

CONTRIBUIÇÃO PARA O ESTUDO DA "BLASTOMICOSE-INFECÇÃO". INQUÉRITO COM A PARACOCCIDIOIDINA. ESTUDO SOROLÓGICO E CLÍNICO-RADIOLÓGICO DOS PARACOCCIDIODINO-POSITIVOS

Carlos da Silva LACAZ⁽¹⁾, Manoel Caetano Rocha PASSOS Filho⁽²⁾,
Celeste FAVA Netto⁽³⁾ e Baraquet MACARRON⁽²⁾

RESUMO

Os autores efetuaram um estudo com a paracoccidiodina (preparada e padronizada por Mackinnon) em 529 indivíduos aparentemente sadios que se haviam submetido a exame abreugráfico.

A paracoccidiodina utilizada foi representada por um filtrado do *Paracoccidoides brasiliensis* (cultivo leveduriforme) em caldo peptonado a 1%, glicosado a 2%, com 200 µg de tiamina por litro (pH = 7,0). Crescimento em estufa, a 37°C. Diluída a 1/10 e a 1/100, foi injetada dentro de 48 horas após a referida diluição.

A paracoccidiodina-filtrado é superior à paracoccidiodina-suspensão, porque esta última freqüentemente conduz a resultados inespecíficos. Discutem os autores a possibilidade de a paracoccidiodina oferecer reações cruzadas com a histoplasmina.

Os indivíduos que responderam positivamente ao teste da paracoccidiodina foram examinados sob o ponto de vista clínico, além de submetidos a exame radiográfico dos pulmões (filmes de 30 x 40), e exames sorológicos (reações de fixação do complemento pelas técnicas de Wadsworth, Maltaner & Maltaner e Stein Van Ngu e pesquisa de precipitinas).

Em 25 indivíduos considerados normais, verificaram os autores positividade da prova de paracoccidiodina, sendo que em 7 a positividade se processou apenas com a diluição a 1/10 do referido antígeno e em 18 o teste se manifestou positivo com as diluições de 1/10 e a 1/100. A incidência percentual de positividade foi de 4,72. A análise dos dados revela ausência de positividade de tais provas em indivíduos de 0 a 19 anos.

A percentagem dos paracoccidiodino-positivos em um grupo limitado e, principalmente em indivíduos de 30 a 50 anos, oferece provas da existência da "blastomicose-infecção", principalmente quando a tais exames se aliam dados sorológicos.

Os exames radiológicos realizados nos 25 reatores à paracoccidiodina revelaram imagens anormais em 9 casos, constituídas por nódulos, pequenas condensações ou acentuado exagêro da trama bronco-vascular. Esses achados constituem elementos que, isoladamente, são destituídos de valor para o diagnóstico de "blastomicose-infecção" ou de formas iniciais de "blastomicose-doença". A observação, porém, de alguns casos com provas cutâneas positivas à paracoccidiodina, ao lado de achados sorológicos positivos e quadro radiológico com processos pulmonares

Inst. Med. Trop. São Paulo — Dep. Microbiol. e Imunol. (Prof. C. S. Lacaz), e Inst. Pesquisas Clemente Ferreira.

(¹) Prof. Cated. de Microbiol. e Imunol.

(²) Médicos do Inst. Pesquisas Clemente Ferreira.

(³) Assistente de Microbiol. e Imunol.

incipientes, conduz necessariamente ao emprêgo de medicações específicas para a blastomicose sul-americana, tratando-se tais pacientes antes do achado micológico que confirme o diagnóstico.

Nos comentários finais que estabelecem, os autores assinalam que os dados clínico-radiológicos e imuno-alérgicos acumulados autorizam a acreditar na existência de formas subclínicas de blastomicose sul-americana, devendo as observações prosseguirem para a melhor caracterização e conceituação desses processos incipientes provocados pelo *Paracoccidioides brasiliensis* no parênquima pulmonar.

INTRODUÇÃO

A “blastomicose sul-americana”, observada pela primeira vez em São Paulo, por ADOLFO LUTZ¹⁶, apresenta grande importância médica e social. Registrada em quase todos os países do continente sul-americano, pela freqüência e gravidade de suas formas anátomo-clínicas, esta infecção micótica tem sido estudada sob vários aspectos, procurando-se contribuir para o seu melhor conhecimento. Constitui, segundo FIALHO⁸, problema de saúde pública dos mais importantes para o nosso meio.

Em 1946, FIALHO⁸ discutiu a possibilidade de ser o *Paracoccidioides brasiliensis* capaz de provocar lesões pulmonares, com regressão espontânea, isto porque, em um dos casos que examinou, do ponto de vista histológico, verificou processo de organização conjuntivo-histiocitária, com formação de nódulos fibrosos e início de calcificação em um dos nódulos. Tais lesões, com a presença de raros parasitas, mal se percebiam na massa do tecido pulmonar.

Estava o problema aberto para novos estudos, quando LACAZ¹⁴ publicou inquérito com paracoccidioidina (filtrado de culturas de *Paracoccidioides brasiliensis* em meio de Smith), em 330 pacientes não blastomicóticos, obtendo 26 provas positivas (7,8%). Tendo trabalhado com paracoccidioidina pura, não diluída, discutiu as várias hipóteses pelas quais poder-se-ia explicar a positividade da referida prova, inclusive a “blastomicose-infecção”, sob a forma de lesões pulmonares assintomáticas ou com sintomatologia frustra.

Como quase todos os outros pesquisadores trabalharam com paracoccidioidina na indagação que efetuaram, torna-se necessário breve apanhado sobre tal antígeno, ou melhor,

tais antígenos, já que a técnica de sua preparação não está, ainda, perfeitamente padronizada.

Em 1927 FONSECA & ARÊA LEÃO¹⁰ ensaiaram tal prova em 2 casos de blastomicose sul-americana, trabalhando com antígeno obtido em caldo, pH 7,4, de culturas do *Paracoccidioides brasiliensis* (naquela época por eles denominado de *Coccidioides immitis*).

Em 1941 ALMEIDA & LACAZ² utilizaram paracoccidioidina-filtrado (19 amostras de *Paracoccidioides brasiliensis* cultivadas a 37°C, em caldo-Sabouraud, durante alguns meses). Discutindo o significado da reação à paracoccidioidina, ALMEIDA & LACAZ³, em 1942, referiam ser a mesma fugaz na blastomicose sul-americana, pois dificilmente a prova se mantém depois de 48 horas.

ALMEIDA, LACAZ & CUNHA⁴, desejando melhor estudar essa prova, prepararam três antígenos a que chamaram paracoccidioidinas I, II e III. A paracoccidioidina I consiste em filtrado de 19 amostras de *P. brasiliensis* cultivadas em caldo-Sabouraud, à temperatura de 22-26°C, durante 3 meses. A paracoccidioidina II consiste em suspensão, em solução fisiológica fenicada a 0,5%, após agitação com pérolas de vidro, de 19 amostras de *P. brasiliensis*, cultivadas em gelose-chocolate (cultivo leveduriforme). Aquecimento da suspensão-mãe a 80°C durante 30 minutos, três dias sucessivos. Suspensão a 1/10 e a 5%. A paracoccidioidina III consiste em suspensão de pus ganglionar, rico em elementos parasitários, diluído a 1/10 em solução fisiológica e aquecido a 70°C, 30 minutos, em 3 dias consecutivos.

Ainda em 1945, NEVES DA SILVA²², em Pôrto Alegre, preparou paracoccidioidina a

partir de pus caseoso obtido do testículo de cobaios inoculados com material de lesões blastomicóticas. A secreção purulenta foi diluída em solução fisiológica a 1/15 e tinalizada 3 dias a 75°C, durante 1 hora.

LACAZ¹³, utilizando paracoccidioidina preparada com cultivo leveduriforme de uma única amostra de *P. brasiliensis*, verificou em 26 casos de blastomicose, 18 reações positivas, 2 duvidosas e 6 negativas; vale referir que o mesmo autor observou 5 pacientes de blastomicose sul-americana reagindo positivamente à blastomicetina, preparada por Norman F. Conant, com amostra leveduriforme de *Blastomyces dermatitidis* (após aquecimento a 56°C, durante 2 horas).

A não ser o trabalho de LACAZ¹⁴, todos os outros descrevem o emprêgo da paracoccidioidina com finalidade diagnóstica, sem referência ao problema da “blastomicose-infecção”. Verifica-se, também, que tal prova não é utilizada rotineiramente no diagnóstico da “blastomicose-doença”, por não ser dotada de alta sensibilidade. Assinale-se, ainda, a falta de padronização de todos os antígenos até então preparados.

Os resultados obtidos por diferentes autores em inquéritos com paracoccidioidina, utilizando diversos tipos e concentrações de antígenos, vêm referidos no quadro I.

Dos trabalhos consultados conclui-se que a paracoccidioidina-filtrado é superior à pa-

QUADRO I

Resultados de inquéritos com paracoccidioidina, em indivíduos não portadores de “blastomicose-doença”

Autores	Nº de indivíduos examinados	Positividade (%)	Tipo e concentração de paracoccidioidina	Local onde se efetuou o inquérito
LACAZ ¹⁴	330	7,8	Paracoccidioidina-filtrado. Antígeno puro.	São Paulo
NEGRONI <i>et al.</i> ¹⁵	64	4,68	Paracoccidioidina-filtrado, a 1/10.	Argentina
NEGRONI & BRIZ DE NEGRONI ¹⁸	5,46	Paracoccidioidina, a 1/10.	Argentina
MACKINNON <i>et al.</i> ¹⁷	537	2	Paracoccidioidina-filtrado. Antígeno diluído a 1/10.	Uruguai
CARVALHO ⁵	475	4,2	Paracoccidioidina-filtrado, a 1/10.	Rio de Janeiro
OLIVEIRA ²⁰	220	1,7	Paracoccidioidina, a 1/100.	Rio de Janeiro
.....	110	3,3	Paracoccidioidina-filtrado, a 1/10.	Paraná
.....	110	4,5	Paracoccidioidina-filtrado, a 1/10.	Santa Catarina
HOUNIE ¹¹	30	—	Paracoccidioidina-filtrado, a 1/10.	Montevidéo
HOUNIE & ARTAGAVEY-TIA-ALLENDE ¹²	12	25	Paracoccidioidina-filtrado, a 1/10.	Soriano (Uruguai)
.....	12	41,66	Paracoccidioidina-filtrado, a 1/10.	Montes R. Negro (Uruguai)
AGUIRRE ¹	137	—	Paracoccidioidina-filtrado (não há referências à concentração).	Chile
DOUAT & DIAS ⁶	300	8	Paracoccidioidina-filtrado, a 1/10.	Rio de Janeiro

racoccidioidina-suspensão, porque esta última freqüentemente conduz a resultados inespecíficos. Quanto à paracoccidioidina-filtrado, desde que diluída, poderia, segundo alguns autores, prestar-se para o diagnóstico da "blastomicose-infecção". Assim, MACKINNON & col.¹⁷ referem que a paracoccidioidina-filtrado a 1/100, por eles preparada, dá requisitos de especificidade, ao passo que a 1/10 ela oferece, também, resultados positivos na histoplasmose e coccidioidomicose. LACAZ¹⁵ observou o inverso, isto é, que certos doentes de blastomicose reagem positivamente à histoplasmina. Não há dúvida de que a prova da paracoccidioidina-filtrado, considerada isoladamente, não oferece segurança para o diagnóstico da "blastomicose-doença"; aliás, êste, como outros antígenos micóticos, a exemplo da histoplasmina e da coccidioidina, devem ser utilizados preferentemente em inquéritos epidemiológicos, pois com fins diagnósticos mostram causas de êrro.

Face a um indivíduo com reação de paracoccidioidina positiva a 1/10 ou a 1/100, impõe-se afastar a possibilidade de uma reação cruzada com histoplasmose, se bem que MACKINNON & col.¹⁷ refiram que esta prova cruzada não se observa quando o antígeno está diluído a 1/100. Lançando-se mão de provas sorológicas, encontramos novos argumentos para poder afirmar, sem prejuízo de outras investigações que formas subclínicas de blastomicose sul-americana devem ocorrer.

MATERIAL E MÉTODO

Fêz-se a prova cutânea com a "paracoccidioidina Mackinnon" em indivíduos aparentemente sadios que procuravam o "Instituto de Pesquisas Clemente Ferreira" para fins de exame abreugráfico, sobretudo para obtenção de carteira de saúde, matrícula em colégios e vacinação BCG. A paracoccidioidina utilizada nos foi gentilmente enviada pelo Dr. Juan E. Mackinnon. Trata-se de um filtrado de cultivo leveduriforme do *P. brasiliensis* em caldo peptonado a 1%, glicosado a 2%, com 200 µg de tiamina por litro (pH 7,0). Crescimento em estufa, a 37°C. A paracoccidioidina diluída (a 1/10 e 1/100) foi utilizada dentro de 48 horas

após a referida diluição, dada a labilidade do antígeno diluído.

Foram examinadas 606 pessoas, das quais 77 deixaram de comparecer para leitura da reação, restando amostragem útil de 529.

Foi preenchida uma ficha para cada caso, contendo dados de identificação, procedência, tempo de permanência na Capital de São Paulo, interrogatório sobre possível contato com blastomicose, resultados do exame clínico, do exame abreugráfico dos pulmões, da prova cutânea com a paracoccidioidina a 1/100 e 1/10, reação de fixação do complemento e prova de precipitinas.

A totalidade dos indivíduos submeteu-se a exame abreugráfico e à prova cutânea com a paracoccidioidina. Os que responderam positivamente foram examinados sob o ponto de vista clínico, além de submetidos a exame radiográfico dos pulmões (filmes de 30 x 40) e exames sorológicos (reações de fixação do complemento pelas técnicas de Wadsworth, Maltaner & Maltaner, Stein-van Ngu e pesquisa de precipitinas).

A leitura da prova cutânea foi efetuada 48 horas após a injeção intradérmica do antígeno (0,1 cm³). O critério de leitura adotado foi idêntico ao utilizado para a prova da histoplasmina, pela Federal Security Agency (Serviço Público de Saúde dos Estados Unidos, Washington). Assim, após 48 horas à injeção do antígeno, os diâmetros transversais das áreas de eritema e pápula eram medidos, classificando-se as reações em:

Positiva — Pápula medindo 5 mm ou mais.

Duvidosa — Pápula medindo menos de 5 mm no maior diâmetro, com ou sem eritema; ou eritema somente, medindo mais de 5 mm.

Negativa — Ausência de pápula, ou eritema medindo menos de 5 mm.

RESULTADOS

Efetuada 529 leituras com "paracoccidioidina-filtrado" (Mackinnon), previamente padronizada em cobaios inoculados com *P. brasiliensis*, verificou-se em 25 indivíduos

“normais” a ocorrência de provas positivas, sendo que em 7 a positividade se processou apenas com a diluição a 1/10 do referido antígeno e em 18 o teste se manifestou positivo com as diluições a 1/10 e a 1/100. A incidência percentual de positividade foi,

portanto, de 4,72. Os quadros II a IV mostram as diversas características dos indivíduos examinados e que apresentaram resultado positivo. A análise dos quadros anteriores revela ausência de positividade de tais provas em indivíduos de 0 a 19 anos.

QUADRO II

Distribuição dos resultados positivos, em indivíduos submetidos à prova cutânea com a “paracoccidioidina Mackinnon”, segundo o grupo etário, sexo e cor

Grupos etários	Nº de casos examinados	Casos com reação positiva							
		Nº de positivos		Sexo		Cór			
		Abs.	%	Masc.	Fem.	Branca	Prêta	Parda	Amarela
0 a 9	35	—	—	—	—	—	—	—	—
10 a 14	63	1	1,6	1	—	—	—	1	—
15 a 19	151	1	0,66	1	—	1	—	—	—
20 a 29	163	10	6,1	9	1	8	1	1	—
30 a 50	103	13	12,6	8	5	6	4	3	—
Acima de 50	14	—	—	—	—	—	—	—	—
Total	529	25	4,72	19	6	15	5	5	—

QUADRO III

Distribuição dos resultados positivos, em indivíduos submetidos à prova cutânea com a “paracoccidioidina Mackinnon”, segundo a naturalidade (ou procedência*) e o tempo de permanência na Capital de São Paulo, por grupos etários.

Grupos etários	Nº de casos examinados	Casos com reação positiva										
		Nº de casos positivos	Naturalidade				Tempo de permanência na Capital					Residentes no Interior
			São Paulo		Outros Estados		0-6 meses	1-2 anos	2-5 anos	5-10 anos	Mais de 10 anos	
			Capital	In'erior	Capital	In'erior						
0 a 9	35	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
10 a 14	63	1	—	1	—	—	—	—	—	—	1	—
15 a 19	151	1	1	—	—	—	—	—	—	—	1	—
20 a 29	163	10	—	2	1	7	1	2	—	5	2	—
30 a 50	103	13	—	4	—	9	—	1	2	2	7	1
Acima de 50	14	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Total	529	25	1	7	1	16	1	3	2	7	11	1

* A procedência dos pacientes, com uma única exceção, coincidia com a naturalidade.

QUADRO IV

Distribuição dos resultados positivos, de indivíduos submetidos à prova cutânea com a "paracoccidioidina Mackinnon", segundo a profissão e os grupos etários.

Profissão	Nº de casos positivos	Grupos etários (em anos)					
		Até 9	10-14	15-19	20-29	30-50	Acima de 50
Pedreiro	5	—	—	—	2	3	—
Mecânico	2	—	—	—	1	1	—
Lavrador	1	—	—	—	1	—	—
Marceneiro	1	—	—	—	1	—	—
Comerciante	2	—	—	—	1	1	—
Motorista	1	—	—	—	—	1	—
Canteiro	1	—	—	—	—	1	—
Oleiro	1	—	—	—	—	1	—
Operário	2	—	—	—	2	—	—
Doméstico	6	—	—	—	2	4	—
Sem profissão	3	—	1	1	—	1	—
Total	25	—	1	1	10	13	—

DISCUSSÃO

Considerada a prova da paracoccidioidina isoladamente, acreditamos não poder concluir sobre a possibilidade de uma "blastomicose-infecção", face a um reator positivo àquele antígeno. Na realidade, são tantos os fatores que podem interferir na positividade de tal prova que, considerada isoladamente, nada concluiremos de positivo. Reações cruzadas com a histoplasmina podem ocorrer, dificultando a interpretação daquela prova.

Devemos referir que todos os pesquisadores interessados pelo assunto estão de acordo com o fato de que a capacidade alergênica do *Paracoccidioides brasiliensis* é reduzida ou, então, não atingimos no preparo da paracoccidioidina a uma perfeição técnica desejada, necessitando-se trabalhar com novos tipos de antígeno, melhor padronizados, para inquérito epidemiológico mais acurado. Para o diagnóstico da "blastomicose-doença", a paracoccidioidina não oferece grande sensibilidade, tal como ocorre em outros tipos de provas intradérmicas com antígenos micóticos. Ressalte-se, ainda, que o material

humano manipulado não procede de zonas endêmicas selecionadas previamente, de blastomicose sul-americana, onde a incidência de positividade à paracoccidioidina poderia ser, eventualmente, maior. No entanto, apesar dessas restrições à prova da paracoccidioidina, quando considerada isoladamente, verificamos que tal antígeno nos proporcionou, quando diluído, uma percentagem de positividade relativamente pequena, com provas nitidamente positivas, em um grupo etário de 20 a 50 anos, mostrando que, provavelmente, esses indivíduos se infetaram com o *Paracoccidioides brasiliensis* ou, então, com fungos afins do ponto de vista antigênico. Não se trata de um antígeno que deva ser desprezado no seu estudo, apesar de sua labilidade, uma vez diluído, já que estas reações positivas se observaram em um grupo limitado de indivíduos (maior incidência — 12,6% no grupo etário de 30 a 50 anos), o que dá maior valor à prova, quando interpretada em conjunto com outros dados. É interessante assinalar que os resultados de inquéritos com paracoccidioidina em indivíduos não portadores de "blastomi-

cose-doença" (quadro I) nos oferecem resultados mais ou menos idênticos aos que obtivemos, a não ser o inquérito realizado por HOUNIE¹¹ e HOUNIE & ARTAGAVEYTI-ALLENDE¹² com 41,66% de provas positivas em trabalhadores dos Montes Rio Negro, no Uruguai. No entanto, se tais indivíduos, pelas suas condições de trabalho, se expõem mais comumente ao agente infetante, correrão o risco de adquirir a infecção, com maiores possibilidades. As lesões regressivas na blastomicose já foram percebidas do ponto de vista anátomo-patológico por AMADEU FIALHO⁹ através de pequenos processos inflamatórios que mal se distinguem no parênquima pulmonar.

Um indivíduo que se põe em contato com a forma infetante do fungo — o *Paracoccidioides brasiliensis*, poderá do ponto de vista teórico, ter processo inflamatório específico e, na dependência da dose infetante e de suas defesas imunitárias, poderá espontaneamente curar-se e até formar um nódulo calcificado, como FIALHO⁹ registrou em uma de suas observações. Fato diverso poderá também ocorrer, no qual o paciente apresenta reação inflamatória mais acentuada, com lesões nodulares ou pequenos infiltrados, conforme assinalam ROCHA PASSOS & NAHAS²¹. Esses autores acompanharam a evolução de um caso de blastomicose pulmonar que, partindo inicialmente de três pequenos infiltrados, por falta de diagnóstico exato e tratamento adequado, estendeu-se a todos os campos pulmonares no prazo de 6 meses. Na dependência do estado imuno-alérgico do indivíduo, a blastomicose pode evoluir de modo diferente, tal como ocorre em tantos outros processos infecciosos. É bem provável que numerosos casos de blastomicose tenham início pulmonar, com lesões mínimas e, posteriormente, por disseminação sanguínea, o parasita se localiza na pele e mucosas, favorecido neste último caso por condições especiais. A presença, por exemplo, de processos inflamatórios de outra natureza, preexistentes, tais como gengivite, parodontose, etc., cria condições favoráveis à implantação secundária do fungo. Não desejamos, porém, afirmar que a porta de entrada primária do fungo, no organismo humano, seja exclusivamente broncopulmonar.

No presente trabalho procuramos verificar o comportamento humoral dos indivíduos paracoccidioidino-positivos, através de duas provas sorológicas padronizadas por FAVA Netto⁷, do Departamento de Microbiologia e Imunologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. Assim, todos os paracoccidioidino-positivos, do nosso inquérito, foram submetidos à reação de fixação do complemento, por técnicas quantitativas (Wadsworth, Maltaner & Maltaner e Stein & van Ngu), bem como à prova de precipitinas com antígenos polissacarídico diluído a 1/5, 1/15, 1/45 e 1/135. Desejávamos verificar se "formas mínimas" ou residuais de blastomicose poderiam estimular também, ao lado de anticorpos cuti-sensibilizadores, anticorpos plasmáticos. Verificamos em 25 indivíduos paracoccidioidino-positivos, 5 provas de fixação do complemento com título significativo pela técnica de Maltaner & col., isto é, títulos acima de 2,0; em dois desses casos, a reação de Stein & van Ngu também se mostrou positiva. Seis reações de precipitação, com o antígeno diluído a 1/5 foram, igualmente, positivas.

Esses dados mostram que a resposta humoral ao agente infetante deve se processar, constituindo-se em elemento a mais para a melhor conceituação do problema da "blastomicose-infecção".

Devemos lembrar que, na maioria das vezes, a "micose-infecção" se caracteriza por ser completamente assintomática e a única evidência de que ela se verificou em determinado indivíduo, é a viragem da reação intradérmica que, de negativa, passa a ser positiva. Este fato verifica-se em 60% dos casos de coccidioidomicose-infecção, segundo SMITH & col.²³.

No entanto, outros casos há, tanto na coccidioidomicose como na histoplasmose, em que a infecção se acompanha de sintomas e sinais clínicos, geralmente confundidos com gripe. Nestes casos, a infecção se manifesta com fenômenos inflamatórios mais intensos e o estímulo antigênico é suficiente para despertar a produção de anticorpos circulantes.

A presente pesquisa tem o mérito de demonstrar que em dois casos, de 25 que reagiram positivamente à paracoccidioidina, indiscutivelmente existiam anticorpos humo-



Fig. 1 — Caso 2 — A. P. — Exame radiográfico de 11-7-58. Pincamento do diafragma esquerdo. Acentuação da trama broncovascular nos campos pulmonares inferiores, de ambos os lados.



Fig. 2 — Caso 4 — S. A. C. — Exame radiológico de 25-9-58. Imagem de opacidade arredondada, de bordas irregulares, de fraca densidade, com 1 cm de diâmetro, no campo pulmonar inferior, à direita.

rais revelados pelas provas de fixação de complemento. Isto não acontece em indivíduos normais, como demonstrou FAVA Netto⁷, em 1955. Parece-nos, portanto, lícito concluir que nestes casos houve infecção por *Paracoccidioides brasiliensis* em intensidade capaz de despertar a produção de anticorpos humorais.

O que resta a verificar é a evolução posterior destes casos, para saber se o comportamento será de uma «blastomicose-infecção» evoluindo para a cura ou se a evolução será a da «blastomicose-doença», com tendência a agravamento do quadro.

Nos outros casos em que somente uma das provas de fixação do complemento se revelou positiva e as provas de precipitinas fracamente positivas, encontradas em vários casos, devem ainda aguardar interpretação que se conseguirá com o acúmulo de maior experiência no assunto.

EXAMES RADIOLOGICOS

Os exames radiológicos, realizados nos 25 indivíduos que responderam positivamente à prova da paracoccidioidina, revelaram imagens anormais em 9 casos. Essas imagens



Fig. 3 — Caso 5 — A. S. B. — Exame radiográfico de 19-1-59. Opacidade nodular, de forte densidade, notadamente na zona central, na altura do 2º intercosto anterior esquerdo. Acentuado exagêro da sombra hilar e da trama broncovascular.

são constituídas por nódulos, pequenas condensações ou acentuado exagêro da trama broncovascular. Êsses achados constituem elementos que, isoladamente, são destituídos de valor para o diagnóstico de "blastomicose-infeção" ou de formas iniciais de "blastomicose-doença". Isso porque o tecido pul-

etiológicas diferentes, temos, freqüentemente, imagens radiológicas semelhantes.

Sabemos que as anormalidades encontradas poderiam ser devidas tanto à tuberculose como a diversas enfermidades broncopulmonares e dentre essas, também, a blastomicose sul-americana.



Fig. 4 — Caso 6 — J. F. D. — Exame radiográfico de 21-10-58. Imagem de opacidade estriada, de pequenas dimensões, na região infraclavicular esquerda.

monar reage de maneira idêntica frente às diversas agressões microbianas, gerando processos anátomo-patológicos exsudativos, produtivos, supurativos, necróticos, com suas características de evolução, estabilização, regressão ou cura. Assim, diante de causas

Deixamos de fazer a pesquisa de sensibilidade tuberculínica e infratuberculínica desses indivíduos, diante de dificuldades surgidas num inquérito de ambulatório, no qual indivíduos aparentemente sadios já se haviam submetido a numerosos exames clíni-

cos e laboratoriais, além das duas provas com a paracoccidioidina, a 1/100 e a 1/10. Entretanto, a prova tuberculínica, se positiva nesses casos, não invalidaria as hipóteses aqui levantadas e, se negativa, viria apenas reforçar essas mesmas hipóteses.

No caso 5 encontramos, ao exame radiológico dos pulmões, uma opacidade nodular, de forte densidade, sobretudo na zona central, de limites muito nítidos, na altura do 2º intercosto anterior esquerdo e acentuado exagêro da trama broncovascular e da sombra hilar. Pode tratar-se de nódulo residual de processo tuberculoso. Porém, esse achado radiológico é de um indivíduo procedente do meio rural, cuja prova com a paracoccidioidina foi positiva e a fixação do complemento pela técnica de Wadsworth, Maltaner & Maltaner forneceu um título de 16 e pela técnica de Stein & van Ngu, de 113. Essa correlação entre diversos dados e a ausência de sintomas ou sinais de outra localização do processo blastomicótico, sugere a possibilidade de um nódulo causado pela regressão espontânea de pequena lesão produzida pelo *Paracoccidioides brasiliensis*. Sabemos que esse tipo de lesão já foi encontrado em autópsias por FIALHO⁹, coexis-

tindo com formas granulomatosas bem discretas, da enfermidade de Lutz-Splendore-Almeida. FIALHO⁹ descreve essas lesões dizendo que a "organização conjuntivo-histiocitária, em torno delas estabelecida, é um cerco para limitá-las e infiltrá-las em seguida, transformando-as em nódulos fibrosos mais ou menos tatuados pelo carvão. Em um desses nódulos havia início de calcificação de forma irregular. Sempre achamos parasitas nestas lesões".

Os achados resultantes da positividade à prova cutânea com a paracoccidioidina e das provas sorológicas positivas, ao lado de quadros radiológicos anormais nos campos pulmonares, sugerem a necessidade de uma observação mais numerosa e mais prolongada desses indivíduos, para se verificar a evolução de tais processos.

Já iniciamos a observação de alguns processos pulmonares incipientes, atendendo o que nos sugere a reunião dos elementos propedêuticos anteriormente citados, começando a medicação contra a blastomicose, ainda quando os exames laboratoriais são negativos em relação à pesquisa do *Paracoccidioides brasiliensis*. Diante de provas positivas



Fig. 5 — Caso 15 — B. C. M. — Exame radiográfico de 12-9-58. Exagêro da trama broncovascular nos campos inferiores.



Fig. 6 — Caso 24 — E. B. C. — Exame radiográfico de 20-6-58. Exagêro da trama broncovascular no campo médio e região infraclavicular de ambos os pulmões, notadamente no lado esquerdo.

com a paracoccidioidina, de resultados sorológicos positivos, da exclusão de outras possibilidades diagnósticas mais consentâneas com o quadro radiológico e clínico, teremos que adotar duas condutas:

1) Observação periódica, a curto prazo, do paciente, logo após os primeiros exames e mais espaçada, posteriormente, nos casos de imagens muito limitadas, sugestivas de processo aparentemente residual.

2) Administração dos medicamentos utilizados no tratamento da blastomicose sul-americana e a observação do comportamento

das lesões, nos casos em que, pelas suas dimensões e características radiológicas, nos conduzam à necessidade de tal conduta.

Teríamos de proceder com a blastomicose sul-americana, dentro dos limites impostos pela ciência e pelo bom senso, como hoje fazemos em relação à tuberculose: tratando muitos casos antes do achado micológico que confirma o diagnóstico. Ou, pelo menos, orientados pelos dados da pesquisa relacionada neste inquérito, chegarmos à descoberta de casos iniciais de blastomicose sul-americana, modificando a situação atual do diagnóstico das formas muito avançadas, com

as desastrosas conseqüências conhecidas, notadamente em relação ao pulmão, onde as lesões cicatriciais extensas conduzem à insuficiência respiratória, às bronquiectasias e ao enfisema, sobrevindo posteriormente graves infecções secundárias.

Em trabalho anterior, PASSOS Filho & NAHAS²¹ apresentaram um caso de blastomicose sul-americana que, partindo de três pequenos infiltrados, por falta de diagnóstico exato antes de procurar nosso Serviço, evoluiu em 6 meses, lesando extensamente ambos os pulmões. Esse caso poderia ter sido diagnosticado precocemente, se uma seqüência de exames indicados fôsse praticada. O tratamento teria sido mais curto e as seqüelas prejudiciais reduzidas ao mínimo possível.

Os inquéritos do tipo que realizamos, com elementos fornecidos pela clínica, pela prova da paracoccidioidina, pelos dados da sorologia e pelo exame radiológico os pulmões, poderão em várias regiões do Estado e do País, contribuir para melhor conhecimento da enfermidade nas suas etapas iniciais e para maior êxito de seu tratamento.

SUMMARY

Contribution to the study of "Blastomycosis-infection". Survey with paracoccidioidin. Serologic and clinico-radiologic study of the paracoccidioidin-positive subjects.

The authors have utilized paracoccidioidin (prepared and standardized by Dr. Mackinnon) in an epidemiological research. The skin test was performed in 606 persons at the Clemente Ferreira Institute; these persons sought the Institution for pulmonary X-ray examination by the Abreugraphic method, and all of them were considered in good health.

The paracoccidioidin was a filtrate of yeast-like cultures of *Paracoccidioides brasiliensis*, grown at 37°C in broth containing 1% peptone, 2% dextrose and 200 mg thiamine per liter (pH 7.0). The filtrate was diluted at 1/10 and 1/100. These dilutions were utilized within 48 hours after preparation.

Every individual with a positive skin test was examined clinically and went through X-ray examination of lungs (30 x 40 films). Serological tests were performed by the complement fixation techniques of Wadsworth, Maltaner & Maltaner, and Stein & Van Ngu, as well as precipitin reaction. Positive skin tests were obtained in 25 of these individuals considered normal. In 7 of them the skin test was positive only with 1/10 dilution and in other 18 it was positive with both dilutions (1/10 and 1/100). The positivity obtained was, therefore, 4.72%. No positive tests were obtained in individuals in the ages from 0 to 19 years old.

The conclusion of the authors is that this percentage of skin reactors, mainly in the ages between 30 to 50 years, in connection with the demonstration of humoral antibodies in some of them, is indicative of "blastomycosis-infection".

The X-ray examinations of these individuals have shown abnormal findings in 9 of them, characterized by nodules or exaggerated broncho-vascular images. These findings alone have no diagnostic value in the "blastomycosis-infection" or in the initial forms of blastomycosis, because all the microbiological infections cause the same kind of reaction in the pulmonary tissue.

In one of the cases X-rays demonstrated a dull nodular opacity of pulmonary tissue, mainly in the central area, localized on the left side at the second intercostal space, at the anterior part, and with very well defined borders. This opacity was accompanied by exaggerated broncho-vascular image. This finding was in a person from the rural area, with positive skin test and positive complement fixation reaction, with titers of 16 and 113 respectively by the techniques of Wadsworth, Maltaner & Maltaner, and Stein & Van Ngu. This relationship of diverse data and absence of symptoms or signs of another localization of blastomycosis process is indicative of the possibility of a nodule caused by spontaneous regression of a small specific infection caused by *Paracoccidioides brasiliensis*.

The conclusion of the authors is that the finding of cases with positive skin tests and positive serological reactions associated with

pulmonary initial process shown by X-rays, will lead to specific treatment against South American blastomycosis. This treatment has to be done before mycological diagnosis in order to avoid the well-known bad consequences of the treatment done in the advanced stages of pulmonary blastomycosis. In these cases the consequence of the treatment is the incidence of scars in the pulmonary tissue leading to respiratory insufficiency. An epidemiological research of this type can be done in the various areas of the State of São Paulo and over other areas of Brazil. This will contribute to a better knowledge of initial forms of blastomycosis.

The authors point out the importance of the study of South American blastomycosis in our country where the incidence in the State of São Paulo was of 1,726 cases till 1959. The authors have made a review of the literature concerning "blastomycosis-infection" with results obtained by epidemiological researches through paracoccidioidin. The data show little incidence of positive skin tests, excepting the works of HOUNIE and of HOUNIE & ARTAGAVEYTIA-ALLENDE, in Uruguay (Montes do Rio Negro), where the incidence was of 41.66% of positive skin tests, obtained with paracoccidioidin at 1/10.

The "paracoccidioidin-filtrate" is better than the "paracoccidioidin-suspension" because the latter frequently gives non-specific results. The possibility of cross-reactions between paracoccidioidin and histoplasmin is discussed.

In the chapter concerning material and methods, the authors present charts with the distribution of individuals according to age, sex, race, nationality, naturality, origin and time of sojourn in the City of São Paulo, as well as the principal characteristics of the positive skin test individuals.

In the conclusion the authors point out that the accumulated data, clinical, radiologic and immuno-allergic, lead to the belief in the existence of sub-clinical forms of South American blastomycosis, but they think that these researches need be continued for a better understanding of these initial processes caused by *Paracoccidioides brasiliensis* in the pulmonary tissue.

REFERENCIAS

- 1 — AGUIRRE, S. P. — Estado actual de la micología médica en Chile. Relatório apresentado à "Reunión de Expertos Latino-americanos en Micología", Montevideo, 2-4 de março de 1957. Folheto mimeografado.
- 2 — ALMEIDA, F. & LACAZ, C. S. — I. Intradermo-reação com paracoccidioidina no diagnóstico do granuloma paracoccidióidico. II. A reação de Montenegro no granuloma paracoccidióidico. Folia clin. et biol., 13: 177-182, 1941.
- 3 — ALMEIDA, F. & LACAZ, C. S. — Valor das intradermo-reações no diagnóstico das micoses. An. Fac. Med. Univ. São Paulo, 18: 125-133, 1942.
- 4 — ALMEIDA, F.; LACAZ, C. S. & CUNHA, A. C. — Intradermo-reação para o diagnóstico da blastomicose sul-americana (granulomatose paracoccidióidica). Arq. brasil. Med., 35:267-272, 1945.
- 5 — CARVALHO, A. — Sobre o emprêgo da paracoccidioidina na cidade do Rio de Janeiro. Primeiros resultados baseados no estudo de 475 indivíduos. Rev. brasil. Tuberc., 21: 73-82, 1953.
- 6 — DOUAT, N. E. & DIAS, V. M. — Intradermorreações de paracoccidioidina, coccidioidina e histoplasmina. Resultados dos testes em 300 indivíduos. Rev. brasil. Tuber., 26: 663-668, 1958.
- 7 — FAVA Netto, C. — Estudos quantitativos sobre a fixação do complemento na blastomicose sul-americana, com antígeno polisacarídico. São Paulo, 1955. Tese de doutoramento.
- 8 — FIALHO, A. S. — Localizações pulmonares da "micose de Lutz". Anatomia patológica e patogenia. Rio de Janeiro, 1946. Tese de professorado.
- 9 — FIALHO, A. S. — Patogenia da blastomicose pulmonar. Rev. brasil. Tuberc., 24: 1531-1552, 1956.
- 10 — FONSECA, O. & LEÃO, A. E. A. — Réaction cutanée spécifique avec le filtrat de cultures de *Coccidioides immitis*. Compt. rend. Soc. Biol., 97:1796-1797, 1927.
- 11 — HOUNIE, P. — Blastomycosis sudamericana. Montevideo, 1956. Tese.
- 12 — HOUNIE, P. & ARTAGAVEYTIA-ALLENDE, R. C. — Encuesta sobre la sensibilidad al agente de la blastomycosis sudaamericana. An. Fac. Med. Montevideo, 42:27-32, 1957.
- 13 — LACAZ, C. S. — Blastomicose sul-americana. Reações intradérmicas com a paracoccidioidina, coccidioidina e blastomicetina. Rev. Hosp. Clín., 3:11-18, 1948.

- 14 — LACAZ, C. S. — Lesões pulmonares na blastomicose sul-americana. Inquérito preliminar realizado com a paracoccidioidina. Hospital, Rio de Janeiro, 39:405-422, 1951.
- 15 — LACAZ, C. S. — South American blastomycosis. An. Fac. Med. Univ. São Paulo, 29: 1-120, 1955/56.
- 16 — LUTZ, A. — Uma micose pseudococcídica localizada na boca e observada no Brasil. Contribuição ao conhecimento das hifoblastomycoses americanas. Brasil-méd., 22:121-141, 1908.
- 17 — MACKINNON, J. E.; ARTAGAVEYTIA-ALLENDE, R. C. & ARROYO, L. — Micosis profundas endêmicas. Nuevas orientaciones y adquisiciones clinicas. Importancia del problema en el Uruguay. An. Fac. Med. Montevideo, 38:428-445. 1953.
- 18 — NEGRONI, P. & BRIZ DE NEGRONI, C. — Micosis endêmicas. Congr. Internac. Patol. Comp., VI, Madrid, 1952. p. 89-96.
- 19 — NEGRONI, P.; BRIZ DE NEGRONI, C.; DAGLIO, C. A.; VIVANCOS, C. & BONATTI, A. — Estudios sobre el *Coccidioides immitis* Rixford et Gilchrist. XII. Cuarta contribución al estudio de la endemia argentina. Rev. argent. Dermatof., 36:269-275, 1952.
- 20 — OLIVEIRA, P. P. de — Contribuição à geografia da histoplasmina no Brasil. Hospital, Rio de Janeiro, 48:105-112, 1955.
- 21 — PASSOS Fº, M. C. R. & NAHAS, L. — Tratamento da blastomicose sul-americana, de localização pulmonar, pela 6-sulfanilamido-2,4-dimetilpirimidina. Hospital, Rio de Janeiro, 55:237-264, 1959.
- 22 — SILVA, N. N. da — Intradermo-reação para diagnóstico da blastomicose de Lutz. Arq. Depto. est. Saúde Rio Grande do Sul, 6:127-129, 1945.
- 23 — SMITH, C. E.; BEARD, R. R.; WHITING, E. G. & ROSENBERGER, H. G. — Varieties of coccidioidal infection in relation to the epidemiology and control of the diseases. Am. J. publ. Health., 36:1394-1402, 1946.

Recebido para publicação em 20 outubro 1959.