

APLICAÇÃO DAS TÉCNICAS DE DIAGNÓSTICO DA PARACOCCIDIOIDOMICOSE NO BRASIL: REVISÃO SISTEMÁTICA

APPLICATION OF PARACOCCIDIOIDOMICOSIS DIAGNOSIS TECHNIQUES IN BRAZIL: A SYSTEMATIC REVIEW

Leandro Cavalcante Santos^{1*}; Clarice Maia Carvalho^{1,2}; Leila Priscila Peters¹

¹Universidade Federal do Acre (UFAC), Programa de Pós-Graduação em Ciência, Inovação e Tecnologia para a Amazônia, Rio Branco, Acre, Brasil;

²Universidade Federal do Acre (UFAC), Centro de Ciências Biológicas e da Natureza.

*Autor correspondente: leandrosantos765@hotmail.com

RESUMO

A paracoccidiodomicose (PCM) é uma micose profunda, causada pelo fungo do gênero *Paracoccidioides*. Doença considerada mais importante da América Latina, com 80% dos casos provenientes do Brasil. Seu diagnóstico pode ser através do exame direto, cultivo, sorológicos, histopatológicos e métodos moleculares das amostras clínicas. Assim, este trabalho teve como objetivo realizar uma revisão sistemática acerca dos métodos de diagnóstico empregados na PCM no Brasil, consultando artigos indexados nas plataformas Google Acadêmico, Science Direct, Pubmed, Scopus e Scielo, entre os anos de 1956 a 2019. A metodologia de diagnóstico utilizados são: histopatológico (47,2%), seguido do exame direto (18,4), (PCR) (12,7), sorologia (11,4%) e cultura (10,3%). A região sudeste brasileira apresenta maior incidência de casos de PCM: São Paulo (25,8), Rio de Janeiro (19,4) e Minas Gerais (9,7). A incidência foi maior no sexo masculino (42%) e na faixa etária de 41-50 anos de idade (14%).

Palavras-chave: *Paracoccidioides*., micose profunda e micose pulmonar.

ABSTRACT

Paracoccidiodomycosis (PCM) is a deep mycosis caused by the fungus of the genus *Paracoccidioides*. Considered the most important disease in Latin America, with 80% of cases from Brazil. Its diagnosis can be through direct examination, culture, serological, histopathological and molecular methods of clinical samples. Thus, this work aimed to perform a systematic review of the diagnostic methods employed in PCM in Brazil, consulting articles indexed in the Google Academic, Science Direct, Pubmed, Scopus and Scielo platforms, from 1956 to 2019. The diagnostic methodology used are: histopathological (47.2%), followed by direct examination (18.4), (PCR) (12.7), serology (11.4%) and culture (10.3%). The southeastern region of Brazil has a higher incidence of PCM cases: São Paulo (25,8), Rio de Janeiro (19,4) and Minas Gerais (9,7). The incidence was higher in males (42%) and in the age group 41-50 years (14%).

Key-words: *Paracoccidioides*. deep mycosis and pulmonary mycosis.

1. INTRODUÇÃO

Os fungos têm representado um importante grupo de microrganismos causadores de doenças infecciosas por todo o mundo e nos últimos anos, tem tido aumento contínuo, principalmente devido à epidemia de HIV/AIDS, uso de imunossupressores e quimioterápicos no tratamento de câncer. Assim, diante disso, torna-se um desafio o diagnóstico, tratamento e controle das doenças infecciosas fúngicas [1].

A paracoccidiodomicose (PCM) é uma micose sistêmica, crônica que tem como agente causador as espécies *Paracoccidioides brasiliensis* e *P. lutzii*, afetando regiões tropicais e

subtropicais da América Latina [2]. Por não ser uma doença de notificação compulsória na maioria dos estados brasileiro, não há dados precisos a respeito da prevalência, incidência e morbidade desta doença. As estimativas oriundas de inquérito epidemiológico, séries de casos, registros de hospitalização e dados de mortalidade relataram que 80% dos casos presente na América Latina são provenientes do Brasil [3].

PCM foi confirmada em 27% dos municípios brasileiros, causando internação em 4,3 por um milhão de habitantes e é tida como a oitava causa mais frequente de morte por doença infecciosa e parasitária crônica [4].

A PCM também apresenta índices elevados em alguns países da América Latina, como Brasil, Argentina, Venezuela, Colômbia e Equador [5]. O número de casos que ocorrem nestes países varia de 1 a 3 por 100.000 habitantes, implicando diretamente nos aspectos sociais e econômicos, visto que acomete o indivíduo no período mais produtivo da vida, com longo período de tratamento, podendo ser observado sequelas na maioria das vezes [6].

As espécies de *Paracoccidioides* sp. são termodimórficas e podem ser encontradas na forma micelial em solo e vegetais, e na forma leveduriforme, a temperatura de 37 °C em tecidos infectados [7]. Possui o ar como veículo de dispersão de seus esporos, que quando inalados, se instalam nos pulmões, cujo período de incubação pode variar de um mês a muitos anos [3].

A PCM se expressa como uma pneumopatologia ligada a lesões mucosas e cutâneas, que quando instalado nos pulmões, se transforma para forma leveduriforme. A partir do parênquima pulmonar poderá se disseminar via corrente sanguínea e sistema linfático para outros órgãos, como baço, fígado, osso e sistema nervoso central [8]. A fase primária da infecção envolve normalmente indivíduos jovens, como doença pulmonar limitada, que dificilmente progride para o estado agudo/subagudo da doença, diferente dos casos crônicos, nos quais os indivíduos apresentam longos períodos de latência e que durante sua reativação é observado acometimento pulmonar e/ou de outros órgãos [9].

Na forma aguda/subaguda há um predomínio em crianças, adolescentes e jovens adultos, com menor duração da sintomatologia e acometimento dos nódulos linfáticos, fígado, baço, medula óssea e, raramente, acometimento pulmonar e mucosa oral, diferente do observado na forma crônica, com predomínio em pacientes adultos com mais de 30 anos, com longo período de sintomatologia e alta prevalência por envolvimento pulmonar e mucosas [10]. A doença pode ser unifocal, com acometimento de um único órgão ou multifocal com acometimento de vários órgãos [11].

Dentro do gênero *Paracoccidioides* existem cinco espécies descritas, *Paracoccidioides brasiliensis* (antigo grupo filogenético S1) com suas duas populações crípticas S1a e S1b, *Paracoccidioides americana* (antigo grupo filogenético PS2), *Paracoccidioides restrepiensis* (antigo grupo filogenético PS3) *Paracoccidioides venezuelensis* (antigo grupo filogenético PS4) e *Paracoccidioides lutzii* (antigo Pb01) (TURISSINI et al., 2017). As espécies *P. restrepiensis* e *P. venezuelensis* são geograficamente encontradas na Colômbia e Venezuela, e *P. brasiliensis*, *P. americana* e *P. lutzii* são amplamente distribuídos pela América Latina [13].

O diagnóstico padrão ouro na identificação de *Paracoccidioides* sp. é através da visualização microscópica do fungo feito em material fresco, biópsia ou isolamento e identificação com crescimento fúngico por cultura do material clínico, sendo observado como múltiplas leveduras em brotamento ao redor da célula mãe (com aspecto de roda de leme) de parede birrefringente [14].

As técnicas imunodiagnósticas baseadas na detecção dos antígenos do fungo ou anticorpos do paciente tem sido de grande importância para diagnóstico, sendo muito utilizado as glicoproteínas de 43 kDa (gp43), 70 kDa (gp70), kDa 27 (gp27) e 150 kDa (gp150) apresentando variação nas reações com soro de pacientes com PCM [15]. As glicoproteínas 43 kDa, 70 kDa e kDa 27 são conhecidas por serem altamente específicas no diagnóstico de PCM, apresentando reação em 90% de pacientes com PCM [2, 16, 17, 18,].

Técnicas moleculares têm sido utilizadas como ferramenta no diagnóstico de diversas doenças fúngicas, possuindo resultados rápidos e eficientes [19]. No intuito de identificar e diferenciar as espécies de *Paracoccidioides* spp. em amostras clínicas, tem-se utilizado *primers* com base em sequências específicas do gene do fungo, como gp43, gp27 e ITS 1 e 2, específico para *P. brasiliensis*, e o gene HSP 70, específico para *P. lutzii* [16, 20, 21, 22]. O diagnóstico rápido e preciso da paracoccidioidomicose é necessário para o início efetivo e específico da terapia, prevenindo assim, danos e sequelas aos pacientes acometidos [14].

Com o aumento dos casos de PCM nas últimas décadas, houve a necessidade de inovação nas técnicas de diagnóstico, pois métodos tradicionais têm demonstrado serem poucas sensíveis e/ou muito demorado para fechar diagnóstico rápido e fidedigno. Diante disso, este trabalho objetivou realizar uma revisão sistemática dos artigos que utilizaram métodos tradicionais e moleculares no diagnóstico de PCM no Brasil.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

Trata-se de uma revisão sistemática com foco na identificação de estudos abordando diagnóstico em amostras clínicas de Paracoccidiodomicose no Brasil, conforme as bases nas diretrizes disponíveis no guia Preferred Reporting Intems for Systematic Review and MetaAnlyses (PRISMA) [23].

Foram empregadas as plataformas de bases científica Google Acadêmico, Science Direct, Pubmed, Scopus e Scielo com os descritores: molecular diagnosis of paracoccidioides in Brazil, molecular diagnosis of paracoccidioides in clinical specimens in Brazil em inglês, português e espanhol, entre os anos de 1956 a 2019. Apenas artigos publicados em inglês, português ou espanhol foram utilizados na pesquisa propósito da revisão. Os critérios de inclusão dos artigos nesta revisão foram os estudos com descrição do método para diagnóstico de paracoccidiodomicose no Brasil. Quanto aos critérios de exclusão, os seguintes estudos foram considerados inadequados a esta revisão: artigos de revisão, abordando métodos moleculares que não seja de espécimes clínicos, trabalhos com pacientes de outros países e trabalhos que utilizaram amostras previamente diagnosticadas. As informações a cerca dos diagnósticos contidas em todos os trabalhos foram reunidas e sistematizadas em planilha do Excel, com o objetivo de reunir informações sobre sexo, idade, localização geográfica, número de casos e método de diagnóstico, no intuito de descrever os resultados.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 RESULTADOS

Com posterior busca dos artigos utilizando os descritores acima mencionados, foram obtidos um total de 6.750 registros e foram distribuídos da seguinte forma: 6.300 registros da base Google Acadêmico, 367 registros na base Science Direct, 48 registros da base Pubmed, 21 registros na base Scielo e 20 registros na base Scopus. Entre todos os registros encontrados, foram realizadas leituras dos títulos no intuito de identificar a duplicidade de trabalhos, obtendo assim, 750 artigos. Todos os trabalhos que abordavam a utilização de métodos analisando amostras de solo, aerossol, animais, trabalhos que utilizavam apenas amostras clínicas de pacientes previamente diagnosticados ou que não mencionava a metodologia para diagnóstico dos pacientes, foram excluídos, alcançando assim, 201 artigos. Destes 201 artigos, apenas 40 continham as informações utilizadas como parâmetros neste trabalho (sexo, idade, localização geográfica, número de casos e método de diagnóstico) podendo então ser utilizadas nesta revisão sistemática (Figura 1).

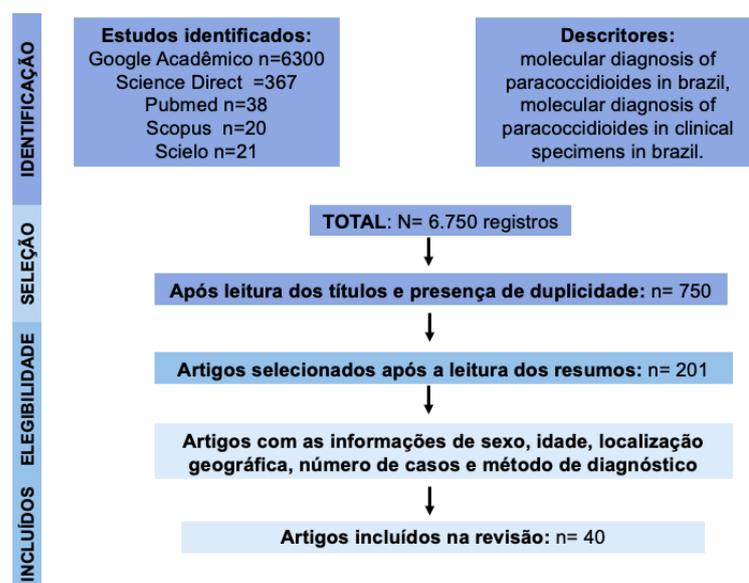


Figura 1. Fluxograma da seleção de artigos para Revisão Sistemática sobre aplicação das técnicas de diagnóstico da Paracoccidiodiomicose no Brasil.

Após a análise dos 40 artigos selecionados, foi observado que no Brasil é empregado basicamente cinco técnicas de diagnóstico para a paracoccidiodiomicose, as técnicas histopatológicas (47,12%), seguido do exame direto (18,39%), PCR (12,64%), sorologia (11,49%) e cultura do material clínico (10,34%). Para os exames sorológicos utilizaram-se com maior frequência a técnica de imunodifusão 80%, seguida da técnica de Elisa 10% e Inclusão de contra-imunoeletroforese 10%. Para análise, pode-se utilizar uma variedade de amostras clínicas, como linfonodos, secreção de úlcera, pus de lesão, nódulos cervicais, escarro, esfregaço da lesão, biópsia e sangue (Figura 2).

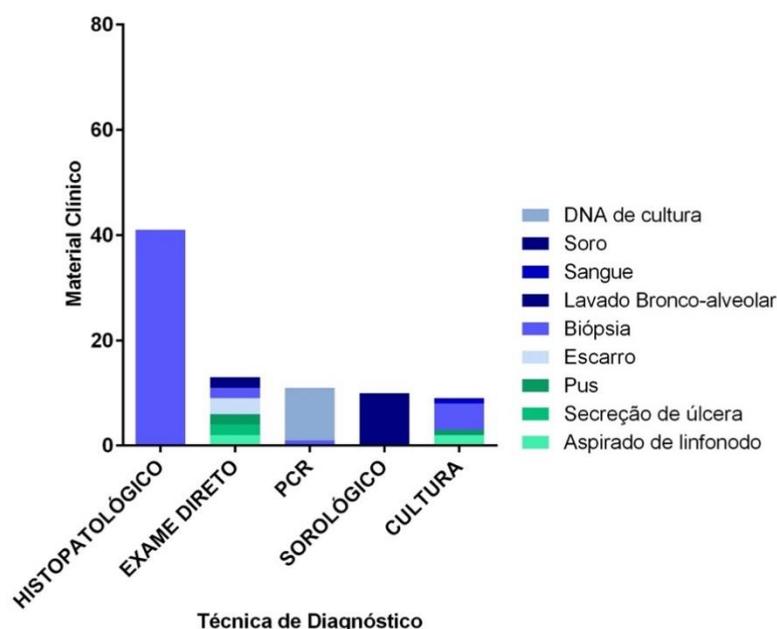


Figura 2. Métodos de diagnóstico e material clínico utilizados para detectar a paracoccidioidomicose no Brasil.

Os estados que apresentaram maiores casos de PCM foram: São Paulo, Rio de Janeiro e Minas Gerais. Estado de São Paulo (25,80%) apresentou relatos em oito municípios, como Ribeirão Preto (1), Monte Castelo (1) Campinas (1), Piracicaba (1), Itapeçerica da Serra (1), São Manuel (1) e em um caso não foi mencionado o município e em outro é apenas retratado como interior de São Paulo. O Estado do Rio de Janeiro é relatado seis casos (19,35%), nos municípios de Itaipava (2), São José do Vale do Rio Preto (1), São João de Meriti (1), Rio de Janeiro (1) e Casimiro de Abre (1) e o Estado de Minas Gerais com três relatos (9,67%), nos municípios de São Sebastião do Paraíso (1), São Sebastião do Maranhão (1) e São José das Letras (1). Mato Grosso apresentou dois casos (6,45%), Vila Rica (1) e Indianópolis (1) e Mato Grosso do Sul apresenta um caso (3,22%), no qual não se descreve o município de origem. Pernambuco (3,22) – Recife, Espírito Santo (3,22%) -Santa Maria do Jequitibá e Paraná (3,22%)-Londrina, apresentaram respectivamente um caso de paracoccidioidomicose cada (Figura 3).

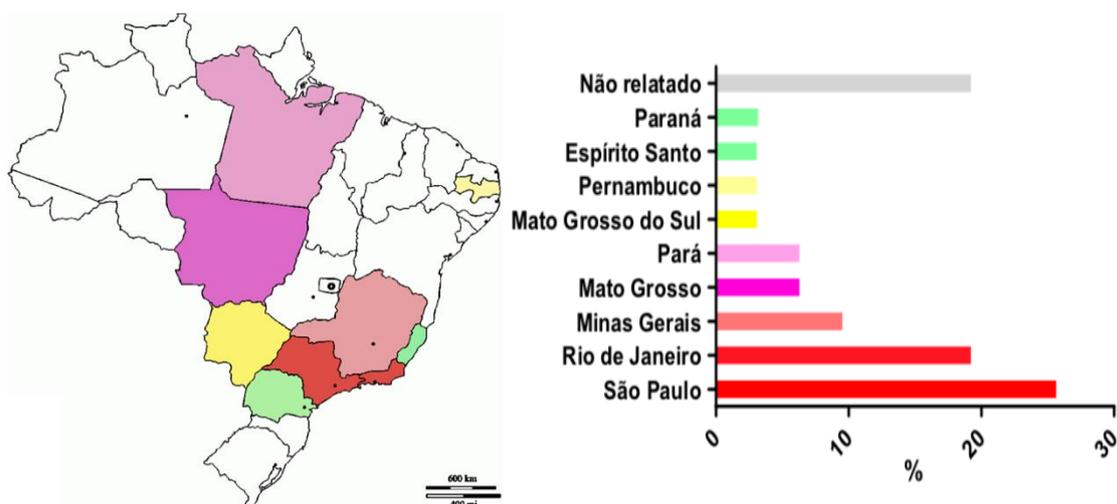


Figura 3 Distribuição de caso de Paracoccidioidomicose (PCM) por Estados no Brasil.

Em relação à distribuição de casos por sexo e faixa etária, é evidente a maior incidência de PCM no sexo masculino na faixa etária de 41 a 51 anos de idade, seguido de 11-20 anos e 51-60 anos. A maior incidência de PCM no sexo feminino foi entre os 31-40 anos de idade. Em 27 casos não foram relatadas as idades dos pacientes (Figura 4).

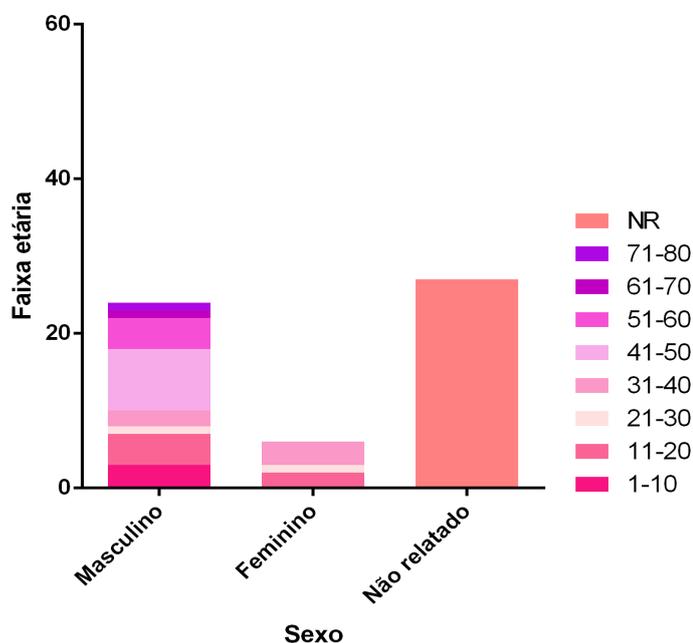


Figura 4. Distribuição de casos de Paracoccidioidomicose por sexo e faixa etária no Brasil.

3.2. DISCUSSÃO

Nesta revisão foi verificado que a técnica mais empregada foi a histopatológica, seguido de exame direto, PCR, sorologia e por último, cultura do material clínico.

A técnica histopatológica permite a fragmentação do tecido oriundo de biopsia e tem sido aliada no diagnóstico patológico de PCM, podendo evidenciar a micromorfologia e reação tecidual, com visualização das células fúngica em brotamento arredondadas, esférico ou oval com dupla membrana birrefringente ligados à célula mãe, com vasto granuloma compacto, repleto de células epitelióides contendo fungos [24]. Por mais que seja invasiva e traumática ao paciente, a histopatologia possui elevada sensibilidade ao diagnóstico de PCM, pois se bem realizada, contribui na visualização do patógeno e seu diagnóstico [25]. Mas sempre que possível, deve-se aliar o diagnóstico histopatológico ao cultivo micológico, para que possa esclarecer e obter diagnóstico definitivo [26].

Os exames diretos das amostras clínicas representaram o segundo método mais utilizado com 18,35%, possivelmente por oferecem resultados anteriores a cultura do material, que demanda tempo para haver o crescimento em meio de cultura, sendo considerado rápido, de fácil leitura, específico e sensível [27]. Este exame baseia-se em avaliar microscopicamente o material clínico, entre lâmina e lamínula, com a ajuda de reagentes e/ou corantes para a visualização das estruturas fúngicas, podendo muitas vezes ser conclusivo no diagnóstico de PCM, mas que sozinho, nem sempre é suficiente a visualização e identificação do fungo [26].

A técnica de reação em cadeia da Polimerase (PCR) foi a terceira metodologia mais utilizada no diagnóstico de PCM, representando 12,6%, demonstrando possuir elevada taxa de sensibilidade e especificidade, na qual a reação pode amplificar regiões do gene específico do DNA ribossômico 28S, gene ribossômico 5.8S (rRNA), espaçadores internos transcritos (ITS) 1 e 2, ARF, GP43, GP27 e HSP 70 [21, 17]. Os trabalhos obtidos nesta revisão utilizaram duas regiões para amplificação, a glicoproteína gp43 e o fator de ribosilação de ADP parcial (arf), que são sequência de genes suficientemente capaz de diferenciar as espécies de *Paracoccidioides* sp. [13].

É notório que o diagnóstico de certeza com visualização do agente etiológico através das técnicas histológicas, exame a fresco ou cultivo é de grande ajuda, mas nem sempre é possível obter acesso ao local da lesão, impossibilitando a coleta do material para análise [28]. A dificuldade na demonstração do agente etiológico, aliada ao difícil crescimento na fase micelial e sua confirmação na reversão para a forma leveduriforme, faz das técnicas sorológicas uma opção para diagnóstico de PCM [18]. Nesta revisão, a sorologia foi à quarta metodologia mais utilizada (12,60%) com o uso das técnicas de Imunodifusão dupla (80%), ELISA (10%) e contra-imunoeletroforese (10%), sendo útil no diagnóstico de PCM, em especial quando não se é possível a visualização das células de *Paracoccidioides* sp. [29].

A imunodifusão dupla (DID) tem sido o método de escolha entre os métodos sorológicos no diagnóstico de PCM e único validado, sendo simples, baixo custo e importante no monitoramento, com especificidade de 65% e sensibilidade de 100% dependendo da glicoproteína utilizada [30].

O uso de glicoproteínas específicas no diagnóstico de PCM é essencial, pois se tem relato que o uso da glicoproteína gp43 da espécie de *Paracoccidioides brasiliensis* na técnica de imunodifusão, tem demonstrando sensibilidade e especificidade de 97% e 100% [18].

Além da glicoproteína gp43, foi verificado por *immunoblotting* que 90% dos soros de pacientes com PCM reagem com componente de 70 kDa, do gene gp70, e que após o tratamento com antifúngicos, as titulações de anti-gp70 diminuam, podendo assim ser utilizada como marcador para doença [31].

No entanto, a sorologia possui a desvantagem devido ao falso-positivo em indivíduo imunocomprometido ou co-infectados com outras micoses [3]. Além disso, os avanços no conhecimento da caracterização do gênero de *Paracoccidioides* se conheceu uma maior complexidade na utilização da sorologia, pois níveis baixos ou a ausência de expressão do gp43 pelo sistema imunológico do indivíduo, pode levar a imprecisão no diagnóstico sorológico [32].

O cultivo do agente etiológico é essencial para o diagnóstico de infecções fúngicas, permitindo isolamento do agente causador e garantindo sua identificação, sendo este o padrão ouro no diagnóstico micológico [33]. Nesta revisão, a cultura do material clínico representou apenas (10,3%), sendo o método menos relatado, possivelmente por apresentar lento crescimento fúngico, demorando 2-4 semanas para apresentar algum resultado [17]. Outro fato, é a dificuldade do crescimento fúngico na fase micelial e por ser um fungo dimórfico, se faz necessário haver a reversão para a forma leveduriforme, e assim, a confirmação do agente etiológico de PCM [18].

Neste trabalho, foi possível verificar o Estado de São Paulo Rio de Janeiro e Minas Gerais com o maior número de casos de PCM, seguidos de Mato Grosso, Pará, Mato Grosso do Sul, Espírito Santo e Paraná. Este achado corrobora com a literatura, pois a região sudeste do Brasil, incluindo São Paulo, Rio de Janeiro, Minas Gerais e Espírito Santo, são áreas que apresentam um importante histórico de alta endemicidade da doença, onde o Rio de Janeiro possui o maior número de hospitalizações por PCM no Brasil [13].

Os dados obtidos nesta revisão confirmam o Estado de São Paulo com um dos maiores índices de PCM no Brasil [3]. A incidência anual de PCM no Estado de São Paulo e Rio de Janeiro tem sido de 0,96 e 0,71 respectivamente, e entre os anos de 1980 e 1990 a incidência

na região de Ribeirão Preto-SP, variou de 1,5 a 3,7 casos/100.000 habitantes/ano [34] O Estado de Mato Grosso e Mato Grosso do Sul são conhecidos por apresentar elevada endemicidade, sendo retratado na literatura que entre os anos de 1980 e 1999 houveram 422 casos, cerca de 22,2 casos por ano [35, 36].

Com relação ao caso que ocorreu em Pernambuco, a literatura relata que existem poucos casos na região nordeste do Brasil, devido ao clima semi-árido que dificulta a sobrevivência do fungo no ambiente. Entretanto, com a variedade de biomas brasileiros e a migração humana por estes biomas, o cenário epidemiológico tem mudado [13].

Esta revisão aponta a maior incidência de PCM no sexo masculino (42,1%), em comparação com o sexo feminino (10,5%), sendo a faixa etária de 41 a 50 anos a mais frequente para homens e para as mulheres a faixa de 31 a 40 anos de idade, dados estes que corroboram com outros estudos, sendo descrito a maior incidência de PCM entre homens com 30 a 50 anos, e incidência de 10 a 15 homens para 1 mulher [3, 24, 29, 37].

Esta menor incidência no sexo feminino pode estar relacionando a resistência a infecção de *Paracoccidioides* sp. devido modulação hormonal, pois o hormônio estradiol inibe a transformação da forma micelial para a forma leveduriforme, essencial para a infecção, sugerindo assim, que o complexo proteína-estradiol modula a expressão da proteínas de *Paracoccidioides* sp., não observado no hormônio testosterona, mais encontrado no homem [38].

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O método mais utilizado para diagnóstico de PCM tem sido histopatológico. A maior quantidade de casos tem sido relatada no sudeste do Brasil, especificamente São Paulo e Rio de Janeiro, com maior incidência no sexo masculino entre faixa etária de 51-60 anos.

REFERÊNCIAS

[01] PAZ, G.S.; ADORNO, B.M.V.; RICHINI-PEREIRA, V.B.; BOSCO, S.M.G.; LANGONI, H. Infection by *Histoplasma capsulatum*, *Cryptococcus* spp. And *Paracoccidioides brasiliensis* in bats collected in urban areas. **Transboundary and Emerging Diseases**, v. 65, n.6, p. 1797-1805, 2018.

[02] ROCHA-SILVA, F., GUIMARÃES, C. F., JÚNIOR, E. R. O., FIGUEIREDO, S. M., CALIGIORNE, R. B. Disseminated paracoccidioidomycosis prediagnosed as neoplasm: Na importante challenge in diagnosis using rt-PCR. **Medical Mycology Case Reports**, v. 19, p.1-5, 2018.

[03] SHIKANAI-YASUDA, M. A.; MENDES, R.P.; COLOMBO, A.L.; QUEIROZ-TELLES, F. KONO, A.S.G.; PANIAGO, A.M.M.; NATHAN, A.; VALLE, A.C.F.; BAGAGLI, E.; BENARD, G.; FERREIRA.; M.S.; TEIXEIRA.; M.M.; SILVA-VERGARA, M.L.; PEREIRA.; R.M.; CAVALCANTE.; R.S.; HAHN, R.; DURLACHER, R.F.; KHOURY.Z.; CAMARGO, Z.P.; MONETTI, M.L.L.; MARTINEZ, R.. Brazilian guidelines for the clinical management of paracoccidioidomycosis. **Revista Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 50, n. 5, p 715-740, 2017.

[04] KRYCYK, F. M.; GARCES, H. G.'BOSCO, S. M.; OLIVEIRA, S.; MARQUES, S. A.; BAGAGLI, E. Ecology of *Paracoccidioides brasiliensis*, *P. lutzii* and related species: infection in armadillos, soil occurrence and mycological aspects. **Medical Mycology**, v. 56, n. 8, p. 950-962.

[05] RUAS, L. P.; GENARO, L.M.; JUSTO-JUNIOR, A.S.; COSER, L.O.; CASTRO, L.F.; TRABASSO, P.; MAMONI, R.L.; ROQUE-BARREIRA ,M.C.; BLOTTA, M.H.S.L. Effect of artinM on human blood cells during infection with *Paracoccidioides brasiliensis*. **Frontiers In Microbiology**, v. 9, p. 867, 2018.

[06] SCORZONI, L.S.; LUCAS, M.P.; SINGULANI,J.L.; OLIVEIRA, H.C.; ASSATO, P.A.; FUSCO-ALMEIDA, A. M.; MENDES-GIANNINI, M.J.S. Evaluation of *Caenorhabditis elegans* as a host model for *Paracoccidioides brasiliensis* and *Paracoccidioides lutzii*. **Pathogens And Disease**, v.76, n.1, p. pty004, 2018.

[07] CAMACHO, E.; NIÑO-VEGA, G.A. *Paracoccidioides* spp.: virulence factors and immune-evasion strategies. **Mediators of Inflammation**, v. 2017, n. 19, p. 1-13, 2017.

[08] SILVA, J.F.; OLIVEIRA, H.C.O.; MARCOS,C.M.; ASSATO, P.A.; FUSCO-ALMEIDA, A.M.; GIANNINI, M.J.S.M. Advances and challenges in paracoccidioidomycosis serology caused by *Paracoccidioides* species complex: na update, v.84, n.1, p. 87-94, 2016.

[09] MASSI, L. S.; DALL BELO, A.G.; D'AZEVEDO, P.A.;SEVERO, L.C. Diagnóstico molecular de paracoccidioidomicose associada à tuberculose em amostras de escarro. **Clinical and Biomedical Research**, v. 36, n. 3, p. 142-147, 2016.

[10] LEVORATO, A.D.; MORIS, D.V.; CAVALCANTE, R.S.; SYLVESTRE, T.F.;AZEVEDO, P.Z.; CARVALHO, L.R.C.; MENDES, R.P. Evaluation of the hepatobiliary system in patients with paracoccidioidomycosis treated with cotrimoxazole or itraconazole. **Medical Mycology**, v.56, n.5, p. 531-540, 2018.

[11] MARTINS, P. H. R. **Análise Proteômica de *Paracoccidioides* sp. isolado de um caso de Fungemia**. (Dissertação) Mestrado em Genética e Biologia Molecular -Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2014.

[12] TURISSINI, D. A.; GOMEZ, O, M.; TEIXEIRA, M. M.; MCEWEN, J.; MATUTE, D. R. Species boundaries in the human pathogen *Paracoccidioides*. **Fungal Genetics and Biology**, v. 106, p.9-17, 2017.

[13] MACEDO, P. M.; TEIXEIRA, M.M. BARKER, B.M.; ZANCOPÉ-OLIVEIRA, R.M.; ALMEIDA-PAES, R.; VALLE, A.C.F. Clinical features and genetic background of the

sympatric species *Paracoccidioides brasiliensis* and *Paracoccidioides americana*. **Neglected Tropical Diseases**, v. 13. N.4, p. e007309, 2019.

[14] FERREIRA, C. S.; RIBEIRO, E.M.C.; GOES, A.M.; SILVA, B.M. Current strategies for diagnosis of paracoccidioidomycosis and prospects of methods based on gold nanoparticles. **Future Microbiology**, v.11, n.7, p. 87-94, 2016.

[15] NAGASHIMA, L. A.; MASSUDA, T. Y. C.; OBA, L.; KAMINAMI, M. S.; ITANO, E. N. Análise de soros de pacientes com paracoccidioidomicose por Western Blotting. **Biosaúde**, n. 6, n. ½, p.37-46, 2014.

[16] GOMES, G. M.; CISALPINO, P.S.; TOBORDA, C.P.; CAMARGO, Z.P. PCR for diagnosis of Paracoccidioidomycosis. **American Society for Microbiology**, v.38, n.9, p. 3478-3480, 2000.

[17] GUAVIRIA, M.; RIVERA, V.; MUÑOS-CADAVID, C.; CANO, L.E.; NARANJO, T.W. Validation and clinical application of a nested PCR for paracoccidioidomycosis diagnosis in clinical samples from Colombian patients. **Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 19, n.4, p. 376-383, 2015.

[18] DA-SILVA, J.F.; OLIVEIRA, H.C.O.; MARCOS,C.M.; ASSATO, P.A.; FUSCO-ALMEIDA, A.M.; GIANNINI, M.J.S.M. Advances and challenges in paracoccidioidomycosis serology caused by *Paracoccidioides* species complex: na update, v.84, n.1, p. 87-94, 2016.

[19] SAN-BLES, G.; NIÑO-VEGA, G.; ITURRIAGA, T. *Paracoccidioides brasiliensis* and paracoccidioidomycosis: Molecular approaches to morphogenesis, diagnosis, epidemiology, taxonomy and genetics. **Medical Mycology**,v.40, n.3, p. 225-242, 2002.

[20] SANO, A.; YOKOYAMA, K.; TAMURA, M.; MIKAMI, Y.; TAKAHASHI, I.; FUKUSHIMA, K.; MIYAJI, M.; NISHIMURA, K. Detection of gp43 and ITS1-5.8s-ITS2 Ribosomal RNA gene of *Paracoccidioides brasiliensis* in Paraffin-embedded tissue. **Nippon Ishinjin Hakkai Zasshi**, v.42, n. 1, p. 23-27, 2001.

[21] ENDO, S.; KOMORI, R.; RICCI, G.; SANO, A.; YOKOYAMA, K.; OHORI, A.; KAMEI, L.; FRANCO, M.; MOYAJI, M.; NISHIMURA, K. Detection of gp43 of *Paracoccidioides brasiliensis* by the loop-mediated isothermal amplification (LAMP) method. **FEMS Microbiology Letters**, v.234, n. 1, p. 93-97, 2004.

[22] TEIXEIRA, M. M.; THEODORO, R.C.; OLIVEIRA, F.F.M.; MACHADO, G.C.; HAHN, R.C.; BAGAGLI, E.; SAN-BLAS, G.; FELIPE, M.S.S. *Paracoccidioides lutzii* sp. nov.: biological and clinical implications. **Medical Mycology**, v.52, n.1, p.19-28, 2013.

[23] SHAMSEER, L.; MOHER, D.; CLARKE, M.; GHERSI, M.; LIDERATI, A.; PETTICREW, P.S.; STEWART, L.A. Preferred reporting items for systematic review and meta-analysis protocols (PRISMA-P) 2015: elaboration and explanation. **BMJ**, v. 349, p. g7647, 2015.

[24] RICCI, C.D.; EVANGELISTA, C.; TOMAZ, B.C.A.; SILVA, M.V.'BARBO, M.L.P. Paracoccidioidomycose: forma crônica cutânea. **Revista da Faculdade de Ciências Médicas de Sorocaba**, v. 20, n. 1, p. 51-4, 2018.

- [25] MELO, R.R.G.; LIMA, L.C.N.; LEHNEN JR, C.A. Blastomicose de laringe. **Jornal Brasileiro de Medicina**, v.70, n. (1/2), p.81-82, 1996.
- [26] XAVIER, M. O.; OLIVEIRA, F. M.; SEVERO, L. C. Diagnóstico Laboratorial Das Micoses Pulmonares. **Jornal Brasileiro de Pneumologia**, v. 36, n. 9, p. 907-919, 2009.
- [27] BRASIL, K.W., PINHEIRO, R.L.; PIMENTEL, I.C. Laboratory diagnosis of superficial and cutaneous mycosis: a comparison of the potassium hydroxide and calcofluor white methods. **Anais Brasileiro de Dermatologia**, v. 78, n. 5, p. 547-551, 2003.
- [28] FERREIRA-DA-CRUZ, M.F.; FRANCESCONI-DO-VALE, A.C.; ESPINERA, M. C.D.; WANKE, B.T.; GALVAO-CASTRO, B. Study of antibodies in paracoccidioidomycosis: follow-up of patients during and after treatment. **Journal of Medical and Veterinary Mycology**, v. 28, n.2, p.151-157, 1990.
- [29] CAMARGO, Z. P.; BERZAGHI, R.; AMARAL, C.C.; SILVA, S.H.M. Simplified method for producing *Paracoccidioides brasiliensis* exoantigens for use in immunodiffusion tests. **Medical Mycology**, v. 41, n. 6, p. 439-542, 2003.
- [30] BERTONI, T.A.; TAKAO, E.K.H.; DIAS, J.R.C.; SVIDZINSKI, T.I.E. Paracoccidioidomycose e tuberculose: Diagnóstico diferencial. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 46, n. 1, p. 17-21, 2010.
- [31] MARICATO, Juliana Terzi. Clonagem e caracterização do gene que codifica a glocoproteína de 70 kDa (gp70) de *Paracoccidioides brasiliensis*. Tese (Doutorado em Ciências). Escola Paulista de Medicina, São Paulo, Sp.
- [32] PUCCIA, R.; MCEWEN, J. G.; CISALPINO, P. S. Diversity in *Paracoccidioides brasiliensis*. The pbGP43 gene as genetic marker. **Mycopathologia**, v. 165, n. 4-5, p. 275, 2008.
- [33] AYATS, J., MARTÍN-MAZUELOS, E., PEMÁN, J., QUINDÓS, G., SÁNCHEZ, F., GARCÍA-RODRÍGUEZ, J., GUARRO, J., GUINEA, J., LINARES, M. M., PONTÓON, J., RODRÍGUES-TUDELA, J. L., CUENTA-ESTRELLA, M. Recomendaciones sobre el diagnóstico de la enfermedad fúngica invasora de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC). **Enfermedad Infecciosa y Microbiología Clínica**, v. 29, n.1, p. 1-15, 2011.
- [34] MARTINEZ, R. New trends in paracoccidioidomycosis epidemiology. **Journal of Fungi**, v. 3, n. 1, p.1, 2017.
- [35] PANIAGO, A. M. M., AGUIAR, J. I. A, AGUIAR, E. S., CUNHA, R. V., PEREIRA, G. R. O. L., LONDERO, A. T., WANKE, B. Paracoccidioidomycose: Estudo Clínico e epidemiológico de 422 casos observados no Estado de Mato Grosso do Sul. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 36, n. 4, p. 455-459, 2003.
- [36] VERLI, F. D., MARINHO, S. A., SOUZA, S. C., FIGUEIREDO, M. A. Z., YURGEL, L. A. Perfil clínico-epidemiológico dos pacientes portadores de paracoccidioidomycose no Serviço de Estomatologia do Hospital São Lucas da Pontifícia Universidade Católica do Rio

Grande do Sul. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 38, n. 3, p. 234-237, 2005.

[37] BOER, S.J.B.; CAMARGO, W.R. Oral manifestations of papiloma and paracoccidioidomycosis: case report. **Revista Uningá**, v. 20, n.1, p. 72-75, 2014.

[38] SIFUENTES-OSORNIO, J.; CORZO-LEÓN, D. E.; PONCE-DE-LEÓN, L. A. Epidemiology of invasive fungal infections in Latin America. **Current Fungal Infection Reports**, v. 6, n. 1, p. 23-34, 2012.