

UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA - UNB
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PATOLOGIA
MOLECULAR

IDENTIFICAÇÃO MOLECULAR E MODELAMENTO DE
NICHOS ECOLÓGICOS DE *Paracoccidioides* sp. E *Coccidioides* sp. NO
SEMIÁRIDO BRASILEIRO

LUCAS GOMES DE BRITO ALVES

Orientador: Prof. Dr. Marcus de Melo Teixeira

BRASÍLIA

2023

IDENTIFICAÇÃO MOLECULAR E MODELAMENTO DE
NICHOS ECOLÓGICOS DE *Paracoccidioides* sp. E *Coccidioides* sp. NO
SEMIÁRIDO BRASILEIRO

LUCAS GOMES DE BRITO ALVES

Orientador: Prof. Dr. Marcus de Melo Teixeira

Universidade de Brasília

Faculdade de Medicina

Programa de Pós-graduação em Patologia Molecular

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Patologia Molecular da Faculdade de Medicina da Universidade de Brasília como requisito parcial à obtenção do grau de Mestre em Patologia Molecular.

BRASÍLIA

2023

Banca Examinador:

Prof. Dr. Wildo Navegantes de Araújo
Núcleo de Medicina Tropical – NMT/UnB
Membro titular

Prof. Dr. Thales Domingos Arantes
Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública – IPTSP/UFG
Membro externo

Prof. Dr. Marcus de Melo Teixeira
Núcleo de Medicina Tropical – NMT/UnB
Orientador

Prof.^a Dra. Larissa Fernandes Matos
Laboratório de Imunologia Aplicada – LIA/UnB
Suplente

Agradecimentos

À meus pais, em especial meu pai, por proporcionarem a melhor educação que poderiam oferecer a mim e meus irmãos. Aos meus amigos que me acompanharam nessa jornada, acreditando em mim, me dando o apoio e motivação para trilhar meu caminho e seguir meus sonhos, mesmo quando eu mesmo não acreditei em mim.

Ao professor Dr. Marcus de Melo Teixeira pela orientação e idealização do projeto. Por lutar diariamente pelos seus alunos e ciência no Brasil, assim como os melhores pesquisadores desse país. Por ter acreditado em mim e me dar a oportunidade quando eu ainda estava na graduação, sem real experiência na ciência.

À todos os professores que tive em toda minha jornada acadêmica. Principalmente a professora Cláudia, durante meu Ensino Médio no INEI, que infelizmente não tive mais contato, mas foi fundamental na minha jornada, sendo uma das primeiras pessoas a acreditar em mim, no meu potencial e a me incentivar a seguir meus sonhos.

À todos os integrantes do grupo de pesquisa que compõem este projeto, sem vocês esse projeto não seria o mesmo, em especial o professor Dr. Eduardo Bagagli e a Danielle Yamauchi que me receberam calorosamente em Botucatu.

À todos que contribuíram para esse trabalho e para minha jornada de alguma forma, sem sua contribuição e apoio foram o que proporcionaram a conclusão deste trabalho.

Sumário	
Agradecimentos	3
Sumário.....	4
Índice de figuras	6
Índice de Tabelas	8
Lista de Siglas.....	9
Resumo	10
Asbtract.....	12
Introdução	13
Pneumonia Adquirida na Comunidade - PAC.....	13
Paracoccidiodomicose	16
Coccidiodomicose	19
<i>Paracoccidoides</i> e <i>Coccidoides</i> : mecanismos evolutivos adaptativos ao parasitismo animal.....	21
Detecção molecular em amostras ambientais	23
Modelagem de Nicho Ecológico	24
Justificativa	26
Objetivo	27
Materiais e Métodos	28
Identificação molecular de <i>Paracoccidoides</i> e <i>Coccidoides</i> em amostras de solos de tocas de tatus e outros mamíferos no Nordeste do Brasil.....	28
Sequenciamento	30
Georreferenciamento e modelagem de nicho	33
Dados na literatura	35
Resultados.....	38
Estudo retrospectivo	38
Nested PCR.....	47
Sequenciamento e Comparação entre amostras clínicas e ambientais	49

Modelagem de Nicho.....	54
Discussão	56
Estudo retrospectivo	56
Detecção molecular	56
Análise filogenética	57
Modelagem de nicho ecológico	57
Perspectivas	59
Conclusão	60
Referências	61

Índice de figuras

Figura 1. Representação da distribuição de paracoccidiodomicose na América Latina. As áreas de cinza claro e quadriculadas são de baixa incidência, as áreas de cor preta são de incidência moderada e as áreas de cinza sólido são de alta incidência (adaptado de COLOMBO et al., 2011)	17
Figura 2. Ciclo biológico hipotético de <i>P. brasiliensis</i> (adaptado de BAGAGLI et al., 2008).....	18
Figura 3. Distribuição estimada do número casos de coccidiodomicose no continente americano. As áreas de cor amarela representam os casos de infecção por <i>C. immitis</i> . As áreas de cor alaranjada representam os casos de infecção por <i>C. posadasii</i> . (Adaptado de https://www.cdc.gov/fungal/diseases/coccidiodomycosis/maps.html) ..	20
Figura 4. Ciclo de vida de <i>Coccidioides</i> spp. (Adaptado de LEWIS; BOWERS; BARKER, 2015).....	21
Figura 5. Área de estudo, os pontos vermelhos indicam os pontos de coleta das amostras de solo	28
Figura 6. Fotos de alguns dos locais onde as amostras de solo foram coletadas. A: Aiuaba - CE; B: Oeiras - PI; C: Quixadá - CE; D: Pio IX - PI; E: Divisa de Palmácea e Redenção – Ceará; F e G: toca de tatu em Picos – PI; H: Cão e toca	29
Figura 7. Número de casos de paracoccidiodomicose, reportados em artigos e resumos, no Nordeste brasileiro por faixa etária	38
Figura 8. Distribuição temporal dos casos de PCM reportados em artigos e resumos.....	39
Figura 9. Distribuição total de casos de PCM incluídos no estudo por faixa etária	42
Figura 10. Número de casos de coccidiodomicose no Nordeste brasileiro por faixa etária	44
Figura 11. Distribuição temporal dos casos de coccidiodomicose no Nordeste brasileiro	44
Figura 12. Mapa da detecção molecular e relação da proporção de amostras de solo positivas e negativas. A: <i>Paracoccidioides</i> B: <i>Coccidioides</i>	48
Figura 13. Árvore filogenética da comparação entre amostras ambientais de <i>Coccidioides</i> e sequências anotadas. Os taxons em vermelho indicam as amostras ambientais sequenciadas.....	50

Figura 14. Árvore filogenética da comparação entre amostras ambientais de <i>Coccidioides</i> e sequências anotadas, onde o clado de <i>C. immitis</i> foi colapsado para melhor visualização. Os taxons em vermelho indicam as amostras de solo que foram sequenciadas.	51
Figura 15. Árvore filogenética da comparação entre amostras ambientais de <i>Paracoccidioides</i> e sequências anotadas. Os taxons em vermelho indicam as amostras de solo que foram sequenciadas.	52
Figura 16. Árvore filogenética da comparação entre amostras ambientais de <i>Paracoccidioides</i> e sequências anotadas, onde o clado de <i>P. lutzii</i> foi colapsado para melhor visualização. Os taxons em vermelho indicam as amostras de solo que foram sequenciadas e em verde está indicado o clado colapsado de <i>P. lutzii</i>	53
Figura 17. Predição de adequação de nicho para <i>Paracoccidioides</i> baseado na presença clínica. A probabilidade de adequação é dada em probabilidade, variando de 0 a 1	54
Figura 18. Predição de adequação de nicho para <i>Paracoccidioides</i> baseado na presença ambiental do fungo. A probabilidade de adequação é dada em probabilidade, variando de 0 a 1.....	55
Figura 19. Predição de adequação de nicho para <i>Coccidioides</i> utilizando apenas dados de presença clínica	55

Índice de Tabelas

Tabela 1. Exemplos de patógenos causadores de Pneumonia Adquirida na Comunidade. Adaptado de Ramirez et al., 2020.	14
Tabela 2. Número de acesso no Genbank das sequências utilizadas na produção da árvore filogenética de <i>Paracoccidioides</i> sp.	31
Tabela 3. Número de acesso no Genbank das sequências utilizadas na produção da árvore filogenética de <i>Coccidioides</i> sp.	32
Tabela 4. Variáveis bioclimáticas utilizadas na modelagem de nicho. (Adaptado de https://www.worldclim.org/data/bioclim.html)	34
Tabela 5. Casos de paracoccidioidomicose relatados no Nordeste brasileiro recuperados no estudo retrospectivo.....	36
Tabela 6. Casos de coccidioidomicose relatados no Nordeste brasileiro recuperados no estudo retrospectivo.....	37
Tabela 7. Relação de casos de paracoccidioidomicose e coccidioidomicose, reportados em resumos e artigos por estado	40
Tabela 8. Dados clínicos dos casos de PMC na literatura, sem (MATOS, 2009; VERAS, 1995).....	41
Tabela 9. Distribuição de todos os casos de PCM por estado e de casos de PCM por estado do Nordeste brasileiro	43
Tabela 10. Dados clínicos dos casos de CM na literatura	45
Tabela 11. Relação do número total de casos de CM por estado do Nordeste ...	46
Tabela 12. Relação de amostras de solo positivas para <i>Coccidioides</i> e <i>Paracoccidioides</i>	47

Lista de Siglas

AL	Alagoas
BA	Bahia
CE	Ceará
EUA	Estados Unidos da América
IBTEC	Instituto de Biotecnologia
ITS	<i>Internal Transcribed Spacer</i> /Espaçador Interno Transcrito
MA	Maranhão
NCBI	National Center for Biotechnology Information
PAC	Pneumonia Adquirida na Comunidade
PB	Paraíba
PCM	Paracoccidioidomicose
PCR	<i>Polimerase Chain Reaction</i> /Reação da Polimerase em Cadeia
PE	Pernambuco
PI	Piauí
PM10	Material Particulado inferior à 10 µm
RN	Rio Grande do Norte
SE	Sergipe
UNESP	Universidade Estadual Paulista

Título: Identificação molecular e modelagem de nicho ecológico de *Paracoccidioides* sp. e *Coccidioides* sp. no semiárido brasileiro

Resumo

Paracoccidioidomicose (PCM) e coccidioidomicose (CM) são micoses sistêmicas causadas pelos fungos saprófitos termodimórficos dos gêneros *Paracoccidioides* e *Coccidioides*, respectivamente. Este estudo buscou pela identificação molecular (*nested* PCR) de *Coccidioides* e *Paracoccidioides* em amostras de solo oriundas do Nordeste brasileiro e casos retrospectivos de CM e PCM no Nordeste modelar o nicho ecológico de ambos os fungos no Nordeste. Foram identificados ao todo neste estudo, 607 casos de PCM e 342 casos de CM. Sendo 429 casos de PCM no Nordeste. Maranhão (n=370) foi o estado com maior número de casos de PCM reportados, seguido de Pernambuco (n=17). O estado do Piauí (n=277) teve o maior número de casos de CM descritos na literatura e o Ceará (n=33) foi o segundo estado com o maior número de casos de CM reportados na literatura. Foram coletadas 296 amostras de solo de tocas de tatus com intuito de identificar os agentes etiológicos destas micoses na natureza por meio de *nested* PCR. Destas, 46 foram positivas para *Coccidioides* e 87 para *Paracoccidioides*, das quais 13 foram positivas para ambos. Aproximadamente dez amostras aleatórias de solo positivas para *Coccidioides* e *Paracoccidioides* foram sequenciadas e comparadas com sequências depositadas no banco de dados do NCBI por meio de análises filogenéticas de máxima verossimilhança. Para o gênero *Paracoccidioides*, 8 amostras agruparam-se com sequências anotadas de amostras de solo e três amostras apresentam alta similaridade evolutiva com amostras clínicas; todas agruparam-se com *P. brasiliensis*. Não houve uma boa diferenciação entre as duas espécies de *Coccidioides*, mas todas as amostras de solo foram agrupadas com as sequências de amostras clínicas de *C. posadasii*. Utilizando Maxent, os dados da literatura e ambientais com as variáveis ambientais do WorldClim foram utilizados para produzir modelos de nicho ecológico para *Coccidioides* e *Paracoccidioides*. As variáveis abióticas mais relevantes para ambos os fungos foram: Temperatura Sazonal, Precipitação Sazonal, Precipitação durante o trimestre mais frio e Precipitação durante o trimestre mais quente. Os modelos retornaram os biomas Cerrado, Floresta Amazônica e Mata Atlântica como áreas de maior adequação para *Paracoccidioides*; e a Caatinga e o Cerrado para *Coccidioides*. A detecção molecular em amostras ambientais é uma ferramenta poderosa para estudos epidemiológicos,

permitindo o desenvolvimento de modelos de nicho ecológicos que podem auxiliar na compreensão dos agentes etiológicos e, em conjunto com dados clínicos, podem ser utilizados no monitoramento de doenças.

Palavras-chave: paracoccidiodomicose, coccidiodomicose, modelagem de nicho ecológico, semiárido brasileiro

Asbtract

Paracoccidioidomycosis (PCM) and coccidioidomycosis (CM) are systemic mycoses caused by thermodimorphic saprophytic fungi of the genera *Paracoccidioides* and *Coccidioides*, respectively. Through molecular identification (nested PCR) of *Coccidioides* and *Paracoccidioides* in soil samples from the Northeast of Brazil and retrospective cases of CM and PCM in the Northeast of Brazil to model the ecological niche of both fungi in the Brazilian Northeast. In total, 607 cases of PCM and 342 cases of CM were identified in this study. 429 cases of PCM were from the geopolitical region of Northeast. Maranhão (n=370) were the state with more cases of PCM reported, followed by Pernambuco (n=17). The state of Piauí (n=277) were the state with more cases of CM reported, followed by Ceará (n=33). 296 soil samples from armadillo burrows were collected with the intention of identifying the etiological agent of this mycosis in nature by means of nested PCR. Of these, 46 were positive for *Coccidioides* and 87 for *Paracoccidioides*; 13 were positive for both. From the positive soil samples of *Coccidioides* and *Paracoccidioides*, around 10 random samples were selected to be sequenced and compared with sequences deposited in the NCBI database by maximum likelihood phylogenetics analysis. For the genus *Paracoccidioides*, 7 samples clustered with annotated sequences of soil samples and three showed high similarity to clinical samples, all clustered with *P. brasiliensis*. There was no good distinction between both *Coccidioides* species, but all soil samples clustered with clinical sequences of *C. posadasii*. Using Maxent, the clinical and environmental data with WorldClim's environmental variables were used to model the ecological niche for *Coccidioides* and *Paracoccidioides*. The most relevant abiotic variables for both fungi were: Temperature Seasonality, Precipitation Seasonality, Mean Temperature of Coldest Quarter and Mean Temperature of the Warmest Quarter. The models returned the Cerrado, Amazon Forest and Atlantic Forest as the most adequate biomes for *Paracoccidioides*, and Caatinga and Cerrado biomes for *Coccidioides*. The molecular detection in soil samples is a powerful tool for epidemiological studies, allowing the development of ecological niches that help in the comprehension of etiological agents and coupled with clinical data, can be used to monitor diseases.

Keywords: paracoccidioidomycosis, coccidioidomycosis, ecological niche model, Brazilian semiarid

Introdução

Pneumonia Adquirida na Comunidade - PAC

De acordo com a Organização Mundial da Saúde – OMS, doenças infecciosas são a segunda causa de morte no mundo depois de doenças cardiovasculares e estima-se que, anualmente, aproximadamente 3 milhões de pessoas morrem devido à infecções pulmonares (OMS 2018). O sistema pulmonar está em contato direto com o ambiente externo ao organismo e pode ser primariamente colonizado por diversos patógenos. A interação dos macrófagos alveolares de mamíferos com as bactérias, vírus e fungos é fator determinante para o processo infeccioso e consequente patogênese (KOHLMEIER; WOODLAND, 2009; LIONAKIS; ILIEV; HOHL, 2017; MCTAGGART et al., 2019). As infecções causadas por estes patógenos, em sua maioria, são assintomáticas, no entanto podem evoluir para um quadro global de gripe ou pneumonia primária (pneumonia adquirida na comunidade – PAC) (CORRÊA et al., 2009; PRINA; RANZANI; TORRES, 2015). Diversos fatores de risco influenciam as PAC, entre eles temos tabagismo, insuficiência cardíaca, envelhecimento, doença pulmonar obstrutiva crônica, colonização da orofaringe, alcoolismo e/ou cirrose hepática, microaspiração/macroaspiração, imunossupressão e deficiência nutricional. Além disso, a mortalidade das PAC em idosos e crianças menores de 1 ano de idade é mais frequentemente (ALMIRALL et al., 2017; DONÀ et al., 2017). Fatores ambientais e climáticos também são responsáveis diretos pelo aumento da incidência destas doenças pulmonares bem como surtos e epidemias notáveis relacionados à PAC, tendo diferentes distribuições no país e no mundo (MIRSAEIDI et al., 2016). A PAC é uma das principais causas de morte no mundo e é a terceira causa de mortalidade entre as pneumonias (CORRÊA et al., 2018). No Brasil, entre 1996 e 2012, casos classificados como pneumonia representam uma mediana de aproximadamente 37% de todas as mortes por doenças respiratórias de acordo com dados do Sistema de Informações sobre Mortalidade do Departamento de Informática do Sistema Único de Saúde (SUS).

As diretrizes brasileiras citam as seguintes espécies como agentes etiológicos das PAC em adultos imunocompetentes: Influenza, rinovírus, vírus sincicial respiratório entre os vírus; e *Streptococcus pneumoniae*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Chlamydomphila pneumoniae*, *Legionella* sp., *Staphylococcus aureus* entre as bactérias. Quando há falha terapêutica, pensa-se sobre outras infecções pulmonares

causadas por *Mycobacterium tuberculosis*, *Leptospira* sp. e *Coxiella burnetti* (CORRÊA et al., 2009, 2018). Geralmente, só é levantada a hipótese de PAC fúngica em caso de falha terapêutica ou casos específicos (CORRÊA et al., 2009, 2018). Apesar de mencionar que fungos são possíveis causadores de pneumonia adquirida na comunidade, as diretrizes brasileiras não mencionam nenhum agente etiológico fúngico específico. Diferentemente, a Sociedade Torácica Americana (EUA) não só indica os agente etiológicos fúngicos, como também o fator de risco associado à eles. Na Tabela 1 são apresentados alguns exemplos de patógenos que podem causar PAC (MANDELL et al., 2007; RAMIREZ et al., 2020). No estado do Arizona-EUA, a CM está ligada as PAC, possivelmente sendo responsável por até 29% dos casos (CHEN et al., 2011; GALGIANI et al., 2016; MALO et al., 2017; VALDIVIA et al., 2006).

Tabela 1. Exemplos de patógenos causadores de Pneumonia Adquirida na Comunidade. Adaptado de Ramirez et al., 2020.

Bactérias	Vírus Respiratórios	Fungos
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Influenza	<i>Pneumocystis jirovecii</i>
<i>Staphylococcus aureus</i>	Parainfluenza	<i>Aspergillus</i> spp.
<i>Streptococcus pyogenes</i>	Coronavírus	<i>Histoplasma</i> spp.
<i>Haemophilus influenzae</i>	Vírus sincicial respiratório	<i>Blastomyces</i> spp.
<i>Moraxella catarrhalis</i>	Rinovírus	<i>Coccidioides</i> spp.
Enterobacteriaceae	Adenovírus	<i>Cryptococcus</i> spp.
<i>Legionella pneumophila</i>	Metapneumovírus humano	<i>Mucorales</i> spp.
<i>Chlamydomphila pneumoniae</i>	Citomegalovírus	
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>		
<i>Coxiella burnetti</i>		
Bacilos gram-negativos não fermentadores		

Apesar dos exames físico e radiológico serem os critérios de diagnóstico mais comuns e com alta sensibilidade, eles são bastante inespecíficos, dificultando a determinação do agente etiológico da PAC (GONÇALVES-PEREIRA; CONCEIÇÃO; PÓVOA, 2013). Esses fatores em conjunto podem levar a um tratamento incorreto, paciente não responsivo ao tratamento e à um diagnóstico tardio, uma vez que PAC pode ser causada por diferentes agentes etiológicos (CHEN et al., 2011; GONÇALVES-PEREIRA; CONCEIÇÃO; PÓVOA, 2013; MANDELL et al., 2007).

Infecções Fúngicas

Existe um enorme número de espécies fúngicas no mundo todo, mas apenas em torno de 500 são preditas como infecciosas para humanos. A maioria dos fungos está presente no ambiente e muitos fazem parte da microbiota de humanos e animais (One Health, 2019; PATHAKUMARI; LIANG; LIU, 2020). Estima-se que bilhões de pessoas no mundo todo são infectadas por fungos patogênicos, das quais em torno de 1,5 milhão de mortes são registradas por ano (BROWN et al., 2012, 2014; KAINZ et al., 2020; PATHAKUMARI; LIANG; LIU, 2020).

O número de infecções fúngicas vem aumentando com o passar dos anos e, conseqüentemente, tornando-se um problema de saúde global associado à alta morbidade e mortalidade e seus problemas associados (BARTLETT, 2011; BROWN et al., 2014; GONÇALVES-PEREIRA; CONCEIÇÃO; PÓVOA, 2013; KAINZ et al., 2020). A reemergência e emergência de micoses humanas estão associados ao aumento no número de pessoas imunocomprometidas, às mudanças climáticas, práticas agrícolas e outras atividades humanas (FISHER et al., 2020; HOBERG; BROOKS, 2015; QUEIROZ-TELLES et al., 2017). *Aspergillus* sp., *Cryptococcus* sp., *Candida* sp., ou *Pneumocystis* sp. são responsáveis por aproximadamente 90% das mortes por infecções fúngicas (FISHER et al., 2020). Grande parcela das infecções fúngicas na América do Sul tem *Histoplasma* sp., *Paracoccidioides* sp., e *Coccidioides* sp. como patógenos primários (ARMSTRONG-JAMES; MEINTJES; BROWN, 2014; LIMPER et al., 2017). No Brasil, a paracoccidioidomicose (PCM) tem ampla distribuição, enquanto a coccidioidomicose (CM) é unicamente reportada no semiárido (DE MACÊDO et al., 2011; MARTINEZ, 2015).

O resultado da infecção depende da resposta imune do hospedeiro, patogenicidade do fungo e sítio de infecção (PATHAKUMARI; LIANG; LIU, 2020) e as micoses podem ser divididas em três categorias: superficial, subcutânea e sistêmica (HAY, 2006). Além disso, os agentes etiológicos podem ser divididos em dois grupos: oportunistas, quando o agente etiológico prefere um habitat independente do hospedeiro e causa infecção apenas quando acidentalmente atravessa as barreiras imunes do hospedeiro, isto é, no estado normal do hospedeiro o patógeno oportunista não provoca infecção; e patógenos primários, quando estes fazem uso do hospedeiro, tornando-o indispensável na aquisição de nutrientes, crescimento e reprodução, isto é, independente do estado no hospedeiro, o patógeno primário é capaz de provocar uma infecção (GNAT et al., 2021).

Paracoccidioidomicose

A paracoccidioidomicose (PCM) é uma infecção fúngica sistêmica causada pelos fungos saprófitos dimórficos que compõem o complexo de espécies *Paracoccidioides* (filo Pezizomycotina, ordem Onygenales, família Ajellomycetaceae) (CORDOVA; TORRES, 2022; MARTINEZ, 2015, 2017; SHIKANAI-YASUDA et al., 2017). Cinco espécies são reconhecidas como agentes etiológicos de PCM: *P. brasiliensis*, *P. lutzii*, *P. americana*, *P. restrepiensis*, *P. venezuelensis*. Enquanto *P. loboii* e *P. ceti* causam infecções subcutâneas em humanos (lobomicose) e golfinhos (TEIXEIRA et al., 2014, 2009; TURISSINI et al., 2017; VILELA et al., 2021). *Paracoccidioides* sp. é encontrado na natureza em sua forma filamentosa que produz propágulos infecciosos chamados de conídio (CORDOVA; TORRES, 2022; MARTINEZ, 2015; SHIKANAI-YASUDA et al., 2017).

A PCM é encontrada unicamente no continente americano; do México, na América do Norte, até a Argentina, na América do Sul. Os países com maior número de casos de PCM reportados são, do maior para o menor: Brasil, Colômbia, Venezuela e Equador (COLOMBO et al., 2011; CORDOVA; TORRES, 2022; MARTINEZ, 2015). No Brasil, a maior região endêmica de PCM é composta pelas regiões Sudeste, Centro-Oeste e Sul. A segunda região endêmica de PCM é localizada ao longo da fronteira leste da região amazônica, composta pelos estados do Para e Tocantins (Região Norte) e do Maranhão (Região Nordeste) e, de menor incidência, a região da Amazônia Ocidental (COLOMBO et al., 2011). No Nordeste, de uma forma geral, há baixa endemicidade de PCM e, aparentemente, não há casos autóctone nas regiões semiáridas (MARTINEZ, 2015). De um modo geral, as regiões onde PCM é endêmica são úmidas, com alta precipitação anual, temperaturas amenas, boa retenção de água no solo e presença de florestas e rios (COLOMBO et al., 2011; MARTINEZ, 2015). A Figura 1 apresenta um mapa da distribuição de PCM na América Latina.

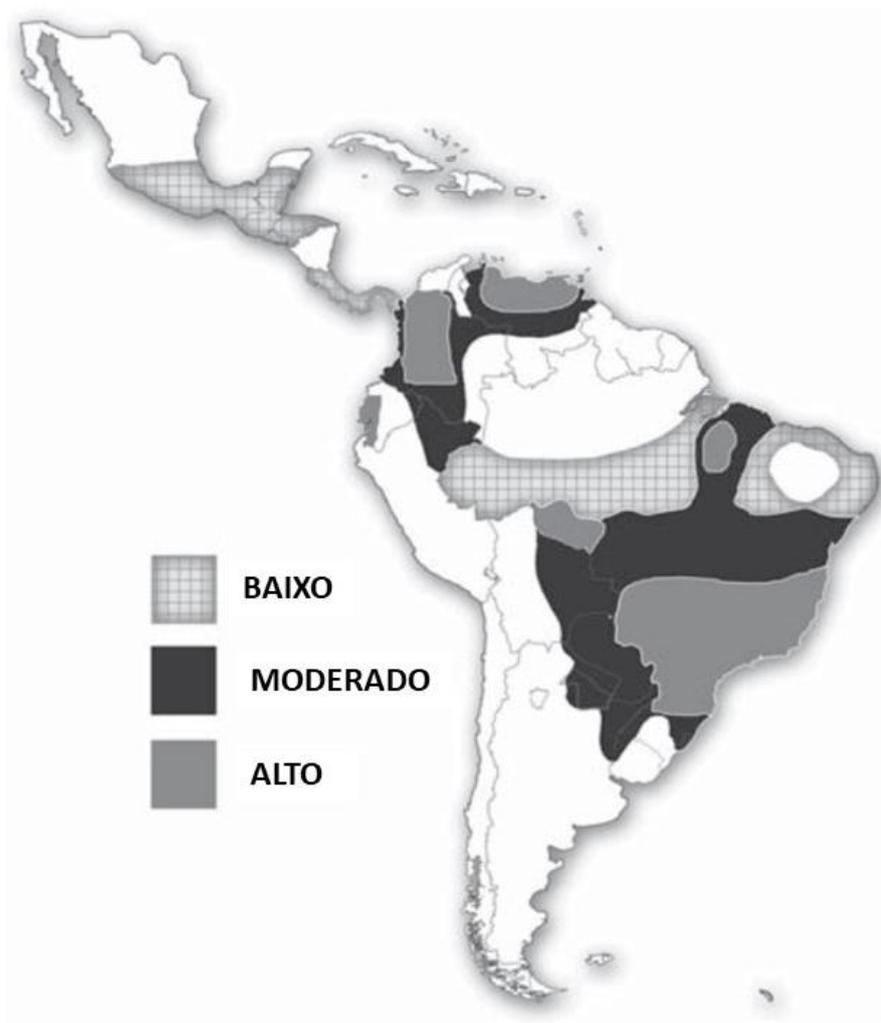


Figura 1. Representação da distribuição de paracoccidioidomicose na América Latina. As áreas de cinza claro e quadriculadas são de baixa incidência, as áreas de cor preta são de incidência moderada e as áreas de cinza sólido são de alta incidência (adaptado de COLOMBO et al., 2011)

A infecção ocorre por meio de inalação das conídios produzidas pela forma filamentosa do fungo quando o solo em que se encontra é perturbado, gerando aerossol (MARTINEZ, 2015; PEÇANHA et al., 2022). À temperatura ambiente (em torno de 24°C), este fungo cresce em sua forma micelial, caracterizado por hifas septadas e conídios; quando em temperatura de aproximadamente 36°C, o fungo passa por uma transformação e cresce como levedura, caracterizado por células leveduriformes com múltiplos brotamentos em aspecto de roda de leme de navio (CORDOVA; TORRES, 2022). A Figura 2 apresenta o ciclo biológico hipotético de *Paracoccidioides* spp.

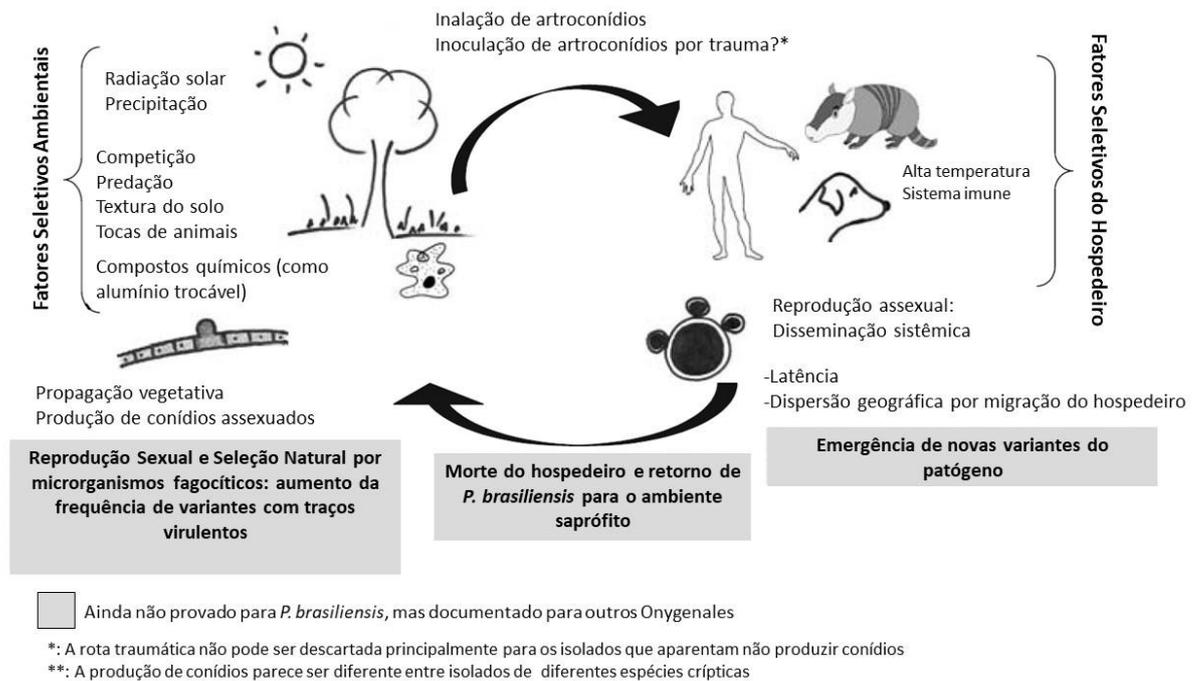


Figura 2. Ciclo biológico hipotético de *P. brasiliensis* (adaptado de BAGAGLI et al., 2008)

A PCM é uma infecção endêmica que ocorre no continente americano, da latitude 23°N até 23°S, principalmente na América do Sul (MARTINEZ, 2015, 2017; PEÇANHA et al., 2022; SHIKANAI-YASUDA et al., 2017). Na maioria das vezes, o próprio organismo resolve a infecção espontaneamente, apenas aproximadamente 1% dos indivíduos infectados desenvolvem sintomas clínicos (CORDOVA; TORRES, 2022, 2022; PEÇANHA et al., 2022). Dentre os indivíduos que apresentam manifestações clínicas, é possível caracterizar a doença em duas formas clínicas: forma aguda ou juvenil e forma crônica (CORDOVA; TORRES, 2022; MARTINEZ, 2015; PEÇANHA et al., 2022).

A forma aguda da PCM ocorre predominantemente em crianças e jovens adultos e apresenta resposta inflamatória pulmonar limitada ou ausente (PEÇANHA-PIETROBOM et al., 2023). Geralmente, os sintomas da forma aguda aparecem após algumas semanas depois da infecção e apresenta lesões na mucosa, linfadenomegalia, hepatoesplenomegalia, febre e perda de peso (MARTINEZ, 2017; PEÇANHA et al., 2022; PEÇANHA-PIETROBOM et al., 2023). A forma crônica representa a maior parcela dos casos de PCM, ocorre em sua maioria em homens adultos e geralmente anos depois da infecção primária (MARTINEZ, 2017; SHIKANAI-YASUDA et al., 2017). É caracterizada por lesões orais, pulmonares e nas vias aéreas, podendo evoluir para infecção no sistema nervoso (CORDOVA; TORRES, 2022; MARTINEZ, 2017; SHIKANAI-YASUDA et al., 2017).

A resposta imune mais adequada para controlar *Paracoccidioides* spp. é a resposta imune celular e isso é observado nos indivíduos de áreas endêmicas que não desenvolvem a doença. Esses indivíduos são caracterizados por uma resposta imune Th1, que gera granulomas compactos para controlar a proliferação do fungo (SHIKANAI-YASUDA et al., 2017). Acredita-se que os indivíduos que desenvolvem a doença têm uma resposta Th1 ineficiente e desenvolvem resposta imune Th2 ou Th9 (CORDOVA; TORRES, 2022; MARTINEZ, 2017; PEÇANHA-PIETROBOM et al., 2023; SHIKANAI-YASUDA et al., 2017).

O diagnóstico de PCM é realizado por visualização dos elementos fúngicos sugestivos de *Paracoccidioides* spp. (cultura e/ou exame direto), histopatologia ou testes sorológicos, sendo a cultura o padrão ouro (CORDOVA; TORRES, 2022; PEÇANHA et al., 2022; PEÇANHA-PIETROBOM et al., 2023). Os principais agentes antifúngicos utilizados no tratamento de PCM são: anfotericina B, azólicos, terbinafina e sulfametoxazol e trimetoprim (CORDOVA; TORRES, 2022; PEÇANHA et al., 2022; PEÇANHA-PIETROBOM et al., 2023).

Coccidioidomicose

A coccidioidomicose (CM) é uma infecção fúngica sistêmica causada pelos fungos dimórficos *Coccidioides immitis* e *Coccidioides posadasii*, Ascomicetos da família *Onygenaceae*, ordem *Onygenales* (BROWN et al., 2013; LEWIS; BOWERS; BARKER, 2015; VALDIVIA et al., 2006; VAN DYKE et al., 2019). Ambas as espécies, na natureza, vivem no solo em sua forma micelial, que produz artroconídios. Estes, quando o solo é perturbado, são transportados pelo ar e inalados por um hospedeiro (LEWIS; BOWERS; BARKER, 2015; PEÇANHA-PIETROBOM et al., 2023). Uma vez inalados por um hospedeiro adequado, os artroconídios transformam para a forma de leveduras, sua forma parasítica (LEWIS; BOWERS; BARKER, 2015; PEÇANHA-PIETROBOM et al., 2023; VAN DYKE et al., 2019). A distribuição estimada dos casos de CM baseada em revisão da literatura é apresentada na Figura 3 e a Figura 4 apresenta o ciclo de vida de *Coccidioides* spp.



Figura 3. Distribuição estimada do número casos de coccidioomicose no continente americano. As áreas de cor amarela representam os casos de infecção por *C. immitis*. As áreas de cor alaranjada representam os casos de infecção por *C. posadasii*. (Adaptado de <https://www.cdc.gov/fungal/diseases/coccidioidomycosis/maps.html>)

A CM é uma micose endêmica de regiões semidesérticas e quentes com solos argilosos, arenosos e alcalinos e quentes do Hemisfério Ocidental. *C. immitis* é predominante no sul da Califórnia-EUA, enquanto *C. posadasii* é predominante no Arizona e oeste dos EUA, México e na América Central e Sul (BROWN et al., 2013; LEWIS; BOWERS; BARKER, 2015; PEÇANHA-PIETROBOM et al., 2023). A maioria dos infectados por *Coccidioides* desenvolvem uma infecção assintomática. Nos quadros com apresentação clínica, a forma pulmonar aguda é a mais comum, seus sintomas assemelham-se à pneumonia ou sintomas leves semelhantes à gripe, apresenta múltiplos nódulos em parênquima pulmonar e estrias fibróticas; em alguns casos pode ser crônica, similar à forma aguda mas que perdura por mais de 3 meses, apresenta grandes lesões cavitantes periféricas; a minoria dos casos com apresentação clínica acaba disseminando, caracterizada por manifestações extrapulmonares e pode ocorrer entre algumas semanas até anos após a primeira infecção (LEWIS; BOWERS; BARKER, 2015; PARISH; BLAIR, 2008; PEÇANHA-PIETROBOM et al., 2023; SAUBOLLE; MCKELLAR; SUSSLAND, 2007).

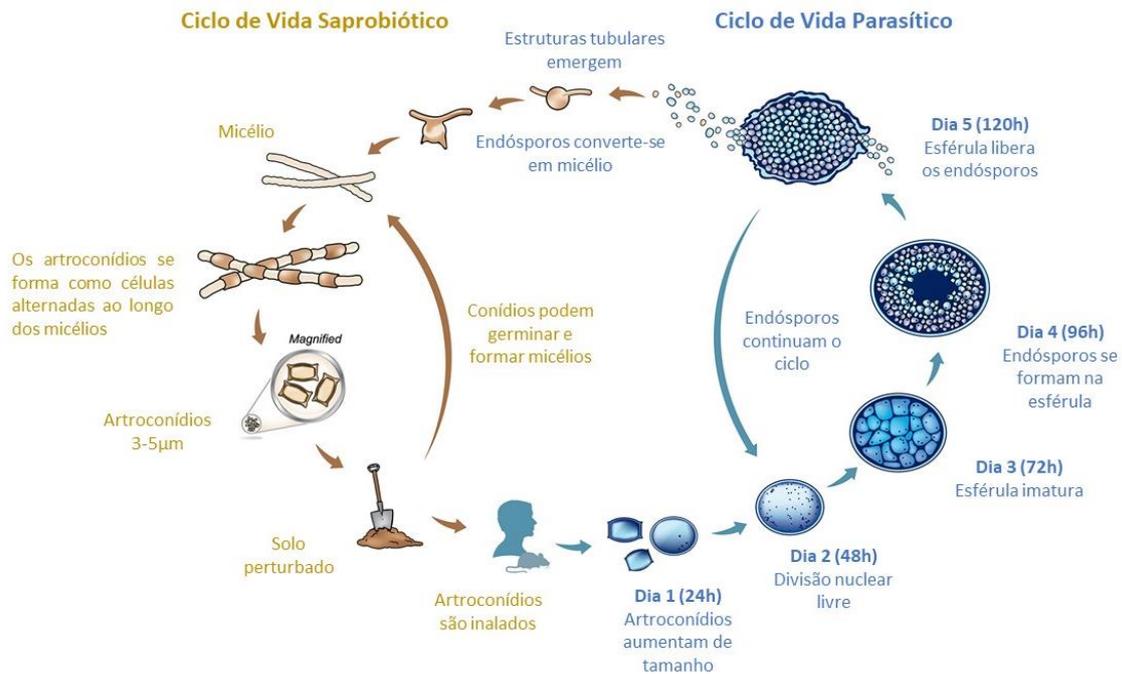


Figura 4. Ciclo de vida de *Coccidioides* spp. (Adaptado de LEWIS; BOWERS; BARKER, 2015)

A coccidioidomicose pode ser diagnosticada por sorologia, microscopia, histopatologia e/ou cultura (padrão ouro), geralmente de amostras de escarro ou fluido de lavado broncoalveolar ou de áreas onde o fungo disseminou (LEWIS; BOWERS; BARKER, 2015; MALO et al., 2017; PEÇANHA-PIETROBOM et al., 2023). Assim como para a paracoccidioidomicose, a resposta imune por linfócitos T é crucial na proteção contra *Coccidioides* e definição do quadro clínico. Uma resposta Th1 é ideal para uma resolução de CM; no entanto, o papel das respostas Th2 e Th17 ainda não foi bem definido e possuem evidências conflitantes (LEWIS; BOWERS; BARKER, 2015; VAN DYKE et al., 2019). Anfotericina B e triazóis (fluconazol, itraconazol, entre outros) são os medicamentos indicados no tratamento de CM; na história de tratamento para CM a anfotericina B é um dos medicamentos mais utilizados, mas graças à disponibilidade de triazóis menos tóxicos passou a ser mais utilizada no tratamento dos casos mais severos ou nos casos refratários à triazóis (PEÇANHA-PIETROBOM et al., 2023; VAN DYKE et al., 2019).

***Paracoccidioides* e *Coccidioides*: mecanismos evolutivos adaptativos ao parasitismo animal**

Tanto *Coccidioides* como *Paracoccidioides* adaptaram-se a hospedeiros animais ou ambientes enriquecidos com compostos derivados de animais, como carcaças de animais ou cavernas (MUÑOZ et al., 2018; SHARPTON et al., 2009; WHISTON;

TAYLOR, 2016). O dimorfismo, a capacidade de crescer no ambiente e colonizar um hospedeiro, é uma das adaptações mais cruciais para o ciclo de vida dos fungos patogênicos dimórficos (MUÑOZ et al., 2018; SIL; ANDRIANOPOULOS, 2015). Esta adaptação surgiu independentemente em fungos saprófitos (MUÑOZ et al., 2018). Além disso já foi observado a diferença do conteúdo gênico para degradação de nutrientes entre os fungos patogênicos e os fungos não patogênicos para mamíferos. Por exemplo, estes fungos ganharam enzimas de degradação de proteínas e perderam diversas enzimas de degradação de carboidratos ao longo de sua evolução. Isso sugere uma adaptação em sua dieta, mais voltada para matéria orgânica derivada de animais (DESJARDINS et al., 2011; MUÑOZ et al., 2018; WHISTON; TAYLOR, 2016).

Na ordem Onygenales houve a perda de famílias gênicas de enzimas para degradação de carboidratos em mais de uma família na ordem e expansão de famílias gênicas relacionadas à digestão de material animal (DESJARDINS et al., 2011; MUÑOZ et al., 2018; WHISTON; TAYLOR, 2016). Em *Coccidioides*, há um aumento gênico relacionado à endoesporulação no estágio de esférula, incluindo geração de precursores metabólicos, atividade ATPase, sinalização peptídica, âncoras de membrana e domínios Pfam, enzima de fosfotransferase (SHARPTON et al., 2009; WHISTON; TAYLOR, 2016). Em *Paracoccidioides*, apesar da redução geral em degradação de carboidratos dos Onygenales, há genes para degradação dos açúcares mais comuns em parede celular (DESJARDINS et al., 2011). Esses fatores, em conjunto, permitiram que esses fungos infectem não só humanos, mas outros mamíferos adequados, pois dá aos fungos a habilidade de sobreviver em diferentes habitats e levanta a possibilidade de que alguns fatores de virulência podem ser necessários também para a sobrevivência no solo (ARANTES et al., 2013, 2016; BAGAGLI et al., 2006; BRILLHANTE et al., 2012; BROWN et al., 2013; EULÁLIO et al., 2001; HRYCYK et al., 2018; RESTREPO et al., 2000; VERGARA; MARTINEZ, 1998). Essas adaptações de *Coccidioides* e *Paracoccidioides* à ambientes enriquecidos de matéria orgânica viva (hospedeiros mamíferos) ou em decomposição (como as tocas dos mamíferos) está de acordo com a hipótese de organismos endozoários, onde estes vivem em granulomas formados por pequenos hospedeiros mamíferos sem causar doença aparente até serem liberados no ambiente quando o hospedeiro morre, convertendo-se para hifas que utilizam o mamífero morto para produzir propágulos clonais e não clonais que podem realizar *mating* no ambiente, ser inalados por outros mamíferos adequados, infectar e continuar o ciclo de vida (TAYLOR; BARKER, 2019).

Detecção molecular em amostras ambientais

Apesar de *Coccidioides* e *Paracoccidioides* serem facilmente isolados de indivíduos infectados, o isolamento desses fungos diretamente do solo tem se mostrado praticamente impossível ou inviável, seja pelo fungo não crescer devido a competição, crescimento lento ou risco biológico (ALVARADO et al., 2018; ARANTES et al., 2013; BROWN et al., 2013; DE MACÊDO et al., 2011). Normalmente, o isolamento que se faz para amostras de solo envolve inocular o solo suspenso em salina estéril em animais. Mas esse método é muito laborioso, caro, de baixa sensibilidade e demorado (DE MACÊDO et al., 2011).

Nos últimos anos, a detecção molecular em amostras ambientais tem-se mostrado uma ferramenta viável para a vigilância e rastreio de outros patógenos, por ser um meio muito mais rápido, menos laborioso, não invasivo, alta sensibilidade e de baixo risco biológico que os métodos tradicionais (GAMAGE et al., 2020; JIMÉNEZ-RODRÍGUEZ et al., 2022; SENGUPTA et al., 2019). Tanto *Coccidioides* como *Paracoccidioides* já foram isolados de amostras ambientais de mamíferos com padrões de comportamento semelhantes (ALVARADO et al., 2018; ARANTES et al., 2013; BAGAGLI et al., 2006; DE MACÊDO et al., 2011; EULÁLIO et al., 2001; VERGARA; MARTINEZ, 1998). Estudos prévios que comparam o perfil genético de cepas ambientais e clínicas mostraram que genótipos encontrados no ambiente são mais diversos do que os clínicos, indicativo de que nem todo indivíduo destes fungos tem o potencial de infectar (ALVARADO et al., 2018; ARANTES et al., 2016; TEIXEIRA; BARKER, 2016). Essas informações em conjunto levantam a possibilidade de utilizar métodos de detecção moleculares para investigar a presença de *Coccidioides* e *Paracoccidioides* no ambiente para entender a distribuição desses fungos na natureza e, conseqüente, monitoramento (ALVARADO et al., 2018; ARANTES et al., 2013; BAGAGLI et al., 2006; DE MACÊDO et al., 2011).

Já foi mostrado nas regiões Sudeste, Centro-Oeste, Nordeste e Norte a eficiência da utilização de ferramentas moleculares em amostras ambientais para a detecção molecular de *P. brasiliensis*, *P. lutzii* e *Coccidioides* sp. através de marcadores específicos (ARANTES et al., 2013; DE MACÊDO et al., 2011; EULÁLIO et al., 2001; RESTREPO et al., 2000). Com a evolução das técnicas de sequenciamento e com o aumento da quantidade de dados gerados de códigos de barras de DNA (*DNA barcoding*) em fungos, foi proposto um novo marcador, que se mostrou eficiente qualitativamente e quantitativamente nos estudos de micobioma (WHISTON; TAYLOR, 2016), baseado na

amplificação total ou parcial do rDNA, seguido de sequenciamento massivo por Illumina MiSeq. A eficiência desta técnica foi mostrada na detecção e quantificação relativa de *C. posadasii* em regiões semidesérticas da Venezuela, demonstrando que existem diferentes quantidades de *Coccidioides* sp. no solo, a presença de espécies fúngicas associadas com a abundante presença destes patógenos no solo e que têm diferentes estratégias para sobreviver no solo e no hospedeiro (ALVARADO et al., 2018). A região ITS possui um alto potencial de resolução filogenética e pode ser utilizada na quantificação *Operational Taxonomical Units* (OTU – Unidade Taxonômica Operacional). A amplificação das regiões ITS já foi usada em mais de um estudo e mostrou-se eficiente (ALVARADO et al., 2018; ARANTES et al., 2016; MCTAGGART et al., 2019; WHISTON; TAYLOR, 2016).

Modelagem de Nicho Ecológico

O modelagem de nicho ecológico em doenças infecciosas é uma ferramenta cuja finalidade é usar epidemiologia espacial para determinar condições ambientais associadas com a ocorrência de uma doença. Com essas informações, é possível identificar localizações onde tais condições existem e são adequadas para introdução, manutenção e dispersão de uma doença e utilizar essas informações no controle, prevenção e combate (ESCOBAR, 2020; ESCOBAR; CRAFT, 2016; ESCOBAR; MORAND, 2021). Como os objetivos de epidemiologia e ecologia são similares, seus conhecimentos são complementares e podem ser usados em conjuntos para entender uma doença, uma vez que esta não é distribuída aleatoriamente e que alguns fatores ambientais explicam sua ocorrência (ESCOBAR; CRAFT, 2016).

Os principais algoritmos de modelagem utilizados na produção de modelos de nicho ecológico são: Modelo Linear Generalizado, Modelo Aditivo Generalizado, Regressão de Árvore de Decisão Aumentada (*Boosted Regression Trees*), Floresta de Decisão Aleatória (*Random Forest*), Máquinas de Vetores de Suporte (*Support Vector Machines*), Maxent, Bioclim, NicheA, Estimação de Hipervolumes e *Cluster* de ocorrência (ESCOBAR, 2020). Esses métodos já vêm sendo utilizados para diferentes espécies de organismos, incluindo fungos (DAVISON et al., 2021; DICKO et al., 2014; ESCOBAR et al., 2017; KELLERMANN et al., 2012; QUINER; NAKAZAWA, 2017; ZIMMERMANN et al., 2009).

Utilizando o método de *cluster* de ocorrência, já foi observado uma forte relação entre fatores climáticos e a incidência de PCM aguda no estado de São Paulo entre os anos de 1966 e 2006 (BARROZO et al., 2010). Neste estudo, foi observado que houve um *cluster* de casos de PCM no ano de 1985 e que este *cluster* tem uma potencial relação com o evento El Niño de 1982-83. Durante este evento, o armazenamento de água no solo calculado e a umidade absoluta do ar foram muito maiores do que o normal, condições favoráveis para o crescimento do fungo no solo e subsequente liberação de conídios.

Também já foi observado, para CM, a influência de fatores climáticos na incidência da doença (KOLLATH; MIHALJEVIC; BARKER, 2022). No Arizona-EUA, utilizando Modelo Aditivo Generalizado, foi observado que Material particulado de diâmetro inferior à 10 μm (PM10), temperatura máxima média e efeito retardado da precipitação e PM10 têm efeito sazonal na incidência de CM. Neste estudo, PM10 foi o fator de maior impacto nos casos de CM, onde elevados índices de PM10 entre novembro e janeiro estão associados à maior detecção de casos humanos durante o inverno. Relações similares de variáveis climáticas e incidência de CM já foram observadas em outros estudos de modelagem de nicho ecológico (GORRIS et al., 2019; WEAVER et al., 2020; WEAVER; KOLIVRAS, 2018).

Justificativa

No Brasil, aproximadamente 3,8 milhões de brasileiros desenvolvem anualmente infecções fúngicas e as estimativas de incidência (/1000) de hospitalizações por coccidioidomicose (CM) é de 7,12 enquanto a de paracoccidioidomicose (PCM) chega a 7,99, mostrando-se como um problema inegável para a saúde pública no Brasil (COLOMBO et al., 2011). Nos EUA, CM é considerada uma PAC (MANDELL et al., 2007; RAMIREZ et al., 2020), mas no Brasil nem a CM nem a PCM são consideradas como PAC. Devido a isso e as semelhanças clínicas com outras pneumonia adquirida na comunidade, essas doenças são negligenciadas e frequentemente mal diagnosticadas. No Brasil, a letalidade de CM chega a 8% e a de PCM varia de 3% a 5%, podendo chegar a 6,1% e 7,6% em algumas áreas e no estado do Piauí (COLOMBO et al., 2011). Já foi mostrado por diversos estudos clínicos que quanto mais rápido e eficaz for o diagnóstico de uma micose sistêmica, maiores são as chances de cura clínica e maior é a redução das sequelas e de morte (KOZEL; WICKES, 2014). No Brasil, as agências de saúde não consideram a PCM como PAC e na maioria dos casos só é diagnosticada quando ocorre a detecção de formas muco-cutâneas ou disseminadas. No entanto, já foi mostrado que aproximadamente 50% dos casos de PCM diagnosticados não possuem envolvimento das mucosas ou a disseminação para outros órgãos (MARTINEZ, 2015, 2017).

A PCM é amplamente distribuída no território brasileiro, já a CM é restrita ao semiárido brasileiro (COLOMBO et al., 2011; SIFUENTES-OSORNIO; CORZO-LEÓN; PONCE-DE-LEÓN, 2012). Ambientes áridos e semidesérticos caracterizam a região Nordeste do Brasil, mas também possui regiões de cerrado, mata atlântica e restinga que formam complexos mosaicos e regiões de transição para diversas entidades do sistema biológico. Por consequência, estas micoses convergem no nordeste brasileiro, mas o limite e a sobreposição das áreas onde ocorrem são desconhecidos bem como os genótipos que ocorrem nestas regiões. Devido à falta de conhecimento da real distribuição destas micoses no Nordeste do país faz com que estas doenças sejam tratadas por longos períodos como infecções bacterianas, virais ou até mesmo tuberculose, conseqüentemente, progredindo para um quadro crônico ou disseminado (FALCI; STADNIK; PASQUALOTTO, 2017; QUEIROZ-TELLES et al., 2017).

Objetivo

Este estudo busca identificar *Paracoccidioides* e *Coccidioides* no Nordeste do Brasil, comparar os genótipos encontrados em humanos com os encontrados no ambiente natural de infecção e modular o nicho ecológico de *Coccidioides* e *Paracoccidioides*.

Objetivos específicos

1. Descrever a série histórica de casos em pacientes infectados por CM e PCM no Nordeste brasileiro;
2. Analisar a distribuição espacial dos casos reportados na literatura;
3. Identificar *Coccidioides* sp. e *Paracoccidioides* sp. em amostras de solo de toca de tatu coletadas no nordeste brasileiro;
4. Modelar o nicho ecológico de *Coccidioides* sp. e *Paracoccidioides* sp. no nordeste brasileiro;
5. Comparar os genótipos das amostras ambientais de solo com amostras clínicas de pacientes infectados.

Materiais e Métodos

Identificação molecular de *Paracoccidioides* e *Coccidioides* em amostras de solos de tocas de tatus e outros mamíferos no Nordeste do Brasil

Coleta: Foram coletadas 296 amostras em 4 estados: Tocantins (Região norte usada como região controle-positivo para *Paracoccidioides*), Maranhão, Piauí e Ceará. A coleta foi iniciada em Imperatriz - MA e percorreu outras 19 cidades. As cidades percorridas, por estado, foram: no Ceará, Aiuaba, Arneiroz, Banabuiú, Quixadá, Redenção e Solonópole; no Maranhão, Barra do Corda, Grajaú, Imperatriz e Porto Franco; no Piauí, Barro Duro, Dom Expedito Lopes, Elesbão Veloso, Oeiras, Paquetá, Picos, Pio IX e São Raimundo Nonato; e em Tocantins, Araguaína. Amostras compostas de solo do interior da toca de tatu (aproximadamente 30cm da entrada da toca) em área de mata nativa, foram coletadas com a ajuda de uma bastão de alumínio de 1 metro e uma espátula. As amostras foram armazenadas em tubos de 50ml estéreis. Em cada município, pelo menos 5 tocas foram amostradas e entre cada toca amostrada o material foi descontaminado em solução de etanol 70% entre cada coleta. Os locais de coleta estão apresentados na Figura 5 e a Figura 6 apresenta alguns dos locais onde as amostras de solo foram coletadas.

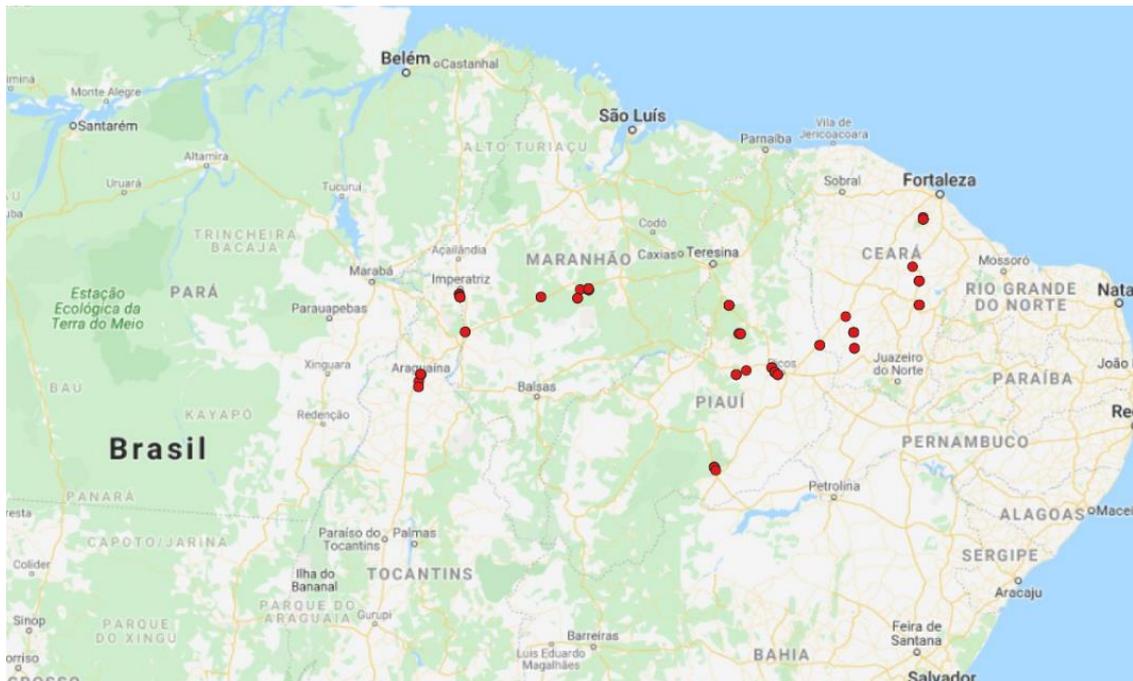


Figura 5. Área de estudo, os pontos vermelhos indicam os pontos de coleta das amostras de solo



Figura 6. Fotos de alguns dos locais onde as amostras de solo foram coletadas. A: Aiuaba - CE; B: Oeiras - PI; C: Quixadá - CE; D: Pio IX - PI; E: Divisa de Palmácea e Redenção – Ceará; F e G: toca de tatu em Picos – PI; H: Cão e toca

Extração de DNA: A extração do DNA do solo foi realizada em duplicata utilizando-se kits comerciais da Power Soil® DNA Isolation Kit (Qiagen). A quantidade de amostra e os procedimentos seguiram as instruções do fabricante sem alterações, entretanto a fragmentação do solo foi realizada no equipamento de ruptura Precells (Bertin) por 10 ciclos de 60 segundos a 5.000 rpm. As amostras de DNA foram quantificadas por fluorescência (PicoGreen – Life Technologies, Inc., Carlsbad, CA) e normalizadas para uma concentração de 10ng/μL.

Nested PCR da região ITS e sequenciamento de DNA: O primeiro round da PCR foi de amplificação da região ITS utilizando os primers ITS 4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') e ITS 5 (5'-GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG-3'). As reações de amplificação de ITS foram realizadas da seguinte maneira: (i) as amostras foram separadas com base na concentração de DNA (ng/μL), resultando em 4 tratamentos diferentes; tratamento 1 - para concentrações de DNA até 10 ng/μL, foram utilizados 4 μL da amostra de DNA, tratamento 2 – para concentração de DNA entre 10 ng/μL e 26,1 ng/μL, foram utilizados 3 μL da amostra de DNA, tratamento 3 – para concentração de DNA entre 26,1 ng/μL e 42,2 ng/μL, foram utilizados 2 μL da amostra de DNA, tratamento 4 – para concentrações de DNA maiores do que 42,2 ng/μL, as amostras foram diluídas para 20 ng/μL e das amostras diluídas foram utilizados 3 μL; (ii) as reações realizadas com 12,5 μL de GoTaq Master Mix, 1 μL de cada *primer*, volume de DNA de acordo com cada tratamento e o volume de água miliQ ajustado de acordo com o volume de amostra de DNA para cada tratamento, de forma que o volume final

fosse 25 µL; os ciclos de amplificação foram: desnaturação inicial à 95°C por 5min; 95°C por 30s, 55°C por 30s e 30 ciclos de 72°C por 30s; seguido por uma extensão terminal à 72°C por 5min. Água foi usada como molde em todos os controles negativos.

O segundo round da PCR foi de amplificação da região interna da região ITS, específica para cada espécie, utilizando os *primers* desenvolvidos pelo nosso grupo de pesquisa. O *primer forward* para *Coccidioides* sp. foi nomeado P294 (5'-GGATCATTAAGTGGCGTCCG-3') e o *primer reverse* foi nomeado P295 (5'-GGTCTTTGAGCGATGAAGTGA-3'). O *primer forward* para *Paracoccidioides* sp. foi nomeado ParIntS (5'-CACGTTGAACTTCTGGTTCG-3') e o *primer reverse* foi nomeado ParIntR (5'-TGTCGATCGAGAGAGGAACC-3'). O volume final da reação foi de 25 µL, utilizando 12,5 µL, 1,4 µL de cada primer, 6,7 µL de água miliQ e 3 µL da amostra do primeiro round da *nested* PCR. Os ciclos de amplificação foram padronizados para ambas as espécies: desnaturação inicial à 92°C por 2min; 95°C por 30s, 57°C por 40s e 30 ciclos de 72°C por 30s; seguido por uma extensão terminal à 72°C por 5min. Água foi usada como controle negativo. Todos os produtos de PCR foram verificados em eletroforese em gel de agarose 1,5%.

Sequenciamento

Sequenciamento e comparação entre amostras clínicas e ambientais: o sequenciamento das amostras selecionadas foi realizado pelo método Sanger no Instituto de Biotecnologia – IBTEC – UNESP. Todos os eletroferogramas das amostras sequenciadas foram inicialmente inspecionados pela ferramenta *Electropherogram quality analysis* disponível no sítio <http://asparagin.cenargen.embrapa.br/phph/> usando um padrão de exclusão de Phred>30. Em seguida, as fitas forward e reverse de cada isolado foram unidas em forma de contigs utilizando a ferramenta *CAP - contig assembly program* e, então, alinhadas utilizando o algoritmo ClustalW (THOMPSON; HIGGINS; GIBSON, 1994) presentes no software BioEdit (HALL, 1999) e manualmente editadas para corrigir eventuais bases mal alinhadas. Todas as sequências do gene ITS dos isolados foram comparadas com sequências de ITS depositadas no GENBANK. As análises filogenéticas foram realizadas pelo método de Máxima Verossimilhança (*Maximum Likelihood* – ML) e conduzidas no software IQTREE v1.6 e o modelo de substituição de bases para o locus selecionado foi realizado por meio de testes hierárquicos implementados na ferramenta ModelFinder (opção -m MFP) (NGUYEN et al., 2015). A

fidelidade dos ramos genéticos foi calculada pelos testes *Shimodaira–Hasegawa-like approximate likelihood ratio test* (SH-aLRT) e *ultrafast bootstraps* (GUINDON et al., 2010; MINH; NGUYEN; VON HAESELER, 2013). A árvore filogenética consensual do locus foram visualizadas no software FigTree v1.3 (<http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/>). Os códigos de acesso das sequências de *Paracoccidioides* utilizadas na comparação genética entre as amostras de solo e depositadas em bancos de dados estão disponíveis na Tabela 2 e as das sequências utilizadas na mesma comparação para *Coccidioides* estão na Tabela 3.

Tabela 2. Número de acesso no Genbank das sequências utilizadas na produção da árvore filogenética de *Paracoccidioides* sp.

N	I	N	I	N	I	N	I
MN27 1900.1	19	MF07 8070. 1	MT08	KP63 6458	Seq20_AR_ MG14	MF0780 66.1	SP03_5
MN27 1901.1	22	MT72 6209. 1	Nova_Iguacu_so il_sample_6	KP63 6459	Seq21_AR_ MG15	MF0780 73.1	SP06
MN27 1902.2	43	OQ45 6013	P._brasiliensis_ AC02_OQ4560 13	KP63 6460	Seq22_AR_ MG16	MF0780 69.1	SP07
MN27 1899.2	104	OQ45 6015	P._brasiliensis_ AC03_OQ4560 15	KP63 6461	Seq23_SO_ RO1	JQ67576 2.1	T16B1
KJ540 971.1	ATC C608 55	OQ45 6017. 1	P._brasiliensis_ AC04_OQ4560 17	KP63 6462	Seq24_SO_ RO2	KX7743 93.1	T17LM2
JQ669 667.1	B2_1	OQ45 6016. 1	P._brasiliensis_ AC07_OQ4560 16	KP63 6463	Seq25_SO_ RO3	KX7743 94.1	T17LM3
JQ669 668.1	B2_2	OQ45 6018. 1	P._brasiliensis_ AC16_OQ4560 18	KP63 6464	Seq26_SO_ RO4	KX7743 95.1	T17LM4
JQ669 669.1	B3_1	OQ45 6014. 1	P._brasiliensis_ AC28_OQ4560 14	KP63 6465	Seq27_SO_ RO5	KX7743 96.1	T18LM1
JQ669 670.1	B3_2	JF289 270.1	P._brasiliensis_J F289270_dog	KP63 6466	Seq28_SO_ RO6	KX7743 97.1	T18LM31
JQ669 671.1	B8_2	AF03 5675. 1	Paracoccidioides _loboi	KP63 6467	Seq29_SO_ RO7	KX7743 98.1	T18LM35
AY61 8999.1	Cabba sous	KT15 5976. 1	Pb01	KP63 6441	Seq3_SO_G O10	KX7744 00.1	T19B152
MZ23 3473.1	CB15 04	KT15 5977. 1	Pb18	KP63 6468	Seq30_SO_ RO8	KX7743 99.1	T19B72
MZ23 3474.1	CB15 06	EU87 0315. 1	Pb3	KP63 6469	Seq31_SO_ RO9	KX7744 01.1	T19F331
MZ23 3475.1	CB15 47	EU11 8553. 1	Pb300	KP63 6470	Seq32_SO_ RO10	KX7744 02.1	T20B131

MZ23 3470.1	CB15 50	KP63 6439	Seq1_SO_GO1	KP63 6471	Seq33_SO_ RO11	KX7744 03.1	T20B151
MZ23 3471.1	CB15 54	KP63 6448	Seq10_AR_GO 1	KP63 6472	Seq34_SO_ RO12	KX7744 04.1	T22LM1
MZ23 3472.1	CB15 84	KP63 6449	Seq11_AR_GO 2D	KP63 6473	Seq35_SO_ RO13	KX7744 05.1	T22LM21
MZ23 3476.1	CBRJ 11659	KP63 6450	Seq12_AR_GO 11	KP63 6442	Seq4_SO_G O13	KX7744 06.1	T23B31
AY63 1234.1	Dasyp us	KP63 6451	Seq13_AR_GO 19	KP63 6443	Seq5_SO_G O19	KX7744 07.1	T23B91
MW5 66083.1	Hubbs _738	KP63 6452	Seq14_AR_MG 1	KP63 6444	Seq6_SO_G O25	KX7744 08.1	T23LM11
MW5 66081.1	Hubbs _875	KP63 6453	Seq15_AR_MG 5	KP63 6445	Seq7_SO_G O31	KX7744 09.1	T23LM34
MW5 66084.1	Hubbs _923	KP63 6454	Seq16_AR_MG 8	KP63 6446	Seq8_SO_G O34A	JQ66967 2.1	T4_2
MW5 66082.1	Hubbs _938	KP63 6455	Seq17_AR_MG 11	KP63 6447	Seq9_SO_G O34B	JQ66967 3.1	T5_2
EU11 8545.1	IBIA	KP63 6456	Seq18_AR_MG 12	MT72 6207.1	Seropedica_s oil_sample_ 3	AY6312 35.1	U1
NR_1 77553.1	MSC_ B929 3	KP63 6457	Seq19_AR_MG 13	MT72 6208.1	Seropedica_s oil_sample_ 6	HQ4133 23.1	Uncultured_Ony genales
MF07 8064.1	MT01	KP63 6440	Seq2_SO_GO7	KP63 6464	SO_RO4	Legenda: I = identificação na árvore; N = número de acesso no genbank	

Tabela 3. Número de acesso no Genbank das sequências utilizadas na produção da árvore filogenética de *Coccidioides* sp.

N	I	N	I
MT436386.1	29P710_TRAKER	JX964799.1	NCCPF_230018
OP902915.1	T42006_2021	OP740677.1	RT01
MT436388.1	AA5_PISWERL	MH725255.1	NM7898
MT436385.1	HH2	MH725245.1	NM0317
MT436381.1	9P11	MH725244.1	NM0071
OP719267.1	Bo38	MH725250.1	NM3957
MT436382.1	29P42	JX051631.1	CEMM_05410
OP902909.1	T42003_2018	MZ091471.1	75095
OP902904.1	45003_2018	EF186786.1	CBS_113846
OP902903.1	T43006_2018	EF186785.1	CBS_113843
OP902905.1	T45005_2018	EF186784.1	CBS_196.34
MN520605.1	Trona_4_EC3_EC100	MH860792.1	CBS_711.73
OP902907.1	T42001_2018	KY399886.1	6CiH
OP719263.1	Bo39	MT704345.1	SM56
MT436383.1	29P82	KM588216.1	Silveira
OP719265.1	Bo44	KF373787.1	S1203408.2
OP719264.1	Bo28	KF373786.1	S1203408.1
MK577421.1	DMic_175717	NR_145259.1	ATCC_28868
MK577410.1	DMic_103719	MT436384.1	UT2

MT667234.1	477	MT436387.1	N261
MH862949.1	CBS_113858	OP902911.1	T43001_2019
MZ091472.1	89996	MT436390.1	AA42
KF700274.1	CM2911	KJ783449.1	544709SP
MH862947.1	CBS_113848	KJ783447.1	535908LN
MH862946.1	CBS_113847	MT704346.1	SM60
MW406989.1	18141492	MT704344.1	SM59
KC469983.1	IDR1200041772	MT704347.1	SM54
KC469982.1	IDR1200041771	MK577425.1	DMic_185676
AB232901.1	IFM_54196	MK577423.1	DMic_083277
AB232892.1	IFM_45817	HG380500.3	FMR_12608
AB232884.1	IFM_4945	KT155707.1	CBS_113853
AB232889.1	IFM_45813	KT155706.1	CBS_113852
AB232883.1	IFM_4935	MH863096.1	CBS_120936
AB232895.1	IFM_50993	EF186790.1	CBS_113857
AB232885.1	IFM_45809	MH855473.1	CBS_144.34
AB232891.1	IFM_45816	MH725248.1	NM3006
AB232893.1	IFM_46868	KF539899.1	Whiskey_Hill
AB232894.1	IFM_50992	KF539889.1	M4890
AB232890.1	IFM_45815	KF539874.1	M3429
MH862947.1	CBS_113848	KF539872.1	K727
KT155618.1	CBS_113850	KF539900.1	AD92
KT155702.1	CBS_113840	MT704342.1	DG28
MZ091470.1	49797	MZ091469.1	13196
KT155705.1	CBS_113849	MT704343.1	DG24
KT155710.1	CBS_113859	KJ783446.1	435908LN
ON982452.1	CAMSCCPMD_D18g	CBS_114.61	Amauroascus_niger_CBS_114.61_T

Legenda: I = identificação na árvore; N = número de acesso no genbank

Georreferenciamento e modelagem de nicho

Georreferenciamento, modelagem de nicho e fatores ambientais associados à PCM e CM: as coordenadas das amostras ambientais e o local reportado dos casos na literatura foram utilizados para georreferenciamento. Os dados das amostras ambientais consistem na localização das amostras que foram positivas para amplificação de *Coccidioides* sp. e *Paracoccidioides* sp. durante a *nested* PCR. Cada entrada foi georreferenciada utilizando o *software* QGIS 3.10.9 (QGIS Development Team 2020, <http://www.qgis.org/>), usando o Sistema de Coordenadas Geográficas, SIRGAS 2000 Datum. A base cartográfica utilizada, referente à estrutura territorial, foi obtida no Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). As 19 variáveis bioclimáticas disponíveis na base de dados do WorldClim (resolução de 2,5km) foram selecionadas como preditores no nosso modelo de distribuição de espécies (www.worldclim.org/current) (HIJMANS et al., 2005). Essas variáveis foram

selecionadas por representarem tendências anuais, sazonalidade e fatores ambientais limitantes. A autocorrelação entre as variáveis foi testada utilizando a matriz de correlação de Pearson, as variáveis que não tiveram índice de correlação $r < 0.80$ foram removidas do modelo (HERNANDEZ et al., 2006). As variáveis bioclimáticas utilizadas estão apresentadas na Tabela 4, elas são provenientes do WorldClim e são obtidas a partir dos valores mensais de temperatura e precipitação, resultando em variáveis bioclimáticas mais significativas (<https://www.worldclim.org/data/bioclim.html>). O modelo de máxima entropia (Maxent) foi aplicado utilizando pontos de presença e pseudo-ausência utilizando o pacote R “dismo” que é baseado no algoritmo Maxent 3.4.1. Este algoritmo possui alta acurácia preditiva utilizando apenas dados de presença no modelo (ELITH* et al., 2006). Pontos de presença duplicados foram excluídos do modelo. Sessenta e três pontos de presenças foram utilizados para treinar o modelo e um total de 10.063 pontos (pontos de presença e *background*) foram utilizados para determinar a distribuição Maxent. O modelo foi realizado com 1000 interações máximas. O mapa final médio teve saída lógica com valores de adequação variando entre 0 (habitat inadequado) a 1 (habitat adequado).

Tabela 4. Variáveis bioclimáticas utilizadas na modelagem de nicho. (Adaptado de <https://www.worldclim.org/data/bioclim.html>)

Código	Variável (cálculo)	Código	Variável (cálculo)
BIO1	Temperatura média anual	BIO11	Temperatura média do trimestre mais frio
BIO2	Variação média de temperatura (média mensal da $T_{\max} - T_{\min}$)	BIO12	Precipitação anual
BIO3	Isotermicidade (BIO2/BIO7*100)	BIO13	Precipitação do mês mais úmido
BIO4	Temperatura sazonal (desvio padrão *100)	BIO14	Precipitação do mês mais seco
BIO5	Temperatura máxima do mês mais quente	BIO15	Precipitação sazonal (Coeficiente de Variação)
BIO6	Temperatura mínima do mês mais frio	BIO16	Precipitação do trimestre mais úmido
BIO7	Variação anual de temperatura (BIO5-BIO6)	BIO17	Precipitação do trimestre mais seco
BIO8	Temperatura média do trimestre mais úmido	BIO18	Precipitação do trimestre mais quente

BIO9	Temperatura média do trimestre mais seco	BIO19	Precipitação do trimestre mais frio
BIO10	Temperatura média do trimestre mais quente	Legenda: T = temperatura	

Os dados climáticos (precipitação e temperatura) foram obtidos para os estados do Nordeste do sistema de monitoramento climático global (CAMARILLO-NARANJO et al., 2019). Modelos de regressão binomial-negativo foram utilizados para investigar a relação entre as variáveis climáticas e os casos de CM e PCM utilizando o pacote MASS no programa R (R core Team 2013). As variáveis de saída foram reportadas como o número de casos de CM ou PCM por ano para cada estado e os valores de predição incluem precipitação anual, temperatura média anual e precipitação total do ano anterior. Colinearidade entre os valores de predição do modelo foram testados utilizando matriz de correlação com o pacote R GGally (SCHLOERKE et al., 2021). Todas as variáveis que foram mantidas no modelo possuem coeficientes de correlação de Pearson ≤ 0.6 . Diferentes modelos de iteração foram construídos adicionando e removendo variáveis preditoras para escolher o modelo mais adequado.

Dados na literatura

Coleta: para buscar dados na literatura, as seguintes palavras chaves, em português e em inglês, foram utilizadas nas plataformas Elsevier, Google, Google Scholar, NCBI: “paracoccidiodomicose/coccidiodomicose”, “Nordeste”, “Brasil”, “nome de cada estado do Nordeste”. Além disso, para expandir a busca, utilizamos os anais de diversos congressos, como Congresso Brasileiro de Microbiologia, Congresso Brasileiro de Estomatologia e Patologia Geral, Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. Neste caso, a busca foi manual utilizando a ferramenta de buscador de palavra utilizando a palavra-chave “cocci” para abranger tanto a paracoccidiodomicose como a coccidiodomicose. Para cada retorno positivo da ferramenta, foi verificado se era um relato de caso e se era proveniente de algum estado do Nordeste brasileiro. Os fatores de inclusão foram: o caso relatado ser proveniente do Nordeste brasileiro e o caso de CM ou PCM confirmado por diagnóstico laboratorial (cultura, histopatologia, sorologia ou exame direto), entre os anos de 1980 e 2021. A Tabela 5 apresenta os casos de paracoccidiodomicose na literaturas recuperados nesta busca e a Tabela 6 os casos de coccidiodomicose.

Tabela 5. Casos de paracoccidioidomocose relatados no Nordeste brasileiro recuperados no estudo retrospectivo

Referência	Nº de casos	Estado	Referência	Nº de casos	Estado
(GAIA-FILHO; FERRAZ, 2002)	1	Alagoas	(IVNA M. PASSOS et al., 2010)	1	Ceará
(DUARTE et al., 2000)	1	Alagoas	(MAPURUNGA et al., 1990)	4	Ceará
(LOPES et al., 2016)	1	Alagoas	(MARQUES et al., 2018)	1	Ceará
(OLIVEIRA et al., 2018)	1	Alagoas	(TAVARES, 2017)	1	Ceará
(PROCÓPIO et al., 2017)	1	Alagoas	(SILVA et al., 2013)	1	Maranhão
(NETTO, 2018)	1	Alagoas	(DE SOUSA; SÁ; PEREIRA, 2021)	1	Maranhão
(PRAXEDES, 2018)	4	Alagoas	(DA SILVA et al., 2014)	1	Maranhão
(SILVA et al., 2014)	2	Alagoas	(LOPES et al., 2019)	1	Maranhão
(SANTOS et al., 2019)	1	Alagoas	(PEREIRA MACEDO et al., 2016)	1	Maranhão
(ARAÚJO; ANDRADE, [s.d.])	1	Bahia	(BRITO, 2016)	1	Pará
(VIEIRA; REIS; MEIRA, 2016)	1	Bahia	(DE AQUINO et al., 2015)	1	Pará
(ANDRADE et al., 2007)	1	Bahia	(PEREIRA et al., 2010)	1	Pará
(DOS SANTOS, [s.d.])	1	Bahia	(SCUARCIALUPI; SÁ; SILVA, 2018)	1	Paraíba
(ROCHA et al., 2002)	3	Bahia	(GURGEL, 2016)	1	Paraíba
(CERQUEIRA et al., 2005)	1	Bahia	(SOUZA et al., 2019)	1	Paraíba
(BITTENCOURT et al., 1987)	2	Bahia	(PEREIRA et al., 2018)	1	Paraíba
(PEDREIA et al., 2011)	1	Bahia	(MACÊDO et al., 2007)	1	Pernambuco
(FERNANDES et al., 2011)	1	Bahia	(MAGALHAES et al., 1995, p. 1)	7	Pernambuco
(BITTENCOURT; ANDRADE, 1986)	1	Bahia	(FILHO et al., 2019)	1	Pernambuco
(FRANCO et al., 2016)	1	Bahia	(GUIMARÃES; CAMPOS; PESSOA, 1985)	1	Pernambuco
(MESQUITA et al., 2006)	1	Bahia	(FONSÊCA et al., 2010)	1	Pernambuco
(ANDRADE et al., 2014)	1	Bahia	(NETO et al., 2009)	1	Pernambuco

(DE MACEDO et al., 2020)	1	Bahia	(SOUZA et al., 2019)	4	Pernambuco
(MOTA et al., 2019)	1	Ceará	(BUONAFINA et al., 2016)	1	Pernambuco
(FAÇANHA et al., 2010)	2	Ceará	(SANTOS et al., 2009)	1	Rio Grande do Norte
(HOLANDA ARAÚJO; COSTA FILHO; LEAL, 2006)	1	Ceará			

Tabela 6. Casos de coccidioidomicose relatados no Nordeste brasileiro recuperados no estudo retrospectivo

Referência	Nº de casos	Estado	Referência	Nº de casos	Estado
(MARTINS et al., 1997)	1	Bahia	(DE AGUIAR CORDEIRO et al., 2010)	19	Ceará
(GOMES et al., 1978)	1	Bahia	(ARAÚJO et al., 2018)	3	Pernambuco
(BRILHANTE et al., 2008)	1	Ceará	(DE LIMA-NETO et al., 2021)	1	Pernambuco
(TOGASHI et al., 2009)	3	Ceará	(MARTINS et al., 2018)	3	Pernambuco
(COSTA et al., 2001)	1	Ceará	(MACÊDO et al., 2007)	1	Piauí
(SILVA et al., 1997)	4	Ceará	(MORAES et al., 1998)	1	Piauí
(KUHL et al., 1996)	1	Ceará	(CAVALCANTI et al., 2018)	2	Piauí
(BRILHANTE et al., 2012)	3	Ceará	(WANKE et al., 1999)	3	Piauí
(MELO et al., 2016)	1	Ceará	(FILHO, 2010)	1	Piauí

Resultados

Estudo retrospectivo

Paracoccidioidomicose: Ao todo, foram encontrados 73 casos relatados na literatura (resumos em congressos, artigos) que são oriundos do Nordeste brasileiro. A idade média foi de $44,93 \pm 2,04$ anos, com mínima de 4 anos e máxima de 76 anos. Dos 73 casos, 8 (10,96%) foram casos de PCM em mulheres e 65 (89,04%) em homens. Todos os casos encontrados são do período de 1981 até 2019. A idade média entre as mulheres foi de $30,38 \pm 9,94$ anos (mínima de 11 anos e máxima de 67 anos). A idade média entre os homens foi de $46,72 \pm 2,04$ anos (mínima de 4 anos e máxima de 76 anos). O número de casos de PCM por faixa etária está apresentado na Figura 7 e a Figura 8 apresenta a distribuição temporal dos casos de PCM. Bahia (18 casos, 24,66%), Pernambuco (17 casos, 23,28%) e Alagoas (14 casos, 19,18%) são os estados com maior número de casos de PCM encontrados.

De todos os casos, a ocupação mais relatada foi de trabalhador rural (30 casos, 41,10%), no entanto, 25 (34,25%) de todos os casos não possuem a ocupação do paciente informada. Agrupando todas as ocupações relacionadas ao meio rural em uma única categoria, têm-se 39 casos (53,42%) de PCM no Nordeste brasileiro. A segunda ocupação mais relatada foi de pedreiro (4,11%). Para todas as mulheres, a ocupação não foi informada. Entre os homens, a ocupação mais relatada foi de trabalho rural (39 casos, 60,00%), seguida de pedreiro (3 casos, 4,62%); 17 casos (26,15%) não possuem a ocupação do paciente relatada.

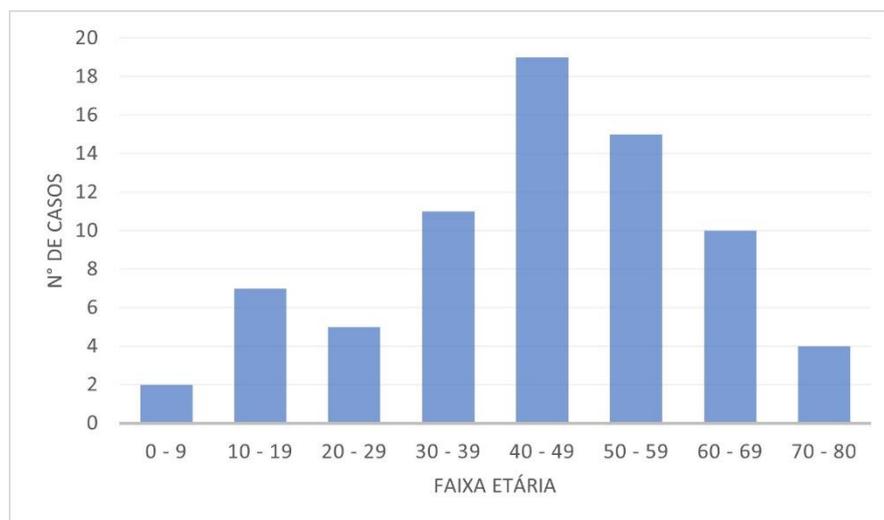


Figura 7. Número de casos de paracoccidioidomicose, reportados em artigos e resumos, no Nordeste brasileiro por faixa etária

A forma clínica mais relatada entre todos os casos foi a forma crônica de PCM, com 54 casos (73,97%); a forma aguda teve 14 casos (19,18%) e em 5 casos a forma clínica de PCM não foi relatada (6,85%). Entre as mulheres, a forma aguda foi a mais relatada, com 4 (50%) casos; a forma crônica teve 3 (37,50%) casos e em apenas 1 caso (12,50%) a forma clínica não foi informada. Entre os homens, a forma clínica mais relatada foi a forma crônica, com 51 (78,46%) casos; a forma aguda teve 10 (15,38%) casos e em 4 (6,15%) dos casos a forma clínica não foi informada.

Lesão de orofaringe foi relatada em 45 (61,64%) dos casos, 18 (24,66%) casos não tiveram relato deste tipo de lesão e em 10 (13,70%) casos esta informação não estava presente. Linfadenopatia foi relatada em 26 (35,62%) dos casos, 9 (12,33%) casos não tiveram linfadenopatia e 38 (52,05%) dos casos não contêm essa informação. Hepatoesplenomegalia foi relatada em 3 (4,11%) dos casos, 28 (38,36%) casos relataram que o paciente não apresentava hepatoesplenomegalia e em 42 (57,53%) dos casos esta informação não estava presente. Entre as mulheres, lesão de orofaringe foi relatada em 4 (50,00%) dos casos, linfadenopatia foi relatada em 5 (62,50%) dos casos e hepatoesplenomegalia foi relatada em nenhum caso. Entre os homens, lesão de orofaringe foi relatada em 41 (63,08%) casos, linfadenopatia foi relatada em 21 (32,31%) casos e hepatoesplenomegalia foi relatada em 3 (4,62%) casos.

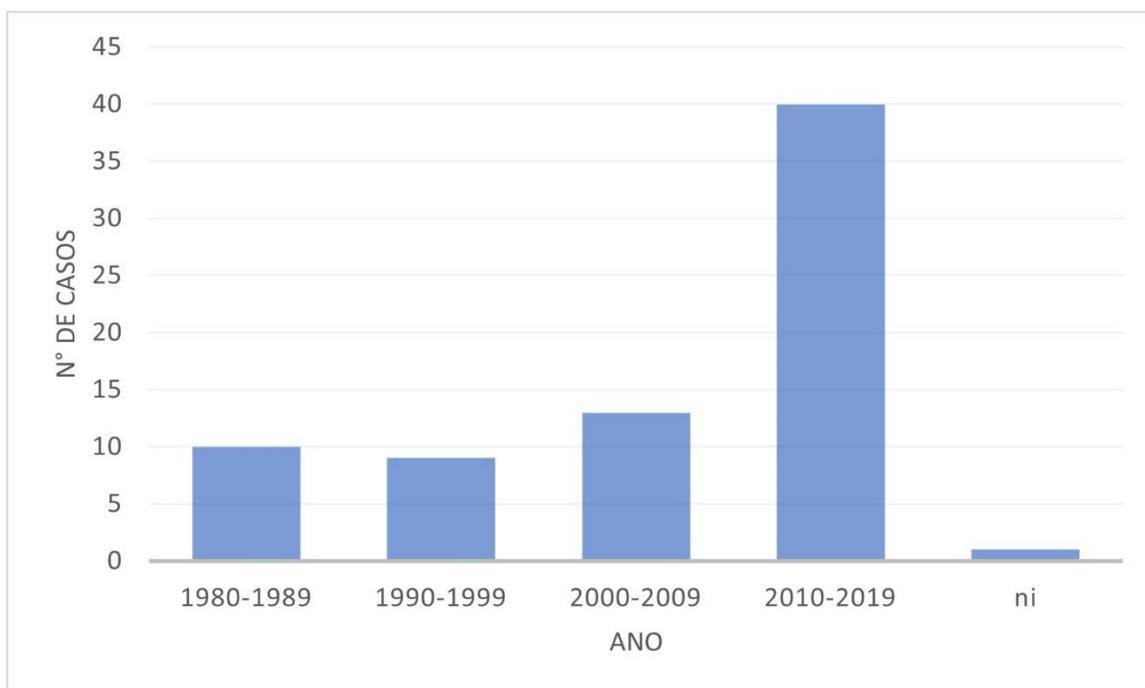


Figura 8. Distribuição temporal dos casos de PCM reportados em artigos e resumos

Tabela 7. Relação de casos de paracoccidioomicose e coccidioomicose, reportados em resumos e artigos por estado

Estado	<u>Paracoccidioomicose</u>		<u>Coccidioomicose</u>	
	Nº de casos	Porcentagem (%)	Nº de casos	Porcentagem (%)
Alagoas	14	19,18	0	0,00
Bahia	18	24,66	2	4,00
Ceará	10	13,70	33	66,00
Maranhão	6	8,22	0	0,00
Pará	3	4,11	0	0,00
Paraíba	4	5,48	0	0,00
Pernambuco	17	23,29	7	14,00
Piauí	0	0,00	8	16,00
Rio Grande do Norte	1	1,37	0	0,00
Sergipe	0	0,00	0	0,00
Total	73	100,00	50	100,00

Coinfecção foi relatada em apenas 3 (4,11%) casos, em 35 (47,95%) casos não houve coinfeção e em 35 (47,95%) casos esta informação não estava presente. Etilismo foi relatado em 11 (15,07%) dos casos, no entanto, 51 (69,86%) dos casos não possuem essa informação. Em 27 (36,99%) dos casos são de tabagistas, mas em 38 (52,05%) dos casos esta informação não está presente. Houve envolvimento pulmonar em 31 (42,47%) dos casos, 17 (23,29%) dos casos não tiveram envolvimento pulmonar e em 25 (34,25%) dos casos esta informação não estava presente. O envolvimento pulmonar foi mais proeminente entre os homens, com 43,08% (28 casos) contra 37,50% (3 casos) nas mulheres. No entanto, o não envolvimento pulmonar foi similar tanto para homens quanto para mulheres, 23,08% (15 casos) e 25,00% (2 casos), respectivamente.

Dentre todos os casos encontrados de PCM, houve disseminação em 65,75% (n = 48) dos casos, com apenas 7 (9,59%) casos não disseminando; em 18 casos (24,66%) não constava tal informação. O número de casos de disseminação em mulheres (6 casos, 75,00%) foi maior do que em homens (42 casos, 64,62%). A Tabela 8 contém estes e outros dados.

Tabela 8. Dados clínicos dos casos de PMC na literatura, sem (MATOS, 2009; VERAS, 1995)

		Geral		Mulheres		Homens	
		Nº de casos	%	Nº de casos	%	Nº de casos	%
HIV	+	0	0,00	0	0,00	0	0,00
	-	9	12,32	1	12,50	8	12,31
	ni	64	87,68	7	87,50	57	87,69
	Total	73	100,00	8	100,00	65	100,00
Forma Clínica	Aguda	14	19,18	4	50,00	10	15,38
	Crônica	54	73,97	3	37,50	51	78,46
	ni	5	6,85	1	12,50	4	6,16
	Total	73	100,00	8	100,00	65	100,00
Ferida em Orofaringe	Sim	45	61,64	4	50,00	41	63,08
	Não	18	24,66	2	25,00	16	24,62
	ni	10	13,70	2	25,00	8	12,30
	Total	73	100,00	8	100,00	65	100,00
Linfadenopatia	Sim	26	35,62	5	62,50	21	32,30
	Não	9	12,33	0	0,00	9	13,85
	ni	38	52,02	3	37,50	35	53,85
	Total	73	100,00	8	100,00	65	100,00
Hepatoesplenomegalia	Sim	3	4,11	0	0,00	3	4,62
	Não	28	38,36	3	37,50	25	38,46
	ni	42	57,53	5	62,50	37	56,92
	Total	73	100,00	8	100,00	65	100,00
Coinfecção	Sim	3	4,10	0	0,00	3	4,62
	Não	35	47,95	3	37,50	32	49,23
	ni	35	47,95	5	62,50	30	46,15
	Total	73	100,00	8	100,00	65	100,00
Etilista	Sim	11	15,07	0	0,00	11	16,92
	Não	11	15,07	1	12,50	10	15,38
	ni	51	69,86	7	87,50	44	67,70
	Total	73	100,00	8	100,00	65	100,00
Tabagista	Sim	27	36,99	2	25,00	25	38,46
	Não	8	10,96	1	12,50	7	10,77
	ni	38	52,05	5	62,50	33	50,77
	Total	73	100,00	8	100,00	65	100,00
Envolvimento Pulmonar	Sim	31	42,47	3	37,50	28	43,08
	Não	17	23,29	2	25,00	15	23,08
	ni	25	34,24	3	37,50	22	33,84
	Total	73	100,00	8	100,00	65	100,00
Disseminação	Sim	48	65,75	6	75,00	42	64,62
	Não	7	9,59	1	12,50	6	9,23
	ni	18	24,66	1	12,50	17	26,15
	Total	73	100,00	8	100,00	65	100,00
Morte	Sim	4	5,48	1	12,50	3	4,62
	Não	48	65,75	6	75,00	42	64,62
	ni	21	28,77	1	12,50	20	30,76
	Total	73	100,00	8	100,00	65	100,00
Cura	Sim	36	49,32	3	37,50	33	50,77
	Não	9	12,33	3	37,50	6	9,23
	ni	28	38,35	2	25,00	26	40,00
	Total	73	100,00	8	100,00	65	100,00

Legenda 1. ni = não informado

Também foram incluídos nos casos da literatura mais 534 casos provenientes de duas dissertações de mestrado: 318 casos de PCM no Nordeste, Pará e Tocantins (VERAS, 1995) e 216 casos de PCM no Maranhão (MATOS, 2009), totalizando 607 casos de PCM, dos quais 604 possuem identificação de origem dos casos. Juntando todos os casos, há 575 casos com a idade do paciente descrita, a Figura 9 é a distribuição de casos total de PCM por faixa etária. A idade média foi de 32,34 anos.

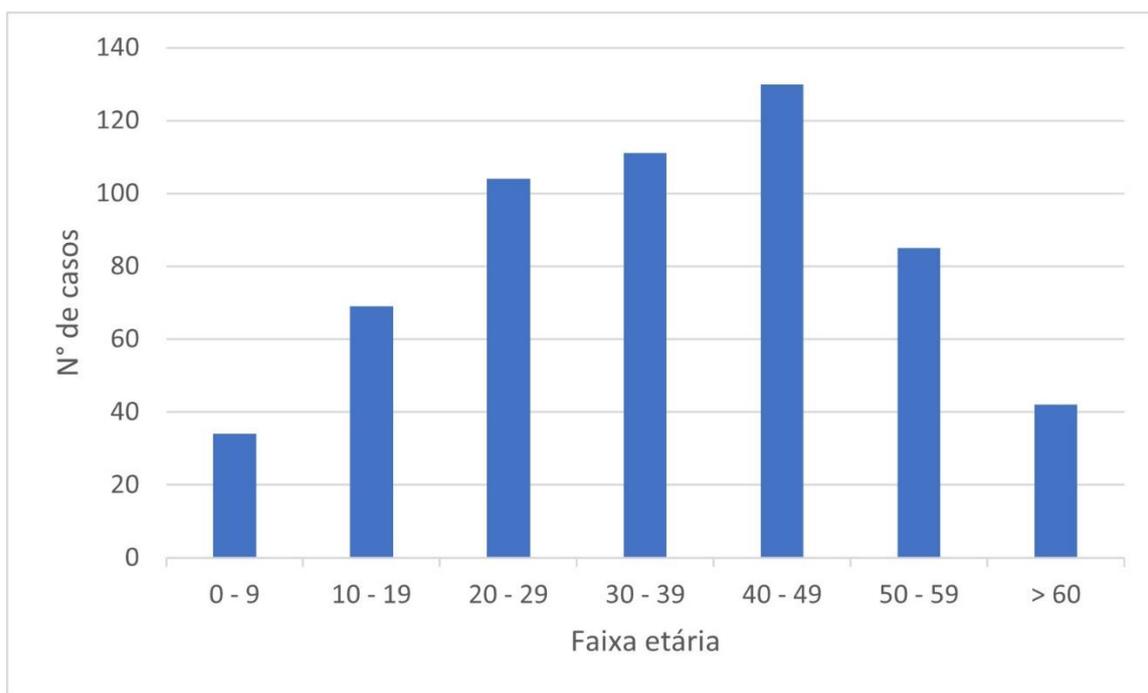


Figura 9. Distribuição total de casos de PCM incluídos no estudo por faixa etária

Dos 604 casos de PCM encontrados, o estado do Maranhão é o estado com o maior número de casos reportados (370 casos, 61,26%), seguido pelo estado do Pará (151 casos, 25,00%). Considerando apenas os estados que compõem o Nordeste brasileiro, o estado com maior número de casos de PCM reportados é o estado do Maranhão (370 casos, 86,25%), seguido pelo estado do Pernambuco (17 casos, 3,96%) e Bahia (16 casos, 3,73%). A Tabela 9 apresenta a distribuição de todos os casos de PCM encontrados.

Tabela 9. Distribuição de todos os casos de PCM por estado e de casos de PCM por estado do Nordeste brasileiro

Estado	Nº de casos	%	Estados do Nordeste	Nº de casos	%
Alagoas	11	1,82	Alagoas	11	2,56
Bahia	16	2,65	Bahia	16	3,73
Ceará	10	1,66	Ceará	10	2,33
Maranhão	370	61,26	Maranhão	370	86,25
Pará	151	25,00	Paraíba	4	0,93
Paraíba	4	0,66	Pernambuco	17	3,96
Pernambuco	17	2,81	Piauí	0	0,00
Piauí	0	0,00	Rio Grande do Norte	1	0,23
Rio Grande do Norte	1	0,17	Sergipe	0	0,00
Sergipe	0	0,00	Total	429	100,00
Tocantins	24	3,97			
Total	604	100,00			

Coccidioidomicose: Ao todo, foram encontrados 50 casos de coccidioidomicose relatados na literatura que são oriundos do Nordeste brasileiro. A idade média foi de 29,28 \pm 2,04 anos, a idade mínima foi de 11 anos e a idade máxima foi de 74 anos. Todos os casos de coccidioidomicose encontrados foram em homens. A Figura 10 apresenta um histograma do número de casos de coccidioidomicose por idade e a Figura 11 apresenta a distribuição temporal dos casos de CM no Nordeste. Apenas 4 estados do Nordeste tiveram relatos de caso de coccidioidomicose. Ceará foi o estado com maior número de casos de coccidioidomicose no Nordeste, com 33 (66,00%) casos, seguido de Piauí (8 casos, 16,00%), Pernambuco (7 casos, 14,00%) e Bahia (2 casos, 4,00%). A Tabela 7 apresenta a relação de casos por estados.

De todos os casos, a ocupação mais comum foi de fazendeiro (6 casos, 12,00%), no entanto, 38 (76,00%) dos casos não possuem a ocupação do paciente indicada. Agrupando todas as ocupações relacionadas ao meio rural em uma única categoria, têm-se 10 (20,00%) casos de CM no Nordeste brasileiro. A segunda ocupação mais relatada foi de cavador de poço e pedreiro, ambas com 1 caso (2,00%).

Coinfecção foi negativa em 42 (84,00%) dos casos e 8 (16,00%) casos não apresentam tal informação. Houve envolvimento pulmonar em 58,00% (n = 29) dos casos, apenas 2 casos (4,00%) relataram ausência de envolvimento pulmonar e os 19 (38,00%) casos restantes não apresentam informação referente ao envolvimento pulmonar. Dentre todos os casos, houve disseminação em 16,00% (n = 8) dos casos, 62,00% (n = 31) não tiveram disseminação e 22,00% dos casos (n = 11) não possuem tal informação relatada. Estes dados e outros estão indicados na Tabela 10.

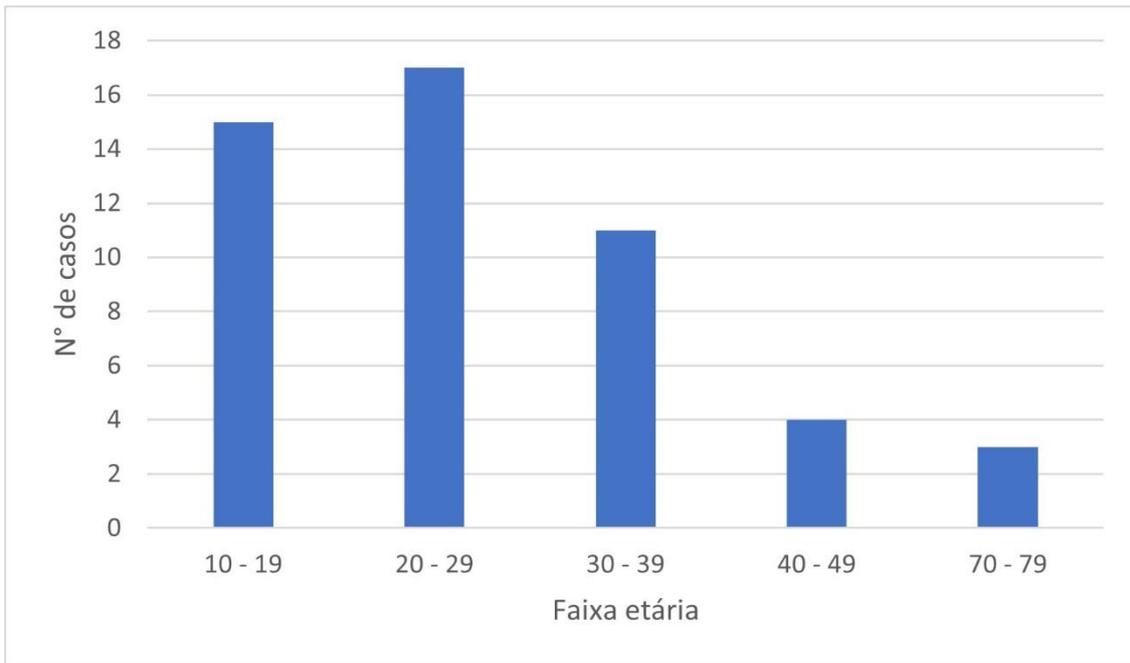


Figura 10. Número de casos de coccidioidomicose no Nordeste brasileiro por faixa etária

A forma clínica mais apresentada de CM no Nordeste foi a forma pulmonar, com 26 (52,00%) casos. A forma disseminada teve um total de 7 casos (14,00%), no entanto, 17 casos (34,00%) não possuíam informação sobre a forma apresentada de CM. Houve apenas um relato de lesão em orofaringe (2,00%) e 9 (18,00%) casos não apresentaram tal lesão. No entanto, 40 casos (80,00%) não relataram a presença ou ausência de lesão em orofaringe. De forma similar, apenas um caso (2,00%) apresenta linfadenopatia, 10 (20,00%) casos não apresentam linfadenopatia e 39 casos (78,00%) não contêm tal informação. Em relação à hepatoesplenomegalia, 11 (22,00%) casos explicitavam ausência de hepatoesplenomegalia e 39 (78,00%) casos não possuem tal informação.

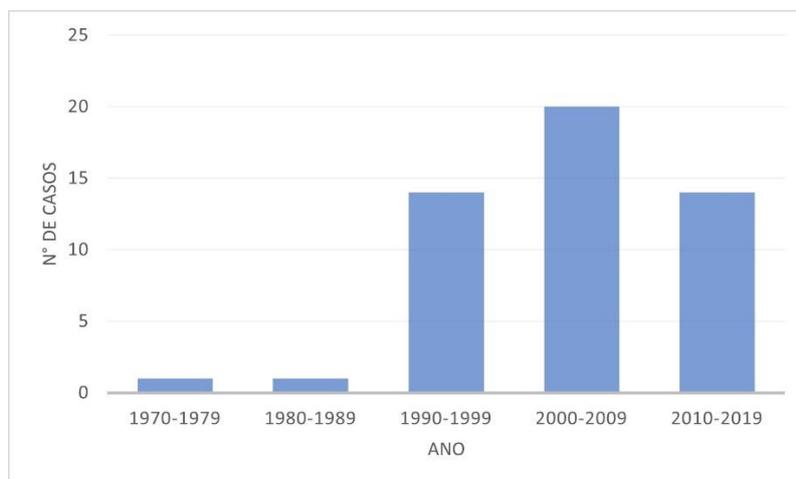


Figura 11. Distribuição temporal dos casos de coccidioidomicose no Nordeste brasileiro

Tabela 10. Dados clínicos dos casos de CM na literatura

		Homens	
		Nº de casos	%
HIV	+	0	0,00
	-	8	16,00
	ni	42	84,00
	Total	50	100,00
Forma Clínica	Disseminada	7	14,00
	Pulmonar	26	52,00
	ni	17	34,00
	Total	50	100,00
Ferida em Orofaringe	Sim	1	14,00
	Não	9	52,00
	ni	40	34,00
	Total	50	100,00
Linfadenopatia	Sim	1	2,00
	Não	10	20,00
	ni	39	78,00
	Total	50	100,00
Hepatoesplenomegalia	Sim	0	0,00
	Não	11	22,00
	ni	39	78,00
	Total	50	100,00
Coinfecção	Sim	0	0,00
	Não	72	84,00
	ni	8	16,00
	Total	50	100,00
Etilista	Sim	1	2,00
	Não	2	4,00
	ni	47	94,00
	Total	50	100,00
Tabagista	Sim	1	2,00
	Não	3	6,00
	ni	46	92,00
	Total	50	100,00
Envolvimento Pulmonar	Sim	29	58,00
	Não	2	4,00
	ni	19	38,00
	Total	50	100,00
Disseminação	Sim	8	16,00
	Não	31	62,00
	ni	11	22,00
	Total	50	100,00
Morte	Sim	4	8,00
	Não	20	40,00
	ni	26	52,00
	Total	50	100,00
Cura	Sim	20	40,00
	Não	3	6,00
	ni	27	54,00
	Total	50	100,00

Legenda 2. ni = não informado

Adicionalmente, 292 casos de CM de pacientes admitidos no Instituto de Doenças Tropicais Nathan Portela ou no Hospital Getúlio Vargas – Teresina, Piauí foram incluídos neste estudo. Assim como os casos de Matos (2009) e Veras (1995), esses casos foram utilizados apenas para dado de presença clínica para a modelagem de nicho ecológico. Desses casos, 270 são de pacientes oriundos do Piauí e 22 do estado do Maranhão. Os dados relacionados a estes casos serão descritos em outro estudo. Com esses dados, foram identificados 342 casos de CM no Nordeste brasileiro. A Tabela 11 apresenta a relação total de casos encontrados de CM no Nordeste. De todos os casos, Piauí (n = 277) é o estado com o maior número de casos de CM reportados no Nordeste, seguido do Ceará (n = 33).

Tabela 11. Relação do número total de casos de CM por estado do Nordeste

Estado	N° de casos	%
Alagoas	0	0,00
Bahia	2	0,58
Ceará	33	9,65
Maranhão	22	6,43
Paraíba	0	0,00
Pernambuco	0	0,00
Piauí	277	80,99
Rio Grande do Norte	8	2,34
Sergipe	0	0,00
Total	342	100,00

Nested PCR

Inicialmente, das 296 amostras de solo, foram obtidas 73 amostras que, devido a banda fracas, foram consideradas como possível amplificação positiva para *Coccidioides* sp. Para confirmar se realmente houve amplificação para *Coccidioides*, o segundo passo da *nested* PCR foi repetido para essas amostras utilizando como molde o produto de PCR destas 73 amostras. Das 73 amostras do ciclo de repetição, 46 amostras apresentaram confirmação na amplificação do segundo ciclo da *nested* PCR. Como confirmação final, 10 amostras aleatórias foram selecionadas para serem sequenciadas. Os locais que tiveram amplificação positiva para *Coccidioides* estão indicados na Figura 12. Das 296 amostras de solo, 87 amostras amplificaram para *Paracoccidioides* sp. Os locais das amostras de solo que amplificaram *Paracoccidioides* sp. estão indicados na Figura 12. A relação de amostras positivas por cidade de coleta está apresentada na Tabela 12 e na Figura 12, onde um gráfico de pizza representa a proporção de amostras de solo positivas para a detecção do DNA do fungo no solo para cada cidade onde as amostras de solo foram coletadas.

Tabela 12. Relação de amostras de solo positivas para *Coccidioides* e *Paracoccidioides*

Cidade (Estado)	<i>Paracoccidioides</i>		<i>Coccidioides</i>	
	Nº de amostras + (%)	Nº de amostras - (%)	Nº de amostras + (%)	Nº de amostras - (%)
Araguaína (TO)	9 (60,00)	6 (40,00)	1 (6,67)	14 (93,33)
Barra do Corda (MA)	12 (30,00)	28 (70,00)	5 (12,50)	35 (87,50)
Grajaú (MA)	0 (0,00)	10 (100,00)	4 (40,00)	6 (60,00)
Imperatriz (MA)	5 (23,81)	16 (76,19)	2 (9,52)	19 (90,48)
Porto Franco (MA)	1 (20,00)	4 (80,00)	1 (20,00)	4 (20,00)
Barro Duro (PI)	0 (0,00)	11 (100,00)	1 (9,09)	10 (90,91)
Dom Expedito Lopes (PI)	3 (30,00)	7 (70,00)	1 (10,00)	9 (90,00)
Elesbão Veloso (PI)	1 (8,33)	11 (91,67)	6 (50,00)	6 (50,00)
Oeiras (PI)	1 (7,96)	12 (92,31)	2 (15,38)	11 (84,62)
Paquetá (PI)	6 (28,57)	15 (71,43)	0 (0,00)	21 (100,00)
Picos (PI)	4 (40,00)	6 (60,00)	1 (10,00)	9 (90,00)
Pio IX (PI)	1 (25,00)	3 (75,00)	0 (0,00)	4 (100,00)
São Raimundo Nonato (PI)	8 (29,63)	19 (70,37)	7 (25,93)	20 (74,07)
Aiuaba (CE)	4 (26,67)	11 (73,33)	2 (13,33)	13 (86,67)
Arneiroz (CE)	8 (34,78)	15 (65,22)	1 (4,35)	22 (95,65)
Banabuiú (CE)	2 (13,33)	13 (86,67)	6 (40,00)	9 (60,00)
Quixadá (CE)	1 (16,67)	5 (83,33)	1 (16,67)	5 (83,33)
Redenção (CE)	7 (38,89)	11 (61,11)	3 (16,67)	15 (83,33)
Solonópole (CE)	14 (66,67)	7 (33,33)	3 (14,29)	18 (85,71)
Média	4,58	11,05	2,47	13,16

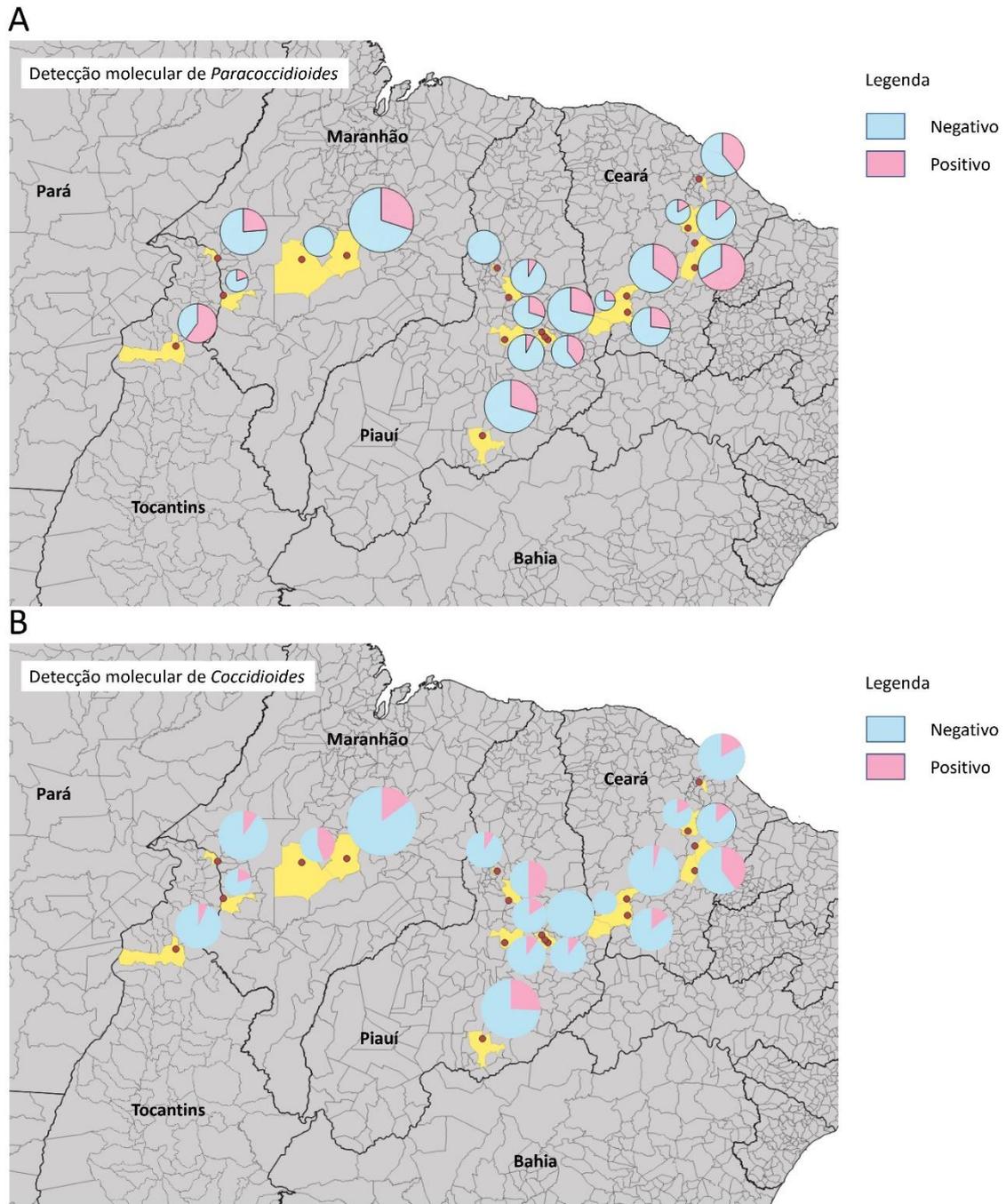


Figura 12. Mapa da detecção molecular e relação da proporção de amostras de solo positivas e negativas. A: *Paracoccidioides* B: *Coccidioides*

Pareando as 87 amostras de solo positivas para *Paracoccidioides* com as 47 amostras de solo positivas para *Coccidioides*, 13 amostras foram positivas para ambos os complexos de fungo. As cidades correspondentes a essas amostras são: Araguaína, no Tocantins; Barra do Corda, no Maranhão; Banabuiú, Quixadá, Redenção e Solonópole, no Ceará; e São Raimundo Nonato, no Piauí.

Sequenciamento e Comparação entre amostras clínicas e ambientais

Foram selecionadas, aleatoriamente, 10 amostras de solo de *Coccidioides* e de *Paracoccidioides* para sequenciar e comparar com sequências de ITS anotadas para ver a relação entre amostras ambientais e clínicas. A árvore filogenética obtida para *Coccidioides* é apresentada na Figura 13. No caso de *Coccidioides*, até o presente momento, ainda não foi recebido o resultado de todas as amostras enviadas para sequenciar. A árvore filogenética obtida para *Paracoccidioides* é apresentada na Figura 15.

Como é possível observar na Figura 13, as amostras para quais recebemos o resultado do sequenciamento estão agrupadas com as sequências de *C. posadasii*. No entanto, não houve uma boa separação entre *C. posadasii* e *C. immitis*. As cidades das amostras de solo que foram sequenciadas são: Grajaú – MA e Arneiroz – CE. Para melhor visualização dos taxons das amostras de solo sequenciadas, a Figura 14 foi feita, onde o clado de *C. immitis* foi colapsado.

É possível ver na Figura 15 que houve uma boa distinção entre o complexo de *P. brasiliensis* e *P. lutzii*, a Figura 16 apresenta a mesma árvore com o clado de *P. lutzii* colapsado para melhor visualização da distribuição das amostras sequenciadas no clado do complexo de *P. brasiliensis*. Além disso, é possível ver que todas as amostras de solo sequenciadas foram agrupadas com o complexo de *P. brasiliensis* e que a maioria das amostras de solo agrupam-se com as sequências de *P. brasiliensis* oriundas de amostras de solo, apenas 3 amostras foram agrupadas com as sequências clínicas. As cidades das amostras de solo que agruparam-se no *cluster* de solo são: Aiuaba, Redenção e Sonolópole, no Ceará; Araguaína, Tocantins; Barra do Corda, Maranhão; e Pio IX e São Raimundo Nonato, no Piauí. As amostras de solo que foram agrupadas com as sequências clínicas são das cidades: Porto Franco, Maranhão; Oeiras e Paquetá, Piauí; e Araguaína, Tocantins.

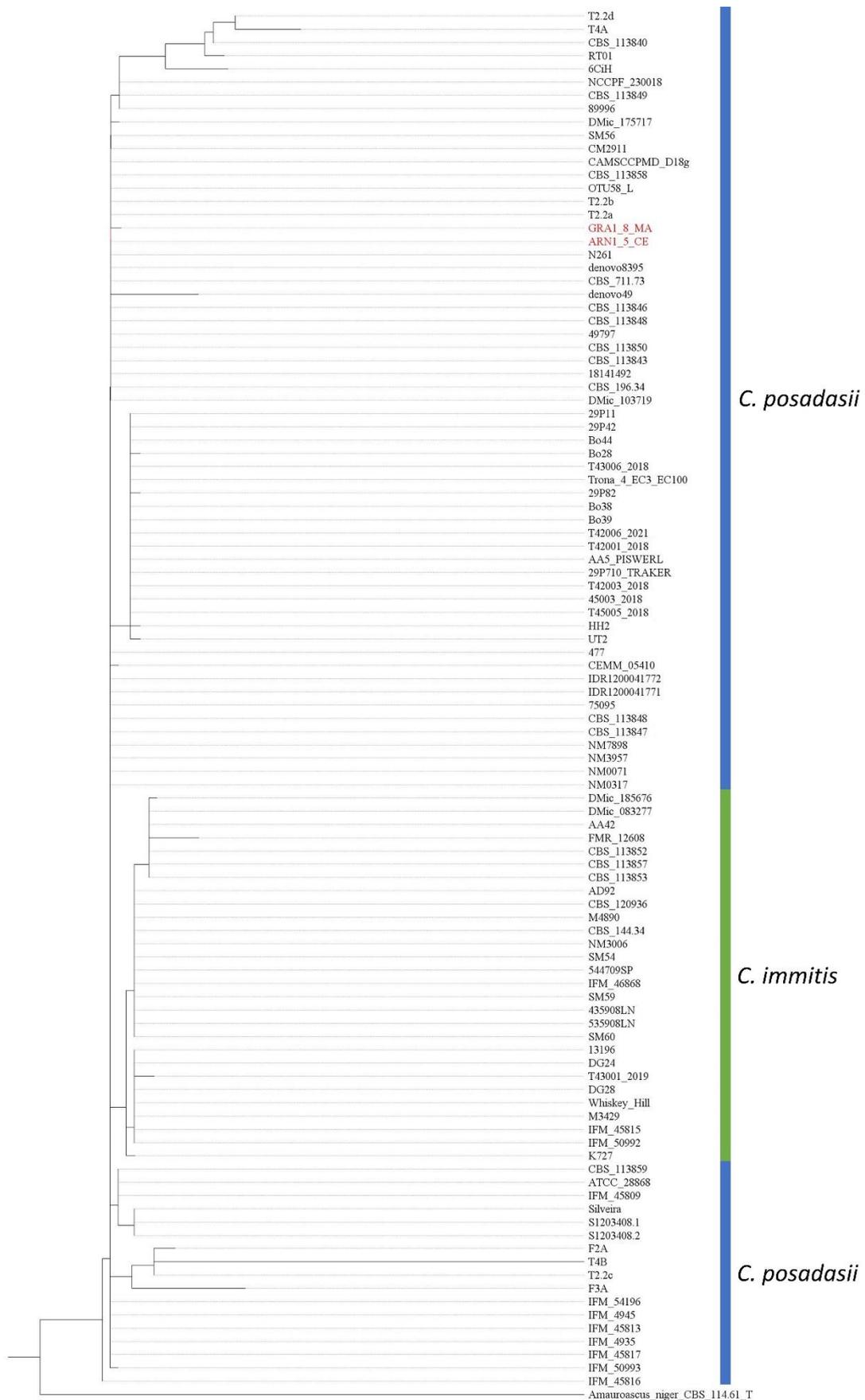


Figura 13. Árvore filogenética da comparação entre amostras ambientais de *Coccidioides* e seqüências anotadas. Os taxons em vermelho indicam as amostras ambientais seqüenciadas.

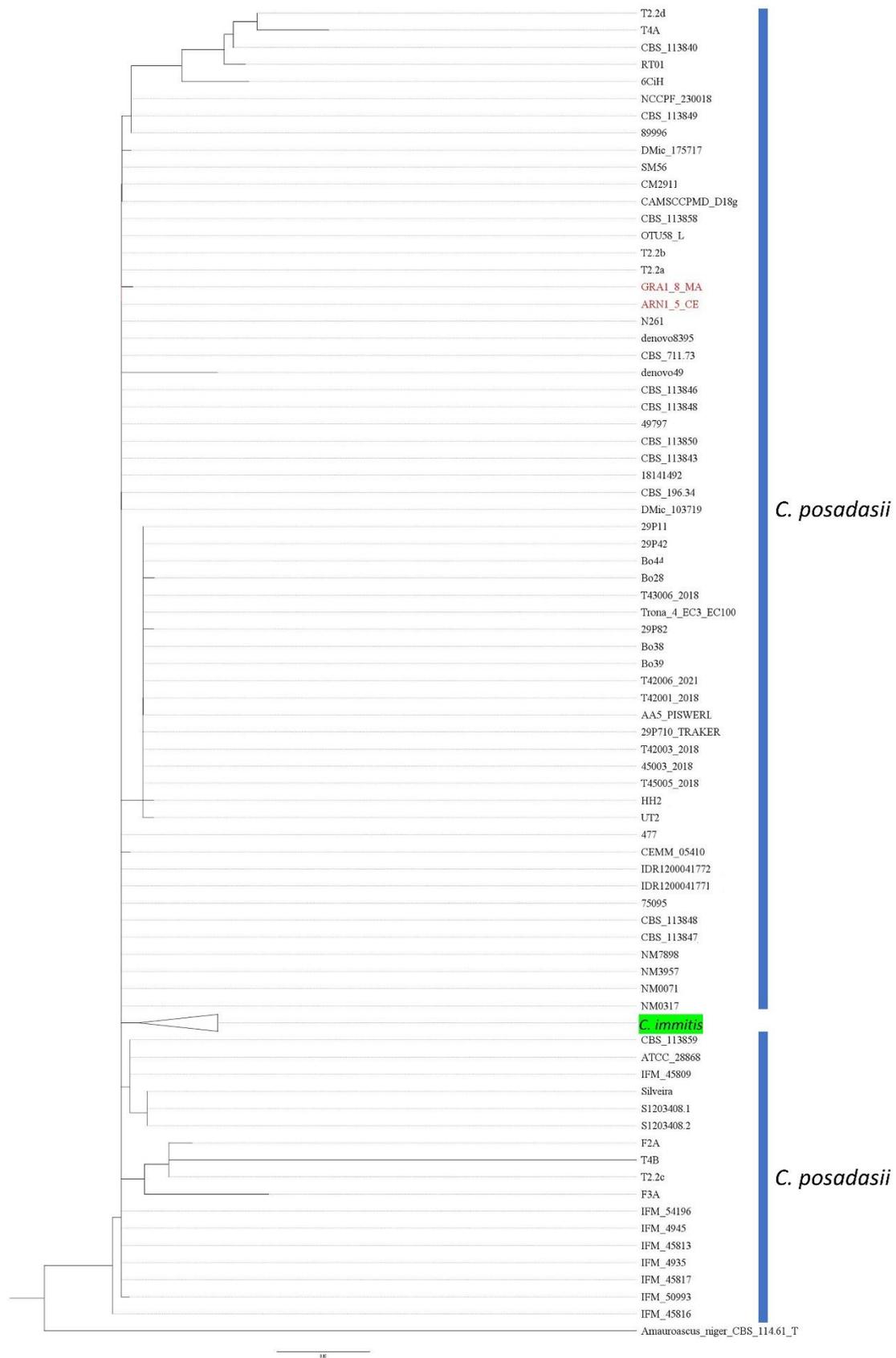


Figura 14. Árvore filogenética da comparação entre amostras ambientais de *Coccidioides* e sequências anotadas, onde o clado de *C. immitis* foi colapsado para melhor visualização. Os taxons em vermelho indicam as amostras de solo que foram sequenciadas.

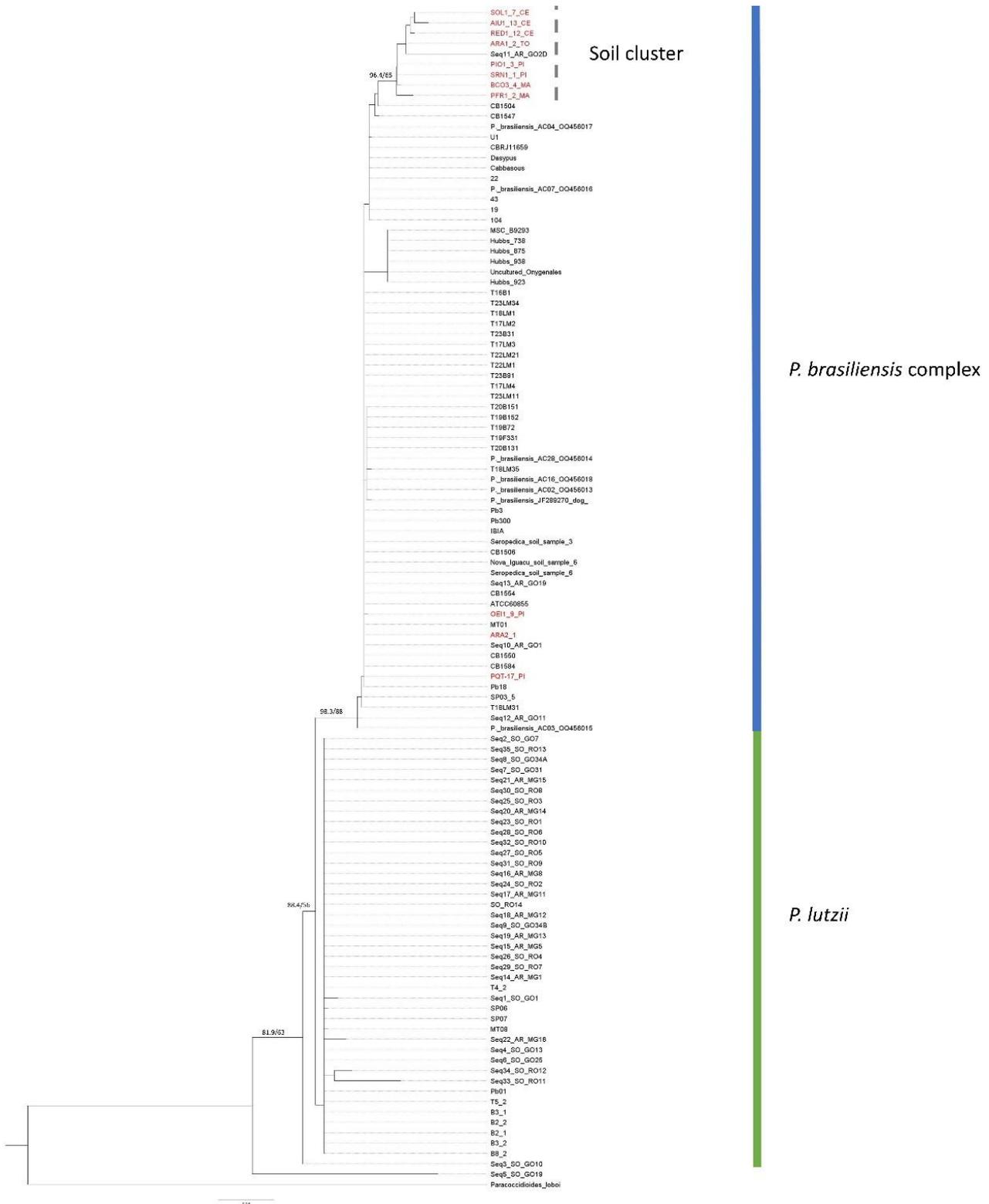


Figura 15. Árvore filogenética da comparação entre amostras ambientais de *Paracoccidioides* e sequências anotadas. Os taxons em vermelho indicam as amostras de solo que foram sequenciadas.

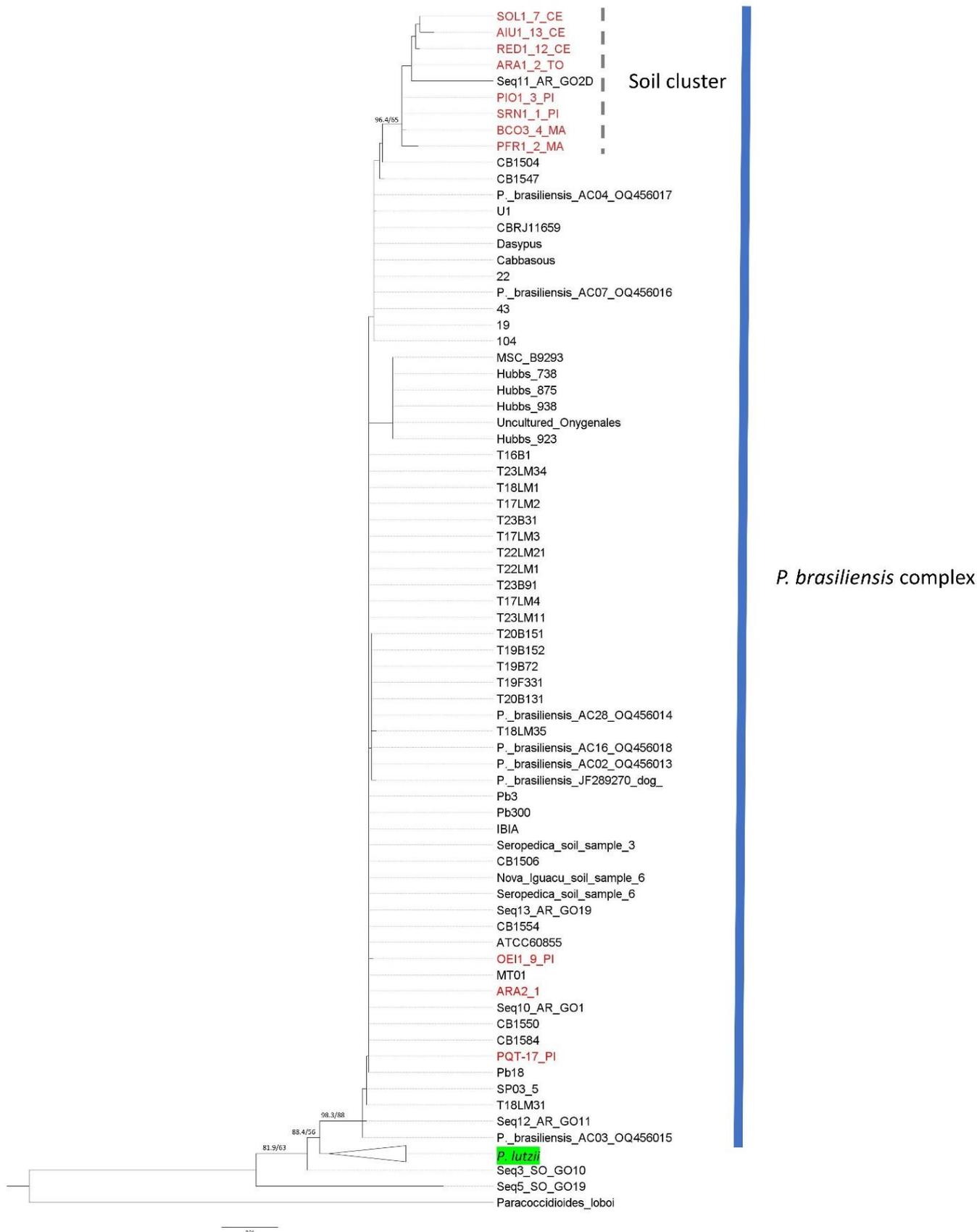


Figura 16. Árvore filogenética da comparação entre amostras ambientais de *Paracoccidioides* e sequências anotadas, onde o clado de *P. lutzii* foi colapsado para melhor visualização. Os taxons em vermelho indicam as amostras de solo que foram sequenciadas e em verde está indicado o clado colapsado de *P. lutzii*.

Modelagem de Nicho

Dois modelos para paracoccidioidomicose foram feitos, um utilizando apenas a presença de dados clínicos e outro com a presença ambiental do fungo. Em ambos os modelos, o resultado retornado é a probabilidade do local ser adequado para o desenvolvimento de *Paracoccidioides*. Os mapas de predição obtidos para *Paracoccidioides* estão apresentados nas Figura 17 e Figura 18. Dentre as 19 variáveis testadas (Tabela 4), as variáveis retornadas pela correlação de Pearson como variáveis relevantes para a adaptação do nicho para *Coccidioides* e *Paracoccidioides* foram: Temperatura Sazonal, Precipitação Sazonal, Precipitação durante o trimestre mais frio e Precipitação durante o trimestre mais quente.

A área de maior tendência de *Paracoccidioides* compreende as áreas de Cerrado, Floresta Amazônica e Mata Atlântica. A Figura 19 apresenta o mapa de predição de adequação de nicho para *Coccidioides* e ele também retorna a probabilidade do local ser adequado para *Coccidioides*. As áreas com maior tendência de *Coccidioides* são as áreas de Caatinga e Cerrado.

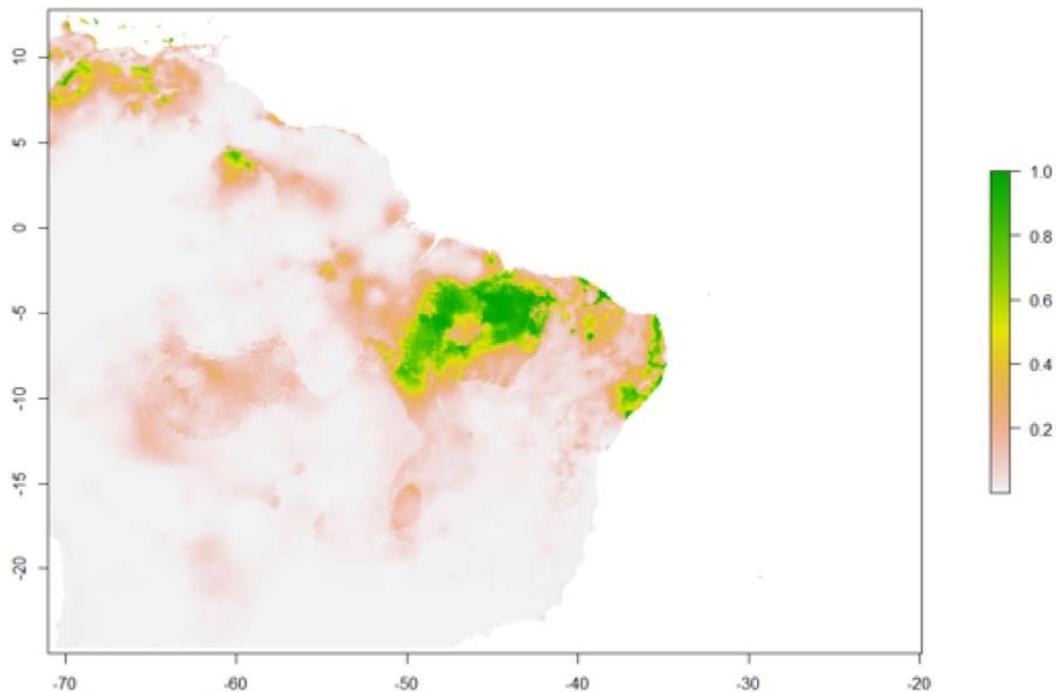


Figura 17. Predição de adequação de nicho para *Paracoccidioides* baseado na presença clínica. A probabilidade de adequação é dada em probabilidade, variando de 0 a 1

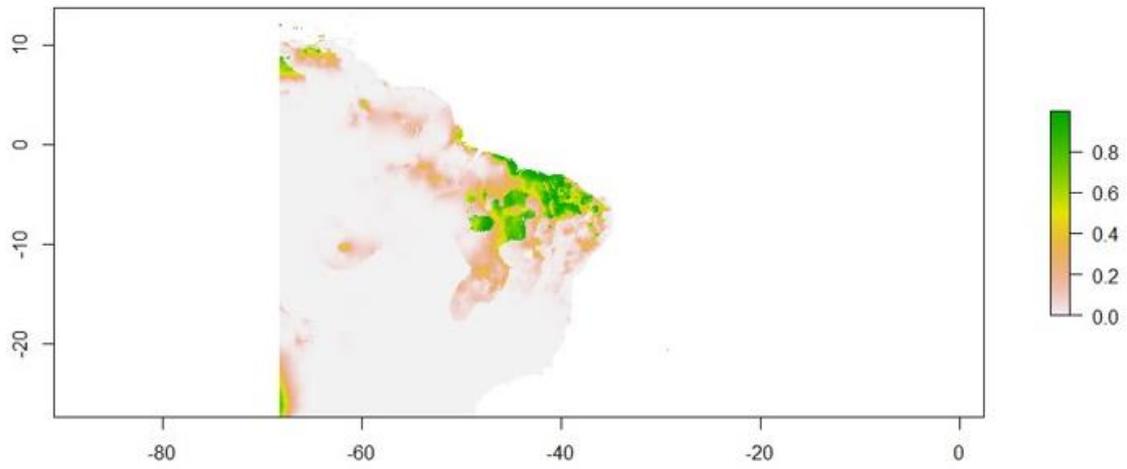


Figura 18. Predição de adequação de nicho para *Paracoccidioides* baseado na presença ambiental do fungo. A probabilidade de adequação é dada em probabilidade, variando de 0 a 1

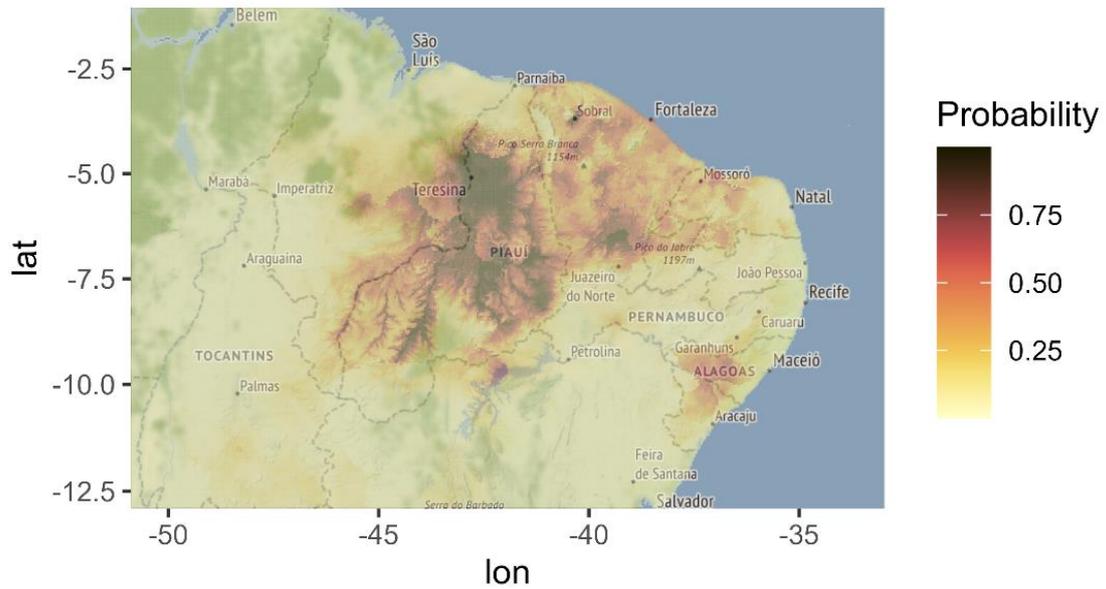


Figura 19. Predição de adequação de nicho para *Coccidioides* utilizando apenas dados de presença clínica

Discussão

Estudo retrospectivo

Foi possível recuperar da literatura 604 casos de PCM oriundos do Nordeste brasileiro, Pará e Tocantins e 342 casos de CM oriundos do Nordeste brasileiro entre os anos de 1978 e 2021. O objetivo inicial dessa busca foi conseguir dados de presença de casos clínicos no Nordeste brasileiro para serem utilizados na produção dos modelos de nicho ecológico para *Coccidioides* e *Paracoccidioides*. A busca por esses dados mostrou-se mais complicada do aparentava, necessitando de ampliação da busca para resumos publicados ou apresentados em congressos. Isso deixou evidente a necessidade de ter esses dados centralizados para serem utilizados em futuras pesquisas, por esta razão diversos dados clínicos (Tabela 8 e Tabela 10) foram coletados além da localização e ano de ocorrência dos casos com a intenção de deixar esses dados disponíveis e centralizados para futuras pesquisas retrospectivas.

Detecção molecular

O presente estudo, assim como já apresentado em estudos anteriores (ARANTES et al., 2013, 2016; BARKER et al., 2012; DE MACÊDO et al., 2011), mostra a detecção ambiental do DNA de fungo em amostras ambientais, mostrando métodos moleculares como uma ferramenta importante nos estudos epidemiológicos e o potencial da utilização de tocas de tatu para rastreamento. Não só foi demonstrado a presença de *Coccidioides* e *Paracoccidioides* no Nordeste brasileiro, como é observado que eles ocorrem simultaneamente em 7 cidades de 3 estados diferentes do Nordeste (Ceará, Maranhão e Piauí) e do Tocantins.

Os tatus possuem características que os tornam mais propensos a entrarem em contato com agentes etiológicos que residem no solo (incluindo *Coccidioides* e *Paracoccidioides*) em comparação com outros mamíferos, como fraco sistema imune, imersão em solo e material orgânico e temperatura corporal (DESBIEZ et al., 2022). Os tatus são fossoriais, isto é, têm como hábito cavar o solo para forragear e construir suas tocas (abrigo, acesso a reservatório de insetos, etc.), e possuem ampla distribuição no continente americano (CLERICI; ROSA; COSTA, 2018; DESBIEZ et al., 2022; FENG; PAPEŞ, 2015; PLATT; RAINWATER; BREWER, 2004). Esses fatores em conjuntos associados com a preferência nutricional de *Coccidioides* e *Paracoccidioides* por

substratos com proporção de proteínas maior do que carboidratos (MUÑOZ et al., 2018; SHARPTON et al., 2009; WHISTON; TAYLOR, 2016) reforça a hipótese de endozoários (TAYLOR; BARKER, 2019) e dá a possibilidade da utilização das tocas de tatu para a coleta de amostras ambientais para detecção do DNA destes fungos.

Análise filogenética

Ao comparar as sequências das amostras ambientais com outras sequências, foi observado que a maioria das amostras de solo de *Paracoccidioides* deste estudo agruparam-se com amostras de solo já descritas (Figura 15), observação similar à de Arantes et al. (2016), corroborando as observações de que amostras ambientais de *Paracoccidioides* possuem maior variabilidade genética do que a variabilidade reportada para as amostras clínicas (ARANTES et al., 2016). Infelizmente, para *Coccidioides*, não houve uma boa distinção entre as duas espécies (Figura 13), *C. immitis* e *C. posadasii*, impossibilitando qualquer inferência além de que as amostras de *Coccidioides* com resultado do sequenciamento podem ser classificadas como *C. posadasii*.

A região ITS (*Internal Transcribed Spacer*) é uma região de alta variabilidade que tem aproximadamente 650 pb de tamanho, encontra-se entre os genes 18S e 25S/28S (disposição em eucariotos: 5'ETS-18S-ITS1-5.8S-ITS2-25S/28S), é a sequência mais comumente utilizada em sistemática e taxonomia no nível de gênero e inferior e possui um grande número de cópias por célula (LAFONTAINE; TOLLERVEY, 2001; MARTIN; RYGIWICZ, 2005; NILSSON et al., 2009). Por essas razões, a região ITS foi escolhida como alvo para as amostras ambientais. Neste estudo, não houve uma boa distinção entre *C. immitis* e *C. posadasii* observada em outros estudos (ALVARADO et al., 2018; BARKER et al., 2012), mas foi obtida uma boa distinção para *Paracoccidioides*.

Modelagem de nicho ecológico

Além de ser possível detectar a presença do fungo de forma indireta pela presença de seu DNA em amostras ambientais ao utilizar métodos moleculares, esses dados puderam ser utilizados na modelagem de nicho ecológico como dados de presença ambiental, permitindo compreender melhor a distribuição na natureza e correlacionar sua presença com fatores abióticos que influenciam a adequação do ambiente para seu desenvolvimento e ciclo de vida. Isso pode ser observado nos mapas de predição de nicho

para *Paracoccidioides* (Figura 17 e Figura 18), há clara sobreposição nas áreas preditas como adequadas para *Paracoccidioides*. Isso mostra o poder de predição do modelo, como mostra a relevância dos dados de presença ambiental para melhor precisão na modelagem de nicho ecológico. Devido os resultados das amostras ambientais de *Coccidioides* só terem ficado prontos recentemente, o seu modelo (Figura 19) foi feito apenas com os dados clínicos.

Assim como através da detecção molecular, é possível ver que há áreas de sobreposição de ambientes adequados para *Coccidioides* e *Paracoccidioides* no Nordeste brasileiro nos modelos de nicho ecológico. Os modelos de nicho ecológico indicam que as áreas mais adequadas para *Coccidioides* são compostas pelos biomas da Caatinga e do Cerrado. Já para *Paracoccidioides*, as áreas mais adequadas são Cerrado, Floresta Amazônica e Mata Atlântica. Isso levanta a suspeita de que no Cerrado ambos os fungos possam coexistir, pois de todos os biomas indicados como áreas prováveis como adequada para *Coccidioides* e *Paracoccidioides*, o Cerrado é o bioma que possui dos requisitos necessários para o desenvolvimento de ambos.

O Cerrado é um extenso bioma brasileiro que abrange todas as regiões geopolíticas do Brasil e possui diversas ecorregiões (NASCIMENTO; NOVAIS, 2020; SANO et al., 2020). Caracterizado por uma forte sazonalidade, onde durante o verão é caracterizado por um período chuvoso e temperaturas mais quentes e durante o inverno é caracterizado por um período de seca e menores temperaturas. A latitude tem um papel importante nesses valores, quanto mais ao norte, mais acentuadas a temperatura e a umidade são, em especial nos estados do Maranhão, Piauí e Tocantins (NASCIMENTO; NOVAIS, 2020). Essa combinação de estação úmida com estação seca pode permitir que *Coccidioides* e *Paracoccidioides* coexistam em áreas do Cerrado, fazendo uso de estações específicas do ano para desenvolver-se melhor.

Uma das diferenças observadas entre amostras ambientais e clínicas de *Coccidioides* é o aumento de proteases e redução das enzimas de degradação vegetal (ALVARADO et al., 2018; SHARPTON et al., 2009), diferença similar à observada entre os fungos dimórficos e os outros fungos (MUÑOZ et al., 2018; SHARPTON et al., 2009; WHISTON; TAYLOR, 2016). Utilizando essa informação com a presença ambiental, não só permitirá entender melhor a distribuição na natureza como correlacionar os locais de presença dos fungos com os fatores que favorecem as linhagens mais similares aos isolados clínicos e, conseqüentemente, representaria um maior risco de infecção.

Perspectivas

Uma das principais armas na prevenção contra doenças infecciosas é a vigilância e a notificação tem grande papel no planejamento de prevenção e combate (SIMONSEN et al., 2016). O aumento da longevidade, indivíduos imunocomprometidos e outros fatores têm contribuído para um aumento nas incidências de mortalidade e morbidade de doenças infecciosas no mundo todo (FACCIOLÀ et al., 2022). No entanto, para prevenção e resposta adequada, é necessário um sistema de vigilância que tenha acesso a múltiplos bancos de dados clínicos e laboratoriais (SIMONSEN et al., 2016).

É possível ver um certo descaso no Brasil em relação à CM e PCM. Tanto *Coccidioides* spp. como *Paracoccidioides* spp. estão na lista de patógenos fúngicos de prioridade da Organização Mundial da Saúde (WHO fungal priority pathogens list to guide research, development and public health action, 2022), mas nenhuma de suas infecções fazem parte da lista de notificação no Brasil (DEUS FILHO, 2009; SHIKANAI-YASUDA et al., 2017). A falta de notificação sobre qualquer infecção, não só CM ou PCM, implica em menos informação sobre sua real distribuição, já que sem uma notificação obrigatória, a notificação fica restrita à publicações de relatos de caso ou outros estudos publicados que divulguem tal informação.

Unindo a falta de notificação com a similaridade dos sintomas de CM e PCM com outras PACs, temos um ciclo vicioso onde: devido a falta de informação sobre a distribuição, a maioria dos clínicos tratam CM e PCM como PACs comuns, levando muito tempo para um diagnóstico correto; essa demora no diagnóstico em conjunto com a ausência de notificação alimenta a falta de informação sobre os locais de ocorrências de ambas as micoses.

Com esse trabalho, esperamos dar os primeiros passos para a conscientização nas áreas de provável ocorrência desses fungos e suas infecções, para que um diagnóstico mais rápido e eficiente ocorra, proporcionando uma melhor qualidade de vida para os indivíduos infectados.

Conclusão

Este estudo mostra o potencial da utilização da detecção molecular em amostras ambientais. Foi possível identificar molecularmente a presença de *C. posadasii* e *P. brasiliensis* no Nordeste brasileiro utilizando amostras de solo obtidas em tocas de tatus. Com esses dados, modelos de nicho ecológico foram obtidos para ambos os fungos. Os modelos que *Coccidioides* têm maior presença em ambientes de Caatinga e Cerrado, enquanto *Paracoccidioides* tem preferência por ambientes de Cerrado, Floresta Amazônica e Mata Atlântica.

Foi observado para *P. brasiliensis* um agrupamento das amostras de solo com sequências de amostras de solo já depositadas nos bancos de dados. A detecção molecular, pela primeira vez, utilizando amostras de solo mostrou que existem áreas de sobreposição de *Coccidioides* e *Paracoccidioides* no Nordeste brasileiro (Ceará, Maranhão e Piauí) e no Tocantins.

Referências

ALMIRALL, J. et al. Risk Factors for Community-Acquired Pneumonia in Adults: A Systematic Review of Observational Studies. **Respiration; International Review of Thoracic Diseases**, v. 94, n. 3, p. 299–311, 2017.

ALVARADO, P. et al. Detection of *Coccidioides posadasii* from xerophytic environments in Venezuela reveals risk of naturally acquired coccidioidomycosis infections. **Emerging Microbes & Infections**, v. 7, p. 46, 29 mar. 2018.

ANDRADE, G. M. et al. **Relato de Caso - Paracoccidioidomicose Pulmonar com Envolvimento Cerebral**. . Em: XXXVII CONGRESSO BRASILEIRO DE PNEUMOLOGIA E TISIOLOGIA XIII CONGRESSO BRASILEIRO DE ENDOSCOPIA RESPIRATÓRIA X CONGRESSO SULAMERICANO DE BRONCOLOGIA. Gramado, RS: Sociedade Brasileira de Pneumologia e Tisiologia, out. 2014. Disponível em: <https://cdn.publisher.gn1.link/jornaldepneumologia.com.br/pdf/Cap_Suple_90_01.pdf>

ANDRADE, M. G. S. et al. Oral paracoccidioidomycosis: a case without lung manifestations. **The Journal of Contemporary Dental Practice**, v. 8, n. 5, p. 92–98, 1 jul. 2007.

ARANTES, T. D. et al. Detection of *Paracoccidioides* spp. in environmental aerosol samples. **Medical Mycology**, v. 51, n. 1, p. 83–92, jan. 2013.

ARANTES, T. D. et al. Environmental Mapping of *Paracoccidioides* spp. in Brazil Reveals New Clues into Genetic Diversity, Biogeography and Wild Host Association. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 10, n. 4, p. e0004606, de abr de 2016.

ARAÚJO, L. G. DE; ANDRADE, J. A. DE. **Apendicite Paracoccidioidomycótica em Paciente do Sexo Feminino com Deficiência de TNF-alpha**. Salvador, BA, [s.d.].

ARAÚJO, P. S. R. DE et al. Coccidioidomycosis: first cases reported in Pernambuco, Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 60, p. e75, 14 nov. 2018.

ARMSTRONG-JAMES, D.; MEINTJES, G.; BROWN, G. D. A neglected epidemic: fungal infections in HIV/AIDS. **Trends in Microbiology**, v. 22, n. 3, p. 120–127, mar. 2014.

BAGAGLI, E. et al. Phylogenetic and evolutionary aspects of *Paracoccidioides brasiliensis* reveal a long coexistence with animal hosts that explain several biological features of the pathogen. **Infection, Genetics and Evolution: Journal of Molecular Epidemiology and Evolutionary Genetics in Infectious Diseases**, v. 6, n. 5, p. 344–351, set. 2006.

BAGAGLI, E. et al. *Paracoccidioides brasiliensis*: phylogenetic and ecological aspects. **Mycopathologia**, v. 165, n. 4, p. 197–207, 1 abr. 2008.

BARKER, B. M. et al. Detection and phylogenetic analysis of *Coccidioides posadasii* in Arizona soil samples. **Fungal Ecology**, v. 5, n. 2, p. 163–176, 1 abr. 2012.

BARROZO, L. V. et al. First Description of a Cluster of Acute/Subacute Paracoccidioidomycosis Cases and Its Association with a Climatic Anomaly. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 4, n. 3, p. e643, 30 mar. 2010.

BARTLETT, J. G. Diagnostic tests for agents of community-acquired pneumonia. **Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America**, v. 52 Suppl 4, p. S296-304, maio 2011.

BITTENCOURT, A. C. L.; ANDRADE, J. A. F. DE. Paracoccidioidomycosis in a four-year-old boy. **10.1007/BF00437015**, 1986.

BITTENCOURT, A. L. et al. Aspectos incomuns da paracoccidioidomicose infantil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 20, p. 223–224, dez. 1987.

BRILHANTE, R. S. N. et al. Coccidioidal pericarditis: a rapid presumptive diagnosis by an in-house antigen confirmed by mycological and molecular methods. **Journal of Medical Microbiology**, v. 57, n. 10, p. 1288–1292, 2008.

BRILLHANTE, R. S. N. et al. Coccidioidomycosis in armadillo hunters from the state of Ceará, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 107, p. 813–815, set. 2012.

BRITO, I. P. D. RELATO DE CASO: PARACOCCIDIOIDOMICOSE JUVENIL. **Revista de Patologia do Tocantins**, v. 3, n. 3, p. 3–9, 22 set. 2016.

BROWN, G. D. et al. Hidden killers: human fungal infections. **Science Translational Medicine**, v. 4, n. 165, p. 165rv13, 19 dez. 2012.

BROWN, G. D. et al. AIDS-related mycoses: the way forward. **Trends in microbiology**, v. 22, n. 3, p. 107–109, mar. 2014.

BROWN, J. et al. Coccidioidomycosis: epidemiology. **Clinical Epidemiology**, v. 5, p. 185–197, 2013.

BUONAFINA, M. D. S. et al. **Paracoccidioidomicose em paciente com múltiplas complicações clínicas**. . Em: VIII CONGRESSO BRASILEIRO DE MICOLOGIA. Florianópolis, SC: out. 2016. Disponível em: <https://micolab.paginas.ufsc.br/files/2017/05/anais_2016_cbmy.pdf>

CAMARILLO-NARANJO, J. M. et al. The global climate monitor system: from climate data-handling to knowledge dissemination. **International Journal of Digital Earth**, v. 12, n. 4, p. 394–414, 3 abr. 2019.

CAVALCANTI, C. A. V. et al. **COCCIDIOIDOMICOSE PULMONAR EM DOIS HOMENS APÓS CAÇADA DE TATU EM SIMÕES-PI: RELATO DE CASO**. MEDTROP, 2018. Disponível em: <<http://www.adaltech.com.br/anais/medtrop2018/resumos/R3139-1.html>>

CERQUEIRA, E. M. F. P. et al. Pulmonary consolidations on high resolution computed tomography (HRCT): frequency and reversibility in chronic paracoccidioidomycosis. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 47, p. 37–40, 2005.

- CHEN, S. et al. Coccidioidomycosis: knowledge, attitudes, and practices among healthcare providers--Arizona, 2007. **Medical Mycology**, v. 49, n. 6, p. 649–656, ago. 2011.
- CLERICI, G. P.; ROSA, P. S.; COSTA, F. R. DESCRIPTION OF DIGGING BEHAVIOR IN ARMADILLOS *Dasyus novemcinctus* (XENARTHRA: DASYPODIDAE). **Mastozoología Neotropical**, v. 25, n. 2, p. 283–291, 2018.
- COLOMBO, A. L. et al. Epidemiology of endemic systemic fungal infections in Latin America. **Medical Mycology**, v. 49, n. 8, p. 785–798, nov. 2011.
- CORDOVA, L. A.; TORRES, J. Paracoccidioidomycosis. Em: **StatPearls**. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing, 2022.
- CORRÊA, R. DE A. et al. Diretrizes brasileiras para pneumonia adquirida na comunidade em adultos imunocompetentes - 2009. **Jornal Brasileiro de Pneumologia**, v. 35, p. 574–601, jun. 2009.
- CORRÊA, R. DE A. et al. 2018 recommendations for the management of community acquired pneumonia. **Jornal Brasileiro de Pneumologia**, v. 44, p. 405–423, out. 2018.
- COSTA, F. A. M. DA et al. Coccidioidomicose pulmonar em caçador de tatus. v. 27, n. 5, p. 275–278, 2001.
- DA SILVA, M. A. C. N. et al. **Paracoccidioidomicose Pulmonar com Manifestações Bucais: Relato de Caso**. . Em: XXXVII CONGRESSO BRASILEIRO DE PNEUMOLOGIA E TISIOLOGIA XIII CONGRESSO BRASILEIRO DE ENDOSCOPIA RESPIRATÓRIA X CONGRESSO SULAMERICANO DE BRONCOLOGIA. Gramado, RS: out. 2014. Disponível em: <https://cdn.publisher.gn1.link/jornaldepneumologia.com.br/pdf/Cap_Suple_90_01.pdf>
- DAVISON, J. et al. Temperature and pH define the realised niche space of arbuscular mycorrhizal fungi. **The New Phytologist**, v. 231, n. 2, p. 763–776, jul. 2021.
- DE AGUIAR CORDEIRO, R. et al. Twelve years of coccidioidomycosis in Ceará State, Northeast Brazil: epidemiologic and diagnostic aspects. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, v. 66, n. 1, p. 65–72, 1 jan. 2010.
- DE AQUINO, C. L. et al. **Paracoccidioidomicose e Microstomia**. . Em: 51º CONGRESSO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE MEDICINA TROPICAL. Fortaleza, CE: Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, 2015.
- DE LIMA-NETO, R. G. et al. Coccidioidomycosis in a Pediatric Patient. **Mycopathologia**, v. 186, n. 1, p. 137–139, 1 mar. 2021.
- DE MACEDO, P. M. et al. Neuroparacoccidioidomycosis: A 13-Year Cohort Study, Rio de Janeiro, Brazil. **Journal of Fungi**, v. 6, n. 4, p. 303, dez. 2020.
- DE MACÊDO, R. C. et al. Molecular identification of *Coccidioides* spp. in soil samples from Brazil. **BMC Microbiology**, v. 11, n. 1, p. 108, 16 maio 2011.

DE SOUSA, J.; SÁ, R.; PEREIRA, E. Consequences of late diagnosis paracoccidioidomycosis: case report. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 57, jan. 2021.

DESBIEZ, A. L. J. et al. O que sabemos sobre os tatus do Pantanal? Revisão do conhecimento sobre ecologia, biologia, morfologia, saúde, conservação, distribuição e métodos de estudo. **Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi - Ciências Naturais**, v. 17, n. 1, p. 11–69, 3 jun. 2022.

DESJARDINS, C. A. et al. Comparative genomic analysis of human fungal pathogens causing paracoccidioidomycosis. **PLoS genetics**, v. 7, n. 10, p. e1002345, out. 2011.

DEUS FILHO, A. DE. Chapter 2: coccidioidomycosis. **Jornal Brasileiro De Pneumologia: Publicacao Oficial Da Sociedade Brasileira De Pneumologia E Tisiologia**, v. 35, n. 9, p. 920–930, set. 2009.

DICKO, A. H. et al. Using species distribution models to optimize vector control in the framework of the tsetse eradication campaign in Senegal. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 111, n. 28, p. 10149–10154, 15 jul. 2014.

DONÀ, D. et al. Treatment of Community-Acquired Pneumonia: Are All Countries Treating Children in the Same Way? A Literature Review. **International Journal of Pediatrics**, v. 2017, p. 4239268, 2017.

DOS SANTOS, L. B. **Paracoccidioidomicose linfático-intestinal com ascite, uma apresentação atípica da doença**. Hospital Geral Roberto Santos - HGRS, [s.d.]. Disponível em: <<http://micologiaonline.com.br/img/concurso/posteres/08930acd47f33395b1ff2b69d11d70ce.pdf>>

DUARTE, S. R. et al. **Apresentação Atípica de Blastomicose Pulmonar**. . Em: XXX CONGRESSO BRASILEIRO DE PNEUMOLOGIA E TISIOLOGIA I CONGRESSO LUSO-BRASILEIRO DE PNEUMOLOGIA. Gramado, RS: Sociedade Brasileira de Pneumologia e Tisiologia, out. 2000. Disponível em: <<https://books.google.com.br/books?id=gTEfcVuRBqUC&pg=PA5143&lpg=PA5143>>

ELITH*, J. et al. Novel methods improve prediction of species' distributions from occurrence data. **Ecography**, v. 29, n. 2, p. 129–151, 2006.

ESCOBAR, L. E. et al. Inferring the Ecological Niche of *Toxoplasma gondii* and *Bartonella* spp. in Wild Felids. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 4, 2017.

ESCOBAR, L. E. Ecological Niche Modeling: An Introduction for Veterinarians and Epidemiologists. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 7, 2020.

ESCOBAR, L. E.; CRAFT, M. E. Advances and Limitations of Disease Biogeography Using Ecological Niche Modeling. **Frontiers in Microbiology**, v. 7, 2016.

ESCOBAR, L. E.; MORAND, S. Editorial: Disease Ecology and Biogeography. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 8, 2021.

EULÁLIO, K. D. et al. *Coccidioides immitis* isolated from armadillos (*Dasypus novemcinctus*) in the state of Piauí, northeast Brazil. **Mycopathologia**, v. 149, n. 2, p. 57–61, 2001.

FAÇANHA, M. C. et al. Paracoccidioidomycosis: description of two cases autochthonous in Ceará. **Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 14, p. 86–88, fev. 2010.

FACCIOLÀ, A. et al. The Italian Mandatory Notification System: An Important Public Health Tool For Continuous Monitoring Of Infectious Diseases. **The New Microbiologica**, v. 45, n. 2, p. 115–123, abr. 2022.

FALCI, D. R.; STADNIK, C. M. B.; PASQUALOTTO, A. C. A Review of Diagnostic Methods for Invasive Fungal Diseases: Challenges and Perspectives. **Infectious Diseases and Therapy**, v. 6, n. 2, p. 213–223, jun. 2017.

FENG, X.; PAPEŞ, M. Ecological niche modelling confirms potential north-east range expansion of the nine-banded armadillo (*Dasypus novemcinctus*) in the USA. **Journal of Biogeography**, v. 42, n. 4, p. 803–807, 2015.

FERNANDES, A. A. F. et al. **Paracoccidioidomicose infanto-juvenil: importância no diagnóstico diferencial de linfonodopatias febris na infância. Relato de caso.** . Em: 35º CONGRESSO BRASILEIRO DE PEDIATRIA. Salvador, BA: Sociedade Brasileira de Pediatria, out. 2011.

FILHO, A. DE D. **Associação de Silicose e Micoses Sistêmicas.** Jornal Brasileiro de Pneumologia, nov. 2010. Disponível em: <https://cdn.publisher.gn1.link/jornaldepneumologia.com.br/pdf/Suple_189_63_XXXV_site_.pdf>

FILHO, J. R. B. DE O. et al. **Paracoccidioidomicose em Região Não-Endêmica: Relato de Caso.** . Em: XII CONGRESSO BRASILEIRO DE ASMA VIII CONGRESSO BRASILEIRO DE DPOC E TABAGISMO XVIII CONGRESSO NORTE E NORDESTE DE PNEUMOLOGIA. Sociedade Brasileira de Pneumologia e Tisiologia, ago. 2019. Disponível em: <https://cdn.publisher.gn1.link/jornaldepneumologia.com.br/pdf/Cap_Suple_102_1.pdf>

FISHER, M. C. et al. Threats Posed by the Fungal Kingdom to Humans, Wildlife, and Agriculture. **mBio**, v. 11, n. 3, p. e00449-20, 5 maio 2020.

FONSÊCA, D. D. D. et al. **PARACOCCIDIOIDOMICOSE EM PERNAMBUCO: RELATO DE CASO.** . Em: XVIII CONGRESSO BRASILEIRO DE ESTOMATOLOGIA E PATOLOGIA ORAL. Belém, PA: Sociedade Brasileira de Estomatologia e Patologia Oral, jul. 2010. Disponível em: <http://www.estomatologia.com.br/congressos/2010/anais_resumo_trab_2010.pdf>

FRANCO, N. B. S. et al. **Paracoccidioidomicose Aguda Associada a Hipereosinofilia.** . Em: XXXVIII CONGRESSO BRASILEIRO DE PNEUMOLOGIA E TISIOLOGIA IX CONGRESSO LUSO-BRASILEIRO DE PENUMOLOGIA XIV CONGRESSO BRASILEIRO DE ENDOSCOPIA RESPIRATÓRIA. Rio de Janeiro, RJ: Jornal Brasileiro de Penumologia, out. 2016.

GAIA-FILHO, E. V.; FERRAZ, E. E. G. **Tuberculose Pulmonar Associada a Paracoccidioidomicose.** . Em: XXXI CONGRESSO BRASILEIRO DE PNEUMOLOGIA E TISIOLOGIA. São Paulo, SP: Sociedade Brasileira de Pneumologia e Tisiologia, out. 2002. Disponível em: <<https://books.google.com.br/books?id=XJ201mxYBswC&pg=PT86&lpg=PT86#v=onepage&q&f=false>>

GALGIANI, J. N. et al. 2016 Infectious Diseases Society of America (IDSA) Clinical Practice Guideline for the Treatment of Coccidioidomycosis. **Clinical Infectious Diseases**, v. 63, n. 6, p. e112–e146, 15 set. 2016.

GAMAGE, C. D. et al. Understanding leptospirosis eco-epidemiology by environmental DNA metabarcoding of irrigation water from two agro-ecological regions of Sri Lanka. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 14, n. 7, p. e0008437, 23 jul. 2020.

GNAT, S. et al. A global view on fungal infections in humans and animals: opportunistic infections and microsporidioses. **Journal of Applied Microbiology**, v. 131, n. 5, p. 2095–2113, 1 nov. 2021.

GOMES, O. M. et al. Coccidioidomicose pulmonar: primeiro caso nacional. **Rev Assoc Med Bras**, v. 24, n. 5, p. 167–8, 1978.

GONÇALVES-PEREIRA, J.; CONCEIÇÃO, C.; PÓVOA, P. Community-acquired pneumonia: identification and evaluation of nonresponders. **Therapeutic Advances in Infectious Disease**, v. 1, n. 1, p. 5–17, fev. 2013.

GORRIS, M. E. et al. Expansion of Coccidioidomycosis Endemic Regions in the United States in Response to Climate Change. **GeoHealth**, v. 3, n. 10, p. 308–327, 2019.

GUIMARÃES, M.; CAMPOS, G. S.; PESSOA, F. P. Blastomicose sul-americana pulmonar em Pernambuco: relato de um caso e discussão dos aspectos epidemiológicos e diagnósticos. **J. pneumol**, p. 149–51, 1985.

GUINDON, S. et al. New Algorithms and Methods to Estimate Maximum-Likelihood Phylogenies: Assessing the Performance of PhyML 3.0. **Systematic Biology**, v. 59, n. 3, p. 307–321, 29 mar. 2010.

GURGEL, B. C. DE V. Anais da XIV Jornada Universitária de Odontologia do Rio Grande do Norte-JUORN-2015. **Revista Ciência Plural**, v. 2, p. 1–140, 31 ago. 2016.

HALL, T. A. **BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT.** Nucleic acids symposium series. **Anais...**[London]: Information Retrieval Ltd., c1979-c2000., 1999.

HAY, R. J. Fungal infections. **Clinics in Dermatology**, v. 24, n. 3, p. 201–212, 1 maio 2006.

HERNANDEZ, P. A. et al. The effect of sample size and species characteristics on performance of different species distribution modeling methods. **Ecography**, v. 29, n. 5, p. 773–785, 2006.

HIJMANS, R. J. et al. Very high resolution interpolated climate surfaces for global land areas. **International Journal of Climatology**, v. 25, n. 15, p. 1965–1978, 2005.

HOBERG, E. P.; BROOKS, D. R. Evolution in action: climate change, biodiversity dynamics and emerging infectious disease. **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 370, n. 1665, p. 20130553, 5 abr. 2015.

HOLANDA ARAÚJO, D.; COSTA FILHO, J. D.; LEAL, G. M. E. **Paracoccidioidomicose: Relato de Caso**. . Em: XXXIII CONGRESSO BRASILEIRO DE PNEUMOLOGIA E TISIOLOGIA 2006. Sociedade Brasileira de Pneumologia e Tisiologia, 2006. Disponível em: <https://cdn.publisher.gn1.link/jornaldepneumologia.com.br/pdf/Suple_77_22_CONGRESSO.pdf>

HRYCYK, M. F. et al. Ecology of *Paracoccidioides brasiliensis*, *P. lutzii* and related species: infection in armadillos, soil occurrence and mycological aspects. **Medical Mycology**, v. 56, n. 8, p. 950–962, 1 nov. 2018.

IVNA M. PASSOS et al. **Paracoccidioidomicose: Relato de Caso Autócrone em Área Serrana Litorânea do Ceará**. . Em: XLVI CONGRESSO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE MEDICINA TROPICAL. Foz do Iguaçu, PR: Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, 2010. Disponível em: <<https://sbmt.org.br/portal/wp-content/uploads/2015/07/Os-resumos-do-MEDTROP-2010.pdf>>

JIMÉNEZ-RODRÍGUEZ, M. G. et al. Biosensors for the detection of disease outbreaks through wastewater-based epidemiology. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 155, p. 116585, out. 2022.

KAINZ, K. et al. Fungal infections in humans: the silent crisis. **Microbial Cell**, v. 7, n. 6, p. 143–145, 1 jun. 2020.

KELLERMANN, V. et al. Upper thermal limits of *Drosophila* are linked to species distributions and strongly constrained phylogenetically. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 109, n. 40, p. 16228–16233, 2 out. 2012.

KOHLMEIER, J. E.; WOODLAND, D. L. Immunity to respiratory viruses. **Annual Review of Immunology**, v. 27, p. 61–82, 2009.

KOLLATH, D. R.; MIHALJEVIC, J. R.; BARKER, B. M. PM10 and Other Climatic Variables Are Important Predictors of Seasonal Variability of Coccidioidomycosis in Arizona. **Microbiology Spectrum**, v. 10, n. 2, p. e0148321, 27 abr. 2022.

KOZEL, T. R.; WICKES, B. Fungal diagnostics. **Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine**, v. 4, n. 4, p. a019299, 1 abr. 2014.

KUHL, I. A. et al. **Coccidioidomycosis Laríngea: Relato de Caso**. ABORL CCF, jan. 1996. Disponível em: <<http://oldfiles.bjorl.org/conteudo/acervo/acervo.asp?id=2159>>

LAFONTAINE, D. L.; TOLLERVEY, D. The function and synthesis of ribosomes. **Nature Reviews. Molecular Cell Biology**, v. 2, n. 7, p. 514–520, jul. 2001.

LEWIS, E. R. G.; BOWERS, J. R.; BARKER, B. M. Dust Devil: The Life and Times of the Fungus That Causes Valley Fever. **PLOS Pathogens**, v. 11, n. 5, p. e1004762, de mai de 2015.

LIMPER, A. H. et al. Fungal infections in HIV/AIDS. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 17, n. 11, p. e334–e343, 1 nov. 2017.

LIONAKIS, M. S.; ILIEV, I. D.; HOHL, T. M. Immunity against fungi. **JCI Insight**, v. 2, n. 11, 2 jun. 2017.

LOPES, T. P. et al. **Paracoccidioidomicose no Diagnóstico Diferencial de Tuberculose Ganglionar: Relato de Caso.** . Em: XXXVIII CONGRESSO BRASILEIRO DE PNEUMOLOGIA E TISIOLOGIA IX CONGRESSO LUSO-BRASILEIRO DE PNEUMOLOGIA XIV CONGRESSO BRASILEIRO DE ENDOSCOPIA RESPIRATÓRIA. Rio de Janeiro, RJ: Sociedade Brasileira de Pneumologia e Tisiologia, out. 2016. Disponível em: <https://cdn.publisher.gn1.link/jornaldepneumologia.com.br/pdf/jbp_resumos_2016.pdf>

LOPES, W. DA S. et al. **Paracoccidioidomicose com diagnóstico clínico por acometimento laríngeo: Relato de caso.** . Em: 19º CONGRESSO BRASILEIRO DE OTORRINOLARINGOLOGIA E CIRURGIA CÉRVICO-FACIAL. Brasília, DF: ABORL CCF, 2019.

MACÊDO, D. P. C. et al. An unusual case of paracoccidioidomycosis in Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 38, n. 1, p. 84–85, mar. 2007.

MAGALHAES, O. et al. Pulmonary paracoccidioidomycosis in the pneumology unit of General Hospital in Recife (Brasil). I. **Boletín Micológico**, v. 10, p. 63–66, 1 jan. 1995.

MALO, J. et al. Enhanced Antibody Detection and Diagnosis of Coccidioidomycosis with the MiraVista IgG and IgM Detection Enzyme Immunoassay. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 55, n. 3, p. 893–901, mar. 2017.

MANDELL, L. A. et al. Infectious Diseases Society of America/American Thoracic Society Consensus Guidelines on the Management of Community-Acquired Pneumonia in Adults. **Clinical Infectious Diseases**, v. 44, n. Supplement_2, p. S27–S72, 1 mar. 2007.

MAPURUNGA, A. C. P. et al. **Micoses profundas no Ceará - Estudo dos casos diagnosticados no Hospital das Clínicas da Universidade Federal do Ceará (1983 a 1988).** Sociedade Brasileira de Dermatologia, 1990. Disponível em: <<http://www.anaisdedermatologia.com.br/detalhe-artigo/769/Micoses-profundas-no-Ceara---Estudo-dos-casos-diagnosticados-no-Hospital-das-Clinicas-da-Universidade-Federal-do-Ceara--1983-a-1988->>>. Acesso em: 17 maio. 2023

MARQUES, L. M. et al. **Infecção fúngica invasiva de cavidade oronasal em paciente imunocompetente.** . Em: 48º CONGRESSO BRASILEIRO DE OTORRINOLARINGOLOGIA E CIRURGIA CÉRVICO-FACIAL. João Pessoa, PB: ABORL CCF, 2018. Disponível em: <<https://aborlccf.org.br/wp-content/uploads/2022/11/anais-do-congresso-CBO-2018-v4.pdf>>

- MARTIN, K. J.; RYGIIEWICZ, P. T. Fungal-specific PCR primers developed for analysis of the ITS region of environmental DNA extracts. **BMC Microbiology**, v. 5, n. 1, p. 28, 18 maio 2005.
- MARTINEZ, R. EPIDEMIOLOGY OF PARACOCIDIOIDOMYCOSIS. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 57, p. 11–20, set. 2015.
- MARTINEZ, R. New Trends in Paracoccidioidomycosis Epidemiology. **Journal of Fungi**, v. 3, n. 1, p. 1, 3 jan. 2017.
- MARTINS, A. M. DE S. et al. **Investigação Epidemiológica Inédita de Coccidioidomicose no Sertão Pernambucano**. . Em: MEDTROP. 2018. Disponível em: <<http://www.adaltech.com.br/anais/medtrop2018/resumos/R2510-5.html>>
- MARTINS, M. DOS A. et al. Coccidioidomycosis in Brazil. A case report. **Revista Do Instituto De Medicina Tropical De Sao Paulo**, v. 39, n. 5, p. 299–304, 1997.
- MATOS, W. B. DE. A geografia da paracoccidioidomicose no estado do Maranhão Brasil. 2009.
- MCTAGGART, L. R. et al. Mycobiome Sequencing and Analysis Applied to Fungal Community Profiling of the Lower Respiratory Tract During Fungal Pathogenesis. **Frontiers in Microbiology**, v. 10, p. 512, 15 mar. 2019.
- MELO, R. M. et al. **Óbito por Coccidioidomicose: Relato de caso de óbito no Estado do Ceará, Brasil**. . Em: MEDTROP. 2016. Disponível em: <<http://www.sbmt.org.br/medtrop2016/wp-content/uploads/2016/12/9498-0%CC%81bito-por-Coccidioidomicose....pdf>>
- MESQUITA, C. L. et al. **Paracoccidioidomicose com comprometimento do sistema nervoso central**. . Em: XXXIII CONGRESSO BRASILEIRO DE PNEUMOLOGIA E TISIOLOGIA 2006. Sociedade Brasileiro de Pneumologia e Tisiologia, 2006.
- MINH, B. Q.; NGUYEN, M. A. T.; VON HAESLER, A. Ultrafast Approximation for Phylogenetic Bootstrap. **Molecular Biology and Evolution**, v. 30, n. 5, p. 1188–1195, 1 maio 2013.
- MIRSAEIDI, M. et al. Climate Change and Respiratory Infections. **Annals of the American Thoracic Society**, v. 13, n. 8, p. 1223–1230, ago. 2016.
- MORAES, M. A. P. et al. Coccidioidomicose: novo caso brasileiro. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 31, p. 559–562, dez. 1998.
- MOTA, M. A. DE L. et al. An autochthonous case of paracoccidioidomycosis in a new area of Ceara State, Northeastern Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 61, p. e58, 10 out. 2019.
- MUÑOZ, J. F. et al. Genome analysis reveals evolutionary mechanisms of adaptation in systemic dimorphic fungi. **Scientific Reports**, v. 8, n. 1, p. 4473, 14 mar. 2018.
- NASCIMENTO, D. T. F.; NOVAIS, G. T. Clima do Cerrado: dinâmica atmosférica e características, variabilidades e tipologias climáticas. **Eliséé**, v. 9, n. 2, p. e922021, 2020.

NETO, M. M. DA S. et al. **PARACOCCIDIOIDES BRASILIENSIS EM LESÃO DE OMBRO ESQUERDO E LINFONODO CERVICAL**. . Em: 25º CONGRESSO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA. Porto de Galinhas, PE: nov. 2009. Disponível em: <<https://www.sbmicrobiologia.org.br/25cbm-anais/resumos/R2287-1.html>>

NETTO, A. G. S. **Paracoccidioidomicose oral diagnosticada por dentistas: Relato de Caso**. . Poster apresentado em 54 Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. Olinda, PE, set. 2018. Disponível em: <<http://www.adaltech.com.br/anais/medtrop2018/resumos/PDF-eposter-trab-aceito-0103-2.pdf>>

NGUYEN, L.-T. et al. IQ-TREE: a fast and effective stochastic algorithm for estimating maximum-likelihood phylogenies. **Molecular Biology and Evolution**, v. 32, n. 1, p. 268–274, jan. 2015.

NILSSON, R. H. et al. The ITS region as a target for characterization of fungal communities using emerging sequencing technologies. **FEMS Microbiology Letters**, v. 296, n. 1, p. 97–101, 1 jul. 2009.

OLIVEIRA, C. R. R. D. et al. Oral Paracoccidioidomycosis: A Clinical Case Report of an Endemic Area. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology and Oral Radiology**, v. 126, n. 3, p. e91–e92, 1 set. 2018.

One Health: Fungal Pathogens of Humans, Animals, and Plants: Report on an American Academy of Microbiology Colloquium held in Washington, DC, on October 18, 2017. Washington (DC): American Society for Microbiology, 2019.

PARISH, J. M.; BLAIR, J. E. Coccidioidomycosis. **Mayo Clinic Proceedings**, v. 83, n. 3, p. 343–349, 1 mar. 2008.

PATHAKUMARI, B.; LIANG, G.; LIU, W. Immune defence to invasive fungal infections: A comprehensive review. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 130, p. 110550, 1 out. 2020.

PEÇANHA, P. M. et al. Paracoccidioidomycosis: What We Know and What Is New in Epidemiology, Diagnosis, and Treatment. **Journal of Fungi**, v. 8, n. 10, p. 1098, 18 out. 2022.

PEÇANHA-PIETROBOM, P. M. et al. Diagnosis and Treatment of Pulmonary Coccidioidomycosis and Paracoccidioidomycosis. **Journal of Fungi**, v. 9, n. 2, p. 218, 7 fev. 2023.

PEDREIA, A. L. S. et al. **Relato de Caso: Paracoccidioidomicose juvenil**. . Em: 35º CONGRESSO BRASILEIRO DE PEDIATRIA. Salvador, BA: Sociedade Brasileira de Pediatria, out. 2011.

PEREIRA MACEDO, M. et al. PARACOCCIDIOIDOMICOSE NA CAVIDADE BUCAL - RELATO DE CASO. **Odontologia Clínica-Científica (Online)**, v. 15, n. 1, p. 1–4, mar. 2016.

PEREIRA, R. C. et al. **Paracoccidioidomicose: Acometimento Orofacial - Relato de um Caso.** . Em: 40º CONGRESSO BRASILEIRO DE OTORRINOLARINGOLOGIA E CIRURGIA CÉRVICO-FACIAL. Natal, RN: nov. 2010.

PEREIRA, V. H. S. et al. **PARACOCCIDIOIDOMICOSE TIPO JUVENIL NA GESTAÇÃO: UM RELATO DE CASO.** . Em: MEDTROP 2018. 2018. Disponível em: <<http://www.adaltech.com.br/anais/medtrop2018/resumos/R0460-2.html>>

PLATT, S. G.; RAINWATER, T. R.; BREWER, S. W. Aspects of the burrowing ecology of nine-banded armadillos in northern Belize. **Mammalian Biology**, v. 69, n. 4, p. 217–224, 1 abr. 2004.

PRAXEDES, M. DE A. V. **Paracoccidioidomicose oral em associação ao tabagismo: contraponto entre fator de risco e possível potencializador patológico através da apresentação de casos clínicos do Hospital Universitário Professor Alberto Antunes - UFAL.** . Em: 54º CONGRESSO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE MEDICINA TROPICAL. Olinda, PE, set. 2018. Disponível em: <<http://www.adaltech.com.br/anais/medtrop2018/resumos/PDF-eposter-trab-aceito-0846-2.pdf>>

PRINA, E.; RANZANI, O. T.; TORRES, A. Community-acquired pneumonia. **Lancet (London, England)**, v. 386, n. 9998, p. 1097–1108, 12 set. 2015.

PROCÓPIO, A. L. F. et al. **Paracoccidioidomicose: Uma infecção que o cirurgião dentista deve conhecer.** . Em: 43ª CONGRESSO BRASILEIRO DE ESTOMATOLOGIA E PATOLOGIA GERAL. Vitória, RS: Sociedade Brasileira de Estomatologia - SOBE, jul. 2017.

QUEIROZ-TELLES, F. et al. Neglected endemic mycoses. **The Lancet. Infectious Diseases**, v. 17, n. 11, p. e367–e377, nov. 2017.

QUINER, C. A.; NAKAZAWA, Y. Ecological niche modeling to determine potential niche of Vaccinia virus: a case only study. **International Journal of Health Geographics**, v. 16, n. 1, p. 28, 7 ago. 2017.

RAMIREZ, J. A. et al. Treatment of Community-Acquired Pneumonia in Immunocompromised Adults: A Consensus Statement Regarding Initial Strategies. **Chest**, v. 158, n. 5, p. 1896–1911, 1 nov. 2020.

RESTREPO, A. et al. Clues to the presence of pathogenic fungi in certain environments. **Medical Mycology**, v. 38 Suppl 1, p. 67–77, 2000.

ROCHA, G. J. N. M. et al. Paracoccidioidomicose palpebral: relato de três casos. **Arquivos Brasileiros de Oftalmologia**, v. 65, p. 575–578, set. 2002.

SANO, E. E. et al. Características gerais da paisagem do Cerrado. 2020.

SANTOS, W. B. DOS et al. O DIAGNÓSTICO DESAFIADOR DE PARACOCCIDIOIDOMICOSE: Relato de caso. **Revista da AcBO - ISSN 2316-7262**, v. 8, n. 3, 22 jul. 2019.

SANTOS, P. P. DE A. et al. **PARACOCCIDIOIDOMICOSE ORAL RECORRENTE SEM ENVOLVIMENTO PULMONAR.** . Em: 17º CONGRESSO BRASILEIRO DE ESTOMATOLOGIA. jul. 2009. Disponível em: <http://www.estomatologia.com.br/17_congresso.pdf>

SAUBOLLE, M. A.; MCKELLAR, P. P.; SUSSLAND, D. Epidemiologic, Clinical, and Diagnostic Aspects of Coccidioidomycosis. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 45, n. 1, p. 26–30, jan. 2007.

SCHLOERKE, B. et al. **GGally: Extension to “ggplot2”**. , 21 jun. 2021. Disponível em: <<https://CRAN.R-project.org/package=GGally>>. Acesso em: 23 mar. 2023

SCUARCIALUPI, M. E. A.; SÁ, A. R. D.; SILVA, H. L. A. **Paracoccidioidomicose em usuário de cannabis.** . Em: XXXIX CONGRESSO BRASILEIRO DE PNEUMOLOGIA E TISIOLOGIA XV CONGRESSO BRASILEIRO DE ENDOSCOPIA RESPIRATÓRIA. Goiânia, GO: jul. 2018. Disponível em: <https://cdn.publisher.gn1.link/jornaldepneumologia.com.br/pdf/jbp_resumos_2018.pdf>

SENGUPTA, M. E. et al. Environmental DNA for improved detection and environmental surveillance of schistosomiasis. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 116, n. 18, p. 8931–8940, 30 abr. 2019.

SHARPTON, T. J. et al. Comparative genomic analyses of the human fungal pathogens Coccidioides and their relatives. **Genome Research**, v. 19, n. 10, p. 1722–1731, out. 2009.

SHIKANAI-YASUDA, M. A. et al. Brazilian guidelines for the clinical management of paracoccidioidomycosis. **Revista Da Sociedade Brasileira De Medicina Tropical**, v. 50, n. 5, p. 715–740, 2017.

SIFUENTES-OSORNIO, J.; CORZO-LEÓN, D. E.; PONCE-DE-LEÓN, L. A. Epidemiology of Invasive Fungal Infections in Latin America. **Current Fungal Infection Reports**, v. 6, n. 1, p. 23–34, 2012.

SIL, A.; ANDRIANOPOULOS, A. Thermally Dimorphic Human Fungal Pathogens—Polyphyletic Pathogens with a Convergent Pathogenicity Trait. **Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine**, v. 5, n. 8, p. a019794, ago. 2015.

SILVA, A. R. DA et al. DOENÇA DE JORGE LOBO: primeiro caso diagnosticado no Estado do Maranhão. **Cadernos de Pesquisa**, p. 64–67, 18 out. 2013.

SILVA, L. C. L. DA et al. Coccidioidomicose pulmonar aguda: primeiro surto epidêmico descrito no Ceará - segundo no Brasil. **J. bras. med.**, p. 49–50, 53, 56, passim, 1997.

SILVA, K. C. B. L. E. et al. Oral Paracoccidioidomycosis: Report of Two Cases. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology and Oral Radiology**, v. 117, n. 2, p. e180–e181, 1 fev. 2014.

SIMONSEN, L. et al. Infectious Disease Surveillance in the Big Data Era: Towards Faster and Locally Relevant Systems. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 214, n. suppl_4, p. S380–S385, 1 dez. 2016.

SOUZA, R.-A. L. et al. Oral paracoccidioidomycosis in a non-endemic region from Brazil: A short case series. **Journal of Clinical and Experimental Dentistry**, v. 11, n. 10, p. e865–e870, out. 2019.

TAVARES, B. DE M. **Paracoccidioidomicose no Ceará: relato de caso autóctone, raro mas necessário conhecer | Galoá Proceedings**. . Em: 53º MEDTROP. Cuiabá, MT: ago. 2017. Disponível em: <<https://proceedings.science/medtrop/trabalhos/paracoccidioidomicose-no-ceara-relato-de-caso-autoctone-raro-mas-necessario-conh>>. Acesso em: 17 maio. 2023

TAYLOR, J. W.; BARKER, B. M. The endozoan, small-mammal reservoir hypothesis and the life cycle of *Coccidioides* species. **Medical Mycology**, v. 57, n. Suppl 1, p. S16–S20, fev. 2019.

TEIXEIRA, M. DE M. et al. *Paracoccidioides lutzii* sp. nov.: biological and clinical implications. **Medical Mycology**, v. 52, n. 1, p. 19–28, jan. 2014.

TEIXEIRA, M. M. et al. Phylogenetic analysis reveals a high level of speciation in the *Paracoccidioides* genus. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 52, n. 2, p. 273–283, 1 ago. 2009.

TEIXEIRA, M. M.; BARKER, B. M. Use of Population Genetics to Assess the Ecology, Evolution, and Population Structure of *Coccidioides*. **Emerging Infectious Diseases**, v. 22, n. 6, p. 1022, jun. 2016.

THOMPSON, J. D.; HIGGINS, D. G.; GIBSON, T. J. CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. **Nucleic Acids Research**, v. 22, n. 22, p. 4673–4680, 11 nov. 1994.

TOGASHI, R. H. et al. Coccidioidomicose pulmonar e extrapulmonar: três casos em zona endêmica no interior do Ceará. v. 35, n. 3, p. 275–279, 2009.

TURISSINI, D. A. et al. Species boundaries in the human pathogen *Paracoccidioides*. **Fungal Genetics and Biology**, v. 106, p. 9–25, 1 set. 2017.

VALDIVIA, L. et al. Coccidioidomycosis as a common cause of community-acquired pneumonia. **Emerging Infectious Diseases**, v. 12, n. 6, p. 958–962, jun. 2006.

VAN DYKE, M. C. C. et al. The Rise of *Coccidioides*: Forces Against the Dust Devil Unleashed. **Frontiers in Immunology**, v. 10, p. 2188, 11 set. 2019.

VERAS, K. N. Paracoccidioidomicose. Estudo epidemiológico e clínico de pacientes internados no Hospital de Doenças Infecto-Contagiosas (HDIC) em Teresina, Piauí. Identificação de reserváreas nos Estados do Pará e Maranhão. **Identificação de reserváreas nos Estados do Pará e Maranhão**, 1995.

VERGARA, M. L.; MARTINEZ, R. Role of the armadillo *Dasypos novemcinctus* in the epidemiology of paracoccidioidomycosis. **Mycopathologia**, v. 144, n. 3, p. 131–133, 1999 1998.

VIEIRA, T. DA S.; REIS, T. M. G.; MEIRA, S. S. Diagnóstico diferencial de paracoccidioidomicose e leishmaniose tegumentar cutânea: relato de caso. **Revista Saúde.com**, v. 12, n. 3, p. 675–678, 2016.

VILELA, R. et al. The taxonomy of two uncultivated fungal mammalian pathogens is revealed through phylogeny and population genetic analyses. **Scientific Reports**, v. 11, n. 1, p. 18119, 13 set. 2021.

WANKE, B. et al. Investigation of an outbreak of endemic coccidioidomycosis in Brazil's northeastern state of Piauí with a review of the occurrence and distribution of *Coccidioides immitis* in three other Brazilian states. **Mycopathologia**, v. 148, n. 2, p. 57–67, nov. 1999.

WEAVER, E. et al. Environmental factors affecting ecological niche of *Coccidioides* species and spatial dynamics of valley fever in the United States. **Spatial and Spatio-Temporal Epidemiology**, v. 32, p. 100317, fev. 2020.

WEAVER, E. A.; KOLIVRAS, K. N. Investigating the Relationship Between Climate and Valley Fever (*Coccidioidomycosis*). **EcoHealth**, v. 15, n. 4, p. 840–852, 1 dez. 2018.

WHISTON, E.; TAYLOR, J. W. Comparative Phylogenomics of Pathogenic and Nonpathogenic Species. **G3 Genes|Genomes|Genetics**, v. 6, n. 2, p. 235–244, 1 fev. 2016.

WHO fungal priority pathogens list to guide research, development and public health action. [s.l.] World Health Organization (WHO), 2022.

ZIMMERMANN, N. E. et al. Climatic extremes improve predictions of spatial patterns of tree species. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 106, n. supplement_2, p. 19723–19728, 17 nov. 2009.