

UNIVERSIDADE LUSÓFONA DE HUMANIDADES E TECNOLOGIAS

ESCOLA DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIAS DA SAÚDE

Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

Trabalho Final de Mestrado

MICOSES SISTÉMICAS

SARA JOSÉ GUIOMAR PALMEIRA

Orientadora: Professora Doutora Anabela Vilarés

Lisboa, 2014

UNIVERSIDADE LUSÓFONA DE HUMANIDADES E TECNOLOGIAS

ESCOLA DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIAS DA SAÚDE

Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

Trabalho Final de Mestrado

MICOSES SISTÉMICAS

SARA JOSÉ GUIOMAR PALMEIRA

Orientadora: Professora Doutora Anabela Vilarés

Dissertação apresentada à
Universidade Lusófona de
Humanidades e Tecnologias para a
obtenção do Grau de Mestre em
Ciências Farmacêuticas.

Lisboa, 2014

Resumo

Este trabalho teve como objetivo a análise das micoses sistêmicas, no que respeita à sua identificação, morfologia dos agentes patogénicos que lhes dão origem, onde são endémicas, os sintomas que apresentam, os métodos de diagnóstico e as terapêuticas disponíveis para cada patologia.

As micoses sistêmicas são infeções causadas por fungos patogénicos primários que têm o trato respiratório como porta de entrada, e a partir daí podem disseminar-se por todo o organismo.

Os agentes antifúngicos são usados no tratamento destas infeções, em que, no caso das infeções sistêmicas, predominam o uso de cetoconazol (polieno), fluconazol e itraconazol (azóis). Existem ainda estudos que demonstram que as vacinas atenuadas podem ser usadas na profilaxia destas infeções.

Com este trabalho conclui-se que as infeções fúngicas estão longe de ser extintas, uma vez que se verifica cada vez mais a existência de resistências por parte dos fungos aos fármacos, sendo o diagnóstico e a terapêutica usada dois parâmetros fundamentais para um tratamento eficaz.

Palavras-chave: Micoses Sistêmicas, Fungos Dimórficos, Blastomicose, Histoplasmosse, Coccidioidomicose, Paracoccidioidomicose, Criptococose, Antifúngicos.

Abstract

This study aimed to analyze the systemic mycoses, with regard to their identification, morphology of pathogens that give rise to them, where they are endemic, presenting symptoms, diagnostic methods and treatments available for each pathology.

Systemic mycoses are infections caused by pathogenic fungi that have primary respiratory tract as a gateway, and from there can spread throughout the body.

Antifungal agents are used in treatment of infections, that in the case of systemic infections are predominant use of ketoconazole (polyene), fluconazole and itraconazole (azoles). There are also studies showing that the attenuated vaccines can be used in the prophylaxis of these infections.

With this work it was concluded that the fungal infections are far from being extinguished, since it appears increasingly existence of resistance by fungi to drugs, and diagnostic and therapeutic use two key parameters for effective treatment.

Keywords: Systemic Mycoses, Dimorphic Fungi, Blastomycosis, Histoplasmosis, Coccidioidomycosis, Paracoccidioidomycosis, Cryptococcosis, Antifungals.

Agradecimentos

Esta dissertação representa o fim de um ciclo de cinco anos com muito trabalho, estudo e dedicação. Apesar de ser um trabalho de autoria pessoal, só foi possível realizá-lo através da contribuição de algumas pessoas, sendo que, é a estas que aqui deixo o meu agradecimento.

À professora doutora Anabela Vilarés, orientadora da minha dissertação, agradeço toda a disponibilidade, ajuda e orientação dada.

À professora doutora Maria Helena Ângelo, agradeço pela ajuda inicial na orientação do trabalho.

Ao Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge pela informação dispensada.

À minha mãe Francisca, um agradecimento muito especial, sem ela nada na minha vida seria possível, é o exemplo a seguir. Ao meu pai Joaquim e à minha irmã Mariana Inês agradeço toda a força e apoio. Obrigada família por tudo o que são e que fizeram por mim.

A todos os meus colegas de curso, agradeço toda a companhia, entreajuda e amizade. Os meus agradecimentos especiais à Joana Borralho e à Ana Rita Nunes.

Abreviaturas, Símbolos

α – Alfa

DNA – Ácido Desoxirribonucleico

RNA – Ácido Ribonucleico

β – Beta

CO₂ – Dióxido de Carbono

TNF- α – Fator de Necrose Tumoral Alfa

h – Hora

Ca²⁺ - Ião Cálcio

K⁺ - Ião Potássio

Na⁺ - Ião Sódio

IL – Interleucina

INF- γ – Interferão Gama

IV – Intravenosa

Kg – Kilograma

$\geq$ - Maior ou Igual

μm – Micrómetro

mg – Miligrama

mm – Milímetro

SIDA – Síndrome da Imunodeficiência Adquirida

SNC – Sistema Nervoso Central

Th – T Helper

Var. – Variante

HIV – Vírus da Imunodeficiência Humana

5-FU – 5- Fluorouracilo

Índice

Resumo	2
Abstract	3
Agradecimentos.....	4
Abreviaturas, Símbolos.....	5
Índice de Figuras	8
Índice de Tabelas	9
1. Introdução.....	10
2. Conceitos gerais de micologia	12
2.1. Fungos	12
2.2. Características Gerais dos Fungos.....	13
2.3. Estrutura fúngica	13
2.4. Nutrição e metabolismo.....	14
2.5. Crescimento Fúngico.....	15
2.6. Reprodução.....	15
2.6.1. Reprodução Assexuada.....	16
2.6.2. Reprodução Sexuada	17
2.7. Taxonomia dos Fungos	20
2.7.1. Zigomicota	20
2.7.2. Ascomicota	20
2.7.3. Archiasmicota	21
2.7.4. Basidiomicota	21
2.7.5. Deuteromicota.....	21
3. Classificação das Micoses Humanas.....	22
3.1. Micoses Superficiais, Cutâneas e Subcutâneas	22
3.2. Micoses oportunistas.....	23
3.3. Micoses Sistêmicas.....	23
4. Micoses Sistêmicas	23
4.1. Blastomicose	24
4.1.1. Morfologia do <i>Blastomyces dermatitidis</i>	24
4.1.2. Epidemiologia	24

Sara José Guiomar Palmeira
Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas
Micoses Sistémicas

4.1.3. Manifestações Clínicas	26
4.1.4. Diagnóstico	26
4.2. Coccidioidomicose.....	27
4.2.1. Morfologia do <i>Coccidioides immitis</i> / <i>C. posadasii</i>	28
4.2.2. Epidemiologia	28
4.2.3. Manifestações Clínicas	29
4.2.4. Diagnóstico	30
4.3. Histoplasmoze.....	31
4.3.1. Morfologia do <i>Histoplasma capsulatum</i>	31
4.3.2. Epidemiologia	32
4.3.3. Manifestações clínicas	33
4.3.4. Diagnóstico	34
4.4. Paracoccidioidomicose	35
4.4.1. Morfologia do <i>Paracoccidioides brasiliensis</i>	36
4.4.2. Epidemiologia	36
4.4.3. Manifestações Clínicas	37
4.4.4. Diagnóstico	38
4.5. Criptococose	38
4.5.1. Morfologia do <i>Cryptococcus neoformans</i>	39
4.5.2. Epidemiologia	40
4.5.3. Manifestações Clínicas	41
4.5.4. Diagnóstico	42
5. Terapêutica Antifúngica Usada no Tratamento das Micoses Sistémicas.....	42
5.1. Polienos	44
5.1.1. Anfotericina B	44
5.2. Azóis	47
5.2.1. Imidazol: Cetoconazol.....	49
5.2.2. Triazóis	50
5.3. Outras Terapêuticas.....	52
5.4. Perspetivas Futuras.....	54
6. Conclusão.....	56
Bibliografia.....	57

Índice de Figuras

Figura 1 - Estrutura de um cogumelo	12
Figura 2 - Esquema da Reprodução Sexuada e Assexuada dos Fungos.....	18
Figura 3 - Esquema da Classificação Taxonómica dos Fungos	22
Figura 4 - Ciclo natural da infeção por <i>Blastomyces dermatitidis</i>	25
Figura 5.1 - Células leveduriformes do <i>B. dermatitidis</i>	27
Figura 5.2 - Forma de bolor do <i>B. dermatitidis</i>	27
Figura 6 - Ciclo de vida do <i>Coccidioides immitis</i>	29
Figura 7 - Tecido pulmonar com Coccidioidomicose. Esférula de <i>C. immitis</i>	31
Figura 8 - Ciclo de vida do <i>Histoplasma capsulatum</i>	33
Figura 9.1 - Fase saprófita do <i>Histoplasma capsulatum</i>	35
Figura 9.2 - Estruturas leveduriformes intracelulares de <i>Histoplasma capsulatum</i>	35
Figura 10 - Ciclo do <i>Paracoccidioides brasiliensis</i> , fase saprófita e de levedura	37
Figura 11 - <i>Paracoccidioides brasiliensis</i> em forma de levedura; múltipla gemulação	38
Figura 12 - Ciclo da infeção com <i>Cryptococcus neoformans</i>	41
Figura 13 - Preparação com tinta da china em que se observa <i>Cryptococcus neoformans</i> com uma cápsula grande	42
Figura 14 - Fármacos antifúngicos adicionados ao longo dos anos ao tratamento das infeções fúngicas	43
Figura 15 - Estrutura química da Anfotericina B	45
Figura 16 - Mecanismo de ação da Anfotericina B	47
Figura 17 - Mecanismo de ação dos Azóis.....	48
Figura 18 - Estrutura química do Cetoconazol	49
Figura 19 - Estrutura química do Fluconazol	50
Figura 20 - Estrutura química do Itraconazol.....	51
Figura 21 - Estrutura química do Flucitosina	52

Índice de Tabelas

Tabela 1 - Regime terapêutico recomendado para as micoses sistêmicas.....	53
--	----

1. Introdução

Os fungos são microorganismos eucariotas, desprovidos de clorofila, e que se reproduzem por esporos. Distinguem-se dos outros eucariotas por terem uma parede celular rígida com quitina e glucano, e uma membrana celular em que o ergosterol é o principal componente de esterol. Encontram-se amplamente distribuídos pela natureza.

A classificação clássica destes microorganismos baseia-se na sua morfologia e a forma como se reproduzem. Assim, existem fungos unicelulares que são chamados de leveduras e, fungos pluricelulares ou filamentosos ou bolores.

Existem fungos que são patogénicos para o Homem ou animais que são chamados de fungos dimorfos. Estes apresentam-se na forma pluricelular, ou filamentosa, no ambiente, e alteram esta forma quando atingem o hospedeiro, tornando-se unicelular ou leveduriforme. São estes fungos que causam a maioria das micoses sistémicas.

A incidência das infeções fúngicas invasivas tem vindo a aumentar ao longo do tempo devido, principalmente, ao número crescente de doentes com fatores de risco para estas infeções.

As micoses são infeções causadas por fungos, e podem classificar-se segundo o local de infeção: micoses superficiais, cutâneas, subcutâneas, oportunista e sistémicas.

Este trabalho incide sobre as micoses sistémicas, que são infeções fúngicas que têm os pulmões como local primário da infeção, dando-se posteriormente a disseminação da infeção via hematogénica ou linfática. A contaminação é feita através da inalação de esporos e são as infeções fúngicas mais graves.

O conhecimento destas infeções torna-se importante uma vez que afetam áreas geográficas específicas e estão ligadas à imunodeficiência adquirida, o que é uma preocupação para a população.

Assim, o presente trabalho é focado nas principais micoses sistémicas, blastomicose, coccidioidomicose, histoplasmosse, paracoccidioidomicose e criptococose, na morfologia dos agentes patogénicos, epidemiologia, manifestações clínicas, diagnóstico e tratamento.

Esta dissertação está dividida em seis capítulos, constituindo a introdução o primeiro. O segundo capítulo integra os conceitos gerais de micologia, onde se elucidam as seguintes temáticas: as características gerais dos fungos; a estrutura fúngica; a nutrição e metabolismo; o crescimento fúngico; a reprodução sexuada e assexuada e a taxonomia dos fungos.

O terceiro capítulo destina-se à classificação das micoses humanas, que podem ser superficiais, cutâneas e subcutâneas, oportunistas e/ou sistêmicas. O quarto capítulo refere-se às micoses sistêmicas, onde são apresentadas as patologias de blastomicose, coccidioidomicose, histoplasmoze, paracoccidioidomicose, criptococose e as respetivas características, como a morfologia dos agentes patogénicos, a epidemiologia, as manifestações clínicas e o diagnóstico.

A terapêutica antifúngica usada no tratamento das micoses sistêmicas é o tema que corresponde ao quinto capítulo. Neste estão descritos os antifúngicos polienos, mais precisamente, a anfotericina B; azóis, como o imidazol cetaconazol e os triazóis fluconazol e itraconazol; bem como outras terapêuticas, flucitosina; e por fim, perspectivas futuras sobre novos fármacos em estudo.

O sexto capítulo trata a conclusão do trabalho.

2. Conceitos gerais de micologia

A Micologia é a ciência que estuda os fungos, e a palavra deriva do latim *fungus* que significa cogumelo. Os cogumelos foram, durante muitos anos, os únicos fungos conhecidos, tendo sido os primeiros fungos microscópicos observados por Leeuwenhoek (figura 1).^[1]

A Micologia médica é o ramo da microbiologia que estuda os fungos com capacidade de causar doença no organismo humano e/ou animal.^[2]

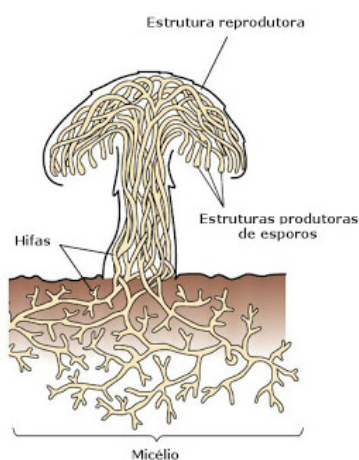


Figura 1 - Estrutura de um cogumelo. (Fonte: <http://www.mundobiologia.com/>)

2.1. Fungos

Os fungos são um grupo de organismos que têm como principal finalidade a decomposição de matéria orgânica. Estes são heterotróficos, podendo ser saprófitos, organismos que vivem da matéria morta ou em declínio, simbioses, organismos que vivem juntamente com outros sendo benéfico para ambos, comensais, organismos que vivem em estreito relacionamento em que apenas um se beneficia desta relação, ou parasitas, organismos que vivem sobre ou dentro de um hospedeiro no qual estes têm benefícios, como por exemplo os fungos patogénicos em que o relacionamento é prejudicial para o hospedeiro.^[2]

Os fungos surgiram como uma das principais causas de doenças no homem, principalmente em indivíduos imunocomprometidos ou hospitalizados, em que existem doenças subjacentes. Estes organismos causam mortalidade e morbilidade consideráveis, pois atuam como agentes patogénicos oportunistas. A lista de fungos patogénicos oportunistas tem aumentado, pois a incidência global de micoses

invasivas específicas continua a aumentar com o tempo. Assim, *não existem fungos não patogénicos*. O aumento das infeções fúngicas pode dever-se ao número crescente de pacientes imunocomprometidos, inclusive transplantados, indivíduos com Síndrome de Imunodeficiência Adquirida (SIDA), doentes com cancro ou submetidos a tratamento com quimioterapia. ^[2]

2.2. Características Gerais dos Fungos

No sistema de classificação em cinco reinos, os fungos ocupam um reino exclusivo, o reino Fungi. Estes são organismos eucariotas, sem clorofila e que se reproduzem por esporos. Distinguem-se dos restantes eucariotas pelo facto de possuírem uma parede celular rígida, composta por quitina e glucanos e uma membrana celular em que o colesterol é substituído por ergosterol como o principal componente esteroide. ^[1,2]

A taxonomia fúngica clássica baseia-se na morfologia e no método de produção de esporos. ^[2]

Os fungos podem ser unicelulares ou pluricelulares. Em relação à morfologia, os fungos são classificados como leveduras ou bolores, em que as leveduras, fungos unicelulares, podem ser definidas, em relação à sua morfologia, como células que se reproduzem, por gemulação ou fissão. Por outro lado, os fungos filamentosos ou pluricelulares são vulgarmente conhecidos por bolores. ^[1,2]

2.3. Estrutura fúngica

A estrutura vegetativa ou somática de um fungo define-se como talo. Nos fungos filamentosos, pluricelulares, o talo é constituído por filamentos, hifas, que originam os micélios, enquanto, que nos fungos unicelulares o soma é formado por uma única célula. Tanto nos fungos pluricelulares como nos unicelulares, o talo é envolvido por uma parede celular rígida que lhe confere a forma. ^[1,2]

O protoplasma, nos fungos filamentosos, pode ser contínuo e multinucleado constituindo as hifas assetadas ou cenocíticas. Nestas hifas surgem, ocasional e irregularmente, septos sem poros ou septos totais que têm função protetora. Enquanto, que nas hifas septadas o citoplasma é interrompido regularmente, por invaginações interiores da parede, formando septos (dividem as hifas em compartimentos ou células), os quais são perfurados, permitindo a passagem do

citoplasma e dos seus organitos. Este é um dos critérios mais importante na classificação dos fungos. ^[1,2]

A composição química da parede é outra característica dos diferentes grupos taxonómicos. Os principais constituintes químicos da parede são os polissacarídeos associados a proteínas e lípidos. Numa análise química observa-se a presença de quitina e glucanos nos fungos septados e leveduriformes, e uma mistura de quitina e quitosano associados a ácidos glucorónicos, nos fungos assetados. ^[1,2]

A membrana citoplasmática dos fungos contém lípidos, glicoproteínas e essencialmente ergosterol (esteroide mais importante). ^[1,2]

Alguns fungos patogénicos humanos, podem apresentar-se sobre a forma unicelular quando parasitam o hospedeiro, e sobre a forma de filamentos quando crescem como saprófitas (absorvem nutrientes de matéria orgânica morta ou em decomposição). Estes fungos chamam-se dimorfos. Esta diferenciação faz-se em resposta a alterações de fatores ambientais, tais como a temperatura, os nutrientes, a tensão de CO₂ e os potenciais de oxidação-redução. O *Histoplasma capsulatum*, o *Sporothrix schenckii*, o *Blastomyces dermatitidis* e *Penicillium marneffe* são alguns exemplos de fungos patogénicos específicos, dimórficos. ^[1,2]

2.4. Nutrição e metabolismo

Os fungos são organismos heterotróficos, ou seja, obtém a sua energia a partir da oxidação de compostos orgânicos carbonados, como por exemplo, a glucose. ^[1,2]

A maioria são organismos aeróbios, mas aqueles que obtém energia através de processos de fermentação, como algumas leveduras, são designados de anaeróbios. ^[1,2]

De modo geral, os fungos são saprófitas, uma vez que se desenvolvem a partir de matéria orgânica morta ou à superfície de células vivas, sem lhe causarem quaisquer danos. ^[1,2]

Os fungos parasitas desenvolvem-se “à custa” de outro organismo vivo, no qual produzem lesões. Entre estes estão os fungos que parasitam os vegetais, como o *Helminthosporium oryzae*. Nos parasitas humanos encontram-se, entre outros, o

Cryptococcus neoformans, *Histoplasma capsulatum*, *Sporothrix schenckii*, *Blastomyces dermatitidis* e *Coccidioides immitis*.^[1,2]

Os fungos que vivem em associação com outro organismo vivo, resultando um benefício mútuo, são os fungos simbiotes, como por exemplo os líquenes (são fungos associados a algas).^[1,2]

2.5. Crescimento Fúngico

O desenvolvimento das hifas dá-se pelo alongamento do seu topo ou zona apical e por ramificação lateral. Quando estas crescem pelo alongamento da zona apical, verifica-se a acumulação de vesículas citoplasmáticas no ápice da hifa, sugerindo a implicação destas no crescimento fúngico. Existem estudos que indicam que estas vesículas (provenientes do complexo de golgi) fundem-se com a membrana citoplasmática apical e libertam os seus conteúdos que contribuem para o alongamento da hifa. Sabe-se ainda que há vesículas que contêm enzimas responsáveis pela destruição das ligações parietais, como a quitinase, a celulase e a β -1,3-glucanase, existem ainda outras vesículas, semelhantes a quitosomas, que transportam enzimas que intervêm na síntese da parede celular, como a quitina sintase e glucano sintetase, e por fim, existem ainda vesículas que têm alguns dos precursores da parede celular, como as monoproteínas. É através destas vesículas que o ápice da hifa pode ter plasticidade específica, o que permite a intervenção das enzimas de síntese e a inserção de alguns componentes pré-formados, originando um aumento ou extensão da superfície apical da parede fúngica.^[1,2]

Quando há acumulação de volume crítico ou excessivo de citoplasma na zona apical, ocorre ramificação. É nesta altura que o núcleo se alonga e divide, havendo formação de um septo que separa a célula em duas. Na célula subapical (penúltima célula) forma-se uma ramificação para onde migram o citoplasma e o núcleo.^[1,2]

2.6. Reprodução

Os fungos podem reproduzir-se por gemulação, por alongamento da hifa ou por formação de esporos.^[1,2]

A reprodução por formação de esporos pode ser por esporos sexuais, são produzidos pela fusão de dois gametas - reprodução sexuada, e esporos assexuais-

reprodução assexuada (Figura 2). Os fungos podem utilizar, simultaneamente, os dois modos de reprodução, ou cada um deles isoladamente. ^[1,2]

Os fungos podem ainda reproduzir-se por reprodução vegetativa, onde não são necessárias estruturas reprodutoras específicas, e em que uma pequena parte da hifa é capaz de dar origem a um novo micélio em meio próprio. Estes fungos são denominados de *Mycelia sterilia*. ^[1,2]

2.6.1. Reprodução Assexuada

A reprodução assexuada repete-se várias vezes por ano, sendo a reprodução mais importante para a propagação da espécie. O estado anamorfo é a definição do estado assexuado ou imperfeito dos fungos. ^[1,2]

Os esporos assexuados podem formar-se de duas formas:

- 1) Dentro de estruturas unicelulares, dando origem a endósporos ou esporangiósporos. ^[1,2]

Os esporangiósporos são produzidos no interior do esporângio, estrutura semelhante a um saco, em que o citoplasma é convertido por clivagem em um ou mais esporos. Estes esporangiósporos podem ser móveis providos de um ou dois flagelos que lhes confere mobilidade e denominam-se zoósporos, ou imóveis denominando-se de aplanósporos. Os fungos patogénicos para o Homem encontram-se neste último grupo. ^[1,2]

Os endósporos ou esporangiósporos, são produzidos por fungos filamentosos assexuados, em que a classificação se baseia na morfologia das diferentes estruturas reprodutivas. Como por exemplo a estrutura do esporângio, do esporangiósporo, hifa diferenciada- que suporta o esporângio e, em alguns casos, da columela, estrutura estéril que se forma no interior do esporângio e separa a região esporulante ou fértil da não esporulante. ^[1,2]

Nos fungos que pertencem ao género *Rhizopus*, os filamentos podem formar os rizoides, que são ramificações curtas e em forma de raiz, que servem para a obtenção de alimento ^[1,2]

Os esporangiósporos são produzidos, principalmente, por fungos que pertencem ao filo ou divisão dos Zigomicota, nomeadamente pelos géneros *Mucor*, *Rhizopus* e *Absidia*.^[1,2]

- 2) Externamente a partir do soma fúngico, dando origem a exósporos ou conídios.^[1,2]

Os conídios são produzidos pelas células conidiogêneas, que podem estar assentes nos conidióforos e são característicos dos fungos septados, responsáveis por micoses humanas. Estes são produzidos por fungos que pertencem às divisões Ascomicota e Basidiomicota e à classe Deuteromycetes. A conidiogénese pode ocorrer por dois processos: conidiogénese tálica e a conidiogénese blástica.^[1,2]

Na conidiogénese tálica ocorre a conversão de um elemento pré-existente da hifa fértil em conídio.^[1,2]

Na conidiogénese blástica a hifa fértil ou a célula conidiogénea começa a originar um rebento mais ou menos esférico, que dará origem ao novo conídio, blastósporo, por individualização pelo septo. Caso a célula conidiogénea esteja isolada e não fizer parte de um sistema micelar, o processo chama-se de gemulação.^[1,2]

2.6.2. Reprodução Sexuada

A forma sexuada ou perfeita de um fungo é também chamada de forma teleomorfa, a qual é constituída por três fases distintas: plasmogamia, cariogamia e meiose. Na plasmogamia, ocorre a união dos protoplasmas de duas células sexualmente compatíveis, originando uma única célula com dois núcleos, a célula dicariótica. Na cariogamia, dá-se a fusão dos dois núcleos e obtém-se um zigoto diploide. Este zigoto acaba por sofrer uma meiose, e devolver o carácter haploide às quatro células formadas, as quais posteriormente podem sofrer uma ou mais mitoses.^[1,2]

As hifas têm a capacidade de se diferenciarem em órgãos sexuais macho e fêmea, e de se reproduzirem sexualmente sem ajuda de outro talo, estes fungos são denominados homotáticos. Os fungos heterotáticos são auto-estéreis, logo, necessitam de um outro fungo que seja sexualmente compatível para se reproduzirem sexuadamente.^[1,2]

A forma sexuada ou perfeita de um fungo é também chamada de forma teleomorfa.^[1,2]

Nas divisões Zigomicota, Ascomicota e Basidiomicota, os fungos que se reproduzem sexuadamente são classificados, consoante as estruturas reprodutoras a que dão origem. Aqueles em que se conhece apenas a reprodução assexuada pertencem à classe Deuteromicetes, no entanto se algum dia for observada a sua forma sexuada estes serão transferidos para os Ascomicota ou Basidiomicota. ^[1,2]

2.6.2.1. Zigomicota

A divisão Zigomicota inclui os fungos que se reproduzem sexuadamente por zigósporos (esporos sexuais formados dentro de zigosporângios). ^[1,2]

Duas hifas originárias de um mesmo talo, homotáticas, ou de talos diferentes, heterotáticas, ao encontrarem-se desenvolvem ramificações, zigósporos. Dois zigósporos compatíveis vão transformar-se em gametângios, quando na presença um do outro. Estes dão origem ao prozigosporângio ou zigosporângio jovem, após plasmogamia, que é sustentado por duas hifas, suspensores. O prozigosporângio vai aumentar o seu volume, a espessura das suas paredes e dá origem ao zigosporângio que contém um único núcleo diploide, o zigósporo. Este, por sua vez, sofre meiose, germina e origina esporangióforos e esporângios (Figura 2). ^[1,2]

Os géneros *Rhizopus*, *Mucor*, *Absidia* e *Cunninghamella* são alguns exemplos de fungos patogénicos para o homem que se reproduzem por zigósporos. ^[1,2]

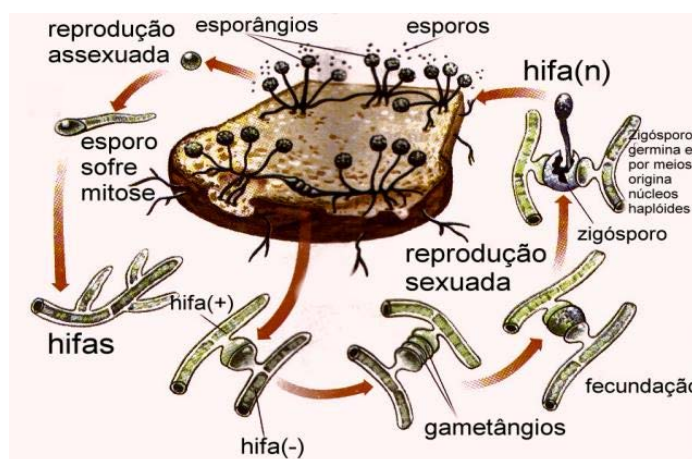


Figura 2 - Esquema da Reprodução Sexuada e Assexuada dos Fungos. (Fonte: <http://www.mundobiologia.com/>)

2.6.2.2. Ascomitoca

Nesta divisão estão agrupados os fungos cuja reprodução se faz por ascósporos. Os ascomicetes encontram-se no interior de estruturas com a forma de sacos, ascos. A produção de ascósporos pode ser realizada por vários processos. No entanto o mais comum é aquele em que o micélio se diferencia em gametângios masculinos, anterídios, e femininos, ascogónios, em condições favoráveis. Estes dois órgãos ao unirem-se vão permitir a passagem dos núcleos machos para o ascogónio. Os núcleos provenientes das duas células não se fundem imediatamente, as células dispõem-se lado a lado e acabam por se isolar em diferentes hifas ascogéneas, dicarióticas, contendo cada uma um par de núcleos provenientes dos respectivos progenitores. Enquanto a hifa ascogénea se alonga e a sua célula terminal toma a forma característica de ansa, estes núcleos sofrem sucessivas mitoses. Em seguida, formam-se dois septos que dividem a ansa em três células. As células terminais são mononucleadas, em que uma contém um núcleo anteridial e, a outro um núcleo proveniente do ascogónio. A célula intermediária, que é binucleada, vai ser o próximo asco, sendo denominada de célula mãe do asco. Pois, é nesta que se dá a cariogamia, com formação do zigoto, seguida de meiose. Os quatro núcleos que se obtêm no fim, que podem ou não sofrer mitose, vão ser envolvidos por uma parede e originar ascósporos maduros. A maioria dos fungos patogénicos para o Homem produz oito ascósporos por asco. Os ascos podem ser originados livremente ou estarem retidos em estruturas específicas que são os ascocarpos.^[1,2]

Os fungos que fazem parte desta divisão, e têm interesse clínico, raramente produzem ascos em primocultura. Deste modo, a sua caracterização é feita com base no seu estado amorfo ou assexuado, ou seja, na observação de hifas septadas e no estudo dos conídios e da sua ontogénese, na observação de leveduras, conforme se trate de fungos filamentosos ou leveduriformes. Contudo, existem alguns Ascomycota capazes de produzirem com facilidade os esporos característicos do seu estado teleomorfo. Este processo é o que acontece com certos dermatófitos e com alguns dimorfos responsáveis por micoses sistêmicas.^[1,2]

2.6.2.3. Basidiomicota

Este filo é constituído por todos os fungos que se reproduzem sexualmente por basidiósporos.^[1,2]

Quando ocorre fusão de duas células uninucleadas de micélios sexualmente compatíveis, há a formação de uma célula binucleada, em que, os núcleos são separados pela formação de ansas de conexão. Os núcleos dividem-se mitoticamente e a ansa de conexão funde com a hifa inicial, originando uma hifa apical polinucleada. A formação de um septo entre os quatro núcleos dá origem a duas células binucleadas. Este processo ao repetir-se sucessivamente gera o micélio secundário ou dicariótico (característico dos Basidiomicota).^[1,2]

A célula apical deste micélio secundário origina o basídio que contém quatro basidiósporos resultantes da cariogamia e da meiose do zigoto. Um fator importante na classificação destes fungos é a forma muito variável do basídio.^[1,2]

2.7. Taxonomia dos Fungos

A taxonomia fúngica clássica baseia-se na morfologia comparativa das estruturas sexuais. Segundo Wanda Ferreira et al, “hoje em dia esta classificação está a ser revista, tendo em atenção os resultados obtidos pela aplicação das técnicas de sequenciação dos ácidos nucleicos e, muito especialmente, a dos genes do RNA ribossomal”.^[1]

Os fungos que não têm reprodução sexuada conhecida são classificados na divisão Deuteromicota.^[1]

Deste modo, o reino Fungi está dividido em cinco filos: Zigomicota, Ascomicota, Archiasmicota, Basidiomicota e Deuteromicota (Figura 3).^[2]

2.7.1. Zigomicota

Neste filo agrupam-se os fungos saprófitas do solo e parasitas dos mamíferos e plantas. As hifas são amplas, cenocíticas, a sua reprodução assexuada faz-se por aplanósporos, a reprodução sexuada normalmente, faz-se por fusão de isogametângios de onde resulta os zigosporângios que contêm um zigósporo.^[1,2]

2.7.2. Ascomicota

Esta divisão integra fungos saprófitas, simbiontes e parasitas do Homem, do animal e das plantas. Nestes, o soma pode ser unicelular, mas na maioria é filamentoso e

septado. A reprodução assexuada é por conídios e sexuada por ascósporos produzidos em ascos. ^[1,2]

2.7.3. Archiasmicota

O Archiasmicota é uma classe nova e recentemente descrita para incluir um organismo isolado do Homem, anteriormente considerado um protozoário, *Pneumocystis jiroveci*. Estudos moleculares revelaram uma maior semelhança com os fungos. Este organismo existe numa forma vegetativa, trófica, que se reproduz assexuadamente por fissão binária. A reprodução sexuada dá-se pela fusão de dois tipos compatíveis que levam à formação de uma estrutura com esporos no seu interior e que na maturidade contém oito esporos. ^[1,2]

2.7.4. Basidiomicota

O filo Basidiomicota é constituído por fungos saprófitas, simbiontes e parasitas, em que o soma pode ser unicelular ou formado por micélio septado. Neste caso, os septos têm a forma especial e característica de barril e designam-se de doliporos. Podem também ter estrutura de levedura. ^[1,2]

A sua reprodução sexuada faz-se por basidiósporos implantados em basídios, cujas formas e tipos são importantes na taxonomia. ^[1,2]

Muitos destes fungos produzem os seus basídios em basidiocarpos. ^[1,2]

2.7.5. Deuteromicota

Este filo inclui fungos que podem ser saprófitas, simbiontes ou parasitas. O seu soma pode ser unicelular ou filamentoso septado. Nestes apenas se conhece um tipo de reprodução, a assexuada, que se faz através de conídios provenientes de diferentes células conidiogéneas. Estas células e o tipo de conídios são dois elementos importantes no posicionamento taxonómico destes fungos. ^[1,2]

Apesar de não se conhecer reprodução sexuada, a maioria das suas características identificam-nos com os Ascomicota. ^[1,2]

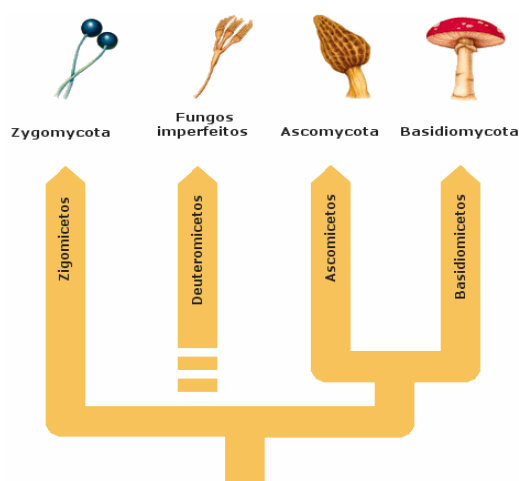


Figura 3 - Esquema da Classificação Taxonômica dos Fungos. (Fonte: <http://www.cientic.com/>)

3. Classificação das Micoses Humanas

As infecções fúngicas ou micoses podem ser classificadas de acordo com os tecidos infetados, assim como pelas características específicas do grupo dos organismos. ^[1,2]

Micose é uma infecção causada por fungos. Estas podem classificar-se como: micoses superficiais, cutâneas, subcutâneas, sistêmicas e oportunistas. ^[1,2]

3.1. Micoses Superficiais, Cutâneas e Subcutâneas

As infecções fúngicas da pele e das estruturas cutâneas são muito comuns, e são classificadas como estruturas que os fungos invadem ou colonizam.

As micoses superficiais são limitadas às camadas mais externas da pele e do cabelo. Estas infecções podem ou não provocar uma reação imune por parte do hospedeiro, pois são assintomáticas.

As micoses cutâneas são infecções das camadas mais profundas da epiderme e dos seus tegumentos, do cabelo e das unhas. Estas são causadas por fungos dermatófitos, que originam dermatofitoses, e fungos não- dermatófitos, que dão origem a dermatomicoses. ^[1,2]

As micoses subcutâneas envolvem a derme, os tecidos subcutâneos e o músculo. ^[2]

3.2. Micoses oportunistas

As micoses oportunistas são infeções causadas por fungos que são normalmente comensais humanos ou ambientais, e que em indivíduos com o sistema imunitário comprometido causam infeção. ^[2]

3.3. Micoses Sistémicas

As micoses sistémicas são infeções que têm origem nos pulmões e que se podem disseminar para todos os órgãos ou tecidos. Os principais agentes etiológicos desta infeção são fungos dimórficos. ^[2]

4. Micoses Sistémicas

O tema deste trabalho é as micoses sistémicas e é sobre elas que vai incidir.

As micoses sistémicas são infeções em que a infeção primária é nos pulmões e, posteriormente, difunde-se pela corrente sanguínea.

Os agentes etiológicos, mais comuns, deste tipo de infeção são fungos dimórficos, considerados patogénicos sistémicos primários, uma vez que causam infeção em hospedeiros imunocompetentes e imunocomprometidos, e também devido ao facto de envolverem as vísceras após a disseminação a partir dos pulmões. Os dimórficos patogénicos são: *Blastomyces dermatitidis*, *Coccidioides immitis*, *Coccidioides posadasii*, *Histoplasma capsulatum* var *capsulatum*, *H. capsulatum* var *duboisii*, *Paracoccidioides brasiliensis* e *Penicillium marneffei*. Estes fungos são, também, conhecidos como patogénicos endémicos, uma vez que o seu habitat natural são regiões geográficas específicas em que, a infeção gerada por estes é adquirida pela inalação de esporos naquele ambiente específico e naquela localização geográfica. A deteção destas micoses endémicas pode ser dificultado pelo fato de estas poderem apenas manifestar-se após o doente ter abandonado a área endémica. ^[2]

Além destes, temos ainda o *Criptococcus neoformans*, que é um fungo leveduriforme, com apetência pelo SNC, e atinge, especialmente, indivíduos com o sistema imunitário comprometido. Criptococose é a designação da doença causada pela infeção por este fungo. ^[1]

4.1. Blastomicose

Gilchrist foi quem descreveu pela primeira vez a blastomicose, atribuindo a doença a um protozoário. Mas logo em seguida determinou-se que este estava enganado e que o agente causador seria um fungo, e foi denominado de *Blastomyces*. Ao longo várias décadas, esta doença tornou-se conhecida por vários nomes, como Doença de Gilchrist e Doença Chicago. O nome Blastomicose Norte- Americana é usado para distinguir esta da Blastomicose Sul- Americana, causada pelo *Paracoccidioides brasiliensis*, uma vez que são clinicamente semelhantes. Até 1951, através da descrição detalhada da blastomicose patológica por Schwarz e Baum, descobriu-se que a maioria dos casos foi adquirida através do aparelho respiratório. [3]

A blastomicose é uma infeção fúngica causada pelo fungo dimórfico *Blastomyces dermatitidis*. Este fungo é endémico em certas partes dos Estados Unidos e Canadá, e pode causar infeção em indivíduos expostos. A infeção é adquirida através da inalação de conídios em aerossol e, a maioria dos infetados com infeção aguda são assintomáticos ou desenvolvem uma doença respiratória auto-limitada. A pneumonia crónica é a principal manifestação clínica da blastomicose, sendo que, a doença extrapulmonar é comum e normalmente envolve a pele e o tecido subcutâneo, ossos e articulações, a próstata e o SNC. [3]

4.1.1. Morfologia do *Blastomyces dermatitidis*

Blastomyces dermatitidis é um fungo dimórfico que em meio de cultura a 37 °C e no tecido encontra-se na forma de levedura não-encapsulada. As células leveduriformes são esféricas, hialinas, multinucleadas e com paredes espessas de contorno duplo. Estas células reproduzem-se por gemulação ou blastoconídios. [2]

Este fungo origina células filamentosas com cor branca a acastanhada, quando se encontra em meio de cultura a 25 °C. A forma de bolor produz conídios arredondados a ovais ou em forma de pera, localizados nos ramos das hifas longos ou curtos. Esta forma não permite o diagnóstico da doença. [2]

4.1.2. Epidemiologia

A matéria orgânica em decomposição é o ambiente ecológico mais adequado ao desenvolvimento da *B. dermatitidis*. [3]

Estudos no Homem e nos animais indicam que esta infeção é adquirida após a inalação de conídios em aerossóis produzidos pelo fungo (Figura 4).^[3]

A blastomicose continua a ser uma doença rara, com uma incidência global de 0,3 a 1,5 casos em cada 100000 em áreas endémicas.^[2]

É nos adultos que se verifica uma maior incidência desta infeção, e raramente ocorre nas crianças, mas atinge ambos os sexos. A probabilidade de exposição ao *B. dermatitides* é maior em pessoas que estejam mais tempo em contato com o solo, como pescadores, caçadores etc.^[23]

A área endémica da blastomicose, na América do Norte, inclui os estados do sudoeste e do centro-sul, os estados do meio oeste e as províncias canadenses, bem como uma área de Nova York. No entanto, já foram relatados casos autóctones em África e na Europa. Mas, sempre que se verificam infeções fora da sua área endémica, são consideradas três possíveis situações que possam explicar a presença do agente patogénico, em que a primeira consiste num erro de diagnóstico, pois os médicos podem não ter muita informação acerca desta doença, a segunda situação está relacionada com a transferência do fungo da área endémica para outras áreas, e por fim a doença pode dever-se a uma reativação endógena, que pode ocorrer depois da pessoa se ter deslocado dum local endémico para um não endémico.^[23]

Outros mamíferos também podem ser infetados, através de uma transmissão zoonótica de *B. dermatitides*. Esta infeção é rara, mas tem sido observada em associação com mordidas de cães, gatos e arranhões, bem como em autópsias de animais.^[4]

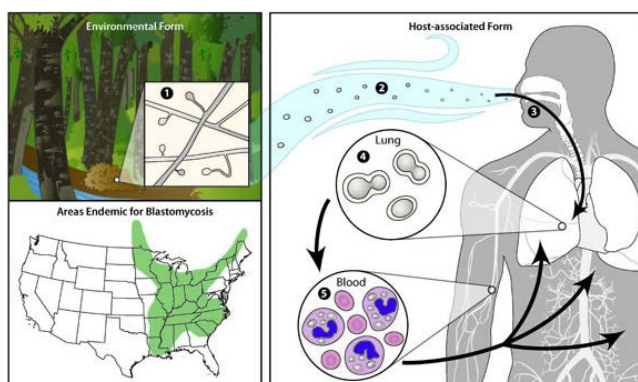


Figura 4 - Ciclo natural da infeção por *Blastomyces dermatitidis*. Legenda: 1- No ambiente, o *Blastomyces dermatitidis* está como forma de hifas aéreas septadas; 2- As hifas produzem esporos conidiais; 3- Os esporos são inalados ou inoculados na pele de um hospedeiro suscetível; 4- Uma vez que a temperatura dentro do hospedeiro é superior à ambiente, verifica-se a formação uma levedura por gemulação; 5- A levedura pode colonizar nos pulmões ou difundir-se na corrente sanguínea para outras partes do corpo. (Fonte: <http://www.cdc.gov/>)

4.1.3. Manifestações Clínicas

A blastomicose é uma doença sistémica com várias manifestações clínicas, pois qualquer órgão pode estar envolvido. As manifestações clínicas, são, relatadas em casos esporádicos ou, surtos em hospedeiros imunocompetentes ou imunocomprometidos, infetados por HIV e em crianças, nestas ultimas verificam-se com menor frequência. ^[2,3]

A blastomicose pulmonar pode ser assintomática ou apresentar-se como uma doença semelhante à gripe. ^[2,3]

A doença pode manifestar-se ao nível pulmonar ou extrapulmonar, sendo que a disseminação extrapulmonar pode exibir manifestações a nível da pele e dos ossos. A próstata, fígado, baço, rim, e SNC são outros locais onde poderão ocorrer manifestações clínicas. ^[2,3]

A infeção mais grave, blastomicose crónica, manifesta-se como uma pneumonia crónica. Os sintomas mais comuns são febre, perda de peso, tosse produtiva com expectoração purulenta e suores noturnos. Esta é a manifestação mais comum da blastomicose, sendo diagnosticada em 60% dos 90% dos casos com a doença confirmada. Esta é difícil de diferenciar da tuberculose e do cancro do pulmão, pois apresenta aglomerados de lesões pulmonares ou infiltrados fibrinodulares em imagem radiológica muito semelhante às outras patologias. ^[2,3,4]

A forma clássica, e que menos se verifica é a que envolve a pele, sendo esta resultado da disseminação por via hematogénica do pulmão, sem lesões pulmonares evidentes, em muitos dos casos. Nesta forma, as lesões podem ser postulares, papulares, verrucosas com crostas na superfície. Em geral, são indolores e localizam-se em áreas expostas, como a face, couro cabeludo, pescoço e mãos. Deste modo, pode ser confundida com carcinoma das células escamosas. Caso não seja tratada, a blastomicose cutânea pode ter uma evolução crónica com remissões, exacerbações e aumento gradual do tamanho das lesões. ^[2,3,4]

4.1.4. Diagnóstico

O diagnóstico da blastomicose é confirmado através do isolamento do *B. dermatitidis*, a partir de uma amostra clínica. ^[3]

Para tal, deve realizar-se uma cultura do material clínico em meio seletivo e não seletivo, e incubar a 25 °C e 30 °C e a 37 °C. A forma miceliar do fungo é cultivada a 25 °C e 30 °C, mas o crescimento é lento, demorando, muitas vezes, cerca de quatro semanas ou mais (figura 5.2). Esta forma não serve de diagnóstico, logo, a sua identificação deve ser confirmada pela sua conversão na forma de levedura a 37 °C (figura 5.1), pelo teste do exoantigénio, deteção imunológica do antígeno A libertado pelas células, ou por hibridação com sonda de ácidos nucleicos. [2,3]

O exame histopatológico é relevante no diagnóstico da blastomicose, pois no caso de culturas com resultados negativos, a observação de leveduras com gemulação de base larga e com uma parede celular dupla e retráctil, em amostra citológicas ou histológicas, é indicativo de *B. dermatitidis*. [2,3]

Os organismos não são encapsulados, o seu tamanho varia de 8 a 15 µm e a sua aparência é diferente na presença de hidróxido de potássio. No caso de doentes com pneumonia crónica ou tosse produtiva, os organismos são visualizados microscopicamente em cerca de 70% dos casos. [3,4]

Não existe nenhum teste de diagnóstico de rotina que seja sensível e de metodologia sorológica específica para este fungo. Os testes serológicos usados para detetar os anticorpos contra o antígeno A não são sensíveis nem específicos, o que faz com que sejam pouco utilizados no diagnóstico. [2,3]

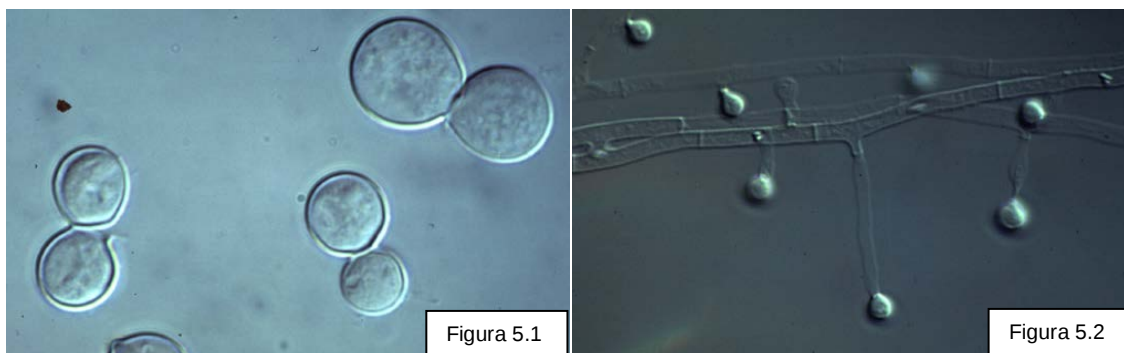


Figura 5.1 - Células leveduriformes do *B. dermatitidis*. (Fonte: <http://www.doctorfungus.org/>).
Figura 5.2 - Forma de bolor do *B. dermatitidis*. (Fonte: <http://www.doctorfungus.org/>).

4.2. Coccidioidomicose

A coccidioidomicose é uma infeção causada por duas espécies de *Coccidioides*, *C. immitis* e *C. posadasii*, sendo estas indistinguíveis. Esta micose é causada pela

inalação dos artroconídios infecciosos e a infeção pode ser assintomática, progressiva ou, até mesmo, mortal. [2,24]

As duas espécies de *Coccidioides* diferem no genótipo e na distribuição geográfica, uma vez que a *C. immitis* localiza-se na Califórnia e a *C. posadasii* fora da Califórnia. [2,24]

A febre do Vale São Joaquim e granuloma coccidioidal são sinónimos da coccidioidomicose. [2,24]

4.2.1. Morfologia do *Coccidioides immitis* / *C. posadasii*

Coccidioides immitis é um fungo dimórfico que existe na forma de bolor na natureza e em laboratório, quando cultivado a 25 °C como esférula endosporulada no tecido e sob condições específicas *in vitro*. [2,24]

Pode observar-se, várias morfologias do bolor, em cultura a 25 °C. Inicialmente, esta cultura apresenta cor branca a cinza, aspeto húmido e o seu crescimento ocorre em cerca de 3 a 4 dias. As colónias maduras ficam acastanhadas ou cor púrpura azulada. [2,24]

As hifas vegetativas dão origem a hifas férteis que produzem, frequentemente, artroconídios hialinos. Com o envelhecimento, as hifas vegetativas também originam artroconídios. [2,24]

Quando inalados, os artroconídios, com diâmetro de 2,5 µm a 4 µm, ficam com forma arredondada e convertem-se em esférulas no pulmão. Após a maturidade, as esférulas vão produzir endósporos por clivagem progressiva. Este rompimento leva a que sejam libertados endósporos e que estes originem novas esférulas. [2,24]

As hifas ramificadas septadas e os artroconídios podem ser produzidos nas cavidades pulmonares quando está associada a coccidioidomicose. [2,24]

4.2.2. Epidemiologia

A coccidioidomicose é endémica no sudoeste dos Estados Unidos, norte do México e em áreas dispersas da América Central e do Sul, uma vez que *C. immitis* cresce no solo. A exposição aos artroconídios infecciosos é maior no final do verão e outono, uma vez que os períodos de chuva intensa e os períodos sem chuva intensificam a

dispersão do organismo. A chuva intensa facilita o seu crescimento no solo devido aos resíduos azotados, e os períodos secos sem chuva, favorecem a formação dos artroconídios (figura 6).^[2,5]

A infecção ocorre, em maioria, nas pessoas com idade superior a 60 anos, após a inalação dos artroconídios em áreas endêmicas. A incidência da coccidioidomicose tem aumentado ao longo dos anos para cerca de 40 em 100000 habitantes por ano.^[2,5]

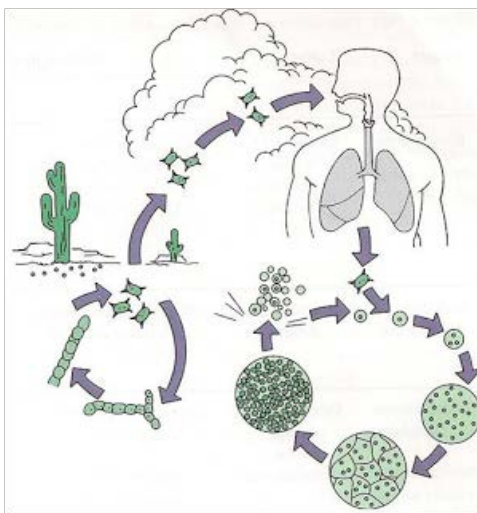


Figura 6 - Ciclo de vida do *Coccidioides immitis*. (fonte: Murray, P., Rosenthal, K. Pfealler, M., *Microbiologia Médica*, 5ª Ed, Elsevier, Rio de Janeiro, 2006).

4.2.3. Manifestações Clínicas

Após exposição ao fungo, a maioria das pessoas não desenvolvem sintomas, ou podem ter sintomas semelhantes aos da gripe, com febre, tosse, dor torácica e perda de peso, pode dizer-se que desenvolvem coccidioidomicose primária. Os infetados com esta forma de coccidioidomicose podem ter uma reação alérgica devido à formação de imunocomplexo, o que inclui a erupção macular eritomatosa, eritema multiforme e eritema nodoso. A doença primária não necessita de terapêutica e confere uma imunidade específica à reinfeção, que é detetada pelo teste cutâneo.^[2,6]

Algumas pessoas podem desenvolver uma infecção mais grave, coccidioidomicose secundária, que pode incluir nódulos e doença pulmonar progressiva.^[6]

C. immitis pode ainda provocar uma infecção extrapulmonar na pele, tecidos moles, ossos, articulações e meninges.^[2,6]

Os sintomas da infeção podem surgir entre uma a três semanas após exposição ao agente. ^[6]

Através de dados hospitalares obtidos nas áreas endémicas, verifica-se que pessoas do sexo masculino, com idade mais avançada (≥ 65 anos) e mulheres no terceiro trimestre de gravidez são dos grupos mais infetados, e isto pode dever-se a uma maior participação em atividades de alto risco, deslocação sazonal (principalmente nas pessoas idosas que fazem mais viagens após se reformarem) e a alterações nas hormonas sexuais (como na gravidez). Observou-se ainda que esta doença afeta diferentes grupos étnicos, em que os filipinos, afroamericanos, americanos nativos e hispânicos são os mais infetados, e isto verifica-se mais no caso dos presidiários. Existe ainda elevada incidência em pessoas com imunodeficiência e imunocomprometidos, devido à diminuição da capacidade de ação da imunidade celular. ^[2,6, 25]

4.2.4. Diagnóstico

O diagnóstico da coccidioidomicose é realizado por exame histopatológico do tecido ou outro material clínico, por isolamento do fungo em cultura e por teste sorológico. ^[26]

A observação direta das esférulas com endósporos por microscopia permite determinar o diagnóstico, sendo este método preferível em relação à cultura do fungo, uma vez que o bolor quando cresce em cultura é altamente infeccioso (figura 7). ^[26]

O isolamento do fungo em cultura pode ser realizado em meio micológico a 25 °C, e as colónias desenvolvem-se entre 3 e 5 dias, já a esporulação pode ser observada entre 5 a 10 dias. A identificação de *C. immitis* pode ser realizada em cultura pelo teste de imunodifusão, através do exoantigénio (antigénio da fase miceliar), ainda por hibridação de ácidos nucleicos. ^[26]

Existem vários testes sorológicos para uma triagem inicial, confirmação e avaliação prognóstica desta infeção. ^[26]

Na triagem inicial, realiza-se uma combinação do teste de imunodifusão com o teste de aglutinação de partículas em latex. Esta combinação deteta a maioria dos casos de coccidioidomicose. Para confirmar o diagnóstico e uma avaliação prognóstica podem usar-se os testes de fixação do complemento, títulos crescentes são sinal de mau prognóstico, e títulos decrescentes são indicadores de melhoria do doente. ^[2]

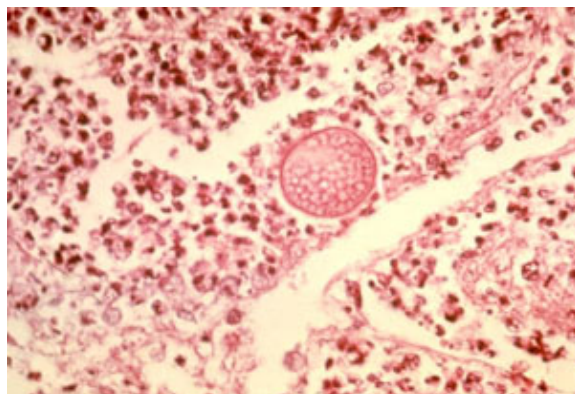


Figura 7 - Tecido pulmonar com Coccidioidomicose. Esférula de *Coccidioides immitis*. (fonte: <http://www.cdc.gov/>)

4.3. Histoplasmose

A histoplasmose é uma micose sistêmica causada pelo fungo *Histoplasma capsulatum*, mais precisamente por duas variedades deste - *H. capsulatum* var. *capsulatum* e *H. capsulatum* var. *duboisii*.^[2,7]

O *H. capsulatum* var. *capsulatum* causa infecções pulmonares, disseminadas pela zona oriental dos Estados Unidos e maioria da América latina, e o *H. capsulatum* var. *duboisii* provoca lesões cutâneas e ósseas, principalmente nas áreas tropicais de África.^[2,7]

Histoplasma capsulatum vive no meio ambiente, normalmente, associado a algumas aves, como pombos, ou morcego.^[2]

A infecção pulmonar ocorre após a inalação dos esporos do fungo, no entanto existem pessoas que não ficam doentes, mesmo após a inalação destes. Os sintomas da histoplasmose são semelhantes à pneumonia e a infecção pode tornar-se grave se não for tratada.^[7]

4.3.1. Morfologia do *Histoplasma capsulatum*

Histoplasma capsulatum é um fungo termicamente dimórfico que existe na forma de bolor hialino, na natureza e em cultura a 25 °C, e na forma de levedura intracelular com gemulação no tecido e em cultura a 37 °C.^[2]

Na forma de bolor, as variáveis de *Histoplasma capsulatum* são indistinguíveis, tanto micro como macroscopicamente. A forma de bolor tem um crescimento lento e desenvolve colónias com hifas brancas ou acastanhadas, após alguns dias ou até

mesmo semanas. Esta forma produz dois tipos de conídios: os macroconídios esféricos com paredes espessas, chamados de macroconídios tuberculados, e a partir dos quais se formam conidiósforos curtos, e os microconídios ovais com paredes lisas ou com alguma rugosidade ou em hastes curtas. ^[2,8]

Na forma de levedura, as células têm paredes finas, ovais e têm 2 a 4 µm de tamanho- var. *capsulatum* - ou têm paredes muito finas e 8 a 15 µm de diâmetro – var. *duboisii*. As células leveduriformes das duas variáveis de *H. capsulatum* são intracelulares e uninucleadas *in vivo*. ^[2,8]

4.3.2. Epidemiologia

A histoplasmose originada pela var. *capsulatum* localiza-se em regiões amplas perto dos vales dos rios de Ohio e Mississipi, nos Estados Unidos, e por todo o México e América Central e Sul. Enquanto, que a histoplasmose provocada pela var. *duboisii* ou histoplasmose africana está localizada nas áreas tropicais de África. ^[2,9]

A forma miceliar do *H. capsulatum* habita no solo com elevado teor em azoto, como aquele que contém as fezes das aves. Os surtos de histoplasmose são associados à exposição a habitats de aves e locais onde existem morcegos. Os aerossóis dos microconídios e fragmentos de hifas no solo e posterior inalação por pessoas expostas é o principal fator para a existência de um surto (figura 8). Apesar de a infeção ocorrer na maioria das exposições, verifica-se que existem casos em que não surgem sintomas e que apenas se deteta a infeção por testes cutâneos. ^[2,9]

Os grupos de maior risco de contrair histoplasmose são os imunocomprometidos e as crianças, uma vez que estas estão constantemente em contato com o solo quando estão a brincar no exterior. A disseminação e reativação da doença são comuns em pessoas imunocomprometidas, principalmente em estado de SIDA. ^[2,9]

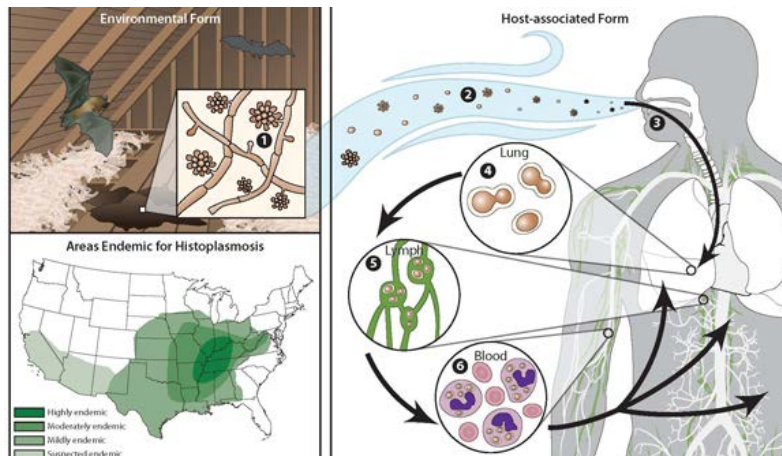


Figura 8 - Ciclo de vida do *Histoplasma capsulatum*. Legenda: 1- O *H. capsulatum*, no ambiente, existe como um molde com hifas aéreas; 2- As hifas produzem aerossóis de micro e macroconídios que estão dispersos no ambiente; 3- Os microconídios são inalados, por um hospedeiro suscetível, para dentro dos pulmões; 4- A temperatura mais elevada dentro do hospedeiro permite a sua transformação em forma oval, em levedura de gemulação; 5- As leveduras são fagocitadas por células do sistema imunitário e transportadas para os linfonodos; 6- A partir daí eles circulam no sangue para outras partes do organismo. (fonte: <http://www.cdc.gov/>)

4.3.3. Manifestações clínicas

As manifestações clínicas da histoplasmose dependem da intensidade da exposição e do sistema imunológico do hospedeiro. Numa exposição de pequena intensidade, cerca de 90% das pessoas têm uma infecção assintomática. [2,10]

A histoplasmose pode ser uma infecção pulmonar crónica- forma autolimitada- com sintomas semelhantes aos de uma gripe ou constipação, como febre, calafrios, dor de garganta, tosse, mialgias e dor torácica. Por exame radiográfico pode observar-se adenopatia hilar ou mediastinal e infiltrados pulmonares irregulares, originados por esta infecção. [2,10]

As complicações da histoplasmose consistem em insuficiência respiratória aguda, inflamações, como linfadenopatia com obstrução brônquica, artrite, artralgias ou pericardite. A fibrose mediastinal é uma das complicações, no entanto com rara incidência. [2,10]

A histoplasmose pulmonar crónica está associada a cavidades apicais e é mais provável que ocorra em pessoas que tenham historial de doença pulmonar. [2,10]

A histoplasmose disseminada pode originar uma infecção crónica, subaguda ou aguda. A infecção crónica caracteriza-se por perda de peso, fadiga, acompanhada ou não de febre, úlceras orais e hepatoesplenomegalia. [2,10]

A infecção subaguda provoca febre, perda de peso e mal-estar. Caso a medula óssea esteja envolvida na infecção, pode provocar anemia, leucopenia e trombocitopenia. Existem ainda outros locais que podem ser atingidos na disseminação subaguda, como as glândulas adrenais, as válvulas cardíacas e o SNC. Esta se não for tratada pode resultar em morte num espaço de 2 a 24 meses. ^[2,10]

Por fim, a histoplasmose disseminada aguda ocorre principalmente em indivíduos imunocomprometidos em estado de SIDA, como os transplantados de órgãos, e os neoplásicos que fazem quimioterapia. Além destes, as crianças com menos de um ano de idade e adultos em condições debilitantes também correm risco de infecção aguda. Esta forma pode apresentar-se com um quadro semelhante ao de um choque séptico com febre, hipotensão, infiltrados pulmonares e insuficiência respiratória. Esta forma se não for tratada também é fatal dentro de dias a semanas. ^[2,10]

4.3.4. Diagnóstico

A histoplasmose pode ser diagnosticada por microscopia direta, cultura de sangue, medula óssea ou outro material clínico, também por sorologia e pela deteção do antígeno no sangue e urina. ^[2,10,11]

As células leveduriformes de *H. capsulatum* podem ser detetadas na expetoração, no lavado broncoalveolar, no sangue, medula óssea e tecidos pulmonares corados (figura 9.2). ^[2,10,11]

Nos cortes tecidulares, as células da var. *capsulatum* têm forma de leveduras, hialinas, esféricas-ovais, com 2 a 4 μm de diâmetro, são uninucleadas e com gémulas únicas ligados por base estreita. A maioria destas células é intracelular e encontram-se agrupadas. ^[2,10,11]

As células da var. *duboisii* são, também intracelulares, leveduriformes e uninucleadas. Estas apresentam um diâmetro maior de 8 a 15 μm , em relação à var. *capsulatum*, e têm paredes espessas. Elas encontram-se, normalmente, em macrófagos e células de elevado diâmetro. ^[2,10,11]

As culturas de amostras respiratórias, sangue, medula óssea e tecido são importantes no caso da doença disseminada. A forma miceliar apresenta um crescimento lento, e a sua identificação deve ser confirmada através da conversão para a forma de levedura ou pelo teste de deteção do antígeno ou hibridação de ácidos nucleicos. ^[2,10,11]

O diagnóstico por sorologia desta infeção é realizado por testes para a deteção do anticorpo e do antígeno. Os testes de deteção do anticorpo incluem ensaios de fixação do complemento e testes de imunodifusão, que são realizados em conjunto para que a sensibilidade e especificidade sejam maiores, apesar de não serem uteis na fase aguda e muitas das vezes, ambos, têm resultados negativos em doentes imunocomprometidos com infeção disseminada. [2,10,11]

Em relação à deteção do antígeno de *Histoplasma* no soro e na urina, pelo ensaio imunoenzimático, esta tem sido muito útil no diagnóstico da doença disseminada. A deteção do antígeno apresenta maior sensibilidade quando realizada na urina, em relação ao sangue. Deste modo, a deteção seriada do antígeno pode ser usada para avaliar a resposta à terapêutica e observar a regressão da doença, no caso de doença disseminada. [2,10,11]

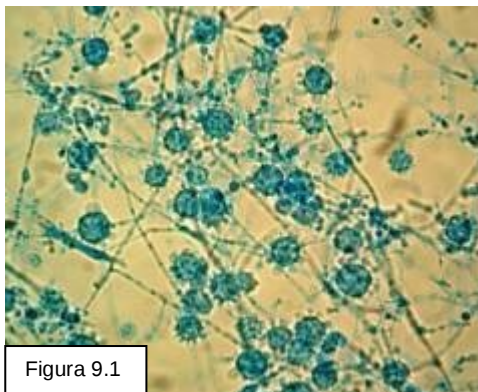


Figura 9.1

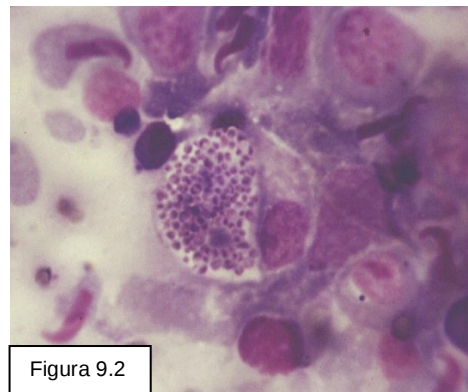


Figura 9.2

Figura 9.1 - Fase saprófita do *Histoplasma capsulatum*. (Fonte: <http://www.infoescola.com/>).
Figura 9.2 - Estruturas leveduriformes intracelulares de *Histoplasma capsulatum*. (Fonte: <http://www.higiene.edu.uy/>).

4.4. Paracoccidioidomicose

A paracoccidioidomicose é uma infeção sistémica causada pelo fungo dimórfico *Paracoccidioides brasiliensis*. Esta infeção, conhecida também como blastomicose sul-americana, é a principal infeção fúngica dimórfica nos países da América Latina. [2,12,27]

A fase primária da infeção, aparece normalmente em indivíduos jovens como uma doença pulmonar autolimitada, e, raramente, progride para o estado agudo ou subagudo da infeção. [2,12,27]

Uma lesão que esteja “adormecida” pode ser reativada alguns anos após o primeiro contato com o fungo, originando uma doença pulmonar crónica, podendo ou não envolver outros órgãos. [2,12]

4.4.1. Morfologia do *Paracoccidioides brasiliensis*

O *Paracoccidioides brasiliensis* é um fungo dimórfico, e como tal tem uma fase filamentosa/pluricelular e outra fase de levedura. [2,12]

A fase filamentosa tem um crescimento lento *in vitro* a 25 °C em que as colónias com coloração branca tornam-se visíveis em cerca de 3 a 4 semanas. Estas colónias também se podem apresentar enrugadas de cor acastanhada. A forma miceliar não é usada para o diagnóstico, pois não tem características que permitam a sua distinção. Esta apresenta hifas hialinas, septadas com clamidoconídios intercalados. Assim, para que seja identificado *P. brasiliensis* é necessário que esta forma se converta na forma de levedura. [2,12]

A forma de levedura cresce em cultura a 37 °C e é também observada nos tecidos. As células leveduriformes apresentam-se com uma forma oval a esférica, com tamanhos variáveis de 3 a 30 µm ou até mesmo maiores, com paredes retráteis duplas e gémulas únicas ou múltiplas que dão origem a blastoconídios. Os blastoconídios estão ligados à célula-mãe por uma ligação estreita, e uma célula pode originar cerca de seis ou até mais células filhas, com tamanhos variados. Deste modo, o número de blastoconídios, o tamanho e as suas ligações à célula-mãe são as características que permitem a identificação deste fungo. [2,12]

4.4.2. Epidemiologia

A paracoccidioidomicose é endémica na América do Sul, com maior incidência no Brasil, Venezuela e Colômbia. Todos os indivíduos diagnosticados com esta infeção fora da zona endémica, verificou-se que estiveram anteriormente num dos locais de maior incidência. [2,12]

As condições adequadas ao crescimento do fungo são a alta humidade, muita vegetação, temperaturas moderadas e solo ácido. Estas condições são predominantes nas zonas junto aos rios. Apesar destas condições serem favoráveis ao desenvolvimento de *P. brasiliensis*, este não tem o seu habitat ainda bem definido. A porta de entrada é a inalação ou inoculação traumática (figura 10). [2,12]

A infeção tem um pico de incidência em crianças com idades entre os 10 e os 19 anos, mas a doença, raramente, é evidente em crianças e adolescentes. Enquanto, que nos adultos, a doença, verifica-se mais nos homens com idades entre os 30 e os 50 anos.

Verifica-se também que esta doença ocorre mais em pessoas que habitem em zonas rurais, uma vez que têm maior contato com o solo. [2,12]

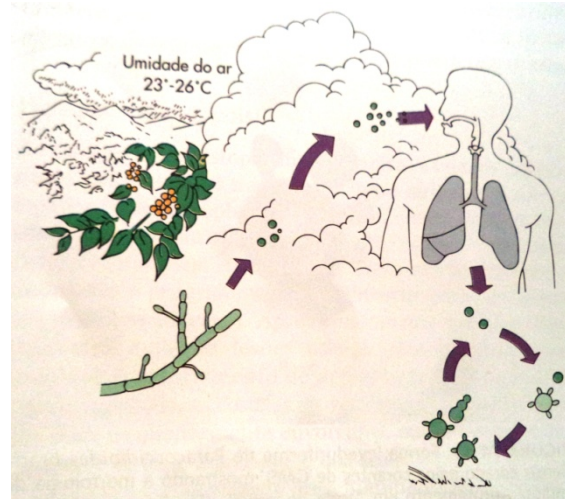


Figura 10 - Ciclo do *Paracoccidioides brasiliensis*, fase saprófita e de levedura. (Fonte: Murray, P., Rosenthal, K. Pfealler, M., *Microbiologia Médica*, 5ª Ed, Elsevier, Rio de Janeiro, 2006).

4.4.3. Manifestações Clínicas

A paracoccidioidomicose pode apresentar-se como subclínica ou progressiva, com formas pulmonares agudas ou crônicas ou com formas disseminadas agudas, subagudas ou crônicas. [2,12]

Verifica-se que muitas das infecções primárias são auto-limitadas, não havendo progressão da doença pulmonar. O organismo pode tornar-se inativo por um longo período de tempo, no entanto se se verificar uma evolução para imunossupressão do hospedeiro, este pode reativar-se e causar patologia clínica. [2,12]

A forma disseminada subaguda é observada em indivíduos mais jovens e em doentes imunocomprometidos. A disseminação e as lesões cutâneas frequentes originam a passagem para a corrente sanguínea. Nesta forma de doença, não se verificam lesões pulmonares ou da mucosa. [2,12]

A forma pulmonar crônica da doença afeta, maioritariamente, os adultos e apresenta-se com problemas respiratórios, muitas vezes como manifestação única. A doença vai avançando lentamente durante meses ou até mesmo anos, com sintomas de tosse persistente, expectoração purulenta, dor torácica, perda de peso, dispneia e febre. As lesões pulmonares são nodulares, infiltrativas e fibróticas [2,12]

Nem todos os indivíduos apresentam manifestações pulmonares da doença, a infeção pode disseminar-se para locais extrapulmonares, como pele e mucosa, linfonodos, glândulas adrenais, fígado, baço, quando esta não é diagnosticada nem tratada. Esta doença afeta na grande maioria pessoas do sexo masculino. [2,12]

4.4.4. Diagnóstico

O diagnóstico da infeção é realizado por observação de leveduras características no exame microscópico das amostras biológicas. Este organismo pode ser ainda visualizado por vários métodos de coloração, e a presença de múltiplas gémulas permite a distinção de *P. brasiliensis* de *Cryptococcus neoformans* e de *B. dermatitidis* (figura 11). [2,12]

Após o isolamento em cultura é necessário proceder à sua confirmação por demonstração do dimorfismo térmico ou pelo teste de deteção do antígeno da doença. [2,12]

De modo a confirmar o diagnóstico e a avaliar a resposta à terapêutica realiza-se o teste sorológico, usando tanto o ensaio de imunodifusão como o de fixação do complemento, para a deteção do antígeno. [2,12]

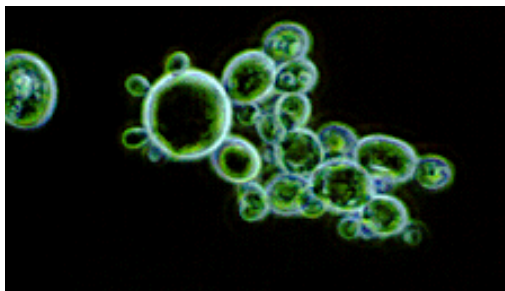


Figura 11 - *Paracoccidioides brasiliensis* em forma de levedura; múltipla gemulação. (fonte: <http://www.mycology.adelaide.edu.au/>)

4.5. Criptococose

A criptococose é uma infeção causa pelo *Cryptococcus neoformans*, que é uma levedura, e apresenta uma elevada predisposição para o SNC. Este agente afeta principalmente os indivíduos imunocomprometidos. [2,13]

Existem duas variedades de *C. neoformans*, *C. neoformans* var. *neoformans* e *C. neoformans* var. *gattii* que podem causar infeção. A variante *gattii* encontra-se com

maior frequência nas zonas tropicais ou subtropicais, tendo sido isolada em eucaliptos. Enquanto, que a *C. neoformans* var *neoformans* habita em pombos e aves, e no solo contaminado por excrementos destes. ^[2,15]

A infeção dá-se através da inalação dos esporos, que originam uma infeção pulmonar assintomática após penetração nos alvéolos pulmonares. As manifestações clínicas variam desde uma simples colonização pulmonar até uma infeção disseminada e invasiva. A disseminação é por via hematogénica, e pode provocar lesões no SNC, cérebro e meninges, e ainda lesões cutâneas, ósseas e viscerais. ^[2,15]

Uma vez que os doentes com alterações no sistema imunitário são os mais infetados com *C. neoformans*, significa que esta infeção é considerada também uma infeção oportunista. No entanto, o fungo apresenta características biológicas ou fatores de virulência que demonstram a sua capacidade de desencadear infeção, independentemente do estado imunológico do hospedeiro. Estas características consistem no fato do *Cryptococcus neoformans* ser um fungo encapsulado, em que a cápsula é de natureza polisacarídica e impede a fagocitose, tornando-o mais virulento, e no fato deste sintetizar a enzima fenoloxidase, que permite a transformação de compostos fenólicos em melanina e, esta deposita-se na parede do fungo protegendo-o da ação destrutiva dos sistemas oxidativos. Outra característica que nos permite verificar a capacidade de desencadear uma infeção é o crescimento a 37 °C. ^[15]

4.5.1. Morfologia do *Cryptococcus neoformans*

O *C. neoformans* é um fungo leveduriforme encapsulado, tem forma esférica a oval e 2 a 20 µm de diâmetro. A sua reprodução é por gemulação a partir de uma base relativamente estreita. O ciclo de vida consiste em duas fases, fase vegetativa e sexual. ^[15]

A forma de levedura é a forma que se encontra mais no seu habitat natural, pombos e outras aves, e nas amostras clínicas. Enquanto, que os tubos germinativos, as hifas e as pseudo-hifas, normalmente, não são observados no material clínico. ^[2,15]

As células do *C. neoformans* apresentam-se, nos tecidos ou através da coloração com tinta-da-china, com vários tamanhos, formas (esféricas, ovais ou elípticas), e contornadas pela cápsula polisacarídica extracelular que se apresenta como um

contorno regular e visualmente transparente. Esta cápsula é uma característica específica deste fungo. ^[15]

O *Cryptococcus neoformans* var. *neoformans* produz colónias com coloração branca a creme, lisas e com aspeto de muco. Quanto maior for a cápsula, mais a colónia tem aspeto de muco. A temperatura ótima de crescimento desta variante é a 30 - 32 °C e a temperatura máxima é, normalmente, 39 °C. ^[19]

Em relação ao *C. neoformans* var. *gattii*, as colónicas têm a mesma coloração do que as anteriores e têm ainda mais aspeto de muco. A temperatura ótima de crescimento é a 30 - 32 °C. ^[19]

4.5.2. Epidemiologia

A criptococose é adquirida, normalmente, através da inalação de células em aerossóis no ambiente de *C. neoformans* (figura 12). Este fungo é patogénico para indivíduos imunocompetentes, mas é designado como um agente oportunista, uma vez que causa meningite fúngica e atinge doentes com a imunidade celular alterada. ^[2,15,16,17]

O *C. neoformans* var. *neoformans* e *C. neoformans* var. *gattii* têm distribuições geográficas diferentes. A var. *neoformans* não necessita de condições adequadas ao seu desenvolvimento, logo, não apresenta infeção acentuada em nenhum local específico, enquanto, que a var. *gattii* é encontrada em locais com climas tropicais ou subtropicais, principalmente associados à existência de árvores de eucalipto. ^[15,16,17]

Apesar das duas variantes provocarem a mesma doença, a var. *gattii* infeta, com maior frequência, indivíduos imunocomprometidos e apresenta consequências neurológicas mais graves devido à formação de granulomas no SNC. ^[15,16,17]

Os grupos de risco para a criptococose são doentes com HIV, transplantados e grupos heterogéneos sem HIV ou transplantes. O principal agente patogénico oportunista em doentes com HIV é o *C. neoformans* var. *neoformans*. No caso do sistema imunitário apresentar alterações, como a contagem de linfócitos CD4+ inferior a 200/mm³, significa que existe risco de contrair uma infeção com *C. neoformans* e desta atingir o SNC e ser disseminada. Mas a incidência desta infeção é controlada através do tratamento da infeção do HIV com anti-retrovirais. ^[2,15,16,17]

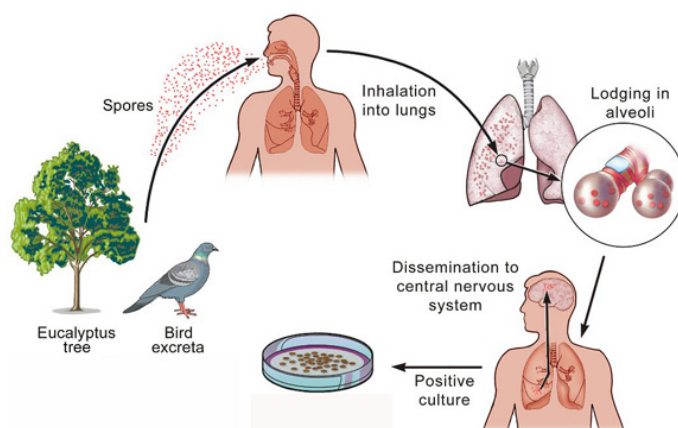


Figura 12 - Ciclo da infecção com *Cryptococcus neoformans*. (Fonte: <http://www.bmolchem.wisc.edu/>)

4.5.3. Manifestações Clínicas

O *Cryptococcus neoformans* pode infectar qualquer órgão, mas o que este atinge mais é o pulmão, sendo este órgão a porta de entrada para a infecção. Este pode ainda atingir o SNC como uma infecção secundária à do pulmão. [2,18]

A infecção pulmonar pode ser assintomática ou pode progredir para uma pneumonia com insuficiência respiratória, colocando o doente em risco de vida, principalmente o que tem HIV. [2,18]

Ao atingir o SNC, *C. neoformans* causa meningite e meningoencefalite, podendo apresentar-se como subaguda ou crónica, mas também pode ser fulminante. Os sinais e os sintomas variam de pessoa para pessoa, mas os que se apresentam com maior frequência são febre, cefaleia, distúrbio visual, estado mental alterado e convulsões. Assim, o quadro clínico depende do estado do sistema imunitário do doente. [2,18]

As lesões parenquimatosas do SNC são mais comuns no caso de infecção por *C. neoformans* var. *gattii* em hospedeiros imunocomprometidos, mas são raras no caso de infecção com a var. *neoformans*. [2,18]

As lesões cutâneas são outro tipo de manifestações da criptococose, mas ocorrem com menor frequência. Estas lesões são relatadas como tendo a aparência de molusco contagioso e são normalmente a expressão da disseminação hematogénica do fungo, que pode ser única ou múltipla. As lesões da pele podem apresentar-se, então, como pápulas, pústulas, vesículas e úlceras. [2,18]

4.5.4. Diagnóstico

A infecção causada pelo *Cryptococcus neoformans* pode ser diagnosticada através de vários métodos, como observação de preparações microscópicas, teste serológico, cultura de sangue ou líquido cefalorraquidiano. ^[2,19]

As células de *C. neoformans* são redondas ou ovais e têm uma cápsula polissacarídea, o que permite a sua observação em preparações microscópicas com tinta-da-china, uma vez que esta não penetra no interior das células. A preparação deve ser feita com sedimento obtido da centrifugação do líquido cefalorraquidiano (figura 13). ^[2,19]

O teste serológico permite a deteção do antígeno dos polissacáridos da cápsula, através da aglutinação com partículas de látex. Este teste pode ser feito em líquido cefalorraquidiano ou em soro. ^[2,19]

O exame de cultura é feito através do sedimento do líquido cefalorraquidiano em meio de Sabouraud e incubado a 30 - 35 °C. Para além deste meio, pode usar-se o meio de Níger Seed, em que as colónias de *C. neoformans* aparecem com coloração castanha, no entanto existem organismos desta espécie que não têm fenoloxidase, logo, não produzem coloração acastanhada. ^[2,19]

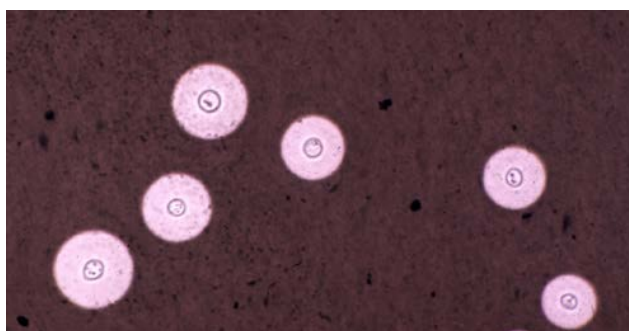


Figura 13 - Preparação com tinta da china em que se observa *Cryptococcus neoformans* com uma cápsula grande.
(Fonte: <http://www.doctorfungus.org/>)

5. Terapêutica Antifúngica Usada no Tratamento das Micoses Sistêmicas

As infeções causadas por fungos são tratadas com fármacos antifúngicos. Estas infeções ocorrem, principalmente, em indivíduos saudáveis e em imunodeprimidos. ^[20]

Os agentes antifúngicos estão divididos em quatro classes, de acordo com o seu mecanismo de ação: polienos que interagem com os esteróis da membrana; azóis e

alilaminas que inibem a biossíntese do ergosterol; equinocandinas que inibem a síntese da parede celular. ^[2]

Além destes antifúngicos, existem ainda, no tratamento das infecções fúngicas, os antimetabolitos que inibem a síntese de DNA e RNA; a griseoflúvina que interfere na organização dos microtúbulos; amorolfina, derivado da morfolina, que altera a biossíntese dos esteróis na membrana. ^[32]

Ao longo dos anos foram introduzidos novos agentes antifúngicos no tratamento das micoses, de modo a que a toxicidade dos fármacos não seja o fator limitante no tratamento. No entanto, estes apresentam limitações como o seu espectro de atividade, farmacocinética e predisposição única para interações medicamentosas e toxicidade associada ao uso prolongado. ^[20]

A anfotericina B, que se classifica como polieno, foi o primeiro fármaco usado no tratamento das infecções fúngicas graves. Os seus efeitos adversos relacionados com a infusão e nefrotoxicidade dependente da dose levaram a que houvesse uma procura contínua de alternativas eficazes, mas menos tóxicas e que pudessem ser administradas por via intravenosa e oral. ^[20]

Deste modo, foram estudados vários fármacos e adicionados ao tratamento das micoses. (Figura 14)

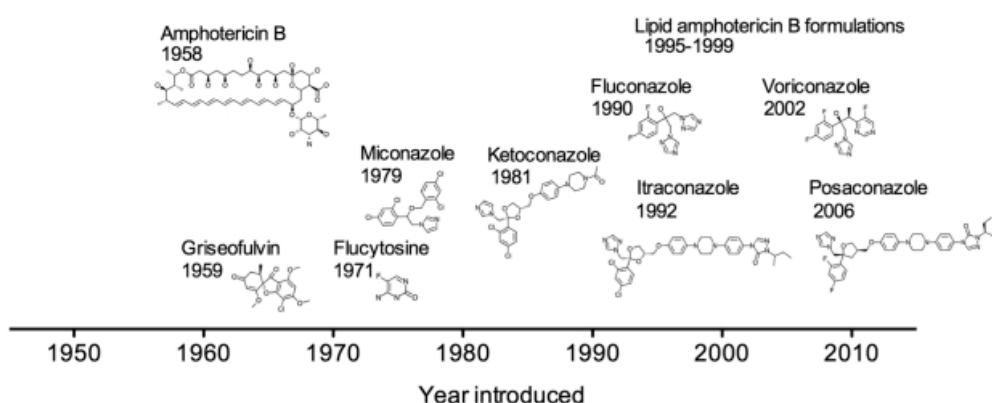


Figura 14 - Fármacos antifúngicos adicionados ao longo dos anos ao tratamento das infecções fúngicas. (Fonte: Lewis, R. (2011). Current Concepts in Antifungal Pharmacology. *Mayo Clinic Proceedings*. 86(8): 805–817)

Apesar dos progressos obtidos, a terapêutica antifúngica ainda não é perfeita, uma vez que não existe nenhum fármaco que seja adequado a cada indivíduo com uma determinada micose, devido às características do doente, ao risco de interações

medicamentosas, à imunossupressão, ao local da infeção e ao risco de infeção com patogénicos que apresentem resistência aos agentes antifúngicos. ^[20]

Um antifúngico ideal deve ser de fácil administração, permitindo uma maior adesão à terapêutica; ter uma elevada eficácia, permitindo uma terapêutica de estreita duração; ter um efeito fungicida; permitir alívio imediato dos sintomas; originar poucos ou nenhuns efeitos secundários locais e sistémicos; apresentar um largo espectro de ação; prevenir infeções recorrentes; ter uma elevada segurança de modo a que possa ser administrado durante a gravidez; ser de baixo custo. ^[19]

No caso das micoses sistêmicas, os agentes antifúngicos mais usados são polienos e azóis. Assim, este trabalho irá debruçar-se sobre estes grupos terapêuticos.

5.1. Polienos

Os polienos são antifúngicos membrana-ativos, e o mecanismo de ação consiste na sua ligação ao ergosterol na membrana dos fungos, resultando na formação de poros ou canais. Isto leva a uma inibição e alteração na permeabilidade da membrana, permitindo o extravasamento de diversas moléculas, havendo assim morte celular. ^[30,31]

A anfotericina B e a nistatina são dois fármacos que pertencem ao grupo dos antifúngicos polienos. Estes apresentam, como estrutura básica, um anel lactâmico com uma cadeia lipofílica, com 3 a 7 ligações duplas e uma porção hidrofílica flexível contendo vários grupos hidroxilos. O efeito antifúngico destes compostos depende do número de ligações duplas que possuem. ^[2,19,20]

A resistência aos polienos pode dever-se a uma alteração qualitativa e quantitativa na composição do ergosterol na membrana. ^[31]

5.1.1. Anfotericina B

A anfotericina B é um polieno que tem origem no *Streptomyces nodosus*, de uso hospitalar. Este fármaco tem atividade fungicida e, na sua estrutura química, apresenta 7 ligações duplas, pelo que tem um amplo espectro de ação e um papel importante no tratamento das infeções fúngicas sistêmicas graves causadas por *Cryptococcus*, fungos dimórficos, entre outros (figura 15). Pode ser inativada pelo calor, luz e extremos de pH, é pouco solúvel em água e não é absorvida pela via

intramuscular ou oral, a sua administração é por via intravenosa. A formulação convencional da anfotericina B na administração intravenosa é a anfotericina B desoxicolato. [2,19,20]

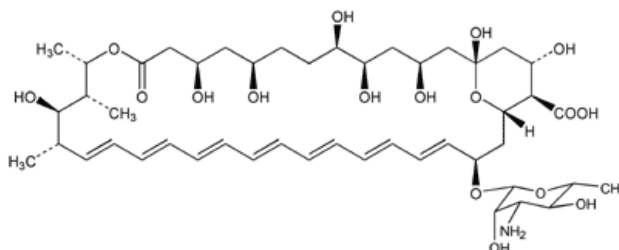


Figura 15 - Estrutura química da Anfotericina B. (Fonte: <http://www.doctorfungus.org/>).

O mecanismo de ação da anfotericina B consiste no fato desta atingir a membrana celular do fungo. Esta liga-se diretamente ao ergosterol, formando complexos que intercalam a membrana celular e originam canais iónicos que destroem a integridade osmótica da membrana celular fúngica, levando à perda do conteúdo intracelular, como o K^+ intracelular, e à morte celular (figura 16). [19,20]

A anfotericina B liga-se, também, ao colesterol da membrana celular dos mamíferos, mas com menor especificidade em comparação com o ergosterol. Esta ligação é responsável pela maioria dos efeitos tóxicos observados após a administração da anfotericina B. Este polieno estimula, ainda, a libertação de citocinas pró-inflamatórias pelas células fagocíticas mononucleares, o que resulta muitas vezes, durante a administração, em febre, arrepios, calafrios, cefaleias, náuseas, vômitos. [19-22]

Em relação à resistência, alguns fungos podem apresentar resistência à anfotericina B, e a resistência é associada a alterações no esterol da membrana, como uma reação de redução. [2,19,20]

A dose, a velocidade de administração, o local de infeção micótica, o estado imunológico do doente e a suscetibilidade inerente ao patogénico são características que influenciam a resposta ao uso de anfotericina B. [30]

O tratamento de uma infeção fúngica com anfotericina B consiste na sua administração parental (IV) de uma dose de 1mg/kg de peso corporal. O fármaco pode acumular-se em vários tecidos, como o fígado, baço, rim e pulmão. Apresenta um

tempo de semi-vida plasmática longo de 24 horas, mas apenas durante vários dias, porque vai aumentando com a duração da terapêutica. ^[33]

A nefrotoxicidade é dos efeitos adversos mais importante no caso da anfotericina B, devido à sua gravidade e à frequência com que aparece. A concentração de potássio e de magnésio devem ser monitorizadas devido aos danos renais que podem surgir. Outras reações adversas que podem ocorrer, mas com menor frequência, são trombocitopenia, leucopenia e anemia normocítica. ^[22]

A anfotericina B não deve ser administrada se o doente estiver a ser medicado com aminoglicosídeos, ciclosporinas e alguns antineoplásicos, uma vez que pode aumentar os efeitos nefrotóxicos. Esta pode ainda potenciar um estado de hipocalcemia se for administrada juntamente com corticosteroides e glicosídeos digitálicos. ^[22]

Uma das principais limitações ao uso da anfotericina B é a elevada toxicidade. Assim, a sua administração deve ser em dias alternados e a dose tem de ser maior em cada administração.

Foram introduzidas novas formulações de anfotericina B, de modo a diminuir a sua toxicidade: Complexo Lipídico de Anfotericina B; Dispersão Coloidal da Anfotericina B; Anfotericina B incorporada em Lipossomas. ^[32]

O AmBisome[®] é o nome comercial da Anfotericina B lipossómica. Nesta formulação o fármaco é incorporado no interior dos lipossomas contendo fosfolípidos, e é apenas libertado no local da infeção. A eficácia é semelhante à da formulação convencional, mas a toxicidade renal e sistémica é muito menor. Isto deve-se ao facto dos lipossomas permitirem uma passagem seletiva do fármaco para as células fúngicas e, um menor acesso às células renais. O tempo de semi-vida plasmática da Anfotericina B lipossómica varia entre 6 a 10 horas, após administração inicial, e aumenta após terapêutica prolongada. Antes de iniciar a terapêutica com esta formulação deve-se administrar uma dose teste de 1mg de fármaco em adultos e 0,5mg em crianças com menos de 30kg, devido às reações anafiláticas que possam aparecer. ^[22]

O Complexo Lipídico de Anfotericina B, existe no mercado com o nome comercial de Abelcet[®], tem como objetivo a diminuição da toxicidade do composto, mas mantendo a mesma aplicação terapêutica. Nesta formulação, o fármaco é complexado com fosfolípidos. ^[22]

O Amphotecil® é o medicamento que contém a Dispersão Coloidal da Anfotericina B, e é também usado no tratamento de micoses sistêmicas. A anfotericina B e o sulfato sódico de colesterol formam um complexo com pequenos discos lipídicos. A dose diária recomendada é de 1mg/kg de peso corporal, aumentando gradualmente conforme seja necessário. [22]

Todas estas formulações de Anfotericina B são usadas no tratamento das micoses sistêmicas e são administradas por via intravenosa.

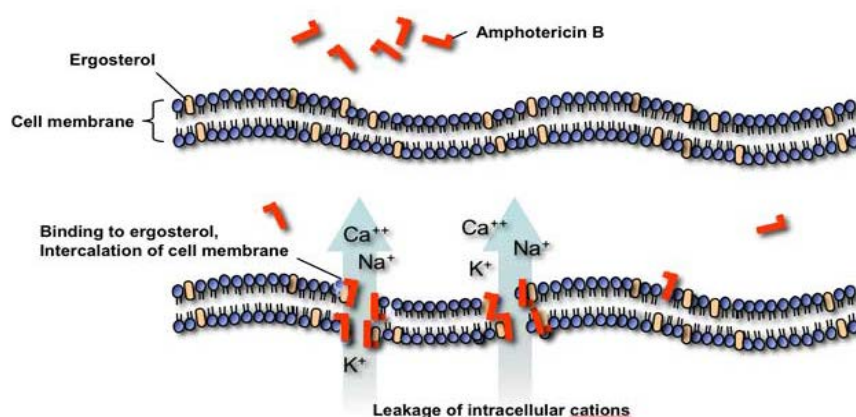


Figura 16 - Mecanismo de ação da Anfotericina B. (Fonte: <http://www.doctorfungus.org/>)

5.2. Azóis

A toxicidade dos agentes antifúngicos mais antigos e a administração intravenosa levou a que houvesse necessidade de criar fármacos com terapêutica mais segura.

A classe dos azóis divide-se em dois grupos devido à estrutura, em imidazóis, que têm um anel com dois azotos, e em triazóis que apresentam um anel com três átomos de azoto. Os fármacos que fazem parte dos imidazóis são o cetoconazol, clotrimazol, miconazol e econazol, enquanto, que os que fazem parte dos triazóis são o fluconazol, itraconazol, terconazol, voriconazol, ravuconazol e posaconazol. [19-22]

Dentro do grupo dos imidazóis, apenas o cetoconazol tem atividade sistêmica, e no grupo dos triazóis, todos têm atividade sistêmica. [2]

Os azóis são compostos fungistáticos e atuam ao nível do citocromo P-450 através da inibição da 14- α -desmetilase, que é responsável pela transformação do lanosterol

em ergosterol, inibindo, assim, a síntese da membrana celular, o que impede o crescimento do organismo (figura 17).^[19-22]

Os antifúngicos deste grupo atuam a nível da inibição da 14- α -desmetilase, e a sua atividade antifúngica é derivada da ligação a esta enzima. Mas, os imidazóis (cetoconazol) atuam de modo mais complexo uma vez que inibem várias enzimas ligadas à membrana e à biossíntese de lípidos da membrana e, alguns, afetam mesmo a membrana através da ligação direta aos lípidos.^[19,20]

Enquanto, que os triazóis (itraconazol e fluconazol) têm atividade antifúngica através da inibição da enzima 14- α -desmetilase que depende do citocromo P-450.^[19,20]

Os azóis apresentam um largo espectro de ação, ou seja, são usados no tratamento de candidoses, criptococoses, coccidioidomicose, blastomicoses, histoplasmoses, dermatofitoses.^[19,20]

Os mecanismos que levam à resistência, por parte dos fungos à ação dos azóis, consistem na alteração da composição dos esteróis da membrana, alterações na biossíntese do ergosterol, aumento do efluxo do fármaco, alteração ou eliminação do local de ação do fármaco, perda da atividade da enzima que ativa o agente antifúngico e a segregação de enzimas pela célula fúngica que degradam o fármaco.^[31]

Em relação às micoses sistêmicas, os azóis usados no seu tratamento são o cetoconazol, o itraconazol e o fluconazol.^[19-22]

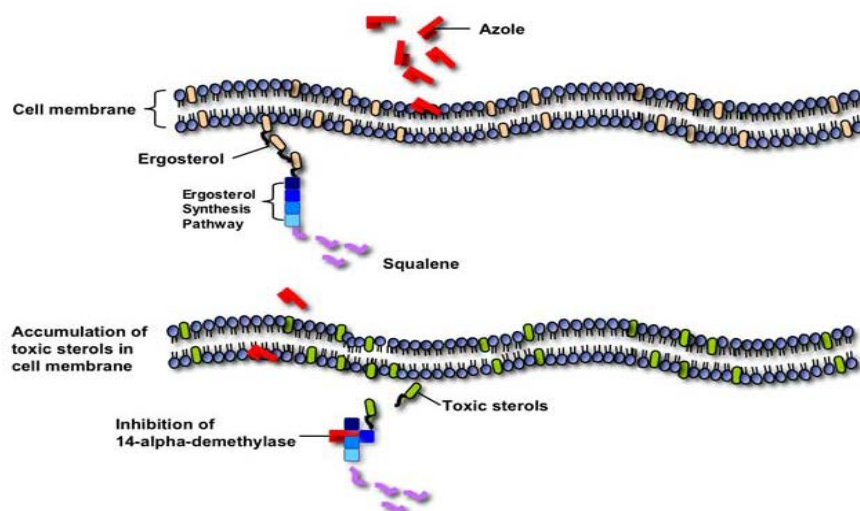


Figura 17 - Mecanismo de ação dos Azóis. (Fonte: <http://www.doctorfungus.org/>)

5.2.1. Imidazol: Cetoconazol

O cetoconazol é um imidazol administrado por via oral ou tópica, e é o mais usado no tratamento prolongado (figura 18). Este apresenta um espectro de atividade contra os fungos dimórficos, sendo por isso usado no tratamento de micoses sistêmicas causadas por estes fungos. A sua absorção é irregular e precisa de um pH gástrico ácido. O cetoconazol pode causar efeitos adversos graves como toxicidade hepática, náuseas, vômitos e erupções. Este fármaco é um antifúngico de 2ª linha, devido ao fato de existirem outros fármacos mais potentes e com efeitos adversos menos tóxicos. [2,19-22]

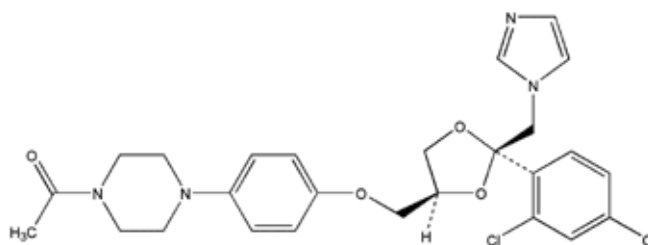


Figura 18 - Estrutura química do Cetoconazol. (Fonte: <http://www.doctorfungus.org/>)

O Nizale® é o nome comercial dos comprimidos de Cetoconazol disponível no mercado. A sua posologia consiste, nos adultos, numa dose de 200mg de 24 em 24h, durante 14 dias, e nas crianças numa dose de 3mg/kg por dia. Este deve ser tomado sempre juntamente com as refeições. [22]

A duração do tratamento, nas infeções sistêmicas, é de 6 a 12 meses. [22]

O cetoconazol não deve ser tomado juntamente com antiácidos, antagonistas H₂, inibidores da bomba de prótons e sucralfato, uma vez que estes reduzem significativamente a sua absorção. Este fármaco provoca um aumento da concentração plasmática da terfenadina e do astemizol por inibição do seu metabolismo. E pode ainda potenciar o efeito da varfarina, da fenitoína e da ciclosporina. [22]

5.2.2. Triazóis

O fluconazol e o itraconazol são triazóis que apresentam um espectro de ação mais amplo e um perfil de reações adversas mais favorável em relação ao cetoconazol. Ambos são usados no tratamento das micoses sistêmicas. ^[19-22]

5.2.2.1. Fluconazol

O fluconazol é solúvel em água, pode ser administrado por via oral ou IV e difunde-se bem nos tecidos (figura 19). Os efeitos adversos graves, como erupções cutâneas e alterações das enzimas hepáticas, são raros. Este fármaco apresenta baixa toxicidade, tem fácil administração e uma boa atividade contra *Candida* sp., *Cryptococcus neoformans* e *Coccidioides immitis*. É ainda considerado como agente de segunda linha no tratamento da histoplasmose e blastomicose. ^[19-22]

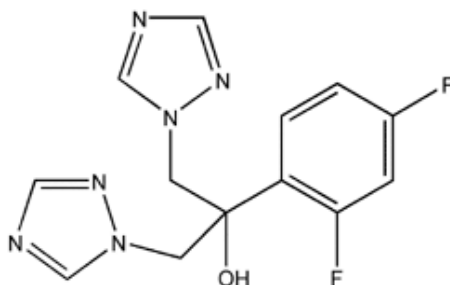


Figura 19 - Estrutura química do Fluconazol. (Fonte: <http://www.doctorfungus.org/>)

O fluconazol apresenta-se sob várias formas farmacêuticas, como cápsulas (Diflucan[®], Azoflune[®], Reforce[®], Supremase[®] e medicamentos sob a forma de genéricos) e como suspensão oral (Diflucan[®]). ^[22]

O esquema posológico recomendado para adulto, por via oral, é uma dose inicial de 400mg seguida de 200mg de 24 em 24h, nas infeções sistêmicas, por via IV, é uma dose inicial de 400mg, seguida de 200mg ou 400mg de 24 em 24h, nas infeções sistêmicas graves. Nas crianças, tanto por via oral como por via IV, a dose inicial é de 6mg/kg, seguida de 3mg/kg, uma vez por dia, durante pelo menos duas semanas. ^[22]

As reações adversas que mais se observam são náuseas, epigastrias, flatulência e diarreia. As erupções cutâneas e alteração das enzimas hepáticas são raras. ^[22]

O fluconazol potencia o efeito anticoagulante da varfarina e de outros cumarínicos, e o efeito da fenitoína. O mesmo se verifica com a terfenadina e com o astemizol, pelo que não devem ser tomados ao mesmo tempo que o fluconazol devido ao potencial de causar arritmias. Este fármaco não deve, ainda, ser administrado no caso de disfunção hepática. ^[22]

5.2.2.2. Itraconazol

O itraconazol é outro triazol usado no tratamento de infeções fúngicas (figura 20). Este pode ser administrado por via oral, em cápsula ou em solução, e por via IV. Apresenta um largo espectro de ação antifúngica em relação ao fluconazol, que inclui, entre outros, os fungos dimórficos. Mas o seu perfil de reações adversas e o potencial de interações medicamentosas são características desfavoráveis ao seu uso. A absorção do itraconazol depende do pH gástrico, sendo esta maior na presença de pH ácido. ^[19-22]

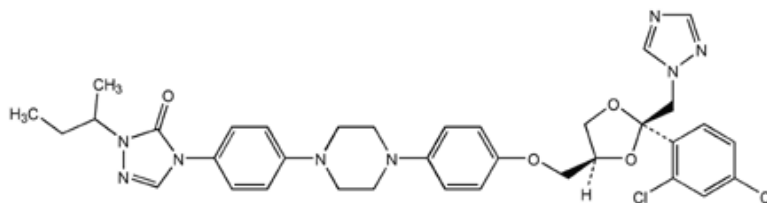


Figura 20 - Estrutura química do Itraconazol. (Fonte: <http://www.doctorfungus.org/>)

O itraconazol existe em cápsulas e em solução oral sob a forma de Sporanox[®], e sob a forma de medicamentos genéricos. ^[22]

A dose recomendada para adultos é de 100mg/dia, após as refeições, no caso de infeções fúngicas sistêmicas. ^[22]

Este fármaco não deve ser administrado no caso de insuficiência hepática, neuropatia periférica e insuficiência renal. Não é, também, recomendado o seu uso em crianças e idosos. ^[22]

As reações adversas que mais se verificam associadas à administração deste fármaco são náuseas, vômitos, diarreia, erupções cutâneas, prurido, elevações das enzimas hepáticas, ginecomastia e impotência. ^[22]

Os antiácidos, antagonistas H₂, inibidores da bomba de prótons e sucralfato, bem como a didanosina, reduzem a absorção do itraconazol. Este potencia o efeito anticoagulante da varfarina e de outros cumarínicos, e potencia também os efeitos de

fármacos que são metabolizados pelo sistema enzimático, citocromo P450 3A, como, o alprazolam, midazolam, triazolam, digoxina, sulfonilureias, lovastatina, felodipina, ciclosporina e tacrolimus. Também por inibição do seu metabolismo, o itraconazol aumenta as concentrações plasmáticas da terfenadina e do astemizol podendo causar arritmias graves. A co-administração do itraconazol com os inibidores da protease, indinavir ou ritonavir, afeta as concentrações plasmáticas de ambos os fármacos. Por fim, a carbamazepina, fenitoína e fenobarbital, e a rifampicina e isoniazida induzem o metabolismo do itraconazol, o que pode comprometer a sua eficácia terapêutica. ^[22]

5.3. Outras Terapêuticas

A flucitosina, ou 5 - fluorocitosina, é um agente antifúngico que atua como antimetabolito (figura 21). Este apresenta um espectro de ação contra uma variedade limitada de infeções fúngicas sistêmicas, sendo principalmente eficaz nas infeções causadas por leveduras. Este fármaco é administrado juntamente com a anfotericina B, devido ao aparecimento de resistência ao fármaco quando administrado sozinho, e é usado principalmente na infeção com *Cryptococcus*. ^[30]

A flucitosina é transportada pela citosina- permease da membrana e, é convertida no antimetabolito 5- fluorouracilo (5-FU) nas células dos fungos, e este é incorporado no monofosfato de ácido 5- fluorodesoxiuridílico, que interfere com a atividade da timidilato sintetase e na síntese de DNA. ^[30]

Este fármaco pode ser administrado por via oral ou por via intravenosa. Os efeitos adversos à administração deste fármaco são raros, porém podem ocorrer distúrbios gastrointestinais, anemia, neutropenia, trombocitopenia e alopecia que são facilmente revertidos com a finalização do tratamento. ^[30]

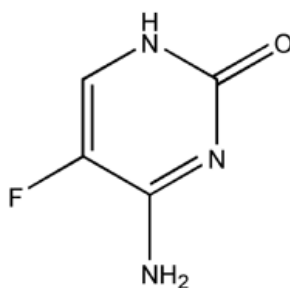


Figura 21 - Estrutura química do Flucitosina. (Fonte: <http://www.doctorfungus.org/>)

Sara José Guiomar Palmeira
Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas
Micoses Sistêmicas

Tabela 1 - Regime terapêutico recomendado para as micoses sistêmicas (Fonte: Chisholm-Burns, M., Wells, B., Schwinghammer, T., Malone, P., Kolesar, J., Rotschafer, J., Dipiro, J., *Pharmacotherapy, Principles and Practice*, McGraw-Hill, 2008.)

Micose	Regime Terapêutico Recomendado
Histoplasmose	
Leve a moderada	Observação ou Itraconazol 200 mg/dia Via Oral, durante 6 a 12 semanas
	Itraconazol 200 mg/dia Via Oral, durante 6 a 12 semanas Ou Via IV 200 mg durante 12 horas por dia, depois, 200 mg durante 24 horas (exceto se afetar o SNC)
	Fluconazol 12 mg/kg/dia Via Oral, durante 6 a 12 semanas.
Severa, incluindo afetação do SNC e Doentes Imunocomprometidos	Anfotericina B 0,7 mg/kg/dia via IV Ou Anfotericina B Lipossomal 3 a 5 mg/kg/dia, durante 12 semanas ou até estar clinicamente estável.
Blastomicose	
Leve a moderada	Itraconazol 200 mg/dia Via Oral, durante 6 meses Ou
Severa, incluindo afetação do SNC e Doentes Imunocomprometidos	Fluconazol 6 a 12 mg/kg/dia Via Oral Anfotericina B 0,7 mg/kg/dia Via IV, até o doente estar clinicamente estável, depois, Itraconazol ou Fluconazol 800 mg/dia Via Oral, durante 6 meses.
Coccidioidomicose	
Leve a Moderada	Observação ou Itraconazol 200 mg 12/12horas Via Oral, durante 6 a meses Ou
Infeção disseminada ou Pneumonia difusa.	Fluconazol 6 a 12 mg/kg/dia Via Oral Anfotericina B 1 a 1,5 mg/kg/dia (dose e frequência diminuem à medida que se verificam melhoras) Ou

	Formulação Lipídica de Anfotericina B
Criptococose	
Isolado Pulmonar Infeção pulmonar severa e meningite	Fluconazol 6 mg/kg/dia Via IV ou Oral, durante 6 a 12 meses. Indução: Anfotericina B 0,7 a 1 mg/kg/dia + Flucitosina 100 mg/kg/dia Via Oral, dividida em 6 horas, durante 2 semanas Consolidação: Fluconazol 6 a 12 mg/kg/dia durante 10 semanas Segunda Linha: Fluconazol + flucitosina durante 2 semanas e depois fluconazol durante 10 semanas. Ou Anfotericina B + fluconazol durante 2 semanas e depois fluconazol durante 10 semanas Ou Anfotericina B Lipossomal 5 mg/kg/dia durante 2 semanas e depois fluconazol durante 10 semanas.
Paracoccidioidomicose	
Leve a moderada	Itraconazol 200 mg/dia Via Oral, durante 6 meses
Severa	Anfotericina B 0,7 mg/kg/dia Via IV, até o doente estar clinicamente estável, depois, Itraconazol ou Fluconazol 800 mg/dia Via Oral, durante 6 meses

5.4. Perspetivas Futuras

Foram estudados novos compostos triazólicos (voriconazol, ravuconazol e posoconazol), de modo a que fosse possível obter compostos com melhor atividade antifúngica e melhores características farmacocinéticas e farmacodinâmicas, relativamente aos que existem. ^[30]

A toxicidade e as interações medicamentosas são outras características que se pretendem melhorar com o desenvolvimento de novos fármacos que pertençam a uma classe conhecida. ^[30]

Existem ainda estudos que demonstram que a vacinação pode ser útil na prevenção de uma infeção ou reinfeção, mas ainda não se encontra nenhuma disponível no mercado. ^[28,29]

Estes estudos mostram que as vacinas antifúngicas conferem proteção através das células T e de anticorpos. As que atuam através das células T mediam a resistência adquirida pela produção de citocinas inflamatórias que regulam o fluxo e morte pelos fagócitos. ^[28,29]

O desenvolvimento das células T específicas do recetor permite a observação da diferenciação celular das células CD4 específicas do antígeno e das células de memória, durante a infeção. ^[28,29]

As células Th1 e Th17 são usadas de modo a que as vacinas sejam eficazes na imunização. Uma resposta das células Th1 mediada pela IL-12 é considerada essencial para a imunização contra fungos dimórficos e outros fungos patogénicos. As células Th1 produzem citocinas que estão relacionadas com a defesa mediada por fagocitose contra agentes infecciosos intracelulares, como INF- γ , IL12 e TNF- α . ^[28,29]

As células Th17 e IL-17 têm um papel importante durante as infeções primárias em hospedeiros não imunes. ^[28,29]

As células Th17 podem ser incorporadas em vacinas uma vez que permitem uma rápida resposta logo após exposição ao fungo. Estas protegem contra os agentes das micoses sistêmicas, no caso de blastomicose, histoplasmoze e coccidioidomicose. Elas estimulam a síntese de neutrófilos e macrófagos para o espaço alveolar, e mediam a resistência dos fungos dimórficos. ^[28,29]

As vacinas vivas não conferem proteção contra infeções fúngicas e de virulência atenuada, apesar destas serem as mais eficientes na condução da resposta das células Th17. Assim, nas infeções fúngicas as vacinas atenuadas são as mais seguras, pois permitem máxima proteção, indução de imunidade e produção de células de memória. ^[28,29]

As investigações de novos fármacos são necessárias de modo a obter uma melhor dosagem, segurança e eficácia clínica, de modo a melhorar os resultados dos tratamentos das infeções.

6. Conclusão

Cada vez mais se verificam infeções fúngicas sistêmicas, sendo este um dos problemas mais graves a nível hospitalar. O aumento destas infeções pode dever-se ao fato dos fungos se adaptarem às condições adversas, tornando-se resistentes aos fármacos usados, e ao aumento da população de risco, os imunocomprometidos.

As micoses sistêmicas apresentam uma distribuição a nível mundial, em que a maioria é endémica no continente americano, e afetam pessoas de qualquer idade. Os casos observados fora da zona endémica podem dever-se a uma transferência dos fungos da área endémica para outras áreas, a uma reativação endógena ou a um erro de diagnóstico. Assim, o conhecimento da morfologia dos agentes patogénicos e o diagnóstico são fundamentais para o tratamento adequado destas infeções.

As micoses são tratadas com agentes antifúngicos e, ao longo dos anos, tornou-se necessário o desenvolvimento de novos fármacos devido ao aparecimento de resistências, à toxicidade e efeitos adversos dos fármacos, de modo a obter um tratamento eficiente, com menos reações adversas, interações medicamentosas e com amplo espetro.

Os polienos, mais precisamente a Anfotericina B, foram os primeiros a ser usados no tratamento das infeções fúngicas. Mas, a toxicidade associada à Anfotericina B levou a que fosse necessária a investigação e o desenvolvimento de novos fármacos, originando o desenvolvimento dos azóis (imidazóis e triazóis).

Hoje em dia estão em investigação ainda novos fármacos antifúngicos e até mesmo vacinas que podem ser usadas na profilaxia das infeções.

Podemos concluir que, um diagnóstico eficiente, que proporcione um início de terapêutica mais rápido e uma escolha adequada do fármaco a usar, é fundamental nestas infeções. No caso de indivíduos imunocomprometidos, os medicamentos que aumentam a capacidade de resposta são, também, importantes. Então, de modo a que a terapêutica selecionada seja a mais eficaz, segura e eficiente deve ter-se em conta os parâmetros farmacocinético e farmacodinâmicos dos fármacos.

Bibliografia

- [1] Ferreira, W. e Sousa, J., *Microbiologia, Volume 2*, LIDEL, Lisboa, Maio 2000.
- [2] Murray, P., Rosenthal, K. Pfealler, M., *Microbiologia Médica, 5ª Ed*, Elsevier, Rio de Janeiro, 2006.
- [3] Pappas, P. (2004). Blastomycosis. *Seminars in Respiratory and Critical Care Medicine*. 25(2).
- [4] Harris, J., Blaney, D., Lindsley, M., Zaki, S., Paddock, C., Drew, C., Johnson, A., Landau, D., Vanderbush, J., Baker, R. (2011). Blastomycosis in Man After Kinkajou Bite. *Emerging Infectious Diseases*. 17(2):268-270.
- [5] Tsang, C., Tabnak, F., Vugia, D., Benedict, K., Chiller, T., Park, B. (2013). Increase in Reported Coccidioidomycosis. *Morbidity and Mortality Weekly Report*. 62 (12):217-221.
- [6] Coccidioidomycosis (valley Fever) - Symptoms of Coccidioidomycosis (Valley Fever) (2012). *Centers for Disease Control and Prevention*. Consultado a Julho de 2013, em: <http://www.cdc.gov/fungal/coccidioidomycosis/symptoms.html>.
- [7] Histoplasmosis (2012). *Centers for Disease Control and Prevention*. Consultado a Julho de 2013, em: <http://www.cdc.gov/fungal/histoplasmosis/>.
- [8] Histoplasma capsulatum (2013). *Mycology Online*, The University of Adelaide, School of Molecular and Biomedical Science. Consultado em Julho de 2013, em: http://www.mycology.adelaide.edu.au/Fungal_Descriptions/Dimorphic_Pathogens/Histoplasma/.
- [9] Histoplasmosis - Risk and Prevention (2012). *Centers for Disease Control and Prevention*. Consultado em Julho de 2013, em: <http://www.cdc.gov/fungal/histoplasmosis/risk-prevention.html>.
- [10] O'Keefe, A., Frederick, J., Harmon, B., Safraneck, T., Buss, B., Park, B., Yeoman, K. (2012). Notes from the Field: Histoplasmosis Outbreak Among Day Cam Attendees. *Morbidity and Mortality Weekly Report*. 61(37):747-748.

- [11] Histoplasmosis - Diagnosis and Testing of Histoplasmosis (2012). *Centers for Disease Control and Prevention*. Consultado em Julho de 2013, em: <http://www.cdc.gov/fungal/histoplasmosis/diagnosis.html>.
- [12] Marques, S.A. (2013). Paracoccidioidomycosis: Epidemiological, Clinical, Diagnostic and Treatment up- dating. *An Bras Dermatol*. 88(5):700-11.
- [13] Baumgarten, K., Valentine, V., Garcia-Diaz, J. (2004). Primary Cutaneous Cryptococcosis in a Lung Transplant Recipient. *Southern Medical Journal*. 67(7).
- [14] Barclay, L. (2013). Infectious Disease Diagnosis: New Guideline on Lab Tests. *Medscape Medical News*.
- [15] Kozubowski, L., Heitman, J. (2012). Profiling a Killer, The Development of *Cryptococcus neoformans*. *FEMS Microbiology Reviews*. 36(1):78-94.
- [16] Vecchiarelli, A., Pericolini, E., Gabrielli, E., Samyr, K., Perito, S., Cenci, E., Monari, C. (2013). Elucidating the immunological function of the *Cryptococcus neoformans* capsule. *Future Microbiology*. 8(9):1107-1116.
- [17] Coagliati, M. (2013). Global Molecular Epidemiology of *Cryptococcus neoformans* and *Cryptococcus gattii*: An atlas of Molecular Types. *Scientifica* (Cairo). 2013: 675213.
- [18] Spinello, A. (2013). New Insights into HIV/AIDS- Associated *Cryptococcosis*. *ISRN AIDS*. 2013: 471363
- [19] Prata, A. (2007). *Diagnóstico Laboratorial de Micose Humanas- Métodos Convencionais vs Métodos Moleculares*. Tese de Mestrado em Microbiologia. Departamento de Biologia, Universidade de Aveiro. 2007
- [20] Lewis, R. (2011). Current Concepts in Antifungal Pharmacology. *Mayo Clinic Proceedings*. 86(8): 805–817.
- [21] Formulário Hospitalar Nacional de Medicamento, 9ª edição. Infarmed, Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde I.P.
- [22] Prontuário Terapêutico- 11 (2012). Infarmed- Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde, I.P./ Ministério de Saúde.

- [23] Saccente, M., Woods, G. (2010). Clinical and Laboratory Update on Blastomycosis. *Clinical Microbiology Reviews*. 23(2):367-381.
- [24] Sondermeyer, G., Lee, L., Gilliss, D., Tabnak, F., Vugia, D. (2013). Coccidioidomycosis- Associated Hospitalizations. *Emerging Infectious Diseases*. 19(10):1590-1597.
- [25] Brown, J., Benedict, K., Park, B., Thompson, G. (2013). Coccidioidomycosis: epidemiology. *Clinical Epidemiology*. 5: 185-197.
- [26] Wang, Z., Wen, S., Ying, K. (2011). A case study of imported pulmonary Coccidioidomycosis. *Journal of Zhejiang University SCIENCE B*. 12(4); 298-302.
- [27] Armas, M., Ruivo, C., Alves, R., Gonçalves, M., Teixeira, L. (2012). Paracoccidioidomicose pulmonar: relato de caso clínico com aspetos em tomografia computadorizada de alta resolução. *Revista Portuguesa de Pneumologia*. 18:190-3.
- [28] Wüthrich, M., Gern, B., Hung, C., Ersland, K., Rocco, N., Pick-Jacobs, J., Galles, K., Filutowicz, H., Warner, T., Evans, M., Cole, G., Klein, B. (2011). Vaccine-induced protection against 3 systemic mycoses endemic to North America requires Th17 cells in mice. *The Journal of Clinical Investigations*. 121(2): 554-568.
- [29] LeibundGut-Landmann, S., Wüthrich, M., Hohl, T. (2012). Immunity to Fungi. *Current opinion in immunology*. 24(4): 448-458.
- [30] Rang, H., Dale, M., Ritter, J., Flower, R., *Farmacologia*, 6ª Ed, Elsevier, 2008.
- [31] Ghannoun, M., Rice, L. (1999). Antifungal Agents: Mode of Actions, Mechanisms of Resistance, and Correlation of These Mechanisms with Bacterial Resistance. *Clinical Microbiology Reviews*. 12(4): 501-517.
- [32] Bergold, A., Georgiadis, S. (2004). Novidades em Fármacos Antifúngicos: Uma Revisão. *Visão Acadêmica, Curitiba*. 5(2): 159 -172. ISSN: 1518-5192.
- [33] Minneman, K., Wecker, L., *Brody- Farmacologia Humana*, 4ª Ed, Elsevier, 2006.