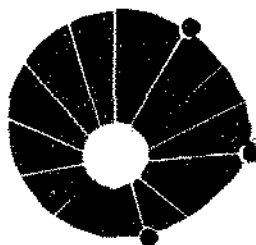


FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA



UNICAMP

HALBERT VILLALBA
cirurgião-dentista

**CARACTERÍSTICAS MICROSCÓPICAS DA
PARACOCCIDIOIDOMICOSE BUCAL**

Tese apresentada ao Curso de Biologia e
Patologia Buco-Dental, Faculdade de
Odontologia de Piracicaba, Universidade
Estadual de Campinas, para obtenção do Título
de Mestre em Ciências.

*Este exemplar foi
devidamente corrigido
conforme resolução CCTG 036/83
23/04/1998
[assinatura]*

PIRACICABA

- 1998 -

FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA

HALBERT VILLALBA

cirurgião-dentista

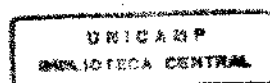
**CARACTERÍSTICAS MICROSCÓPICAS DA
PARACOCCIDIOIDOMICOSE BUCAL**

ORIENTADOR: PROF. DR. OSLEI PAES DE ALMEIDA

Tese apresentada ao Curso de Biologia e
Patologia Buco-Dental, Faculdade de
Odontologia de Piracicaba, Universidade
Estadual de Campinas, para obtenção do Título
de Mestre em Ciências.

PIRACICABA

- 1998 -



UNIDADE	BC
N.º CHAMADA:	
V.º	EX
TEMP. S	34,250
PROL	395/98
C	☐
D	☒
PREÇO	R\$ 11,00
DATA	16/06/98
N.º CPD	

CM-00112885-B

Ficha Catalográfica Elaborada pela Biblioteca da FOP/UNICAMP

V711c

Villalba, Halbert.

Características microscópicas da paracoccidioidomicose bucal / Halbert Villalba. -- Piracicaba, SP : [s.n.], 1998.
85 f.

Orientador : Prof. Dr. Oslei Paes de Almeida.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Odontologia de Piracicaba.

1. Paracoccidioidomicose. 2. Boca - Histopatologia I. Almeida, Oslei Paes de. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Odontologia de Piracicaba. III. Título.

Índices para o Catálogo Sistemático

1. Paracoccidioidomicose
2. Boca - Histopatologia



FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA



A Comissão Julgadora dos trabalhos de Defesa de Tese de **Mestrado**, em sessão pública realizada em 08/04/98, considerou o candidato aprovado.

1. Oslei Paes de Almeida

A handwritten signature in dark ink, appearing to be "Oslei Paes de Almeida", written over a horizontal line.

2. Luis Carlos Spolidorio

A handwritten signature in dark ink, appearing to be "Luis Carlos Spolidorio", written over a horizontal line.

3. Márcio Ajudarte Lopes

A handwritten signature in dark ink, appearing to be "Márcio Ajudarte Lopes", written over a horizontal line.

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho,

*aos meus pais, **Hedio R.T. Villalba e Olga F.Villalba,**
pelo amor, carinho, exemplo, companheirismo,
incentivo e oportunidades que sempre me deram.*

*aos meus irmãos, **Kathya, Hebert, Karin e Kristiane**,
amigos e exemplos de alegria e luta.*

*à **Cristiane Gentile**, pelo carinho, companheirismo,
paciência, generosidade, dedicação e apoio constante.*

AGRADECIMENTOS

*Ao meu orientador, Prof. Dr. Oslei Paes de Almeida,
pela dedicação profissional, incentivo, competência,
sapiência, temperança, apoio e exemplo de vida.*

À Faculdade de Odontologia de Piracicaba da Universidade Estadual de Campinas, na pessoa de seu diretor, Prof. Dr. José Ranalli, pelo acolhimento e pela oportunidade de intensificar e aprimorar meus conhecimentos.

Ao Prof. Dr. Mário F. de Góes, coordenador geral do curso de pós-graduação da FOP/UNICAMP.

Ao Prof. Dr. Carlos Roberto Hoppe Fortinguerra, coordenador do curso de pós-graduação em Odontologia da FOP/UNICAMP, pelo apoio e amizade.

Ao Prof. Dr. Luís Carlos Spolidório, do Departamento de Patologia da Faculdade de Odontologia de Araraquara – UNESP, pelo apoio, amizade, orientação, estímulo, dedicação, exemplo de luta e generosidade.

Ao Prof. Dr. Márcio Ajudarte Lopes, do Departamento de Diagnóstico Oral, área de Semiologia da Faculdade de Odontologia de Piracicaba – UNICAMP, pelas orientações profissionais e pessoais dadas, no intuito de engrandecer a minha formação.

Ao Prof. Dr. Jacks Jorge Júnior, pela amizade, companheirismo, orientações profissionais clínicas e acadêmicas prestadas com tanto conhecimento e competência.

Aos Professores Dr. Lourenço Bozzo, Dr. Edgard Graner, Ricardo D. Colleta e Pablo Agustin Vargas, da área de Patologia da FOP/UNICAMP, pela amizade, estímulo e apoio constantes.

Aos Professores Dr. Carlos Benatti Neto, Dr. Carlos Alberto de Souza Costa, Dr. Raphael Carlos Comelli Lia e a Dra. Maria Rita de Oliveira Brancini, do Departamento de Patologia da Faculdade de Odontologia de Araraquara – UNESP, pelo estímulo, apoio, amizade e iniciação no meio científico.

Ao Prof. Dr. Wellinton Dinelli, diretor da Faculdade de Odontologia de Araraquara - UNESP e professor do Departamento de Dentística Restauradora, pela amizade, orientação e apoio dado desde minha formação acadêmica.

Ao Dr. Paulo S. Saiki e ao Dr. Celso Rubens Vieira e Silva, pela paciência, amizade, companheirismo e valorosos ensinamentos profissionais e de vida.

Aos amigos do curso Pablo Agustin Vargas, Caio Cezar Randi Ferraz, Fábio de Abreu Alves, Michel Hyun Koo, Rodrigo Rached e Paulo Edelvar Corrêa Peres, pela inesquecível amizade e convivência.

Aos estimados amigos do curso de pós-graduação em Odontologia na área de Biologia e Patologia Buco-Dental da FOP/UNICAMP.

Aos funcionários da Disciplina de Patologia Adriano Luís Martins, Ana Cristina do Amaral, Maria Helena de V. Peron, Rosa Maria Fornasier e Adriano Rodrigues Cruz, pela convivência, amizade e colaboração neste trabalho.

À todos que, de alguma forma, contribuíram para a realização deste trabalho.

SUMÁRIO

SUMÁRIO

Capítulo	Página
1. Introdução.....	01
2. Revisão da Literatura.....	03
2.1. Células Fagocitárias na Paracoccidioidomicose.....	10
2.2. Paracoccidioidomicose Bucal.....	14
2.3. Histopatologia da Paracoccidioidomicose.....	17
3. Objetivos.....	23
4. Material e Métodos.....	25
5. Resultados.....	28
6. Discussão.....	48
7. Conclusões.....	62
8. Resumo.....	64
9. Summary.....	66
10. Referências Bibliográficas.....	68-85.

INTRODUÇÃO

INTRODUÇÃO

A paracoccidioidomicose é uma micose profunda, com ampla gama de manifestações clínicas e patológicas, conseqüentes a penetração do *Paracoccidioides brasiliensis* no hospedeiro, representando sério problema de doença infecciosa no Brasil e em outros países da América Latina (FRANCO et al., 1989). O *Paracoccidioides brasiliensis* é um fungo dimórfico que nos tecidos humanos mostra-se na forma de levedura, geralmente com múltiplos brotamentos (SAN BLAS & SAN BLAS, 1985; LACAZ, 1994).

Está bem estabelecido que as características da reação inflamatória dependem da interação do agente agressor com o hospedeiro. Um mesmo agente agressor pode estimular uma resposta predominantemente celular ou humoral, que pode ser modificada em casos de imunossupressão, com quadros clínicos e microscópicos variados (de BRITO et al., 1994). A formação de granulomas representa uma resposta de defesa efetiva do organismo, resultando na presença de poucos microorganismos, como ocorre na hanseníase tuberculóide (FRANCO et al., 1994). A manifestação bucal da paracoccidioidomicose ocorre na forma mucocutânea da doença, com envolvimento inicial dos pulmões, predominantemente em adultos do sexo masculino (de ALMEIDA et al., 1991). Na boca, as lesões geralmente envolvem várias áreas simultaneamente, com aspecto granular, eritematoso e ulcerado, chamado de moriforme. Muitas vezes o diagnóstico da doença é feito pelas lesões bucais e, embora os aspectos clínicos sejam bastante sugestivos, geralmente a confirmação é feita por citologia ou biópsia (de ALMEIDA et al., 1991; GONZAGA et al., 1995). O quadro microscópico caracteriza-se por hiperplasia pseudoepiteliomatosa, microabscessos intraepiteliais, infiltrado inflamatório mono e polimorfonuclear, presença de células gigantes e granulomas, além de quantidade variável do fungo na forma de levedura (de ALMEIDA et al., 1991; SCULLY et al., 1992; SPOSTO et al., 1994). Embora as características microscópicas das lesões sejam bem conhecidas, há poucas descrições microscópicas qualitativas e quantitativas dos parâmetros bucais da paracoccidioidomicose.

REVISÃO DA LITERATURA

Revisão da Literatura

A paracoccidioidomicose foi descrita inicialmente por LUTZ (1908a, 1908b) sendo sua denominação consagrada apenas em 1970 após reunião dos micólogos das Américas, na Colômbia. É uma micose profunda, que apresenta uma ampla gama de manifestações clínicas e patológicas, todas elas iniciadas por penetração do fungo no hospedeiro. O homem parece ser o único hospedeiro susceptível à infecção natural, e seu estudo assume importância cada vez maior, dado o aumento crescente dessa micose e, principalmente devido à gravidade de algumas de suas formas clínicas.

A paracoccidioidomicose se manifesta de forma endêmica na maioria dos países da América Latina como Argentina, Colômbia, Venezuela e principalmente no Brasil, onde se encontram cerca de 80% dos casos relatados (RESTREPO, 1985; FRANCO, 1987b; FRANCO et al., 1989). A paracoccidioidomicose é rara na Amazônia e no nordeste brasileiro, regiões úmidas e áridas respectivamente. Entretanto, 17 casos da doença foram descritos na região Amazônica durante o período de 1992-1994, e foi considerada a micose mais comum da região (FERREIRA et al., 1995). Com exceção de um caso em Trinidad, a micose não tem sido relatada nas ilhas do Caribe, nas Guianas, Suriname e no Chile. Na América Central, a paracoccidioidomicose tem sido descrita em todos os países, exceto Belize e Nicarágua (BRUMMER et al., 1993). Casos fora da América Latina, foram relatados em pessoas que permaneceram durante algum período em áreas endêmicas (CHIKAMORI et al., 1984; PADILHA-GONÇALVES, 1985; MANNS et al., 1996).

Seu agente etiológico, o *Paracoccidioides brasiliensis* (*P. brasiliensis*), classificado de forma definitiva por **ALMEIDA (1930)**, é um fungo dimórfico, que cresce a 37°C na forma de levedura, com parede dupla e múltiplos brotamentos em forma de roda de leme e à temperatura ambiente na forma de finos filamentos septados, sem estruturas típicas, dando origem ao micélio (**SAN BLAS & SAN BLAS, 1985; KASHINO et al., 1987**).

Nos tecidos é encontrado na forma de levedura, com aspecto arredondado, esférico ou oval e dupla membrana refringente. Na maioria das vezes exibem célula mãe com brotamentos múltiplos, ligados por um pedúnculo, que é sua característica mais evidente (**SAN-BLAS & SAN-BLAS, 1977; LACAS, 1994; TOLEDO et al., 1995**). A impregnação pela prata (Gomori-Grocott) e pelo ácido periódico de Schiff (P.A.S). passaram a ser utilizados para melhor detectar o fungo nas lesões.

Seu habitat ainda é desconhecido, o que dificulta o esclarecimento da história natural desta micose. Presume-se que os micélios e conídeos estejam presentes no solo, água, plantas e que penetrariam no hospedeiro pelas vias aéreas, atingindo principalmente os pulmões, dando origem a uma infecção subclínica que pode se disseminar para outros órgãos, por via linfo-hematogênica (**FRANCO et al., 1989**).

A paracoccidioidomicose tem um impacto econômico e social importante pois afeta, principalmente, trabalhadores rurais, em contato constante com a vegetação e o solo (**RESTREPO et al., 1970; MARQUES et al., 1983; FRANCO, 1994; BERNARD et al., 1997**). Na forma aguda, apesar de uma menor frequência, jovens de ambos os sexos são afetados em igual proporção e a doença geralmente é severa e disseminada, indicando que o *P. brasiliensis*

infecta tanto homens como mulheres. Entretanto, na doença crônica do adulto há predominância de homens infectados em relação às mulheres na faixa etária entre 30 a 49 anos, chegando à proporção de 25 homens para cada mulher afetada. Provavelmente, o número reduzido de mulheres afetadas esteja relacionado a um efeito protetor promovido pelos hormônios femininos.

Estudos "*in vitro*" demonstraram que estrógenos atuam inibindo a transformação de micélio ou conídea em levedura, evento fundamental na instalação da infecção (RESTREPO et al., 1984; SALAZAR et al., 1988). Paralelamente, foi demonstrada a presença de uma glicoproteína de 60Kda, identificada como receptor para o estradiol na membrana citoplasmática de *P. brasiliensis* tanto na fase micelial como leveduriforme, evitando a transformação da forma micelial em levedura (LOOSE et al., 1983).

A paracoccidioidomicose, como outras micoses profundas, manifesta-se sob a forma de infecção ou doença. A paracoccidioidomicose-infecção caracteriza-se pela ausência de sinais ou sintomas clínicos, embora ocorra o desenvolvimento de uma resposta imune específica, evidenciada pelo teste intradérmico com paracoccidioiodina (LACAZ et al., 1956). Apesar deste teste não responder em pacientes com a forma severa da doença (MENDES et al., 1971), devido a deficiência da imunidade celular (MENDES, 1975) associada ao aumento supressor da atividade das células T (MOTA et al., 1988).

O foco de infecção pode regredir com a destruição do fungo, permanecer na forma latente com fungos viáveis ou, dependendo das condições do hospedeiro e da virulência do fungo, progredir comprometendo diferentes órgãos ou sistemas, levando ao aparecimento de sintomas (FRANCO, 1987a). Mais raramente pode ocorrer apenas a formação de uma

lesão pulmonar solitária assintomática em forma de um nódulo paracoccidioidal, chamado de paracoccidioidoma. Há apenas dez casos relatados na literatura, sendo que comprovados com investigação histológica apenas 4 (ALVES DOS SANTOS et al., 1997).

As manifestações clínicas da micose são as de doença granulomatosa crônica apresentando uma gama de sinais e sintomas agrupados em dois padrões principais que definem as suas formas aguda e crônica (FRANCO et al., 1987b). A forma aguda é habitualmente severa, de evolução rápida, afetando predominantemente o sistema fagocitário mononuclear (baço, fígado, linfonodo e medula óssea). Nesta forma clínica, o envolvimento da mucosa é pouco freqüente acometendo 17 a 20% dos pacientes, sendo raro nos pulmões onde é observado em apenas 5% dos casos (BARBOSA, 1991). A forma crônica tem duração prolongada, freqüentemente excedendo 6 meses, instalação lenta e gradual e as lesões permanecem localizadas (forma unifocal) ou envolvem mais de um órgão ou sistema (forma multifocal), como pele, mucosas, gânglios linfáticos, medula óssea, supra-renais, baço, fígado, intestinos, articulações, ossos e sistema nervoso (PADILHA-GONÇALVES, 1985; LONDERO et al., 1986; COLOMBO et al., 1994; MOURA et al., 1994), sendo que em mais de 90% dos casos encontram-se lesões pulmonares, evidenciando um quadro grave e, algumas vezes fatal. Nos tecidos desses pacientes observa-se tendência à formação de granuloma organizado (FRANCO et al., 1993; MENDES, 1994).

Entre estes dois extremos, diversos quadros clínicos podem ocorrer, sendo os pulmões, linfonodos, tecido mucocutâneo e glândulas adrenais os mais comumente envolvidos (GIRALDO et al., 1976; FRANCO et al., 1987a;

COLOMBO et al., 1994). Técnicas citoquímicas ajudaram a desvendar a virulência do parasito relacionando-a com a presença de α -1-3-glucana na parede celular do fungo, enquanto que mutantes do mesmo, com α -manana perdem seu poder patogênico (SAN-BLAS & SAN-BLAS, 1977).

É bem conhecido que as amostras de *P.brasiliensis* variam quanto à virulência, fato este que pode auxiliar na explicação quanto à existência de diferentes manifestações clínicas da doença (FRANCO et al., 1989). Resultados experimentais têm demonstrado claramente esta variabilidade entre as amostras de *P.brasiliensis*, e que esta virulência é influenciada pela estocagem e passagem "in vitro" dos isolados (ZACHARIAS et al., 1986; BRUMMER et al., 1990; KASHINO et al., 1990).

Embora já tenham sido descritos diferentes padrões de virulência, definidos pela infecção experimental em camundongos B10A (SINGER-VERMES et al., 1989), recentemente foram estudadas amostras de *P.brasiliensis* recém isoladas de pacientes com diferentes formas clínicas, para avaliar se a gravidade da doença humana estava associada à virulência da amostra isolada. A patogenicidade de cada isolado foi avaliada por estudos anatomopatológicos e estimativas de DL₅₀ após infecção intraperitoneal de camundongos B10A. Uma associação entre a forma clínica da doença, da qual a cultura derivou e o padrão de virulência observado em camundongos, não foram claramente evidentes. Somente quando os isolados fúngicos, obtidos de casos muito leves, foram comparados àqueles obtidos de formas mais severas, observou-se uma associação (SINGER-VERMES et al., 1994).

Portanto o estabelecimento da doença, sua disseminação e gravidade dependem tanto de fatores inerentes ao próprio fungo, como virulência e

composição antigênica, como das condições ambientais e principalmente dos fatores ligados ao hospedeiro, como idade, sexo, estado nutricional, patrimônio genético e capacidade de resposta imunológica. Em relação a este último fator, estudos clínicos e experimentais têm sugerido a interação entre mecanismos inespecíficos e específicos de defesa que atuam na resistência ao *P. brasiliensis* (FRANCO et al., 1993; CALICH et al., 1994; PERAÇOLI et al., 1995), como respostas imunes do tipo humoral e celular (MOK & GREER, 1977; MENDEZ, 1975; ARANGO et al., 1982; SASSINE et al., 1985), levando a produção de anticorpos específicos que geralmente refletem a severidade da doença. Distúrbios imunorregulatórios associados à paracoccidioidomicose, podem acarretar em uma disseminação do fungo pelos tecidos, efeito este ocasionado principalmente pela depressão das células "*natural Killer*", ocorrendo principalmente na fase tardia da infecção (PERAÇOLI et al., 1995).

O diagnóstico da paracoccidioidomicose depende da demonstração do agente etiológico em espécimes obtidos do paciente, tais como escarro, pus, raspados de lesão e biópsia (HIRSH et al., 1984). A visualização do fungo no material biológico, seu cultivo e a inoculação em animais de laboratório são conclusivos para o diagnóstico da doença (MEYER, 1986; de ALMEIDA et al., 1991).

Todavia, nem sempre é possível obter-se com facilidade material para exame micológico, principalmente em pacientes com manifestações somente em órgãos internos. Nestes casos, as provas sorológicas são de grande valor diagnóstico fornecendo evidências indiretas da infecção ou conduzindo à pesquisa do fungo (MARIAT, 1982; SIQUEIRA, 1982).

A avaliação da imunidade pode ser feita por testes tanto "*in vitro*" como "*in vivo*" (MENDEZ, 1975; MOK & GREER, 1977). A realização destas provas, na paracoccidiodomicose, permitiu identificar dois pólos clínico-imunológico da doença (MUSATTI et al., 1976; MENDES, 1980; YARZABAL et al., 1980), as formas polares anérgicas, processos graves e de mau prognóstico e as formas hiperérgicas, processos localizados e com boa resposta terapêutica, onde o comprometimento da imunidade é mínimo.

Nas formas localizadas da doença existe hipersensibilidade cutânea retardada e baixos títulos de anticorpos específicos. Ao contrário, nas formas progressivas, observam-se vários graus de anergia cutânea e altos títulos de anticorpos (SASSINE et al., 1985). A resposta timo-dependente está freqüentemente deprimida em pacientes com processos graves e de longa duração. A causa desta imunodeficiência é pouco conhecida, porém a recuperação da atividade das células T, após o tratamento sugere que seja adquirida e reversível (MOK & GREER, 1977; SASSINE et al., 1985).

Embora a presença dos anticorpos não tenha efeito protetor, é de grande importância médica, uma vez que decresce sob efeito da terapia antifúngica, o que está associado à melhora clínica do doente.

Células Fagocitárias na Paracoccidiodomicose.

As células fagocitárias desempenham papel essencial na resistência do *P.brasiliensis*, assim como ocorre em outras doenças infecciosas, atuando como as principais células efetoras frente a essas infecções.

Estudos têm demonstrado que, após a instalação dos fungos nos tecidos, os leucócitos polimorfonucleares são rapidamente atraídos para o local por ação de substâncias quimiotáticas resultantes de ativação do sistema complemento. Além disso, o fungo interagindo com macrófagos alveolares induz à liberação de peptídeos, que atraem neutrófilos ao foco de infecção (CALICH et al., 1994).

Neutrófilos de pacientes com paracoccidioidomicose, apesar de fagocitarem o *P.brasiliensis* "in vitro", são incapazes de digerir o fungo (GOIHMAN-YAHR et al., 1989). Esse defeito parece ser específico para o *P.brasiliensis* uma vez que estas células conseguem digerir *C.albicans* (JENSEN et al., 1994). Esse defeito no processo de digestão foi observado em relação a microorganismos vivos ou autoclavados, mas não para fungos mortos por anfotericina B. Esse processo poderia explicar, em parte, os efeitos terapêuticos da droga que, destruindo a membrana celular da célula fúngica, a tornaria mais suscetível à fagocitose (GOIHMAN-YAHR et al., 1989).

A atividade fagocítica de polimorfonucleares é normal em pacientes com paracoccidioidomicose, todavia estas células apresentam menor capacidade de digerir células leveduriformes de *P. brasiliensis*, assim como macrófagos peritoneais e pulmonares de camundongos normais são incapazes de limitar a multiplicação de leveduras do *P.brasiliensis* fagocitadas (GOIHMAN-YAHR et al., 1979; GOIHMAN-YAHR et al., 1980; GOIHMAN-YAHR et al., 1990; GOIHMAN-YAHR et al., 1992). BRUMMER et al., (1989).

As células fúngicas apresentaram intensa multiplicação no interior dos macrófagos, podendo destruí-los. Este fato pode ter implicações importantes na patogênese da doença, sugerindo que, "in vivo", provavelmente, o fungo se

multiplica intracelularmente após a ingestão por macrófagos não ativados, levando à destruição das células e a liberação de inúmeras formas de *P.brasiliensis*. Assim, os macrófagos poderiam servir como meio de disseminação para o fungo (MOSCARDI-BACCHI et al., 1994).

Embora monócitos e macrófagos sejam inicialmente permissivos à multiplicação intracelular de alguns patógenos, estas células eventualmente se tornam ativadas e podem interferir com o crescimento desses microorganismos (MOSCARDI-BACCHI et al., 1994). Macrófagos ativados por IFN- γ ou linfocinas não purificadas adquirem a capacidade de digerir o *P.brasiliensis*, podendo desempenhar funções efetoras importantes contra o fungo (BRUMMER et al., 1988b; BRUMMER et al., 1989).

CANO et al. (1992) verificaram que macrófagos cultivados em presença de linfocinas obtidas de células do baço de animais imunizados aumentaram a sua capacidade de destruir conídeos. Em estudos ultraestruturais de leveduras de *P.brasiliensis* no interior de macrófagos ativados foi possível demonstrar que após 4 horas de interação, ocorre desintegração citoplasmática e esvaziamento das células fúngicas, restando apenas a parede celular (BRUMMER et al., 1990).

A importância dos macrófagos na destruição do fungo também têm sido demonstrada em modelos experimentais. KASHINO (1990), utilizando linhagens de camundongos resistentes (A/Sn) e suscetíveis (B10.A) à infecção pelo *P.brasiliensis*, estudou o efeito prévio dos macrófagos com suspensão de carvão coloidal, observando que ambas as linhagens tornam-se mais sensíveis à infecção pelo *P.brasiliensis* após tratamento. Ainda, referente ao processo de ativação dos macrófagos neste modelo isogênico, os resultados demonstraram

que células peritoneais e broncoalveolares de animais A/Sn apresentaram maior liberação de peróxido de hidrogênio quando comparados a dos animais B10.A (TEIXEIRA, 1991; CANO et al., 1995).

Os mecanismos, pelos quais os macrófagos ativados são capazes de restringir a multiplicação do *P.brasiliensis*, ou mesmo destruí-lo, ainda são pouco conhecidos. Um mecanismo que pode ser importante, envolve a ação de produtos do metabolismo oxidativo, processo que se estabelece durante a fagocitose.

McEWEN et al. (1987) demonstraram que neutrófilos de camundongos sensibilizados com *P.brasiliensis* e estimulados com o fungo morto, por via intraperitoneal, apresentavam maior atividade fungicida "in vitro". Essa atividade se correlacionou com uma intensa produção de metabólitos do oxigênio, confirmando resultados anteriores de que produtos do metabolismo oxidativo, como a produção de peróxido de hidrogênio por neutrófilos, juntamente com a mieloperoxidase e íons iodo, parecem estar envolvidos na destruição das formas de levedura do fungo (McEWEN et al., 1984). BRUMMER et al. (1988a) observaram que a atividade fungicida apresentada por macrófagos murinos ativados não era inibida na presença de superóxido dismutase, catalase, dimetil-sulfoxida ou azida. Estes resultados indicam que formas de levedura de *P.brasiliensis* podem ser digeridas por macrófagos ativados por um mecanismo independente dos produtos do metabolismo oxidativo.

Eosinófilos têm sido relatados com frequência nos achados celulares da resposta inflamatória frente a paracoccidioidomicose. URIBE et al., (1987) relatam terem encontrado a presença de eosinófilos em 50% dos casos

analisados. **BURGER et al. (1996)** verificaram aumento na presença de eosinófilos após a quarta semana de infecção pelo *P. brasiliensis* no seu modelo de estudo em camundongos, porém estas células foram observadas em todos os períodos do experimento.

Eosinófilos são células sangüíneas que se acumulam em grande número em tecidos como nasofaringe, pulmões, pele, intestino e trato genito-urinário (**FOOT, 1965; HUDSON, 1968; SPRY, 1971**). Sabe-se que estas células participam como moduladores de reações de hipersensibilidade do tipo I (Tipo anafilática) (**ROBINS et al., 1994**) e aumentam em número em doenças parasitárias e patologias de origem desconhecida como a úlcera eosinofílica. Estudos efetuados por **SARAN (1975)**, demonstraram que a atividade fagocítica do eosinófilo para *Staphilococcus aureus* é aumentada, quando esses microorganismos estão associados a anticorpos. **COELHO et al. (1994)** descreveram a presença de eosinófilos em lesões causadas por *P. brasiliensis* inoculados via intratesticular. Na avaliação ultraestrutural por microscopia de transmissão, os autores observaram que a presença destas células ocorreu em menor quantidade quando comparadas com os neutrófilos e macrófagos, e foram observadas circundando células fúngicas viáveis nas lesões. Apesar de estarem comumente presentes neste tipo de lesões, não se sabe a função exata destas células frente a paracoccidioidomicose.

Paracoccidioidomicose Bucal.

Desde a descrição de estomatite ulcerosa moriforme de **MOTTA & PUPO (1936)**, as lesões de mucosa têm chamado a atenção e em muitos casos são o motivo da suspeita da Paracoccidioidomicose. A avaliação clínica

da boca é muito importante, uma vez que 30 a 50% dos casos apresentam manifestações bucais como queixa principal (GONZAGA et al., 1995), sendo comum o aparecimento de lesões inflamatórias granulomatosas crônicas e progressivas que envolvem várias áreas simultaneamente, com aspecto granular, eritematoso e ulcerado, chamado de moriforme e afetando principalmente os lábios, bochechas, soalho da boca, língua e faringe (BHASKAR, 1989; de ALMEIDA et al., 1991; SPOSTO et al., 1993).

As lesões bucais são consideradas como secundárias do envolvimento pulmonar e muitas vezes o diagnóstico da doença é feito por citologia ou biópsia destas lesões (SPOSTO et al., 1994). Estudos mostram que ocorre eliminação do fungo via formação de microabscessos no tecido epitelial, sendo possível sua visualização em preparados citológicos para microscopia óptica (FRANCO & MONTENEGRO, 1982; URIBE et al., 1987). É importante a atuação do cirurgião-dentista frente a paracoccidioidomicose, uma vez que as lesões bucais sejam em geral o motivo principal da procura por tratamento (MOTTA & PUPO 1936), porém a teoria da porta de entrada do fungo através de traumatismo envolvendo as mucosas (BOGLIOLO et al., 1946a, 1946b; 1950) está hoje descartada.

Evidências indicam que *P.brasiliensis* nas lesões bucais são consequência da disseminação do fungo no organismo (FRANCO et al., 1994). Porém deve-se considerar que os tecidos gengivais geralmente apresentam-se alterados, devido a constantes injúrias causadas pela placa bacteriana e traumatismos, alterando a permeabilidade dos vasos, que podem facilitar a instalação do fungo. Deve-se também considerar que o escarro contaminado pode trazer o fungo para áreas ulceradas da boca. De fato, BOOP (1955),

SOARES & IABUKI (1974) e **CASTRO et al. (1975)** descreveram casos em que a micose se desenvolveu a partir de traumatismos.

Em 1963, **FONSECA** publicou trabalho de revisão de literatura a respeito das lesões dentárias e periodontais e apresentou estudo histopatológico em material de biópsias de 25 casos de paracoccidioidomicose. Encontrou *P.brasiliensis* em 11 casos, com lesões clinicamente diagnosticadas como periodontite, e em 4 de 19 com diagnóstico de granulomas periapicais. Embora o autor não tenha proposto que em seus casos a porta de entrada fosse a dentária (bucal), chamou a atenção para a frequência com que o fungo foi encontrado em tais lesões.

LAUANDE (1975) estudou as lesões orais da paracoccidioidomicose, concluindo ser "o tecido periodontal o de maior receptividade ao desenvolvimento e reprodução do parasita". De fato, estudou 25 pacientes, dos quais 11 com biópsias de periodonto, e em 8 destes encontrou fungos nas lesões. Enfatizou a importância da pesquisa do *P.brasiliensis* em material colhido de lesões periodontais. Aliás, o próprio **LAUANDE (1975)** referiu o isolamento do *P.brasiliensis* do periodonto de pacientes sem qualquer manifestação clínica da doença. Apesar destas observações, os autores não conseguiram descartar a hipótese de uma contaminação por via inalatória.

Poucos trabalhos de paracoccidioidomicose bucal, na literatura inglesa, são relatados. **de ALMEIDA et al. (1991)** revisaram 5 trabalhos, da literatura inglesa, que relataram manifestações bucais de paracoccidioidomicose em pacientes residentes fora das áreas endêmicas, mas que residiram durante algum tempo nestas áreas. Os mesmos autores ainda relataram a importância

do conhecimento da história pregressa do paciente, podendo auxiliar no diagnóstico conclusivo da doença.

Vários autores chamam a atenção para o diagnóstico diferencial desta doença com outras doenças infecciosas ou neoplásicas como carcinoma, tuberculose, leishmaniose, coccidioidomicose, histoplasmose, linfoma de Hodgkin, sífilis, granulomatose de Wegner, sarcoidose, granuloma inguinal, actinomicose e outras desordens granulomatosas (COLOMBO et al., 1992; SCULLY et al., 1992; SPOSTO et al., 1993).

O tratamento pode ser feito com antifúngicos sistêmicos como o Ketoconazole 200mg, sendo prescrito inicialmente 1 comprimido três vezes ao dia durante 2 meses (fase inicial do tratamento), sendo após administrado 1 comprimido duas vezes ao dia totalizando um período de 24 meses, produzindo resolução das lesões sistêmicas e orais com muita eficiência (VARGAS & RECACOECHEA, 1988; de ALMEIDA et al., 1991; SPOSTO et al., 1993). Podendo haver associação com sulfonamidas, decorrente do baixo custo e sendo utilizada principalmente na fase aguda da doença. (RESTREPO et al., 1983). Porém são utilizados também outros agentes antimicrobianos como amfotericina, 40 mg/dia - intravenosa, Sufadiazine, 6mg/dia, ou sulfisoxazole, 8mg/dia, mas recidivas ocorrem sem o uso de uma terapia contínua (ABERNATHY, 1973; LONDERO & RAMOS, 1978).

Histopatologia da Paracoccidioidomicose.

De acordo com DORLAND (1951), o termo "granulomatoso" foi expressado inicialmente por Virchow para descrever uma massa tipo tumoral ou nódulo do tecido de granulação. A histopatologia da paracoccidioidomicose

foi inicialmente estudada por **MOTTA (1935)**, seguido por **FIALHO em (1946)**, o qual utilizou impregnação argêntica para o estudo do parasita.

A resposta granulomatosa pode ser definida como uma reação imunológica especializada, caracterizada por uma coleção localizada de células epitelióides, macrófagos e linfócitos. Ela é filogeneticamente uma resposta primitiva, vista como sendo um método de ingestão e remoção de patógenos e irritantes persistentes (**SHIEFFIELD, 1990**).

O granuloma é uma área focal da inflamação granulomatosa. Consiste de um agregado de macrófagos que transformam-se em células tipo epitelióides circundados por um colar de leucócitos mononucleares, principalmente linfócitos e ocasionalmente plasmócitos. Outros granulomas mostram um "manto" externo de fibroblastos e fibras colágenas. Frequentemente, células epitelióides se fundem formando células gigantes na periferia ou algumas vezes no centro dos granulomas. Estas células gigantes podem atingir cerca de 40 a 50 μm de diâmetro, com grande massa citoplasmática contendo 20 ou mais pequenos núcleos arranjados na periferia da células (célula gigante tipo Langhans) ou distribuídos ao acaso (células gigantes tipo corpo estranho) (**LEWIS, 1925; MARIANO & SPECTOR, 1973; MARIANO et al., 1975; ADAMS, 1976;; WILLIAMS et al., 1983; HIRSH & JOHNSON, 1984; ROBBINS, 1994**).

Granulomas de corpo estranho se formam pela presença de corpos estranhos relativamente inertes. Granulomas imunológicos ativos são formados a partir de dois fatores, presença de partículas não digeridas de organismos como o bacilo da tuberculose, e por imunidade mediada por células T (**WARREN, 1977; ROBBINS et al., 1994**). Em 1984, **HIRSH & JOHNSON**

descreveram o granuloma inflamatório misto, onde apresentaram elementos agudos e crônicos, em processos granulomatosos. Observaram também que neste tipo de reação havia presença de hiperplasia pseudoepiteliomatosa com áreas de atrofia. No tecido conjuntivo havia presença de infiltrado composto por neutrófilos, eosinófilos, linfócitos, histiócitos e células gigantes multinucleares em meio a uma proliferação fibrocapilar e necrose ocasional. Para diferenciar o granuloma inflamatório misto dos granulomas presentes em lesões de paracoccidioidomicose, **URIBE et. al. (1987)** descreveram o granuloma micótico misto, subdividindo o seu desenvolvimento em duas formas. Uma com granuloma organizado mostrando três zonas concêntricas, como formalmente descrito para a esporotricose (**BEURMAN & GOUGEROT, 1912**). O segundo tipo de granuloma micótico misto contém todos os elementos acima citados mas aparecem distribuídos ao acaso em uma formação desorganizada, provavelmente como o resultado do longo decurso da doença. **KERR et al. (1988)** dividiram os granulomas em apenas duas zonas, uma central contendo o fungo, e outra periférica. A zona central foi dividida em duas áreas, uma interna e afibrilar, e outra externa e fibrilar, bem definida pelo método de polarização com coloração de picrosírius, onde células fúngicas mostravam polarização semelhante ao das fibras colágenas tipo III. A zona periférica consistia de colágeno tipo I e que era responsável pela forma concêntrica do granuloma na porção mais externa.

O granuloma *P. brasiliensis* é geralmente centrado ao redor de uma ou mais partículas fúngicas, é composto por células gigantes e células epitelióides; portanto é um granuloma epitelióide (**KERR et al., 1988**). Leucócitos polimorfonucleares podem ser observados próximos ao fungo na área central;

ao redor do granuloma, há um halo de células mononucleares. Os granulomas podem mostrar necrose por coagulação em adição a supuração central (FRANCO et al., 1988). O polo hiperérgico da doença é caracterizado por infecção localizada, resposta imune celular persistente e um granuloma epitelióide compacto, já o polo anérgico é representado por infecção disseminada, decréscimo na imunidade celular e, rico em parasitas, com granulomas pouco definidos (de BRITO & FRANCO, 1994). O polo anérgico com poucos granulomas não possui a capacidade de matar células fúngicas, como o que ocorre em pacientes com AIDS (MIYAJI & NISHIMURA, 1983; FRANCO et al., 1989; FRANCO et al., 1993; de LIMA et al., 1995).

Vários estudos estabeleceram, em animais de laboratório, correlação entre o tipo de lesão histopatológica com a imunidade humoral e celular (IABUKI, 1973; PERÇOLI, 1978; DEFAVERI, 1979; REZKALLAH IWASSO, 1981).

As características da resposta inflamatória, bem como o tipo de células envolvidas, mostram a existência de quatro estágios na paracoccidioidomicose: (1) estágio neutrofílico ou monócito-neutrofílico, com predomínio de neutrófilos acompanhados por linfócitos e macrófagos, esta resposta inicial dura de dois a três dias, (2) fase pré-granulomatosa, também curta, em geral ocorrendo entre sete a dez dias, caracterizada por um aumento no fluxo de linfócitos e macrófagos, (3) período granulomatoso, com a formação de granulomas epitelióides compactos com área central mostrando graus diferentes de necrose caseosa, supuração e fungos, este sendo envolvido por células gigantes e epitelióides, e por fibroblastos e fibras colágenas do tipo I e II, e (4) estágio crônico com aumento de granulomas compactos, poucos fungos e

aumento do grau de fibrose (McEWEN, 1987; KERR et al., 1988; RESTREPO et al., 1992).

MOSCARDI-BACCHI et al., (1989) mostraram a existência de linfócitos T-helper (CD4) circundando os granulomas e os vasos do tecido envolvido, semelhante ao que é visto na lepra-tuberculóide e coccidioidomicose. Outros autores, como DEFAVERI et al. (1979) e BAVA et al. (1991) estudaram o decréscimo de células CD4 na circulação sanguínea. DEFAVERI et al. (1989) realizaram também estudo ultraestrutural do processo inflamatório induzido por antígenos do *P.brasiliensis* em ratos previamente imunizados e mostram a evolução da formação granulomatosa em estudo de microscopia óptica e eletrônica.

BURGER et al. (1996), através de uma análise histológica seqüencial e comparativa das lesões desenvolvidas pelo *P. brasiliensis*, em camundongos BALB/c atímicos e eutímicos, verificaram que para ambos os grupos, neutrófilos e macrófagos foram as células predominantes, observando também a presença de macrófagos em transição para células gigantes e células epitelióides. O *P. brasiliensis* estava sempre microenvolvido por uma matriz extracelular.

A morfogênese da reação granulomatosa desenvolvida nesta doença não está bem estabelecida. Entretanto, esta reação tem sido associada com muitos fatores, alguns relacionados ao fungo e outros a resposta do hospedeiro (MONTENEGRO et al., 1994).

Nos homens, a lesão essencial é um granuloma supurativo com células gigantes. Outras características como acantoses proeminentes, com formação de hiperplasia pseudoepiteliomatosa e um granuloma tipo tuberculóide são vistos (URIBE et al., 1987; de ALMEIDA et al., 1991). Os fungos aparecem

com duplo contorno, com aproximadamente 30 μ m de diâmetro, circundado por múltiplos brotamentos (MOORE, M. 1955). São observados em H/E, porém são melhor visualizados em colorações com o ácido periódico de Shiff (P.A.S.) e pela impregnação argêntica (Gomori Grocott) (BERTOLINI et al., 1981). Achados semelhantes foram descritos por URIBE et al. (1987), onde também não observaram diferenças histológicas marcantes entre lesões de pele e de mucosa oral.

Estudos como o de FRANCO et al. (1997), relatam a formação de granulomas "*in vitro*" por células mononucleares do sangue periférico, obtidas de pacientes com forma aguda e crônica da doença, tratados a base de sulfonamidas e/ou anfotericina B. Os autores evidenciam uma melhor resposta granulomatosa, contra antígenos do *P.brasiliensis*, em pacientes com tratamento, do que nos pacientes não tratados. Pacientes com forma aguda da doença desenvolveram menor intensidade de formação de granulomas quando comparados aos pacientes com forma crônica da doença, mostrando uma correlação entre os graus de reatividade granulomatosa e as formas clínicas da doença em modelos experimentais "*in vitro*".

No entanto há poucos trabalhos relatados na literatura que descrevem e discutem detalhadamente a histopatologia das lesões orais em pacientes com paracoccidioidomicose, sendo este o objetivo do presente trabalho.

OBJETIVOS

OBJETIVOS

Os objetivos deste trabalho são:

- Analisar qualitativamente e avaliar quantitativamente os parâmetros histológicos de 64 biópsias bucais de pacientes portadores de paracoccidioidomicose.

- Correlacionar a presença do fungo *P.brasiliensis* com o infiltrado inflamatório mono e polimorfonuclear, células gigantes e granulomas, bem como correlacionar os outros achados histológicos bucais característicos desta doença.

MATERIAL E MÉTODOS

MATERIAL E MÉTODOS

Neste estudo foram usadas 64 de 81 biópsias da mucosa bucal de pacientes portadores de paracoccidioidomicose, sendo 17 biópsias descartadas por serem inadequados para análise, geralmente devido a pouca quantidade de material. As biópsias foram obtidas dos arquivos da Disciplina de Patologia Bucal da FOP-UNICAMP, durante o período de 1974 a 1997. As biópsias foram fixadas em formol a 10% por 24-48 horas, lavados em água corrente por 24hs e submetidas aos processos rotineiros para inclusão em parafina. Três lâminas com dois cortes de 5µm de espessura, foram corados com hematoxilina e eosina (para análise microscópica de todos os parâmetros), ácido periódico de Schiff (P.A.S.) e pela impregnação pela prata (técnica de Gomori-Grocott), ambas utilizadas para melhor identificar o fungo e a sua localização, assim como para observar a presença de brotamentos, morfologia e para melhor quantificar sua presença.

Cada caso foi analisado considerando-se a intensidade da reação inflamatória mono e polimorfonuclear, presença de células gigantes e granulomas. A quantificação foi subjetiva, considerando-se como ausente, discreto, moderado e intenso e, para tal, utilizou-se um microscópio de luz transmitida comumente Zeiss. Os tópicos foram expressos em uma tabela que continha todas as características microscópicas propostas a serem estudadas (Tab.1).

Análise estatística dos dados foi feita posteriormente para confirmação dos resultados previamente obtidos. Para isso utilizou-se programa Epi-Info 6.04 da O.M.S. Como tratou-se de casos com parâmetros categorizados, foi realizado o teste Qui-quadrado em tabelas de 4x4, considerando-se o nível de significância de 5%. Os resultados foram expressos em números absolutos e relativos.

Tabela 1 - Parâmetros Histológicos Bucais da Paracoccidioidomicose.

Nome: Nº da lâmina:			Ausente	Discreto	Moderado	Intenso
Processo Inflamatório	- agudo - crônico - granulomatoso					
Granulomas	- organizados - não organizado					
Células gigantes	- com <i>P.brasiliensis</i> - sem <i>P.brasiliensis</i>					
P.brasiliensis	- com brotamento	- No granuloma - na cél. gig. - fora da cél. gig. - Fora - na cél. gig. - fora da cél. gig.				
	- sem brotamento	- No granuloma - na cél. gig. - fora da cél. gig. - Fora - na cél. gig. - fora da cél. gig.				
Microabcessos	- no epitélio - no conjuntivo					
Eosinófilos						
Hiperplasia Pseudoepiteliomatosa						
Envolvimento com outras estruturas						

RESULTADOS

RESULTADOS

CARACTERÍSTICAS GERAIS DOS PACIENTES.

A idade média dos 64 pacientes com Paracoccidioidomicose bucal, cujas biópsias foram avaliadas foi $44,51 \pm 10,09$ (tab.2) sendo que 95,32% tinham mais de 30 anos e o mais jovem 19 anos. Houve predominância do sexo masculino, correspondendo a 60 casos (93,75%).

Tabela 2 – Grupos etários dos 64 pacientes com Paracoccidioidomicose bucal.

Grupos de idade	Pacientes %
19 - 30	4,68%
31 - 40	31,25%
41 - 50	37,41%
51 - 60	18,75%
61 - 71	7,91%

LOCALIZAÇÃO DAS LESÕES BIOPSIADAS

As manifestações bucais da Paracoccidioidomicose geralmente são múltiplas, e a biópsia é feita considerando-se as características clínicas das lesões, assim como áreas menos traumáticas ao paciente e a facilidade de acesso a área. Os locais mais freqüentemente biopsiados correspondem às áreas de maior incidência na boca. Houve predominância de biópsias em lesões de mucosa jugal, seguida do palato, mucosa alveolar, lábios e gengiva. Na língua foram biopsiados 5 casos e no assoalho bucal apenas um (tab.3).

Tabela 3 - Localizações das biópsias bucais da Paracoccidioidomicose, n=64.

Localização	Total
Mucosa jugal	19
Palato	13
Rebordo alveolar	9
Lábios	9
Gengiva	8
Língua	5
Assoalho bucal	1

CARACTERÍSTICAS MICROSCÓPICAS

Na paracoccidioidomicose bucal, a mucosa é revestida por epitélio que apresenta hiperplasia epiteliomatosa, com áreas de microabscessos com presença do fungo, espongiose, exudação, displasias leves, sendo freqüentes as ulcerações. O conjuntivo mostra-se com intenso infiltrado inflamatório crônico predominando linfócitos e plasmócitos sendo comum a presença de granulomas, formados de macrófagos, células epelióides e células gigantes, que geralmente ocupam o centro dos granulomas. Os linfócitos e plasmócitos, formam um manto ao redor do aglomerado de macrófagos e em granulomas amadurecidos, fibroblastos e fibras colágenas estão dispostos mais externamente.

As células gigantes estão também presentes fora dos granulomas, entre as células inflamatórias mononucleares, podendo ser do tipo Langhans ou de células gigantes tipo corpo estranho, geralmente apresentando fungo no seu interior. O infiltrado inflamatório agudo é visto em áreas de ulceração e de

microabscessos, onde apresenta-se rico em neutrófilos, que também são vistos em meio ao infiltrado agudo/crônico e próximos ao fungo no interior dos granulomas não organizados.

O diagnóstico foi confirmado pela observação do fungo, que se apresenta na forma de levedura de dupla parede, birrefringente, geralmente envolvidos por múltiplos brotamentos, formando a "roseta fúngica". Sua visualização é facilitada pela coloração com o ácido periódico de Shiff (P.A.S.) e impregnação pela prata (Grocott).

Os granulomas considerados como bem organizados, apresentavam células gigantes tipo corpo estranho ou de Langhans, geralmente na porção central. Mais externamente estes granulomas apresentavam-se envolvidos por infiltrado inflamatório predominantemente linfoplasmocitário sendo bem delimitados por fibroblastos e fibras colágenas. Os granulomas que foram classificados como não organizados mostravam células gigantes em seu interior, geralmente fora da região central. Mais externamente o infiltrado inflamatório, rico em linfócitos e plasmócitos, era intenso e envolvia, como um manto, as células gigantes com presença de fungos. Não eram bem delimitados por fibroblastos e fibras colágenas. Células polimorfonucleares também eram observadas no interior dos granulomas não organizados.

Todos os achados histológicos avaliados foram inseridos na tabela 4. Estes valores representam o número total de casos, com os vários parâmetros classificados quantitativamente em ausente, discreto, moderado e intenso.

Como os vários parâmetros microscópicos não são excludentes, todos os itens foram considerados em todos os casos. De acordo com a tabela 4, a reação inflamatória aguda intensa ocorreu em 3 casos (4,68%) e estava

ausente em 34 (53,13%), observa-se que 53 casos (82,81%) foram classificados contendo intenso infiltrado inflamatório crônico e 11 (17,19%) como moderado. Dentre os casos com padrão granulomatoso, 4 (6,25%) apresentaram grande quantidade de granulomas, sendo classificados como intenso, uma quantidade moderado foi observada em 16 casos (25%) e discreta em 33 (51,56%). Não foram observados granulomas em 11 casos (17,19%).

A presença de granulomas organizados ocorreu em 28 casos (43,75%) sendo observado, em apenas 1 caso, em quantidade intensa. Granulomas não organizados foram vistos em 51 casos (79,68%), sendo observados em quantidade discreta em 41 casos (64,06%). Estes valores representam a quantidade do tipo de granuloma observado, sendo suas prevalências analisadas adiante (tab. 7). Vale ainda citar, que as lesões granulomatosas apresentavam granulomas organizados como não organizados, ocorrendo também quadros com apenas um tipo de granuloma.

Ainda na tabela 4, observamos que a presença de células gigantes ocorreram em todos os casos. Em 30 casos pode-se observar uma quantidade discreta de células gigantes com fungos em seu interior, 27 casos com quantidade moderada e 7 com quantidade intensa de células gigantes com o fungo. Portanto, em todos os casos foram observadas células gigantes com a presença do fungo. Células gigantes sem a presença do fungo foram também observadas em 63 casos, sendo seus parâmetros quantitativos observados na tabela 4.

P. brasiliensis foi observado em todos os casos. No interior dos granulomas o fungo foi observado em 51 casos (79,68%), sendo que em

quantidade discreta em 44 casos (68,75%). Deste total, devemos destacar que em apenas 5 casos observou-se a presença do fungo no interior do granuloma, fora das células gigantes. No interior das células gigantes o fungo foi visualizado em todos os casos. Fora dos granulomas e das células gigantes o fungo foi observado em 38 casos (59,37%). Em resumo, a presença do fungo ocorreu em todos os casos, predominando no interior das células gigantes nos granulomas, assim como fora deles.

Microabscessos ocorreram predominantemente no epitélio, onde foram observados em 39 casos (60,93%), sendo considerados intensos em apenas 5 (7,81%). No tecido conjuntivo a presença de microabscessos ocorreu em 22 casos (34,37%).

A presença de eosinófilos ocorreu em 59 casos (92,18%), sendo considerado intenso infiltrado em 13 casos (20,31%), moderado em 17 (26,56%), discreto em 29 (45,31%) e ausente em 5 casos (7,81%).

Hiperplasia pseudoepiteliomatosa observou-se em todos os casos, sendo que na maioria foi considerada moderada ou intensa. O tecido epitelial apresentava-se queratinizado ou paraqueratinizado, característica dependente do local biopsiado. Áreas de espongiose, exocitose, microabscessos e projeções para o interior do tecido conjuntivo foram também observadas. *P.brasiliensis* foi frequentemente encontrado nas áreas de microabscessos, na forma de leveduras com ou sem brotamentos, no interior de células gigantes ou entre as células inflamatórias.

Algumas biópsias apresentavam áreas de ulceração, com formação de crosta fibrinopurulenta na superfície e presença de intenso infiltrado inflamatório de neutrófilos no tecido conjuntivo subjacente. As células epiteliais

mostravam discreta displasia, principalmente no extrato espinhoso, com leve alteração da relação núcleo/citoplasma, cromatina densa, vacuolização intracitoplasmática e citoplasma eosinofílico. Algumas áreas mostravam desorganização das camadas basal e espinhosa decorrentes principalmente da exocitose e formação de microabscessos.

Embora as biópsias fossem pequenas, em cerca de 54,68% dos casos houve envolvimento de estruturas mais profundas, como músculo, glândulas salivares menores e tecido adiposo. Em algumas biópsias notamos a presença de reação inflamatória acometendo tais estruturas, porém as suas características morfológicas apresentavam padrão de normalidade.

Em resumo, na maioria dos casos predominou células mononucleadas, com pequeno ou moderado número de granulomas. A presença de microabscessos ocorreu principalmente no epitélio e na maioria dos casos eosinófilos estavam presentes.

Tabela 4 - Distribuição geral dos achados histopatológicos de biópsias de mucosa bucal de Paracoccidioidomicose, n = 64.

Achados histopatológicos		-	+	++	+++	% ^o
Processo Inflamatório	- agudo	34	16	11	3	46,87%
	- crônico	-	-	11	53	100%
	- granulomatoso	11	33	16	4	82,81%
Granulomas	- organizados	36	12	15	1	43,75%
	- não organizados	13	41	10	-	79,68%
Células gigantes	- c/ <i>P.brasiliensis</i>	-	30	27	7	100%
	- s/ <i>P.brasiliensis</i>	1	35	24	4	98,43%
<i>P.brasiliensis</i>	- no granuloma*	13	44	6	1	79,68%
	- na célula gigante fora do granuloma	-	26	25	13	100%
	- fora do granuloma e da célula gigante	26	27	7	4	59,37%
Microabscessos	- no conjuntivo	42	15	4	3	34,37%
	- no epitélio	25	19	15	5	60,93%
Eosinófilos		5	29	17	13	92,18%
Hiperplasia Pseudoepiteliomatosa		-	10	23	31	100%
Envolvimento com outras estruturas		35	17**	7***	11****	54,68%

- ausente, + discreto, ++ moderado e +++ intenso.

* No interior das células gigantes dos granulomas, sendo que em apenas 5 casos ocorreu fora das células gigante.

- Músculo: **9 casos com pequena intensidade, ***4 com moderada e ****8 com grande intensidade.

- Glândulas salivares: **6 com pequena intensidade, ***3 com moderada e ****3 com grande intensidade.

- Tecido adiposo: **2 com intensidade pequena

- ^o A última coluna representa o valor total, em porcentagem, dos casos positivos.

Para a análise da resposta inflamatória considerou-se o tipo predominante de infiltrado envolvido e sua intensidade. A tabela 5 mostra o tipo de infiltrado predominante em cada caso. Em 31 casos predominou o infiltrado crônico, seguido de 19 casos de infiltrado misto Crônico/Granulomatoso e em 11 infiltrado Agudo/Crônico. Apesar de termos observado em 30 casos a presença de infiltrado misto do tipo agudo/crônico/granulomatoso, estes mostravam-se com intensidade semelhante em apenas 3 casos. Em todos os casos ocorreu a presença de infiltrado crônico, estando este associado ou não a infiltrado agudo e granulomatoso.

Tabela 5 – Infiltrado inflamatório predominante nas biópsias das lesões bucais de Paracoccidioidomicose, n=64.

Infiltrado Predominantemente:	n	%
Agudo	-	-
Crônico	31	48,43%
Granulomatoso	-	-
Agudo/Crônico	11	17,19%
Agudo/Granulomatoso	-	-
Crônico/Granulomatoso	19	29,69%
Agudo/Crônico/Granulomatoso*	3	4,69%
- ausente		

*Não houve prevalência, as diferentes respostas inflamatórias ocorreram com intensidades semelhantes.

- Para os 11 casos em que o infiltrado granulomatoso foi ausente (Tab.4), observamos que em 6 casos predominou um processo Agudo/Crônico e em 5 inflamação Crônica (Tab.5);

- Para os 33 casos em que o infiltrado granulomatoso foi discreto, observamos que em 5 casos predominou uma reação Agudo/Crônica (Tab. 4), em 26 apenas processo crônico e em 2 casos resposta Agudo/Crônica/Granulomatosa (Tab.5);
- Para os 16 casos com processo inflamatório granulomatoso moderado (Tab.4), observamos 15 casos com resposta predominantemente Crônica/Granulomatosa e 1 caso com resposta Agudo/Crônica/Granulomatosa (Tab.5);
- Os 4 casos com intenso processo granulomatoso (Tab. 4), foram classificados como Crônicos/Granulomatosos, pois o infiltrado crônico também foi intenso (Tab. 5).

Células gigantes foram observadas em todos os casos nos granulomas, entre as células inflamatórias do tecido conjuntivo e em áreas de tecido epitelial. As células gigantes predominaram no interior dos granulomas em 23 casos, fora dos granulomas em 18 casos e em outros 23 casos estas células estavam igualmente distribuídas no granuloma e fora dos granulomas, sendo considerados casos mistos (Tab.6). Nota-se que as células gigantes predominaram no interior dos granulomas.

Tabela 6 –Localização predominante das células gigantes nas biópsias bucais de Paracoccidioidomicose, n=64.

Localização	n	%
Nos Granulomas	23	35,93%
Fora dos Granulomas	18	28,14%
Misto (dentro e fora dos granulomas)	23	35,93%

Em 53 casos (82,81%) foi observado inflamação granulomatosa (Tab.7). Apesar de observarmos a presença de granulomas organizados em 43,75% dos casos, estes predominaram em 15 casos (28,3%). Granulomas não organizados foram vistos em 76,56% do total de casos, predominando em 29 casos (54,71%). Em 9 casos (16,99%) observou-se uma intensidade semelhante de granulomas organizados e não organizados denominados de mistos.

Tabela 7 – Quantidade predominante de granulomas organizados, não organizados e mistos nas biópsias de boca de Paracoccidioidomicose, n=53.

Granulomas predominantemente:	n	%
Organizados	15	28,30%
Não Organizados	29	54,71%
Misto	9	16,99%

Observamos que existiu uma correlação entre a quantidade de granulomas organizados e granulomas não organizados nas lesões bucais de paracoccidioidomicose. Quanto maior a quantidade de granulomas não organizados nas lesões, maior também é a quantidade de granulomas organizados, tendendo a predominar granulomas não organizados nas lesões bucais (Tab. 8).

Tabela 8 – Correlação entre a quantidade de granulomas não organizados e organizados na paracoccidioidomicose bucal, n=64.

Gran.org.	Gran.ñ.org.	-	+	++	+++
-		11	23	2	-
+		2	6	4	-
++		-	12	3	-
+++		-	-	1	-

- ausente, + discreto, ++ moderado e +++ intenso.

Em todos os casos observou-se o *Paracoccidioides brasiliensis* nas células gigantes dos granulomas e/ou fora dos granulomas, com ou sem brotamento (Tab. 9). Nos granulomas o fungo, sem brotamento, foi observado no interior das células gigantes em 47 casos (73,43%), sendo que, apenas um caso mostrou a presença do fungo no interior do granuloma, mas fora da célula gigante. Já o fungo com brotamento, foi encontrado principalmente nas células gigantes em 38 casos (59,37%) sendo que, em apenas 4 (6,25%), o fungo foi observado no granuloma mas fora da célula gigante. Portanto, nos granulomas os fungos foram observados principalmente no interior das células gigantes, sendo a forma sem brotamento a mais encontrada. Nos 5 casos em que os fungos foram vistos fora das células gigantes dos granulomas, 4 mostravam-se com formação de brotamentos.

Fora dos granulomas e no interior das células gigantes, o fungo sem brotamento foi observado em 62 casos (96,87%) e com brotamento, em 52 casos (81,25%). Isto revela que a presença do fungo ocorreu principalmente no interior das células gigantes sendo que a forma sem brotamentos predominou.

Fora dos granulomas e das células gigantes o fungo foi observado sem brotamento em 38 casos (59,37%) e com brotamento em 15 casos (23,43%). Em resumo, a presença do *P. brasiliensis*, com ou sem brotamento, ocorreu principalmente no interior das células gigantes tanto no interior dos granulomas quanto fora dos granulomas. No interior das células gigantes predominou a forma sem brotamento. Fora das células gigantes e dos granulomas o fungo foi observado freqüentemente, mas em menor quantidade e principalmente na forma sem brotamento (Tab.9). Em todas as análises, a presença de fungos sem brotamento foi predominante, decorrente da maior quantidade de casos com a presença de fungos sem brotamento.

Tabela 9 – Relação entre a quantidade de *P. brasiliensis* sem e com brotamento quanto a localização nos granulomas e fora dos granulomas nas biópsias bucais de Paracoccidioidomicose, n=64.

<i>P.brasiliensis</i> (Sem Brotamento)		-	+	++	+++	%
<u>No granuloma</u>	- Na célula gigante	17	40	6	1	73,43%
	- Fora da célula gigante	63	1	-	-	1,56%
<u>Fora do granuloma</u>	- Na célula gigante	2	29	21	12	96,87%
	- Fora da célula gigante	26	27	7	4	59,37%
<i>P.brasiliensis</i> (Com brotamento)						
<u>No granuloma</u>	- Na célula gigante	26	33	4	1	59,37%
	- Fora da célula gigante	60	4	-	-	6,25%
<u>Fora do granuloma</u>	- Na célula gigante	12	29	15	8	81,25%
	- Fora da célula gigante	48	7	5	4	25,00%

- ausente, + discreto, ++ moderado e +++ intenso.

Houve correlação entre a quantidade de fungos sem brotamento nas células gigantes fora dos granulomas e a quantidade de fungos com brotamento nas células gigantes fora dos granulomas (Tab. 10). Nota-se que quanto maior a quantidade de fungos sem brotamento nas células gigantes, maior também é a quantidade de fungos com brotamentos e que há uma tendência nas lesões bucais de apresentarem maior quantidade de fungos sem brotamentos no interior das células gigantes.

Tabela 10 – Correlação entre a quantidade de *P.brasiliensis* sem e com brotamento nas células gigantes fora dos granulomas na paracoccidioidomicose bucal, n=64.

<i>P.bras.c.brot.</i> \ <i>P.bras.s.brot.</i>	-	+	++	+++
	-	+	++	+++
-	-	10	1	1
+	2	17	9	1
++	-	2	11	2
+++	-	-	-	8

- ausente, + discreto, ++ moderado e +++ intenso.

O infiltrado inflamatório de eosinófilos foi um achado comum em nosso estudo estando presente em 59 casos (92,18%). Não houve correlação entre a quantidade de fungo e a presença de eosinófilos. Em 13 casos (20,31%), onde o infiltrado de eosinófilos foi intenso, a presença de *P.brasiliensis* foi discreta em 6 casos, moderada em 5 e intensa em 2 casos. Quando o infiltrado eosinofílico mostrou-se de forma discreta, a quantidade de *P.brasiliensis* foi moderada em 10 casos e intensa em 5, sendo que 14 casos

mostravam-se de forma discreta (Tab.11). O infiltrado de eosinófilos estava presente principalmente em meio ao infiltrado crônico, onde formava ninhos de células distribuídas nas proximidades dos granulomas e das células gigantes que continham o fungo, do tecido epitelial e das suas projeções para o conjuntivo. Em regiões onde havia a presença de fungos livres entre as células inflamatórias, estes ninhos de eosinófilos também foram vistos. Outras lesões mostraram entretanto, um infiltrado de eosinófilo espalhados pela lesão, sem a formação de acúmulos celulares. Em resumo, não houve correlação entre a quantidade de eosinófilos e a quantidade de fungos nas biópsias avaliadas, com os eosinófilos acumulando-se em áreas focais, ou estando mais dispersos entre as células mononucleares.

Tabela 11 – Correlação entre a quantidade de *P.brasiliensis* total e a presença de Eosinófilos em 64 biópsias de boca de pacientes com Paracoccidioidomicose.

<i>P.brasiliensis</i> \ Eosinófilos				
	-	+	++	+++
-	-	-	-	-
+	2	14	4	6
++	1	10	7	5
+++	2	5	6	2

- ausente, + discreto, ++ moderado e +++ intenso.

Também não houve correlação entre a presença de eosinófilos e a quantidade de granulomas (Tab.12). Em casos de quantidade discreta de granulomas o infiltrado de eosinófilos variou de 6 casos com forma intensa, 8 moderada, 16 pequena e 3 casos sem a presença destas células. Nos casos

onde a quantidade de granulomas foi intensa a presença de eosinófilos variou de 1 caso moderado e 3 casos com presença intensa. Já, na ausência de granulomas, os eosinófilos foram vistos de forma intensa em 1 caso, 3 moderada e 5 casos de forma discreta. Portanto, não houve correlação entre a quantidade de eosinófilos e a formação de granulomas, porém devemos ressaltar a presença de intensa quantidade de eosinófilos em 3 casos com intensa formação de granulomas.

Tabela 12 – Correlação entre a quantidade de granulomas e a presença de eosinófilos em 64 biópsias de boca de Paracoccidioidomicose.

Eosinófilos \ Granuloma	Granuloma			
	-	+	++	+++
-	2	3	-	-
+	5	16	8	-
++	3	8	5	1
+++	1	6	3	3

- ausente, + discreto, ++ moderado e +++ intenso.

Foi possível identificar os dois polos de resposta inflamatória em nossos casos. O polo anérgico, com intensa presença de fungos e ausência de granulomas e o polo hiperérgico, com presença discreta de fungos e intensa quantidade de granulomas. Entretanto, a maioria dos casos permaneceram entre estes dois pólos. Nos 4 casos (6,25%) de intenso infiltrado granulomatoso a presença de *P.brasiliensis* total mostrou-se discreta para 1 caso e intensa para 3 casos; já em 33 casos (51,56%) onde predominou um infiltrado granulomatoso discreto, a quantidade total de *P.brasiliensis* variou de discreto a intenso, predominando 14 casos com presença discreta do fungo, seguido de

12 casos com moderada e 7 casos com presença intensa (Tab.13). Não houve portanto correlação entre a quantidade total de fungos e a intensidade do processo inflamatório granulomatoso nas lesões orais dos pacientes com paracoccidioidomicose, entretanto, em 2 casos, notamos uma correlação inversa, caracterizando o pólo anérgico, onde foi possível identificar uma quantidade intensa de fungo sem a presença de resposta granulomatosa, e em 1 caso, o pólo hiperérgico, com poucos fungos e intenso processo granulomatoso.

Tabela 13 – Correlação entre a quantidade total de *P. brasiliensis* quanto a presença de Granulomas nas 64 biópsias bucais de Paracoccidioidomicose.

<i>P.brasiliensis</i> \ Granuloma	Granuloma			
	-	+	++	+++
-	-	-	-	-
+	5	14	6	1
++	4	12	7	-
+++	2	7	3	3

- ausente, + discreto, ++ moderado e +++ intenso.

O *Paracoccidioides brasiliensis* se reproduz por gemulação ou brotamento, sendo achado comum nos casos analisados. A presença de fungos, sem brotamento no infiltrado granulomatoso discreto, predominou em 33 casos (51,56%), estando presentes de forma intensa em 8 casos. Na presença de infiltrado granulomatoso intenso o fungo, sem brotamento, ocorreu de forma discreta e moderada em 1 caso e intensa para 2 casos. Não houve portanto correlação entre a quantidade de *P.brasiliensis* sem brotamento e a quantidade de granulomas (Tab.14).

Tabela 14– Correlação entre a presença de Granulomas e *P. brasiliensis* sem brotamento nas biópsias de boca de pacientes com Paracoccidioidomicose, n=64.

<i>P. brasiliensis</i> (s/ brot.) \ Granuloma	Granuloma			
	-	+	++	+++
-	-	-	-	-
+	5	12	7	1
++	4	13	7	1
+++	2	8	2	2

- ausente, + discreto, ++ moderado e +++ intenso.

A presença de fungos, com brotamento, também predominou em infiltrados granulomatosos discretos, variando em discreto para 17 casos, moderado em 8 e intensos em 6 casos, estando ausente em apenas 2 casos. Em outros 2 casos, onde o infiltrado granulomatoso foi intenso, a presença de fungos com brotamentos foi discreta (tab.15). Em resumo, a presença de fungos com brotamento ou sem brotamento ocorreu principalmente em processos granulomatosos discretos, porém não houve correlação entre a presença de fungos com ou sem brotamento e a intensidade de granulomas nas biópsias

Tabela 15 – Correlação entre a presença de Granulomas e *P. brasiliensis* com brotamento nas biópsias de pacientes com Paracoccidioidomicose, n=64.

<i>P. brasiliensis</i> (c/ brot.) \ Granuloma	Granuloma			
	-	+	++	+++
-	1	2	4	-
+	4	17	7	2
++	5	8	3	1
+++	1	6	2	1

- ausente, + discreto, ++ moderado e +++ intenso.

A presença de fungos com brotamento foi proporcional a quantidade total de fungos encontrados nas lesões. Em 6 casos (9,37%) onde a presença total de fungo foi discreta, não observou-se a presença de brotamentos, o mesmo ocorrendo em 1 caso (1,56%) com presença de fungos moderada, (tab.16). Nos outros casos nota-se que quanto maior a quantidade de fungos nas lesões maior era a quantidade de fungos com brotamentos, portanto, houve uma correlação crescente entre a quantidade de fungos totais nas lesões e a quantidade de fungos que mostravam-se com brotamentos.

Tabela 16 – Correlação entre a quantidade de *P. brasiliensis* com brotamento quanto a quantidade total de fungos.

<i>P. brasiliensis</i> (c/ brot.) \ Total				
	-	+	++	+++
-	-	6	1	-
+	-	18	11	1
++	-	-	13	4
+++	-	-	-	10

- ausente, + discreto, ++ moderado e +++ intenso.

Houve correlação também entre a quantidade de fungos sem brotamento e a quantidade total de fungos (tab.17). Em 24 casos em que a quantidade total de fungos foi pequena a quantidade de *P.brasiliensis* sem brotamento também foi pequena e em 15 casos onde a quantidade total de fungos foi intensa, a quantidade de *P.brasiliensis* também foi intensa.

Tabela 17 – Correlação entre a quantidade de *P. brasiliensis* sem brotamento quanto a quantidade total de fungos.

<i>P. brasiliensis</i> (s/ brot.)	Total			
	-	+	++	+++
-	-	-	-	-
+	-	24	2	-
++	-	-	23	-
+++	-	-	-	15

- ausente, + discreto, ++ moderado e +++ intenso.

Na análise estatística dos resultados, observou-se significância, para o teste Qui-quadrado a nível de 5%, apenas entre os parâmetros das tabelas 8 (Correlação entre a quantidade de granulomas não organizados e organizados na paracoccidioidomicose bucal), 10 (Correlação entre a quantidade de *P. brasiliensis* sem e com brotamento nas células gigantes fora dos granulomas na paracoccidioidomicose bucal), 16 (Correlação entre a quantidade de *P. brasiliensis* com brotamento quanto a quantidade total de fungos) e tabela 17 (Correlação entre a quantidade de *P. brasiliensis* sem brotamento quanto a quantidade total de fungos). Nos demais parâmetros não houve correlação estatisticamente significativa.

DISCUSSÃO

DISCUSSÃO

Na literatura há muitos relatos de trabalhos "*in vitro*" e "*in vivo*" para esclarecer os vários aspectos da paracoccidiodomicose. Há pesquisas que visam preferencialmente a cavidade bucal, área de atuação dos cirurgiões-dentistas. **MOTTA & PUPO**, em 1936 já chamavam a atenção dos cirurgiões-dentistas para esta entidade mórbida, principalmente no que diz respeito ao diagnóstico diferencial com outras doenças infecciosas e neoplásicas da boca, sendo de extrema importância o conhecimento adequado desta patologia (de **ALMEIDA et al.**, 1991; **COLOMBO et al.**, 1992; **SCULLY et al.**, 1992 e **SPOSTO et al.**, 1993).

No que diz respeito ao aspecto epidemiológico, **FRANCO (1994)**, relata que a forma crônica da doença ocorre principalmente em homens na faixa etária entre 30 a 49 anos, chegando à proporção de 25 homens para cada mulher afetada. Em 39 pacientes estudados por **SPOSTO et al. (1993)** com lesões bucais, 89% eram homens com média de 46 anos de idade. Em nosso estudo, observamos que em 64 pacientes analisados, 60 pacientes (93,75%) eram homens, com idade média de 44,51 anos.

Os locais freqüentemente biopsiados corresponderam às áreas de maior incidência relatados por **BHASKAR (1989)**; de **ALMEIDA et al. (1991)**; **SPOSTO et al.**, (1993) e **GONZAGA et al. (1995)**. Como as lesões geralmente são múltiplas as biópsias visam também regiões menos traumáticas do paciente e a facilidade de acesso a área. Decorrente disso, houve predominância de biópsias em lesões de mucosa jugal, seguida do palato, mucosa alveolar, lábios e gengiva. Apesar de **BHASKAR (1989)** relatar que as lesões no assoalho bucal sejam freqüentes, apenas uma lesão da nossa

análise correspondeu a esta região, frequência também observada por **SPOSTO et al. (1993)**.

A confirmação do diagnóstico depende da visualização do agente etiológico, possível de ser observado através de citologia esfoliativa, biópsias e coleta para meios de cultura (**de ALMEIDA et al., 1991; SPOSTO et al., 1993**). Na tabela 4 podemos notar que em todos os casos o fungo foi observado. Para isso, utilizou-se diferentes métodos de coloração como hematoxilina/eosina (H/E), ácido periódico de Shiff (P.A.S.) e impregnação pela prata (Gomori-Grocott). Os mesmos métodos foram utilizados por vários autores como **AMADEU FIALHO (1946), BERTOLINI et al. (1981), URIBE et al. (1987), de ALMEIDA et al. (1991); de LIMA et al. (1995); BURGER et al. (1996)**.

O acometimento mucocutâneo ocorre apenas nos processos crônicos da doença, onde é observado uma resposta inflamatória predominante de células mononucleares (**de ALMEIDA et al., 1991**). A forma crônica é descrita como uma reação de duração prolongada, freqüentemente excedendo 6 meses, com instalação lenta e gradual de forma uni ou multifocal envolvendo principalmente pele, mucosas, gânglios linfáticos, medula óssea, supra-renais, baço, fígado, intestinos, articulações, ossos e sistema nervoso, sendo que em mais de 90% dos casos encontram-se lesões pulmonares (**PADILHA-GONÇALVES, 1985; LONDERO et al., 1986; COLOMBO et al., 1994; MOURA et al., 1994**).

A resposta inflamatória observada nas biópsias bucais de paracoccidioidomicose estão quantificadas e inseridas nas tabelas 4 e 5, onde notamos que o infiltrado inflamatório crônico predominou em 31 pacientes, sendo que nos outros casos o infiltrado inflamatório crônico predominou

associado com infiltrado agudo, granulomatoso e agudo/granulomatoso. Portanto o infiltrado crônico esteve presente em todos os casos analisados, estando também associado a formação de granulomas em 82,81% dos casos. No entanto, não observamos correlação entre a intensidade do processo inflamatório crônico com a intensidade de *P.brasiliensis* nas biópsias bucais, visto que a reação crônica esteve presente nos casos de forma moderada a intensa, já a quantidade de fungos variou de discreta a intensa, predominando a forma discreta. Vários autores relatam a formação de infiltrado inflamatório crônico em lesões bucais e em vários outros órgãos em pacientes com paracoccidioidomicose, bem como em modelos experimentais em animais (FONSECA, 1963; LAUAND, 1975; URIBE et al., 1987; de ALMEIDA et al., 1991; SCULLY et al., 1992; FRANCO et al., 1993; SPOSTO et al., 1993; SPOSTO et al., 1994; MENDES, 1994; GONZAGA et al., 1995; BURGER et al., 1996; ALVES DOS SANTOS, 1997).

A presença do infiltrado agudo, foi observado nas lesões ulceradas e pela formação de microabscessos no interior do tecido conjuntivo e epitelial. A presença de lesões de aspecto granulomatoso com pontos hemorrágicos, conferindo um aspecto moriforme às lesões e com presença de microabscessos intraepiteliais são achados freqüentes (de ALMEIDA et al., 1991; SCULLY et al., 1992; SPOSTO et al., 1993; SPOSTO et al., 1994; e GONZAGA et al., 1995). Na cavidade bucal o processo inflamatório agudo pode ser decorrente de fatores como má higienização e traumatismos, freqüentes na boca. De fato, FONSECA (1963) e LAUANDE (1975) já haviam descrito lesões periodontais associadas à presença do fungo, onde verificou a presença de intenso infiltrado inflamatório crônico granulomatoso e agudo.

O padrão de resposta granulomatosa tem sido estudado por vários autores, estando bem estabelecido seus aspectos morfológicos, processo de formação, classificação, componentes celulares e graus de maturação (ADAMS, 1976; WILLIAMS et al., 1983; de BRITO & FRANCO, 1994).

A presença de granulomas foi descrito por vários autores (URIBE et al., 1987; de ALMEIDA et al., 1991 e SCULLY et al., 1992), tendo sido encontrados no presente trabalho em 82,81% dos casos. URIBE et al. (1987) observaram que em 40 biópsias de lesões cutâneas e de mucosa bucal, havia presença de processo inflamatório crônico/granulomatoso, com áreas de supuração, correspondendo ao granuloma micótico misto, e não observaram diferenças entre os padrões de resposta inflamatória na mucosa bucal e na pele. de ALMEIDA et al. (1991) relataram três casos de pacientes brasileiros com lesões bucais, com quadro clínico de lesões granulomatosas crônicas, comprovadas pela análise histológica. Na literatura, estas características correspondem aos estágios 3 - período granulomatoso, com a formação de granulomas epitelióides e presença de fungos no interior; este sendo envolvido por células gigantes e epitelióides, e uma camada mais externa com presença de fibroblastos e fibras colágenas, e ao estágio 4 - estágio crônico com aumento de granulomas compactos, poucos fungos e aumento do grau de fibrose (MOSCARDI-BACCHI, 1983; McEWEN, 1987; KERR et al., 1988; RESTREPO et al., 1992).

FRANCO et al. (1993) e MENDES (1994) descreveram a formação de granulomas organizados nos vários tecidos de pacientes com forma crônica e tardia da doença. Os mesmos achados foram observados em experimentos "in vivo" com comundongos por BURGER et al. (1996), onde observaram a

formação de granulomas maduros apenas nos períodos finais de seu experimento. Estes arranjos organizados foram semelhantes aos padrões bucais por nós observados.

No presente trabalho os arranjos granulomatosos organizados, nas lesões bucais, mostraram-se com presença central de células gigantes, principalmente do tipo Langhans e/ou células gigantes do tipo corpo estranho, porém em menor quantidade. A presença do fungo foi observada principalmente no interior das células gigantes variando sua quantidade em discreta a intensa. Na porção mais externa, os granulomas mostravam-se envolvidos por quantidade discreta de células mononucleares, principalmente linfócitos e plasmócitos. Conforme o grau de organização, estes granulomas também estavam circundados por diferentes graus de fibroblastos e fibras colágenas, os quais correspondem ao estágio 4 previamente descrito.

Os granulomas não organizados apresentavam os mesmos grupos de células dos granulomas organizados, porém distribuídos de forma aleatória, com maior intensidade de células mononucleares e polimorfonucleares, presença de células gigantes com fungos e, em 5 casos, fungos no interior dos granulomas mas fora das células gigantes, o que corresponde ao estágio 3. **URIBE et al. (1987)** descreveram a presença de áreas de supuração e necrose central. Áreas de supuração e de necrose foram vistas em nossos casos, porém não foram quantificados. Pode-se notar contudo, que a formação de necrose na cavidade bucal é menos freqüente quando comparada a lesões presentes em outros órgãos descritas por vários autores (**COELHO et al., 1994; CANO et al., 1995; de LIMA et al., 1995; BURGER et al., 1996**).

URIBE et al. (1987) ainda relataram que em todos os 40 casos avaliados com lesões bucais e de pele, houve predomínio de um padrão granulomatoso não organizado, estando presente apenas em 10 casos a formação de granulomas maduros ou organizados, porém eram em menor número. FRANCO et al. (1997) observaram uma correlação entre a forma clínica da doença e a formação de granulomas "*in vitro*", nos pacientes com forma aguda da doença houve menor intensidade de formação de granulomas, já em pacientes com a forma crônica da doença, desenvolveram reação granulomatosa persistente "*in vitro*". Em nosso estudo, nota-se a formação de granulomas não organizados predominantemente, apesar de ter havido quantidade significativa de granulomas organizados. Houve contudo, correlação entre a quantidade de granulomas organizados e não organizados, bem como com o total de granulomas, mostrando uma tendência de formação de granulomas não organizados nas lesões bucais.

Nas lesões bucais observadas por nós, a presença de neutrófilos ocorreu freqüentemente, predominando nas áreas de microabscessos no tecido epitelial como no tecido conjuntivo. Estavam presentes também nas regiões de ulcerações, às vezes no interior do granulomas não organizados e em associação à partículas fúngicas. O mesmo foi relatado por URIBE et al. (1987), onde descreveram a presença de neutrófilos em todos os casos analisados, juntamente com células mononucleares e próximas às partículas fúngicas, porém não visualizaram as partículas fúngicas no interior destas células. GOIHMAN-YAHR et al. (1992) descreveram que os neutrófilos são células com atividade fagocitária eficiente, porém apresentam uma deficiência na digestão do *P.brasiliensis*, parecendo que esta característica é específica

para o fungo. **BURGER et al. (1996)** descreveram uma presença intensa de neutrófilos principalmente na primeira semana de infecção em camundongos atímicos e eutímicos nos vários órgãos analisados, caracterizando principalmente o período agudo inicial, porém, estas células estiveram presentes em todos os períodos analisados, diminuindo em quantidade nos períodos mais tardios, sendo os principais componentes celulares, juntamente com macrófagos e células gigantes, nas lesões sistêmicas em camundongos infectados com *P.brasiliensis*.

BRITTO & FRANCO (1994) relataram as duas formas opostas de resposta frente ao agente etiológico descritas previamente por **MUSATTI et al. (1976)**; **MENDES (1980)** e **YARZÁBAL et al. (1980)**. A resposta anérgica, onde não ocorre a formação de granulomas organizados e existe uma grande intensidade de fungos nas lesões, e a forma hiperérgica, onde os granulomas apresentam-se organizados com discreta presença de fungos em seu interior.

No presente trabalho, em apenas 2 casos foi observado o pólo anérgico de resposta, com presença intensa de fungos e ausência de reação granulomatosa e em 1 casos pode-se observar o pólo hiperérgico, com pequena quantidade de fungos e intensa formação de granulomas. Os outros casos permaneceram no padrão intermediário de resposta, podendo estar relacionado a virulência do fungo ou pelo tipo de resposta inflamatória do hospedeiro como descrito por **FRANCO et al. (1989)**; **SINGER-VERMES (1989)** e **SINGER-VERMES et al. (1994)**. Com isso, não observamos uma relação entre a quantidade de fungos e a intensidade de granulomas nas lesões bucais de paracoccidioidomicose.

A presença de *P. brasiliensis* em nosso modelo de estudo veio de encontro a literatura, sendo observado principalmente no interior das células gigantes tanto no interior dos granulomas como fora dos granulomas **URIBE et al. (1984)**. A formação de brotamentos ocorreu principalmente no interior das células gigantes o mesmo visto por **BERTOLINI et al. (1981)**. **MOSCARDI-BIACCHI et al., (1994)** utilizando monócitos e macrófagos de indivíduos normais, verificaram que estas células permitem o crescimento e a multiplicação intracelular do *P. brasiliensis*. **BRUMMER et al., (1988b, 1989)** demonstraram ainda que macrófagos peritoneais e pulmonares de camundongos normais são incapazes de limitar a multiplicação de leveduras do *P. brasiliensis* fagocitadas, porém quando ativados por linfocinas, principalmente IFN- γ , demonstraram que macrófagos não somente impedem a multiplicação como apresentam atividade fungicida, demonstrando assim um papel essencial na resistência à paracoccidioidomicose.

Houve correlação entre a intensidade de fungos sem brotamentos com o total de fungos presentes nas lesões, o mesmo ocorrendo para fungos com brotamento. Este fato evidencia que quanto maior a quantidade total de fungos, tanto no interior como fora das células gigantes, maior a quantidade de fungos com e sem brotamentos observados nas lesões.

As lesões bucais mostraram áreas de microabscessos principalmente no tecido epitelial, onde podemos observar a presença de fungos, que em alguns casos mostram-se numa porção mais externa, indicando possível relação com o meio externo. Nestas regiões o infiltrado agudo é geralmente intenso, com predomínio de neutrófilos que circundam o fungo formando estruturas tipo rosetas, o mesmo tendo sido observado por

BURGER et al. (1996), que descreveram também uma maior intensidade de *P. brasiliensis* no interior do foco necrótico. **URIBE et al. (1987)** descreveram a formação de microabscessos intraepiteliais em lesões bucais e de pele, mostrando ainda que a formação dos microabscessos proporciona uma eliminação do fungo e de vários elementos celulares via epitelial, sendo possível sua visualização em citologias esfoliativas (**de BRITO et al., 1973**).

O *P. brasiliensis* desenvolve respostas tipo humoral e celular, com ativação linfocítica e macrofágica (**FRANCO et al., 1993; CALICH et al., 1994 e PERAÇOLI et al., 1995**). A ativação dos macrófagos via linfocinas ou diretamente pelo antígeno, leva a união de células formando as células gigantes tipo corpo estranho ou tipo Langhans. Estas células são comumente observadas nas lesões de paracoccidioidomicose. Na tabela 4 podemos observar que a presença de células gigantes ocorreu em todos os casos, tanto no interior dos granulomas como fora dos granulomas, em meio ao infiltrado crônico.

A presença de linfócitos CD4, foi descrita por **MOSCARDI-BACCHI et al., (1989)** e por **SHIEFFIELD (1990)** nas lesões granulomatosas, principalmente na região central dos granulomas. Linfócitos do tipo CD8 foram vistos principalmente na periferia das lesões formando um anel ao redor das lesões granulomatosas. Na nossa análise das lesões bucais a presença de linfócitos foi evidente nos granulomas, sendo vistos na periferia e na região central, porém não foi possível identificar o tipo de linfócito devido às técnicas utilizadas. É difícil avaliar a resposta linfocítica nas lesões bucais, embora linfopenia no sangue tenha sido relatada por **DEFAVERI et al. (1979)** e **BAVA et al. (1991)** em pacientes com paracoccidioidomicose. Observamos contudo,

casos em que a quantidade de células mononucleares como linfócitos e plasmócitos era intensa, principalmente nos casos onde a formação de granulomas não organizados predominavam. Os mesmos achados foram vistos por **URIBE et al. (1987)**; **COELHO et al. (1994)** e **BURGER et al. (1996)**.

A presença de grande número de eosinófilos em tecidos como nasofaringe, pulmões, pele, intestinos e trato genito-urinário tem sido relatada por vários autores (**FOOT, 1965**; **HUDSON, 1968** e **SPRY, 1971**). Sabe-se que estas células participam como moduladores de reações de hipersensibilidade do tipo I (Tipo anafilática) nas mucosas e aumentam em número em doenças parasitárias e em algumas patologias de origem desconhecida como na úlcera eosinofílica. **COELHO et al. (1994)** descreveram a presença de eosinófilos em lesões de diversos órgãos causadas por *P. brasiliensis* inoculados via intratesticular, circundando células fúngicas viáveis. **BURGER et al. (1996)** descreveram a presença de eosinófilos nos períodos iniciais e tardios, o que correspondeu a primeira e oitava semana após a infecção inicial respectivamente, com quantidade aumentada no período tardio, juntamente com a diminuição dos componentes agudos e aumento de células mononucleares como linfócitos e plasmócitos.

A presença de eosinófilos nas lesões bucais de paracoccidiodomicose é um achado comum tendo sido relatado por vários autores (**URIBE et al., 1987**; **COELHO et al., 1994**; **BURGER et al., 1996**). Em nosso estudo, estas células foram observadas em 92,18% dos casos, sendo que de forma intensa em 13 casos (20,31%). Já **URIBE et al. (1987)** descreveram eosinófilos em 50% dos casos. Estas células estavam presentes no interior do tecido conjuntivo, tecido epitelial e em áreas de microabscessos,

apresentando-se em algumas regiões em associação às células fúngicas, o mesmo observado por **COELHO et al. (1994)**. Porém não observamos correlação entre a quantidade de eosinófilos e a intensidade de fungos ou de granulomas nas lesões bucais, entretanto, vale ressaltar a disposição no qual estas células foram encontradas na cavidade bucal, formando, em algumas lesões ninhos celulares próximos ao fungo e ao tecido epitelial, estando em outras, dispostas de forma dispersa pelos tecidos, distribuição também observada por **URIBE et al., (1987)** e **COELHO et al. (1994)**. Contudo **BURGER et al., (1996)**, não demonstraram associação de eosinófilos com fungos em análise por microscopia eletrônica de transmissão, apenas observaram estas células em locais próximos ao fungo. Apesar de estarem comumente presentes, não se sabe a função exata destas células nas lesões de paracoccidioidomicose.

Hiperplasia pseudoepiteliomatosa nas lesões bucais de paracoccidioidomicose, com áreas de espongiose, displasias leves, exocitose e áreas de microabscessos são achados comuns. (**FRANCO et al., 1982; HIRSCH et al., 1984; URIBE et al., 1987** e de **ALMEIDA et al., 1991**). Em todos os casos analisados de lesões bucais houve a formação de hiperplasia pseudoepiteliomatosa. Esta hiperplasia mostrava-se com áreas de atrofia, exocitose, largas a estreitas projeções para o interior do tecido conjuntivo e formação de microabscessos, muitas vezes com a presença de fungos, achados já previamente descritos por vários autores.

O envolvimento de outras estruturas na cavidade bucal foi observado em 54,68% dos casos. Predominando tecido muscular, seguido de tecido glandular e adiposo. Este envolvimento é decorrente principalmente da

localização e profundidade das lesões. Observamos que estas estruturas encontravam-se normais estando em alguns casos envolvidas por processo inflamatório crônico. Não observamos a presença de fungos nestas estruturas e nas proximidades. Na literatura não encontramos relatos mostrando envolvimento destas estruturas bucais com as lesões de paracoccidioidomicose bucal.

Todos os resultados foram submetidos à análise estatística pelo programa Epi-info 6.04 da O.M.S. O teste utilizado foi o Qui-quadrado com nível de significância de 5%. A avaliação mostrou significância estatística entre os parâmetros das tabelas 8 (Correlação entre a quantidade de granulomas não organizados e organizados na paracoccidioidomicose bucal), 10 (Correlação entre a quantidade de *P.brasiliensis* sem e com brotamento nas células gigantes fora dos granulomas na paracoccidioidomicose bucal), 16 (Correlação entre a quantidade de *P.brasiliensis* com brotamento quanto a quantidade total de fungos) e tabela 17 (Correlação entre a quantidade de *P.brasiliensis* sem brotamento quanto a quantidade total de fungos), não sendo estatisticamente significativa para os demais parâmetros avaliados. A análise estatística foi realizada para comprovar a correlação subjetiva previamente obtida.

Não existe na literatura um estudo visando determinar a correlação dos vários parâmetros microscópicos encontrados na Paracoccidioidomicose bucal. A quantificação feita neste trabalho foi subjetiva. Sabe-se que o envolvimento da boca ocorre na forma mucocutânea e portanto as características clínicas e microscópicas possivelmente são semelhantes, como indicam os resultados deste trabalho.

Para complementar os resultados deste trabalho, as características microscópicas estão sendo reavaliadas com auxílio de sistema de imagem e por técnicas de imunocitoquímica.

CONCLUSÕES

CONCLUSÕES

1. Na paracoccidioidomicose bucal predominou o infiltrado crônico mononuclear, com quantidade variável de granulomas, células gigantes, microabscessos, hiperplasia pseudoepiteliomatosa e infiltrado eosinofílico.
2. O *P.brasiliensis* foi observado em quantidade variável, com e sem brotamento, na maioria dos casos dentro das células gigantes, nos granulomas e fora dos granulomas.
3. Houve correlação direta entre a quantidade total de fungos e de fungos com e sem brotamento.
4. Houve correlação direta entre a quantidade total de granulomas organizados e não organizados, bem como com o total de granulomas.
5. Não houve correlação entre a quantidade de fungos e os vários parâmetros avaliados, assim como dos outros parâmetros entre si.
6. Estudos quantitativos de histomorfometria por imagem e imunohistoquímica devem ser realizados para melhor avaliação dos resultados obtidos.

RESUMO

Resumo

A paracoccidioidomicose é uma micose sistêmica que freqüentemente envolve a mucosa bucal, provocando lesões de aspecto granular, eritematoso e ulcerado, chamado de moriforme. Embora os aspectos microscópicos da paracoccidioidomicose sejam bem conhecidos, não há descrições detalhadas e quantitativas das características histológicas da paracoccidioidomicose bucal. O objetivo deste trabalho foi descrever, quantificar e correlacionar as principais características microscópicas de 64 biópsias de paracoccidioidomicose bucal.

Os cortes histológicos foram corados com H/E, P.A.S. e Gomori Grocott. Os parâmetros avaliados foram a inflamação crônica mononuclear, microabscessos, granulomas, células multinucleadas, *Paracoccidioides brasiliensis*, eosinófilos e hiperplasia pseudoepiteliomatosa. Na maioria dos casos predominou infiltrado mononuclear, com quantidade variável dos demais parâmetros avaliados. As partículas fúngicas, com ou sem brotamento, foram observadas principalmente no interior das células gigantes, dentro ou fora dos granulomas. A partir dos dados quantitativos, concluiu-se não haver correlação entre os vários parâmetros analisados, exceto entre a quantidade de fungos com e sem brotamentos. O mesmo material utilizado neste trabalho está sendo estudado com o auxílio de sistema de imagem, assim como por imunocitoquímica para confirmação ou não dos resultados descritos.

SUMMARY

SUMMARY

Paracoccidioidomycosis is a systemic mycosis that frequently involves the buccal mucosa, causing granular, eritematous and ulcerated lesions, called mulberry-like (framboesiform). Although the microscopic features of paracoccidioidomycosis are well-known, there are no detailed descriptions and quantitative evolution in the histological characteristics of the oral lesions. The aim of this work was to describe, quantify and correlate the main microscopic aspects of 64 biopsies of the oral mucosa.

Paraffin sections were stained with H/E, P.A.S. and Gomori-Grocott. The following parameters were analysed: mononuclear chronic inflammation, microabscess, granuloma, giant cells, *Paracoccidioides brasiliensis*, eosinophil and pseudoepitheliomatous hyperplasia. In most cases there was a mononuclear infiltrate predominance, with variable amounts of the other parameters considered. The fungic particles, with multiple or without budding, were observed mainly in the giant cells, in or out of the granulomas. The quantitative data, indicated that there was no correlation among the various parameters analysed, except between the quantity of fungi with and without budding. The same material used in this work is now being studied with the help of an image analysing system and by immunocytochemistry techniques to confirm or not the results here described.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS*.

- Abernathy R. (1973). Treatment of systemic mycoses. *Medicine*, **52**: 385-391.
- Adams, D.O (1976). The granulomatous inflammatory response – a review. *Am. J. Pathol.* **84**: 164-191.
- Almeida, F (1930). Estudos comparativos do granuloma coccidióidico nos Estados Unidos e no Brasil. Novo gênero para o parasito brasileiro. *An. Fac. Med. S. Paulo* **5**: 125-141.
- Alves dos Santos, J.W.; Michel, G.T. and Londero, T.A. (1997). Paracoccidioidoma: Case record and review. *Mycopathologia*, **137**: 83-85.
- Arango, M. & Yarzabal, L. (1982). T-cell dysfunction and hyperimmunoglobulinemia E in paracoccidioidomycosis. *Mycopathologia* **79**: 115-124.
- Barbosa, W. (1991). Paracoccidioidomicose (Blastomicose Sul Americana) In Amato Neto, V. & Baldy, J.L.S., Doenças Transmissíveis. São Paulo, Sarvier: 3ª ed.: pp 653-662.
- Bava, A.J., Mistchenko, A.S., Palacios, M.F., Estevez, M.E., Tiraboschi, I.N., Sem, L., Negroni, R., and Diez, R. (1991). Lymphocyte subpopulations and cytokine production in paracoccidioidomycosis patients. *Microbiol. Immunol.* **33**: 167-170.

* de acordo com as normas da Revista Oral Diseases.

- Bernard, G.; Mendes-Giannini, M.A.; Juvenale, M.; Miranda, E.T. and Duarte, A.J.S. (1997). Immunosuppression in Paracoccidioidomycosis: T cell Hyporesponsiveness to two Paracoccidioides brasiliensis glycoproteins that elicit strong humoral response. *J Infect. Dis.*, **175**: 1263-1267.
- Bertolini, P.; Lauand, F.; Camara, L.P. (1981). Alguns aspectos da multiplicação do *Paracoccidioides brasiliensis* em testículos de cobaie. *Rev. Cien. Farm. São Paulo* **3**: 5-10.
- Beurman, L. & Gougerot, H. (1912). Les sporotrichoses. Paris, *Felix Alcon*.
- Bhaskar, S.N. (1989). *Patologia Bucal Artes Médicas*: 4ª ed.: pp 581.
- Bogliolo, L. (1946a). Granuloma apical (dentário) por *Paracoccidioides brasiliensis*. (Splendore) Almeida. *Brasil-Médico*, **60**: 314-342.
- Bogliolo, L. (1946b). terceira contribuição ao conhecimento da morfologia do agente da moléstia de Lutz nos tecidos humanos parasitários. *Revista Brasileira de Biologia*, **6**: 181-197.
- Bogliolo, L. (1950). South American Blastomycosis, (Lutz disease): contribution to knowledge of its pathogenesis. *Arq. Dermt. Syphilol.*, **61**: 470-474.
- Bon-Habib, D.C.; Oliveira Neto, M.P.; Cruz, M.F.F.; Castro, O.G. (1989). The possible role of circulatory immune complexes in the deficiency of cell mediated immunity in paracoccidioidomycosis. *Brazilian J. Med Biol. Res*, **22**: 205-212.
- Bopp, C. (1955). Algumas considerações sobre a micose de Lutz no Rio Grande do Sul. *Anais da Faculdade de Medicina de Porto Alegre*, **15**: 97-123.

- Brummer, E.; Hanson, L.H.; Stevens, D.A. (1988a.). Gamma interferon activation of macrophages for killing of *Paracoccidioides brasiliensis* and evidence for nonoxidative mechanisms. *Int. J. Immunopharmacol.*, **10**, 945-52.
- Brummer, E.; Hanson, L.H.; Restrepo, A.; Stevens, D.A. (1988b.). *In vivo* and *in vitro* activation of pulmonary macrophages by IFN-gamma for enhanced killing oh *Paracoccidioides brasiliensis* and *Blastomyces dermatitidis*. *J. Immunol.* **140**: 2786-89.
- Brummer, E.; Hanson, L.H.; Restrepo, A.; Stevens, D.A. (1989). Intracellular multiplication of *Paracoccidioides brasiliensis* in macrophages: Killing and restriction of multiplication by activated macrophages. *Infect. Immun.* **57**, 2289-94.
- Brummer, E.; Restrepo, A.; Hanson, L.H.; Stevens, D.A. (1990). Virulence of *P.brasiliensis*: the influence of *in vitro* passage and storage. *Mycopathologia* **109**, 13-17.
- Brummer, E.; Castañeda E.; Restrepo, A. (1993). Paracoccidioidomycosis. An update, *Rev. Clin. Microbiol.*, **6**: 89-92.
- Burger, E.; Miyaji, M.; Sano, A.; Calich, V.L.G.; Nishimura, K. And Lenzi, H.L. (1996). Histopathology of paracoccidioidomycosis infection in athymic and euthymic mice: A sequential study. *Am. J. Trop. Med. Hyg*, **55** (2), 235-242.
- Calich, V.L.G.; Russo, M.; Vaz C.A.C.; Burger, E., Singer-Vermes, L.M. (1994). Resistance mechanism to experimental *Paracoccidioides brasiliensis* infection. *Ciênc. Cult.* (São Paulo), **46**, 455-61.
- Cano, L.E.; Arango, R.; Salazar, M.E.; Brummer, E.; Stevens, D.A.; Restrepo, A. (1992): Killing of *P.brasiliensis* conidia by pulmonary macrophages and the effect of cytokines. *J. Med. Vet. Mycol.*, **30**, 161-168.

- Cano, L.E.; Singer-Vermes, L.M.; Vaz, C.A.C.; Russo, M.; Calich, V.L.G. (1995). Pulmonary paracoccidioidomycosis in resistant and susceptible mice: relationship among progression of infection, bronchoalveolar cells activation, cellular immune response, and specific isotype patterns. *Infect. Immun.* **63**, 1777-83.
- Castro, R.M.; Cuce, L.C. And Fava Neto, C. (1975). Paracoccidioidomicose. Inoculação accidental "in anima nobile". Relato de um caso. *Med. Cut. Ibero. Lat. Amer.*, **3**: 289-292.
- Chikamori, T.; Saka, S.; Nagano, H.; Saeki, S.; Lacaz, C.S.; Rodrigues, M.C.; Cassaguerra, C.M.; Bracciali, M.L. (1984). Paracoccidioidomycosis in Japan. Report of a case. *Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo*, **26**, 267-271.
- Coelho, K.I.R.; Takeo, K.; Yamaguchi, M.; Sano, A.; Kurita, N.; Yoshida, S.; Nishimura, K.; Miyaji, M. (1994). Experimental paracoccidioidomycosis in hamster: Transmission electron microscopy of inoculation site lesion. *Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo*, **36**: 217-223.
- Colombo, A.L.; Camargo, L.F.; Fischman, O.G.; Castelo, A. (1992). The clinical parameters relevant for the differential diagnosis between mucocutaneous leishmaniasis and paracoccidioidomycosis. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* **25**: 171-175.
- Colombo, A.L.; Faical, S. & Kater, C.E. (1994). Systematic evaluation of the adrenocortical function in patients with paracoccidioidomycosis. *Mycopathologia* **127**: 89-93.
- de Almeida, O.P.; Scully C. Oral Lesions in the systemic mycoses. (1991). *Curr. Opin. Dent.*, **1**: 423-428.

- de Almeida, O.P.; Jorge, J.; Scully, C.; Bozzo, L. (1991). Oral manifestations of paracoccidioidomycosis (South American blastomycosis). *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.* **72** (4), 430-435.
- de Brito, T.; Franco, M.F. (1994). Granulomatous Inflammation. *Rev. Inst. Med Trop. São Paulo* **36**: 185-192.
- de Brito, T.; Furtado, S.J.; Castro, M. & Manini, M. (1973). Intraepitelial parasitism in human paracoccidioidomycosis (South American Blastomycosis). *Virchows. Acta Path. Anat.*, **351**: 129-138.
- de Lima, M.A.; Silva-Vergara, M.L.; Demachki, S.; dos Santos, J.A.M. (1995). Paracoccidioidomicose em paciente com a infecção pelo vírus da imunodeficiência humana, relato de necrópsia. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.*, **28**: 279-284.
- Defaveri, J. (1979). Paracoccidioidomicose pulmonar experimental do camundongo. Botucatu, (Dissertação de mestrado – Faculdade de Medicina de Botucatu).
- Defaveri, J., Martin, L.C., And Franco, M. (1989). Histological and ultrastructural study of the inflammation evoked by *Paracoccidioides brasiliensis* antigen in previously immunized mice, *Mycopathologia*, **105**: 53.
- Dorland Wan (1951). *The American Medical Dictionary*. **22nd ed.**: Philadelphia, WB Saunders.
- Ferreira, L.C.L; Silva, M.H.C.R.; Paulo, M.S.; Souza, F.H.C.; Cardoso, M.S.L.; Sálem, J.I. (1995). Diagnóstico das Micoses Pulmonares no Amazonas. *An. XXXI Congresso Sociedade Brasileira Medicina Tropical*, Resumo nº 192, 96.

- Fialho, A.S. (1946). Localizações pulmonares da "micose de Lutz". Anatomia patológica e patogenia. Importância de seu estudo na patologia pulmonar. Tese, Rio de Janeiro.
- Fonseca, J.B. (1963). Blastomicose sul-americana. Estudo das lesões dentais e paradentais sob o ponto de vista clínico e histopatológico. *Rev. Fac. Odont. São Paulo*, 1: 1-38.
- Foot, E.C. (1965). Eosinophil turnover in the normal rat. *Br. J. Haematol.*, 11: 439-445.
- Franco, M. (1987a). Host-parasite relationships in paracoccidioidomycosis. *J. Med. Vet. Mycol.*, 25: 5-18.
- Franco, M.V.G.; Goes, A.M. and Koury, C.M. (1997). Model of *in vitro* granulomatous hypersensitivity in human paracoccidioidomycosis. *Mycopathol.*, 137:129-136.
- Franco, M; Lacaz, C.S.; Retrepo-Moreno, A. & Del Negro, G. (1994). Paracoccidioidomycosis: **CRC**: 410-411.
- Franco, M.; Mendes, R.P.; Moscardi-Biacchi, M.;Rezkallah-Iwasso, M. & Montenegro, M.R. (1989). Paracoccidioidomycosis. *Baillière's Clin. Trop. Med. Commun. Dis.*, 4: 185-220.
- Franco, M.F. & Montenegro, M.R.G. (1982). Anatomia patológica. In: Del Negro, G.; Lacaz, C.S. & Fiorillo, A.M.: Paracoccidioidomycosis (Blastomycose Sulamericana): São Paulo, *Sarvier*. 97-117.
- Franco, M.; Montenegro, M.R.; Mendes, R.P.; Marques, S.A.; Dillon, N.L.; Mota, N.G. (1987b). Paracoccidioidomycosis: a recently proposed classification of its clinical forms. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.*, 20: 129-132.

- Franco, M.; Moscardi-Biacchi, M.; Bacchi, C.E. et al. (1988). Pathogenesis of *Paracoccidioides brasiliensis* granuloma. In: TORRES-RODRIGUES, J.M., ed. Proceedings of the X Congress of the International Society for Human and Animal Mycology (ISHAM). Barcelona, J. R. Prous. Science, 138-142.
- Franco, M.; Peraçoli, M.T.; Soares, A. et al. (1993). Host-parasite relationship in paracoccidioidomycosis. *Curr. Top. Med. Mycol.*, 5: 115-149.
- Giraldo, R.; Retrepo, A.; Gutiérrez, F.; Robledo, M.; Londoño, F.; Hernández, H.; Sierra, F. & Calle, F. (1976). Pathogenesis of paracoccidioidomycosis: a model based on the study of 46 patients. *Mycopathologia* 58 (2): 63-70.
- Gonzaga, H.F.S.; Benatti Neto, C.; Oliveira, M.R.B.; Costa, C.A.S.; Spolidório, L.C. & Lia, R.C.C. (1995). Infecções micóticas na cavidade bucal. *J.B.M.* 69:168-174.
- Goihman-Yahr, M.; Rothenberg, A.; Bretana, A.; Istúriz, G. et al. (1989). Digestion of Killed *Paracoccidioides brasiliensis* by neutrophils. *Mycopathologia*, 106: 53-58.
- Goihman-Yahr, M.; de Brito, C.; de Albornoz, M.C.B.; de Gomez, M.H.; Pereira, J.; de Román, A.; Martín, B.S.; Molina, T. (1989). Functions of polymorphonuclear leukocytes and individuality of Jorge Lobo's Disease: Absence of the specific leukocyte digestive defect against *Paracoccidioides brasiliensis*. *Mycoses*, 32: 603-608.
- Goihman-Yahr, M.; Essenfeld-Yahr, E.; Albornoz, M.C.; Yarzabal, L.; Gomez, M.H.; San Martín, B.; Ocampo, A.; Convit, J. (1979). New method for estimating digestion of *Paracoccidioides brasiliensis* by phagocytic cells *in vitro*. *J. Clin. Microbiol.*, 10: 365-370.

- Goihman-Yahr, M.; Essenfled-Yahr, E.; Albornoz, M.C.; Yarzabal, L.; Gomez, M.H.; San Martín, B.; Ocanto, A., Gil, F. & Convit, J. (1980). Defect of the in vitro digestive ability of polymorphonuclear leukocytes in paracoccidioidomycosis. *Infec. Immun.*, **28**: 557-566.
- Goihman-Yahr, M.; Isturiz, G.; Rothenberg, A. (1990). Los fagocitos y patogenia de la paracoccidioidomicosis. *Interciencia*, **15**: 200-205.
- Goihman-Yahr, M.; Pereira, J.; Istúriz, G.; Vilorio, N.; Carrasquero, M.; Saavedra, N.; de Gomez, M.H.; Román, A.; San Martín, B.; de Albornoz, M.C.B.; de Fernández, B.; Avila-Millán, E. (1992). Relationship between digestive and killing abilities of neutrophils against *Paracoccidioides brasiliensis*. *Mycoses*, **35**: 269-274.
- Hirsh, B.C. and Johnson, W.C. (1984). Pathology of granulomatous diseases - review. *Int. J. Dermatol.*, **23**, 585-97.
- Hirsh, B.C. and Johnson, W.C. (1984). Concepts of granulomatous inflammation - review. *Int. J. Dermatol.*, **23**: 90-100.
- Hudson, G. (1968). Quantitative study of the eosinophil granulocytes. *Semin. Hematol.*, **5**: 166-186.
- Iabuki, K. (1973). Blasomicose Sul-Americana experimental do hamster. Botucatu,. (Tese de Doutorado - Fac. Ciências Méd. Biol. Botucatu).
- Jensen, J.; Warner, T.; Balish, E. (1994). The role of phagocytic cells in resistance to disseminated Candidiasis in Grnaulocytopenic Mice. *J. Infec. Dis.*, **170**: 900-905.
- Kashino, S.S. (1990). Efeito do bloqueio do sistema mononuclear fagocítico na paracoccidioidomicose experimental em camundongos resistentes e suscetíveis ao fungo. São Paulo. Tese (Mestrado) Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo.

- Kashino, S.S.; Calichi, V.L.G.; Singer-Vermes, L.M.; Abrahamsohn, P.A. & Burger, E. (1987). Growth curves, morphology and ultrastructure of ten *Paracoccidioides brasiliensis* isolates. *Mycopathologia*, **99**: 119-128.
- Kerr, I.B.; Araripe, J.R.; de Oliveira, P.C.; Lenzi, H.L. (1988). Paracoccidioidomycosis. A sequential histopathologic study of lesions in experimental-infected rats. *Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo*, **30**: 336-350.
- Kerr, I.B.; de Oliveira, P.C. & Lenzi, H.L. (1988). Connective matrix organization in chronic granulomas of experimental paracoccidioidomycosis. *Mycopathologia*, **103**: 11-20.
- Kerr, I.B.; Saripe, J.B.; de Oliveira, P.C. and Lenzi, H. (1988). Paracoccidioidomycosis, histopathologic study of lesions in experimentally-infected rats, *Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo*, **30**: 336.
- Lacaz, C.S. (1956). South American Blastomycosis. *An. Fac. Med. São Paulo*, **7**-120.
- Lacaz, C.S. (1994). *Paracoccidioides brasiliensis* Morphology; Evolutionary Cycle; Maintenance during saprophytic life; Biology, Virulence, Taxonomy. In: Paracoccidioidomycosis (eds. M. Franco, C.S. Lacaz, a. Restrepo-Moreno & G. Del Negro): *Paracoccidioidomycosis*. Boca Raton: CRC Press: pp 109-120.
- Lauande, F.; Lia, R.C.C. and Paino, M.A.S. (1975). Blastomicose Sul-Americana. Estudo clínico das lesões bucais. *Rev. Fac. Fam. Odont. (Araraquara)*, **9**: 243.
- Lewis, M.R. (1925). The formation of macrophages, epithelioid cells and giant cells from leukocytes on inoculated blood. *Am. J. Pathol.*, **1**: 91.

- Londero, A.T. & Del Negro, G. (1986). Paracoccidioidomycose. *J. Pneumol.*, **12**: 41-60.
- Londero A.T. and Ramos C.D. (1978). Paracoccidioidomycosis. *Am J. Med.*, **52**: 771-777.
- Loose, D.S.; Stover, E.P.; Restrepo, A.; Stevens, D.A. & Feldman, D. (1983). Estradiol binds to a receptor-like cytosol binding protein and initiates a biological response in *Paracoccidioides brasiliensis*. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **80**: 7659-7663.
- Lutz, A. (1908a). Uma mycose pseudococcidica localisada na bocca e observada no Brazil. Contribuição ao conhecimento das hyphoblastomycoses americanas. *Brazil-med.*, **22**: 121-124.
- Lutz, A. (1908b). Uma mycose pseudococcidica localisada na bocca e observada no Brazil. Contribuição ao conhecimento das hyphoblastomycoses americanas. *Impr Med Ris*, **16**: 151-153.
- Manns, B.J.; Baylis, B.W.; Urbanski, S.J.; Gibb, A.P. Rabin, H.R. (1996). Paracoccidioidomycosis: case report and review. *Clin. Infect. Dis.*, **23**: 11026-1032.
- Mariano, M. and Spector, W.G. (1973). The formation and properties of macrophage polykaryons (Inflammatory giant cells). *J. Pathol.*, **113**: 1-19.
- Mariano, M.; Nikitin, T. and Malucelli, B.E. (1975). Immunological and non-immunological phagocytosis by inflammatory macrophages, epithelioid cells and macrophage polykaryons from foreign body granulomata. *J. Pathol.*, **120**: 151-159.

- Mariat, F. (1982). Diagnostic biologique des mycoses tropicales cutanées et sous-cutanées. In: *IX^{es} Journées Nationales de Biologie. (Iyon)*. 15-16, 17-31.
- Marques, S.A. Franco M.F.; Mendes R.P., et al. (1983). Aspéctos epidemiológicos da paracoccidioidomicose na área endêmica de Botucatu (São Paulo, Brasil). *Rev.Inst. Med. Trop. São Paulo*, **25**: 87-92.
- McEwen, J.G., Bedoya, V., Pantiño, M.M., Salazar, M. A., and Respepo, A. (1987). Experimental murine paracoccidioidomycosis induced by inhalation of conidia, *J. Med. Vet. Mycol.*, **25**: 165.
- McEwen, J.G.; Brummer, E.; Stevens, D.A.; Retrepo, A. (1987). Effect of murine polymorphonuclear leukocytes on the yeast form of *Paracoccidioides brasiliensis*. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, **36**: 603-8.
- Mendes, N.F.; Musatti, C.C.; Leao, R.C.; Mendes, E.; Naspitz, C.K. (1971). Lymphocyte cultures and skin allograft survival in patients with South American blastomycosis. *J. Allergy. Clin. Immunol.*, **48**: 40-45.
- Mendes, E. (1975). Delayed hipersensitivity reactions in patients cith paracoccidioidomycosis. In: Proceedings of the International conference on the Mycoses. III. São Paulo, 1974. *Washington, PAHO, Scient.*, **304**: 17-22.
- Mendes, E., (1980). *Imunopatologia: Sarvier*. São Paulo, pp180-182.
- Mendes, R.P, (1994). The gamut of clinical manifestations. In Franco, M.; Lacaz,C.S.; Restrepo-Moreno,A.; Del Negro, G. *Paracoccidioidomycosis. Boca Raton: CRC Press: pp 233-258*.
- Meyer, R.D. (1986). Cutaneos and mucosal manifestations of the deep mycotic infections. *Acta Derm. Venereol. (Stockh)*, **121**: 57-72.

- Miyaji, M. & Nishimura, K. (1983). Granuloma formation and killing functions of granuloma in congenitally athymic nude mice infected with *Blastomyces dermatitidis* and *Paracoccidioides brasiliensis*. *Mycopathologia (Den Haag)*, **82**: 129-141.
- Mok., P.W.Y. & Greer, D.L. (1977). Cell-mediated immune responses in patients with paracoccidioidomycosis. *Clin. Exp. Immunol.*, **28**: 89-98.
- Montenegro, M.R.; Franco, M. (1994). Pathology. In: Franco, M.; Lacaz, C.S.; Restrepo-Moreno, A.; Del Negro, G. eds, Paracoccidioidomycosis. Boca Raton: CRC Press: pp 131-135.
- Moore, M. (1955). Morphology variation in tissue of the organisms of the blastomycosis and of histoplasmosis. *Am. J. Pathol.*, **31**: 1049-64.
- Moscardi-Bacchi, M., Soares, A., Mendes, R.P., Marques, S. and Franco, M.F. (1989). "In situ" localization of T lymphocytes subset in human paracoccidioidomycosis, *J. Med. Vet. Mycol.*, **27**: 149.
- Moscardi-Bacchi, M.; Brummer, E. and Stevens, D.A. (1994). Support of *Paracoccidioides brasiliensis* multiplication by human monocytes por macrophages: inhibition by activated phagocytes. *J. Med. Microbiol.*, **40**: 159-164.
- Mota, N.G.S.; Peraçoli, M.T.S.; Mendes, R.P.; et al. (1988). Mononuclear subsets in patients with different clinical forms of paracoccidioidomycosis. *J. Med. Vet. Mycol.*, **26**: 105-111.
- Motta, L.C. (1935). Granulomatose paracoccidiódica (blastomicose brasileira). *An. Fac. Med. São Paulo*, **11**: 293-309.

- Motta, L.C. & Puppo, J.A. (1936). Granulomatose paracoccidiódica. ("Blastomicose Brasileira") I- Estudo anátomo-clínico das lesões cutâneas. II-Estudo clínico das blastomicoses tegumentares. *An. Fac. Med. S. Paulo*, **12**: 407- 426.
- Moura, L.P.; Raffin, C.N.; Del Negro, G.M. & Ferreira, M.S. (1994). Paracoccidioidomycosis evidencing spinal cord involvement treated with success by fluconazole. *Arq. Neuropsiquiatr.*, **52**: 82-86.
- Musatti, C.C.; Rezkallah, M.T.; Mendes, E. & Mendes, N.F. (1976). In vivo and in vitro evaluation of cell-mediated immunity in patients with paracoccidioidomycosis. *Cell. Immunol.*, **24**: 365-378.
- Padilha-Gonçalves (1985). A. Paracoccidioidomicose. *An. Bras. Dermatol.*, **60**: 271-280.
- Peraçoli, M.T.S. (1978). Paracoccidioidomicose experimental do hamster. Estudo da imunidade celular e humoral, correlação com a morfologia das lesões de inoculação e disseminação. São Paulo, (Tese de mestrado – escola Paulista de Medicina).
- Peraçoli, M.T.S.; Fortes, M.R.P.; Pereira Da Silva, M.F. & Montenegro, M.R. (1995). Natural killer cell activity in experimental paracoccidioidomycosis of the syrian hamster. *Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo*, **37**: 129-136.
- Restrepo, A.M. (1985). The ecology of *Paracoccidioides brasiliensis*: a puzzle still unsolved. *Sabouraudia*, **23**: 323-327.
- Restrepo, A.; Gomez, I.; Cano, L.E.; et al. (1983). Treatment of paracoccidioidomycosis with ketoconazole: a three-year experience. *Am. J. Med.*, **74**: 48-52.

- Restrepo, A.; Robedo, M.; Guitierrez, F.; San Clemente, M.; Castaneda, E.; Calle, G. (1970). Paracoccidioidomycosis (South American blastomycosis): a study of 39 cases observed in Medellin, Colombia. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, **19**: 68-76.
- Restrepo, A.; Salazar, M.E.; Cano, L.E.; Stover, E.P.; Feudman, D.; Stevens, D.A. (1984). Strogens inhibit mycelium-to-yeast transformation in the fungus *Paracoccidioides brasiliensis*: implications for resistance of females to paracoccidioidomycosis. *Inf. Immun.*, **46**: 346-353.
- Restrepo, S., Tobón, A.M., and Restrepo, A. (1992). Interacción celular en la fibrosis pulmonar observada en la paracoccidioidomicosis (P.C.M.) experimental, *Rev. Arg. Micol.*, **15**: 38.
- Rezkallah Iwasso, M.T. (1981). Ação do levamisole na paracoccidioidomicose experimental do hamster. Estudo da imunidade humoral e celular. Correlação entre a resposta imunitária e a morfologia das lesões. São Paulo, (Tese de Doutorado – Escola Paulista de Medicina).
- Robins, S.L; Cotran, M.D.; Kumar, V. (1994). Pathologic basis of disease. *Saunders*: 5th edition: pp 178-182.
- Salazar, M.E.; Restrepo, A.; Stevens, D.A. (1988). Inhibition by strogens of conidium-to-yeast conversion in the fungus *Paracoccidioides brasiliensis*. *Infect. Immun.*, **56**: 711-713.
- San Blas, G. (1985). *Paracoccidioides brasiliensis*: cell wall glucans, pathogenicity, and dimorphism. *Curr. Top. Med. Mycol.*, **1**: 235-257.
- San-Blas, G. & San-Blas, F. (1977). *Paracoccidioides brasiliensis*: cell wall structure and virulence. *Mycopathologia* (Den Haag), **62**: 77-86.
- Saran, R. (1975). Observations on the phagocytic activities of Eosinophils. *Indian. J. Med. Res.*, **63**: 10 -1486-88.

- Sassine, W.; Oliveira, M.B.R.; Batista, G.; Delmaestro, D. Campagnolli, V. & Bou-Habib, D.C. (1985). Paracoccidioidomicose. Estudo imunológico de duas formas clínicas. *An. Bras. Dermatol.*, **60**: 3-8.
- Scully, C.; De Almeida, O.P. (1992). Orofacial manifestations of the systemic mycoses. *J. Orol Pathol. Med.* **21**: 289-294.
- Shieffield, E.A. (1990). The granulomatous inflammatory response. *J. Pathol.*, **160**: 1-2.
- Singer-Vermes, L.M.; Burger, E.; Calich, V.L.; Modesto-Xavier, L.H.; Sakamoto, T.N.; Sugizaki, M.F.; Meira, D.A., Mendes, R.P. (1994). Pathogenicity and immunogenicity of *Paracoccidioides brasiliensis* isolates in human disease and in na experimental murine model. *Clin. Exp. Immunol.*, **97**: 113-119.
- Singer-Vermes, L.M.; Burger, E.; Franco, M.F.; Di-Biacchi, M.M.; Mendes-Giannini, M.J.; Calich, V.L. (1989). Evaluation of the pathogenicity and immunogenicity of seven *Paracoccidioides brasiliensis* isolates in susceptible inbred mice. *J. Med. Vet. Mycol.*, **27**: 71-82.
- Siqueira, A.M. (1982). Avaliação da sensibilidade e especificidade de algumas provas sorológicas no diagnóstico, prognóstico e controle de cura da paracoccidioidomicose. Caracterização do antígeno E2 do *Paracoccidioides brasiliensis*. São Paulo (Tese de Doutorado) USP.
- Soares, E.G. & Iabuki, K. (1974). Blastomicose Sul Americana acompanhada desde a lesão até o óbito. *Anais do Congresso Brasileiro de Patologia*, 4º Encontro Luso Brasileiro de Anatomia Patológica, Curitiba, Resumo nº 108.

- Sposto, M.R.; Scully, C.; De Almeida, O.P.; Jorge, J.; Graner, E.; Bozzo, L. A. (1993). Study of 36 South American patients. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.* **75**: 461-465.
- Sposto, M.R.; Mendes-Giannini, M.J.; Moraes, R.A.; Branco, F.C.; Scully, C. (1994). Paracoccidioidomycosis manifesting as oral lesions: clinical, cytological and serological investigation. *J. Oral. Pathol. Med.*, **23**: 85-87.
- Spry, C.J.F. (1971). Mechanism of eosinophilia. VI. Eosinophil mobilization. *Cell tissue kinet.* **4**: 365-374.
- Teixeira, H.C. (1991). Ativação de macrófagos peritoneais e de linfócitos B esplênicos em camundongos resistentes e suscetíveis durante a infecção por *Paracoccidioides brasiliensis*. São Paulo, Tese (Doutorado)- Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo.
- Toledo, M.S.; Suzuki, E.; Straus, A.H.; Takahashi, H. (1995). Glycolipids from *Paracoccidioides brasiliensis*. Isolation of a galactofuranose-containing glycolipid reactive with sera of patients with paracoccidioidomycosis. *J. Med. Vet. Mycol.*, **33**: 247-251.
- Uribe, F.; Zuluaga, A.I.; Leon, W.; Restrepo, A. (1987). Histopathology of cutaneous and mucosal lesions in human paracoccidioidomycosis. *Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo*, **29**: 90-96.
- Vargas, J. and Recacoechea, M. (1988). Ketoconazole in the treatment of paracoccidioidomycosis (South American blastomycosis): experience of 30 cases in Bolivia. *Mycosis*, **31**: 187-197.
- Warren, K.S. (1977). A functional classification of granulomatous inflammation. *An. New York Academy of Sciences*: 7-18.
- Williams, G.T.; Williams, W.J. (1983). Granulomatous inflammation – a review. *J.Clin. Pathol.*, **36**: 723-733.

Yarzabal, L., Dessaint, J.P., Arango, M., Albornoz, M.C.B., And Campins, H. (1980). Demonstration and quantification of IgE antibodies against *Paracoccidioides brasiliensis* in paracoccidioidomycosis, *Int. Arch. Allergy*, **62**: 346.

Zacharias, D.; Ueda, A.; Moscardi-Bacchi, M.; Franco, M.; San-Blas, G. (1986). A comparative histological, immunological, and biochemical study of experimental intravenous paracoccidioidomycosis induced in mice by tree *Paracoccidioides brasiliensis* isolates. *J. Med. Vet. Mycol.*, **24**: 445-454.