

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE ANÁLISES CLÍNICAS
CURSO DE GRADUAÇÃO EM FARMÁCIA

Beatriz Weber

**Infecções humanas por algas aclorofiladas do gênero *Prototheca*: revisão
narrativa da literatura**

Florianópolis
2021

Beatriz Weber

**Infecções humanas por algas aclorofiladas do gênero *Prototheca*: revisão
narrativa da literatura**

Trabalho de Conclusão de Curso submetido à
Universidade Federal de Santa Catarina como
requisito necessário para conclusão do Curso de
Graduação em Farmácia.
Orientador: Prof. Dr. Jairo Ivo dos Santos

Florianópolis

2021

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Weber, Beatriz

Infecções humanas por algas aclorofiladas do gênero
Prototheca: revisão narrativa da literatura / Beatriz
Weber ; orientador, Jairo Ivo dos Santos, 2021.

71 p.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) -
Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências
da Saúde, Graduação em Farmácia, Florianópolis, 2021.

Inclui referências.

1. Farmácia. 2. Farmácia. 3. Prototecose. 4.
Prototheca. 5. Algas aclorofiladas. I. dos Santos, Jairo
Ivo. II. Universidade Federal de Santa Catarina. Graduação
em Farmácia. III. Título.

Beatriz Weber

Título: Infecções humanas por algas aclorofiladas do gênero *Prototheca*: revisão narrativa da literatura

Este Trabalho Conclusão de Curso foi julgado adequado para obtenção do Título de Farmacêutica e aprovado em sua forma final pelo Curso de Farmácia

Florianópolis, 14 de setembro de 2021.

Profª Dra Liliete Canes Souza Cordeiro
Coordenadora do Curso

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Jairo Ivo dos Santos
Orientador
Universidade Federal de Santa Catarina

Profª Dra. Iara Fabrícia Kretzer
Avaliadora
Universidade Federal de Santa Catarina

Profª Ms. Sara Letícia Kretzer
Avaliadora
Universidade Federal de Santa Catarina

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus, e aos meus pais, a quem sinto imenso orgulho, Bernadete e Carlos, por todo apoio e incentivo durante esta trajetória da graduação. Vocês são minha fonte de inspiração e amor;

Aos meus amigos do curso de Farmácia, em especial, à Carolina Koerich, que desde o início esteve ao meu lado. Obrigada por tantos momentos incríveis compartilhados, pelos sorrisos, lágrimas, horas de estudos, festas, que tornaram essa jornada mais leve e feliz;

Aos meus amigos de longa data, Eduardo, Jullia, Larissa, Lays e Ygor. Ter a amizade de vocês na vida é um presente. Obrigada por sempre torcerem por mim;

Ao meu orientador, Dr. Jairo Ivo dos Santos, pelas horas dedicadas à realização deste trabalho e por todo o apoio;

À banca examinadora, por aceitar participar deste trabalho ajudando-o a torná-lo ainda melhor;

E por fim, agradeço à Universidade Federal de Santa Catarina pelo ensino de excelência.

RESUMO

As algas do gênero *Prototheca* difere das outras algas pela ausência do pigmento clorofila e conseqüente incapacidade de realizar a fotossíntese, exigindo assim a disponibilidade externa de nutrientes para a sua nutrição, o que pode ter contribuído para adaptação para a vida parasitária. A prototecose é uma zoonose emergente em animais e humanos causada por estas algas. As espécies *P. wickerhamii* e *P. zopfii* são as mais isoladas em infecções humanas, ocorrendo em indivíduos imunocompetentes e imunocomprometidos. A doença geralmente manifesta-se em três formas clínicas: cutânea, articular e disseminada. Este estudo tem como objetivo relatar os casos de prototecose no Brasil e no mundo, revisar os métodos utilizados no diagnóstico e identificação taxonômica da *Prototheca*, assim como os procedimentos terapêuticos utilizados para o seu tratamento através de uma revisão bibliográfica narrativa de artigos científicos e relatos de casos publicados entre os anos de 2001 a 2021, no Brasil, e entre os anos de 2011 e 2021 no mundo. Após a análise dos artigos, pôde-se constatar que o gênero *Prototheca* apresenta incidência global, sendo observado casos em todos os continentes, com exceção da Antártica. Na maioria dos casos os pacientes possuíam comorbidades ou fatores de risco, entre eles, pode-se destacar diabetes *mellitus*, malignidades hematológicas ou câncer, terapia de corticoides e receptores de transplante de órgãos sólidos. No diagnóstico, foram utilizados principalmente exame histopatológico, e cultura em meio ágar Sabouraud, assim como testes bioquímicos de assimilação. O tratamento foi feito com o uso de antifúngicos azólicos e derivados poliênicos como a anfotericina B em mais de 90% dos casos. Embora a prototecose seja uma doença considerada rara, não deve ser ignorada como uma infecção emergente. É de suma importância que os profissionais da saúde estejam alertas sobre este patógeno capaz de causar infecção humana.

Palavras-chaves: *Prototheca*. Prototecose. Algas aclorofiladas. *P. wickerhamii*. *P. zopfii*.

ABSTRAT

Algae of the *Prototheca* genus differ from other algae in the absence of the chlorophyll pigment and consequent inability to carry out photosynthesis, thus requiring the external availability of nutrients for their nutrition, which may have contributed to adaptation to parasitic life. Protothecosis is an emerging zoonosis in animals and humans caused by these algae. The species *P. wickerhamii* and *P. zopfii* are the most associated with/in human species, occurring in immunocompetent and immunocompromised patients. The disease generally present in three forms: cutaneous, olecranon bursitis and disseminated. This study aims to report cases of protothecosis in Brazil and worldwide, review the methods used in the diagnosis and taxonomic identification of *Prototheca*, as well as the therapeutic procedures used for its treatment through a narrative bibliographical review of scientific articles and reports of cases published between 2001 and 2021, in Brazil, and between 2011 and 2021 in the world. After analyzing the articles, it could be seen that the genus *Prototheca* presents global incidence, with cases being observed in all continents, except for Antarctica. Most cases had comorbidities or risk factors, among them, diabetes mellitus, hematological malignancies or cancer, corticoid therapy and solid organ transplant recipients can be highlighted. For diagnosis, histopathological examination, and culture on Sabouraud agar medium were used, as well as biochemical assimilation tests. Treatment consisted of azole antifungals and polyene derivatives such as amphotericin B in more than 90% of cases. Although protothecosis is considered a rare disease, it should not be ignored as an emerging infection. It is extremely important that health professionals be alerts about this pathogen capable of causing human infection.

Key-words: *Prototheca*. Protothecosis. Achlorophyllous algae. *P. wickerhamii*. *P. zopfii*.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Classificação taxonômica do gênero <i>Prototheca</i>	13
Figura 2 - Placas eritematosas da forma cutânea da prototecose.....	15
Figura 3 - Células de <i>Prototheca</i> em vários estágios de desenvolvimento coradas com fucsina.....	16
Figura 4 - Mórula de <i>Prototheca</i> em lesão corada com GMS.....	17
Figura 5 - Colônias de <i>P. zopfii</i> em meio ágar Sabouraud-dextrose.....	18
Figura 6 - Colônias de <i>P. zopfii</i> em meio ágar Sabouraud-dextrose (x16)	18

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Resumo dos artigos de prototecose no Brasil	27
Quadro 2 – Resumo dos artigos de prototecose na América do Norte/Central.....	35
Quadro 3 – Resumo dos artigos de prototecose na Oceania, África e Europa.....	41
Quadro 4 – Resumo dos artigos de prototecose na Ásia.....	56

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AIDS - Síndrome da Imunodeficiência Adquirida

DM – Diabetes *mellitus*

GMS - Metenamina de prata de Grocott-Gomori

H&E - Hematoxilina-eosina

HIV - Vírus da Imunodeficiência Humana

LCR - Líquido Cefalorraquiano

LES - Lúpus Eritematoso Sistêmico

MALDI-TOF/MS - Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization/Time-of-flight Mass Spectrometry

PCR - Reação em Cadeia da Polimerase

PAS - Ácido Periódico de Schiff

SD – Sabouraud-dextrose

TC - Tomografia Computadorizada

UTI - Unidade de Terapia Intensiva

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2 JUSTIFICATIVA	20
3 OBJETIVOS	21
3.1 OBJETIVO GERAL	21
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	21
4 METODOLOGIA	22
4.1 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO E EXCLUSÃO DE PUBLICAÇÕES	22
5 REVISÃO DA LITERATURA	23
5,1 PROTOTELOSE NO BRASIL	23
5.2 PROTOTELOSE NO MUNDO.....	28
5.2.1 Prototecose na América.....	28
5.2.2 Prototecose na Oceania, África e Europa.....	37
5.2.4 Prototecose na Ásia.....	42
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS	61
REFERÊNCIAS	66

1 INTRODUÇÃO

O gênero *Prototheca* foi descrito pela primeira vez por Krueger, em 1894 onde, a partir da seiva de árvores, isolou dois microrganismos os quais nomeou *P. moriformis* e *P. zopfii* e, os classificou como fungos, devido às semelhanças morfológicas com as leveduras (LASS-FLÖRL & MAYR, 2007; PORE *et al.*, 1983; TODD *et al.*, 2018).

Porém, em 1913, Chodat os reclassificou como algas pelo modo de reprodução idêntico à da alga verde *Chlorella*. No entanto, mesmo com a correção da classificação, o gênero *Prototheca* continuou sendo estudado na área de micologia médica. Somente em 2009, durante o 17º Congresso realizado pela ISHAM (*International Society for Human and Animal Mycology*) foi evidenciada a importância do termo “ficologia médica” como um novo campo de microbiologia em ciências médicas, veterinárias e ambientais. Em 2014 foi criado um Grupo de Trabalho na ISHAM intitulado “Ficologia Médica: Prototecose e Clorelose” focado em infecções por algas em humanos e animais (LASS-FLÖRL & MAYR, 2007; TODD *et al.*, 2018).

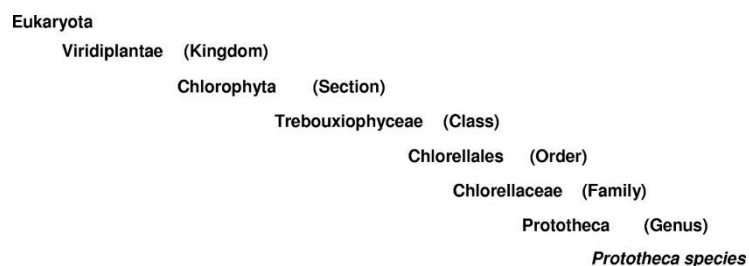
As algas do gênero *Prototheca* são microrganismos unicelulares, imóveis, esféricos ou ovais, com tamanho variável de 3 a 30 µm de diâmetro. A *Prototheca* reproduz-se assexuadamente por septação interna (endosporulação). Durante o processo reprodutivo, a célula-mãe, conhecida como esporângio, gera entre duas a dezesseis células-filhas, chamadas de endósporos ou esporangiosporos. Esses esporos aumentam de tamanho após a liberação da célula-mãe e passam por um estágio assimilativo. O esporângio se rompe liberando esporos crescentes, para reiniciar o ciclo reprodutivo (JÁNOSI *et al.*, 2001; LASS-FLÖRL & MAYR, 2007; PORE *et al.*, 1983).

Espécies do gênero *Prototheca* encontram-se amplamente distribuídas na natureza, principalmente em locais úmidos e ricos em matéria orgânica. Podem ser isoladas de diversos habitats, como seiva de árvores, sistemas aquáticos, água potável, esgoto, solo, moradias, abatedouros e excrementos de animais, além de alimentos como leite e seus derivados. Além disso, apresentam um componente na parede celular chamado de esporopolenina, que é um polímero resistente à acetólise, responsável por conferir resistência a vários agentes físicos e químicos (CAMBOIM *et al.*, 2010; MELVILLE *et al.*, 1999; PORE *et al.*, 1983).

Atualmente este gênero está inserido na classe *Trebouxiophyceae*, ordem *Chlorellales* e família *Chlorellaceae*, sendo composto por sendo composto por 14 espécies: *P. zopfii*, *P. moriformis* (*P. ulmea*), *P. wickerhamii*, *P. stagnora*, *P. blaschkeae*, *P. cutis*, *P. miyajii*, *P. ciferrii*, *P. bovis*, *P. cerasi*, *P. pringsheimii*, *P. xanthoriae*, *P. tumulicola* e *P. cookei* (TODD *et al.*, 2018; JAGIELSKI *et al.*, 2019).

Na figura 1 é mostrada a classificação taxonômica de *Prototheca*.

Figura 1 - Classificação taxonômica do gênero *Prototheca*



Fonte: Lass-Flörl & Mayr (2007)

Prototheca difere das outras algas pela ausência do pigmento clorofila e conseqüente incapacidade de realizar a fotossíntese, exigindo assim a disponibilidade externa de nutrientes para a sua nutrição, o que pode ter contribuído para adaptação para a vida parasitária (CAMBOIM *et al.*, 2010).

Alguns autores, como Cooke (1968) acreditavam que o gênero *Prototheca* pertencia anteriormente ao gênero *Chlorella*, e em algum momento da evolução, sofreu mutação, sendo capaz de desenvolver tal característica. Porém, Pore (1972) sugeriu que se este gênero estivesse associado à um gênero já existente, seria o gênero *Auxenochlorella*, especificamente a espécie *Auxenochlorella protothecoides* (anteriormente chamada de *Chlorella protothecoides*), que assim como a *Prototheca*, é heterotrófica, dependente de tiamina e não assimila nitrato (LASS-FLÖRL & MAYR, 2007).

A prototecose é uma zoonose emergente em animais e humanos causada por estas algas. Em bovinos, a *Prototheca* representa importante causa de mastite ambiental, que pode ser subclínica ou clínica (aguda ou crônica), sendo mais comum o quadro subclínico. As espécies *P. zopfii*, *P. bovis*, *P. wickerhamii* e *P. blaschkeae* podem causar mastite bovina. Dentre elas, *P. zopfii* e *P. bovis* são as mais predominantes, enquanto *P. wickerhamii* e *P. blaschkeae* são responsáveis por casos

esporádicos. Pode afetar animais individualmente ou doença de rebanho, havendo transmissão de animal para animal durante a ordenha (BUENO *et al.*, 2006; JANÓSI *et al.*, 2001; PARK *et al.*, 2019; TODD *et al.*, 2018).

Um fator de risco conhecido para o desenvolvimento de mastite bovina é o tratamento prévio com antimicrobianos do úbere, uma vez que estas algas apresentam resistência ao tratamento medicamentoso devido a capacidade de infectar e sobreviver em macrófagos e invadir o tecido mamário, provocando uma infecção persistente. Além disso, *P. zopfii* produz biofilme e é resistente à pasteurização do leite, tanto rápida quanto lenta, aumentando o perfil zoonótico (GONÇALVES *et al.*, 2015; JANÓSI *et al.*, 2001; MARQUES *et al.*, 2006).

Espécies do gênero *Prototheca* também infectam animais de pequeno porte, especialmente cães e gatos. Em cães, as espécies *P. bovis*, *P. ciferrii*, *P. wickerhamii* e *P. zopfii* podem causar prototecose. É observado infecção cutânea ou disseminada afetando diversos órgãos, principalmente o trato gastrointestinal, sistema nervoso central e olhos. Já em gatos, a prototecose é predominantemente cutânea provocada por *P. wickerhamii*, apresentando lesões principalmente na região da face e plano nasal. A prototecose também foi diagnosticada em diversas espécies, como ovelhas, veados, salmão do Atlântico, carpa, raposas voadoras e caprinos (FALCARO *et al.*, 2020; SYKES & GREENE, 2011; THIELE & BERGMANN, 2002; MACEDO *et al.*, 2008).

Em humanos, as principais espécies envolvidas são *P. wickerhamii* e *P. zopfii*, sendo *P. wickerhamii* a mais frequente. Acomete tanto indivíduos imunocompetentes e imunocomprometidos. Segundo Todd *et al.*, (2018), a incidência é praticamente igual para ambos os sexos e a idade dos pacientes varia entre 78 dias a 88 anos. Entretanto, a maioria dos casos relatados ocorreu com idade superior a 50 anos. O contágio pode ocorrer quando o indivíduo entra em contato com solo, água ou alimento contaminados, inoculação traumática com as algas ou através de picadas de insetos. A doença apresenta três formas clínicas: cutânea, articular e disseminada, com curso agudo ou crônico. Em indivíduos imunocompetentes geralmente manifesta-se a forma cutânea e articular, e em indivíduos imunocomprometidos a forma disseminada (LASS-FLÖRL & MAYR, 2007; THIELE & BERGMANN, 2002; TODD *et al.*, 2018).

A forma cutânea é a mais frequente, ocorre através da pele traumatizada e infecções de feridas, como feridas pós cirúrgicas. Afeta a pele e tecido subcutâneo, principalmente em áreas expostas do corpo, como as extremidades e o rosto, com progressão lenta e sem cura espontânea. A lesão é variável e inclui placas eritematosas (Figura 2), pústulas, pápulas, nódulos, verrugas, vesículas, úlceras e erupções eczematosas (CAMBOIM *et al.*, 2010; DIPERSIO, 2001; LASS-FLÖRL & MAYR, 2007; THIELE & BERGMANN, 2002).

Figura 2 - Placas eritematosas da forma cutânea da prototecose



Fonte: Nguyen & Rosen (2015)

A forma articular está geralmente associada como resultado de um trauma devido a um acidente, cirurgia ou lesão no local. Manifesta-se principalmente como quadro de bursite do olécrano, apresentando leve sensibilidade, moderado eritema e eventualmente ocorrência de drenagem devido a produção de fluido serossanguinolento. A razão para a preferência pela bursite do olécrano como sítio de infecção da *Prototheca* não é conhecida, porém, pode estar associada a predisposição desta área para trauma repetido (DIPERSIO, 2001; LASS-FLÖRL & MAYR, 2007).

A forma disseminada é tipicamente oportunista. Os indivíduos predispostos a desenvolver esta forma são aqueles imunocomprometidos, que estão em terapia de

corticoides, malignidades hematológicas ou câncer, diabetes *mellitus*, transplantados e portadores de HIV. Todd *et al.* (2018), analisou 211 casos de prototecose entre 1964 e 2017 e observou um aumento no número de casos a cada ano. Porém, este aumento aconteceu entre os pacientes com alguma forma de imunossupressão. Nesta forma clínica os principais órgãos e tecidos afetados são pele, tecido subcutâneo, intestino, sangue, peritônio e baço e, dentre as três formas da doença, a disseminada apresenta o pior prognóstico (LASS-FLÖRL & MAYR, 2007; TODD *et al.*, 2018).

A prototecose geralmente não é suspeita clinicamente, e os pacientes são submetidos a vários tipos de tratamento sem resultado satisfatório. Os métodos de identificação são baseados em análise microscópica, macroscópica e testes bioquímicos de assimilação. O exame microscópico pode ser feito através de preparações de culturas em lâmina úmida e/ou identificação direta a partir de espécimes de tecido. Em lâmina úmida, colorações como azul de metileno, verde malaquita, vermelho do Congo ou fucsina (Figura 3) permitem uma melhor visualização das estruturas internas (KANO, 2019; LASS-FLÖRL & MAYR, 2007; RAPUNTEAN *et al.*, 2009).

Figura 3 - Células de *Prototheca* em vários estágios de desenvolvimento coradas com fucsina



Fonte: Rapuntean *et al.*, (2009)

Em tecido, *Prototheca* spp cora-se bem com Ácido Periódico de Schiff (PAS) ou metenamina de prata de Grocott-Gomori (GMS). A coloração pelo PAS também é útil para diferenciar *Prototheca* das algas verdes, visto que, em tecido, *Prototheca* pode se assemelhar morfológicamente com as algas verdes. Tanto em lâmina úmida quanto em tecido, é possível observar esporângios contendo múltiplos endósporos

semelhantes ao aspecto de uma mórula (Figura 4). Entretanto, estes endósporos não são característicos, podendo ser confundidos com células não esporulantes de *Blastomyces dermatitidis*, *Cryptococcus neoformans*, *Paracoccidioides brasiliensis* e alguns estágios de *Coccidioides immitis*, *Pneumocystis jirovecii*, *Rhinosporidium seeberi* e com o corpo fumagoide observado na cromomicose (LASS-FLÖRL & MAYR, 2007; RAPUNTEAN *et al.*, 2009).

Figura 4 - Mórula de *Prototheca* em lesão corada com GMS



Fonte: Nguyen & Rosen (2015)

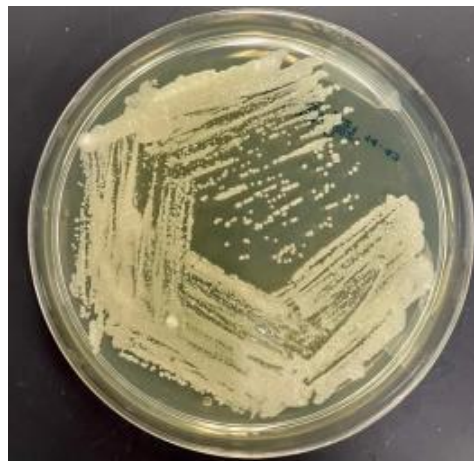
As características histológicas encontradas na forma cutânea da doença são inflamação granulomatosa com necrose; células gigantes; infiltrado misto com células plasmáticas; linfócitos e histiócitos; hiperkeratose; parakeratose focal; pseudo epiteliação; tecido linfoide hiperplásico; infiltrado denso de células inflamatórias crônicas; e a presença de organismos abundantes. Na forma articular, inflamação granulomatosa com células gigantes, células epitelioides, linfócitos e células plasmáticas, bem como a presença de organismos em tecido. Na forma disseminada os tecidos apresentam eosinofilia e fibrose na vesícula biliar, duodeno e áreas do portal hepático (LASS-FLÖRL & MAYR, 2007).

Prototheca spp. cresce em condições aeróbicas, em diversos meios de culturas, sólidos e líquidos, como ágar Sabouraud dextrose; ágar farinha de milho; ágar sangue; ágar chocolate; ágar MacConkey; ágar cromo; meio de glicose (caldo e ágar); meios seletivos contendo antibióticos (Lincospectina); meio de batata; meio de glicose com diferentes valores de pH (3-9); ágar Smith-Baskerville (sem antibióticos);

ágar com película fina de óleo de motor; caldo de infusão de carne e ágar de infusão de cérebro-coração. O crescimento do microrganismo pode variar entre dois e sete dias, com otimização de temperatura entre 25°C e 37°C (LASS-FLÖRL & MAYR, 2007; RAPUNTEAN *et al.*, 2009).

Em meio líquido, é evidenciado a presença de um sedimento granular que é facilmente homogeneizado, mas sedimenta rapidamente. Às vezes, tem sido observada uma película fina e frágil formada na superfície exibindo a tendência de subir nas paredes do tubo. Em meio sólido, formam colônias moles, úmidas, de coloração branca ou creme semelhante às leveduras (Figura 5) (LASS-FLÖRL & MAYR, 2007; RAPUNTEAN *et al.*, 2009).

Figura 5 - Colônias de *P. zopfii* em meio ágar Sabouraud-dextrose



Fonte: Palaniappan *et al.*, (2021)

No microscópico, é possível observar uma superfície irregular apresentando um aspecto característico de amora conforme mostrado na figura 6 (RAPUNTEAN *et al.*, 2009).

Figura 6 - Colônias de *P. zopfii* em meio ágar Sabouraud-dextrose (x16)



Fonte: Rapuntean *et al.*, (2009)

Para a identificação de espécie, pode ser usado os sistemas API 20C AUX, RapID YEAST PLUS e VITEK® 2. Todas as espécies de *Prototheca* assimilam glicose e glicerol exceto *P. moriformis* (*P. ulmea*), que é variável na assimilação de glicerol. *P. wickerhamii*, *P. cutis*, *P. miyajii* e *P. xanthoriae* assimilam trealose. O tempo de crescimento também é útil na identificação das espécies, visto que algumas espécies não conseguem crescer em determinadas temperaturas, como *P. cerasi*, *P. pringsheimii*, *P. xanthoriae*, *P. tumulicola* e *P. stagnora* que não crescem em 37°C, enquanto *P. miyajii* é capaz de crescer em 40-42°C. Além disso, *P. stagnora*, *P. moriformis* (*P. ulmea*) e *P. tumulicola* são produtoras de cápsula (JAGIELSKI *et al.*, 2019; LASS-FLÖRL & MAYR, 2007).

O antibiótico clotrimazol (disco de 50 µg) pode ser utilizado na diferenciação de *P. wickerhamii* e *P. zopfii*, sendo *P. zopfii* resistente e *P. wickerhamii* sensível (LASS-FLÖRL & MAYR, 2007).

Para a identificação de gênero, o meio ágar cromo com adição do antibiótico ribostamicina (disco de 60 µg) é eficaz para diferenciar *Prototheca* e leveduras do gênero *Candida*, uma vez que ambas se desenvolvem em meios utilizados em micologia, além de apresentar colônias similares, o que pode causar um diagnóstico errôneo. *Candida* spp. é resistente à ribostamicina, enquanto *Prototheca* spp é sensível (LASS-FLÖRL & MAYR, 2007).

Técnicas de diagnóstico molecular, como Reação em Cadeia da Polimerase (PCR), sequenciamento genético e espectrometria de massa MALDI-TOF mostraram ser úteis na identificação das espécies de *Prototheca*. O teste imunoenzimático demonstrou ser eficiente no diagnóstico de mastite bovina, exibindo alta sensibilidade e especificidade. Exame citológico e histológico podem ser utilizados para o diagnóstico em animais de companhia, como cães e gatos (KANO, 2019; LASS-FLÖRL & MAYR, 2007; SIQUEIRA & RIBEIRO & SALERNO, 2008).

O tratamento da prototecose humana é realizado através de antifúngicos azólicos como cetoconazol, itraconazol, fluconazol, além de antibióticos da classe das tetraciclina e derivados poliênicos como anfotericina B, sendo esta última a que apresenta os melhores resultados. Também pode ser feita excisão cirúrgica em pequenas lesões de pele e bursite do olécrano. Porém, não é incomum ocorrer falha terapêutica, especialmente em pacientes que apresentam prototecose disseminada (LASS-FLÖRL & MAYR, 2007; TODD *et al.*, 2018).

2 JUSTIFICATIVA

Prototheca spp. é resistente ao tratamento com cloro e de esgoto, bem como a digestão intestinal, contribuindo para sua persistência em esgotos, disseminação por animais domésticos e permanência no meio ambiente. Também é resistente à pasteurização do leite, representando um problema de saúde pública para o consumo de leite e derivados, além de prejuízo econômico para a pecuária leiteira (CAMBOIM *et al.*, 2010).

Embora a prototecose seja uma doença considerada rara, o número de casos diagnosticados em humanos e animais vem aumentando ao longo dos anos. É observado falha terapêutica, e alta taxa de mortalidade em pacientes imunocomprometidos. Segundo Todd *et al.*, (2018), 19 óbitos foram relatados no período de 1964 até 2017. Destes 19 óbitos, 16 eram pacientes com algum tipo de imunossupressão. Além disso, é possível ocorrer diagnóstico errôneo, visto que pode ser confundido com outros patógenos, principalmente *Candida* spp. Sendo assim, o conhecimento do gênero *Prototheca* é essencial para a medicina humana e veterinária.

Esta revisão torna-se importante por se aprofundar sobre os aspectos clínicos, terapêuticos e epidemiológicos desta alga, assim como as características morfológicas e métodos diagnósticos, com o intuito de auxiliar na sua identificação, visto que a alta taxa de mortalidade observada nestes pacientes imunocomprometidos geralmente é resultado do atraso no diagnóstico (BANDARANAYAKE *et al.*, 2015; KANO, 2019).

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Realizar uma revisão da literatura sobre a prototecose humana.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Relatar os casos de prototecose no Brasil;

Relatar os casos de prototecose em outros países do mundo;

Revisar os métodos utilizados no diagnóstico da prototecose e identificação taxonômica da *Prototheca*;

Revisar os procedimentos terapêuticos utilizados no tratamento da prototecose.

4 METODOLOGIA

Para a revisão bibliográfica dos casos de infecções por *Prototheca* foi realizada uma pesquisa bibliográfica nos portais dos periódicos Capes, Scielo Brasil e PubMed, assim como publicações em livros e dissertações e teses. O intervalo da pesquisa compreendeu o período entre os anos de 2001 a 2021, no Brasil, e entre os anos de 2011 e 2021 no mundo. As palavras chaves pesquisadas foram: *Prototheca* sp, *Prototheca whickerhamii*, *Prototheca zopfii*, prototecose humana, *human protothecosis*.

4.1 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO E EXCLUSÃO DE PUBLICAÇÕES

Foram incluídos na revisão bibliográfica, publicações em português e inglês, que tinham relação com os objetivos específicos propostos como trabalhos que envolveram casos clínicos descritos no Brasil e no exterior, coleta de amostras para diagnóstico, métodos de diagnóstico laboratorial e tratamento.

Foram excluídos estudos que envolveram aspectos de pesquisa básica, como estudo genético da alga, pesquisa de enzimas e outros componentes da *Prototheca*, e que não tinham relação com os objetivos específicos desta revisão.

5 REVISÃO DA LITERATURA

5.1 PROTOTECOSE NO BRASIL

Foram observados cinco artigos sobre prototecose no Brasil, no período de 20 anos, que compreendeu o intervalo entre os anos 2001 e 2021.

- Artigo 1

Follador e colaboradores (2001), na Bahia, realizaram um relato de caso de uma mulher de 72 anos não imunodeprimida. A paciente apresentava lesões de pele há um ano após trauma sofrido em ônibus, que resultou em lesão no braço direito. A lesão foi tratada com solução de iodo. Alguns dias depois, ela começou a sentir coceira e vermelhidão na região lesionada, a qual utilizou um creme de corticoide contendo clobetasol por mais de seis meses. Todavia, a coceira continuou e a vermelhidão se estendeu até o antebraço. O exame dermatológico revelou placas eritematosas infiltradas na superfície flexora do braço e antebraço direitos. O diagnóstico foi feito através da biópsia da pele, onde foi realizado o exame histopatológico e cultura em ágar SD e testes de assimilação de açúcares. O exame histológico mostrou acantose moderada e processo granulomatoso com abscessos. A coloração com azul alciano revelou aspecto de mórula característico de *Prototheca* spp. No meio de cultura, houve crescimento de colônias lisas, brancas cremosas e semelhantes a leveduras após 48 horas. Testes de assimilação de açúcares identificaram *P. wickerhamii*. A paciente foi submetida a tratamento com fluconazol durante três meses com sucesso. Este foi o segundo caso de prototecose descrito no Brasil, mas o primeiro com o isolamento do agente etiológico (FOLLADOR *et al.*, 2001).

- Artigo 2

Leimann e colaboradores (2004), Rio de Janeiro, no Instituto Evandro Chagas de Pesquisa Clínica na Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), relataram o caso de uma mulher de 59 anos. A paciente apresentava lesão no quarto dedo da mão direita com diagnóstico de prototecose provocada por *P. wickerhamii*. O histórico da paciente constava com trauma sofrido após bater com a porta no local da lesão. Durante um

ano e meio, foi tratada com anti-inflamatórios, sem sucesso. Posteriormente, recebeu terapia com esteroides, obtendo melhora parcial. No mesmo ano, após manusear o solo durante a jardinagem, observou agravamento da inflamação com aparecimento de manchas amareladas e secreção purulenta. A paciente foi submetida à excisão cirúrgica da lesão, e o material coletado foi cultivado, resultando no crescimento de *P. wickerhamii*. Foi iniciado tratamento com itraconazol. A paciente retornou, sendo observado edema, hiperemia e discreta secreção serosa. Foi realizado exame micológico direto, coloração com PAS, e cultura em ágar SD, onde foi observado esporângios esféricos com esporangiósporos e crescimento de colônias semelhantes às leveduras. Foi realizada montagem úmida a partir do material cultivado corado com lactofenol azul de algodão, o qual evidenciou a presença de organismos sugestivos de *Prototheca* spp. O sistema API 20C foi utilizado, sendo caracterizado a espécie *P. wickerhamii*. A paciente retornou novamente, com piora do quadro anterior, sugestivo de infecção secundária. Cultura em ágar SD e ágar sangue revelou *P. wickerhamii* e *Staphylococcus aureus*. O tratamento com itraconazol foi suspenso e introduzido fluconazol durante um ano, sendo possível observar progressão da lesão após seis meses (LEIMANN *et al.*, 2004).

- Artigo 3

Zaitz e colaboradores (2006), em São Paulo, relataram um caso de uma mulher de 70 anos, que apresentava lesão pruriginosa com espessamento progressivo no seu antebraço direito há um ano. Durante esse período, a paciente fez uso de creme de corticoide para tratamento da lesão, porém, sem melhora. Paciente reside em São Paulo há mais de 30 anos, sem histórico anterior de doenças cutâneas ou sistêmicas e possui jardinagem como *hobby*. Não foi encontrado nenhuma anormalidade clínica e os exames laboratoriais eram normais. As reações sorológicas para o HIV foram negativas. No exame dermatológico observou-se uma placa tipo eczema infiltrada no antebraço direito coberto com muitas lesões semelhantes a pústulas. O exame direto de uma lesão semelhante a uma pústula mostrou organismos redondos e incolores com aspecto de mórula. Cultura em meio SD evidenciou o crescimento de colônias sugestivas de *Prototheca* spp. A determinação da assimilação de carboidratos identificou *P. wickerhamii*, sendo assimilados trealose, glicose, galactose, etanol, glicerol e manose. Exame histopatológico revelou

estruturas redondas, incolores, semelhantes a mórula com subdivisões simétricas características de *Prototheca* spp corado com H&E. O tratamento foi feito com itraconazol durante três meses, com regressão completa das lesões (ZAITZ *et al.*, 2006).

- Artigo 4

Carneiro e colaboradores (2007) relataram um caso de um homem de 78 anos, trabalhador rural aposentado, que ocorreu no Hospital Universitário de Brasília (HUB). Em fevereiro de 2002, o paciente foi encaminhado ao ambulatório de dermatologia do hospital, apresentando diagnóstico de pênfigo foliáceo com uso crônico de prednisona há dois anos. Além disso, apresentava também massa violácea firme, bem delimitada em dorso da mão e punho direitos há dois meses, na qual foi realizada biópsia para exame histopatológico e cultura, sendo isolado o fungo *Exophiala jeanselmei*. Foi iniciado tratamento com itraconazol e fez-se a retirada gradual do corticoide. Em maio de 2002, o paciente procurou o hospital relatando que as lesões na mão não haviam diminuído e que novas lesões surgiram no membro inferior direito. Foi observado quadro clínico de erisipela acompanhado por pápulas, bolhas e lesões nodulares. O paciente realizou biópsia da lesão da pele para exame histopatológico e cultura em SD. No exame histopatológico foram evidenciados focos de processo inflamatório granulomatoso em torno de estruturas arredondadas, algumas com endosporulação e aspecto de mórula coradas com PAS e Grocott. Em cultura, foram observadas colônias brancas, cremosas e leveduriformes. Através da análise morfológica e testes de assimilação de açúcares, foi identificado a espécie *P. wickerhamii*. O tratamento foi realizado com o uso de itraconazol para a prototecose e feohifomicose por seis meses, obtendo melhora do quadro. O uso de antibioticoterapia foi utilizado para o tratamento da erisipela (CARNEIRO *et al.*, 2007).

- Artigo 5

Silva e colaboradores (2013), Rio de Janeiro, no Serviço de Dermatologia do Hospital Universitário Gaffrée e Guinle, reportaram um caso de uma mulher de 61 anos, de cor branca, dona de casa, diabética, hipertensa, em uso crônico de corticoide sistêmico, que desenvolveu lesão cutânea após trauma na perna direita. O exame dermatológico revelou uma placa eritematosa coberta por pústulas e crostas na perna

direita. Foi realizada biópsia da lesão, sendo utilizado swab para coleta das pústulas. Posteriormente foi feita a cultura do material coletado e exame histopatológico. Após 15 dias, as culturas semeadas em ágar SD e ágar sangue, desenvolveram colônias brancas, cremosas e semelhantes a leveduras. No exame histopatológico observou-se processo supurativo e inflamação granulomatosa na derme. A coloração com PAS revelou estruturas semelhantes ao aspecto de uma mórula. O sistema automatizado VITEK 2 foi utilizado para a identificação das espécies, indicando *P. wickerhamii* como a espécie causadora. O tratamento foi feito com itraconazol durante três meses com cura completa (SILVA *et al.*, 2013).

Quadro 1 – Resumo dos artigos de prototecose no Brasil

Artigo	Local	Sexo/ Idade	Comorbidade ou fator de risco	Sinais e sintomas	Tipo	Diagnóstico	Espécie identificada	Tratamento/ evolução do paciente
1 (FOLLADOR <i>et al.</i> , 2001)	Bahia	(F) 72	Trauma	Placas eritematosas na superfície flexora do braço e antebraço direitos com coceira e vermelhidão	Cutânea	Exame histopatológico, cultura e testes de assimilação de açúcares	<i>P. wickerhamii</i>	Fluconazol/ Cura
2 (LEIMANN <i>et al.</i> , 2004)	Rio de Janeiro	(F) 59	Trauma e jardinagem	Lesão no quarto dedo da mão direita que progrediu para manchas amareladas e secreção purulenta com edema e hiperemia	Cutânea	Exame micológico direto, cultura e sistema API 20C	<i>P. wickerhamii</i>	Excisão cirúrgica, itraconazol seguido de fluconazol/ Cura
3 (ZAITZ <i>et al.</i> , 2006)	São Paulo	(F) 70	Jardinagem	Placa tipo eczema no antebraço direito coberto com muitas lesões semelhantes a pústulas	Cutânea	Exame direto e histopatológico, cultura e testes de assimilação de carboidratos	<i>P. wickerhamii</i>	Itraconazol/ Cura
4 (CARNEIRO <i>et al.</i> , 2007)	Brasília	(M) 78	Trabalhador rural, pênfigo foliáceo e uso crônico de corticoide	Massa violácea firme e delimitada em dorso da mão e punho direitos, além de pápulas, bolhas e lesões nodulares	Cutânea	Exame histopatológico, cultura e testes de assimilação de açúcares	<i>P. wickerhamii</i>	Itraconazol /Cura
5 (SILVA <i>et al.</i> , 2013).	Rio de Janeiro	(F) 61	DM, uso crônico de corticoide e trauma	Placa eritematosa coberta por pústulas e crostas na perna direita	Cutânea	Exame histopatológico, cultura e sistema VITEK 2	<i>P. wickerhamii</i>	Itraconazol/ Cura

5.2 PROTOTECOSE NO MUNDO

Foi selecionado um total de 30 artigos publicados sobre os casos de prototecose no mundo, entre os anos 2011 a 2021 e que foram agrupados geograficamente por continentes.

5.2.1 Prototecose na América

- Artigo 1

Mejia-Otero e colaboradores (2012), nos Estados Unidos, descreveram um relato de caso de uma mulher de 67 anos, com lúpus eritematoso sistêmico, diabetes, hipertensão, osteoporose, catarata e histórico de aneurisma. Além disso, estava em uso regular de azatioprina, prednisona, insulina de longa ação, tramadol, lisinopril, metoprolol e ácido fólico. A paciente relatou que, dois dias antes, teve tosse, febre e fadiga. Uma semana antes, havia recebido a terceira injeção de belimumabe. Na admissão a paciente encontrava-se com taquicardia, febre baixa e hipoxemia. No exame físico, foi observada respiração grosseira bilateralmente. Dados laboratoriais e de imagem revelaram leucocitose e infiltrados bilaterais indicativos de pneumonia multifocal. Foi então iniciada antibioticoterapia intravenosa. No entanto, a paciente desenvolveu insuficiência respiratória, sendo necessário intubação e posteriormente traqueostomia. Lavagem broncoalveolar e hemocultura foram feitas. Na lavagem broncoalveolar, foi evidenciado a presença de *Pneumocystis jirovecii*, Citomegalovírus, e vírus Herpes simples. Na hemocultura, *Enterococcus faecalis* e *Klebsiella pneumoniae*. O tratamento foi realizado com vários antimicrobianos, porém, sem sucesso, pois a paciente continuava com quadro febril persistente. Foi realizada novamente hemocultura e montagem úmida preparada com lactofenol azul de algodão, sendo observado o crescimento de *P. wickerhamii*. A paciente foi tratada com anfotericina B durante duas semanas, com sucesso. Os autores concluíram que o desenvolvimento da prototecose poderia estar associado ao uso de belimumabe, visto que o estado imunossuprimido da paciente de longa data não havia levado anteriormente a esta rara infecção oportunista (MEJIA-OTERO *et al.*, 2012).

- Artigo 2

Figueroa e colaboradores (2014), em estudo realizado no *Memorial Sloan Kettering Cancer Center*, em Nova York, nos Estados Unidos, publicaram um relato de caso de uma mulher de 78 anos. A paciente foi admitida ao hospital por febre e neutropenia subsequente à quimioterapia com carfilzomib. Ela tinha mieloma múltiplo há 11 anos, o qual foi tratado inicialmente com dexametasona seguida de transplante autólogo de células-tronco hematopoiéticas (HSCT). A doença recidivou um ano após o transplante, e subsequentemente, vários regimes de quimioterapia foram usados para tratamento, incluindo ciclofosfamida, lenalidomida e bortezomibe, além de corticoides sistêmicos. O curso hospitalar foi prolongado devido a bacteremia polimicrobiana (*Klebsiella pneumoniae* e *Enterococcus faecium* resistente à vancomicina). A bacteremia foi resolvida com antibióticos de amplo espectro, mas a paciente permaneceu neutropênica e intermitentemente febril. Trinta dias após a hospitalização, foi observado a presença de lesões cutâneas eritematosas, nodulares e papulares. As lesões estavam envolvidas preferencialmente no aspecto médio de ambas as coxas, e extremidades superiores em uma distribuição periarticular ao redor dos cotovelos e pulsos. Ela também apresentava lesões no rosto e tronco. A paciente encontrava-se clinicamente atóxico e hemodinamicamente estável. O maior achado laboratorial era a neutropenia profunda e sustentada. TC do tórax, abdômen e pelve não mostraram evidências de envolvimento visceral. Foi realizado biópsia dos nódulos da pele, onde o exame histopatológico demonstrou infiltrado dérmico paucicelular de histiócitos e linfócitos misturados com numerosos corpos esféricos basofílicos de tamanhos diferentes corado com H&E. Coloração com GMS e PAS revelou septações internas semelhantes ao aspecto de uma mórula. Um diagnóstico de prototecose foi sugerido. Iniciou-se tratamento com anfotericina B três dias após o aparecimento das lesões. Entretanto, as lesões cutâneas mostraram alterações inflamatórias progressivas, algumas ulceradas, onde foi observado a presença de um fluido fétido. Este fluido foi inoculado em ágar sangue e Sabouraud, onde cresceram colônias lisas de cor branca. Um exame direto de montagem úmida das colônias mostrou numerosos organismos esféricos imóveis apresentando endósporos típicos. O microrganismo foi identificado como *P. wickerhamii* com base em testes de assimilação de açúcar. O tratamento foi mantido com anfotericina B por doze dias, com sinais de resolução e recuperação do hemograma. A anfotericina B foi alterada por voriconazol, sendo

observada a cicatrização completa das lesões após cinco meses de tratamento (FIGUEROA *et al.*, 2014).

- Artigo 3

Nguyen e Rosen (2015), no Departamento de Micologia da Universidade de Medicina Baylor, nos Estados Unidos, relataram um caso de uma mulher de 72 anos, com histórico de mastectomia bilateral devido a câncer de mama intraductal dez anos atrás. A paciente apresentava diabetes mellitus tipo um, hipertensão, insuficiência cardíaca congestiva e leucemia linfocítica crônica (LLC). O tratamento da LLC era feito com ciclofosfamida, vincristina e prednisona há cerca de cinco anos. Na avaliação dermatológica, foram observadas placas eritematosas que envolviam preferencialmente a superfície dorsal de ambas as extremidades superiores. Foi realizada biópsia das lesões de pele e exame histopatológico, que mostrou infiltrado leucêmico constituído de linfócitos maduros e granuloma formado por células gigantes corados com H&E. As estruturas observadas também foram coradas com GMS, PAS e azul alciano, onde foram observados organismos constituídos por múltiplas septações. Em ágar SD houve crescimento de colônias mucoides de cor bege. O microrganismo foi identificado como *P. wickerhamii*, baseado nas características morfológicas e testes de assimilação de açúcares. O tratamento foi feito com tetraciclina e anfotericina B. No entanto, a paciente faleceu devido a complicações de suas outras comorbidades, antes que se chegasse a alguma conclusão sobre a eficácia do tratamento (NGUYEN & ROSEN, 2015).

- Artigo 4

Bandaranayake e colaboradores (2015), na Universidade de Yale, Estados Unidos, reportaram um caso de um homem de 59 anos que recebeu transplante renal. O curso pós-operatório foi complicado, exigindo retorno para hemodiálise após falha no tratamento com plasmaferese e imunoglobulina intravenosa. Quatro meses após o transplante, foi internado em um hospital por estado mental alterado, onde foi diagnosticado com infecção urinária e bacteremia provocada por *Escherichia coli*. O paciente também apresentava colite por *Clostridium difficile*. Após 12 dias de internação, o paciente foi encaminhado para o hospital da Universidade de Yale por causa de um perinéfrico adjacente ao enxerto observado na TC do abdome. O fluido

foi coletado e enviado para cultura, sendo isolado *E. coli*. Além disso, foi diagnosticada infecção por citomegalovírus. Durante a hospitalização, o paciente desenvolveu abscesso na extremidade superior direita, o qual foi realizado desbridamento da ferida e isolado *P. wickerhamii*. O paciente negava lesão cutânea traumática anterior. O tratamento foi feito com voriconazol durante 14 dias. O paciente recebeu alta e foi para um centro de cuidados. No entanto, oito dias após a alta, o paciente deu entrada no pronto-socorro com estado mental alterado. A lesão cutânea havia melhorado, porém seu abdômen estava notavelmente distendido. O paciente foi submetido à laparotomia exploratória de emergência, que revelou intestino delgado com pequenos emaranhados e um grande abscesso pélvico. Foi realizada drenagem do abscesso, colostomia descendente e ressecção do cólon, e o paciente foi encaminhado para a UTI. As culturas do abscesso não demonstraram evidência de *Prototheca*. Na hemocultura houve crescimento de células redondas e ovais com tamanhos variáveis. As placas foram inoculadas, sendo observadas colônias lisas, úmidas, opacas, de cor branca. Foi realizada espectrometria de massa MALDI-TOF MS que identificou erroneamente a amostra como sendo *Candida dublinensis*, visto que foi utilizado um método direto de ácido fórmico-acetonila, não sendo possível identificar organismos *Prototheca*, uma vez que possuem uma parede rígida e espessa. Devido ao fato de que as colônias serem antigas e haver discordância entre a morfologia e a identificação, uma nova cultura foi realizada. O voriconazol foi trocado por anfotericina B. O paciente permaneceu hemodinamicamente estável em tratamento. A terapia antifúngica foi substituída por voriconazol para tratamento de prototecose cutânea e possível candidemia. Novos testes foram realizados, incluindo montagem úmida corado com lactofenol azul de algodão e coloração com PAS a partir de uma colônia cultivada em Sabouraud, o qual revelou esporângios com endósporos semelhantes ao aspecto de uma mórula sugestivos de *Prototheca* spp. *P. wickerhamii* foi identificada pelo sistema VITEK 2. O tratamento foi novamente alterado para anfotericina B devido a falha terapêutica com voriconazol, porém sem sucesso. O paciente faleceu no décimo dia pós-operatório (BANDARANAYAKE *et al.*, 2015).

- Artigo 5

Ramírez e colaboradores (2016), no hospital Pablo Tobón Uribe, Colômbia, realizaram um relato de caso de um homem de 74 anos, apresentando há duas semanas lesão nodular eritematosa e movimento limitado do cotovelo direito. O paciente reportou que nadou no Mar do Caribe quatro semanas antes do início dos sintomas, mas negou trauma recente. O histórico do paciente constava transplante simultâneo de fígado e rim há quatro anos (tratamento para cirrose criptogênica e nefropatia diabética). Todavia, o transplante apresentou complicações, pois dois anos após a sua realização, foi observada disfunção hepática leve devido a esteatose hepática. A terapia imunossupressora foi constituída de ciclosporina, micofenolato de sódio e prednisona. Ao exame físico, o paciente encontrava-se afebril, com sinais vitais estáveis. Foi observado eritema, edema, flutuação e sensibilidade à palpação de no cotovelo direito. Testes laboratoriais de rotina, revelaram resultados dentro dos limites normais, assim como função renal, exceto para linfopenia leve e trombocitopenia. Foi realizada bursectomia, e o material coletado foi cultivado em ágar chocolate, sangue e SD, no qual cresceram colônias semelhantes às leveduras. Microscopicamente, foram observados esporângios esféricos de diferentes tamanhos, contendo vários endósporos. O exame histopatológico revelou tecido fibroso conectivo hialinizado com infiltrado inflamatório moderado e zona de necrose. Esporângios também foram observados em exame de tecido corado pelo GMS e PAS. O microrganismo foi identificado como *P. wickerhamii* pelo sistema VITEK 2. Iniciou-se tratamento com anfotericina B e desoxicolato, mas foi alterado após dois dias para voriconazol devido à disfunção renal. Porém, dois dias após o início do tratamento com voriconazol, testes de susceptibilidade antifúngica demonstraram resistência aos azóis e, portanto, o uso de voriconazol foi interrompido. O paciente foi acompanhado durante 24 meses, sem sinais de reinfecção local ou infecção sistêmica (RAMÍREZ *et al.*, 2016).

- Artigo 6

Fernández e colaboradores (2017), conduziram um caso de uma mulher de 56 anos, no Instituto de Medicina Regional na Argentina. Em 2014, a paciente apresentou-se ao departamento de micologia com abscesso no tornozelo esquerdo. A paciente relatou que observou um abscesso na palma da mão direita em 2009, o qual

desapareceu sem tratamento. Em 2010, foi internada por pneumonia, onde foi confirmado diagnóstico de histoplasmose. Em 2013, um segundo abscesso surgiu no cotovelo esquerdo, sendo diagnosticado como bursite do olécrano e feito biópsia excisional. O exame histopatológico revelou granuloma inflamatório com foco de abscesso. Outros exames revelaram linfocitose e hipergamaglobulinemia policlonal. Imunofenotipagem por citometria de fluxo em sangue periférico e técnicas de imunohistoquímica em biópsia da medula óssea sugeriram leucemia de linfócitos T. Ainda em 2013, um terceiro abscesso se desenvolveu na palma da mão esquerda. O abscesso foi removido através de cirurgia, o material purulento foi coletado e enviado para exame histopatológico. Ao exame histopatológico, observou-se microrganismos sugestivos de *Paracoccidioides brasiliensis*, porém, este achado não foi confirmado. Foi realizado exame direto e coloração com Giemsa da quarta punção de abscesso, onde foi possível observar estruturas não-brotantes com aparência de mórula e esporângios contendo endósporos, sugestivo de *Prototheca* spp. O material foi cultivado em ágar SD contendo cloranfenicol, onde cresceram colônias esbranquiçadas de cor creme, semelhantes às leveduras. O sistema API 20C identificou as colônias como sendo da espécie *P. wickerhamii*. O tratamento foi iniciado com anfotericina B. Em 2015, a condição da paciente piorou, sendo necessária internação na UTI, onde faleceu dois dias depois de uma possível síndrome hemofagocítica (FERNÁNDEZ *et al.*, 2017).

- Artigo 7

Jenkinson e colaboradores (2018), Estados Unidos, realizaram um relato de caso de um homem de 70 anos que apresentou erupção cutânea dolorosa e coceira no braço direito há um mês. O histórico do paciente mostrava diabetes mellitus tipo dois e psoríase, esta última tratada com ustecinumabe por via subcutânea a cada 12 semanas. Ele negou trauma anterior na região lesionada e contato recente com banheiras de hidromassagem, nascentes, lagos e oceanos. Ao exame físico, foi observada uma grande mancha eritematosa envolvendo o antebraço direito. O exame histopatológico, corado com H&E, após biópsia por punção, revelou extensa inflamação granulomatosa da derme. O exame após coloração com PAS mostrou organismos arranjados em forma de mórula. Em ágar sangue, houve crescimento de colônias semelhantes às leveduras. O sistema VITEK 2 identificou a espécie como

sendo *P. wickerhamii*. O paciente foi tratado com itraconazol com sucesso. Os autores sugerem que é possível que o uso de ustecinumabe possa ter contribuído para o desenvolvimento de prototecose no paciente, uma vez que este medicamento atua bloqueando a subunidade compartilhada de IL-12 e IL-23 e, estudos demonstram que certas interrupções genéticas dessas vias têm aumentado a suscetibilidade às doenças micobacterianas (JENKINSON *et al.*, 2018).

- Artigo 8

Yagnik e colaboradores (2019), no departamento de medicina da *University of Florida College of Medicine*, Estados Unidos, descreveram um caso de um homem de 45 anos, que procurou o serviço de emergência com queixa de dor no cotovelo esquerdo. O paciente relatou que lesionou o cotovelo esquerdo em uma árvore seis meses antes, o qual observou inchaço que desapareceu após uso de gelo e antiinflamatórios. Dois meses após a lesão sofrida, foi diagnosticado com HIV/AIDS. A terapia antirretroviral foi iniciada com emtricitabina, tenofovir-alafenamida e dolutegravir, além de dapsona para profilaxia de *Pneumocystis*. O teste de HIV foi repetido dois meses após o início do tratamento revelando carga viral indetectável. Dois meses depois, o paciente apresentou piora da dor e inchaço no cotovelo esquerdo, levando-o a procurar novamente o hospital. Durante a admissão, a carga viral continuava indetectável. Foi realizada cirurgia para incisão e drenagem da lesão. O material coletado foi cultivado em ágar chocolate, no qual houve crescimento de colônias semelhantes às leveduras. Microscopicamente, foram observados organismos semelhantes ao aspecto de uma mórula, corados pelo Gram. O material foi encaminhado a um laboratório de Virgínia, que identificou a colônia como sendo *P. wickerhamii*, por meio de espectrometria de massa MALDI-TOF. O paciente foi submetido a tratamento com itraconazol. Porém, cinco dias depois, o paciente teve piora do quadro, retornando ao hospital. Uma segunda incisão e drenagem foram realizadas, assim como realização de culturas, revelando a mesma espécie encontrada anteriormente. O paciente foi então tratado com anfotericina B lipossomal em associação com doxiciclina, obtendo melhora clinicamente significativa após três dias de tratamento (YAGNIK *et al.*, 2019).

Quadro 2 – Resumo dos artigos de prototecose na América

(Continua)

Artigo	Local	Sexo/ Idade	Comorbidade ou fator de risco	Sinais e sintomas	Tipo	Diagnóstico	Espécie identificada	Tratamento/ evolução do paciente
1 (MEJIA- OTERO <i>et al.</i> , 2012)	Estados Unidos	(F) 67	LES, DM e uso de corticoide e belimumabe	Tosse, fadiga, taquicardia, febre baixa e hipoxemia	Disseminada	Hemocultura e exame microscópico	<i>P. wickerhamii</i>	Anfotericina B/ Cura
2 (FIGUEROA <i>et al.</i> , 2014)	Estados Unidos	(F) 78	Mieloma múltiplo	Lesões cutâneas eritematosas, nodulares e papulares localizadas nas coxas, cotovelos, pulsos, rosto e tronco	Disseminada	Exame histopatológico e microscópico, cultura e testes de assimilação de açúcar	<i>P. wickerhamii</i>	Anfotericina B seguido de voriconazol/ cura
3 (NGUYEN & ROSEN, 2015)	Estados Unidos	(F) 72	Histórico de câncer de mama, DM, insuficiência cardíaca congestiva e LLC	Placas eritematosas envolvendo preferencialmente a superfície dorsal de ambas as extremidades superiores	Cutânea	Exame histopatológico, cultura e testes de assimilação de açúcar	<i>P. wickerhamii</i>	Tetraciclina e anfotericina B/ Óbito
4 (BANDARA NAYAKE <i>et al.</i> , 2015)	Estados Unidos	(M) 59	Transplante renal	Estado mental alterado, perinéfrico adjacente ao enxerto e abscessos	Disseminada	Exame microscópico, cultura e sistema VITEK 2	<i>P. wickerhamii</i>	Desbridamento cirúrgico e anfotericina B/ Óbito

Quadro 2 – Resumo dos artigos de prototecose na América

(Conclusão)

Artigo	Local	Sexo/ Idade	Comorbidade ou fator de risco	Sinais e sintomas	Tipo	Diagnóstico	Espécie identificada	Tratamento/ evolução do paciente
5 (RAMÍREZ <i>et al.</i> , 2016)	Colômbia	(M) 74	Transplante simultâneo de fígado e rim e mergulho no Mar do Caribe	Lesão nodular eritematosa no cotovelo direito	Bursite do olécrano	Exame histopatológico, cultura e sistema VITEK 2	<i>P. wickerhamii</i>	Bursectomia/ Cura
6 (FERNÁNDEZ <i>et al.</i> , 2017)	Argentina	(F) 56	Histoplasmose e leucemia de linfócitos T	Abcessos na palma da mão direita e esquerda, no cotovelo e tornozelo esquerdo	Cutânea	Exame histopatológico e direto, cultura e sistema API 20C	<i>P. wickerhamii</i>	Excisão cirúrgica e anfotericina B/óbito (possível síndrome hemofagocítica)
7 (JENKINSON <i>et al.</i> , 2018)	Estados Unidos	(M) 70	DM e psoríase	Erupção cutânea e coceira no braço direito	Cutânea	Exame histopatológico, cultura e sistema VITEK 2	<i>P. wickerhamii</i>	Itraconazol/ Cura
8 (YAGNIK <i>et al.</i> , 2019)	Estados Unidos	(M) 45	HIV/AIDS e trauma	Dor e inchaço no cotovelo esquerdo	Bursite do olécrano	Cultura, exame microscópico e MALDI-TOF	<i>P. wickerhamii</i>	Excisão cirúrgica e itraconazol seguido de anfotericina B em associação com doxiciclina/ Cura

5.2.2 Prototecose na Oceania, África e Europa

- Artigo 1

Kwong e colaboradores (2013), Austin Health, Austrália, reportaram um caso de um homem de 61 anos. O paciente informou que há três anos apresentava múltiplas lesões cutâneas ulceronodulares recorrentes principalmente nos braços e pernas. Na época, ele morava e mergulhava em Palau, Micronésia. Além disso, também morou durante longos períodos no leste da Austrália e Tasmânia, bem como uma breve passagem em Papua Nova Guiné antes do surgimento das lesões. Foi feito tratamento com antibióticos orais, antifúngicos e injeção de esteroides, sem sucesso, visto que houve o aparecimento de novas lesões, sem cura das lesões anteriores. Foi realizada excisão cirúrgica e biópsia da lesão, onde mostrou a presença de organismos arredondados com endósporos sugestivos de *Prototheca* spp., corados com GMS e PAS. O paciente iniciou tratamento com itraconazol, porém continuou a desenvolver novas lesões, algumas clinicamente sugestivas de úlcera de Buruli. Cultura e PCR foram realizadas, sendo negativas para *Mycobacterium ulcerans*. O paciente então procedeu, em Melbourne, a uma nova excisão cirúrgica de lesão recente no antebraço. O exame histopatológico revelou as mesmas estruturas observadas anteriormente, as quais eram sugestivas de *Prototheca* spp. Culturas em ágar sangue e SD mostraram colônias similares às leveduras, que foram identificadas como *P. wickerhamii* através do sistema VITEK 2 e APIs, e confirmada por sequenciamento da região genômica 18S. Outros testes da função imunológica do paciente foram realizados, revelando hipogamaglobulinemia. Iniciou-se tratamento com voriconazol por três meses com sucesso, não sendo observado recidiva após seis meses de acompanhamento. Segundo os autores este foi o primeiro caso de prototecose em um paciente com hipogamaglobulinemia, embora não seja possível afirmar se a prototecose manifestou-se por esta razão ou se as duas condições ocorreram por acaso (KWONG *et al.*, 2013).

- Artigo 2

Macesic e colaboradores (2014), em Melbourne, na Austrália, relataram o caso de uma mulher de 56 anos que recebeu transplante de células-tronco hematopoiéticas após a quarta recidiva de linfoma difuso de grandes células B. Após o transplante, a paciente foi tratada com fludarabina e ciclofosfamida. Imunoglobulina de coelho

antitímocitos, metotrexato e ciclosporina foram introduzidos como profilaxia para a doença do enxerto contra o hospedeiro (GVHD), além de fluconazol como profilaxia antifúngica. A terapia pós-transplante foi complicada por enterocolite neurotrópica, bacteremia causada por *Enterococcus* resistente à vancomicina e suspeita de doença veno-oclusiva que exigiu internação na UTI 11 dias após o transplante. No dia 13, por causa de febre persistente, foi iniciado tratamento com anfotericina B, obtendo melhora do quadro febril. No dia 30, a paciente retornou à UTI, onde precisou ser entubada devido ao agravamento da insuficiência respiratória, com pneumonite intersticial pós-transplante. Foi iniciado tratamento com metilprednisolona e etanercepte por suspeita de GVHD. No dia 38, foi reiniciada a terapia empírica antibacteriana e antifúngica devido à possibilidade de infecção. Sinais de infecção foram observados no local de inserção do cateter venoso central jugular interno no dia 46, além de presença de hematoma no braço direito. Hemoculturas foram retiradas do cateter e o cateter foi removido. Após 48 horas, as hemoculturas tornaram-se positivas com células esféricas de tamanhos variados. As hemoculturas foram inoculadas em ágar Sabouraud, ágar-chocolate e ágar-sangue, onde houve crescimento de colônias de cor creme. O exame microscópico com lactofucsina revelou numerosos esporângios contendo endósporos com aparência de mórula. Os sistemas VITEK 2 e API 20C identificaram o isolado como *P. zopfii*. A paciente estava em uso de caspofungina desde o dia 43, a qual foi substituída por anfotericina B, após confirmação da espécie. No entanto, novas lesões começaram a surgir sendo então adicionados tetraciclina, terbinafina e posaconazol ao tratamento. Mesmo com a mudança na terapia medicamentosa, as hemoculturas continuaram positivas para *P. zopfii*. O estado clínico da paciente piorou com o início de febres e neutropenia progressiva. A terapia antibacteriana empírica foi reiniciada com teicoplanina e piperacilina-tazobactam. Foi realizada excisão cirúrgica no dia 62 devido ao surgimento de novas lesões. A paciente piorou após cirurgia, sendo necessária internação na UTI, onde a paciente faleceu no 63 dia após o transplante (MACESIC *et al.*, 2014).

- Artigo 3

Konzi e colaboradores (2019), no Marrocos, conduziram um caso de um homem de 31 anos. Em 2000, o paciente foi admitido pela primeira vez por apresentar histórico de dor abdominal crônica, diarreia sanguinolenta, perda de peso significativa e candidíase mucocutânea crônica. O paciente foi diagnosticado com doença inflamatória

intestinal, sendo submetido a tratamento com corticoide e foi realizada colectomia subtotal, em 2006. O exame histopatológico mostrou inflamação granulomatosa não necrosante. Coloração com PAS revelou numerosas células redondas e unicelulares com paredes espessas, que foram identificadas erroneamente como sendo *Cryptococcus* spp. Não foi feita cultura micológica. Em 2017, o paciente foi readmitido com queixa de dor abdominal e diarreia sanguinolenta. O exame físico revelou candidíase oral e cutânea, e a colonoscopia revelou pólipos sigmóides e retais. Biópsias foram realizadas e submetidas a exames histopatológicos e micológicos. O exame histopatológico corado com PAS demonstrou organismos unicelulares com paredes espessas. Os cultivos foram feitos utilizando o ágar SD, Sabouraud-cloranfenicol e Sabouraud-cicloheximida. Após 48 horas, observou-se crescimento de colônias lisas, úmidas, brancas e cremosas, semelhantes às leveduras. Não houve crescimento no meio Sabouraud-cicloheximida. A análise microscópica, a partir das culturas coradas com lactofenol azul de algodão, mostrou células unicelulares de tamanhos variáveis com parede espessa e refrativa, sendo observada clivagem interna de endósporos, com aparência semelhante a uma mórula, característica de *Prototheca* spp. A espécie *P. wickerhamii* foi identificada através do sistema API 20C. Testes de susceptibilidade antifúngica *in vitro* revelaram que a anfotericina B foi o único antifúngico que demonstrou efeito inibitório. Entretanto, a anfotericina B não estava disponível para tratamento. Foi então iniciado tratamento com fluconazol. Os sintomas diminuíram rapidamente, porém o paciente piorou e foi ao óbito. Os autores concluíram que o diagnóstico final de prototecose foi atrasado devido a confusão com o diagnóstico de doença inflamatória crônica e que o uso prolongado de corticoides pode ter levado à imunossupressão, contribuindo para a disseminação da infecção por *Prototheca* (KONZI *et al.*, 2019).

- Artigo 4

Zak e colaboradores (2012) descreveram o caso de um paciente masculino de seis meses de idade, com hidrocefalia congênita, no Departamento de Neurocirurgia do Hospital Universitário Infantil de Cracóvia, na Polônia. Na admissão, observou-se sinais de aumento da pressão intracraniana, febre e vômito. No histórico do paciente constava inserção de *shunt* ventriculoperitoneal para tratamento de hidrocefalia. No entanto, três meses depois, foi removido devido infecção por *Staphylococcus epidermidis*, sendo necessário realizar punções lombares diárias. O líquido foi coletado e incubado em um

sistema automático (BACTEC 9240). As culturas positivas foram subcultivadas em ágar sangue e ágar SD, onde cresceram colônias cremosas, brancas, semelhantes às leveduras. O sistema ATB ID32C foi usado, o qual mostrou assimilação de galactose, glicose, glicerol e trealose. Microscopicamente, foram observados numerosos esporângios esféricos contendo múltiplas septações com uma aparência de mórula. O diagnóstico foi feito por sequenciamento genético, sendo identificada a espécie *P. wickerhamii*. O tratamento foi iniciado com administração oral de cetoconazol por nove dias, seguida por uma terapia combinada de fluconazol e anfotericina B por via intravenosa, durante três dias. A partir do terceiro dia do tratamento combinado, todas as culturas de líquido foram negativas e os sinais de neuroinfecção e o aumento da pressão intracraniana foram resolvidos. De acordo com os autores, este é o quarto caso relatado de prototecose envolvendo o sistema nervoso central e o primeiro a ser descrito em uma criança, assim como o primeiro caso de prototecose humana na Polônia (ZAK *et al.*, 2012).

Quadro 3 – Resumo dos artigos de prototecose na Oceania, África e Europa

Artigo	Local	Sexo/Idade	Comorbidade ou fator de risco	Sinais e sintomas	Tipo	Diagnóstico	Espécie identificada	Tratamento/ evolução do paciente
1 (KWONG <i>et al.</i> , 2013)	Austrália	(M) 61	Mergulhador e hipogamaglobulinemia	Lesões cutâneas ulceronodulares recorrentes principalmente nos braços e pernas	Cutânea	Exame histopatológico, cultura e sistemas VITEK 2 e APIs	<i>P. wickerhamii</i>	Voriconazol/ Cura
2 (MACESIC <i>et al.</i> , 2014)	Austrália	(F) 56	Linfoma difuso de grandes células B	Febre e hematoma no braço direito	Disseminada	Cultura, exame microscópico e sistemas VITEK 2 e API 20C	<i>P. zopfii</i>	Anfotericina B em associação com tetraciclina, terbinafina e posaconazol/ Óbito
3 (KONZI <i>et al.</i> , 2019)	Marrocos	(M) 31	Candidíase mucocutânea crônica e uso de corticoide	Dor abdominal, diarreia sanguinolenta e pólipos sigmóides e retais	Disseminada	Exame micológico e histopatológico, cultura e sistema API 20C	<i>P. wickerhamii</i>	Fluconazol/ Óbito
4 (ZAK <i>et al.</i> , 2012)	Polônia	(M) 6 meses	Hidrocefalia congênita	Aumento da pressão intracraniana, febre e vômito	Disseminada	Exame microscópico, cultura, sistema ATB ID32C e sequenciamento genético	<i>P. wickerhamii</i>	Cetoconazol seguido por uma terapia combinada de fluconazol e anfotericina B IV/ Cura

5.2.3 Prototecose na Ásia

- Artigo 1

Zhang e colaboradores (2011), Hospital Huashan, na China, reportaram um caso de uma mulher de 66 anos. Na admissão, a paciente relatou que realizou cirurgia devido ao trauma sofrido no dedo médio direito há oito meses e desde então apresenta movimentos limitados no dedo afetado. Além disso, ela era diabética e hipertensa. No exame físico foram observadas cicatrizes antigas com nódulos palpáveis no dedo médio direito. A análise micológica revelou colônias cremosas de cor creme semelhante às leveduras após cultivo em ágar SD. Esporângios contendo endósporos de diferentes tamanhos foram visualizados no exame microscópico. Testes de assimilação de carboidratos identificaram o isolado como *P. zopfii*. O isolado foi enviado para ATCC (*American Type Culture Collection*) para sequenciamento molecular, onde foi amplificado por PCR, sendo identificada como *Prototheca zopfii* var. *portoricensis*. O exame histopatológico do tecido necrótico corado com PAS demonstrou diversos esporângios esféricos com parede proeminente. A paciente foi tratada com desbridamento cirúrgico agressivo e anfotericina B e itraconazol com sucesso. Durante o tratamento, a cicatriz na superfície do dedo médio direito ainda existia, entretanto, a função flexível havia melhorado. Os autores sugerem que é possível que a paciente tenha desenvolvido prototecose após trauma devido a contato com equipamentos ou solução contaminada por *Prototheca* durante procedimentos cirúrgicos, além do fato da paciente apresentar diabetes (sendo um fator de predisposição), o que pode ter contribuído para a infecção por *Prototheca* (ZHANG *et al.*, 2011).

- Artigo 2

Srisuttiyakorn e Sindhuphak (2012), na Tailândia, relataram o caso de uma mulher de 74 anos com histórico de manchas pruriginosas eritematosas na parede abdominal inferior há quatro meses. Ela informou que havia usado esteroides tópicos e fitoterápicos tradicionais feitos de folhas frescas de *Coccinia grandis* misturados com farinha e água. A paciente negou doenças subjacentes e trauma anterior. O exame físico revelou múltiplas pápulas eritematosas e manchas com alteração cutânea

atrófica em ambos os lados da parede abdominal inferior logo acima da região inguinal. Um diagnóstico provisório de eczema crônico foi feito. Biópsia de pele foi realizada para excluir outras infecções crônicas e malignidades. O exame histopatológico revelou infiltração difusa na derme superior e média com inflamação mista composta de linfócitos e células plasmáticas. Além disso, numerosas estruturas semelhantes a mórulas foram vistas, coradas com PAS e H&E. Houve crescimento de colônias semelhantes às leveduras em ágar SD. A análise microscópica dessas colônias demonstrou organismos esferoides em forma de mórula. O teste de assimilação de açúcar revelou fermentação de glicose, galactose e glicerol, que era consistente com *P. wickerhamii*. O tratamento foi iniciado com itraconazol, porém, foi interrompido devido aos efeitos colaterais do antifúngico. Foi sugerido tratamento com anfotericina B, no entanto, a paciente recusou permanecer no hospital para a administração do medicamento. A paciente então recebeu doxiciclina. Todas as lesões foram curadas após três meses e o tratamento foi suspenso. A paciente foi acompanhada durante seis meses, sem recidiva. Segundo os autores, este foi o primeiro caso de prototecose cutânea que foi tratado com sucesso apenas com doxiciclina (SRISUTTIYAKORN & SINDHUPHAK 2012).

- Artigo 3

Lu e colaboradores (2012), *Sun Yat-sen Memorial Hospital*, na China, relataram dois casos de prototecose. O primeiro caso era de um homem de 69 anos, diabético, que se apresentou com histórico de placas eritematosas e lesões crostosas no antebraço direito, mão e perna com dor intensa após uma lesão traumática há seis meses. O paciente negou contato com o solo, esgoto, plantas, ou uso de medicamentos. O paciente foi diagnosticado com diabetes mellitus há seis meses e não tinha sido submetido a tratamento regular. Esfregaço direto da lesão crostosa no antebraço direito mostrou estruturas que pareciam ser esporângios com endósporos. A cultura do mesmo material coletado em SD demonstrou colônias brancas e cremosas semelhantes às leveduras. Análise microscópica revelou as mesmas estruturas observadas no esfregaço direto. Na cultura da perna o tecido foi positivo para crescimento de *Aeromonas hydrophila*. No exame histopatológico, foram vistas necrose da fáscia superficial e infiltração neutrofílica da derme e fáscia. Além disso, foi observado inflamação granulomatosa com células gigantes, linfócitos e neutrófilos

na derme do antebraço. Vários esporângios com muitos endósporos foram detectados corados com PAS e H&E. A espécie *P. wickerhamii* foi identificada por API20C e PCR. O tratamento da prototecose foi feito com voriconazol intravenoso em associação com cefalosporina de amplo espectro para tratamento da infecção por *Aeromonas*, seguida de terapia de manutenção com antifúngico oral. Foi observada melhora do quadro. Contudo, o paciente recebeu alta do hospital e retornou para casa sem finalizar o tratamento por motivos econômicos. O paciente continuou com a terapia de manutenção com o antifúngico e antibacteriano, mas não conseguiu controlar a infecção e faleceu de septicemia semanas depois. O segundo caso era de uma mulher de 44 anos com histórico de psoríase há 10 anos, sendo tratada com corticoide tópico. A paciente manifestou edema e lesão ulcerativa com crosta no abdome há 10 dias. Além disso, também relatou febre há três dias. Ela negou contato com o solo, esgoto, plantas ou histórico de uso de antifúngicos. Exames micológicos e histopatológicos revelaram a presença de *Prototheca* spp, identificada como *P. wickerhamii* em cultura. O sistema API20C e sequenciamento genético também chegaram no mesmo resultado. O tratamento foi realizado com fluconazol intravenoso seguido de fluconazol oral com melhora dos sintomas e desaparecimento da febre. Depois disso, o tratamento foi alterado para voriconazol intravenoso seguido de voriconazol oral apresentando melhora significativa do quadro (LU *et al.*, 2012).

- Artigo 4

Seok e colaboradores (2013), na Coreia, reportaram o caso de um homem de 68 anos. O paciente apresentou-se com uma lesão eritematosa com crosta no pulso esquerdo. A lesão havia se desenvolvido cerca de um mês antes, sem histórico de trauma na região acometida. O paciente queixava-se de má ingestão oral e diarreia há uma semana. O histórico contava com osteoartrite, a qual ele fazia tratamento há 20 anos, além de tratamento cirúrgico para perfuração do intestino delgado, aderência, e peritonite há três anos. Sua profissão era de catador de lixo para reciclagem. Foi realizada uma biópsia por punção, sendo observado inflamação granulomatosa com histiócitos epitelioides, células gigantes e necrose. A coloração com PAS revelou organismos esféricos não-brotantes com múltiplos esporângios contendo endósporos com aparência de mórula sugestivos de *Prototheca*. A identificação da espécie foi realizada por PCR, onde foi identificado a espécie *P. zopfii*.

O tratamento foi feito com itraconazol com sucesso. Este foi o primeiro caso de prototecose causada por *P. zopfii* na Coreia (SEOK *et al.*, 2013).

- Artigo 5

Zhang e colaboradores (2014), na China, relataram um caso de um homem de 80 anos que apresentou erupções no pescoço e peito com coceira há três meses. Não havia histórico de trauma e nem condições de imunodeficiência subjacentes. O exame dermatológico mostrou placas eritematosas e pápulas vermelho-escuras do lado direito de seu pescoço e peito. Um exame direto preparado com hidróxido de potássio, do material obtido da lesão, não revelou hifas ou esporos. Colônias lisas, brancas e semelhantes às leveduras foram observadas no ágar SD, que mostrou esporângios esféricos a ovais com muitos endósporos no exame microscópico. Foi realizada biópsia da pele, que revelou paraqueratose fragmentária com acúmulo de neutrófilos e acantose leve na epiderme e alterações inflamatórias granulomatosas na derme. O elemento típico de mórula com subdivisões simétricas características de *P. wickerhamii* foi observado corado com PAS. A espécie *P. wickerhamii* foi caracterizada pelo sistema API 20C e PCR. O tratamento foi realizado com itraconazol e cetoconazol creme 2%, com sucesso (ZHANG *et al.*, 2014).

- Artigo 6

Yun e colaboradores (2015), na Coreia, relataram o caso de uma mulher de 70 anos, que manifestou um quadro de coceira em ambos os antebraços há dois meses, que conseqüentemente causou a formação de exsudatos e placas eritematosas acompanhadas de dor intensa. A paciente apresentava hipertensão e diabetes e fazia tratamento por dois anos. Além disso, o histórico médico anterior mostrava tuberculose pulmonar, que estava completamente resolvido. O exame dermatológico revelou placas eritematosas purulentas com ulceração nas superfícies extensoras de ambos os antebraços. Uma biópsia de pele mostrou inflamação granulomatosa densa com múltiplas células inflamatórias mistas, incluindo neutrófilos, eosinófilos e linfócitos. Esporângios com múltiplos endósporos semelhantes ao aspecto de mórula foram visualizados com coloração de H&E e PAS. Uma amostra de tecido da pele foi cultivada em ágar SD com e sem cicloheximida, porém, não ocorreu crescimento de colônias. A espécie *P. wickerhamii* foi identificada por PCR.

O tratamento foi iniciado com itraconazol. No entanto, o exsudato e as lesões cutâneas não se reduziram após seis semanas de tratamento. Sendo assim, foi introduzido voriconazol no esquema terapêutico, com melhora do quadro clínico. Contudo, o tratamento teve que ser novamente alterado para itraconazol devido aos efeitos colaterais. Após cinco meses de terapia, as lesões estavam completamente curadas, deixando cicatrizes atróficas. A paciente foi acompanhada durante um ano, sem recidiva (YUN *et al.*, 2015).

- Artigo 7

Gandham e colaboradores (2015), na Índia, descreveram um caso de uma mulher de 55 anos. A paciente relatou que notou descoloração e descolamento das unhas do polegar e indicador direito seis meses antes. Ela também queixou de dor leve recente nas unhas afetadas. A paciente negou trauma anterior. Sua ocupação era dona de casa. Ninguém da família apresentava queixas semelhantes. No exame físico, foi observada uma descoloração amarelada e onicólise nas unhas acometidas. A unha direita, do meio, também mostrou um pouco de descoloração amarelada. Um diagnóstico provisório de onicomiose foi feito com base nas queixas, duração da doença e exame clínico da unha. Foi realizada raspagem das unhas e o material coletado foi encaminhado para cultura e exame microscópico. O tratamento foi iniciado com terbinafina e aplicação local de ciclopirox olamina durante um mês. O exame microscópico de lâminas do raspado das unhas, clarificadas com KOH não revelou formas filamentosas e sim estruturas semelhantes a leveduras globulares. Houve crescimento de colônias pequenas, de coloração branco a creme no ágar SD. A coloração com Gram mostrou células gram-positivas semelhantes a leveduras de diferentes tamanhos. O exame microscópico de lâminas coradas com lactofenol azul de algodão revelou células redondas a ovais de tamanhos variados com endósporos no interior lembrando o aspecto de mórula sugestivos do gênero *Prototheca*. O isolado foi identificado como *P. zopfii*, no sistema VITEK 2. O isolado também foi enviado para *National Culture Collection of Pathogenic Fungi (NCCPF)* confirmando *P. zopfii* como a espécie causadora da infecção. A paciente iniciou o tratamento com base no diagnóstico provisório e não retornou para acompanhamento. Os autores comentaram que este é o primeiro caso de prototecose ungueal na Índia e o terceiro relatado na literatura (GANDHAM *et al.*, 2015).

- Artigo 8

Murata e colaboradores (2015), *Steel Yawata Memorial Hospital*, no Japão, reportaram o caso de uma mulher de 65 anos que apresentou extensas lesões ulcerativas na perna direita há duas semanas. O exame físico mostrou placas eritematosas, nódulos e úlceras necróticas na perna. O histórico da paciente continha LES e diabetes mellitus, além de uso de metilprednisolona por 30 anos. As lesões eram refratárias a diversos tratamentos com antibióticos, por isso, foi indicado o aumento na dose de metilprednisolona sob suspeita de que as lesões haviam se desenvolvido devido ao agravamento do LES. No entanto, o quadro piorou, ocorrendo expansão das lesões nos braços e pernas da paciente. Foi realizada biópsia da pele, que mostrou infiltrados inflamatórios densos de neutrófilos, linfócitos e histiócitos e numerosos corpos moruloides redondos de diferentes tamanhos na derme corados com H&E e GMS. O microrganismo foi identificado como *P. wickerhamii* através do sistema API 20C e PCR. A paciente foi submetida a tratamento com anfotericina B. As lesões cutâneas e os sinais vitais melhoraram gradualmente, após dois meses de tratamento. A anfotericina B foi descontinuada depois de quatro meses e substituída pelo voriconazol oral, quando então a paciente recebeu alta do hospital (MURATA *et al.*, 2015).

- Artigo 9

Ahn e colaboradores (2016), *Asan Medical Center*, na Coreia, relataram um caso de prototecose em um menino de 12 anos. Em 2014, o paciente foi internado no hospital devido distúrbio da marcha com distonia da perna direita que havia desenvolvido um mês antes. Ele não apresentava histórico de trauma ou imunodeficiência. Ele não tinha febre, porém apresentava problemas de visão no olho direito. Ressonância magnética e angiografia do cérebro revelaram hidrocefalia comunicante com edema periventricular em todos os ventrículos. Um *shunt* ventriculoperitoneal foi introduzido no oitavo dia para contornar o problema. No momento da inserção do *shunt*, o LCR revelou pleocitose eosinofílica. O exame microscópico do LCR com coloração de Gram não demonstrou microrganismos. No décimo quarto dia, o paciente recebeu alta com melhora do distúrbio da marcha e diminuição do tamanho do ventrículo. Uma amostra do LCR coletada no oitavo dia

mostrou crescimento de colônias brancas cremosas semelhantes às leveduras em SD. O microrganismo foi identificado como *P. wickerhamii* pelo sistema VITEK 2 e sequenciamento de DNA ribossomal 18S. O exame microscópico do LCR revelou esporângios contendo endósporos semelhantes ao aspecto de mórula característico de *P. wickerhamii* corados com Wright–Giemsa e lactofenol azul de algodão. O paciente foi admitido novamente no hospital após identificação do patógeno. Ele reclamou de piora na visão. Foi realizada fundoscopia do olho direito, sendo observado neurite óptica e retinite peripapilar. O tratamento foi iniciado com associação de anfotericina B e hidrocortisona. Os resultados da microscopia e da cultura do LCR ventricular foram negativos para *Prototheca* após três semanas de tratamento, no entanto, continuou com pleocitose e baixo nível de glicose. O *shunt* ventriculoperitoneal foi removido no septuagésimo terceiro dia. Uma cultura derivada do *shunt* ventriculoperitoneal cresceu *Prototheca*. Ele teve alta no octagésimo nono dia de internação com resolução da neuropatia óptica, mas a visão de seu olho direito permaneceu prejudicado. Em 2016, o paciente foi hospitalizado novamente devido ao agravamento da hidrocefalia e aumento do sinal periventricular. O exame do LCR revelou pleocitose eosinofílica. A microscopia do LCR, corado com Gram, não mostrou organismos, mas *P. wickerhamii* cresceu em SD. Ele foi tratado com anfotericina B por nove semanas. O LCR foi negativo para *Prototheca* e a contagem de leucócitos estava normal. Ele teve alta com hidrocefalia melhorada no sexagésimo terceiro dia de hospitalização. Desde a alta, o paciente esteve em acompanhamento periódico sem melhora adicional até outubro de 2016. Em janeiro de 2017, análise do LCR mostrou contagem de leucócitos normalizada e nenhum crescimento bacteriano ou fúngico foi observado. Segundo os autores este é o primeiro caso relatado de meningoencefalite eosinofílica e o primeiro de hidrocefalia comunicante causada por *Prototheca* (AHN *et al.*, 2016).

- Artigo 10

Kim e colaboradores (2017), *Chonnam National University Medical School*, na Coreia, relataram um caso de uma mulher de 71 anos. A paciente apresentou-se ao hospital com queixa de inchaço doloroso na mão direita há um mês. Ela era hipertensa e havia realizado tireoidectomia e artroplastia total do joelho esquerdo. A paciente relatou que foi ferida por um chifre de vaca sete meses antes, o que causou inchaço

na mão sem ferida aberta, ocorrendo cura espontânea. No entanto, um mês antes, sua mão direita ficou inchada e dolorida novamente, sendo feito o uso de antibióticos, sem melhora. Os achados ultrassonográficos sugeriram tenossinovite. A paciente foi submetida a tenossinovectomia e drenagem sob anestesia local. A biópsia sugeriu infecção fúngica, mas as culturas de sangue e tecidos foram negativas. Ao exame físico, foi observado uma incisão de ferida não cicatrizada com secreção purulenta no dorso da mão direita. O exame histopatológico revelou inflamação granulomatosa necrosante composta por necrose geográfica e denso infiltrado inflamatório, e hiperplasia sinovial reativa corado com H&E. Além disso, também foi observado numerosos organismos esféricos de tamanhos variados. *P. wickerhamii* foi identificado através do sistema VITEK 2 e MALDI-TOF. O tratamento foi iniciado com fluconazol intravenoso durante duas semanas, sem sucesso. Após isso, foi realizado teste de suscetibilidade antifúngica, o qual demonstrou resistência aos azólicos e equinocandinas e susceptibilidade à anfotericina B. A terapia foi então alterada para anfotericina B por três semanas, obtendo melhora do quadro (KIM *et al.*, 2017).

- Artigo 11

Inoue e colaboradores (2017), no Japão, reportaram um caso de uma mulher de 85 anos. Ela morava em Kyushu (extremo sul das quatro ilhas principais do Japão). A paciente revela que notou uma lesão avermelhada no antebraço direito, o qual havia recebido tratamento tópico com propionato de clobetasol sem sucesso, visto que a lesão aumentou. No exame físico foi observado eritema infiltrativo e ulceração com aparência de “comido por traças” na superfície extensora do antebraço direito. O exame microscópico direto a partir da secreção da úlcera demonstrou esporângios esféricos semelhantes ao aspecto de mórula. A biópsia da pele revelou numerosos microrganismos com aparência de amora na derme corada com H&E e PAS. Colônias semelhantes às leveduras foram observadas em ágar SD e ágar batata dextrose. A espécie *P. wickerhamii* foi identificada através do sistema API 20C e PCR. O tratamento foi iniciado com fluconazol durante 14 dias. Porém, o exame de sangue revelou disfunção renal leve. Sendo assim, o fluconazol foi substituído por itraconazol. No tratamento das úlceras foi utilizado creme de cetoconazol. Os sintomas desapareceram após dois meses de tratamento e não houve recorrência durante dois anos de acompanhamento (INOUE *et al.*, 2017).

- Artigo 12

Wang e colaboradores (2018), na China, conduziram um relato de um homem de 72 anos. O paciente se queixava de erupções cutâneas com coceira há um ano. Ele relatou que seu antebraço havia sido arranhado por um galho e o ferimento curou-se com formação de cicatriz. Após esse episódio, algumas erupções cutâneas pruriginosas se desenvolveram ao redor da cicatriz e gradualmente se expandiu no braço direito. Ele havia sido diagnosticado com eczema em um hospital local e tratado com esteroides tópicos durante um ano, sem melhora. Sua ocupação era fazendeiro e estava em uma dieta vegetariana estrita por 20 anos. Além disso, ele apresentava hipoalbuminemia. O exame dermatológico revelou múltiplas manchas vermelhas e erodidas e placas eritematosas, junto com pápulas, pústulas, úlceras superficiais, e crostas necróticas na superfície das placas, que estavam espalhados no antebraço direito, cotovelo e braço. O exame histopatológico demonstrou inflamação granulomatosa com células gigantes contendo vários esporângios, linfócitos, e neutrófilos na derme corados com H&E. Diversos esporângios com muitos endósporos foram detectados com coloração de PAS. Colônias branco-cremosas semelhantes a leveduras cresceram em ágar SD. O exame microscópico do material corado com lactofenol azul de algodão mostrou esporângios com aspecto de amora. *P. wickerhamii* foi identificada por PCR. O paciente foi tratado com fluconazol por via endovenosa durante uma semana, seguido por terapia de manutenção de fluconazol oral por duas semanas. Foi observado melhora significativa do quadro clínico após dois meses de tratamento. O paciente foi acompanhado durante seis meses, sem recidiva (WANG *et al.*, 2018).

- Artigo 13

Narayanan e colaboradores (2018), no Instituto de olhos *Sankara Nethralaya*, na Índia, descreveram um caso de um homem de 46 anos. Ele apresentava lesão na córnea esquerda há três meses causada por faíscas de fogo enquanto trabalhava, que progrediu para vermelhidão, clarão e lacrimejamento com cura espontânea. No entanto, o paciente notou a presença de uma mancha branca e posteriormente aumento do tamanho da lesão no olho afetado, fazendo-o procurar tratamento. Ele era diabético há três anos. Na admissão, a acuidade visual corrigida à distância no olho direito era de 20/80 e no olho esquerdo era

20/40. No exame clínico e com lâmpada de fenda, seu olho direito estava normal e o esquerdo levemente congestionado. A córnea apresentava um infiltrado denso de cor branca envolvendo principalmente a área papilar. Foi realizada raspagem da córnea esquerda e feito esfregaço direto e cultura. Não foram observados elementos fúngicos, bactérias ou leveduras nos esfregaços corados com calcofluor e Gram. Entretanto, a suspeita clínica era de ceratite fúngica. O tratamento foi iniciado com antifúngicos tópicos, sendo utilizado voriconazol 1% e natamicina 5% de hora em hora, juntamente com tratamento adjuvante adequado e controle rigoroso para diabetes. Cultura para fungos foi positiva após 10 dias de incubação em caldo de infusão cérebro-coração e na subcultura em ágar SD, sendo observado o crescimento de células esféricas semelhante as leveduras coradas com azul de metileno, Gram e calcofluor. O sistema VITEK 2 identificou o microrganismo como sendo *P. wickerhamii*. PCR e sequenciamento genético confirmaram a espécie. O paciente foi submetido a ceratoplastia penetrante, visto que não houve melhora clínica com o tratamento medicamentoso há mais de um mês. O botão da córnea foi submetido a análises microbiológicas e cultura, onde confirmou *P. wickerhamii* através do sistema VITEK 2. O exame histológico mostrou defeitos focais nas camadas do epitélio e de Bowman sem infiltração celular do estroma, membrana de Descemet normal e endotélio esparso. No pós-operatório, o paciente continuou com voriconazol tópico durante um mês, e tratamento com esteroide foi iniciado após três semanas, sem recorrência de infecção por um período de dois meses de acompanhamento (NARAYANAN *et al.*, 2018).

- Artigo 14

Sethuraman e colaboradores (2018), no *Apollo Hospitals*, na Índia, relataram um caso de um homem de 36 anos. O paciente foi submetido a transplante de fígado devido a doença hepática alcoólica. O curso pós transplante foi complicado por rejeição celular aguda, seguido de um episódio de rejeição celular tardia, após dois meses e dezoito meses respectivamente. Vinte meses pós transplante, ele apresentou celulite na perna direita, tosse persistente e dor no peito. O paciente não se lembrava de trauma anterior na perna direita. As hemoculturas mostraram um isolado sensível de *Klebsiella pneumonia* enquanto TC de tórax eram sugestivas de êmbolos sépticos.

O tratamento foi feito com ceftriaxona intravenosa e após alta com ciprofloxacina oral. No entanto, um mês depois, ele foi readmitido no hospital com fraqueza facial do lado direito, estado mental alterado e hemiparesia. A ressonância magnética do cérebro mostrou múltiplas lesões realçadas. A biópsia cerebral não pôde ser feita devido ao tempo de protrombina elevado e tempo de tromboplastina parcial ativada. Foi iniciado tratamento empírico com meropenem, trimetoprim/sulfametoxazol, anfotericina B e fluconazol. As hemoculturas e mini lavado broncoalveolar, em subcultura, demonstraram o crescimento de colônias de cor creme, não mucoides semelhantes às leveduras em ágar sangue e ágar SD. A coloração de Gram da colônia mostrou células esféricas gram-positivas de tamanhos variados. O organismo foi identificado como *P. zopfii* por MALDI-TOF. O diagnóstico final foi de prototecose disseminada e o tratamento continuou com anfotericina B e fluconazol. No entanto, o estado mental e oxigenação do paciente pioraram progressivamente, levando-o ao óbito sete dias após a admissão. Segundo os autores este foi o primeiro caso de prototecose disseminada causada por *P. zopfii* em paciente de transplante de órgãos sólidos (SETHURAMAN *et al.*, 2018).

- Artigo 15

Sari e colaboradores (2018), Turquia¹, realizam um relato de caso de uma menina de 8 anos. Ela tinha ascendência turca, e era filha de uma união de primos de primeiro grau. A paciente apresentou-se com histórico de dor abdominal e diarreia com sangue há três meses. Ela nasceu a termo, sem complicações e sem histórico médico ou familiar digno de nota. O exame físico observou falta de crescimento. Os exames laboratoriais mostraram anemia, eosinofilia, nível elevado de imunoglobulina E e hipoalbuminemia. A colonoscopia revelou eritema difuso, ulcerações e mucosa colônica friável sugestivo de pancolite. Foi iniciado tratamento com mesalazina, corticosteroides e diversos antibióticos, porém, sem melhora clínica. Biópsia de tecido do cólon revelou numerosos organismos redondos a ovais, além de resposta inflamatória composta por eosinófilos, macrófagos, neutrófilos, linfócitos e células plasmáticas, com várias áreas de ulceração corado com H&E. A análise patológica

¹ A Turquia é um país euro-asiático. No entanto, apresenta maior extensão na Ásia, sendo assim, foi incluído no continente asiático (GUIMARÃES, 2007).

mostrou muitos organismos em endosporulação corado com PAS e GMS. Um ensaio PCR-RFLP identificou o genótipo 2 da *P. zopfi*. A paciente foi tratada com anfotericina B por 28 dias. No quinto dia de tratamento, o quadro diarreico foi resolvido. Nos dias 14 e 28 após o tratamento, a repetição da colonoscopia mostrou aparência normal da mucosa, exceto para mucosa hiperêmica localizada no cólon e reto. As biópsias do cólon mostraram inflamação persistente e presença de organismos com contornos vagos e sem detalhes internos ou núcleos. Portanto, considerando as respostas clínicas e endoscópicas do paciente, assim como a falta de dados claros sobre o medicamento de escolha e duração de tratamento e os desejos da família do paciente (a paciente teve reação anafilática à anfotericina B para a qual precisou sofrer dessensibilização), o tratamento foi interrompido após 28 dias. O diagnóstico raro de prototecose levou à investigação e reconhecimento de uma imunodeficiência primária subjacente, sendo descoberto que a paciente apresentava deficiência hereditária de CARD9. Aproximadamente um ano após o tratamento inicial, a paciente foi admitida novamente com diarreia sanguinolenta, descobriu-se que tinha pancolite e ileíte terminal no cenário de vários organismos viáveis consistentes com *Prototheca*. Ela foi tratada novamente com anfotericina B com sucesso (SARI *et al.*, 2018).

- Artigo 16

Sim e colaboradores (2019), em Taiwan, relataram o caso de um menino de 13 anos. O paciente foi internado devido a febre e presença de secreção no local de sua ileostomia por um dia. Ele havia sido diagnosticado com leucemia mieloblástica aguda (LMA) oito meses antes. O curso de tratamento foi complicado com tiflíte e fístula enterovesical, sendo necessária a introdução de ileostomia seis meses antes. Devido à doença avançada, o paciente escolheu receber quimioterapia paliativa. Além disso, ele havia utilizado fluconazol, levofloxacina e sulfametoxazol-trimetoprima para bacteremia recorrente e fungemia nas últimas três semanas. O paciente negou exposição a animais, fazendas ou corpos d'água naturais. O exame físico revelou ruídos intestinais normoativos, ausência de sensibilidade ou rigidez à palpação, margem do fígado localizada três centímetros abaixo da margem costal direita, ponta do baço palpável e uma ileostomia eritematosa e endurecida com presença de secreção amarela localizada no quadrante inferior direito do abdômen. O paciente foi tratado com teicoplanina, meropenem, micafungina, e trimetoprim-sulfametoxazol

para profilaxia. Porém, ele continuou febril e com descarga ativa da ileostomia. Três semanas depois, a partir de hemoculturas e swab da ileostomia, cresceram colônias lisas, de cor creme e similares a leveduras em ágar cromo. O exame microscópico do material corado com lactofenol azul de algodão demonstrou estruturas assimétricas semelhantes a mórulas. A espécie foi identificada como *P. zoppii* por *Phoenix yeast ID*. A anfotericina B foi sugerida para o tratamento, porém, os pais recusaram por causa de possíveis efeitos colaterais. O paciente evoluiu para óbito dois dias depois devido sepse e insuficiência respiratória (SIM *et al.*, 2019).

- Artigo 17

Zhao e colaboradores (2020), na China, reportaram um caso de um homem de 84 anos. O paciente apresentava múltiplas infecções cutâneas há cerca de três meses sem causa aparente. O histórico do paciente apresentava diabetes mellitus tipo II há quatro anos e gota há seis anos. Sua ocupação era fazendeiro. Ele foi diagnosticado como uma infecção de tecidos moles, com suspeita de origem bacteriana, sendo realizado desbridamento cirúrgico e irrigação e antibioticoterapia. Não foi feito nenhum exame laboratorial e o paciente recebeu alta após o tratamento. Porém, as lesões cutâneas permaneceram e houve disseminação para o braço direito em dois meses. O paciente procurou novamente atendimento médico. O exame físico revelou necrose cutânea e úlceras necróticas no tornozelo e braço direito. As lesões de pele eram vermelhas e quentes. Foi realizada biópsia da pele do braço direito após desbridamento com cloreto de sódio a 0,9% para realização do exame microscópico direto e cultura. Formas de mórula redondas, parecidas com uvas e dispersas foram observadas ao microscópio em azul brilhante corado com lactofenol azul de algodão e em fluorescência verde corado com fluorescência de fungo. Houve crescimento de colônias semelhantes às leveduras no meio ágar Columbia contendo 5% de sangue de ovelha desfibrinado e Sabouraud. A espécie *P. wickerhamii* foi identificada pelo sistema VITEK 2 e amplificação do gene *cytb* por PCR. O tratamento foi feito com o uso de fluconazol e creme de nitrato de econazol na pele danificada após desbridamento e irrigação. As úlceras da pele se recuperaram após duas semanas de tratamento. O paciente foi totalmente recuperado e recebeu alta um mês depois (ZHAO *et al.*, 2020).

- Artigo 18

Palaniappan e colaboradores (2021), na Malásia, conduziram um relato de um caso em um homem de 52 anos. O paciente deu entrada ao pronto socorro de um centro terciário apresentando edema doloroso unilateral no joelho direito por duas semanas, associado a febre leve e esporádica. Ele era funcionário público aposentado e tinha hipertensão. Não havia histórico de trauma, osteoartrite, erupções cutâneas ou envolvimento de outras articulações. O paciente iniciou tratamento empírico com vancomicina e ceftazidima intravenosa. Foi realizado aspiração do fluido sinovial do joelho direito e o material coletado foi cultivado em ágar sangue, chocolate, MacConkey, Schaedler e caldo de tioglicolato. A análise bioquímica do fluido não revelou anormalidades, assim como as culturas do líquido sinovial foram negativas. As amostras de sangue foram cultivadas usando o sistema automatizado *BD BACTEC™*. No terceiro dia de incubação, foi detectado crescimento no frasco aeróbio. A coloração de Gram revelou grandes estruturas semelhantes ao aspecto de uma mórula. Não foram observadas bactérias, elementos fúngicos ou leveduras. Posteriormente, as amostras positivas foram subcultivadas em ágar sangue, chocolate, MacConkey e SD. Houve crescimento de colônias lisas, úmidas e semelhantes a leveduras em ágar SD, sangue e chocolate (estes dois últimos em menor extensão). Não foi observado crescimento no ágar MacConkey. O esfregaço direto das colônias corado com lactofenol azul de algodão demonstrou estruturas similares a uma mórula com melhor clareza. Um diagnóstico provisório de prototecose foi estabelecido. A espécie *P. zopfii* foi identificada por PCR. O paciente foi submetido a tratamento com itraconazol intravenoso, juntamente com vancomicina e ceftazidima para profilaxia de infecções bacterianas. O paciente respondeu bem ao tratamento com alívio dos sintomas, recebendo alta do hospital após duas semanas (PALANIAPPAN *et al.*, 2021).

Quadro 4 – Resumo dos artigos de prototecose na Ásia

(Continua)

Artigo	Local	Sexo/ Idade	Comorbidade ou fator de risco	Sinais e sintomas	Tipo	Diagnóstico	Espécie identificada	Tratamento/ evolução do paciente
1 (ZHANG <i>et al.</i> , 2011)	China	(F) 66	DM e trauma	Lesão no dedo médio	Cutânea	Exame microscópico e exame histopatológico, cultura, testes de assimilação de carboidratos e PCR	<i>P. zopfii</i>	Desbridamento cirúrgico agressivo e anfotericina B e itraconazol/ Cura
2 (SRISUTTIYAKORN & SINDHUPHAK 2012)	Thailândia	(F) 74	Provável trauma não reconhecido em combinação com o uso de esteróides tópicos e fitoterápicos tradicionais	Múltiplas pápulas eritematosas e manchas com alteração cutânea atrófica em ambos os lados da parede abdominal inferior	Cutânea	Exame microscópico e histopatológico, cultura e teste de assimilação de açúcar	<i>P. wickerhamii</i>	Doxiciclina/ Cura
3 (LU <i>et al.</i> , 2012)	China	Caso 1: (M) 69 Caso 2: (F) 44	Caso 1: DM Caso 2: uso crônico de corticoide	Caso 1: placas eritematosas e lesões crostosas no antebraço direito, mão e perna com dor intensa Caso 2: edema e lesão ulcerativa com crosta no abdome, febre	Caso 1: Cutânea Caso 2: Cutânea	Caso 1: esfregaço direto, cultura, exame histopatológico, sistema API20C e PCR Caso 2: exame micológico e histopatológico, cultura, sistema API 20C e sequenciamento genético	Caso1: <i>P. wickerhamii</i> Caso 2: <i>P. wickerhamii</i>	Caso 1: voriconazol IV seguida de antifúngico VO/Óbito Caso 2: fluconazol seguido de voriconazol/Cura

Quadro 4 – Resumo dos artigos de prototecose na Ásia

(Continua)

Artigo	Local	Sexo/ Idade	Comorbidade ou fator de risco	Sinais e sintomas	Tipo	Diagnóstico	Espécie identifica da	Tratamento/ evolução do paciente
4 (SEOK <i>et al.</i> , 2013)	Coreia	(M) 68	Profissão: catador de lixo para reciclagem	Lesão eritematosa com crosta no pulso esquerdo, má ingestão oral e diarreia	Cutânea	Exame histopatológico e PCR	<i>P. zopfii</i>	Itraconazol/ Cura
5 (ZHANG <i>et al.</i> , 2014)	China	(M) 80	-	Placas eritematosas e pápulas vermelho- escuras do lado direito do pescoço e peito com coceira	Cutânea	Exame direto e histopatológico, cultura, sistema API 20C e PCR	<i>P. wickerha mii</i>	Itraconazol e cetoconazol creme 2%/ Cura
6 (YUN <i>et al.</i> , 2015)	Coreia	(F) 70	DM	Placas eritematosas purulentas com ulceração nas superfícies extensoras de ambos os antebraços	Cutânea	Exame histopatológico, cultura e PCR	<i>P. wickerha mii</i>	Itraconazol seguido de voriconazol, alterado novamente para itraconazol/ Cura
7 (GANDHAM <i>et al.</i> , 2015)	Índia	(F) 55	-	Descoloração e onicólise das unhas do polegar e indicador direito com dor	Prototecose ungueal	Exame microscópico, cultura e sistema VITEK 2	<i>P. zopfii</i>	Terbinafina e aplicação local de ciclopirox olamina com base no diagnóstico provisório de onicomicose

Quadro 4 – Resumo dos artigos de prototecose na Ásia

(Continua)

Artigo	Local	Sexo/ Idade	Comorbidade ou fator de risco	Sinais e sintomas	Tipo	Diagnóstico	Espécie identificada	Tratamento/ evolução do paciente
8 (MURATA <i>et al.</i> , 2015)	Japão	(F) 65	LES, DM e uso crônico de corticoide	Placas eritematosas, nódulos e úlceras necróticas na perna	Disseminada	Exame histopatológico, sistema API 20C e PCR	<i>P.</i> <i>wickerhamii</i>	Anfotericina B seguido de voriconazol/ Cura
9 (AHN <i>et al.</i> , 2016)	Coreia	(M) 12	-	Distúrbio da marcha com distonia da perna direita, problemas de visão no olho direito	Disseminada	Cultura, sistema VITEK 2 e sequenciamento genético	<i>P.</i> <i>wickerhamii</i>	Anfotericina B/ Cura
10 (KIM <i>et al.</i> , 2017)	Coreia	(F) 71	Trauma	Inchaço e dor na mão direita	Tenossinovite prototecal	Exame histopatológico, sistema VITEK 2 e MALDI-TOF	<i>P.</i> <i>wickerhamii</i>	Anfotericina B/ Cura
11 (INOUE <i>et al.</i> , 2017)	Japão	(F) 85	-	Eritema infiltrativo e ulceração com aparência de “comido por traças” na superfície extensora do antebraço direito	Cutânea	Exame direto e histopatológico, cultura, sistema API 20C e PCR	<i>P.</i> <i>wickerhamii</i>	Fluconazol seguido de itraconazol e creme de cetoconazol (úlceras)/ Cura
12 (WANG <i>et al.</i> , 2018)	China	(M) 72	Profissão fazendeiro, hipoalbuminemia e trauma	Manchas vermelhas, placas eritematosas, pápulas, pústulas, úlceras superficiais, envolvidas no antebraço direito, cotovelo e braço	Cutânea	Exame microscópico e histopatológico, cultura e PCR	<i>P.</i> <i>wickerhamii</i>	Fluconazol/ Cura

Quadro 4 – Resumo dos artigos de prototecose na Ásia

(Continua)

Artigo	Local	Sexo/ Idade	Comorbidade ou fator de risco	Sinais e sintomas	Tipo	Diagnóstico	Espécie identificada	Tratamento/ evolução do paciente
13 (NARAYANAN <i>et al.</i> , 2018)	Índia	(M) 46	DM e trauma	Lesão na córnea esquerda	Ceratite ulcerativa	Esfregaço direto, cultura, sistema VITEK 2, PCR e sequenciamento genético	<i>P. wickerhamii</i>	Ceratoplastia penetrante e voriconazol tópico seguido de esteroide/ Cura
14 (SETHURAMAN <i>et al.</i> , 2018)	Índia	(M) 36	Transplante de fígado	Celulite na perna direita, tosse persistente e dor no peito, fraqueza facial do lado direito, estado mental alterado e hemiparesia	Disseminada	Cultura, exame microscópico e MALDI-TOF	<i>P. zopfii</i>	Anfotericina B e fluconazol/ Óbito
15 (SARI <i>et al.</i> , 2018)	Turquia	(F) 8	Deficiência hereditária de CARD9	Dor abdominal e diarreia com sangue	Disseminada	Exame histopatológico e PCR	<i>P. zopfii</i>	Anfotericina B/ Cura

Quadro 4 – Resumo dos artigos de prototecose na Ásia

(Conclusão)

Artigo	Local	Sexo/ Idade	Comorbidade ou fator de risco	Sinais e sintomas	Tipo	Diagnóstico	Espécie identificada	Tratamento/ evolução do paciente
16 (SIM <i>et al.</i> , 2019)	Taiwan	(M) 13	LMA	Febre e secreção amarela na ileostomia	Disseminada	Exame microscópico, cultura e <i>Phoenix yeast</i> <i>ID</i>	<i>P. zopfii</i>	Foi sugerido anfotericina B, porém, os pais negaram devido aos efeitos colaterais/ Óbito
17 (ZHAO <i>et al.</i> , 2020)	China	(M) 84	DM, gota e profissão fazendeiro	Necrose cutânea e úlceras necróticas no tornozelo e braço direito	Cutânea	Exame microscópico direto, cultura, sistema VITEK 2 e PCR	<i>P.</i> <i>wickerhamii</i>	Fluconazol e creme de nitrato de econazol/ Cura
18 (PALANIAPPAN <i>et al.</i> , 2021)	Malásia	(M) 52	-	Edema doloroso unilateral no joelho direito e febre	Disseminada	Hemocultura, exame microscópico, cultura, esfregaço direto e PCR	<i>P. zopfii</i>	Itraconazol em associação com vancomicina e ceftazidima (profilaxia de infecções bacterianas)/ Cura

Fonte: Elaborada pela autora, 2021.

Notas: F – sexo feminino; M – sexo masculino; (-) – não apresenta comorbidade ou fator de risco.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A partir da revisão dos relatos de casos de prototecose, foi possível analisar 35 artigos sobre prototecose humana totalizando 36 casos. Observou-se que a prototecose apresenta incidência global, sendo observado casos em todos os continentes, com exceção da Antártica. No Brasil, foram encontrados cinco casos no período de 20 anos, que compreende o intervalo entre 2001 e 2021. No mundo, foram selecionados 31 casos, entre os anos de 2011 e 2021, sendo eles, 19 casos na Ásia, oito casos na América, dois casos na Oceania e, por fim, Europa e África, com apenas um caso relatado em cada continente. A China e os Estados Unidos China foram os países que reportaram o maior número de casos, com seis casos em cada.

Em relação ao sexo e idade dos pacientes, a proporção foi igual para ambos os sexos, sendo observados 18 casos em pacientes do sexo feminino e 18 em pacientes do sexo masculino, enquanto a idade contemplou uma faixa etária ampla, que variou de 6 meses até 85 anos. Contudo, 75% dos casos ocorreram com idade superior a 50 anos, com um total de 27 relatos. Este achado é similar ao encontrado por Todd *et al.*, (2018), onde o autor cita que a incidência é praticamente igual para ambos os sexos e a idade dos pacientes variou entre 78 dias a 88 anos.

Dentre os 36 casos relatados, 22 ocorreram em pacientes imunocomprometidos, ou seja, mais de 60% dos casos. As comorbidades mais encontradas foram a diabetes *mellitus* (nove casos), uso crônico de corticoides (seis casos), malignidades hematológicas ou câncer (cinco casos) e receptores de transplante de órgãos sólidos (três casos). Tem sido postulado que os neutrófilos desempenham um papel crucial na defesa contra as algas do gênero *Prototheca*. Sendo assim, pacientes neutropênicos exibem maior risco de desenvolver prototecose (LASS-FLÖRL & MAYR, 2007).

O trauma no local da lesão demonstrou ser um fator predisponente importante para a ocorrência da prototecose, visto que pode ocorrer contágio mediante inoculação traumática com as algas, sendo observada em oito casos, onde quatro eram de pacientes que além do trauma, apresentavam outras comorbidades existentes e em quatro eram pacientes que só relataram trauma. Não foi encontrado comorbidade ou fatores de risco relevantes de nota em cinco casos. Além disso, em seis relatos de casos, a ocupação e hobby dos pacientes, como a profissão de

fazendeiro, trabalhador rural, catador de lixo para reciclagem e jardinagem, pode ter contribuído para o surgimento da prototecose, uma vez que pode ocorrer transmissão através do contato com solo ou água contaminados (KANO, 2019).

A principal forma clínica observada foi a cutânea com 19 casos, seguido da disseminada com 12 casos e articular com dois casos. O gênero *Prototheca* manifesta-se na maioria dos casos nestas três formas. Todavia, foram relatadas diferentes manifestações, como casos de prototecose ungueal, tenossinovite e ceratite ulcerativa.

Quanto aos sinais e sintomas, a manifestação clínica mais encontrada na forma cutânea foi a presença de placas eritematosas, sendo observada em oito casos, seguido de crostas e úlceras, ambos presentes em cinco casos. Na forma disseminada, ocorreu infecção envolvendo à corrente sanguínea, pele, intestino e sistema nervoso central. Foi constado febre, dor abdominal, diarreia sanguinolenta, estado mental alterado e lesões cutâneas. Já na forma articular, foi evidenciado lesão nodular eritematosa, além de dor e inchaço. Nos casos em que ocorreram diferentes manifestações da *Prototheca*, também apareceram diferentes sinais e sintomas. No relato de caso sobre prototecose ungueal observou-se descoloração e onicólise das unhas com dor, na tenossinovite foi relatado inchaço e dor na mão e houve lesão na córnea na ceratite ulcerativa.

Sobre o diagnóstico, a cultura e o exame histopatológico foram eficientes para a detecção da *Prototheca* na maioria dos casos. Em mais de 50% dos casos, estes dois métodos foram usados concomitantemente. Sabouraud dextrose foi o meio de cultura mais utilizado, onde houve o crescimento de colônias brancas e cremosas semelhantes às leveduras. O exame histopatológico revelou estruturas esféricas a ovais de diferentes tamanhos. A coloração com PAS e GMS foi útil para visualizar com maior clareza estas estruturas, sendo possível observar o formato típico de mórula (ou seja, esporângios contendo endósporos), que são sugestivos do gênero *Prototheca*.

Os testes de assimilação mostraram-se eficientes para a identificação da espécie, sendo utilizados em 25 casos. Entre eles, o sistema API 20C AUX e VITEK 2 foram os mais aplicados. Segundo LASS & FLAUS (2007) a principal diferença entre as espécies *P. wickerhamii* e *P. zoppii* é a assimilação da trealose, cuja qual é observada apenas com *P. wickerhamii*. A espécie mais encontrada foi *P. wickerhamii* com um total de 28 casos, seguido de *P. zoppii* com oito casos.

Técnicas moleculares como PCR, sequenciamento genético, MALDI-TOF complementaram o diagnóstico em 18 casos. O exame PCR foi o mais empregado, abrangendo 12 casos. Recentemente, um estudo realizado por Jagielski *et al.*, (2019) demonstrou que o gene *cytb* foi capaz de identificar todas as espécies de *Prototheca*, tornando-se um marcador genético para a sua diferenciação. No entanto, ocorreu diagnóstico errôneo em dois relatos de casos. No artigo 4 da América, o método MALDI-TOF falhou em identificar o isolado, visto que foi realizado um método direto de extração, o qual não é capaz de detectar organismos *Prototheca*. A amostra foi identificada como sendo *Candida dublinensis*. Já no artigo 3 da África, os esporos de *Prototheca* foram confundidos com *Cryptococcus* spp. Isto reflete a importância da análise microscópica juntamente com a análise macroscópica de modo a evitar erros diagnósticos.

Notou-se que a prototecose apresenta uma variedade de manifestações clínicas, e por esse motivo, além da escassez de casos, não é suspeita clinicamente. Carneiro e colaboradores (2007) sugerem que o gênero *Prototheca* deve ser incluído no diagnóstico diferencial de infecções fúngicas. Visto que os sintomas apresentados podem ser confundidos com infecções fúngicas, como micoses subcutâneas, além de que, em tecido, alguns tipos de fungos podem apresentar características morfológicas semelhantes aos da *Prototheca*, assim como no meio de cultura, onde é observado crescimento similar às leveduras (ZAITZ *et al.*, 2006).

Além disso, Yagnik e colaboradores (2019) ressaltam que *Prototheca* spp. também deve ser inserida no diagnóstico diferencial de pacientes imunocomprometidos com histórico de trauma no local da lesão e/ou exposição à água/solo.

O tratamento ideal não está totalmente esclarecido. Geralmente, testes de susceptibilidade *in vitro* demonstram que *Prototheca* spp. apresenta susceptibilidade variada a anfotericina B e azólicos. Sabe-se que as algas do gênero *Prototheca*, assim como os fungos, possuem ergosterol em sua membrana celular. Sendo assim, os antifúngicos foram os medicamentos mais indicados para o tratamento da prototecose, sendo usado em 33 casos, em mais de 90% dos casos. A classe mais utilizada foi a dos azólicos com 24 casos, seguido da anfotericina B da classe dos poliênicos com 14 casos (visto que estes antifúngicos possuem como alvo de ação o ergosterol), e por último, antibióticos da classe das tetraciclinas com três casos, cujas

quais foram usadas isoladamente ou em associação com uma ou mais classes (NARAYANAN *et al.*, 2018).

Os azólicos mais prescritos foram o itraconazol, fluconazol e voriconazol. De forma isolada, o itraconazol foi usado em cinco, o fluconazol em três, o voriconazol em um e a anfotericina B em quatro relatos de casos. Em relação à anfotericina B, apenas um caso (artigo 15 Ásia) ocorreu reação anafilática. A doxiciclina foi usada isoladamente em um relato de caso (artigo 2 Ásia). De acordo com os autores Srisuttiyakorn & Sindhuphak (2012) este foi o primeiro caso de prototecose que foi tratada apenas com doxiciclina. A excisão cirúrgica foi realizada em sete casos, entre eles, um caso (artigo 5 América) houve cura somente com o procedimento cirúrgico.

Dos 36 relatos de casos descritos, 27 pacientes foram curados e oito evoluíram para óbito. Somente em um caso (artigo 7 Ásia) não há informação sobre a evolução do paciente, uma vez que não retornou para acompanhamento após o diagnóstico de prototecose. Dos oito pacientes que foram a óbito, três ocorreram na Ásia (artigos 3, 14 e 16), três na América (artigos 3, 4 e 6), um na Oceania (artigo 2) e um na África (artigo 3). Todos os pacientes apresentavam comorbidades ou fatores de risco, as quais pode-se destacar malignidades hematológicas, transplantados e diabetes *mellitus*.

Foram observados cinco casos de prototecose disseminada e três de prototecose cutânea. Nos casos de prototecose disseminada, a anfotericina B foi usada em três casos, todas em associação. Houve um caso (artigo 16 Ásia) onde a anfotericina B foi sugerida para o tratamento, porém foi recusada devido à ocorrência de possíveis efeitos colaterais. Além disso, um relato de caso (artigo 3 África), a anfotericina B foi o único medicamento eficaz *in vitro* contra a *Prototheca*, no entanto, o medicamento não estava disponível no país.

Os óbitos em pacientes que apresentaram prototecose cutânea envolveram casos em que o paciente interrompeu o tratamento por motivos financeiros (artigo 3 Ásia), faleceu devido comorbidades já existentes (artigo 3 América) e evoluiu a óbito de possível síndrome hemofagocítica (artigo 6 América).

Apesar de os testes de susceptibilidade apresentarem susceptibilidade variada aos azólicos e anfotericina B, esta variação, segundo Kano (2019), pode ser uma das causas da falha terapêutica. Todd *et al.*, (2018) recomenda que a anfotericina B seja a primeira linha de tratamento contra casos graves de prototecose baseado em

relatos de casos, onde o uso de anfotericina B demonstrou ser o mais eficiente. No entanto, ocorreu falha terapêutica com o seu uso em três casos. Portanto, faz-se necessário mais estudos sobre medicamentos eficazes para o tratamento da prototecose humana, assim como estudos para determinar os pontos de corte de testes de susceptibilidade *in vitro*, visto que, até o momento, não há diretrizes oficiais para seu desempenho ou interpretação (PALANIAPPAN *et al.*, 2021).

Por fim, concluiu-se que, embora a prototecose seja uma doença rara, não deve ser ignorada como uma infecção emergente. É de suma importância que os profissionais da saúde, especialmente aqueles envolvidos em análises clínicas, estejam alertas sobre este patógeno capaz de causar infecção humana, sobretudo em pacientes imunocomprometidos, que é considerado um fator de risco importante para o desenvolvimento da prototecose.

REFERÊNCIAS

- AHN, Ari; CHOE, Yong-Joon; CHANG, Jeonghyun; KIM, Duckhee; SUNG, Heungsup; KIM, Mi-na; HONG, Seok Ho; LEE, Jina; YUM, Mi-Sun; KO, Tae-Sung. Chronic Eosinophilic Meningoencephalitis by *Prototheca wickerhamii* in an Immunocompetent Boy. **Pediatric Infectious Disease Journal**, v. 36, n. 7, p. 687–689, 2017.
- BANDARANAYAKE, T.D.; MONDOLFI, A. Paniz; PEAPER, D.R.; MALINIS, M.F. *Prototheca wickerhamii* algaeaemia: an emerging infection in solid organ transplant recipients. **Transplant Infectious Disease**, [S.L.], v. 17, n. 4, p. 599-604, 7 jul. 2015. Wiley.
- CAMBOIM, Expedito K.A.; NEVES, Patrícia B.; GARINO JÚNIOR, Felício; MEDEIROS, Josemar M.; RIET-CORREA, Franklin. Prototecose: uma doença emergente. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, [S.L.], v. 30, n. 1, p. 94-101, jan. 2010. FapUNIFESP (SciELO).
- CARNEIRO, Fabiana Pirani; MORAES, Mário Augusto P.; REBELO, Ana Maria G.; COUTINHO, Amália M. Prototecose cutânea: relato de caso. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Brasília, v. 4, n. 40, p. 466-468, jul. 2007.
- Cooke, Wm. Bridge. "Studies in the Genus *Prototheca*. II. Taxonomy." **Journal of the Elisha Mitchell Scientific Society**, v. 84, n. 1, 1968, p. 217–220. JSTOR.
- DIPERSIO, Joseph R. *Prototheca* and Protothecosis. **Clinical Microbiology Newsletter**. Rootstown, p. 115-120. ago. 2001.
- FALCARO, Christian; FURLANELLO, Tommaso; BINANTI, Diana; FONDATI, Alessandra; BONFANTI, Ugo; KROCKENBERGER, Mark; MALIK, Richard; DANESI, Patrizia. Molecular characterization of *Prototheca* in 11 symptomatic dogs. **Journal Of Veterinary Diagnostic Investigation**, [S.L.], v. 33, n. 1, p. 156-161, 3 dez. 2020. SAGE Publications.
- FERNÁNDEZ, Mariana S.; ROJAS, Florencia D.; CATTANA, María E.; MUSSIN, Javier E.; SOSA, María de Los Ángeles; BENZONI, Carlos D.; GIUSIANO, Gustavo E. Protothecosis in a patient with T cell lymphocytic leukemia. **Revista Argentina de Microbiología**, [S.L.], v. 49, n. 3, p. 224-226, jul. 2017. Elsevier BV.
- FIGUEROA, Cesar J.; CAMP, Brendan J.; VARGHESE, George I.; MIRANDA, Edwin; QUERFELD, Christiane; HASSOUN, Hani; KAMBOJ, Mini; PULITZER, Melissa P. A Case of Protothecosis in a Patient with Multiple Myeloma. **Journal Of Cutaneous Pathology**, [S.L.], v. 41, n. 5, p. 409-413, 24 abr. 2014. Wiley.

FOLLADOR, I; BITTENCOURT, A; DURAN, F; ARAÚJO, M.G. Cutaneous protothecosis: report of the second Brazilian case. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 43, n. 5, p. 287-290, out. 2001.

GANDHAM, Nr; VYAWAHARE, Cr; CHAUDHAURY, N; SHINDE, Ra. Onychoprototthecosis: an uncommon presentation of protothecosis. **Indian Journal Of Medical Microbiology**, [S.L.], v. 33, n. 3, p. 435-437, jul. 2015. Elsevier BV.

GONÇALVES, Juliano Leonel; LEE, Sarah Hwa In; ARRUDA, Eurico de Paula; GALLES, Débora Pedroso; CAETANO, Vinícius Camargo; OLIVEIRA, Carlos Augusto Fernandes de; FERNANDES, Andrezza Maria; SANTOS, Marcos Veiga dos. Biofilm-producing ability and efficiency of sanitizing agents against *Prototheca zopfii* isolates from bovine subclinical mastitis. **Journal Of Dairy Science**, [S.L.], v. 98, n. 6, p. 3613-3621, jun. 2015. American Dairy Science Association.

GUIMARÃES, Marcos Toyanks Silva. **Turquia: dicotomias e ambivalências de uma possível potência regional**. 2007. 189 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Geografia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2007.

INOUE, Maki; MIYASHITA, Azusa; NOGUCHI, Hiromitsu; HIROSE, Noriyuki; NISHIMURA, Kazuko; MASUDA, Michiaki; IHN, Hironobu. Case report of cutaneous protothecosis caused by *Prototheca wickerhamii* designated as genotype 2 and current status of human protothecosis in Japan. **The Journal Of Dermatology**, [S.L.], v. 45, n. 1, p. 67-71, 16 ago. 2017. Wiley.

JAGIELSKI, Tomasz; BAKUŁA, Zofia; GAWOR, Jan; MACISZEWSKI, Kacper; KUSBER, Wolf-Henning; DYLAŁG, Mariusz; NOWAKOWSKA, Julita; GROMADKA, Robert; KARNKOWSKA, Anna. The genus *Prototheca* (*Trebouxiophyceae*, *Chlorophyta*) revisited: implications from molecular taxonomic studies. **Algal Research**, [S.L.], v. 43, p. 1-19, nov. 2019. Elsevier BV.

JÁNOSI, S.; RÁTZ, F.; SZIGETI, G.; KULCSÁR, M.; KERÉNYI, J.; LAUKÓ, T.; KATONA, F.; HUSZENICZA, G. Review of the microbiological, pathological and clinical aspects of bovine mastitis caused by the alga *Prototheca zopfii*. **Veterinary Quarterly**. The Hague, p. 58-61. abr. 2001.

JENKINSON, Helena; THELIN, Lindsay; MCANDREW, Rachel; JONES, Krystal M.; TALBOTT, L. Brent; DIVEN, Dayna. Cutaneous protothecosis in a patient on ustekinumab for psoriasis. **International Journal Of Dermatology**, [S.L.], v. 57, n. 10, p. 1246-1248, 30 mar. 2018. Wiley.

KANO, Rui. Emergence of Fungal-Like Organisms: *Prototheca*. **Mycopathologia**, [S.L.], p. 747-754, 10 ago. 2019. Springer Science and Business Media LLC.

KIM, Ji-Eun; OH, Tae-Hoon; LEE, Kyung-Hwa; SHIN, Jong-Hee; JUNG, Sook-In. Successful Treatment of Protothecal Tenosynovitis in an Immunocompetent Patient using Amphotericin B Deoxycholate. **Infection & Chemotherapy**, [S.L.], v. 49, n. 4, p. 293, 2017. Korean Society of Infectious Diseases and Korean Society for Chemotherapy.

- KONZI, K.; ASSIAD, A.; ZOUAIDIA, F.; BEGGAR, H.; OUZZANI, L.; LYAGOUBI, M.; AOUI, S. A case of intestinal protothecosis. **Médecine Et Maladies Infectieuses**, [S.L.], v. 49, n. 8, p. 621-623, nov. 2019. Elsevier BV.
- KWONG, Jason C.; WARD, Peter B.; JOHNSON, Paul D. Cutaneous protothecosis in a patient with hypogammaglobulinemia. **Medical Mycology Case Reports**, [S.L.], v. 2, p. 132-133, 2013. Elsevier BV.
- LASS-FLORL, Cornelia.; MAYR, Astrid. Human Protothecosis. **Clinical Microbiology Reviews**. Innsbruck, p. 230-242. abr. 2007.
- LEIMANN, Beatriz Consuelo Quinet; MONTEIRO, Paulo Cezar Fialho; LAZERA, Márcia; CANDANOZA, Eduardo R. Ulloa; WANKE, Bodo. Case Report and Literature Review: Protothecosis. **Medical Mycology**, Rio de Janeiro, n. 42, p. 95-106, abr. 2004.
- LU, Sha; XI, Liyan; QIN, Wei; LUO, Yijin; LU, Changming; LI, Xiqing. Cutaneous protothecosis: Two new cases in China and literature review. **International Journal of Dermatology**, v. 51, n. 3, p. 328–331, 2012.
- MARQUES, S.; SILVA, E.; CARVALHEIRA, J.; THOMPSON, G. Short Communication: in vitro antimicrobial susceptibility of *Prototheca wickerhamii* and *Prototheca zopfii* isolated from bovine mastitis. **Journal Of Dairy Science**, [S.L.], v. 89, n. 11, p. 4202-4204, nov. 2006. American Dairy Science Association.
- MEJIA-OTERO, Carolina; SINGH, Shelley; URDANETA, Luis Arias; SESIN, Carlos; CHAKRABARTI, Anindita; MILLER, Nanci Mae; TUDA, Claudio. A Rare Case of *Prototheca* Algaemia in a Patient with Systemic Lupus Erythematosus and Recent Belimumab Infusion. **Case Reports In Immunology**, [S.L.], v. 2012, p. 1-4, 2012. Hindawi Limited.
- MELVILLE, Priscilla A.; WATANABE, Eliana T.; BENITES, Nilson R.; RIBEIRO, Andréa R.; SILVA, Jocelina A.B.; JR., Felício Garino; COSTA, Elizabeth O. Evaluation of the susceptibility of *Prototheca zopfii* to milk pasteurization. **Mycopathologia**, [S.L.], v. 146, n. 2, p. 79-82, nov. 1999. Springer Science and Business Media LLC.
- MURATA, Maho; ITO, Takamichi; NAGAE, Konosuke; NAKANO-NAKAMURA, Misa; NISHIDA, Ruriko; TAKEI, Kenjiro; TAKAHARA, Masakazu; UCHI, Hiroshi; NISHIMURA, Kazuko; MASUDA, Michiaki. Disseminated protothecosis manifesting with multiple, rapidly-progressing skin ulcers: successful treatment with amphotericin b. **European Journal Of Dermatology**, [S.L.], v. 25, n. 2, p. 208-209, abr. 2015. John Libbey Eurotext.
- N. Macesic, S. Fleming, S. Kidd, V. Madigan, R. Chean, D. Ritchie, M. Slavin. Protothecosis in hematopoietic stem cell transplantation: case report and review of previous cases. **John Wiley & Sons**, SI, v. 16, n. 16, p. 490-495, jan. 2014.
- NGUYEN, Quynh-Giao; ROSEN, Ted. Cutaneous Protothecosis in a Patient with Chronic Lymphocytic Leukemia: a case report and literature review. **Journal Of Fungi**, [S.L.], v. 1, n. 1, p. 4-12, 14 jan. 2015. MDPI AG.

NISHIMURA, Kazuko; MASUDA, Michiaki. Disseminated protothecosis manifesting with multiple, rapidly-progressing skin ulcers: successful treatment with amphotericin b. **European Journal Of Dermatology**, [S.L.], v. 25, n. 2, p. 208-209, abr. 2015. John Libbey Eurotext.

NIVEDITHA NARAYANAN, D VAIDEHI, L DHANUREKHA, K LILY THERESE, RAMA RAJAGOPAL, RADHIKA NATARAJAN, A.; LAKSHMIPATHY, M. Unusual ulcerative keratitis caused by *Prototheca wickerhamii* in a diabetic patient. **Indian Journal of ophthalmology**, v. 66, n. 1, p. 311–314, 2018.

PALANIAPPAN, Prem Ananth; ABOT, Cassandra Anne; TAP, Ratna Mohd; AMRAN, Fairuz. Protothecosis algaemia in a patient presenting with septic arthritis: a rare case of *Prototheca zopfii* isolated from malaysia. **Idcases**, [S.L.], v. 24, p. 1-3, 2021. Elsevier BV.

PARK, Ho-Sung; MOON, Dong Chan; HYUN, Bang-Hun; LIM, Suk-Kyung. Short communication: occurrence and persistence of *Prototheca zopfii* in dairy herds of korea. **Journal Of Dairy Science**, [S.L.], v. 102, n. 3, p. 2539-2543, mar. 2019. American Dairy Science Association.

PORE, R. S; BARNETT, E. A; BARNES, W. C Jr; WALKER, J. D. *Prototheca* ecology. **Mycopathologia**. The Hague, p. 49-62. jan. 1983.

PORE, R. Scott. Nutritional basis for relating *Prototheca* and *Chlorella*. **Canadian Journal Of Microbiology**, [S.L.], v. 18, n. 7, p. 1175-1177, 1 jul. 1972. Canadian Science Publishing.

RAMÍREZ, I.; NIETO-RÍOS, J.F.; OCAMPO-KOHN, C.; ARISTIZÁBAL-ALZATE, A.; ZULUAGA-VALENCIA, G.; MAYA, O. Muñoz; PÉREZ, J.C.. Protothecal bursitis after simultaneous kidney/liver transplantation: a case report and review. **Transplant Infectious Disease**, [S.L.], v. 18, n. 2, p. 266-274, 22 fev. 2016. Wiley.

RAPUNTEAN, S.; RAPUNTEAN, G.; FIT, N. I.; CUC, C.; NADAS, G. C. Morphological and Cultural Characterization of some Strains of Unicellular Algae of the Genus *Prototheca* Sampled from Mastitic Cow Milk. **Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca**, v. 37, n. 1, 2009, p. 31-40, 11.

SEOK, Jae Yeon; LEE, Yoonho; LEE, Hyukmin; YI, Sang Yeop; OH, Hwa Eun; SONG, Ji-Sun. Human Cutaneous Protothecosis: report of a case and literature review. **Korean Journal Of Pathology**, [S.L.], v. 47, n. 6, p. 575, 2013. The Korean Society of Pathologists and The Korean Society for Cytopathology.

SETHURAMAN, Nandini; RAO, Polativishnu; RAMANATHAN, Yamunadevi; GOPALAKRISHNAN, Ram. Disseminated protothecosis caused by *Prototheca zopfii* in a liver transplant recipient. **Journal Of Global Infectious Diseases**, [S.L.], v. 10, n. 4, p. 228, 2018. Medknow.

SILVA, Pâmela Craveiro Gomes da; SILVA, Sabrina Beirão da Costa e; LIMA, Ricardo Barbosa; D'ACRI, Antonio Macedo; LUPI, Omar; MARTINS, Carlos José.

Cutaneous protothecosis - case report. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, [S.L.], v. 88, n. 61, p. 183-185, dez. 2013. FapUNIFESP (SciELO).

SIM, Jun Yi; HSUEH, Po-Ren; CHUANG, Pei-Chien; LEE, Ping-Ing. Fatal disseminated infection caused by *Prototheca zopfii* in a child with leukemia. **Journal Of Microbiology, Immunology And Infection**, [S.L.], v. 52, n. 5, p. 833-835, out. 2019. Elsevier BV.

SRISUTTIYAKORN, C.; SINDHUPHAK, W. **Cutaneous protothecosis: A case report from Thailand**. **International Journal of Dermatology**, v. 51, n. 11, p. 1340–1342, 2012.

SYKES, Jane; GREENE, Craig. **Infectious Diseases of the Dog and Cat**. 4. ed. St. Louis: Elsevier, 2011.

THIELE, Daniela; BERGMANN, Armin. Protothecosis in human medicine. **Internacional Journal Of Hygiene And Environmental Health**. Leipzig, p. 297-302. out. 2001.

TODD, John R; MATSUMOTO, Tadahiko; UENO, Ryohei; MURUGAIYAN, Jayaseelan; BRITTEN, Allan; KING, John W; ODAKA, Yoshinobu; OBERLE, Arnold; WEISE, Christoph; ROESLER, Uwe. Medical mycology 2017. **Medical Mycology**, [S.L.], v. 56, n. 1, p. 188-204, 10 mar. 2018. Oxford University Press (OUP).

WANG, Fang; FENG, Peiying; LIN, Yimin; CHEN, Xiaohong; XU, Dandan; WANG, Zhuo; HAN, Jiande. Human Cutaneous Protothecosis: a case report and review of cases from mainland China, Hong Kong, and Taiwan. **Mycopathologia**, [S.L.], v. 183, n. 5, p. 821-828, 16 ago. 2018. Springer Science and Business Media LLC.

YAGNIK, Kruti; BOSSÉ, Raphaël; REPPUCCI, Jennifer; BUTTS, Rachel; ISLAM, Shehla; CANNELLA, Anthony P. Case Report: olecranon bursitis due to *Prototheca wickerhamii* in an immunocompromised patient. **The American Journal Of Tropical Medicine And Hygiene**, [S.L.], v. 100, n. 3, p. 703-705, 6 mar. 2019. American Society of Tropical Medicine and Hygiene.

YUN, Chul Hyun; JEONG, Ji Hun; RYU, Ha Ryeong; KIM, Ji Hoon; BAEK, Jin Ok; LEE, Jong Rok; SEO, Yiel Hea; ROH, Joo Young. Cutaneous protothecosis responds rapidly to voriconazole. **International Journal Of Dermatology**, [S.L.], v. 55, n. 12, p. 1373-1377, 23 dez. 2015. Wiley.

ZAITS, Clarisse; GODOY, Andrea Miranda; COLUCCI, Fabiana Marcia; SOUSA, Valeria Maria de; RUIZ, Ligia Rangel B.; MASADA, Andrea S.; NOBRE, Marcia Valeria; MULLER, Helena; MURAMATU, Laura Hitomi; ARRIGADA, Giovanna Leticia Hernandez. Cutaneous protothecosis: report of a third brazilian case. **International Journal Of Dermatology**, [S.L.], v. 45, n. 2, p. 124-126, fev. 2006. Wiley.

ZAK, Iwona; JAGIELSKI, Tomasz; KWIATKOWSKI, Stanisław; BIELECKI, Jacek. *Prototheca wickerhamii* as a cause of neuroinfection in a child with congenital hydrocephalus. First case of human protothecosis in Poland. **Diagnostic**

Microbiology And Infectious Disease, [S.L.], v. 74, n. 2, p. 186-189, out. 2012. Elsevier BV.

ZHANG, Qiangqiang; LI, Li; YULI, Kang; ZHAO, Ying; ZHU, Junhao; ZHU, Min. A Case of Cutaneous Protothecosis Mimics Eczema. **Mycopathologia**, [S.L.], v. 179, n. 1-2, p. 163-166, 9 set. 2014. Springer Science and Business Media LLC.

ZHANG, Qiang-Qiang; LI, Li; ZHU, Li-Ping; ZHAO, Ying; WANG, Yun-Ru; ZHU, Jun-Hao; ZHU, Min. Cutaneous Protothecosis in Patient with Diabetes Mellitus and Review of Published Case Reports. **Mycopathologia**, [S.L.], v. 173, n. 2-3, p. 163-171, 2 out. 2011. Springer Science and Business Media LLC.

ZHAO, Feng; CHEN, Miaode; FU, Ying. Multiple cutaneous infections caused by *Prototheca wickerhamii*. **Journal Of Clinical Laboratory Analysis**, [S.L.], v. 34, n. 11, p. 1-4, 21 jul. 2020. Wiley.