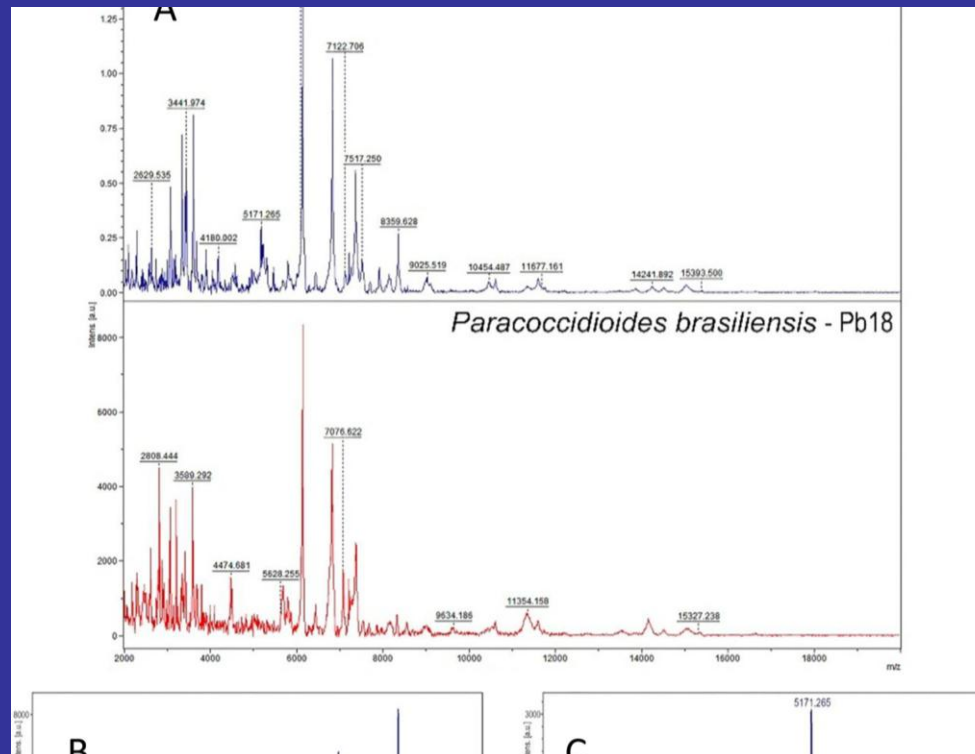
Diferenciação entre as espécies

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–



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

Vacina – Realidade ou Utopia?

- Vacina preventiva ou vacina terapêutica
 - Experiência do grupo – P10
 - Imunização peptídica
 - Imunização plasmídeo
 - Flagelina
 - Encapsulamento do P10 em micro e nanoesferas do copolímero de ácido láctico e glicólico (PLGA)