

Histoplasmose: um risco ocupacional entre pesquisadores que realizam trabalho de campo?

Is the histoplasmosis an occupational hazard between the investigators who perform field work?

RIALA6/1532

Adriana Pardini VICENTINI¹, Angela Noronha PASSOS¹, Décio Fragata da SILVA^{1,2}, Lúcia Cupertino BARRETO¹, Cezar Mendes de ASSIS³, Roseli Santos de FREITAS⁴

*Endereço para correspondência: ¹Laboratório de Imunodiagnóstico das Micoses, Centro de Imunologia, Instituto Adolfo Lutz, Av. Dr. Arnaldo, 355 11º andar, São Paulo, SP, Brasil. Tel.: (11) 3068-2900, Fax: (11) 3068-2898. E-mail: apardini@ial.sp.gov.br, drcavicentini@gmail.com

²Universidade Tiradentes, Campus Farolândia, Aracajú, SE, Brasil

³Centro de Parasitologia e Micologia, Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, SP, Brasil

⁴Laboratório de Micologia Médica, LIM 53, Instituto de Medicina Tropical de São Paulo, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil

Recebido: 24.07.2012 - Aceito para publicação: 19.10.2012

RESUMO

A histoplasmose é micose sistêmica causada por *Histoplasma capsulatum*. A infecção humana ocorre pela inalação de microconídios encontrados em solo contendo excretas de aves e/ou morcegos. Neste estudo foi enfatizado o potencial das atividades profissionais praticadas em cavernas em possibilitar risco de infecção por *Histoplasma*. Utilizando-se questionário semiestruturado, foram obtidas informações sobre o trabalho de campo executado por um grupo de 15 biólogos. A presença de anticorpos séricos anti-*H. capsulatum* foi avaliada em amostras de sangue coletadas desses profissionais. Na entrevista, 87% dos indivíduos relataram frequentes visitas a cavernas, 53% acampamento no interior das grutas; 33% captura de morcegos e 53% de coleta de amostras de solo. A maioria das cavernas situa-se nas regiões sudeste e centro-oeste do Brasil. A detecção de anticorpos por imunodifusão dupla demonstrou que 20% dos soros reagiram com o antígeno de *H. capsulatum*. Por *immunoblotting*, houve 94,1% de reconhecimento específico da fração de 94 kDa, sugerindo-se que os indivíduos entraram em contato com *H. capsulatum*. Este estudo sugere fortemente que a prática da espeleologia propicia a exposição dos indivíduos a espécies fúngicas que habitam saporiticamente o meio ambiente, especialmente *H. capsulatum*, configurando-se como potencial fator de risco para infecções.

Palavras-chaves. *Histoplasma*, histoplasmose, epidemiologia, exposição ambiental, testes imunológicos.

ABSTRACT

Histoplasmosis is a systemic mycosis caused by *Histoplasma capsulatum*. Human infection occurs by inhaling the microconidia found in soil contaminated with birds and/or bats excrements. In this study, the potential risk of infection with *Histoplasma* from practicing professional activities in caves was emphasized. Information on the fieldwork conducted by a group of 15 biologists were obtained through a semi-structured questionnaire; and the presence of antibodies anti-*H. capsulatum* was evaluated in their serum samples. The data analysis showed that 87% of subjects reported the frequent cave exploration, 53% camping inside the caves, 33% bats capturing activities, and 53% soil samples collection. The majority of the caves are located in the Southeast and Midwest regions of Brazil. By using double immunodiffusion assay, 20% of sera reacted with *H. capsulatum* antigen. By immunoblotting, it was found 94.1% of specific recognition of 94 kDa fraction, suggesting that the individuals had contact with the fungus. This study strongly suggests that the individuals practicing speleology were prone to fungal species exposure, which inhabit the environment as saprophytes, especially *H. capsulatum*, and it might characterize a potential risk factor for infections.

Keywords. *Histoplasma*, histoplasmosis, epidemiology, environmental exposure, immunologic tests.

INTRODUÇÃO

A histoplasmose (HP) é micose sistêmica causada pelo fungo termodimórfico *Histoplasma capsulatum*. Enfermidade de ocorrência mundial, tem apresentado elevada incidência nas regiões centrais e sudeste da América do Norte, bem como em certas áreas das Américas Central e do Sul¹. No Brasil, casos esporádicos da doença e/ou infecção têm sido relatados em todas as regiões, especialmente nos estados de São Paulo, Rio de Janeiro, Minas Gerais, Mato Grosso, Rio Grande do Sul e, recentemente, Ceará^{1,2}.

A infecção humana ocorre pela inalação de microconídios encontrados no solo de cavernas, grutas, celeiros, galinheiros e florestas contaminados com excrementos de aves e/ou morcegos que contenham elevado teor de nitrogênio³. O risco de infecção está intimamente relacionado ao tipo de atividade desenvolvida pelo indivíduo, ao tempo e à frequência da exposição ao ambiente potencialmente contaminado com partículas infectantes, a carga fúngica, a virulência de *H. capsulatum*, bem como ao estado imunológico e perfil genético do indivíduo³. Postula-se que períodos de exposição longos e mais frequentes possam acarretar doença pulmonar de maior gravidade⁴. Atividades como construção, reforma, demolição, espeleologia, turismo ecológico, acampamento e atividades ligadas à agricultura e avicultura podem favorecer a exposição dos indivíduos a esse fungo³.

Acredita-se que a infecção primária por *H. capsulatum* seja assintomática em 90-95% dos casos, sendo possível a detecção de anticorpos espécie-específicos em 50 a 80% da população de áreas endêmicas, durante investigação epidemiológica¹. As manifestações clínicas da HP incluem desde a forma subclínica ou inaparente, pulmonar aguda, pulmonar crônica até infecção extrapulmonar disseminada^{3,4}. Tradicionalmente, *H. capsulatum* tem sido descrito como causador de doença disseminada em indivíduos imunocomprometidos e enfermidade respiratória em indivíduos hígidos que possuem como atividade profissional, ou *hobby*, o hábito de visitar cavernas, grutas e matas fechadas^{1-3,5}. No presente estudo, procurou-se descrever como atividades profissionais praticadas em cavernas podem representar risco de infecção por *H. capsulatum*. Dessa forma, informações relacionadas ao comportamento de um grupo composto por 15 biólogos durante o trabalho de pesquisa de campo foram obtidas por meio da

avaliação de questionário semiestruturado, e o contato com o agente etiológico da histoplasmose foi avaliado sorologicamente, por meio da pesquisa de anticorpos séricos anti-*H. capsulatum*.

MATERIAL E MÉTODOS

População de Estudo e Questionário

Foi aplicado questionário semiestruturado, para coleta de dados por meio de entrevistas, em quinze biólogos que atuam na área de zoologia e que realizam coletas de amostras de animais, plantas, rochas e solo em cavernas, situadas em diferentes regiões do Brasil, para o desenvolvimento de suas atividades de pesquisa. Na elaboração do questionário, condução das entrevistas e análise dos dados, o tema abordado foi dividido, didaticamente, em três grupos: 1) questões relacionadas ao planejamento da coleta de informações; 2) questões sobre variáveis que afetam os dados de coleta e futura análise; e 3) questões que se referem ao tratamento e análise de informações advindas de entrevistas⁶.

O questionário foi elaborado de maneira que contemplasse informações relacionadas à identificação do indivíduo (sexo, idade, origem étnica), características do local de residência (muito ou pouco arborizado, presença ou ausência de aves e/ou outros animais domésticos e/ou silvestres), atividades de lazer (visitas a lugares como parques, fazendas e chácaras; práticas com terra, não relacionadas às atividades profissionais), características das cavernas visitadas (localização, presença ou ausência de aves e/ou outros animais silvestres, bem como de coleções hídricas) e atividades e comportamento dos indivíduos no interior das cavernas (realizar ou não coleta, executar ou não escavações, tipo de material coletado, tempo de permanência no interior das mesmas, uso ou não de equipamentos de proteção individual – EPI, entre outros).

Ética

Os questionários foram submetidos após a obtenção do Consentimento Livre e Esclarecido, sendo a execução do referido estudo aprovada pelo Comitê de Ética do Instituto Adolfo Lutz (Projeto CTC-IAL#06/04), Comissão de Ética para Análise de Pesquisa do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (Projeto#983/03) e Comitê de Ética em Pesquisa do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo (Projeto#10/03).

Soros

Dez mililitros de sangue total foram coletados por punção venosa para análise da presença ou ausência de anticorpos circulantes anti-*H. capsulatum*.

Antígeno de *Histoplasma capsulatum*

A obtenção do antígeno bruto de *H. capsulatum* foi realizada segundo metodologia proposta por Kaufman e Standard⁷, com algumas modificações.

Células micelianas da amostra 200 de *H. capsulatum*, mantidas em ágar batata a 27 °C, foram primeiramente adaptadas em ágar Sabouraud-dextrose, com repiques mensais, mantendo-se essa mesma temperatura durante quatro repiques. Após o período de adaptação, realizou-se a expansão das culturas fúngicas em ágar Sabouraud-dextrose, por 33 dias, à temperatura ambiente (25 a 27 °C). Após essa etapa, as culturas foram cobertas com solução de borato-thimerosal a 1:5.000 e deixadas em repouso por 24 h à temperatura ambiente. Em seguida, os sobrenadantes foram coletados, filtrados em papel Whatman® número 03 (Whatman, Brentford, Reino Unido), alíquotados (2,0 mL por frasco), liofilizados e armazenados a -20 °C até o momento do uso. Para a realização das técnicas de imunodifusão dupla e *immunoblotting*, o antígeno liofilizado foi reconstituído em água Milli-Q, obtendo-se antígeno 20 e 10 vezes concentrado, respectivamente.

Ensaio Sorológicos

A pesquisa de anticorpos séricos circulantes anti-*H. capsulatum* foi realizada empregando-se duas metodologias distintas: o ensaio de imunodifusão dupla (ID) em gel de agarose, desenvolvido segundo metodologia proposta por Ouchterlony⁸, e a reação de *immunoblotting* (IB), segundo protocolo proposto por Towbin et al.⁹.

RESULTADOS

O grupo estudado foi composto por 53% de biólogos do sexo feminino e 47% do masculino, com faixa etária entre 21 a 46 anos (47% com idade entre 21-30 anos; 40% entre 31-40 anos e 13% acima de 40).

No intuito de avaliar o contato prévio desses indivíduos com propágulos de *H. capsulatum*, questionou-se sobre a existência ou não de aves próximas ao domicílio dos entrevistados, verificando-se que 80% relataram a presença de pássaros nas ruas em

que residiam, devido ao alto índice de arborização das mesmas. Além disso, 67% dos entrevistados relataram manter contato frequente com animais domésticos e/ou silvestres, sendo que 53% relataram o contato com cães, 27% com gatos e 33% com algum tipo de ave. Ao avaliar as atividades de lazer dos indivíduos observou-se que 33% praticavam jardinagem, 40% relataram o hábito de visitar fazendas, 53% chácaras, 60% sítios, 73% parques e 27% zoológicos.

Ao analisar especificamente as atividades desenvolvidas pelos biólogos durante a prática da “espeleologia”, verificou-se que 87% relataram exercer essa atividade com frequência; entretanto, dois indivíduos afirmaram não entrar em nenhuma caverna há mais de um ano. Observou-se que 73% do grupo referiu o hábito de visitar cavernas “virgens” e, ao avaliar o número de vezes que esses indivíduos entraram no interior das mesmas, constatou-se variação entre cinco a mais de 200 vezes, estando essa frequência intimamente relacionada ao tipo de atividade desenvolvida pelos mesmos. Em relação ao tempo de permanência no interior das cavernas, notou-se também grande variabilidade, desde poucas horas (1 a 2 h) até dias. Nesse sentido, oito indivíduos (53%) relataram ter acampado no interior das cavernas em algum momento de suas atividades de pesquisa e a mesma porcentagem cita ter ingerido água diretamente das minas que nascem no interior das grutas.

Sobre a existência de animais no interior das cavernas, foi questionado sobre a presença ou não destes e, ainda, se foi realizada captura como parte das atividades de pesquisa. Verificou-se que 80% dos entrevistados relataram encontrar, com frequência, morcegos e excretas de animais no interior das cavernas (Tabela 1). Além disso, 53% do grupo avaliado demonstrou o hábito de coletar amostras de solo, 20% de pedras e 27% de plantas durante as expedições.

Tabela 1. Atividades desenvolvidas pelo grupo de biólogos durante as visitas a cavernas

Hábito	Observar		Coletar		
	Presença	n	%	n	%
Aracnídeos		3	20,0	3	20,0
Outros artrópodes		2	13,3	2	13,3
Pássaros		1	6,7	5	33,3
Marsupiais		2	13,3	1	6,7
Morcegos		12	80,0	5	33,3
Outros mamíferos		1	6,7	1	6,7
Excreta de animais		12	80,0	8	53,3

Quanto à localização geográfica das cavernas visitadas, a análise dos questionários revelou que 27% encontravam-se na região sul, 67% na região sudeste, 47% na região centro-oeste, 7% na região nordeste e 7% na região norte. Entre as cavernas mais visitadas, verificou-se que 60% das visitas realizadas aconteceram em cavernas localizadas no Parque Estadual Turístico do Vale do Ribeira, conhecido como Cavernas Petar (SP), 47% nas cavernas do Parque Estadual Intervalas (SP), 33% nas cavernas localizadas na região de Bonito (MS), 27% nas cavernas do Parque Estadual Terra Ronca (GO) e 20% nas cavernas localizadas na Chapada Diamantina (BA). Verificou-se que apenas um indivíduo relatou o emprego de máscara facial como equipamento de proteção individual. Essa medida preventiva aconteceu quando o mesmo realizou visita a uma caverna situada na região amazônica sabidamente conhecida por apresentar *H. capsulatum*.

A pesquisa de anticorpos foi realizada empregando-se duas provas sorológicas distintas: a ID, como prova de precipitação, e o IB, como ensaio imunoenzimático, dirigidos principalmente contra as frações espécie-específicas de 94 kDa (fração M) e 120 kDa (fração H) de *H. capsulatum*. A detecção de anticorpos circulantes anti-*H. capsulatum*, pela ID, demonstrou que 20% (n = 3) dos soros avaliados reagiram frente à fração M de *H. capsulatum*. Entretanto, a análise desses mesmos soros empregando uma técnica mais sensível, como o IB, revelou que das 15 amostras avaliadas, 94,1% apresentaram reatividade frente à fração de 94 kDa (fração M), considerada como evidência presuntiva de contato com *H. capsulatum* (Figura 1).

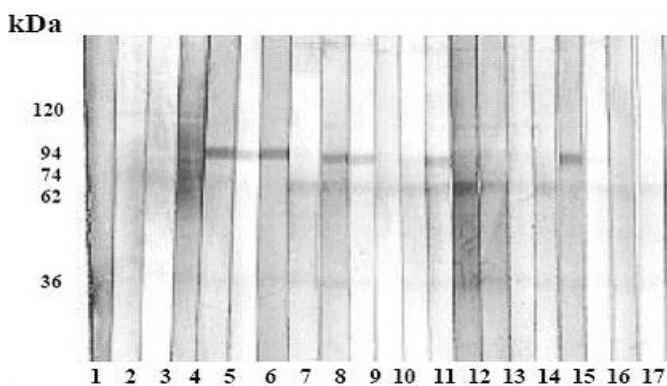


Figura 1. Imunorreatividade dos anticorpos circulantes da classe IgG anti-*H. capsulatum* de soros de indivíduos pertencentes a um grupo de biólogos

A fim de caracterizar melhor este grupo, os soros foram avaliados, por IB, frente a antígenos de *P. brasiliensis* e *A. fumigatus*. Nenhuma das amostras avaliadas apresentou reatividade pela reação de imunodifusão dupla frente às duas preparações antigênicas. Contudo, verificou-se reatividade de fraca intensidade frente à fração de 43 kDa de *P. brasiliensis* em nove amostras de soro (53%) dos indivíduos pertencentes ao grupo dos biólogos. Em relação ao padrão de reatividade frente ao antígeno de *A. fumigatus*, observou-se reatividade para 13 soros (76%) desse grupo.

DISCUSSÃO

H. capsulatum é habitualmente encontrado em regiões de clima tropical ou temperado, com temperatura média anual entre 15 a 22 °C, índice pluviométrico anual de 1.000 mm e umidade relativa do ar entre 67 e 87%. Sua distribuição na natureza associa-se a microambientes fechados, como cavernas ou grutas, construções abandonadas, galinheiros, celeiros e florestas¹⁰⁻¹². Aspectos epidemiológicos relacionados com as condições nas quais o homem pode adquirir infecção por *H. capsulatum* têm sido descritos e geralmente referem-se a atividades relacionadas à espeleologia e ao meio rural; sejam objetivando trabalho, viagem ou lazer^{5,10}. Contudo, não se sabe o momento e as circunstâncias do contato do homem com essa espécie fúngica na natureza. Determinadas características físico-químicas do solo como textura e acidez, associadas ao enriquecimento do mesmo por dejetos de aves e morcegos, que atuam como importante fonte de nitrogênio, favorecem o crescimento, desenvolvimento e disseminação desse patógeno³. A entrevista e a aplicação do questionário foram os meios complementares utilizados para obter informações sobre o comportamento dos biólogos durante o desenvolvimento de suas pesquisas em campo e o possível risco de exposição ao agente etiológico da histoplasmose.

A importância dos morcegos dentro da cadeia ecoepidemiológica da HP está bem estudada e estabelecida. No Brasil, o isolamento de *H. capsulatum* a partir de solo de cavernas habitadas por morcegos foi publicado pela primeira vez, em 1973, na cidade de Brasília (DF), por Schmidt et al.¹⁰, que também isolaram o fungo das vísceras e sangue de morcegos capturados no interior das cavernas. Suzaki et al.¹¹ descreveram a ocorrência de histoplasmose pulmonar aguda (HPA)

entre turistas japoneses que visitaram cavernas contendo fezes de morcegos. Jülg et al.¹² relataram três casos de pesquisadores que adquiriram histoplasmose, mesmo estando a uma distância mínima de 1 metro da entrada da caverna. Segundo os autores, o voo dos morcegos na região de entrada da caverna foi suficiente para dispersar os conídios fúngicos e causar infecção. A literatura apresenta também o papel de outras espécies de animais na ecoepidemiologia da HP. Silva-Vergara et al.¹³ demonstraram o isolamento de *H. capsulatum* no Estado de Minas Gerais, a partir de cultura de vísceras de *Didelphis albiventris*, uma espécie de marsupial encontrado no Brasil. Os autores chamam a atenção para a ampla distribuição geográfica desse mamífero pelo continente, a qual coincide com a distribuição da HP. Nesse trabalho, a maioria dos entrevistados citou a presença de morcegos, marsupiais e/ou aves no interior das cavernas. Além disso, a captura de espécimes de morcegos e outros animais, além da coleta de amostras de solo, foram relatados por diversos indivíduos do grupo avaliado.

Microepidemias de HP após visita a cavernas situadas no continente americano e habitadas por morcegos têm sido descritas por diversos autores^{2,5,10,11,14,15}. Panackal et al.⁵ descrevem que o processo infeccioso causado por *H. capsulatum* tem sido considerado por diversos pesquisadores como doença recreacional entre espeleólogos, apontando que 60 a 64% dos indivíduos que possuem o hábito de frequentar cavernas e/ou grutas apresentam teste cutâneo positivo à histoplasmina. No presente estudo, observou-se que 94,1% dos indivíduos avaliados apresentaram anticorpos anti-*H. capsulatum*, pela técnica de *immunoblotting*. Erkens et al.¹⁴ descrevem a presença de anticorpos circulantes da classe IgG anti-*H. capsulatum*, empregando a mesma metodologia, em cinco integrantes de um grupo de oito pesquisadores alemães que haviam passado dez dias em Cuba, estudando os hábitos de morcegos. Recentemente, Vicentini-Moreira et al.¹⁵ relataram a presença de anticorpos específicos no soro de 34 pacientes em um grupo de 35, com suspeita de histoplasmose pulmonar aguda (HPA), que visitaram cavernas na região de Arapeí, São Paulo, Brasil.

Estima-se que cerca de 90 a 95% dos indivíduos que se infectam por *H. capsulatum* não desenvolvem a doença (HP infecção) ou apresentam sintomatologia clínica leve, sendo o curso da doença, em geral, autolimitado, com regressão espontânea dos sintomas, quadro conhecido como HPA². Esta última é a forma clínica frequentemente

encontrada no Brasil em indivíduos imunocompetentes, sendo que os sinais clínicos comumente observados são febre, calafrios, tosse seca, dor torácica pleurítica ou subesternal, mal-estar, mialgia e artralgia, e também eritema nodoso e multiforme. A gravidade da doença, em indivíduos imunocompetentes, parece estar relacionada ao número de microaleuroconídios inalados, ou seja, tamanho da carga fúngica e ao tempo de exposição. Períodos curtos, como 20 minutos, proporcionam sintomas leves; enquanto estima-se que uma exposição de 50 a 60 horas pode acarretar no desenvolvimento de doença grave e, por vezes, fatal³.

No grupo estudado, apenas um indivíduo relatou ter procurado serviço médico após regressar de uma visita a cavernas em Bonito (MS), Brasil, apresentando febre, dispneia, expectoração amarelada, dor no peito, sinais de fraqueza, episódios de alterações gástricas com náuseas, vômitos e emagrecimento. Panackal et al.⁵ relatam casos de HPA em um grupo de quinze estudantes do estado da Geórgia (EUA) após visita à mina de prata localizada na Nicarágua. Três dias após o retorno do grupo para os Estados Unidos, 12 (80%) indivíduos apresentaram sinais clínicos de doença respiratória aguda com picos febris, compatíveis com HPA, confirmada posteriormente por meio de provas sorológicas. Erkens et al.¹⁴ registraram que duas pessoas do grupo de cientistas acompanhados relataram a utilização de máscaras faciais e não apresentaram nenhuma sintomatologia, enfatizando assim, a necessidade e importância do uso de equipamentos de proteção individual para pessoas que visitam cavernas. Observamos que o emprego de EPIs não é prática comum entre os biólogos do grupo avaliado. Durante as entrevistas, apenas um indivíduo relatou ter usado máscara facial quando empreendeu visita a uma caverna sabidamente infestada por *H. capsulatum*.

Historicamente, a identificação de anticorpos circulantes anti-*H. capsulatum* em soros de pacientes com HP tem se revelado de suma importância no diagnóstico confirmatório, bem como no prognóstico da doença^{3,4}. A histoplasmina ou filtrado de cultura da fase miceliana de *H. capsulatum* tem sido fonte de antígenos para os ensaios sorológicos, sendo caracterizada por apresentar duas frações antigênicas de particular importância, o antígeno H (120 kDa) e o antígeno M (94 kDa). Ambas são tidas como sendo proteínas espécie-específicas⁴. Segundo Wheat⁴, a histoplasmina tem se mostrado útil na detecção de anticorpos pelas provas de imunodifusão dupla, sendo que mais de 80% dos indivíduos com HPA e HP crônica

apresentam positividade nesse ensaio, podendo ou não estar associados à doença ativa. A reatividade do soro de paciente face ao antígeno M sugere que o indivíduo tenha entrado em contato com *H. capsulatum* ou tenha sido imunizado com histoplasmina^{3,4}. A detecção do antígeno H indica HP ativa, podendo ser observada até dois anos após a cura clínica do paciente, raramente ocorre na ausência de M^{3,4}. Com base nos resultados obtidos nos testes sorológicos, relacionando com as regiões frequentemente visitadas pelo grupo estudado, foi possível inferir que esses indivíduos certamente frequentaram regiões consideradas reservadas para *H. capsulatum*.

Vale a pena salientar que, no presente estudo, verificou-se por *immunoblotting* que 52,9% dos biólogos reagiram frente à glicoproteína de 43 kDa de *P. brasiliensis* e 76,4% frente as frações proteicas de *A. fumigatus*. Essa observação corrobora que a prática da espeleologia e/ou turismo ecológico propicia a exposição dos indivíduos a outras espécies fúngicas que habitam saprofiticamente o meio ambiente, especialmente, *H. capsulatum*, sugerindo, assim, um possível fator de risco para infecções. O risco da HP, portanto, deve ser levado em consideração pelos indivíduos que buscam o ecoturismo como uma forma de lazer ou trabalho.

Apesar de considerar-se praticamente impossível o controle de acesso dos indivíduos a áreas que apresentam potencial para infecção por *H. capsulatum*, julga-se necessária a conscientização dos mesmos quanto aos riscos envolvidos. Sendo assim, como medidas preventivas, sugere-se que os órgãos de saúde, como os Grupos de Vigilância Epidemiológica, alertem tanto a população como as agências de viagem que organizam atividades voltadas ao ecoturismo ou lazer rural sobre a necessidade do uso de máscara para adentrarem nas cavernas, bem como seja informado que a coleta e transporte de solo, pedras, plantas e animais não são recomendados, uma vez que constituem potenciais fontes de infecção.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a Mônica Cândida G. Scola e a Lia Teixeira Bastos da Seção de Coleção de Culturas, pela liofilização dos antígenos utilizados. Agradecemos também ao grupo de biólogos que concordaram em participar deste trabalho. **Suporte Financeiro:** Instituto Adolfo Lutz, Projeto CTC-IAL#06/04.

REFERÊNCIAS

1. Guimarães AJ, Nosanchuk JD, Zancopé-Oliveira RM. Diagnosis of histoplasmosis. *Braz J Microbiol*. 2006;37:1-13.
2. Ferreira MS, Borges AS. Histoplasmosis. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2009;42(2):192-8.
3. Wheat LJ, Kauffman CA. Histoplasmosis. *Infect Dis Clin North Am*. 2003;17(1):1-19.
4. Wheat LJ. Current diagnosis of histoplasmosis. *Trends Microbiol*. 2003;11(10):488-94.
5. Panackal AA, Hajjeh RA, Cetron MS, Warnock DW. Fungal infections among returning travelers. *Clin Infect Dis*. 2002;35(9):1088-95.
6. Manzini EJ. Considerações sobre a elaboração de roteiro para entrevista semiestruturada. *In: Marquezzine MC, Almeida MA, Omote S, organizadores. Colóquios sobre pesquisa em Educação Especial*. Londrina: Eduel; 2003. p.11-2.
7. Kaufman ED, Standard P. Fungal exoantigens. *In: Drouhet E, Cole GT, Repentigny L, Latge JP, Dupont B, editors. Fungal antigens. Isolation, purification and detection*. New York and London: Plenum Press; 1988. p.111-2.
8. Ouchterlony, O. Antigen-antibody reactions in gels. *Acta Pathol Microbiol Scand*. 1949;26(4):507-15.
9. Towbin H, Staehelin T, Gordon J. Electrophoretic transfer of proteins from polyacrylamide gels to nitrocellulose sheets: procedure and some applications. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1979;76(9):4350-4.
10. Schmidt S, Machado OP, Galvão AB. Microepidemia de histoplasmosse em zona rural de Brasília-DF. II Estudo epidemiológico e parasitológico da fonte de infecção. *Rev Soc Bras Med Trop*. 1973;7:107-15.
11. Suzuki A, Kimura M, Kimura S, Shimada K, Miyaji M, Kaufman L. An outbreak of acute pulmonary histoplasmosis among travelers to a bat-inhabited cave in Brazil. *Kansenshogaku Zasshi*. 1995;69(4):444-9.
12. Jülg B, Elias J, Zahn A, Köppen S, Becker-Gaab C, Bogner JR. Bat-associated histoplasmosis can be transmitted at entrances of bat caves and not only inside the caves. *J Travel Med*. 2008;15(2):133-6.
13. Silva-Vergara ML, Martinez R, Borges-Malta ME, Leite-Maffei CM, Ramirez LE. *Histoplasma capsulatum* isolated from *Didelphis albiventris* (Marsupialia Didelphidae) in the state of Minas Gerais, Brazil. *Rev Iberoam Micol*. 2001;18(4):180-2.
14. Erkens K, Lademann M, Tintelnot K, Lafrenz M, Kaben U, Reisinger EC. Histoplasmosis group disease in bat researchers returning from Cuba. *Dtsch Med Wochenschr*. 2002;127(1-2):21-5.
15. Vicentini-Moreira AP, Kohara VS, Passos AN, Feliciano RS, Barreto LC, Freitas RS, et al. Microepidemia de histoplasmosse no município de Arapeí, São Paulo. *BÉPA*. 2008;5(58):8-11.