

Adelina Mezzari | Alexandre Meneghello Fuentefria

MICOLOGIA

NO

LABORATÓRIO CLÍNICO



Manole

- Como reconhecer os fungos de acordo com as suas estruturas microscópicas?
- Quais são as formas de contágio das micoses superficial, cutânea, subcutânea e sistêmica?
- Quais os procedimentos de coleta em casos de micoses superficiais ou cutâneas quando a lesão for descamativa?
- Em caso de esporotricose, qual a melhor alternativa para se fazer uma boa coleta de material biológico para o diagnóstico?
- Quais os passos a serem seguidos para o diagnóstico micológico?

As soluções para estas e outras questões são abordadas em *Micologia no laboratório clínico*, obra que apresenta todas as fases da micologia necessárias para o entendimento do diagnóstico clínico e laboratorial.

É também apresentada toda a fundamentação científica necessária para o entendimento da micologia tanto por parte do profissional quanto dos acadêmicos da área da saúde.

É uma obra pautada no aprendizado sistemático, atual e didático.

Micologia no laboratório clínico

Micologia no laboratório clínico

Adelina Mezzari

Alexandre Meneghello Fuentefria



© Editora Manole Ltda., 2012, por meio de contrato com os autores.

Este livro contempla as regras do Acordo Ortográfico da Língua Portuguesa de 1990, que entrou em vigor no Brasil.

Capa: Rafael Zemantauskas

Projeto gráfico e editoração eletrônica: Francisco Lavorini

Ilustrações: Mary Yamazaki Yorado

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
(Câmara Brasileira do Livro, SP, Brasil)

Mezzari, Adelina

Micologia no laboratório clínico / Adelina Mezzari, Alexandre Meneghello
Fuentefria. – Barueri, SP : Manole, 2012.

Bibliografia.

ISBN 978-85-204-3426-0

1. Fungos 2. Micologia médica 3. Micologia – Manuais de laboratório I. Fuentefria, Alexandre Meneghello. II. Título.

12-00697

CDD-616.9690028

Índices para catálogo sistemático:

1. Micologia no laboratório clínico 616.9690028

Todos os direitos reservados.

Nenhuma parte deste livro poderá ser reproduzida, por qualquer processo, sem a permissão expressa dos editores.

É proibida a reprodução por xerox.

A Editora Manole é filiada à ABDR – Associação Brasileira de Direitos Reprográficos.

1ª edição – 2012

Direitos adquiridos pela:

Editora Manole Ltda.

Avenida Ceci, 672 – Tamboré

06460-120 – Barueri – SP – Brasil

Tel.: (11) 4196-6000 – Fax: (11) 4196-6021

www.manole.com.br

info@manole.com.br

Impresso no Brasil

Printed in Brazil

Autores

ADELINA MEZZARI

Diretora do curso de Farmácia da Fundação Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre (UFCSPA). Docente da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) e dos cursos de Farmácia, Medicina, Biomedicina, Nutrição, Enfermagem e Fisioterapia da UFCSPA. Pós-Doutora pelo Programa de Pós-graduação em Informática na Educação do Centro Interdisciplinar de Novas Tecnologias na Educação da UFRGS. Doutora na Área de Microbiologia com ênfase em Micologia pelo Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias da UFRGS. Mestre em Microbiologia Clínica pela UFCSPA. Líder de grupo de pesquisa no Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) com enfoque na Caracterização da Epidemiologia, Virulência e Suscetibilidade dos Fungos Agentes das Micoses de Interesse Clínico.

ALEXANDRE MENEGHELLO FUENTEFRIA

Docente da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS). Docente e Orientador *stricto sensu* do Programa de Pós-graduação em Microbiologia Agrícola e do Ambiente da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (PPGMAA/UFRGS). Doutor em Ciências – Biologia Celular e Molecular pela UFRGS. Mestre em Microbiologia Ambiental (Área de Concentração em Micologia) pela UFRGS. Desenvolve pesquisas com identificação fenotípica e molecular de fungos, formação e inibição de biofilme de espécies fúngicas emergentes e avaliação de sua suscetibilidade a antifúngicos comerciais, sanitizantes, antimicrobianos nanoencapsulados, extratos brutos, óleos voláteis e biomoléculas ativas de plantas medicinais.

Sumário

Apresentação.....	VIII
Prefácio.....	IX
1 Considerações gerais.....	1
2 Coleta de material.....	12
3 Rotina de diagnóstico.....	19
4 Micoses superficiais.....	34
5 Micoses cutâneas.....	44
6 Micoses subcutâneas.....	68
7 Micoses sistêmicas.....	80
8 Outras micoses.....	97
9 Micetomas.....	133
10 Fungos anemófilos.....	144
11 Algas.....	156
12 Terapêutica e resistência aos antifúngicos.....	160
13 Controle de qualidade.....	168
14 Soluções e meios de cultura.....	169
Índice remissivo.....	181
Miniatlas colorido.....	m-1

Apresentação

A evolução tecnológica em todos os âmbitos tem levado a profundas mudanças no conhecimento dos microrganismos responsáveis por doenças humanas, incluindo os fungos. Isso implica conhecimento de novos agentes e reclassificação dos já conhecidos como patógenos.

A micologia dos dias atuais tem significativa importância quanto à frequência com que ocorrem as infecções fúngicas nas patologias humana e animal com o advento da Aids e dos transplantes de órgãos – em todas as áreas da medicina podem ocorrer doenças fúngicas, oportunistas ou não.

Nesse contexto, o diagnóstico micológico é de extrema importância para o controle das micoses. Em alguns casos é considerado difícil de ser conclusivo, o que se deve à gama de fungos existentes, à emergência de novas espécies e à constante mudança de nomenclatura, o que dificulta o reconhecimento no meio clínico. O ensino de micologia, nas áreas que lhe são destinadas, a pesquisa e o bem-estar do paciente merecem toda a atenção dos profissionais da saúde. Os laboratórios de patologia clínica são os responsáveis pela maioria dos diagnósticos micológicos.

Este manual foi elaborado com o objetivo de contribuir para a formação de novos profissionais na área da saúde. Aborda e sintetiza a epidemiologia e a clínica das micoses, bem como todos os passos na rotina de diagnóstico micológico no laboratório. Pretende-se oferecer aos estudantes da área da saúde e aos profissionais atuantes nos laboratórios de patologia clínica condições de realizar satisfatoriamente o trabalho em micologia, voltado para o aspecto clínico e laboratorial e tendo como consequência o diagnóstico, fundamental para o sucesso terapêutico.

Prefácio

As epidemias são conhecidas há muito tempo, desde antes de Cristo. O que não se sabia era o diagnóstico, pois eram coisas inexplicáveis, como “intervenções do demônio” e “castigos de Deus”.

Com o passar do tempo houve a invenção do microscópio e o avanço nos conhecimentos técnicos, que permitiram mudanças no conhecimento da ciência e, consequentemente, dos fungos. A ciência evoluiu, e novas técnicas foram incorporadas. Foram identificados novos agentes fúngicos e, consequentemente, novas doenças surgiram, em alguns casos mais agressivas, em razão do comportamento desses novos agentes. Além disso, com a sobrevida dos pacientes imunocomprometidos, a microbiologia médica passou por um processo de reorganização e reestruturação.

Na natureza tudo é dinâmico, não se pode afirmar que existe a ciência exata quando se pensa em saúde. Pois o que é hoje pode passar a não ser mais amanhã. O homem faz e ele mesmo desfaz.

Ainda falta muita informação sobre a micologia médica para alunos e profissionais da área da saúde. Atualmente ela convive com os agentes fúngicos emergentes. Esta obra tenta contribuir, com o saber de dois doutores da área, para servir a clínicos, micologistas, infectologistas, dermatologistas, patologistas clínicos e outros, bem como os estudantes de medicina, farmácia, biomedicina, odontologia e outras áreas da saúde.

Micologia no laboratório clínico é um livro especializado que foi iniciado por dois profissionais – um professor e seu assistente – na edição de *Bacteriologia e micologia no laboratório*. Obra simples e com poucos conteúdos, mas que marcou o início

de um desafio em descrever a vivência prática no laboratório de patologia clínica ao longo dos anos e atualmente também com a docência. Essa obra se transformou em um livro-texto com uma forte correlação entre a clínica das micoses e o diagnóstico micológico.

Essa busca de conhecimento seguido de ensino é uma constante dos profissionais que decidiram ser mestres e se dedicam à vida acadêmica. O professor tem um importante compromisso com a comunidade científica, acadêmica e profissional para que cada um possa desempenhar suas funções específicas com informações atualizadas.

Micologia no laboratório clínico se propõe a fazer isso. É uma fonte atualizada de informações que procura organizar de forma clara tudo o que é importante e necessário para o profissional médico ou para o diagnóstico micológico, ou seja, é uma obra clínico-laboratorial.

Esperamos que esta obra tenha vida longa e seja constantemente atualizada, de forma que todos a aproveitem da melhor maneira.

Considerações gerais

INTRODUÇÃO

A micologia, durante muito tempo, foi deixada para segundo plano pelos profissionais da ciência médica. Fato que contribuiu para a falta de diagnóstico adequado em doenças causadas por fungos, cujos microrganismos pertenciam ao reino vegetal, dadas as características estruturalmente semelhantes aos vegetais. Tudo isso gerou uma confusão de sinonímias das espécies fúngicas e do imenso glossário de diferentes palavras que descrevem estruturas semelhantes.

A micologia médica humana começou a surgir com as observações de Schoenlein, Langenbeck e Gruby, em micoses superficiais, a partir de 1839. No princípio do século XX, Sabouraud deu início à micologia dermatológica ao confeccionar o livro considerado o primeiro compêndio da especialidade: *Les teignes*, em 1910. Entre 1930 e 1940, nasceu o conceito de micose doença e micose infecção. Por volta de 1950, surgiu o interesse por infecções micóticas ocasionais (hoje, micoses por fungos oportunistas) como consequência do progresso da terapêutica que disponibiliza antibióticos, corticosteroides e citostáticos, valiosos no combate às doenças a que se propõem, mas muitas vezes responsáveis pelo desequilíbrio imunológico, abrindo portas de entrada para fungos normalmente saprófitos (sapróbios), mas agressivos ao defrontar um organismo desaparelhado para a defesa.

Foi em 1969 que Whittaker propôs um reino à parte, o reino Fungi, ao perceber que os fungos não atendiam às características básicas do reino vegetal, como produção de quitina e não de celulose em sua parede celular, ausência de fotossíntese, armazenagem de glicogênio e não de amido. Atualmente, os fungos são considerados microrganismos eucariotos e estudados na micologia. Uma ciência ampla que envolve micologia vegetal, industrial, genética, médica, entre outras. A micologia médica estuda os fungos de interesse para medicina humana e animal. Algumas doenças causadas por bactérias e algas, nas quais a clínica não difere das doenças fúngicas, têm sido estudadas também na micologia.

Os fungos têm um papel importante no ecossistema, pois são degradadores de matéria orgânica. São mantidos a partir de matéria orgânica morta, em decomposição ou de seres vivos na forma de simbiose. Portanto, necessitam dos compostos orgânicos vivos (parasitos) ou mortos (saprófitas) como fonte de carbono e são, na maioria, aeróbios. Quando o fungo se apresenta como parasita, o ser vivo parasitado será prejudicado. O exemplo dessa situação são as doenças causadas pelos fungos conhecidos como micoses.

Os fungos existem em toda a natureza, no solo, no ar, na água, na poeira doméstica e agrícolas, nas plantas, nos troncos apodrecidos, nas frutas, no leite, no pântano e outros, onde desempenham papel importante no ciclo da vida; alguns são úteis na indústria de medicamentos, alimentos, bebidas, química, na pesquisa científica; e outros são patógenos para plantas, animais ou o homem. Os que vivem no solo, e ocasionalmente parasitam o homem ou animais, são geofílicos, os que parasitam os animais são zoofílicos e os do homem antropofílicos.

A maioria dos fungos é saprófita e poucos são capazes de provocar doenças em plantas, animais ou no homem. Um fungo saprófita, no entanto, não é definitivo, sua adaptação às condições particulares, locais ou gerais, pode lhe fornecer condições de patogenicidade. São definidos como patógenos primários ou oportunistas.

Fungo patógeno primário, segundo Rippon (1988), é aquele capaz de invadir tecidos saudáveis, multiplicar-se e provocar dano tecidual no hospedeiro imunocompetente. Os fungos dimórficos apresentam esta capacidade, fungos capazes de modificar sua estrutura morfológica conforme a temperatura em que se encontram no ambiente, no tecido humano ou animal. Sua distribuição geográfica é restrita e limitada a áreas endêmicas.

Fungo oportunista é aquele que causa doença no homem, quando um ou mais sistemas de defesa estão alterados. São cosmopolitas e estão distribuídos em inúmeros gêneros e espécies. Existem mais de 100 mil espécies de fungos conhecidas e identificadas na natureza, destas apenas cerca de 200 foram identificadas como agentes de doença humana ou animal.

As micoses são consequência da implantação direta do fungo na pele ou na mucosa através de traumatismo local com material contaminado (madeira, picada de inseto, aves e outros) ou por inalação. Para que o processo infeccioso se instale é necessário que pelo menos um dos lados do binômio parasita-hospedeiro esteja comprometido, ou seja, depende da virulência do agente fúngico e da capacidade de luta do hospedeiro em se defender. Os indivíduos imunocomprometidos são mais suscetíveis em perder essa luta, ao passo que nos imunocompetentes, as infecções fúngicas são ocasionais.

O diagnóstico do fungo responsável pela micose envolve alguns critérios como seu isolamento em sítios estéreis e sua habilidade em crescer entre 35 e 37°C. Com raras exceções, todo fungo que infecta o homem é capaz de crescer entre 35 e 37°C. São geralmente sensíveis aos agentes antimicóticos e resistentes aos antibacterianos.

O estudo das micoses pelos aspectos clínico e laboratorial tem papel fundamental no sucesso terapêutico. O diagnóstico de uma infecção fúngica envolve a combinação de dados clínicos e laboratoriais. Os critérios clínicos são muito variados e na maioria das vezes presuntivos, restando para o laboratório o diagnóstico final da micose. No laboratório, para confirmar a doença fúngica é preciso verificar:

- Presença do fungo no material examinado no exame direto e na cultura.
- Presença de resposta imunológica quanto ao agressor.
- Presença do antígeno e seus metabólitos nos líquidos e nos tecidos.

MORFOLOGIA

Os fungos microscópicos são aclorofilados, não possuem pigmentos fotossintéticos, são capazes de absorver energia luminosa para utilizá-la na síntese de compostos orgânicos, mas são heterotróficos porque aproveitam a energia contida nas ligações químicas de nutrientes. São eucarióticos porque apresentam uma membrana nuclear que envolve os cromossomos e o nucléolo. São uni a multicelulares, com reprodução sexuada e assexuada. Os fungos apresentam estruturas morfológicas formadas de filamentos ou hifas e esporos, estruturas de reprodução. O corpo de um fungo é denominado talo. Sua classificação se baseia na estrutura de reprodução formada a partir da reprodução sexuada e assexuada. Atualmente, as técnicas de biologia molecular têm tornado possível a classificação dos fungos de forma mais precisa, mesmo na ausência de estruturas reprodutivas.

Quanto à identificação, os fungos apresentam estruturas morfológicas macro e microscópicas quando observados no microscópio óptico, sendo divididos em dois grupos: as leveduras e os bolores, ou fungos filamentosos. A levedura é definida morfológicamente como uma célula que se reproduz por brotamento, cissiparidade ou

gemulação. São geralmente unicelulares e formam colônias circulares, pastosas ou mucoides. Os bolores são multicelulares, constituídos pelas hifas, que se interligam e formam o micélio, que resulta em colônias filamentosas, podendo ser algodoadas, aveludadas ou pulverulentas e apresentam pigmentação variada – branca, bege, marrom, vinho e outras. Algumas espécies de fungos apresentam melanina na parede celular, conferindo resistência aos raios ultravioleta e a enzimas líticas, produzidas por outros microrganismos. Esses fungos são denominados demáceos.

Hifa

A hifa é uma porção do talo ou do corpo vegetativo que pode ser verdadeira ou falsa. A hifa verdadeira cresce sem interrupção a partir da germinação de um esporo, apresenta vários aspectos – é espessa ou pleomórfica, septada ou contínua (cenocítica). A hifa falsa ou pseudo-hifa é constituída por uma série de estruturas assexuadas denominadas conídios ou blastoconídios, que permanecem aderidas umas às outras, formando filamento semelhante à hifa. Desenvolve-se inicialmente pelo brotamento ou pela gemulação do primeiro blastoconídio e, os demais, originam-se por brotamentos sucessivos, unem-se e formam uma cadeia, semelhante à hifa verdadeira, porém com sítios de constrição nos pontos dos brotamentos.

Quanto à coloração, as hifas apresentam-se hialinas ou claras (mucedíneas) e escuras ou negras (demáceas). O conjunto de hifas denomina-se micélio vegetativo, cuja função é a assimilação de alimentos, a fixação em substratos e a formação de elementos de frutificação, gerando o micélio reprodutivo. Excepcionalmente, o micélio vegetativo tem também a função reprodutiva, o que ocorre nas leveduras.

O micélio vegetativo pode ser dividido em unicelular, as leveduras, e multicelular ou filamentoso.

- Micélio unicelular (Figura 1): é caracterizado pelas leveduras constituídas por células arredondadas, ovoides ou alongadas – os blastoconídios. Exerce também a função de reprodução. As leveduras se multiplicam por cissiparidade, brotamento ou gemulação, podendo gerar as pseudo-hifas ou eventualmente hifas verdadeiras.
- Micélio multicelular ou filamentoso (Figuras 2 e 3): é constituído pelos bolores contendo hifas septadas, contínuas (cenocítica) ou espessas e pleomórficas.

Esporo

Nos fungos filamentosos, o micélio vegetativo se transforma em determinados pontos, em uma estrutura de reprodução, dando origem ao micélio reprodutivo. Este

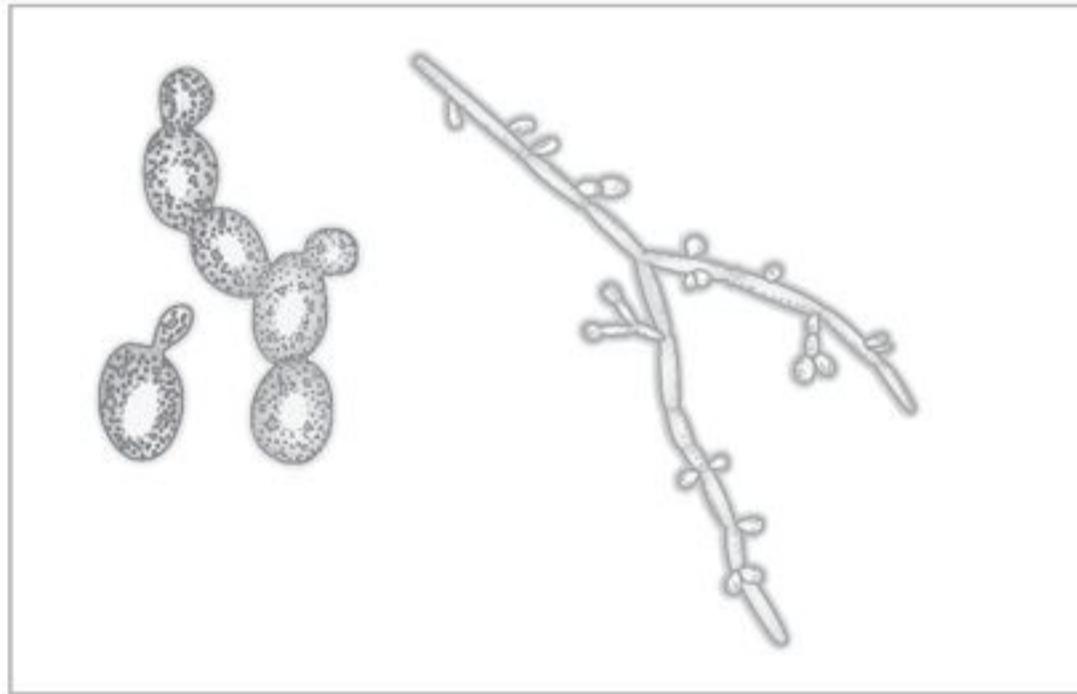


Figura 1 Hifa unicelular e pseudo-hifa.

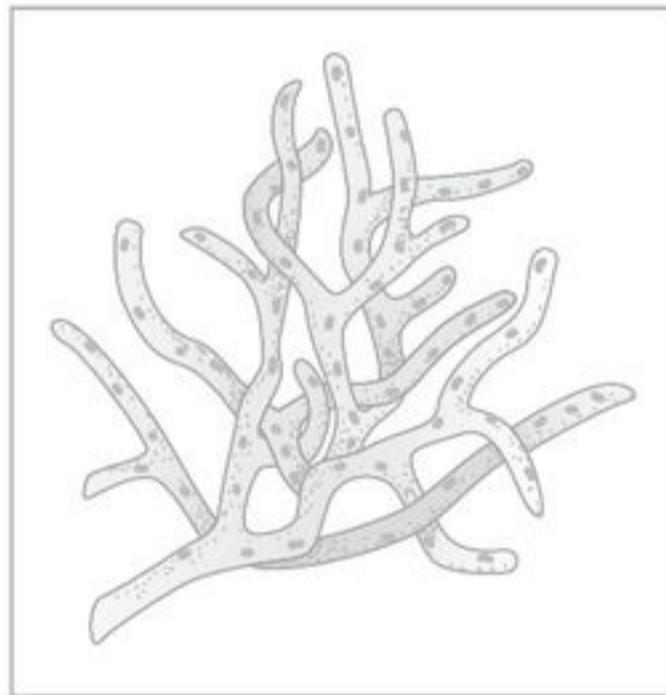


Figura 2 Hifa contínua ou cenocítica.

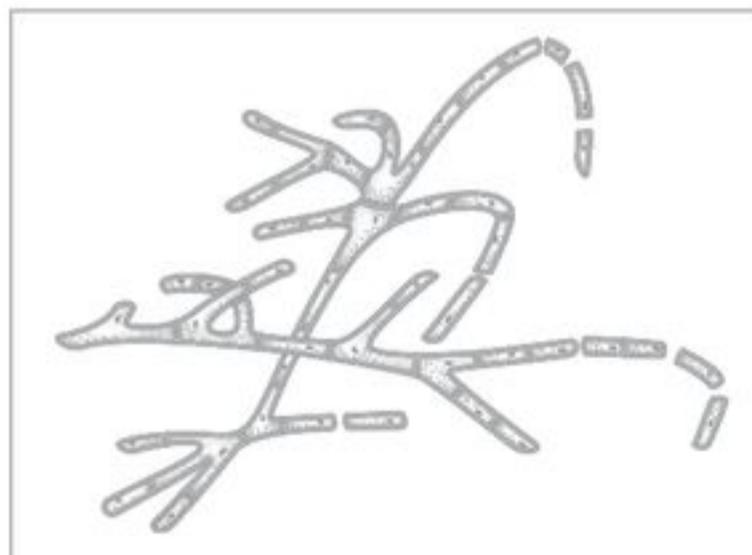


Figura 3 Hifa septada filamentosa.

tem a função de preservação e disseminação da espécie, mediante a formação de esporos. É, portanto, o esporo o elemento inicial e final do ciclo de vida do fungo.

Os esporos ou propágulos são as unidades de reprodução dos fungos e podem ser hialinos, pigmentados, simples, septados, lisos, verrucosos ou ciliados. Apresentam várias formas que podem definir a identificação do fungo em gênero e espécie. Têm origem sexuada e assexuada e podem ser endosporos ou ectosporos, dependendo de como são formados. A identificação dos fungos é feita pelo estudo do tipo de esporulação e da maneira como são gerados os esporos.

Esporos sexuados

- Endosporos: são formados no interior de células (ascos) e denominam-se ascosporos.
- Ectosporos: formam-se na extremidade de uma hifa fértil (basídio) e denominam-se basidiosporos.

Esporos assexuados

- Endosporos: formam-se no interior de estrutura chamada esporângio e denominam-se esporangiosporos (Figura 4).
- Ectosporos: são formados na extremidade de hifas especiais (conidioforo) (Figura 5) e denominam-se conídios; dependendo da forma morfológica são denominados blastoconídios, artroconídios e outros.

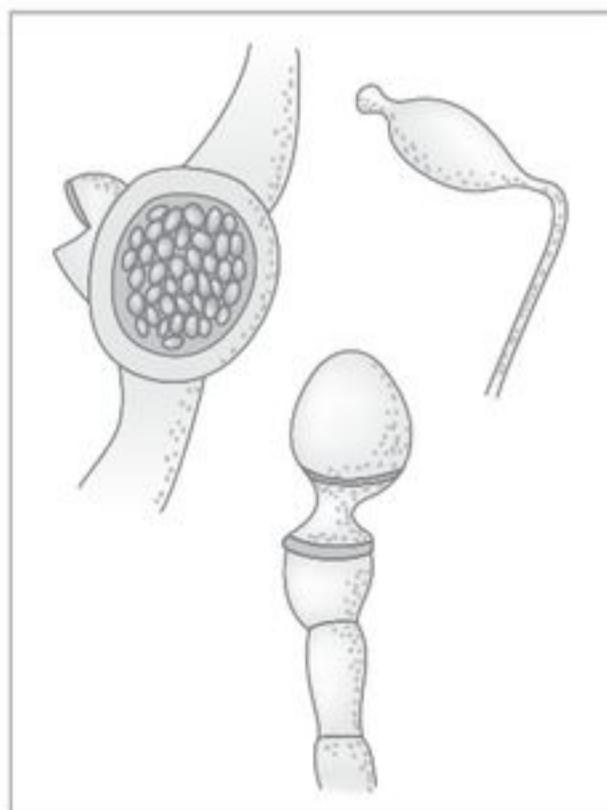


Figura 4 Endosporo assexuado.

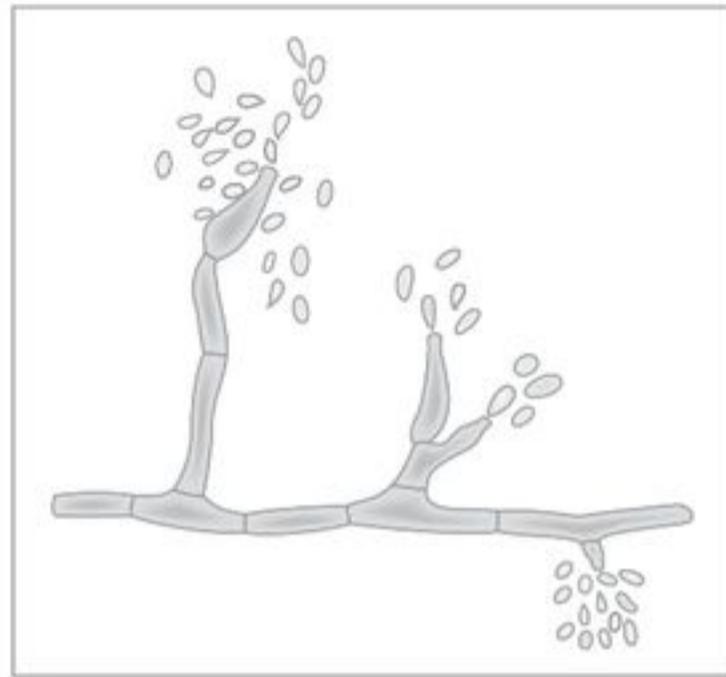


Figura 5 Ectosporo assexuado.

Excepcionalmente formam-se em qualquer parte do micélio vegetativo e são denominados conídios sésseis.

A formação conidioforo-conídio, às vezes, é realizada nas estruturas de frutificação, denominadas picnídios.

Alguns fungos filamentosos em condições ambientais entre 25 e 30°C são observados na forma de bolor; em parasitismo entre 35 e 37°C, apresentam-se na forma de levedura. Esses fungos são determinados dimórficos e são patógenos para o homem.

Alguns fungos, quando mantidos em cultivo por longo tempo, pleomorfizam e perdem suas características morfológicas de identificação, exemplo que ocorre com os dermatófitos.

CLASSIFICAÇÃO

A classificação taxonômica dos fungos é feita de acordo com as características comuns nos níveis taxonômicos e fisiológicos, mas tem muito pouco valor no laboratório clínico. São várias as classificações propostas para o reino Fungi, sendo que a de Wittacker (1969) classifica o reino Fungi em cinco filos: Zygomycota, Ascomycota, Basidiomycota, Deuteromycota e Mastigomycota (Tabela 1).

- Filo Zygomycota: apresenta micélio contínuo, sem esporos móveis. Reprodução sexuada com formação de zigosporos. Na fase assexuada, os esporos estão presentes no interior de esporângios.
- Filo Ascomycota: os esporos permanecem no interior dos ascos resultantes da reprodução sexuada dos ascosporos. A reprodução assexuada ocorre com os conídios.

Tabela 1 Classificação dos fungos, segundo Wittacker (1969)			
Super-reino Eucariontes			
Reino Fungi			
Classes	Ordens	Famílias	Gêneros
Filo Zygomycota			
Zigomycetes e Trichomycetes	Mucorales, Entomophthorales e Zoopagales	Entomophthoraceae, Mucormuraceae, Syncephalastraceae e Saksenaceae	<i>Basidiobolus, Absidia, Cunninghamella, Mucor, Rhizopus, Syncephalastrum</i> e <i>Conidiobolus</i>
Filo Ascomycota			
Hemiascomycetes, Loculoascomycetes e Plectomycetes	Endomycetales, Myriangiales-Microascales e Eurotiales	Endomycetaceae, Saccharomycetaceae, Saccardinulaceae, Microascaceae, Gymnoascaceae, Pleosporaceae e Testudinaceae	<i>Endomyces, Picchia, Saccharomyces, Piedraia, Leptosphaeria, Neotestudina, Petriellidium</i> e <i>Arthroderma</i>
Filo Basidiomycota			
Teliomycetes	Ustilaginales	Filobasidiaceae	<i>Filobasidiella</i>
Filo Deuteromycota			
Blastomycetes, Hyphomycetes e Coelomycetes	Moniliales, Sphaeropsidales e Melanconiales	Cryptococcaceae, Moniliaceae, Dematiaceae e Tuberculariaceae	<i>Candida, Cryptococcus, Malassezia, Trichosporon, Pyrenochaeta, Aspergillus, Penicillium, Blastomyces, Paracoccidioides, Histoplasma, Sporothrix, Microsporum, Epidermophyton, Trichophyton, Cladosporium, Curvularia, Exophiala, Fonsecaea, Wangiella, Phialophora, Alternaria, Rhinocladiella</i> e <i>Fusarium</i>
Filo Mastigomycota			
Chytridiomycetes, Hiphochytridiomycetes e Oomycetes	Peronosporales	Pythiaceae	<i>Pythium</i>

- Filo Basidiomycota: a reprodução sexuada ocorre com basidiosporos, os esporos que são exógenos nascem em basídios. Os conídios estão presentes na reprodução assexuada. A essa divisão pertencem os cogumelos.
- Filo Deuteromycota: os fungos se reproduzem assexuadamente por conídios que representam esporos exógenos. São fungos unicelulares ou filamentosos com micélio septado que normalmente não se reproduzem sexuadamente. A esse grupo pertence a maioria dos fungos patogênicos para o homem e os animais.
- Filo Mastigomycota: contém esporos móveis, os zoósporos, presentes em zoosporângios. Esses fungos, na maioria, são aquáticos.

DIVISÃO

As micoses resultam do contato direto ou da implantação direta do fungo através da pele ou mucosa, na ocasião de um traumatismo ou da inalação de seus propágulos pela via respiratória.

As micoses, quando causadas por fungos patógenos primários ou não, dependendo da localização, dividem-se em:

- Superficiais: pitiríase versicolor, *piedra* preta, *piedra* branca e *tinea nigra*.
- Cutâneas: dermatofitoses e dermatomicoses.
- Subcutâneas: esporotricose, cromomicose, lobomicose e rinosporidiose.
- Sistêmicas: paracoccidioidomicose, blastomicose, histoplasmose e coccidioidomicose.
- Oportunistas: criptococose, candidíase, zigomicose, hialo-hifomicose, feo-hifomicose, pneumocistose, leveduroses, micetomas e outras.

POTENCIAL PATOGÊNICO DOS FUNGOS

As infecções fúngicas humanas são denominadas micoses. Podem ser causadas por fungos patógenos primários ou oportunistas. Os primários invadem o tecido do homem imunocompetente ou não, e os oportunistas são invasores principalmente em condições de imunodeficiência. A maioria dos fungos patogênicos vive como saprófita na natureza, com exceção de poucos que também fazem parte da flora normal do homem, como *Malassezia* spp. e *Candida* spp. Os fungos patogênicos normalmente invadem o organismo por inalação, implantação traumática ou pelo contato direto com objetos contaminados com o homem ou animais infectados.

Quanto à patologia, os fungos podem produzir, além das micoses, outras manifestações clínicas, dependentes do agente e da forma de infecção. Como tipos de manifestações que podem ser provocadas por fungos, há as intoxicações e os processos alérgicos.

Intoxicações

Micotoxicose

Manifestações produzidas por fungos resultantes da ingestão de alimentos contendo metabólitos tóxicos, as micotoxinas, conduzindo a intoxicação (Tabela 2).

Tabela 2 Principais micotoxinas e respectivos fungos produtores, substratos e efeitos no homem e nos animais

Principais substratos	Principais fungos produtores	Toxina	Efeitos
Amendoim e milho	<i>Aspergillus flavus</i> e <i>Aspergillus parasiticus</i>	Aflatoxina B1	Hepatotóxico, nefrotóxico, e carcinogênico
Trigo, aveia, cevada, milho e arroz	<i>Penicillium citrinum</i>	Citrinina	Nefrotóxico
Milho	<i>Fusarium verticillioides</i>	Fumonisinias	Indução ao câncer de esôfago
Cevada e café	<i>Aspergillus ochraceus</i> e <i>Aspergillus carbonarius</i>	Ocratoxina	Hepatotóxico, nefrotóxico e carcinogênico
Frutas	<i>Penicillium expansum</i> e <i>Penicillium griseofulvum</i>	Patulina	Hepatotóxico
Milho, cevada, aveia, trigo e centeio	<i>Fusarium</i> sp., <i>Myrothecium</i> sp., <i>Stachybotrys</i> sp. e <i>Trichothecium</i> sp.	Tricotecenos: T2, fusanona, nivalenol, estaquibotrioxina e desoxinivalenol (DON)	Hepatotóxico, nefrotóxico e carcinogênico
Cereais em geral	<i>Fusarium graminearum</i>	Zearalenona	Estrogênicos, indução ao aborto e teratogênese

A ingestão de alimentos contaminados tem sido um problema crescente em pessoas que utilizam cereais e farináceos. Como exemplo de substância tóxica, a aflatoxina do *Aspergillus flavus*, que é carcinogênica, tem estado presente em hepatomas.

Na Tabela 2 são apresentadas as principais micotoxinas e os principais riscos quando ingeridas.

Micetismo

Intoxicação consequente da ingestão de macrofungos venenosos, os cogumelos.

Micotização

Colonização pelo fungo de uma cavidade preexistente, no organismo humano, gerando bola fúngica ou aspergiloma.

Processos alérgicos

Mícide ou IDE

Reação de hipersensibilidade cutânea à distância de um foco micótico.

Alergia micótica

Ocorre geralmente pela via respiratória e é resultante da hipersensibilização do indivíduo, manifestando-se na forma de asma ou rinite.

A presença dos esporos de fungos, no ar, possibilita sua inalação e como consequência o desencadeamento de uma doença fúngica.

BIBLIOGRAFIA

1. Cauduro PF, Mezzari A. Bacteriologia e micologia no laboratório. Porto Alegre: Sagra Luzzatto; 1989.
2. Costa RO. Micologia médica. Edição suplementar do JBM; 2003.
3. Dixon DM, Fromthing RA. Morphology, taxonomy, and classification of the fungi. In: Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenoer FC, Tenover FC, Tenover FC (eds.). Manual of clinical microbiology. 6.ed. Washington DC: American Society of Microbiology; 1995. p.699-708.
4. Lacaz CS, Porto E, Martins JEC, Heins-Vaccari EM, Melo NT. Tratado de micologia médica Lacaz. 9.ed. São Paulo: Sarvier; 2002.
5. Mezzari A. Micologia no laboratório. Porto Alegre: Sagra Luzzatto; 2001.
6. Rippon JW. Medical mycology. The pathogenic fungi and the pathogenic Actinomycetes.3.ed. Philadelphia: W.B. Saunders; 1988.
7. Roberts GD. Laboratory methods in basic mycology. In: Baron EJ, Tenover FC, Tenover FC. Bailey & Scott's diagnostic microbiology. 8.ed. St. Louis: Mosby; 1990. p.748.
8. Tilton RC, McGinnis MR. Fundamentals of mycology. In: Manual of clinical microbiology. 4.ed. Washington DC: American Society of Microbiology; 1985. p.515-629.
9. Whittaker RH. New concepts of kingdoms or organisms. Evolutionary relations are better represented by new classifications than by the traditional two kingdoms. Science. 1969;163:150-60.

Coleta de material

INTRODUÇÃO

Um laboratório de micologia necessita de uma estreita relação entre o médico e os laboratórios de referência. A estrutura precisa estar adequada quanto a espaço físico, controle de qualidade e técnicas de diagnóstico para a execução de forma segura e precisa do diagnóstico definitivo da micose. No exame micológico, o fungo deve ser caracterizado como patógeno primário, oportunista ou contaminante, para posteriormente ser liberado o laudo definitivo.

O diagnóstico micológico passa por várias etapas até a liberação. A amostra inicialmente é acompanhada em fase pré-analítica quando processa a indicação de coleta, armazenamento e transporte até o laboratório. Segue a fase analítica que corresponde a todo o processo de identificação do microrganismo, isto é, a visualização do fungo diretamente do material biológico no microscópio óptico e, posteriormente, isolado em cultivo e identificado. Para tanto, é necessário obter um espécime apropriado. Essa fase inclui o laudo final do exame. Para fins de obtenção de dados epidemiológicos de determinada doença, é necessária uma fase pós-analítica, na qual estudos de pesquisa são incluídos para obter resultados com mais informações e que não são necessários para o diagnóstico clínico.

A coleta é a primeira fase do diagnóstico micológico, portanto, é essencial que o procedimento seja realizado de forma adequada para evitar falsos resultados. É conveniente que a coleta seja feita no próprio laboratório. Caso contrário, alguns critérios devem ser observados para que o espécime seja adequado e suficiente, sendo assim, no procedimento de coleta externa ao laboratório, deve-se:

- Enviar o material biológico para o laboratório o mais rapidamente possível após a coleta. O espécime deve estar identificado e conservado em recipiente estéril e fechado; se possível, evitar *swabs*.
- Para coleta de sangue ou medula óssea, o tubo deverá conter anticoagulante.

Um diagnóstico micológico errôneo pode ser consequência de material coletado de forma inadequada e informações incorretas. É importante que, juntamente com o material, acompanhe dados do paciente que favoreçam o diagnóstico micológico, como:

- Identificação e dados pessoais: idade, sexo, grupo étnico, profissão e outros.
- Naturalidade, cidade onde reside e residiu, para pacientes de áreas endêmicas identificar locais para onde viajou.
- Resumida história clínica, tempo de evolução da doença, localização e aspectos clínicos da lesão, como a periférica localizada ou nódulos (esporotricose), úlcera crônica na boca (paracoccidiodomicose), entre outros.
- Atividade profissional ou lazer, possível contato com animais, como gatos ou cães (dermatofitose), galinhas (histoplasmose), pombos (criptococose), entre outros.
- Uso de antifúngicos nos últimos trinta dias.

Em certos casos, o material quando coletado já fornece suspeitas de como proceder para identificação do fungo, por exemplo, em caso de pus, examiná-lo sobre fundo escuro na busca do grão para identificação de micetoma. Na pesquisa de bola fúngica, procurar fragmentos de fungos na amostra pulmonar.

O laboratório de micologia não requer técnicas complicadas e nem utiliza diversos materiais para a coleta em geral. São necessários lâminas de vidro, cureta, bisturi sem fio e ponta arredondada, pinça, alça bacteriológica, tesoura e outros. Poucas coletas eventualmente podem necessitar de algo a mais. O material, quando coletado inadequadamente, pode fornecer resultados falso-negativos. O ambiente da coleta deve estar fechado, tanto portas quanto janelas. Posteriormente, na manipulação do material coletado para o exame micológico, deve ser processado junto à chama do bico de Bunsen para evitar contaminação.

A área que circunda o sítio infectado está normalmente contaminada com flora saprófita, às vezes de crescimento rápido, o que compromete o isolamento de espécimes patogênicos de crescimento mais lento. É necessária boa assepsia no local antes da coleta. Em lesões descamativas ou vesículas fechadas, deve-se utilizar éter sulfúrico ou álcool etílico 70% e, se forem abertas, limpar com solução fisiológica ou água destilada estéril.

PROCEDIMENTOS DE COLETA

No dia da coleta, o paciente pode e deve fazer a higiene corporal normalmente. Não é permitido o uso de cremes, loções, pomada ou outras substâncias gordurosas, pois, além de possuírem artefatos, dificultam a detecção de estruturas fúngicas, impedindo o isolamento dos fungos.

Lesões cutâneas

Após a assepsia, deve-se realizar um raspado das bordas ativas da lesão, com lâmina de microscopia, cureta ou bisturi sem fio e estéril, na direção da pele sadia. Conservar o material coletado em recipientes estéreis como entre duas lâminas envoltas em papel, frasco de vidro ou polietileno, placa de Petri ou em papel, até o processamento. Se na lesão houver vesícula, retirar com tesoura a parte superior. Após a coleta, remeter o material ao laboratório para seu processamento.

Nas lesões inguinais, inguinocrurais ou axilares, como são regiões de dobras, geralmente encontram-se úmidas, fazendo-se necessária a assepsia com álcool a 70%. Deixar a região secar e tentar raspar a pele. Coletar também em solução salina estéril e preparar duas lâminas com fita adesiva transparente tentando obter pelos (raros) presos na fita. Na lesão anal e perianal, além de coletar a amostra na solução salina estéril, preparar duas lâminas com fita adesiva transparente.

Pelos

Em lesões do couro cabeludo, barba ou outros locais, arrancar o pelo com pinça e raspar as escamas com lâmina de microscopia, cureta ou bisturi sem fio estéril. Em caso de *piedras*, cortar os pelos que contenham os nódulos.

O uso da luz ultravioleta (lâmpada de Wood) é útil na coleta de lesões micóticas que apresentem fluorescência.

Deve-se acondicionar e conservar o material em recipiente estéril até o processamento.

Unhas

Deve-se cortar a unha, sem esmalte, e remover todo o excesso de material da parte espessada da unha. Raspar a pele no limite entre a unha lesada e a sadia.

Quando a micose se manifesta na superfície da lâmina ungueal (leuconíquia ou onicomiose superficial branca), raspar com uma cureta ou lima até atingir a matriz ungueal e ali retirar o material, no limite entre o tecido sadio e o doente ou perfurar com bisturi abrindo uma “janela” na unha.

Em micoses de unhas acompanhadas de inflamação em volta da região periungueal, deve-se coletar o raspado e também o pus, quando houver.

Acondicionar e conservar o material em recipiente estéril até o processamento.

Dados na literatura descrevem que material obtido de raspagem da pele, de unhas e os pelos podem manter-se viáveis até 12 meses, quando mantidos à temperatura ambiente e com queratina suficiente para sua sobrevivência.

Pus

Coletar o pus por aspiração, com *swab* ou com alça bacteriológica. Quando coletado com a alça bacteriológica deve ser semeado em meio de cultura ágar Sabouraud dextrose ou outros, no momento da coleta.

Escarro

É coletado por expectoração, de preferência o primeiro da manhã, após prévia limpeza da boca com bochechos de água e em jejum. Quando escasso ou ausente, pode-se induzi-lo com nebulização utilizando solução de NaCl 10%.

Aspirados traqueobrônquicos, biópsias transbronquiais, lavado brônquico ou lavado broncoalveolar são bons espécimes clínicos para o diagnóstico de micoses, quando coletados de forma adequada e por médico. Em pacientes traqueostomizados, a aspiração favorece a contaminação do material pela flora contaminante da pele, podendo dificultar o diagnóstico micológico.

Acondicionar e conservar em frasco estéril. Este tipo de amostra deve ser processado em até duas horas após a coleta.

Sangue ou medula óssea

O sangue deve ser coletado por punção venosa e colocado diretamente em meio de cultura contendo anticoagulante seguindo as instruções do fabricante, quando a

amostra for processada em sistemas automatizados. Quando o procedimento for por metodologia convencional, o anticoagulante mais utilizado no meio de cultura é o polianetol sulfonato de sódio (SPS).

A coleta de medula óssea é feita por punção e sempre por um profissional médico. O volume da amostra depende da necessidade da investigação. A quantidade de 1 mL é suficiente para os procedimentos de diagnósticos microbiológico e hematológico. A amostra deve ser colocada diretamente em meio de cultura, contendo anticoagulante, seguindo as mesmas orientações de acondicionamento e conservação do sangue.

Urina

O método de escolha, para evitar contaminação da flora normal no meato uretral, é a punção suprapúbica ou urina coletada por sonda vesical introduzida no momento da coleta. Coletar de 3 a 5 mL.

Para evitar desconforto do paciente pode ser feita a coleta por micção normal, com prévia assepsia. Na mulher, a genitália externa deve ser lavada com água e sabão neutro e no homem a lavagem do meato urinário. Em ambos, desprezar o primeiro jato de urina e o restante, cerca de 20 a 30 mL do jato médio, recolher em frasco estéril.

Excepcionalmente em crianças ou em pacientes nos quais não for possível a coleta pelos métodos descritos, pode ser usado o saco plástico coletor ou a sonda vesical já implantada. Fazer a assepsia prévia da genitália masculina ou feminina antes de colocar o coletor.

Quando coletada, a urina deve ser processada o mais rapidamente possível, em até duas horas.

Líquidos orgânicos estéreis (liquor, líquidos pleural, pericárdico, peritoneal e sinovial)

Devem ser coletados assepticamente por punção e conservados em frasco estéril. O procedimento de coleta será sempre realizado por profissional médico.

Trato genital

Em secreção vaginal ou endocervical, deve-se introduzir o espéculo para visualizar o fundo de saco vaginal e o endocérvice. A coleta da secreção vaginal ou endocervical poderá ser realizada com *swab* acompanhado do meio de transporte.

Para a coleta de secreção uretral, masculina ou feminina, deve-se introduzir o *swab* no canal uretral, em movimentos de rotação para retirar o máximo de secreção e posteriormente devolvê-lo ao meio de transporte.

Conjuntiva e córnea

A coleta deve ser feita por raspagem ou debridamento das partes, quando houver tecido necrosado. Todo este procedimento deve ser realizado preferencialmente por oftalmologista, e o material deve ser conservado em frasco estéril. O procedimento da amostra deve ser realizado o mais rapidamente possível para evitar dessecação e perda. Se não houver a possibilidade de manuseio imediato, conservá-la em frasco estéril contendo salina e refrigerada por até 24 horas.

Biópsia

Este procedimento de coleta é realizado somente por profissional médico. Na coleta, devem ser retirados fragmentos de tecido em dois locais da lesão, no centro e na periferia. Conservá-los em frasco estéril contendo salina, na temperatura ambiente, por até 24 horas, se não for possível processar as amostras imediatamente.

Gânglios ou abscessos

A coleta é realizada por punção, aspirando o material em seringa. Conservar o material na própria seringa até o procedimento. Em caso de abscessos abertos com pouca quantidade de secreção, pode-se coletar o material por *swab* contendo meio de transporte.

Fezes

As fezes são coletadas em frasco estéril ou por *swab* anal. Processar a amostra o mais rapidamente possível, em até duas horas ou excepcionalmente em meio de transporte para manter estável a microbiota contaminante.

Ouvido

As infecções fúngicas de ouvido são geralmente secas, exceto quanto associadas a infecções bacterianas. A raspagem do material é sempre melhor para o diagnóstico laboratorial, embora o *swab* também possa ser usado.

Outros materiais

São coletados como de rotina para os procedimentos em bacteriologia.

AVALIAÇÃO DO MATERIAL RECEBIDO

Certos materiais que chegam ao laboratório de micologia para serem processados são inadequados para o exame micológico. O profissional deve conhecer as características de um bom material pela observação das características macro e microscópicas.

Quanto aos aspectos macroscópicos, devem ser observados aparência, consistência e odor. No escarro, por exemplo, a amostra deve apresentar consistência mucoide e ser descartada quando aquosa e com saliva. Na microscopia, busca-se a presença de elementos fúngicos na amostra juntamente com as estruturas citológicas relativas ao sítio em questão. Em amostras de escarro, deve haver a presença de leucócitos polimorfonucleares, macrófagos alveolares e células do epitélio cilíndrico e poucas células epiteliais de revestimento da cavidade oral.

Determinadas amostras não podem ser aceitas para realizar o exame micológico, como amostras coletadas em *swab* sem meio de transporte por mais de duas horas. Também amostras de sangue ou medula óssea coaguladas, cabelos e unhas quando cortadas ao acaso ou, ainda, escarro coletado há mais de duas horas.

BIBLIOGRAFIA

1. Cauduro PF, Mezzari A. Bacteriologia e micologia no laboratório. Porto Alegre: Sagra Luzzatto; 1989.
2. Costa RO. Micologia médica. Edição suplementar do JBM;2003.
3. Lenette EH, Balows A, Hausler WJ, Shadomy HJ. Manual de microbiologia clínica. 4.ed. Buenos Aires: Panamericana; 1987.
4. Mezzari A. Micologia no laboratório. Porto Alegre: Sagra Luzzatto; 2001.
5. Mezzari A, Cauduro PF, Dias CAG. Ocorrência de fungos em população urbana: amostragem de um laboratório privado em Porto Alegre, RS. Rev Microbiol. 1988;19(3):290-2.
6. Roberts GD. Laboratory methods in basic mycology. In: Baron EJ, Tenover FC, Tenover FC. Bailey & Scott's diagnostic microbiology. 8.ed. St. Louis: Mosby; 1990.
7. Severo LC. Colheita e transporte do espécime clínico para exame micológico. R Amrigs. 1986;30(3):204-8.

Rotina de diagnóstico

DIAGNÓSTICO CONVENCIONAL

A rotina em um laboratório de micologia ainda é simples e de baixo custo, mas necessita de profissional habilitado para o diagnóstico adequado do fungo e com capacidade para utilizar técnicas laboratoriais de maneira apropriada. O bom diagnóstico micológico inicia com a coleta de material de forma adequada e segue com várias alternativas, conforme a necessidade do diagnóstico do agente envolvido no processo infeccioso, como:

- Exame direto.
- Cultura.
- Cultura em lâmina.
- Testes bioquímicos e biológicos.
- Sorologia.
- Lâmpada de Wood.
- Hemocultura.
- Exame anatomopatológico.
- Intradermoreação.

Exame direto

O exame direto é o primeiro contato com o material clínico de forma microscópica. Indica, na maioria das vezes, se o material examinado contém ou não estruturas fúngicas. Em muitos casos, o diagnóstico já pode ser obtido pelo exame direto, como nos casos de *Malassezia* sp., em escamas, *Cryptococcus* sp., no liquor, e *Paracoccidioides brasiliensis*, no escarro.

São vários os procedimentos disponíveis para realizar a pesquisa direta, e são usadas soluções para o exame a fresco, como o KOH 10-40%, lactofenol azul, tinta da China ou nigrosina e *calcofluor white*. Essa é uma solução fluorescente que necessita de microscópio de fluorescência com excitação ultravioleta, violeta ou azul brilhante usando objetiva 10 ou 25 vezes, epiluminação para observação da lâmina, cujo resultado é visto como células de levedura, pseudo-hifa e hifa em cor verde-maçã fluorescente e as células epiteliais e outros artefatos de fundo em laranja. Em preparações, a lâmina pode ser corada por gram, giemsa, *gomori methenamine silver* (GMS) ou prata, ácido periódico de Schiff (PAS), mucicarmin, *alcion-blue*, Ziehl-Neelsen, hematoxilinaeosina (HE) e outros.

Os métodos mais amplamente utilizados são preparações a fresco com KOH 10-40% ou KOH 20% acrescido de tinta Parker na proporção 4:1. O exame direto corresponde a preparados imediatos utilizados no diagnóstico clínico, portanto, deve ser sempre realizado por profissional qualificado. A escolha do procedimento técnico depende do espécime a ser manipulado.

O manejo correto do material para o procedimento de busca da presença do agente fúngico, microscopicamente, segue alguns critérios, descritos a seguir.

Escamas de pele, unhas ou pelos

Colocar o material sobre uma lâmina, acrescentar 1 a 2 gotas de KOH 10-40% ou KOH 20% de tinta Parker e sobrepor uma lamínula. Aquecer levemente a lâmina para clarificar as estruturas fúngicas presentes, ou esperar 5 a 10 minutos antes da observação microscópica. Evitar fervura, pois pode acarretar cristalização do KOH ou decomposição dos elementos fúngicos. Deixar a potassa agir no material durante cerca de 30 minutos antes da observação ao microscópio. Para conservação da lâmina durante mais tempo utilizar o lactofenol, embora não haja clarificação tão boa do material.

Exsudatos

Preparados com KOH 10-40% entre lâmina e lamínula, são recomendados inclusive para observação de outras estruturas, como os grãos de micetomas. Colorações

como gram, giemsa, PAS ou GMS, também podem ser usadas em qualquer exsudato. Tinta da China (tinta nanquim) e coloração de mucicarmin ou *alcion-blue* são indicadas para pesquisa do *Cryptococcus* sp. Na coloração de Ziehl-Neelsen, é possível a observação da acidorresistência na *Nocardia* sp. e o giemsa na pesquisa de elementos intracelulares do *Histoplasma capsulatum*.

Escarro

Ao escarro, acrescentar entre lâmina e lamínula KOH 10-40% e fazer também esfregaços para corar com giemsa, prata ou outra coloração em busca de elementos fúngicos. Para a pesquisa de *Cryptococcus* sp. acrescentar nanquim ao escarro, entre a lâmina e a lamínula.

Fragmentos de tecido

Deve-se evitar a trituração demasiada do fragmento de biópsia, pois alguns fungos não suportam essa forma de procedimento. A melhor forma de processar esta amostra é cortá-la em pequenos fragmentos, tanto para o exame direto quanto para a cultura. As lâminas podem ser preparadas com KOH 10-40%, entre lâmina e lamínula, *imprints* ou cortes histológicos e, nestes casos, corar com os métodos de PAS, GMS, HE ou outros.

Sangue e medula óssea

Em amostra já semeada em meio de cultura líquido, retirar uma alíquota e centrifugar. Do sedimento, preparar esfregaços para corar pela prata, giemsa, PAS ou outros. Em amostras não semeadas, mas heparinizadas, preparar o esfregaço em lâmina diretamente para as colorações. A preparação com KOH não é recomendada pela dificuldade de visualização das estruturas fúngicas.

Líquido cerebrospinal (liquor)

O liquor deve ser centrifugado a 2.000 rpm, por 10 minutos, e o sedimento, utilizado para a pesquisa de fungos. O sobrenadante pode ser usado em pesquisa bioquímica ou imunológica. Colocam-se gotas do sedimento sobre a lâmina com 1 gota de tinta da China ou nigrosina, mistura-se e sobrepõe uma lamínula, nos casos suspeitos de meningoencefalite pelo *Cryptococcus* sp. Também uma lâmina e uma lamínula com KOH são recomendadas em casos suspeitos de feo-hifomicose cerebral. Por último, um esfregaço para corar com prata em outros casos de suspeita fúngica.

Urina

A urina é centrifugada a 2.000 rpm, durante 10 minutos. Desprezar o sobrenadante e preparar com o sedimento entre lâmina e lamínula com KOH 10-40% ou esfregaços para corar com gram ou outras.

Fezes

Utilizar uma pequena alíquota de fezes e diluí-la com KOH 10-40% e preparar entre lâmina e lamínula ou preparar esfregaços para corar com gram ou outras colorações.

Outros materiais

Os demais materiais clínicos são processados com KOH 10-40% ou realizadas colorações como GMS, PAS e HE, conforme as necessidades inerentes a suspeita diagnóstica, inclusive em suspeitas de fungos demáceos.

Existem artefatos que podem ser confundidos com hifas ou esporos de fungos, como impurezas, fiapos de algodão, cristalização da potassa em preparações com KOH e materiais proteináceos. Portanto, é importante a observação criteriosa da estrutura vista na microscopia para evitar falso resultado positivo.

Cultura

Após o exame microscópico direto, a cultura é necessária para o isolamento e a identificação do fungo. Em micologia, existem diversos meios de cultura e poucos são necessários para o crescimento e o isolamento dos fungos. Um meio básico usado é o ágar Sabouraud dextrose (ASD), que permite o crescimento de qualquer fungo oportunista ou patógeno primário. Um meio seletivo com ASD acrescido de cloranfenicol e cicloeximida inibe o crescimento bacteriano, fungos oportunistas e leveduras. Desse modo, cada material biológico apresenta suas peculiaridades quanto ao crescimento primário, cabendo ao micologista a escolha do meio de cultura mais adequado para o isolamento dos fungos sem a perda do diagnóstico correto para cada processo infeccioso. O meio de cultura pode ser preparado tanto em placa quanto em tubo.

A semeadura é feita usando a alça bacteriológica ou o fio dobrado na ponta em ângulo de 90°, inoculando-se o material sobre o meio de cultura em pontos equidistantes. Se houver suspeita de *Candida* sp. podem ser usados meios de cultura cromo-

gênicos para identificação das principais espécies patogênicas do gênero, para facilitar a visualização de colônias mistas.

O material, quando coletado por *swab*, é depositado em uma extremidade da placa ou do tubo e semeado por esgotamento com a alça bacteriológica em toda a extensão do meio de cultura.

Em materiais líquidos, após centrifugação, o sedimento é depositado em uma extremidade da placa ou do tubo e semeado por esgotamento com a alça bacteriológica.

Para a urina, segue-se a mesma rotina da urocultura bacteriana, a amostra é semeada com alça calibrada 0,001 mL e o crescimento também é interpretado como na urocultura bacteriana.

Nos casos suspeitos de micoses por zigomicetos, os fragmentos de material biológico podem ser cobertos por pequenos fragmentos de pão úmido. Em espécime clínico contaminado, como escarro, adiciona-se 0,2 mL de cloranfenicol para cada 1 mL do material, para diminuir a flora contaminante, antes da semeadura.

Atualmente como rotina o material é semeado em ASD e ASD suplementado com cloranfenicol e cicloeximida, incubado entre 25 e 30°C ou, quando necessário, entre 35 e 37°C, para pesquisa de fungos dimórficos, atmosfera convencional e tempo variando conforme o fungo, 24 a 72 horas para leveduras e até 30 dias para fungos filamentosos e dimórficos. Recomenda-se usar mais de um tubo ou placa de meio de cultura.

O ágar infuso cérebro-coração é recomendado para obtenção da fase leveduforme dos fungos dimórficos. O ágar sangue e o ágar chocolate também podem ser usados na micologia para se obter a fase leveduriforme de fungos dimórficos na temperatura entre 35 e 37°C. São preparados a partir do próprio meio de ágar Sabouraud. Para o ágar Sabouraud sangue, usa-se 10 mL de ágar Sabouraud, fundido em banho-maria. Deixar esfriar até cerca de 50 a 60°C, juntar 1 mL de sangue desfibrinado de coelho e esfriar com o tubo inclinado. O ágar Sabouraud chocolate diferencia-se do anterior pelo fato de, após juntar o sangue, aquecer-se a 90°C, durante cinco minutos. Esfriar com o tubo inclinado.

A identificação dos fungos é feita por observação macro e microscópica das colônias.

O diagnóstico microscópico é processado retirando uma pequena porção da colônia que é observada entre lâmina e lamínula, com uma gota de KOH 10-40% e objetiva de 10 ou 40 vezes.

Em alguns casos, deve-se utilizar provas adicionais, como o uso de meio de cultura pobre em nutrientes para acelerar o desenvolvimento do aparelho reprodutor dos fungos, por exemplo o ágar lactrimel e o ágar *corn meal*. Outras provas: a do tubo germinativo para *Candida albicans*, o teste da urease e perfuração do pelo para

diferenciação das espécies *Trichophyton mentagrophytes* do *T. rubrum* e a cultura em lâmina para observação da colônia íntegra com seus órgãos de frutificação.

O isolamento de fungos oportunistas em sítios estéreis, como sangue, liquor, líquido sinovial e outros, é representativo de infecção. Porém, em materiais normalmente contaminados, a interpretação deve estar associada à clínica do paciente.

Cultura em lâmina

A cultura em lâmina é necessária quando o exame direto e/ou a cultura não forem suficientes para o diagnóstico definitivo do fungo em questão. Essa técnica permite a observação das estruturas fúngicas vegetativas e de esporulação em sua integridade. O método de Riddel ou o modificado por Harris podem ser usados.

Preparo das placas de Petri para o cultivo em lâmina

- As placas são montadas conforme a Figura 1 e esterilizadas para uso.
- Forrar o fundo da placa com papel de filtro.
- Introduzir em cada placa um suporte para a lâmina, como um bastão de vidro encurvado em forma de U, uma lâmina ou outro; uma lâmina e uma lamínula de microscopia.
- Esterilizar em forno Pasteur.



Figura 1 Placa para cultivo em lâmina.

Técnica

1. Umedecer o papel de filtro da placa com água estéril.
2. Liquefazer o ágar dextrose batata em banho-maria.
3. Em uma placa de Petri 10 x 20 esterilizada, verter 15 mL do meio de cultivo liquefeito e deixar solidificar.
4. Cortar o meio já solidificado em pequenas porções de 1 cm², com o auxílio de pequena espátula ou bisturi, previamente flambada e em número suficiente para os cultivos das amostras.
5. Com o próprio bisturi ou espátula, transferir as porções do meio de cultivo para a superfície central da lâmina de microscopia, disposta sobre o bastão de vidro.
6. Semear pequenos fragmentos da colônia nos extremos do meio de cultivo, cobrindo com a lamínula, com o auxílio de pinça previamente flambada. Cobrir a placa de Petri com a tampa.
7. Incubar a placa entre 25 e 30°C.
8. Controlar pelo exame microscópico se há suficiente desenvolvimento miceliano e esporulação do fungo na lâmina.

Testes bioquímicos e biológicos

Os testes bioquímicos ou biológicos também são úteis para o diagnóstico micológico quando o fungo não é identificado por exame direto e/ou cultura.

Provas bioquímicas

Auxonograma e zimograma

Para o diagnóstico diferencial das diversas leveduras, as provas de assimilação de carbono e nitrogênio (auxanograma) ou de fermentação dos açúcares (zimograma) são usadas na rotina micológica.

Prova da urease

Alguns fungos têm a capacidade de hidrolisar a ureia, tornando o meio alcalino. Quando no meio de cultura houver um indicador de pH, este muda de cor.

A técnica consiste em repicar uma porção da colônia para o ágar Christensen ureia. Incubar entre 25 e 30°C, por até cinco dias. A atividade ureásica produz alteração alcalina do pH do meio, modificando a cor original do amarelo para róseo quando o indicador de pH for o vermelho de bromofenol. O *Trichophyton mentagrophytes* apresenta esta característica, e o *T. rubrum*, não. Os gêneros *Cryptococcus*, *Rhodotorula* e *Trichosporon* são positivos, e *Candida* e *Geotrichum* são negativos.

Provas biológicas

Também são provas auxiliares no diagnóstico micológico, tanto para fungos filamentosos quanto para leveduras.

Tubo germinativo

Serve para o diagnóstico de algumas espécies de *Candida*. Uma suspensão da colônia de *Candida* sp. é preparada em 0,5 a 1 mL de soro humano ou fetal bovino. Incubar entre 35 e 37°C, por duas a quatro horas. *C. albicans*, *C. stellatoidea* e *C. dubliniensis* têm a capacidade de formar o tubo germinativo, e as outras espécies, não (Figura 2).

Teste de perfuração do pelo *in vitro*

Diferencia o *Trichophyton mentagrophytes* que é positivo do *T. rubrum*, negativo. Pelos estéreis são colocados em caldo ou ágar Sabouraud junto com o inóculo. O pelo é retirado do meio de cultura e examinado no microscópio óptico para verificar a capacidade do fungo de perfurar ou não o pelo em busca da queratina para sua nutrição. O *T. mentagrophytes* perfura o pelo, e o *T. rubrum*, não.

Pigmentação

Alguns fungos, como os dermatófitos, têm a capacidade de pigmentar o meio de cultura ao utilizarem determinados nutrientes presentes em sua composição. O *Trichophyton rubrum* pigmenta de vermelho o meio ágar batata, e o *T. mentagrophytes*, não.

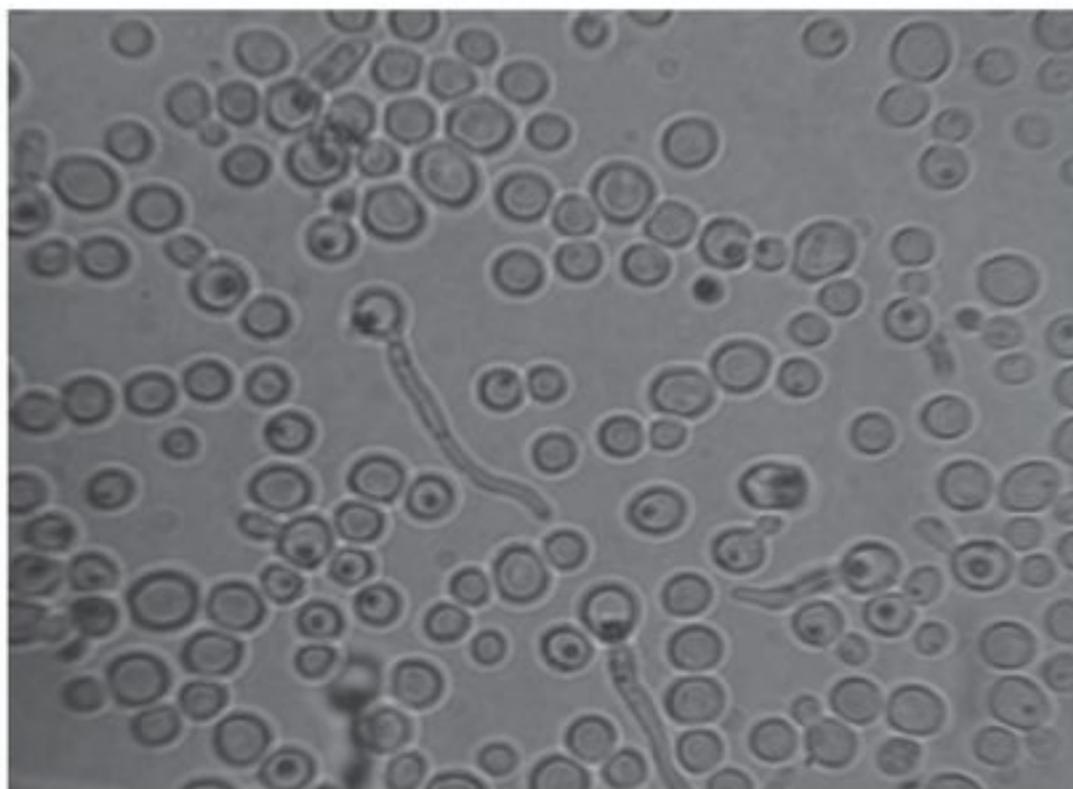


Figura 2 Tubo germinativo. (Veja a imagem colorida no miniatlas ao final do livro.)

Sorologia

A evidência de infecção fúngica é feita pela demonstração do fungo pelo exame direto ou cultura do material biológico. No entanto, indiretamente, pode-se observar pelo estado hipersensível, aumento do título de anticorpo específico ou antígenos circulantes. Os dados sorológicos, porém, devem ser criteriosamente interpretados, pois os resultados positivos nem sempre confirmam a infecção e negativos não a excluem.

Os testes sorológicos auxiliam no diagnóstico, bem como são importantes no monitoramento do paciente. A quantificação de anticorpos durante e após a terapia antifúngica proporciona dados para avaliação do tratamento e prognóstico dos casos.

O soro de pacientes infectados com agentes fúngicos pode conter anticorpos específicos. Sendo assim, o laboratório tem condições de realizar testes imunológicos para detectá-los, como o teste de imunodifusão radial, aglutinação de partículas de látex, fixação de complemento, imunofluorescência indireta, enzimaímunoensaio e imunoeletroforese.

Na blastomicose, a imunodifusão radial dupla é específica para o diagnóstico. No caso da criptococose, pode ser usado o teste de aglutinação de partículas de látex como reação específica ou a imunofluorescência indireta como auxiliar.

Na coccidioidomicose, a fixação de complemento é recomendada e os testes de precipitina têm valor diagnóstico e prognóstico. O teste de precipitina é mais efetivo em determinar a infecção primária ou a exacerbação da doença.

Na paracoccidioidomicose, o teste de imunodifusão dupla é empregado como triagem e diagnóstico. A contraímunoeletroforese, semiquantitativa, é útil no controle do paciente em tratamento. A fixação do complemento é utilizada no monitoramento da terapia antifúngica. A imunofluorescência indireta é sensível, mas pouco específica, sendo inadequada para o diagnóstico. A técnica de ELISA (*enzyme-linked immunosorbent assay*), com alta sensibilidade, tem sido útil no monitoramento de pacientes por meio da quantificação de anticorpos.

Na histoplasmose, os testes de imunodifusão dupla e contraímunoeletroforese são específicos. Na imunodifusão dupla, podem ser detectados os antígenos glicoproteicos termossensíveis M e H, principais componentes antigênicos desse fungo. Para detecção de antígenos circulantes são realizados testes de aglutinação de partículas de látex, recobertas por anticorpo monoclonal IgM antigalactomanana. Outro teste útil é o ELISA direto, que também utiliza anticorpo monoclonal antigalactomanana aderido às fossas das microplacas de poliestireno.

A candidíase sistêmica não oferece indicadores seguros para o diagnóstico sorológico. Os testes sorológicos que detectam anticorpos têm valor diagnóstico limitado. Testes para detectar antígeno, como a manana, polissacarídeo predominante da pare-

de celular de *C. albicans*, têm valor preditivo baixo, em virtude da baixa sensibilidade e especificidade.

Lâmpada de Wood

É um auxiliar no diagnóstico e controle de tratamento de micoses, como nas tinhas do couro cabeludo, pitiríase versicolor e eritrasma.

Os pelos, quando atacados por dermatófitos, emitem fluorescência de cores variadas. A pele que contém o fungo *Malassezia* sp. como agente de pitiríase versicolor ou a bactéria *Corynebacterium minutissimum* agente do eritrasma emite fluorescência prateada e vermelho coral, respectivamente.

Hemocultura

A presença de qualquer fungo na corrente circulatória pode ser detectada pela cultura do sangue. Usam-se tanto técnicas convencionais quanto automatizadas na hemocultura.

Anatomopatologia

Em cortes histológicos corados, pode ser observada a presença de elementos fúngicos no tecido em casos de micoses subcutânea e sistêmica, possibilitando muitas vezes o diagnóstico micológico.

Intradermorreação

As provas cutâneas também têm sido usadas para auxiliar no diagnóstico, no tratamento e na pesquisa epidemiológica das micoses sistêmicas ou avaliar a hipersensibilidade por fungos de indivíduos com asma ou rinite. No paciente hipersensível, o contato da pele com extratos micelianos ou célula intacta dos agentes fúngicos e micoses sistêmicas, como a blastomicina, histoplasmina, coccidioidina e esferulina ou de outros fungos do ambiente, induzem resposta local caracterizada por vermelhidão, inflamação e endureção em 24 a 48 horas. O significado desta reação positiva é que o paciente teve contato com o fungo no decorrer de sua vida. Entretanto, pode ocorrer reação cruzada entre antígenos, devendo-se, portanto, avaliar previamente o valor diagnóstico do teste cutâneo.

O teste cutâneo é realizado injetando 0,1 mL de antígeno, subcutâneo, no antebraço. Após 48 horas, o aparecimento de pápula eritematosa igual ou superior a 5

mm significa resultado positivo. O resultado pode indicar infecção ativa, passada ou apenas sensibilização ao antígeno.

É útil em levantamento epidemiológico nas regiões endêmicas e como valor prognóstico durante o tratamento de algumas micoses.

DIAGNÓSTICO POR BIOLOGIA MOLECULAR

Com o aumento da incidência das infecções fúngicas e decorrente mortalidade nas duas últimas décadas do século XX, a necessidade de um diagnóstico mais preciso e exato se tornou extremamente necessário. As micoses vêm se manifestando de forma distinta no homem, não somente por causa da virulência do agente etiológico, mas também pela suscetibilidade genética e resposta imune do próprio hospedeiro. Dessa forma, algumas manifestações clínicas podem fugir do usual e, quando conjuntamente o antígeno encontrar-se escasso no material biológico, o emprego de métodos fenotípicos clássicos pode retardar o diagnóstico etiológico final. Assim, por causa dos inconsistentes resultados de identificação que as tradicionais técnicas apresentam, o uso da biologia molecular na taxonomia e na tipagem desses microrganismos apresentam o esperado desempenho com as necessidades diagnósticas atuais requeridas na micologia clínica.

Nas últimas duas décadas do século XX, diversas técnicas moleculares foram desenvolvidas para estudos envolvendo o diagnóstico dos agentes causais das micoses mais prevalentes ao homem. Em virtude dos avanços que envolvem o sequenciamento do genoma de diversas espécies de fungos patogênicos, técnicas de identificação baseadas na amplificação de sequências taxonômicas específicas conservadas dos genes 5.8S, 18S e 26S do DNA ribossomal (rDNA) vêm permitindo rápido diagnóstico (Figura 3). Há hoje disponíveis no mercado iniciadores (*primers*) específicos para amplificação via reação em cadeia da polimerase (PCR) da maioria dos fungos responsáveis pelas micoses superficiais, cutâneas, subcutâneas, sistêmicas e oportunistas ao homem.

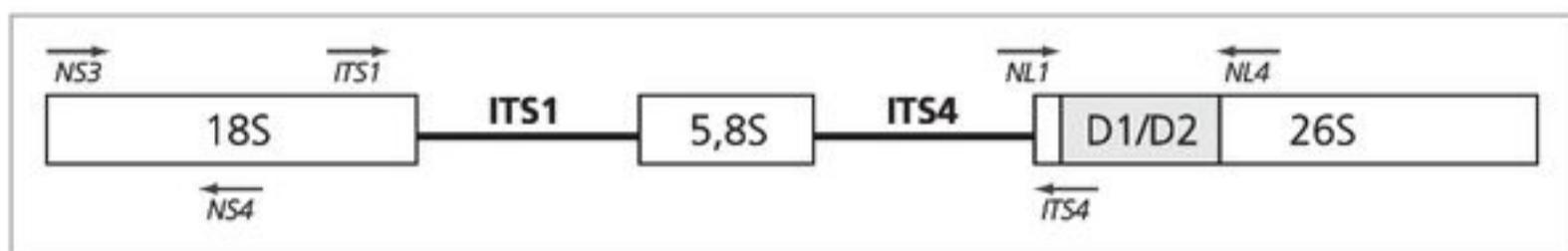


Figura 3 Mapa das regiões de amplificação e sequenciamento do DNA ribossomal fúngico, pelos iniciadores mais comuns na biologia molecular dos fungos de interesse médico: ITS1, ITS4, NL1, NL4, NS3 e NS4.

As técnicas envolvendo a análise do polimorfismo dos fragmentos de restrição (PCR-RFLP) e análise de polimorfismo de DNA amplificado aleatoriamente (RAPD) são técnicas usuais de tipagem que permitem diagnosticar importantes espécies fúngicas patogênicas, como os principais dermatófitos, e diferenciar as principais espécies de *Candida*, os dois mais comuns agentes da criptococose, bem como as espécies de *Aspergillus* relacionadas com a aspergilose. No caso do PCR-RFLP, a técnica compreende a quebra do DNA amplificado por enzimas de restrição em regiões com determinadas sequências de bases e a separação dos fragmentos resultantes por eletroforese. Diferentes perfis de bandas, ou polimorfismos, podem ser observados diretamente sob a luz ultravioleta após a coloração do gel com brometo de etídio.

No RAPD, o DNA é amplificado em reação de PCR, usando somente um iniciador (*primer*) com uma sequência arbitrária. O *primer* hibrida aleatoriamente com sequências homólogas ao DNA em estudo, originando fragmentos amplificados. O produto é sujeito à eletroforese e, após coloração com brometo de etídio, é visualizado sob luz ultravioleta. Perfis de bandas diferentes indicam sequências distintas nas moléculas originais de DNA. Um dos problemas da análise de RAPD é que os perfis obtidos, quer em um mesmo laboratório, quer interlaboratórios, nem sempre são reprodutíveis. O RAPD vem sendo amplamente utilizado com grande sucesso por vários pesquisadores na tipagem e na identificação de inúmeros fungos patogênicos, como *Histoplasma capsulatum*, *Aspergillus fumigatus*, *Cryptococcus neoformans*, espécies do gênero *Candida* e outras espécies leveduriformes de gêneros emergentes, como *Trichosporon* (Figura 4). Uma abordagem relacionada à técnica de RAPD é a

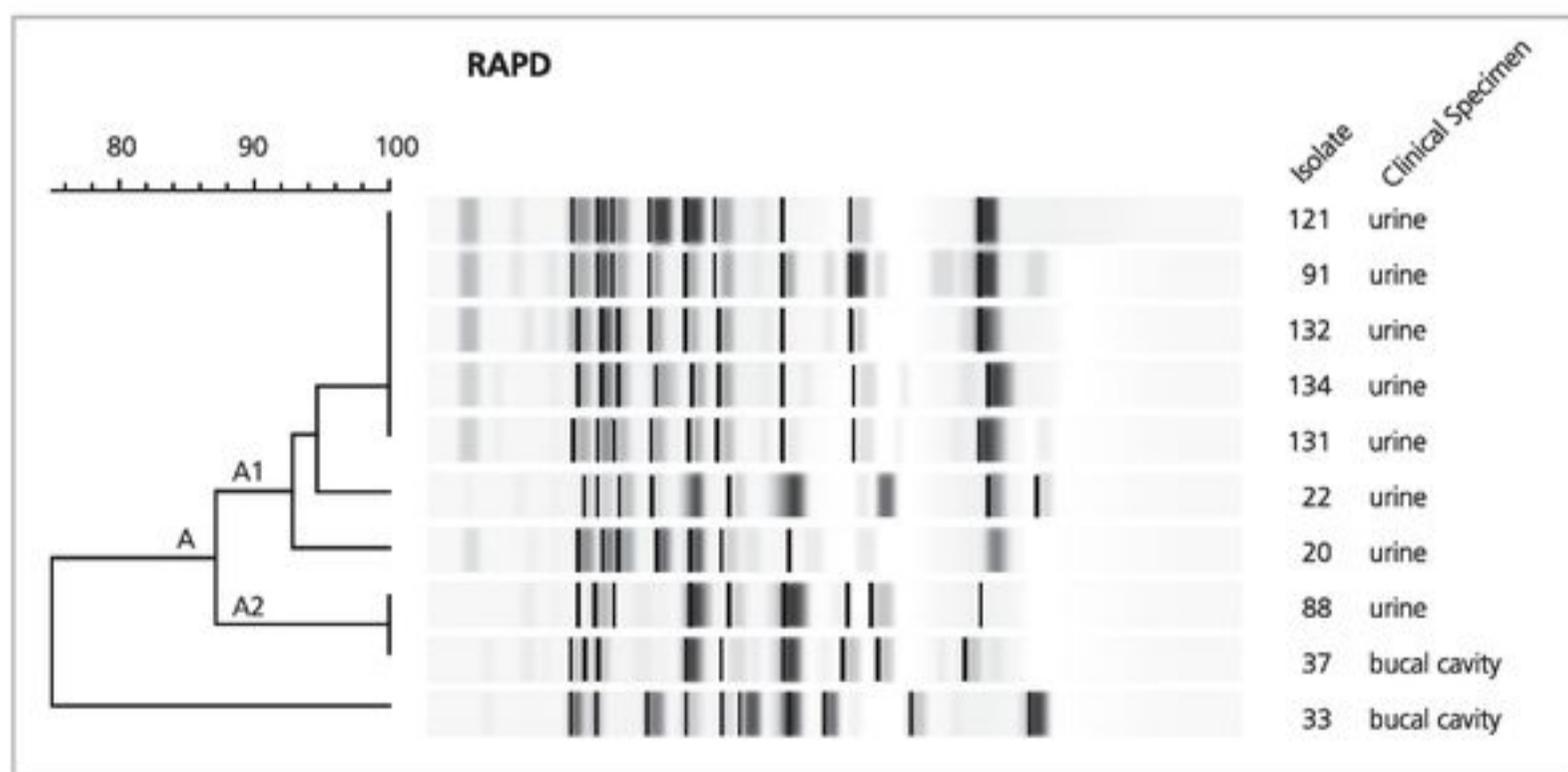


Figura 4 Dendrograma obtido a partir dos padrões de RAPD para tipagem e identificação de diversos isolados do fungo leveduriforme oportunista *Trichosporon asahii*. Fonte: DOI. 10.1590/S1517-83822008000300033.

amplificação de fragmentos usando como *primers* oligonucleotídeos específicos para sequências de DNA repetitivas, ou *primers* microssatélites, que tem permitido a discriminação em nível da espécie e da subespécie. Esse método é mais robusto do que o RAPD, dado que a temperatura de emparelhamento das bases é superior.

Uma alternativa que oferece maior segurança no caso da reação de RAPD não ser suficientemente específica, é o chamado *nested PCR* (PCR encaixado). No *nested PCR*, são usados um primeiro par de *primers* para amplificar determinado fragmento do DNA original, seguindo-se nova reação de PCR com um segundo par de *primers*, complementares a sequências existentes no primeiro produto amplificado. Caso esse corresponda ao fragmento que se pretendia amplificar, essa estratégia funciona como um passo de confirmação.

Para o diagnóstico de fungos que não se conheçam iniciadores ou padrões polimórficos identificatórios, o sequenciamento de regiões do gene do DNA ribossomal nuclear, especificamente, de regiões espaçadoras do transcrito interno (ITS) ou da região D1/D2, revelaram-se suficientes para discriminar entre muitas espécies de fungos filamentosos e leveduras clinicamente importantes, sendo úteis para análises filogenéticas de espécies de difícil diagnóstico ou ainda não descritas na literatura. As vantagens do sequenciamento de nucleotídeos decorrem da obtenção de dados precisos e acesso a bancos de dados, facilitando assim análises comparativas. Para essas análises as sequências são alinhadas e as diferenças, contabilizadas de forma numérica, podendo-se utilizar uma rotina matemática clara e reprodutiva.

Identificação molecular de leveduras patogênicas emergentes

A identificação taxonômica de leveduras patogênicas emergentes baseia-se no sequenciamento da região D1/D1 do gene 26S da subunidade maior do DNA ribossomal. Até os dias atuais, mais de 700 novas espécies de leveduras emergentes, pertencentes a 25 diferentes gêneros, foram descritas baseada no sequenciamento dessa região. Além das espécies ainda não conhecidas, o sequenciamento de regiões do gene 26S permite a rápida identificação de espécies conhecidas, mas emergentes, por meio da comparação da sequência de cerca de 650 pares de bases amplificada com as depositadas nos bancos de genoma mundial.

Uma das mais importantes bases de dados para a classificação de fungos é o GenBank (www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy), do National Center for Biotechnology Information (NCBI) em colaboração com laboratórios internacionais que reúne sequências de mais de cem mil organismos distintos. Além do GenBank, outras bases de dados fornecem informações relativas a sequências de microrganismos, como o Tree of Life Web Project (tolweb.org/tree), a série on-line Myconet (

seum.org/myconet), o Index Fungorum (www.indexfungorum.org) e o MycoBank (www.mycobank.org).

A identificação bioquímica e fisiológica desses isolados, além de ser dispendiosa, não possui a especificidade adequada para a identificação de amostras emergentes de interesse clínico, pois não se conhece o número mínimo de provas bioquímicas necessárias para alcançar a identificação mais provável, o que torna a biologia molecular a única ferramenta adequada para esse tipo de situação.

Identificação molecular de fungos filamentosos patogênicos e emergentes

A identificação de fungos filamentosos pela metodologia convencional está baseada principalmente nas características fenotípicas estruturais. A identificação em nível de espécie é, classicamente, realizada mediante a observação das estruturas reprodutivas assexuadas ou sexuadas que os fungos exibem nos diferentes meios de cultivo, sendo necessária sempre à utilização das chaves de classificação. Uma das limitações do método clássico na identificação dos fungos filamentosos é que na presença de condições nutritivas favoráveis, o fungo não produz estruturas reprodutivas, o que pode levar a diagnóstico errôneo do agente etiológico em questão. O advento dos métodos moleculares permite solucionar os laudos inconclusivos e na maioria das vezes errôneos no diagnóstico micológico desse grupo de fungos, principalmente naqueles considerados incomuns, ou seja, emergentes.

Ao contrário de outras sequências repetitivas que aparentemente não têm função conhecida no genoma, a função do rDNA é a de codificar as diferentes moléculas do RNA ribossômico, representando extrema importância no processo de tradução de proteínas. Em geral, as regiões 26S ou 28S, 18S e 5,8S das unidades de repetição não apresentam variações de sequência, enquanto as regiões internas que são transcritas, conhecidas como ITS, variam enormemente. Dessa forma, as sequências codificantes do rDNA evoluem muito lentamente e são altamente conservadas, possibilitando a utilização em estudos com organismos pouco relacionados taxonomicamente. Ao contrário do rDNA, as regiões espaçadoras internas destes genes (ITS) evoluem rapidamente, apresentando alto polimorfismo, e sendo assim de grande interesse nos estudos filogenéticos em níveis de gênero, principalmente de fungos filamentosos de interesse clínico. Essa região, com cerca de 600 a 800 pb, pode ser amplificada usando oligonucleotídeos iniciadores universais. Por estar presente com múltiplas cópias no genoma, é uma região relativamente fácil de amplificar, mesmo o material genético sendo diluído ou degradado.

BIBLIOGRAFIA

1. Abdin MZ, Ahmad MM, Javed S. Advances in molecular detection of *Aspergillus*: an update. *Arch Microbiol.* 2010;192(6):409-25.
2. Alberts B, Johnson A, Lewis J, Raff M, Roberts K, Walter P. *Molecular biology of the cell.* New York: Garland Science; 2002.
3. Cauduro PF, Mezzari A. *Bacteriologia e micologia no laboratório.* Porto Alegre: Sagra Luzzatto; 1989.
4. Chen YC, Eisner JD, Kattar MM, Rassouljian-Barrett SL, LaFe K, Yarfitz SL, et al. Identification of medically important yeasts using PCR-based detection of DNA sequence polymorphisms in the internal transcribed spacer region 2 of the rRNA genes. *J Clin Microbiol.* 2000;38:2302-10.
5. Chen YC, Eisner JD, Kattar MM, Rassouljian-Barrett SL, Lafe K, Bui U, et al. Polymorphic internal transcribed spacer region 1 DNA sequences identify medically important yeasts. *J Clin Microbiol.* 2001;39:4042-51.
6. Dixon DM, Fromthing RA. Morphology, taxonomy, and classification of the fungi. In: Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover RH (eds.). *Manual of clinical microbiology.* 6.ed. Washington DC: American Society of Microbiology; 1995. p.699-708.
7. Hageage GJ, Harrington BJ. Use of calcofluor white in clinical mycology. *Lab Med.* 1984;15(2):109-12.
8. Harris JL. Modified method for fungal slide culture. *J Clin Microb.* 1986;24(3):460-1.
9. Hay RJ, Jones RM. New molecular tools in the diagnosis of superficial fungal infections. *Clin Dermatol.* 2010;28(2):190-6.
10. Iwen PC, Hinrichs SH, Rupp ME. Utilisation of the internal transcribed spacer regions as molecular targets to detect and identify human fungal pathogens. *Med Mycol.* 2002;40:87-109.
11. Lacaz CS, Porto E, Martins JEC, Heins-Vaccari EM, Melo NT. *Tratado de micologia médica Lacaz.* 9.ed. São Paulo: Sarvier; 2002.
12. Lau A, Chen S, Sleiman S, Sorrell T. Current status and future perspectives on molecular and serological methods in diagnostic mycology. *Future Microbiol.* 2009;4:1185-222.
13. Lenette E, Balows A, Hausler WJ, Shadomy HJ. *Manual de microbiologia clínica.* 4.ed. Buenos Aires: Panamericana; 1987.
14. Liu D, Coloe S, Baird R, Pedersen J. Application of PCR to the identification of dermatophyte fungi. *J Med Microbiol.* 2000;49:493-7.
15. Mezzari A. *Micologia no laboratório.* Porto Alegre: Sagra Luzzatto; 2001.
16. Mezzari A, Cauduro PF, Dias CAG. Ocorrência de fungos em população urbana: amostragem de um laboratório privado em Porto Alegre, RS. *Rev Microbiol.* 1988;19(3):290-2.
17. Odds FC. Molecular phylogenetics and epidemiology of *Candida albicans*. *Future Microbiol.* 2010;5:67-79.
18. Riddell RW. Permanent stained mycological preparations obtained by slide culture. *Mycologia.* 1950;42:265.
19. Severo LC. Colheita e transporte do espécime clínico para exame micológico. *R Amrigs.* 1986;30(3):204-8.
20. Sidrim JLC, Moreira JLB. *Fundamentos clínicos e laboratorial da micologia médica.* Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1999.
21. Walsh TJ, Melcher GP, Rinaldi MG, Lecciones J, McGough DA, Kelly P, et al. *Trichosporon beigelii*, an emerging pathogen resistant to amphotericin B. *J Clin Microbiol.* 1990;28(7):1616-22.
22. Wengenack NL, Binnicker MJ. Fungal molecular diagnostics. *Clin Chest Med.* 2009;30(2):391-408.
23. Zaitz C, Campbell I, Marques SR, Ruiz LRB, Souza VM. *Compêndio de micologia médica.* Rio de Janeiro: Medsi; 1998.

Micoses superficiais

INTRODUÇÃO

As micoses superficiais são caracterizadas por serem causadas por um grupo de fungos heterogêneos, leveduriformes hialinos e demáceos. O fungo parasita as camadas mais superficiais do extrato córneo. Os pelos são apenas envolvidos pelo microrganismo. São diferentes clínica e micologicamente, não causam IDES, ou seja, não são capazes de sensibilizar o organismo humano e provocar reação de hipersensibilidade cutânea a distância do foco infeccioso. Fazem parte deste grupo:

- Pitiríase versicolor.
- *Piedra* preta.
- *Piedra* branca.
- *Tinea nigra*.

PITIRÍASE VERSICOLOR

Considerações gerais

A pitiríase versicolor ou *tinea versicolor* é uma micose superficial, cujo agente etiológico é a levedura *Malassezia* sp. Atualmente, sete espécies são as mais frequen-

temente encontradas causando micose: *M. furfur* (abriga as espécies *Pityrosporum ovale* e *P. orbiculare*), *M. pachydermatis*, *M. sympodialis*, *M. globosa*, *M. obtusa*, *M. restricta* e *M. slooffiae*. A levedura tem distribuição mundial, porém, é mais frequente nas zonas tropicais e subtropicais. Acomete indivíduos de todas as raças e ambos os sexos, sendo a faixa etária mais acometida entre 20 e 40 anos. Fungo da microbiota cutânea humana, colonizando o indivíduo já nas primeiras semanas de vida, porém, as manifestações clínicas ocorrem com maior prevalência na população adulta. Esta levedura tem sido encontrada em outras manifestações clínicas, como dermatite seborreica, onicomiose e infecções sistêmicas. Em determinados indivíduos, provoca lesão cutânea com tendência à cronicidade e com recidivas frequentes após tratamento. É encontrada em áreas com maior fluxo de glândulas sebáceas.

Manifestações clínicas

É uma das mais frequentes micoses, em geral é assintomática, porém facilmente identificada pelo médico. Apresenta lesões do tipo manchas hipocrômicas, hiperocrômicas ou eritematosas, arredondadas, isoladas ou confluindo em placas maiores, bordas bem definidas, com descamação fina, furfurácea, localizadas geralmente na parte superior do tronco, abdome, pescoço e face. As lesões eritematosas são discretamente elevadas por apresentarem um componente inflamatório. Apresenta, portanto, variabilidade na coloração das lesões, o que leva à denominação de versicolor. A área acometida apresenta lesões e pele com pigmentação normal. Excepcionalmente localizam-se fora das áreas características, como região cervical, braço, membros inferiores e região inguinal.

Muitos indivíduos infectados apresentam fina descamação do couro cabeludo. Alguns autores acreditam que o tratamento em conjunto, do couro cabeludo e das lesões, diminua as recidivas.

O diagnóstico clínico é feito pelo aspecto da lesão e pelos sinais de Besnier, sinal da unha ou sinal da cureta, o qual consiste em raspar a lesão com unha ou cureta obtendo uma fina descamação furfurácea. O sinal de Zileri consiste no estiramento da pele afetada com os dedos, facilitando a visualização de discreto esfacelamento da queratina da pele local. Quando as lesões são expostas à fluorescência por lâmpada de Wood (raios ultravioleta de 360 nm de comprimento), surge uma fluorescência verde amarelada.

A micose é crônica, e o paciente costuma referir problemas estéticos ao procurar assistência médica. Eventualmente alguns relatam prurido e ardor.

A levedura *Malassezia* sp., saprófita endógeno obrigatório e parte da flora normal da pele em aproximadamente 90% dos adultos, é também responsável por outras in-

fecções de pele, como dermatite seborreica e foliculite. Excepcionalmente, pode causar onicomicoses e infecções sistêmicas.

A dermatite seborreica tem como manifestação clínica a presença de placas eritematosas, escamas cinzentas e secas e com prurido. As lesões são observadas em locais ricos em glândulas sebáceas. A pitiríase capitis, ou caspa, é considerada um grau leve de dermatite seborreica. Considerada uma variante da dermatite seborreica, a blefarite seborreica se caracteriza por descamação oleosa amarelada e crostas nas bordas dos cílios podendo causar pústulas.

A foliculite também é uma consequência do agente *Malassezia* sp., consiste da presença de pápulas foliculares pruriginosas e pustulosas, afetando principalmente tórax e ombros.

Casos esporádicos de fungemia por *M. furfur* em crianças que recebiam emulsões lipídicas foram registrados. Os fatores de risco estão presentes, como a idade gestacional (menos 33 semanas), baixo peso ao nascer (menos 1.000 g), hospitalização e incubação prolongadas, doença de membrana hialina e intervenções (presença de cateter, administração de emulsão lipídica).

Deve ser realizado diagnóstico diferencial com vitiligo e pitiríase alba, uma variante da dermatite atópica.

Diagnóstico laboratorial

Coleta

O material é coletado por raspagem nas bordas das lesões para obter escamas da pele. Eventualmente, pode-se também coletar o material com fita colante (sinal de Porto): coloca-se a fita (lado gomado) sobre a lesão, retira-se e cola-se sobre a lâmina. Nesse caso, o material só serve para o exame direto.

A lâmpada de Wood pode auxiliar na coleta ao revelar fluorescência verde-amarelada onde se encontra o fungo em atividade.

Exame direto

O material de escama é colocado em lâmina com KOH 10-40% e lamínula. Pode também ser usado KOH acrescido de tinta Parker (na proporção de três partes de KOH e uma parte de tinta). Além desses, azul de metileno, giemsa, PAS e calcoflúor podem ser utilizados. Ao exame microscópico, as estruturas fúngicas apresentam forma de elementos leveduriformes arredondados, ovais isolados ou agrupados em cachos e hifas curtas de parede grossa, septada, ligeiramente curvada e irregular. Essa

observação define o aspecto característico do fungo *Malassezia* sp., bastando para diagnosticar a micose (Figura 1).

Quando coletado em fita gomada, observar no microscópio óptico as estruturas fúngicas características.

Cultura

Os laboratórios de diagnóstico não costumam cultivar o fungo de rotina, pois a cultura não é essencial para o diagnóstico de pitiríase. Atualmente, recomenda-se realizar o exame de cultura para verificar a viabilidade do fungo e identificar a espécie. Assim, é possível conhecer a epidemiologia da micose contribuindo para o diagnóstico de recidiva ou reinfecção. A cultura pode ser feita em ágar Sabouraud dextrose contendo óleos naturais, como azeite de oliva, milho, soja ou girassol. Todos são compostos de ácidos graxos de cadeia longa, entre 12 e 24 unidades de carbono. Esse meio de cultura possibilita identificar sete espécies de *Malassezia*, seis das quais são lipodependentes e uma lipofílica, a *M. pachydermatis*. Também pode ser usado o meio de Dixon ou outros. O meio de cultura é incubado entre 35 e 37°C, durante 7 a 10 dias. A colônia aparece entre o segundo e o quarto dia de incubação e apresenta aspecto leveduriforme, brilhante e ao microscópico observam-se blastoconídios globosos, arredondados ou ovalados, com característica comum o brotamento monopolar fialídico, com uma imagem semelhante a uma garrafa de boliche, com uma base espessa separando a célula-mãe da célula-filha, distinguindo-se uma cicatriz ou colarete com reprodução por brotamento.

Sendo um fungo que depende de longas cadeias de ácidos graxos para seu desenvolvimento, não cresce ou cresce lentamente em meio líquido ou sólido sem suplementação de lipídios. Por essa razão, também na cultura de sangue é necessário que o sangue do paciente tenha lipídios suficientes para iniciar *in vitro* o crescimento de subculturas em meio contendo também lipídios (Figura 1).

Tratamento

O paciente deve tentar prevenir o desenvolvimento da pitiríase versicolor cuidando dos hábitos de higiene e passando produtos oleosos na pele. Quando instalado à micose, o tratamento pode ser tópico com agentes queratolíticos como xampu de sulfeto de selênio 2,5% ou cetoconazol 2%; solução de hipossulfito de sódio 20%. Além disso, o tratamento sistêmico é recomendado quando o tratamento local não é efetivo ou quando a área atingida for muito extensa; nesses casos, podem ser usados cetoconazol, itraconazol ou fluconazol. A exposição ao sol acelera a repigmentação, mas só vai ocorrer definitivamente quando houver a recuperação dos melanócitos

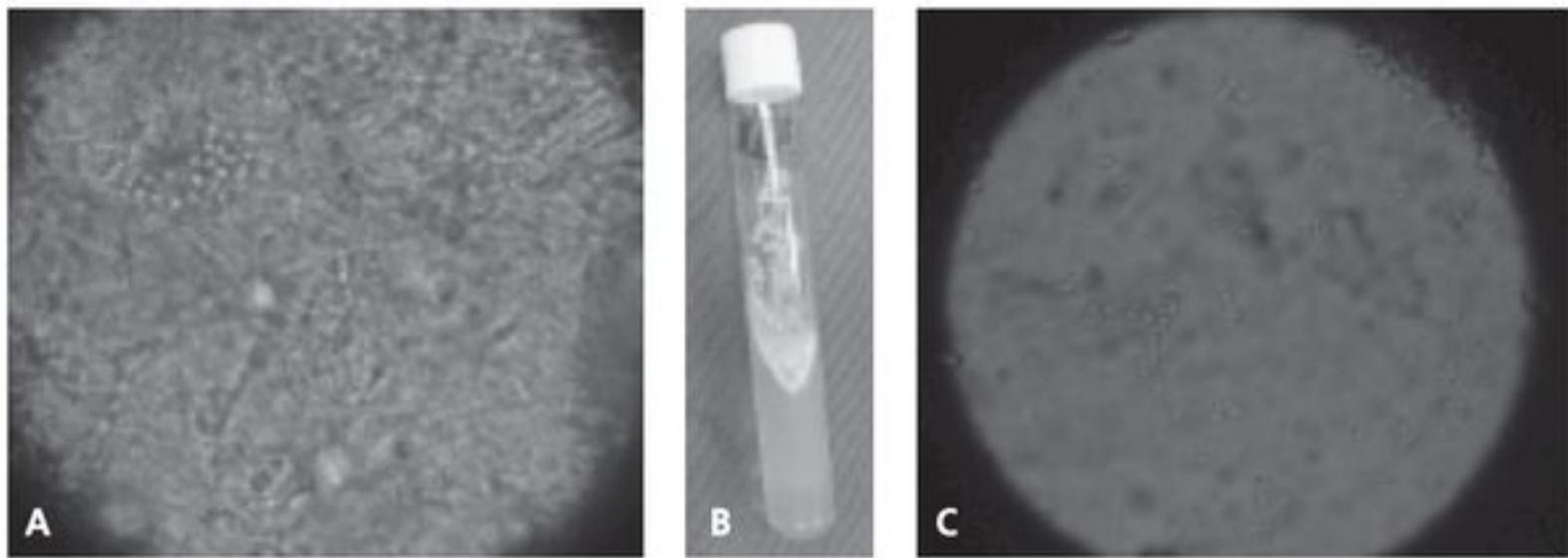


Figura 1 (A) Exame direto: esporos arredondados, agrupados e hifas curtas. (B) Cultura e (C) micromorfologia colonial.

lesados. Para evitar as recidivas, podem ser aplicados os medicamentos locais, uma a duas vezes por mês.

PIEDRA PRETA

Considerações gerais

O agente etiológico é um ascomiceto, a *Piedraia hortai*. É uma feo-hifomicose superficial por ser um fungo demáceo. Clinicamente se manifesta na forma de nódulos endurecidos, de coloração escura nos cabelos e raramente em outros pelos. Não acomete a pele próxima da região atingida. O fungo tem sido encontrado no solo de florestas úmidas e nas margens dos rios. Afeta ambos os sexos, com leve aumento no sexo masculino. Predomina em clima tropical e subtropical. No Brasil é relativamente frequente.

Os nódulos de cor castanha a negra se apresentam com consistência pétrea firmemente aderidos ao pelo sendo difícil sua remoção. É uma infecção crônica e assintomática na qual os folículos pilosos não são envolvidos.

Diagnóstico laboratorial

Exame direto

O exame micológico do pelo com potassa 10-40% mostra o nódulo castanho escuro aderido ao pelo e, em seu interior, observam-se uma trama de hifas de paredes escuras, septos espessos dispostos regularmente e espaços mais claros chamados lojas ascigeras (ascos), que contêm ascosporos fusiformes e encurvados e que são responsáveis pela disseminação da infecção (Figura 2).



Figura 2 Pelo infectado.

Cultura

Na cultura em ágar Sabouraud dextrose, o fungo cresce bem em cerca de 21 dias, entre 25 e 30°C. As colônias são pretas ou cinza-esverdeadas de aspecto variável. O exame microscópico da colônia revela hifas septadas acastanhadas, grossas, irregulares, septadas e numerosos clamidoconídeos intercalares. Quando a lâmina é feita da parte central da colônia, eventualmente, pode ser observada a presença de ascos.

Tratamento

Antifúngicos tópicos e o corte dos cabelos evitam a recorrência da micose.

PIEDRA BRANCA

Considerações gerais

Seu agente etiológico, o *Trichosporon spp.* (*T. ovoides*, *T. inkin*, *T. asahii*, *T. asteroides*, *T. cutaneum* e *T. mucoides*), manifesta-se na forma de nódulos castanho-claros, firmes e irregulares, que aderem à cutícula do pelo, determinando uma infecção fúngica crônica e assintomática. Não compromete a pele vizinha à infecção, sendo mais frequente em pelos pubianos, perianais, axilas, barba e bigode, ocorrendo raramente no couro cabeludo. Não afeta o folículo piloso. A micose pode ser confundida clinicamente com uma infecção bacteriana por *Tricomycose palmelina*.

O fungo tem sido encontrado amplamente distribuído na natureza (no solo, na água e em animais) e no próprio homem (na pele, na mucosa oral e no trato intestinal). Tem distribuição geográfica preferencialmente em climas tropicais e tempera-

dos. No Brasil, é prevalente na região norte. Não tem sido observada relação da *piedra* branca com higiene, contato direto ou sexual com os indivíduos contaminados, mas a presença do *T. inkin* (anteriormente *T. beigelii*), na região anal de homossexuais tem sido relatada. O fungo já foi diagnosticado também em casos de onicomicose, panarício e otomicose.

Walsh et al. (2004) registraram dois casos de tricosporonose invasiva em indivíduos imunocomprometidos, em ambos os casos o fungo se apresentou resistente à anfotericina B. Outros casos de infecções profundas, como pneumonia, endocardites, glomerulonefrite e abscessos cerebrais, já foram relatados na literatura.

Diagnóstico laboratorial

Exame direto

Ao exame direto do pelo, com potassa 10-40%, apresenta nódulo castanho-claro aderido, artroconídeos e blastoconídeos no interior, enquanto na *Tricomose palmelina* observa-se uma massa amorfa aderida ao pelo sem os esporos (Figura 3).

Cultura

O material é semeado em ágar Sabouraud dextrose, entre 25 e 30°C. As colônias crescem rapidamente em cerca de sete dias, cremosas, leveduriformes, branco-amareladas com superfície lisa, tornando-se rugosas e cerebriformes mais tarde. Ao exame microscópico, as colônias apresentam hifas septadas, hialinas, artroconídios e blastoconídios característicos do gênero (Figura 4). A identificação das espécies é realizada com provas que caracterizem a fisiologia, como assimilação de carboidratos, temperatura de crescimento e sensibilidade à cicloeximida.



Figura 3 Pelo infectado.



Figura 4 Micromorfologia da cultura.

Tratamento

Antifúngicos de uso tópico e corte dos pelos na região afetada são indicados.

TINEA NIGRA

Considerações gerais

Manifesta-se por lesão acinzentada ou acastanhada, pouco descamativa, bordos bem delimitados, pouco pruriginosa, localizada principalmente em regiões palmoplantares, raramente em outros locais. O agente etiológico, um fungo demáceo, a *Hortaea werneckii* anteriormente *Cladosporium werneckii*, *Exophiala werneckii* e *Phaeoannellomyces werneckii*. É doença tropical e subtropical. Atinge ambos os sexos e todas as idades. Com maior prevalência nos jovens em torno dos 20 anos. As mulheres são mais atingidas que os homens, cerca de 3 a 5 vezes. O fungo é encontrado no solo com elevada concentração de sal, sendo isolado do mar, peixes e frutos do mar e areia da praia. Deve-se fazer o diagnóstico diferencial entre nevo, melanoma e outros.

Diagnóstico laboratorial

Exame direto

A coleta é feita por raspado da lesão. Ao exame direto entre lâmina e lamínula do material, com potassa 10-40%, observam-se hifas acastanhadas, septadas, lisas, toruloides e ramificadas (Figura 5).

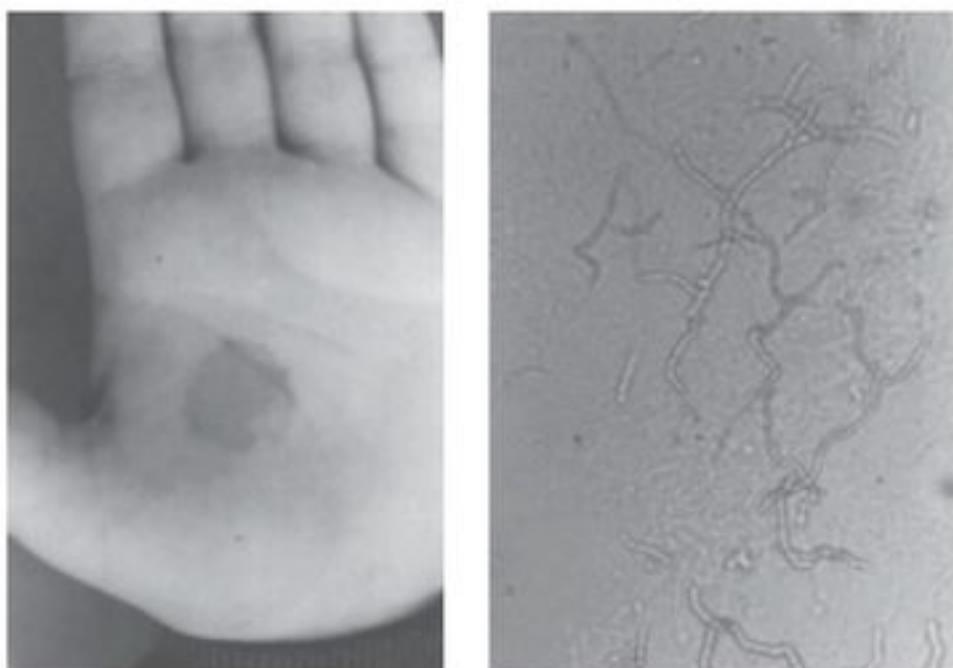


Figura 5 Exame direto da lesão. Fonte: Severo et al. (1994).

Cultura

A cultura é feita em ágar Sabouraud dextrose. A colônia de *P. werneckii* cresce em duas a três semanas, à temperatura entre 25 e 30°C; inicialmente é enegrecida, cremosa, leveduriforme e posteriormente torna-se filamentosa. Ao exame microscópico, na forma filamentosa, apresenta hifas septadas, acastanhadas, conidióforo contendo anelóforos rudimentares ou bem desenvolvidos, nos quais formam-se vários anelocónídeos. Na forma leveduriforme, apresenta conídios, na maioria, com septo.

Tratamento

A lesão é fácil de tratar com queratolíticos ou antimicóticos tópicos, podendo às vezes desaparecer somente com raspado da coleta para o diagnóstico. Recidivas só com nova exposição a materiais contaminados.

BIBLIOGRAFIA

1. Burge HA, Levetin E, Muilenberg, ML, Solomon, WR. Fungus spore identification. American Academy of Allergy Asthma Immunology; 1996. p.3-22.
2. Conant NF, Smith DT, Backer RD, Callaway JL. Manual of clinical mycology. 3. ed. Philadelphia: W.B. Saunders; 1971.
3. Costa RO. Micologia médica. Edição suplementar do J Bras Medicina (JBM); 2003.
4. Greenfield RA, Bronze MS. Emerging pathogens and knowledge in infectious diseases. Am J Med Sci. 2010;340(3):177-80.
5. Hurwitz S. Clinical pediatric dermatology. Philadelphia: W.B. Saunders; 1981.
6. Koneman EW, Allen SD, Dowell VR Jr, Janda WM, Sommers HM, Winn WC Jr. Color atlas and textbook of diagnostic microbiology. 3rd ed. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins; 1988.
7. Lacaz CS, Porto E, Martins JEC, Heins-Vaccari EM, Melo NT. Tratado de micologia médica Lacaz. 9. ed. São Paulo: Sarvier; 2002.

8. Marcon MJ, Powell DA. Human infections due to *Malassezia* spp. *Clin Microbiol Rev.* 1992;5(2):101-19.
9. Marcon MJ, Powell DA, Durrell DE. Methods for optimal recovery of *Malassezia furfur* from blood culture. *J Clin Microbiol.* 1986;24(5):696-700.
10. Richet HM, McNeil MM, Edwards MC, Jarvis WR. Cluster of *Malassezia furfur* pulmonary infections in infants in a neonatal intensive-care unit. *J Clin Microbiol.* 1989;27(6):1197-200.
11. Roitt IM, Brostoff J, Male DK. *Imunologia.* 3rd ed. São Paulo: Manole; 1993.
12. Severo LC, Bassanesi MC, Londero AT. Tinea nigra: report of four cases observed in Rio Grande do Sul (Brazil) and a review of brazilian literature. *Mycopathologia.* 1994;126:157-62.
13. Sidrim JLC, Moreira JLB. *Fundamentos clínicos e laboratorial da micologia médica.* Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1999.
14. Sidrim JJC, Rocha MFG. *Micologia médica à luz de autores contemporâneos.* Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2004.
15. Tilton RC, McGinnis MR. *Fundamentals of mycology.* 4. ed. In: American Society for Microbiology. *Manual of clinical microbiology.* Washington, DC: ASM; 1987. p.515-629.
16. Veronesi R, Focaccia R. *Tratado de infectologia.* Sao Paulo: Atheneu; 1997.
17. Zaitz C, Campbell I, Marques SR, Ruiz LRB, Souza VM. *Compêndio de micologia médica.* Rio de Janeiro: Medsi; 1998.
18. Walsh T, Mitchell TG, Larone DH. Dimorphic fungi causing systemic mycoses. In: American Society for Microbiology. *Manual of clinical microbiology.* 7. ed. Washington, DC: ASM; 1999. p.749-64.

Micoses cutâneas

INTRODUÇÃO

As micoses cutâneas são infecções causadas por fungos que invadem as camadas do extrato córneo. Às vezes o agente etiológico pode aprofundar-se na epiderme, atingindo a derme e formando granulomas; o que vai influir é o equilíbrio imunológico existente entre o fungo e o hospedeiro.

Estão entre as micoses cutâneas as dermatofitoses e as dermatomicoses.

DERMATOFITOSSES

Considerações gerais

São um grupo de micoses, denominadas *tinea* ou *tinhas*, provocadas por fungos denominados dermatófitos, que atingem a camada córnea e a porção extrafolicular do pelo, bem como as unhas. Os gregos as denominavam herpes pelo aspecto circular de crescimento para todas as direções. Os romanos chamavam de *tinea* porque acreditavam ser uma doença provocada por insetos.

Os dermatófitos constituem um grupo de fungos que se assemelham taxonômica, fisiológica, morfológica e imunologicamente. Existem cerca de 35 espécies de dermató-

fitos, agrupadas em três gêneros de *Hyphomycetes*: *Epidermophyton* (com uma espécie), *Microsporum* (com 14 espécies) e *Trichophyton* (com \pm 20 espécies). A denominação dermatófito é usada somente para as espécies dos três gêneros que são queratinofílicos e capazes de causar doenças em homens e animais. Outras espécies de fungos, classificadas como correlatas dos dermatófitos, vivem no solo e também podem invadir os tecidos queratinizados do homem e dos animais, causando as dermatomicoses.

Os dermatófitos causam as chamadas *tinea* ou tinhas nos animais e no homem e, de acordo com a localização, denominam-se *tinea pedis*, *tinea manum*, *tinea unguium*, *tinea capitis*, *tinea barbae*, *tinea cruris*, *tinea corporis* e *tinea imbricata*.

Os dermatófitos e as espécies correlatas produzem esporos e conídios. O estágio caracterizado pela produção de conídios (macro e microconídios) corresponde à reprodução assexuada e é denominado estado imperfeito ou fase anamórfica do fungo; e o estágio caracterizado pelos esporos (ascosporos), reprodução sexuada, denomina-se estado perfeito ou fase teleomórfica.

Os dermatófitos e as espécies correlatas, na fase anamórfica, situam-se entre os *Hyphomycetes* e, na fase teleomórfica, têm posição nos *Ascohymenomyces* (Tabela 1).

Tabela 1 Posição sistemática dos dermatófitos e fungos afins		
Reino Fungi		
Filo Eumycota		
	Fase teleomórfica	Fase anamórfica
Subfilo (subdivisão)	Ascomycotina	Deuteromycotina
Classe	Ascohymenomyces	Hyphomycetes
Ordem	Onygenales (Eurotiales)	Hyphomycetales
Família	Arthrodermataceae	Moniliaceae
Gênero	<i>Arthroderma</i>	<i>Epidermophyton</i> , <i>Microsporum</i> e <i>Trichophyton</i>

Muitos dermatófitos têm a fase teleomórfica ainda desconhecida, sendo então conhecidos pelo nome anamórfico.

Alguns dermatófitos são cosmopolitas, outros têm distribuição geográfica limitada. Assim, o número de espécies varia de país para país, região para região até mesmo dentro de um mesmo país. A distribuição das dermatofitoses varia por influência de fatores populacionais como:

- Sexo: mais comum no sexo masculino.
- Idade: tinha do couro cabeludo mais comum em crianças; tinha do pé e inguinal mais comuns no adulto.

- Imunidade: imunocomprometidos são mais atingidos.
- Hábitos: sociais, culturais, religiosos e econômicos.
- Populações fechadas: tripulações de navios e creches têm maior incidência de dermatofitose.
- Migrações: *T. violaceum* foi transportado por imigrantes do mediterrâneo e de Portugal para o Brasil.
- Sazonalidade: as dermatofitoses são mais frequentes no verão e no outono.

Fatores geográficos como intensidade solar, movimento da atmosfera, índice pluviométrico, regime fluvial, constituição do solo, vegetação, densidade, variedade anual e densidade populacional influenciam na distribuição dos dermatófitos.

Os dermatófitos apresentam predileção ecológica quanto à adaptação ao meio ambiente. Quanto ao habitat, são classificados em geofílicos, zoofílicos e antropofílicos. Os geofílicos podem viver no solo geralmente rico em resíduos de queratina humana ou animal, como penas, pelos, escamas e outros, e ocasionalmente parasitam o homem ou os animais. Os zoofílicos passaram por processo de abandono do solo e se adaptaram às condições de parasitismo em espécies animais com contato direto com o solo e eventualmente podem parasitar o homem. Portanto, estes fungos ascenderam na escala filogenética rumo ao homem. Os que se adaptaram ao homem tendo este como hospedeiro normal e ocasionalmente parasitam animais, são os antropofílicos (Tabela 2).

Tabela 2 Distribuição das espécies de dermatófitos, quanto à ecologia		
Antropofílicos	Zoofílicos	Geofílicos
Espécies cosmopolitas		
<i>Epidermophyton floccosum</i> , <i>Microsporum audouinii</i> , <i>Trichophyton mentagrophytes</i> var. <i>interdigitale</i> , <i>Trichophyton rubrum</i> , <i>Trichophyton tonsurans</i> e <i>Trichophyton violaceum</i>	<i>Microsporum canis</i> var. <i>canis</i> , <i>Microsporum equinum</i> , <i>Microsporum gallinae</i> , <i>Trichophyton equinum</i> , <i>Trichophyton mentagrophytes</i> var. <i>mentagrophytes</i> e <i>Trichophyton verrucosum</i>	<i>Microsporum cookei</i> , <i>Microsporum gypseum</i> , <i>Microsporum fulvum</i> e <i>Microsporum nanum</i>
Espécies limitadas		
<i>Microsporum ferrugineum</i> , <i>Trichophyton concentricum</i> , <i>Trichophyton gourvilii</i> , <i>Trichophyton megninii</i> , <i>Trichophyton schöenleinii</i> , <i>Trichophyton soudanense</i> e <i>Trichophyton yaoundei</i>	<i>Microsporum canis</i> var. <i>distortum</i> , <i>Trichophyton mentagrophytes</i> var. <i>erinacei</i> e <i>Trichophyton mentagrophytes</i> var. <i>quinckeanum</i>	<i>Microsporum persicolor</i> , <i>Microsporum praecox</i> , <i>Microsporum racemosum</i> , <i>Microsporum vanbreuseghemii</i> , <i>Trichophyton phaseoliforme</i> e <i>Trichophyton simii</i>

Os dermatófitos zoofílicos podem ter hospedeiros específicos, como *M. equinum* de cavalos, ou serem infectantes do homem e dos animais, como *T. mentagrophytes*

e *M. canis*. Os animais infectados servem de reservatório para as dermatofitoses humanas.

Os dermatófitos antropofílicos sofrem influência de fatores sociais, ambientais, étnicos e antropogênicos (higiene e vestimenta) e afinidade pela queratina. *Microsporum* tem afinidade por pele e pelo, raramente por unha; *Epidermophyton* por pele e unha e o *Trichophyton*, pele, pelo e unha.

A importância de reconhecer a que ecossistema a espécie de dermatófito pertence está relacionada à resposta que ele pode desencadear no hospedeiro humano, pois acredita-se que quanto mais filogeneticamente distanciado está o dermatófito, maior será a resposta inflamatória que desencadeia. Sendo assim, os fungos geofílicos desencadeiam resposta inflamatória bem mais evidente que os zoofílicos, com resposta moderada, e as espécies antropofílicas, que normalmente não induzem grandes alterações.

A incidência dos dermatófitos tem relação com as condições do meio ambiente, higiene pessoal, suscetibilidade individual, virulência, sua adaptação (geofílicos são menos adaptados que os antropofílicos) ou outros fatores. Os locais de banho público, como piscinas e vestiários, estão fortemente interligados com a incidência de *tinea pedis*. A integridade da epiderme comporta-se como barreira natural. O calor e a umidade local são fatores que contribuem para a inoculação e a sobrevivência do dermatófito na pele.

Nas dermatofitoses, o início do processo patogênico ocorre pela inoculação de um artroconídio ou fragmento de hifa depositado sobre a pele e o processo será favorecido por uma lesão cutânea ou escoriação preexistente permitindo que este se fixe na camada córnea da epiderme. A lesão que se forma é resultante do crescimento dicotômico, circular e centrífuga do fungo, que se manifesta como pruriginosa com forma anular, eritemato escamosa, bordas nítidas e vesiculosas. Indivíduos que usam corticoterapia apresentam lesões atípicas que são denominadas *tinha incógnita* ou *tinha oculta*.

Os pelos, quando atacados, sempre estão acompanhados de uma lesão da pele. O dermatófito progride até chegar a uma região do orifício piloso e se aprofunda em direção ao infundíbulo do pelo. A invasão ocorre desde a superfície até a parte mais profunda do pelo e só para quando não encontra mais queratina no coleto do bulbo piloso. Esse crescimento da superfície até o coleto do bulbo piloso e o processo contrário, quando o fungo tenta voltar para a superfície em busca da queratina, são denominados *franja de Adamson*.

As queratinas humana e animal são constituídas de proteínas de elevado peso molecular, ou seja, as queratinas são diferentes em razão da presença de substâncias que intervêm em sua composição (por exemplo, a queratina do cabelo contém cisteína e a da pele contém metionina). Esse fato pode esclarecer as várias formas provocadas pelo

mesmo dermatófito, bem como o fato de fungos diferentes poderem desencadear a mesma lesão clínica e a predileção por determinada espécie animal dos dermatófitos.

As formas clínicas das dermatofitoses podem ser do tipo vesículas, pápulas, descamação ou outras, e podem provocar reações alérgicas de hipersensibilidade cutânea à distância do foco primário denominadas IDE, mícide ou dermatofítide. A lesão é estéril, ocorre reação positiva à tricotina e, com o tratamento, a IDE também regride.

Diagnóstico laboratorial

Exame direto

O exame microscópico das escamas da pele, dos pelos epilados e das unhas é realizado em KOH 10-40%.

Os dermatófitos aparecem em forma de hifas artroconidiadas. Às vezes são confundidos com leveduras. Não é possível o diagnóstico de gênero ou espécie por meio do exame direto, apenas pode ser comunicada a presença de fragmentos de hifas (Figura 1).

Os esporos e/ou hifas dos dermatófitos podem infectar os pelos por dentro (endotrix), por fora (ectotrix) ou por dentro e fora (endoectotrix) e ainda permanecerem indiferentes (actotrix).

Cultura

O material de raspagem, escamas da pele e unhas ou pelos epilados são semeados em um ou mais tubos de ágar Sabouraud dextrose acrescido de ciclo-heximida e cloranfenicol e incubados entre 25 e 30°C, por no mínimo 15 a 20 dias. A identificação dos dermatófitos é feita pela observação dos aspectos macro e microscópicos

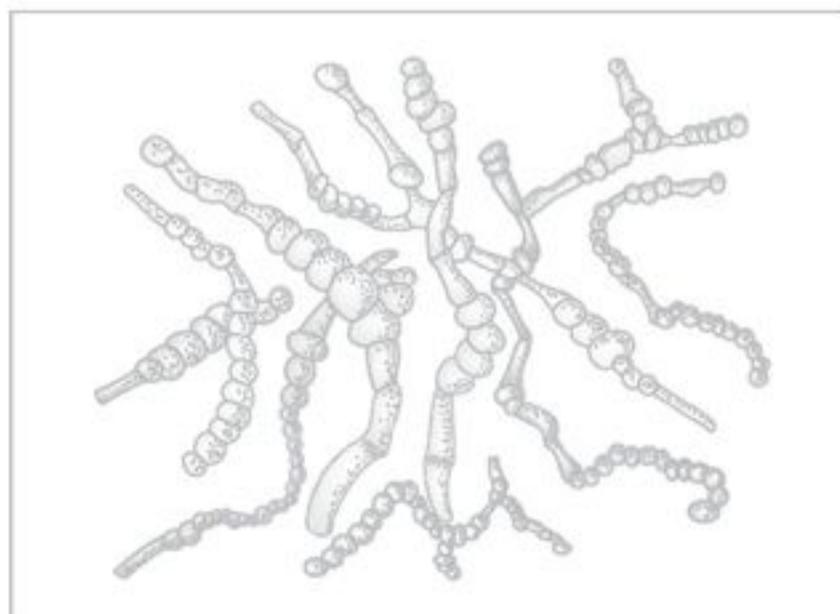


Figura 1 Exame direto: hifa artroconidiada.

da colônia. Às vezes, é necessário realizar outras provas fisiológicas, como produção de urease, ataque ao pelo ou necessidades nutricionais de vitaminas e aminoácidos para identificação das espécies. Eventualmente é necessário o pareamento sexual para reconhecimento de algumas espécies. A Tabela 3 apresenta algumas características de diagnóstico dos dermatófitos mais frequentemente encontrados.

Quando o diagnóstico macro e microscópico não for possível, o que ocorre com mais frequência no gênero *Trichophyton*, é necessária a semeadura em lâmina ou em meio de cultura que aumente o desenvolvimento das estruturas de esporulação ou a produção de pigmento dos dermatófitos. Podem ser utilizados os meios de cultura lactrimel úteis para a esporulação, o ágar batata para a pigmentação, em que o *T. rubrum* pigmenta o meio de vermelho, o ágar *Trichophyton* e o meio nutritivo para os dermatófitos.

O cultivo em lâmina permite demonstrar, ao exame microscópico, a morfologia dos fungos, tornando possível a visualização das estruturas íntegras, hifas, conídios.

Outras provas como a da urease (prova bioquímica), em que o *T. mentagrophytes* utiliza a ureia e a desdobra em carbono e nitrogênio tornando o meio alcalino, cuja reação é revelada pela mudança de cor do meio de cultura de amarelo para róseo em decorrência da presença de um indicador de pH, o vermelho de bromofenol. O *T. mentagrophytes* é urease positiva, e o *T. rubrum*, urease negativa. Além dessas, outras provas com menor frequência podem ser úteis.

A luz de Wood é útil na tinha do couro cabeludo. O gênero *Microsporum* apresenta fluorescência esverdeada, ao passo que o gênero *Trichophyton* não fluoresce, com exceção da tinha favosa (*T. schoenleinii*).

Identificação

Epidermophyton floccosum

As colônias apresentam crescimento rápido, inicialmente de cor verde-limão, depois cobrem de induto pulverulento. Macroconídios em forma de raquete, em grupos de três ou mais nas extremidades das hifas, e microconídios ausentes. Em colônias velhas, o *E. floccosum* se pleomorfiza e surgem os clamidoconídios (Figura 2).

Microsporum sp.

Muitos macroconídios septados, e os microconídios podem ser raros ou numerosos, dependendo da espécie e do substrato, e raras espirais. A característica que os identifica é o macroconídio (Figura 3). Os mais frequentes são descritos a seguir.

Tabela 3 Algumas características de diagnóstico dos dermatófitos

Gênero	<i>Trichophyton</i>		<i>Microsporum</i>		<i>Epidermophyton</i>		
Espécie	<i>Mentagrophytes</i>	<i>Rubrum</i>	<i>Tonsurans</i>	<i>Schoenleinii</i>	<i>Canis</i>	<i>Gypseum</i>	<i>Floccosum</i>
Macroconídio	Presente	Raro	Raro	Raro	Presente	Abundante	Presente
Microconídio	Redondo e isolado ou agrupado	Pequenas gotas, paralelas	Grandes gotas, alternadas	Geralmente ausente	Raro e em gota	Raro	Ausente
Clamidoconídio	Raro	Ausente	Ausente	Ausente	Raro	Raro	Ausente
Hifa em espiral	Frequente	Rara	Rara	Rara	Rara	Rara	Rara
Hifa em raquete	Rara	Ausente	Ausente	Ausente	Rara	Rara	Rara
Artroconídios	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Raro	Raro	Raro
Candelabro fávico	Ausente	Ausente	Ausente	Presente	Ausente	Ausente	Ausente
Colônia	Superfície: branca, pulverulenta ou cotonosa Verso: incolor, castanho ou vermelho	Superfície: branca, cotonosa, branca ou granulosa Verso: vermelho vivo ou rubro	Superfície: pulverosa, branca, acamurçada, bege ou amarelo-sulfurosa, sulcada a partir do centro Verso: castanho, vermelho ou amarelo	Superfície: branca, creme cotonosa, sulcada Verso: incolor	Superfície: branca, cotonosa ou penugenta Verso: amarelo-canário	Superfície: granulação acastanhada "café com leite" Verso: castanho ou vermelho	Superfície: pulverulenta e toma-se branca, cotonosa Verso: amarelo-esverdeado

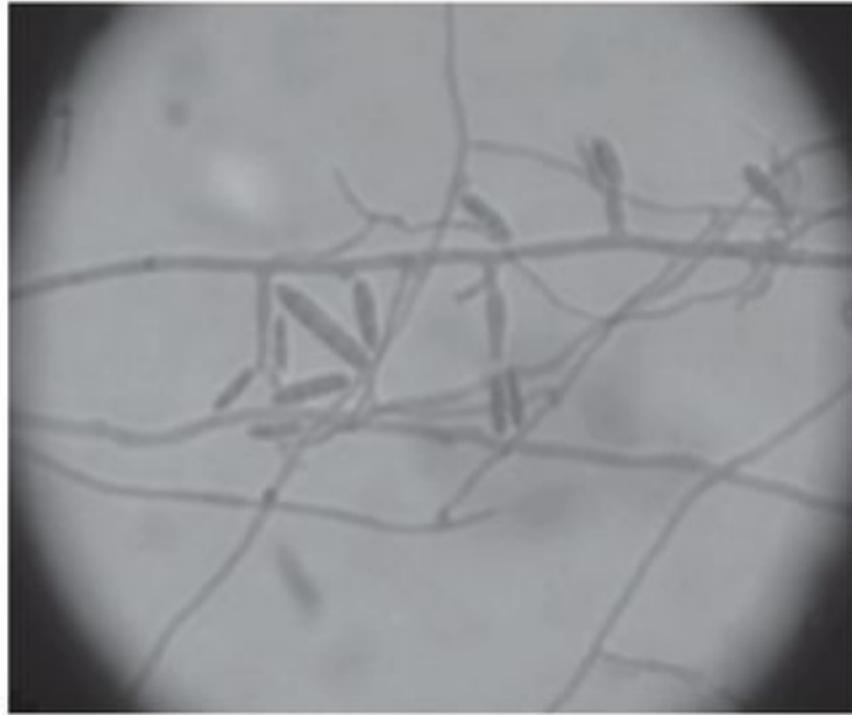


Figura 2 Micromorfologia colonial do *E. floccosum*. (Veja a imagem colorida no miniatlas ao final do livro.)

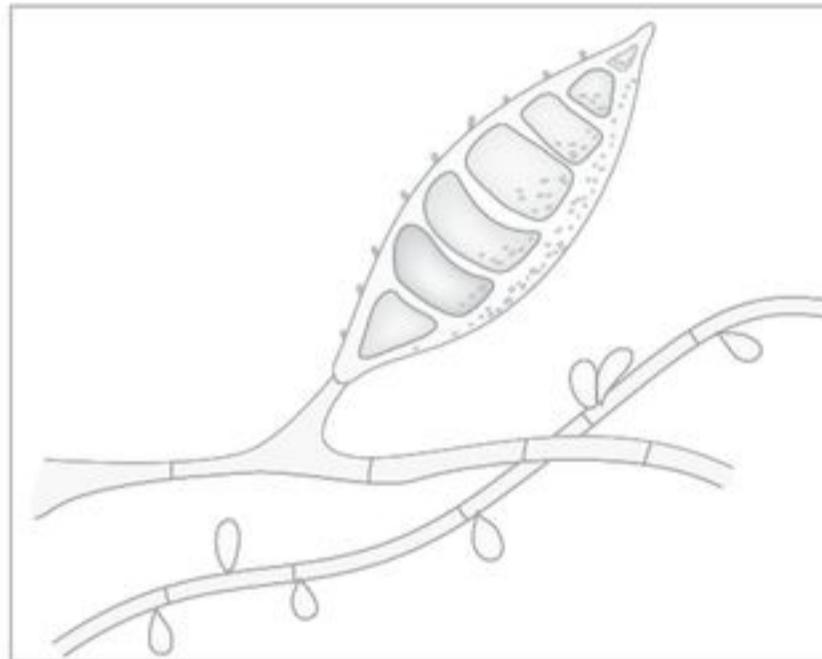


Figura 3 Características micromorfológicas do *Microsporium* sp.

Microsporium canis

As colônias são brancas aveludadas ou algodoadas, de crescimento rápido, com o verso pigmento alaranjado; numerosos macroconídios fusiformes, grandes e multisseptados de 6 a 15 células (Figura 4), paredes rugosas e mais espessas que as dos septos; e microconídios podem ser encontrados ao longo da hifa. É zoofílico e nativo em gatos, cães, cavalos e macacos. É ectotrix, com esporos finos em pelos infectados.

Estado perfeito: *Nannizzia otae*.

Microsporium gypseum

Crescimento rápido de colônia pulverulenta, cor camurça (“café com leite” ou “açúcar com canela”), verso com pigmento pardacento; numerosos macroconídios fu-

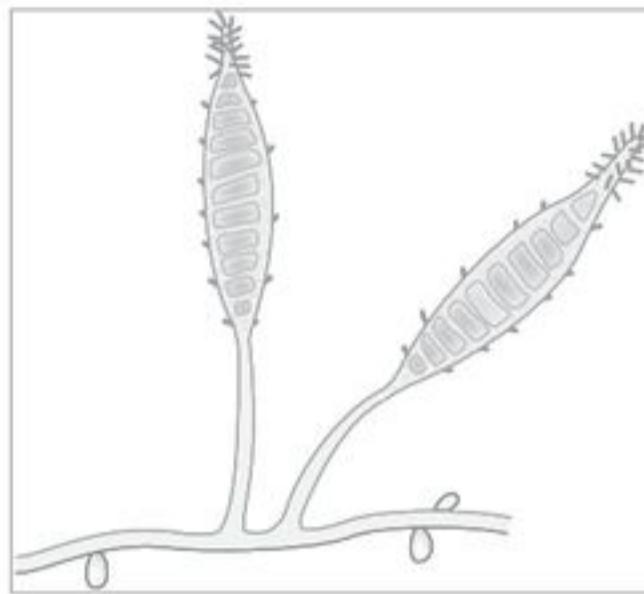


Figura 4 Micromorfologia colonial do *M. canis*.

siformes, multisseptados de três a nove células (Figura 5), paredes rugosas e finas; poucos microconídios. É geofílico e abundante no solo. Produz poucos esporos ectotrix.

Estado perfeito: *Nannizzia incurvata* e *Nannizzia gypsea*.

As demais espécies são raramente encontradas em nosso meio, como *M. cookei*, *M. distortum*, *M. fulvum*, *M. nanum* e *M. persicolor*.

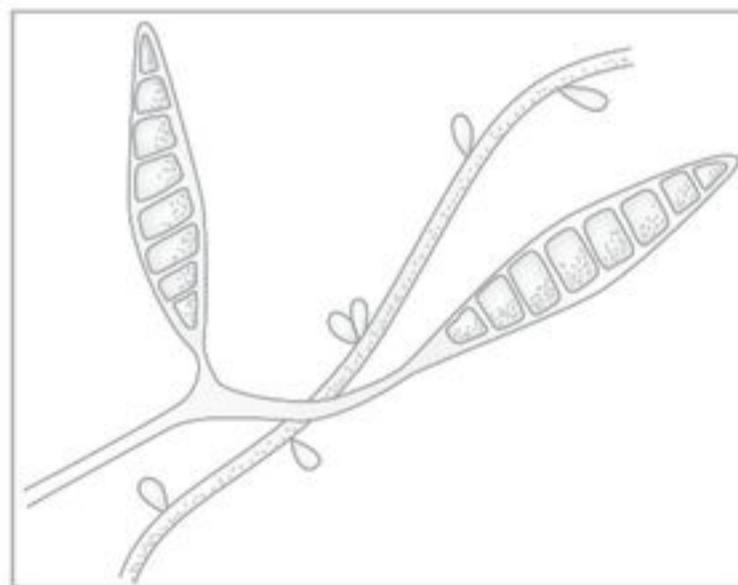


Figura 5 Micromorfologia colonial do *M. gypseum*.

Trichophyton sp.

Apresenta geralmente mais micro (aleurias) que macroconídios, sendo a produção de microconídios mais característica deste gênero; espirais às vezes estão presentes (Figura 6).

No Brasil, os *Trichophyton* mais frequentes são *T. mentagrophytes*, *T. rubrum*, *T. violaceum*, *T. tonsurans* e *T. schoenleinii*. O *T. concentricum* é encontrado mais frequentemente entre os índios da Amazônia, e o *T. verrucosum*, em animais.

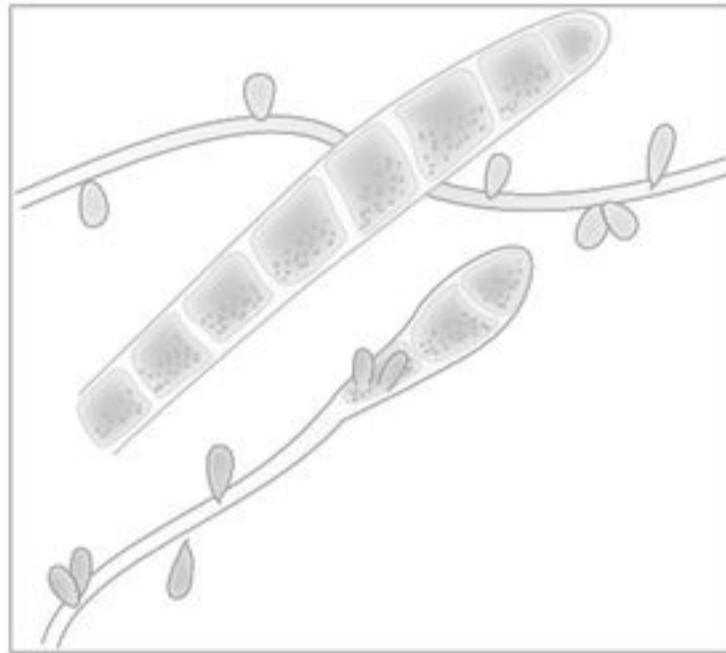


Figura 6 Micromorfologia colonial do *Trichophyton* sp.

Trichophyton mentagrophytes

Possui duas características quanto ao aspecto da colônia, algodoada ou pulverosa, e, conforme a apresentação clínica, as variedades *mentagrophytes* (zoofílica) e *interdigitale* (antropofílica). Apresenta crescimento rápido, macroconídio do gênero, verso da colônia com pigmento bege-claro a vinho-escuro ou marrom. Numerosos microconídios, redondos, unicelulares, isolados ou em cachos (rácimo) ao longo da hifa. Hifas em raquete, espiral e clamidoconídio podem estar presentes.

As colônias podem apresentar poucos ou numerosos microconídios, e os macroconídios podem ser raros, clavados ou em formas variadas (Figura 7). Essa espécie pode ser antropofílica ou geofílica.

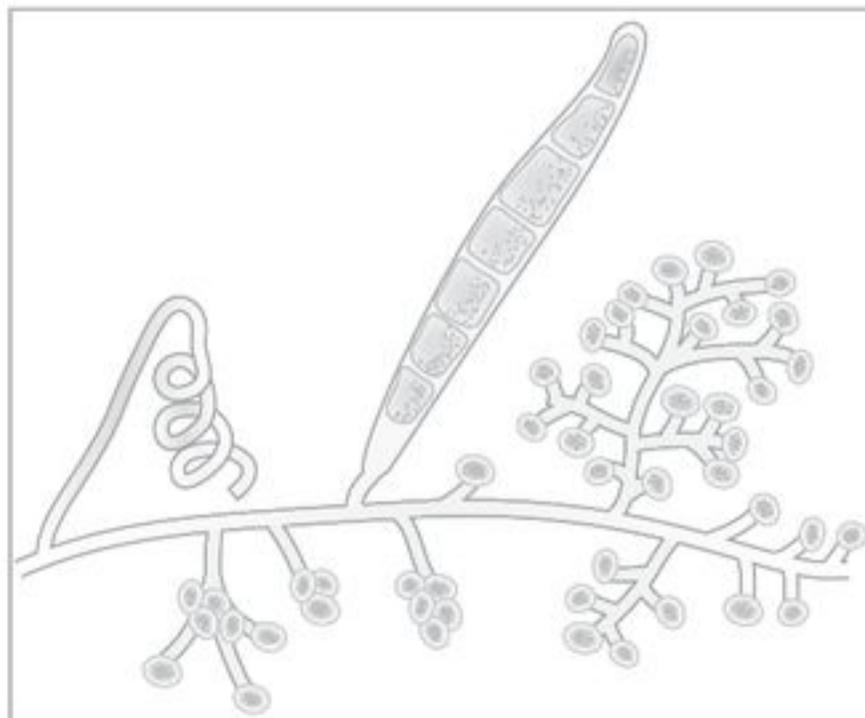


Figura 7 Micromorfologia do *T. mentagrophytes*.

A variedade algodoadada (cotonosa) às vezes apresenta colônias de cor branca, no verso um pigmento variando do amarelo ao pardo, ou inexistente. Para sua identificação recorre-se à prova da urease, o teste de ataque ao pelo *in vitro* ou assimilação do sorbitol.

Estado perfeito: *Arthroderma benhamiae*.

Trichophyton rubrum

Colônias de crescimento rápido, branca pulverulenta ou aveludada, verso com pigmento vermelho a rosa púrpura. Às vezes a coloração no início é amarela, escurecendo até se tornar vermelha. Geralmente apresenta poucos macroconídios, microconídios em forma de gota de lágrima (Figura 8). O *T. rubrum* é antropofílico.

Estado perfeito: desconhecido.

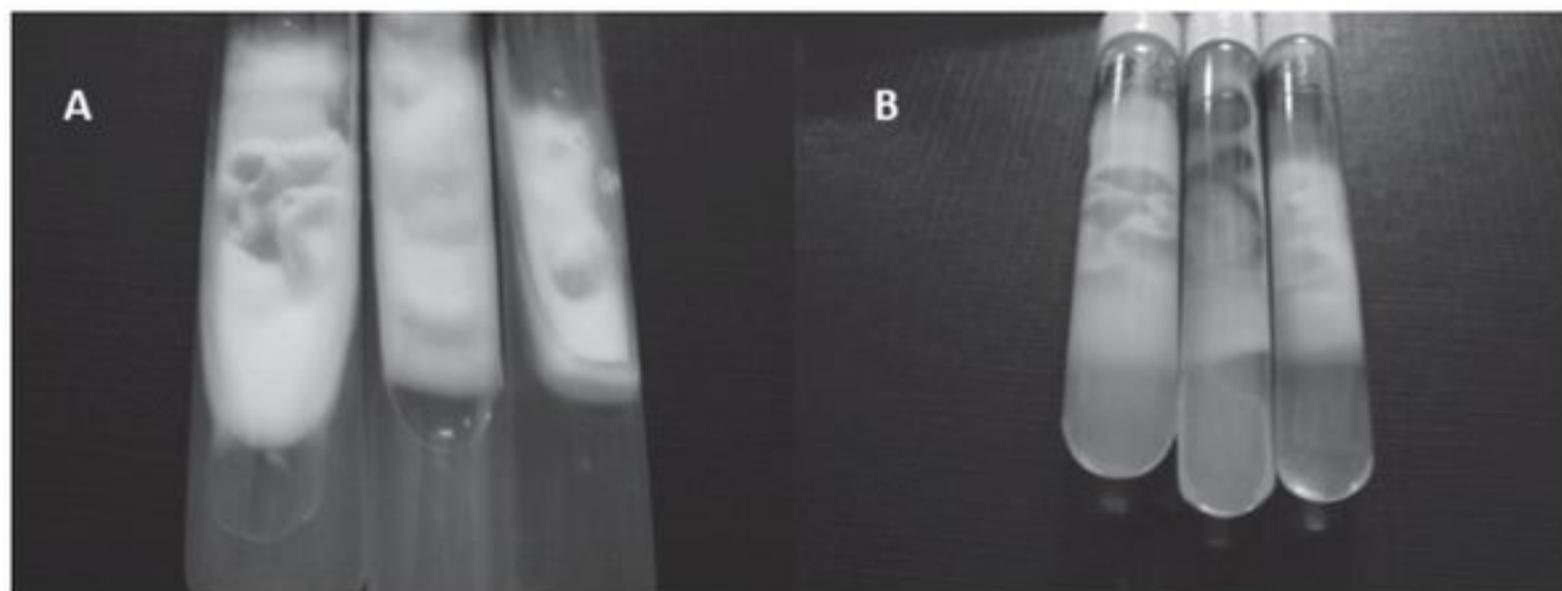


Figura 8 Frente e verso da colônia do *Trichophyton rubrum*, comparando com colônias de *Epidermophyton floccosum* (A) e *Microsporum canis* (B). (Veja a imagem colorida no miniatlas ao final do livro.)

Trichophyton tonsurans

Colônias de crescimento lento, superfície central elevada ou umbilicada, pregueada, cor amarelada nas depressões. A superfície da colônia é branca, pulverosa ou aveludada, verso com pigmento vermelho ferruginoso, castanho ou amarelo. Esse pigmento, às vezes, se difunde no meio de cultura.

Microconídios em grande número. Apresentam conídios dilatados (forma em balão), dispostos lateralmente em hifas irregulares, lembrando uma centopeia (Figura 9).

É um dermatófito que infecta pelos endotrix, sendo menos frequente na região Sul. Apresenta distribuição geográfica ampla na América Latina, predomina nas tinhas do couro cabeludo no México, em Porto Rico e em El Salvador. No Brasil, é

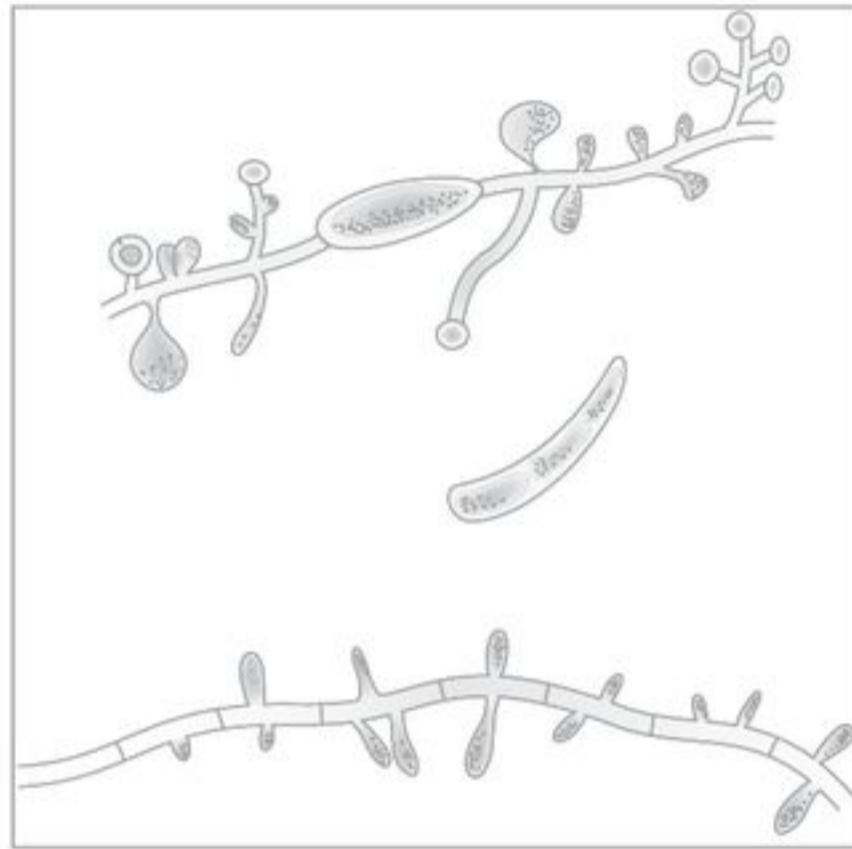


Figura 9 Micromorfologia do *T. tonsurans*.

endêmico na Amazônia, no Recife e no Rio de Janeiro. No Rio Grande do Sul, inicialmente foi descrito como raro, mas a partir de 1983 o dermatófito passou a ser isolado regularmente no estado.

Trichophyton violaceum

Colônias de crescimento lento, aspecto seroso, sulcada e cor violeta. Esse fungo se pleomorfiza facilmente, dando origem a uma colônia plana, cotonosa e branca. A adição de tripticaseína e tiamina ao ágar Sabouraud dextrose favorece seu crescimento. Produz pequena quantidade de microconídios e raramente macroconídios alongados, reverso da colônia vermelha (Figura 10).

Trichophyton schoenleinii

Colônia de crescimento lento, cor creme ou branca, aspecto cotonoso e sulcada, hifas com ramificações aberrantes em forma de candelabros fávicos. Raramente se formam microconídios; macroconídios ausentes (Figura 11).

Trichophyton verrucosum

Crescimento lento, exigindo vitamina B12 (tiamina 1% do meio) e temperatura entre 35 e 37°C para o crescimento. Algumas cepas requerem também inositol. As

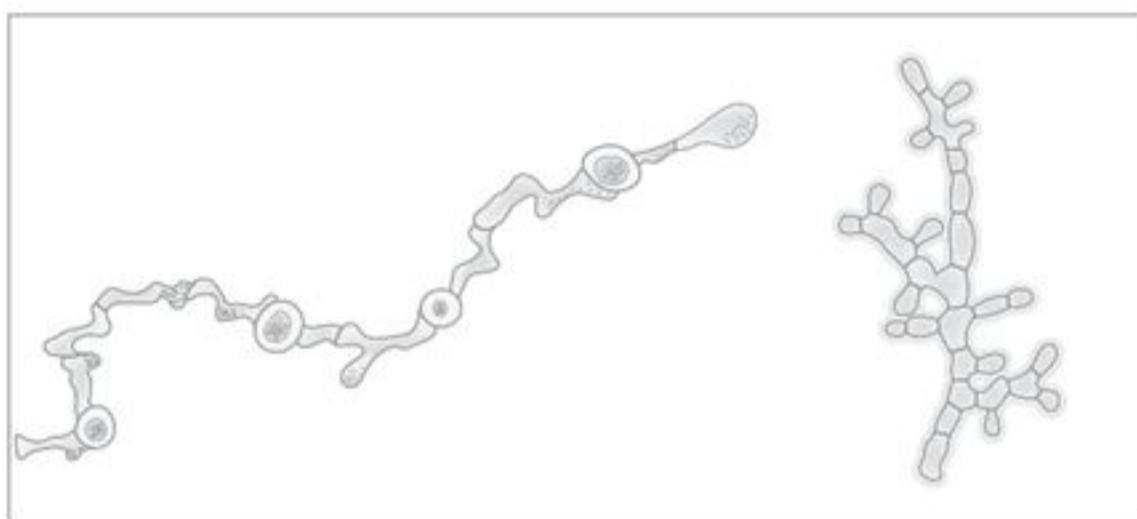


Figura 10 Micromorfologia colonial do *T. violaceum*.

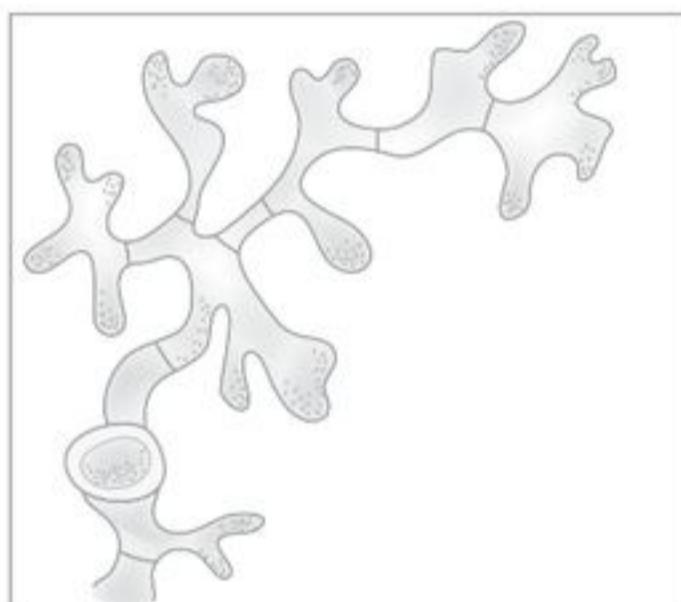


Figura 11 Micromorfologia colonial do *T. schoenleinii*.

colônias variam da cor branca à amarela brilhante e o verso sem pigmento. Os microconídios são alongados, e os macroconídios são raros. É encontrado em indivíduos que lidam com animais no campo (Figura 12).

Trichophyton concentricum

Crescimento lento, colônias de cor branca, pregas profundas, tornando-se marrom ou vermelho coral, reverso é creme a marrom. Micélio ramificado parecendo os “candelabros fávicos” do *T. schoenleinii*. Macro e microconídios ausentes em cultura comum.

Espécie antropofílica, não invade o pelo. O crescimento é estimulado pela adição de tiamina ao meio.

Apresentação clínica

Os dermatófitos infectam a pele glabra, pele com pelos e unhas.

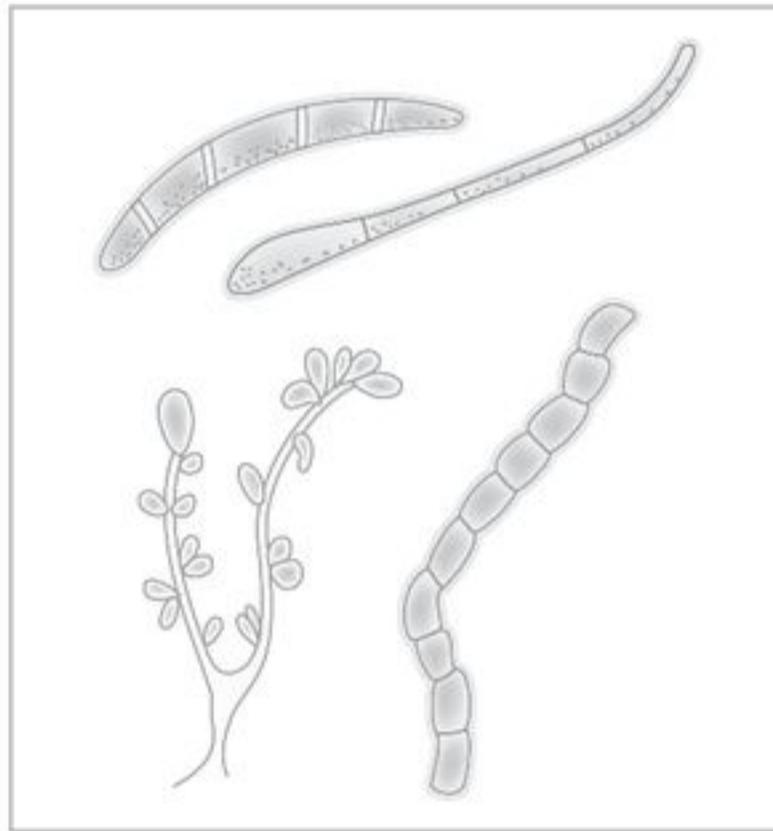


Figura 12 Micromorfologia colonial do *T. verrucosum*.

Pele glabra

As infecções típicas, nesta área, são lesões anulares, eritematodescamativas, de bordos vesiculosos. Na forma inflamatória aguda, geralmente o agente é o *T. mentagrophytes* e aparecem numerosas vesículas, que se rompem e liberam um líquido claro e pegajoso. A pele, nos espaços interdigitais, por exemplo, apresenta fissuras que a predispõem a outras infecções e torna o caráter inflamatório mais pronunciado, podendo surgir edema e dor.

Em formas crônicas, não ocorre a reação aguda acompanhada de vesiculação. As lesões, por exemplo, aparecem na planta e bordos dos pés, sob a forma esfoliativa (escamosa) ou circinada, lembrando o mocassim e com comprometimento das unhas – neste caso o agente mais comum é o *T. rubrum*. Na tinha imbricata, “tokelau ou chimberê” causada pelo *T. concentricum*, provoca lesões descamativas em anéis concêntricos.

Pele com pelos

Quando atacados pelo fungo, os pelos também têm o envolvimento da pele. Os locais predominantes são os pelos do couro cabeludo, da barba e do bigode.

No couro cabeludo, podem lesar apenas a pele ou atingir o pelo, tonsurando-o ou provocando lesões mais profundas que acarretam alopecia definitiva. Em adultos, as lesões geralmente são da pele e não lesam o pelo, localizando-se em área próxima, facial ou pescoço e por contiguidade penetram no couro cabeludo.

O fungo que parasita o pelo inicia com a penetração da hifa na camada córnea, seguindo para a haste. Ao atingir o bulbo piloso, a hifa não o agride, formando uma massa, a franja de Adamson. Fragmenta-se em conídios (pelos endotrix = tricoftica) e, quando a hifa sai do pelo, se fragmenta em artroconídios, envolvendo sua bainha (pelos endoectotrix = microspórica).

Quando o fungo não é adaptado (zoofílico ou geofílico) o indivíduo pode sofrer reação inflamatória aguda ao fungo, denominada *Kerion Celsi*, manifestando-se em forma de abscessos e fístulas, contendo secreção purulenta. Quando tratadas deixam uma cicatriz definitiva.

Unhas

A unha quando atingida pelo fungo é denominada onicomicose e apresenta forma subungueal distal ou proximal, podendo também manifestar-se com outros aspectos, como onicólise e onicodistrofia. A onicomicose pode estar somente na unha (oníquia) ou também na região periungueal (paroníquia).

As onicomicoses podem ser determinadas por diversas espécies de fungos. O quadro clínico é bastante variável. Tais fungos provocam alterações na unha propriamente dita ou na dobra periungueal. As oníquias por dermatófitos geralmente se apresentam corroídas, escamosas, secas, estrias longitudinais, e o processo de invasão se inicia, preferencialmente, pela parte distal em direção à proximal, comprometendo primariamente a borda livre e não havendo comprometimento dos tecidos periungueais.

As onicomicoses por levedura, geralmente causadas por *Candida* sp. ou *Trichosporon* sp., comprometem primariamente a prega ungueal proximal e apresentam as bordas periungueais dolorosas, tumefeitas, com secreção seropurulenta e paroníquia.

Entre os agentes mais comuns em nosso meio têm-se *T. rubrum*, *T. mentagrophytes* e *Candida albicans*. Leveduras causadoras de onicomicoses não são dermatófitas, mas sim agentes onicomicóticos.

Em consequência da pouca vascularização no local da unha, o tratamento é difícil, necessitando geralmente de medicação via oral para que se deposite na base da unha e esta cresça com a medicação aí impregnada.

Tratamento

As dermatofitoses são tratadas conforme o local e o agente etiológico da lesão. Fungos zoofílicos e geofílicos respondem aos antimicóticos tópicos (loções, pomadas, cremes ou *spray*) com derivados imidazólicos (miconazol, cetoconazol, clotrimazol, fluconazol), terbinafina e outros. Fungos antropofílicos são mais resistentes e neces-

sitam de antifúngicos orais (griseofulvina, cetoconazol, itraconazol ou outros). No couro cabeludo, mesmo que o fungo seja zoofílico ou geofílico, deve-se usar griseofulvina oral, porque há mais penetração e, se houver quadro alérgico, *Kerion Celsi* evita as sequelas alopeciantes. O tempo de tratamento conforme o local é:

- Um mês para pele glabra.
- Dois meses no couro cabeludo.
- Seis meses a um ano em lesões ungueais.

Dermatofitoses quanto à localização

As dermatofitoses apresentam lesões bastantes variadas quanto ao aspecto clínico, resultante da combinação da destruição da queratina e associada a uma resposta inflamatória. Essa variação clínica da lesão está relacionada à espécie do dermatófito envolvido, ao sítio anatômico acometido e ao estado imunológico do paciente. Quanto ao sítio anatômico da lesão as *tineas* são denominadas *tinea corporis* (corpo), *tinea capitis* (couro cabeludo), *tinea unguium* (unhas), *tinea pedis* (pés) e *manum* (mãos), *tinea cruris* (inguinal), *tinea barbae* (barba) e *tinea imbricata*.

Tinea corporis

É a dermatofitose que acomete o extrato córneo da pele glabra, ou seja, a região fora das zonas de maior densidade pilosa, como couro cabeludo, barba, bigode e unhas. Qualquer dermatófito pode ser o agente infeccioso. Nas crianças, os fungos mais frequentes são os de animais, pelo hábito de brincarem com eles. As formas clínicas observadas são herpes circinado, lesões interdigitoplantares e palmares e a lesão imbricata ou Tokelau. A forma mais comum é a anular, crescimento centrífugo e cura central observada como a forma herpes circinado. Pode-se manifestar também como vesículas inflamatórias ou placas, sem cura central, semelhante ao *Kerion Celsi*, quando presente um fungo não adaptado ao homem.

Tinea capitis

A *tinea* do couro cabeludo apresenta, quanto ao aspecto clínico, formas tonsurante, supurativa e fávica. As dermatofícias do couro cabeludo podem lesar o pelo, apenas com tonsura ou provocando lesões mais profundas, que acarretem alopecia definitiva.

A *tinea* tonsurante é a forma mais frequente a acometer crianças no período escolar, entre 4 e 10 anos. É pouco frequente em recém-nascidos e nas fases pré-escolar

e adulta. Clinicamente, o couro cabeludo apresenta uma ou várias placas de alopecia, mas que tendem à cura espontânea na puberdade. São causadas por dermatófitos dos gêneros *Microsporum* e a espécie mais frequente o *M. canis*; e o gênero *Trichophyton* com a espécie mais frequente o *T. tonsurans*. As lesões microspóricas são fluorescentes à lâmpada de Wood e o parasitismo é ectotrix, quando não fluorescem é do tipo tricofítica com parasitismo endotrix ou ectotrix.

A *tinea supurativa* acomete tanto crianças quanto adultos e se caracteriza pela presença de placa escamosa evoluindo para uma inflamação serpiginosa com edema, rubor e secreção purulenta, o que resulta em perda dos pelos. Esse quadro clínico é conhecido como *Kerion Celsi*. Os dermatófitos mais frequentes são do gênero *Trichophyton* e a espécie o *T. mentagrophytes* com parasitismo ectotrix.

A *tinea fávica* tem como agente etiológico o *Trichophyton schoenleinii*. Provoca alopecia definitiva, crônica, persistente na vida adulta, contagiosa, estando relacionada ao baixo nível de higiene e de condições socioeconômicas da população. Inicialmente aparecem em volta do pelo gotas de líquido seroso. Com o passar do tempo vão secando e depositando mais substância produzida pelo ato de coçar, formando uma massa. Com a progressão, essa massa vai se tornando uma crosta, centrada por um pelo e com odor desagradável de “urina de rato”. Portanto, as lesões provocadas pelo *T. schoenleinii* são crostosas e semelhantes ao favo de mel e são denominadas escútuas ou *godet*. Podem infectar tanto os pelos quanto a pele glabra. A fusão de várias escútuas leva à formação da crosta. As escútuas são exclusivamente conglomerados de hifas.

Quanto à localização das lesões, ocorrem frequentemente em toda a extensão do couro cabeludo, exceto na região da nuca e na frente posterior. O parasitismo fávico se caracteriza pela presença de pequenas cadeias de artroconídios ou em pequenos grupos e associados a bolhas de ar dentro do pelo. É uma micose de difícil controle epidemiológico.

Tinea unguium

A micose das unhas tem sido um sério problema em virtude de sua presença elevada e da dificuldade de diagnóstico clínico e laboratorial. É causada por dermatófitos, leveduras, principalmente do gênero *Candida* e fungos filamentosos queratofílicos não dermatófitos.

Apresenta lesões variáveis, quando por dermatófitos ocorre comprometimento distal da unha, a onocomicose do tipo onixis. As leveduras causam com maior frequência paroníquia do tipo perionix, podendo estar associada ou não à onixis.

Em vista disso, os diagnósticos clínico e laboratorial são dificultados, acrescentando ainda a dificuldade e às vezes a negligência no tratamento por parte do pacien-

te. Quanto ao diagnóstico micológico, a dificuldade inicia-se na coleta, em virtude do acesso ao local para se obter um espécime clínico adequado, o que pode resultar em culturas negativas, mesmo com a clínica de onicomicose.

Nas onicomicoses por dermatófitos, são observados quatro tipos de acometimento das unhas das mãos e dos pés: subungueal distal, subungueal proximal, branca superficial ou leuconicomicose superficial e a onicodistrofia total.

A onicomicose subungueal distal é a mais frequente, cerca de 90% dos casos. A lesão se inicia na borda livre da unha com descolamento da lâmina superficial e evolui tornando a unha opaca, esbranquiçada e espessa. O material obtido por raspagem apresenta consistência farinácea, esbranquiçada e observa-se intensa queratólise.

Geralmente, as unhas dos pés são as mais afetadas e o agente mais frequente é o *T. rubrum* o que não ocorre nas unhas das mãos, onde outros agentes são observados. Não há preferência por sexo ou raça e são raros os casos antes da puberdade.

A onicomicose subungueal proximal se inicia na extremidade proximal com a presença de manchas brancas ao nível da lúnula e comprometendo toda a unha à medida que esta vai crescendo, tornando semelhante à subungueal distal. O agente etiológico mais frequente é o *T. rubrum*. É uma micose rara acometendo principalmente pacientes aidéticos e evolui para uma onicodistrofia total.

A onicomicose branca superficial ou leuconicomicose superficial é rara, ocorre em cerca de 2 a 5% das onicomicoses. Surgem manchas brancas na parte medial da lâmina superior da unha. Com o passar do tempo, as manchas se tornam amareladas. Esta lesão ocorre pela penetração do fungo em direção ao interior da unha, facilitada quando houver trauma anterior. Os agentes mais frequentes são o *T. rubrum* e o *T. mentragrophytes*. Ocorre principalmente nas unhas dos pés e evolui para onicodistrofia total.

A onicodistrofia total ocorre a partir da evolução das lesões anteriores resultando na fragilização e na queda de todas as lâminas ungueais, persistindo apenas restos de queratina aderida ao leito ungueal. Ocorre quando o paciente utiliza medicação inadequada ou pelo seu descaso com a doença. O agente mais frequente é o *T. rubrum*. A maior frequência ocorre entre adultos e idosos, sem predileção por sexo ou raça.

A terapêutica nas onicomicoses é difícil por causa da má vascularização local, dificultando a penetração do medicamento por via sistêmica e demora no crescimento das unhas, além da queratina que participa da unha ser muito densa. O crescimento das unhas das mãos ocorre em cerca de cinco a seis meses e a dos pés entre 12 e 18 meses.

O diagnóstico diferencial da tinha das unhas deve ser feito com psoríase, líquen plano e outras.

Tinea pedis e tinea manum

As lesões que surgem nestas micoses são do tipo interdigitoplantares e palmares, caracterizando-se pelo aparecimento nos espaços interdigitais e planta dos pés e das mãos.

Diferentes tipos de lesões podem ocorrer, vesiculosa ou desidrótica, escamosa ou hiperqueratótica e intertriginosa.

A forma vesiculosa ou desidrótica se inicia com a presença de vesículas que se rompem e liberam um líquido citrino, frequentemente na região plantar, podendo ocorrer também na forma palmar. Com o passar do tempo, as lesões se transformam em placas.

A forma escamosa ou hiperqueratótica apresenta placas eritematoescamosa na região plantar ou na borda lateral do pé. Na mão, as lesões ocorrem na região palmar e na parte lateral dos dedos.

A forma intertriginosa, também conhecida como “pé de atleta”, se caracteriza por intensa maceração entre os interdígito dos pés e das mãos, podendo evoluir para a formação de fissuras, permitindo a invasão secundária por bactérias.

Cucé (1978), em seu artigo sobre micoses superficiais, afirma que o “pé de atleta” é mais prevalente em homens do que em mulheres, em adultos do que em jovens, e as razões incluem hábitos de higiene e vestimenta.

As lesões dermatofíticas nas mãos são menos frequentes que nos pés. Os agentes mais comumente encontrados são o *T. rubrum* e o *T. tonsurans* nas lesões escamosas ou hiperqueratóticas e o *T. mentagrophytes* nas lesões vesiculosas ou desidróticas.

O diagnóstico diferencial entre as lesões deve ser feito com psoríase, eczemas de contato, desidrose e outros.

Tinea cruris

A *tinea cruris*, inguinal ou lesões de grandes pregas, inicia-se com manchas avermelhadas e é conhecida pelo nome de eczema marginado de Hebra. São lesões cujas bordas apresentam aspecto eritematovesiculoso ou pustuloso. Podem apresentar prurido moderado ou intenso. Os agentes mais frequentes são o *T. rubrum* e o *Epidermophyton floccosum*.

É uma micose contagiosa e pode apresentar epidemias em ambientes escolares, militares e familiares. Ela ocorre com maior incidência entre homens que entre mulheres, na faixa etária dos 18 aos 30 anos e excepcionalmente entre crianças com menos de 10 anos e adultos com idade superior a 60 anos. São fatores predisponentes para que ocorra o calor, a umidade, a maceração das camadas córneas acrescida da

prática de esportes aquáticos e o compartilhamento de peças íntimas, como calções de banho, cuecas ou toalhas. A transmissão ocorre pelo contato íntimo de roupas contaminadas ou em locais de banho, salas de ginástica e outros.

O diagnóstico diferencial se faz com o eritrasma, infecção bacteriana por *Corynebacterium minutissimum*, que apresenta fluorescência avermelhada à lâmpada de Wood, intertrigo por leveduras, dermatite seborreica e outros.

Tinea barbae

A lesão na barba é inflamatória e semelhante à foliculite bacteriana, lembrando um *Kerion Celsi*. As lesões se caracterizam por eritema, pápulas perifoliculares e pústulas, drenagem de fluido sorrossanguinolento e escamas. Os agentes etiológicos mais frequentes são o *T. mentagrophytes* e *T. verrucosum*.

Em mulheres, rapazes na pré-puberdade e crianças é chamada *tinea faciei*. O contágio ocorre por lâminas de barbear, barbeadores, contato com gado, cavalos e outros. Popularmente é denominada “sarna do gado”, ou dermatofilose.

Tinea imbricata

A *tinea imbricata* também é denominada *Toquelau* ou chimberê, por ser originária da ilha polinésica chamada de Tokelau. No entanto, essa micose é encontrada também em outras ilhas do Pacífico, da China, na Índia, nas Américas, bem como de alguns pontos isolados da África.

Causada pelo *T. concentricum*, acomete principalmente populações isoladas de vilarejos ou tribos cujo contato com a civilização moderna é escasso. A transmissão é feita pelo contato direto de homem para homem ou com objetos contaminados. Falta de higiene, promiscuidade de convívio e clima tropical favorecem a instalação do processo infeccioso.

A doença se caracteriza pela presença de uma ou mais lesões escamosas com crescimento excêntrico que evoluem para a forma em círculos concêntricos que se imbricam, formando desenhos bizarros e servem de adorno aos aborígenes.

O diagnóstico diferencial deve ser feito com outras dermatofitoses, psoríase e outras.

Outras dermatofitoses

Os dermatófitos têm como manifestação clínica lesões que atingem a camada queratinizada de pele, pelos e unhas. Porém, em determinadas situações, ao esgota-

rem o extrato córneo, em vez de serem destruídos conseguem invadir camadas mais profundas da pele, atingindo a região subcutânea ou até órgãos. Os quadros clínicos causados nessas situações são granuloma tricofítico, micetoma dermatofítico e doença dermatofítica.

Granuloma tricofítico

Caracteriza-se pela presença de nódulos subcutâneos que tendem à ulceração ou fibrose. A histopatologia evidencia granuloma com células gigantes na parte central, cercadas na periferia por infiltrado de polimorfonucleares, monócitos e plasmócitos.

A doença ocorre com maior frequência em pacientes com dermatofitoses pelo *T. rubrum* e que fazem uso de corticoterapia prolongada.

Micetoma dermatofítico

O micetoma dermatofítico ou pseudomicetoma ocorre nos indivíduos portadores de dermatofitose crônica. Pode ocorrer a formação de nódulos subcutâneos não aderidos que evoluem na forma de tumor e aparecimento de fístula que drena secreção purulenta ou serossanguinolenta e que contém grãos formados por emaranhados de estruturas fúngicas dermatofíticas. Vários dermatófitos podem formar grãos, entre eles *Microsporum canis*, *T. rubrum* e *M. ferrugineum*.

Doença dermatofítica

Pacientes que apresentam distúrbios imunológicos celulares, ainda na infância, podem apresentar lesões de pele e unhas que tendem à generalização do quadro entre os 15 e 25 anos, acometendo vários órgãos. Os dermatófitos mais frequentes neste distúrbio são *T. rubrum*, *T. schoenleinii* e *T. violaceum*.

Dermatomíctides ou dermatofítides

Exprimem reações de hipersensibilidade cutânea à distância do foco infeccioso. Como estão relacionados aos agentes dermatofíticos, pode-se denominá-los tricofítides, epidermofítides e microspórides, indicando, dessa forma, o gênero do dermatófito sensibilizador.

Uma dermatomíctide é caracterizada por:

- Lesão asséptica (sem a presença do fungo causador).

- Foco séptico em outro ponto do organismo, próximo ou à distância da região hipersensibilizada.
- Sensibilidade à intradermorreação pela tricofitina (filtrado de cultura de uma ou várias espécies tidas como capazes de desencadear tais reações).
- Desaparecimento espontâneo da lesão asséptica após o tratamento do foco infeccioso.

A prova de sensibilidade à intradermorreação pela tricofitina deve ser feita com muita cautela, pois é capaz de transformar uma dermatomicose localizada em uma reação de hipersensibilidade generalizada, com risco de choque anafilático. Quando se suspeitar dessa sensibilidade, experimentar, primeiramente, a tricofitina diluída ao centésimo, ou até mais, e depois ir concentrando para 0,05 mL até chegar a 0,1 mL. A reação positiva é obtida pela leitura 48 horas após a inoculação e manifesta-se por reação eritematopapulosa nítida no local da inoculação. O resultado deve ser interpretado cuidadosamente, porque exprime tanto uma micose atual quanto uma antiga, de modo que o passado micótico do paciente deve ser avaliado.

DERMATOMICOSE

São micoses provocadas por uma variedade de fungos filamentosos queratinofílicos não dermatófitos e que produzem lesões de pele, pelo e unhas, clinicamente semelhantes às dermatofitoses. São fungos denominados contaminantes ou sapróbios. Estão distribuídos na natureza, matéria orgânica e detritos vegetais.

Esses fungos habitam o cimento intracelular ou a queratina desnaturada pelo trauma ou pela doença. São invasores secundários e aí permanecem colonizando ativamente a epiderme.

São agentes mais frequentes os fungos *Hendersonula toruloidea*, *Scytalidium hyalinum*, *Scopulariopsis brevicaulis*, *Fusarium oxysporum*, *Aspergillus* sp., *Curvularia* sp. e *Penicillium* sp.

Os fungos *Hendersonula toruloidea* e *Scytalidium hyalinum* têm sido transmitidos de homem a homem em indivíduos que residem ou visitam áreas endêmicas. Eles apresentam patogenicidade na superfície cutânea queratinizada e permanecem viáveis em escamas à temperatura ambiente por vários meses, ao contrário dos demais agentes de dermatomicose.

Esses fungos filamentosos não dermatófitos têm sido descritos como agentes de lesões de pele nos espaços interdigitais ou região plantar, dermatomicose tipo tinha do pé. São também responsáveis por onicomicoses. Produzem lesão no couro cabeludo de forma grave e profunda, resultando reação inflamatória e supuração (tipo

Kerion Celsi) provocada principalmente pelo *Acremonium kiliensi*. O *Acremonium falciforme* produz no sexo feminino uma forma cutânea de dermatomicose, sem nenhuma doença de base.

Para a diferenciação com os dermatófitos é importante seguir critérios que determinem seu papel como agente etiológico, uma vez que esses fungos produzem infecções clinicamente semelhantes às dermatofitoses. Verificar seu isolamento no material clínico repetidas vezes. Observar se não houve isolamento de outros patógenos em meio de cultura e testar sua capacidade para crescer à temperatura entre 35 e 37°C, o que caracteriza sua patogenicidade.

BIBLIOGRAFIA

1. Bassanesi MC, Annes E, Severo LC. Microepidemia por *Trichophyton tonsurans* em internato de meninos, Porto Alegre. Rev Ass Med Rio Gr Sul. 1986;30(2):100-2.
2. Calixto JS, Caramori PRA, Severo LC. Epidemiologia da tinea pedis nos banhistas de um clube social de Porto Alegre. Rev HCPA. 1988;8(3):12-4.
3. Conant NF, Smith DT, Backer RD, Callaway JL. Manual of clinical mycology. 3. ed. Philadelphia: W.B. Saunders; 1971.
4. Costa RO. Micologia médica. Edição suplementar do J Bras Medicina (JBM); 2003.
5. Cucé LC, Guedes ACM. Micoses superficiais. Clin Geral. 1978;12:31-46.
6. Dixon DM, Fromthing RA. Morphology, taxonomy, and classification of the fungi. In: Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover RH (eds.). Manual of clinical microbiology. 6. ed. Washington DC: American Society of Microbiology; 1995. p.699-708.
7. Gentles JC. The isolation of dermatophytes from the floors of communal bathing places. J Clin Pathol. 1956;9:374-7.
8. Gilchrist T.C. Protozoan dermatitidis. J Cutan Gen Dis. 1894;12:496-9.
9. Hurwitz S. Clinical pediatric dermatology. Philadelphia: W.B. Saunders; 1981.
10. Koneman EW, Allen SD, Dowell VR Jr, Janda WM, Sommers HM, Winn WC Jr. Color atlas and textbook of diagnostic microbiology. 3rd ed. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins; 1988.
11. Lacaz CS, Porto E, Martins JEC, Heins-Vaccari EM, Melo NT. Tratado de micologia médica Lacaz. 9. ed. São Paulo: Sarvier; 2002.
12. Londero AT. O grupo dermatófitos. An Bras Dermatologia. 1990;65(1):9-10.
13. Londero AT. Prevalence of cutaneous mycoses in Latin America. In: International Symposium on Mycoses. PAHO; 1970; Washington, USA Sci Pub.205. p.13-7.
14. Mezzari A. Prevalência de dermatófitos na região metropolitana de Porto Alegre, RS. [Dissertação]. Porto Alegre: Fundação Faculdade Federal de Ciências Médicas de Porto Alegre e Irmandade da Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre; 1995.
15. Mezzari A, Cauduro PF, Dias CAG. Relato de um caso de dermatofitose pelo *Trichophyton tonsurans* no Rio Grande do Sul. Rev Microbiol. 1987;18(4):357-9.
16. Ramos CD, Rojas SF, Londero AT. Dermatofitoses por *Trichophyton tonsurans* observados no Rio Grande do Sul. R Amrigs. 1981;25(3):236-8.
17. Rezusta A, Rubio MC, Alejandre MC. Differentiation between *Trichophyton mentagrophytes* and *Trichophyton rubrum* by sorbitol assimilation. J Clin Microbiol. 1991;29(1):219-20.
18. Roitt IM, Brostoff J, Male DK. Imunologia. 3rd ed. São Paulo: Manole; 1993.
19. Sidrim JLC, Moreira JLB. Fundamentos clínicos e laboratorial da micologia médica. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1999.

20. Sidrim JJC, Rocha MFG. *Micologia médica à luz de autores contemporâneos*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2004.
21. Tilton RC, McGinnis MR. *Fundamentals of mycology*. 4. ed. In: American Society for Microbiology. *Manual of clinical microbiology*. Washington, DC: ASM; 1987. p.515-629.
22. Veronesi R, Focaccia R. *Tratado de infectologia*. Sao Paulo: Atheneu; 1997.
23. Zaitz C, Campbell I, Marques SR, Ruiz LRB, Souza VM. *Compêndio de micologia médica*. Rio de Janeiro: Medsi; 1998.
24. Weitzman I, Kane J, Summerbell RC. *Dermatophytes and agents of superficial mycoses*. In: American Society for Microbiology. *Manual of clinical microbiology*. 7. ed. Washington, DC: ASM; 1999. p.791-808, .

Micoses subcutâneas

INTRODUÇÃO

São infecções causadas por um grupo de fungos patogênicos para o homem e os animais. As lesões se manifestam a partir do ponto de inoculação direta do agente fúngico, principalmente por traumatismo. Podem permanecer localizadas ou se espalhar pelos tecidos adjacentes, por via linfática ou hematogena. São fungos que habitam o solo e os vegetais em decomposição. São mais frequentes em climas tropicais e subtropicais. Quando são inoculados no homem atingem principalmente as camadas subcutâneas da pele. São micoses subcutâneas a esporotricose, a cromomicose, a lobomicose e a rinosporidiose.

ESPOROTRICOSE

Considerações gerais

É uma infecção fúngica granulomatosa crônica ou subaguda do homem e de animais, causada por fungo dimórfico *Sporothrix schenckii*, isto é, reproduz-se por gemulação, forma da levedura, no tecido parasitado e em meios de cultura na temperatura em torno de 37°C e, na forma filamentosa, apresenta micélio septado com estrutura

reprodutora característica na temperatura em torno de 30°C. Tanto homem quanto animais são infectados, e as lesões geralmente limitam-se a pele, tecido subcutâneo e linfático e raramente disseminam-se para ossos, órgãos internos ou como doença primária sistêmica, com início pulmonar. As formas cutaneodisseminada e sistêmica têm sido descritas em indivíduos imunocomprometidos.

Com distribuição universal, o fungo é encontrado na natureza, como solo, plantas, restos de vegetais e poeira. Indivíduos de qualquer idade, sexo ou raça podem ser infectados. O período de incubação varia de sete dias a 12 semanas.

A infecção ocorre sobretudo na pele, raramente nas mucosas, por inoculação direta do agente por meio de material contaminado, como espinhos de plantas, lascas de madeira, mordida de cão ou gato e bicada de aves. Na pele forma-se uma lesão ulcerada, seguindo o aparecimento de um nódulo linfático, o qual será seguido por uma série, posteriormente. A lesão cutânea inicial é chamada cancro esporotricótico. Os nódulos, ou tumores, podem surgir ao longo dos vasos linfáticos ou permanecer no ponto de inoculação, abrem-se e drenam uma secreção com aspecto de “goma” quando não há tratamento e tendem à supuração e à ulceração, por isso o nome também de lesão gomosa.

Manifestações clínicas

A esporotricose apresenta-se sob duas formas:

- Cutânea: cutaneolinfática, localizada e disseminada.
- Extracutânea: pulmões, articulações, meninges e outros.

Forma cutânea

Cutaneolinfática A forma linfocutânea é a mais comum. Ocorre em mais de 95% dos casos juntamente com a cutânea localizada. Inicia-se com lesão no local do trauma, sendo este o cancro de inoculação. A lesão pode tomar formas variadas com o tempo, como pápula, nódulo, placa vegetante, lesão ulcerogomosa e outras. Formam-se cadeias de nódulos ao longo do trajeto linfático, que posteriormente necrosam. Nesse estágio, é confundida com furúnculo ou abscesso. Localiza-se com maior frequência na face das crianças e extremidades dos adultos.

Cutânea localizada A lesão é única, não acompanhada de nódulos no trajeto linfático, não existindo o “aspecto esporotricóide”. Vários tipos de lesões foram observados: pápulas que pustulizam e ulceram, placas achatadas, lesões eritematoescamosas e outras nas quais o diagnóstico só é possível pelo isolamento do fungo. Por apresentar

essa variedade de aspecto clínico, passa a se enquadrar na síndrome verrucosa e com isso é necessário o diagnóstico diferencial de leishmaniose, cromomicose, tuberculose verrucosa e tumores.

Cutânea disseminada A forma cutânea disseminada corresponde à esporotricose pulmonar primária e sistêmica, sendo muito rara. Ocorre a inoculação através da pele e se dissemina por via hematogênica, surgindo inicialmente lesões subcutâneas que se ulceram, semelhantes à tuberculose. Em geral, as lesões são assintomáticas e não alteram o estado geral do paciente. Historicamente, a esporotricose tem sido associada à exposição ocupacional ao fungo.

Forma extracutânea

É ocasional e pode ocorrer envolvendo qualquer tecido ou órgão, como ossos, tendões, pulmão e outros. Na maioria dos casos, não se encontra a lesão primária, acreditando-se que a infecção seja resultante da inoculação direta, ingestão ou inalação do fungo. São raras e de difícil diagnóstico.

Diagnóstico laboratorial

Exame direto

Ao contrário das outras micoses, o exame direto tem pouco valor diagnóstico, porque dificilmente o parasito é observado, tanto na potassa 10-40% quanto em colorações de PAS, prata ou outros. O exame direto geralmente é negativo. Quando positivo, observam-se raras formas arredondadas, ovais, em “forma de charuto”, cercados por halo claro como uma cápsula e com gemulação simples. São gram-positivos intra e extracelulares.

Cultura

É o método de escolha para o diagnóstico. Cresce bem em meios de ágar Sabouraud dextrose ou ágar Sabouraud suplementado. A colônia inicialmente é branca, passando posteriormente para negra. Às vezes já aparece negra de início na temperatura entre 25 e 30°C, forma filamentosa (Figura 1). Na temperatura entre 35 e 37°C, o fungo cresce na forma de levedura como colônia cremosa, úmida de cor amarelada.

Ao exame microscópico da colônia filamentosa (25 a 30°C) são observados conídios ovalados que se dispõem em forma de “margarida” e se implantam em conidióforos. Esta é a forma de diagnóstico do *S. schenckii*.

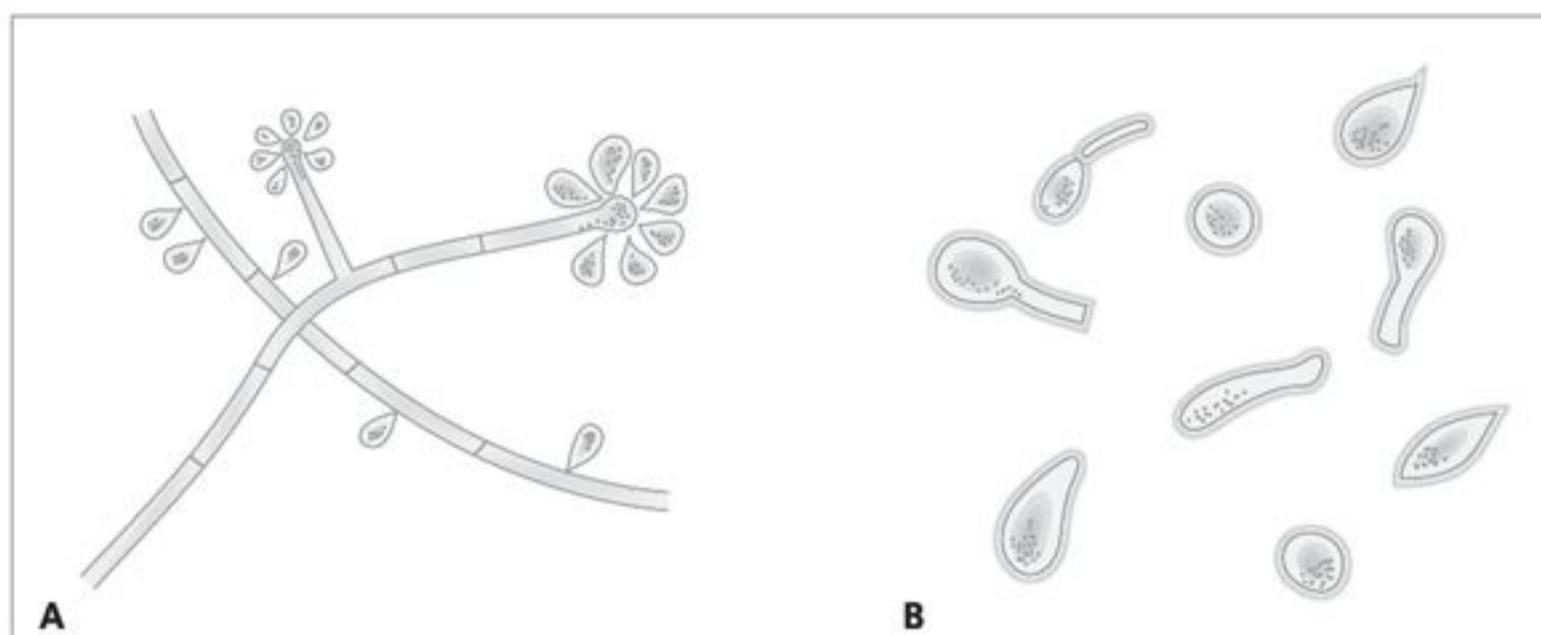


Figura 1 (A) Micromorfologia colonial do *S. schenckii*. (B) Exame direto.

Imunologia

É realizado o teste intradérmico com a esporotriquina que é preparada a partir do filtrado de culturas da fase miceliana ou leveduriforme do *S. schenckii*. Consiste de uma injeção intradérmica de 0,1 mL do antígeno, e a leitura é realizada em 48 horas. Tem valor epidemiológico, terapêutico e diagnóstico.

Tratamento

É o mais simples dentre as micoses subcutâneas, sendo o iodeto de potássio bem empregado em quase todas as formas de esporotricose. Consiste na administração de iodeto de potássio saturado, via oral. No adulto, 10 gotas, três vezes ao dia em doses progressivas até o terceiro ou quarto dia. Passar para 20 gotas (1 g), três vezes ao dia, o que corresponde a uma dose diária de 3 a 4 g. Continuar até uma a duas semanas após o desaparecimento da lesão. Em crianças, a dose deve ser reduzida à metade. O iodeto de potássio não deve ser administrado a gestantes. Seus efeitos colaterais mais frequentes são gosto metálico, coriza e expectoração; na pele, pústulas, eritema, urticária e petéquias. Todos são bem tolerados. Em casos de esporotricose extracutânea ou de cutânea disseminada, tem sido recomendado o itraconazol e a anfotericina B.

CROMOMICOSE

Considerações gerais

Caracteriza-se pelo aspecto parasitário de seus agentes, que são fungos demácios que formam células fúngicas globosas e ovaladas, com parede espessa, coloração cas-

tanha e com ou sem septação interna, e são denominados corpos fumagoides, corpos escleróticos ou talo moriforme. A infecção ocorre por inoculação direta do fungo por traumatismo, e as lesões se desenvolvem no local da inoculação.

São fungos da família Dematiaceae. Habitam o solo em todo o mundo, mas a doença ocorre com maior frequência em climas tropicais e subtropicais.

O homem é o mais atingido, na faixa entre 30 e 50 anos de idade, por causa da maior exposição. Não é transmitido de homem para homem e raramente ocorre em animais.

Os agentes etiológicos mais frequentes são: *Phialophora verrucosa*, *Fonsecaea compacta*, *Cladosporium carrionii*, *Fonsecaea pedrosoi*, *Rhinocladiella aquaspersa*. No Brasil, o agente mais frequente é o *F. pedrosoi*.

A reprodução ocorre assexuadamente por conidióforos do tipo rinocladiela, fialofora e cladosporium, o que permite caracterizar o gênero e a espécie. O estudo micromorfológico dos tipos de conídios e a porcentagem destes na micromorfologia são fundamentais para a determinação do gênero e da espécie do fungo.

A reprodução tipo rinocladiela caracteriza-se por hifas acastanhadas e septadas. O conidióforo termina em cajado, contendo os conídios dispostos ao longo e na extremidade do conidióforo (Figura 2). É predominante na *Rhinocladiella aquaspersa*. Esporadicamente, ocorre em qualquer gênero responsável pela cromomicose.

A reprodução tipo fialofora contém hifas acastanhadas, delgadas e ramificadas; conidióforo em forma de taça ou vaso, onde se implantam numerosos conídios semelhante a um vaso de flores. Reprodução frequente da *P. verrucosa* (Figura 3), mas é encontrada em outros gêneros também.

A reprodução tipo cladosporium contém hifas acastanhadas, septadas e ramificadas, e o conidióforo alongado tem a última célula alargada com apículos ou coní-

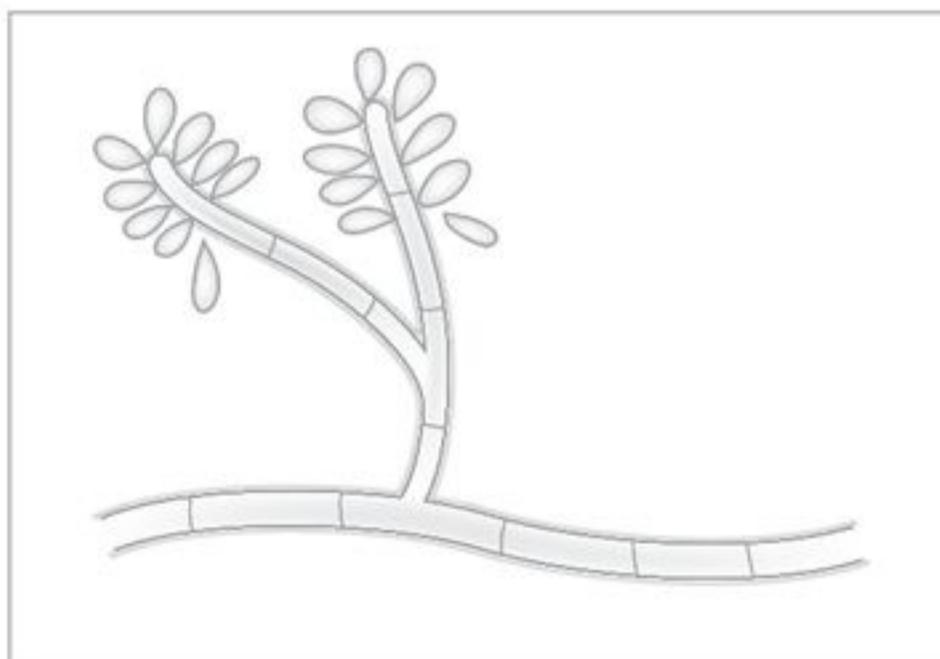


Figura 2 Reprodução tipo rinocladiela.

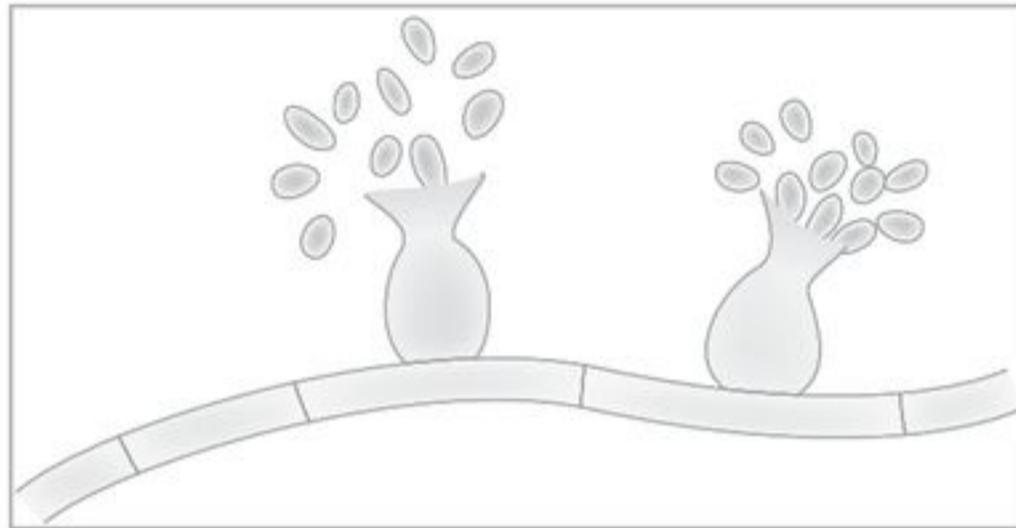


Figura 3 Reprodução tipo fialofora.

dios em cadeia (Figura 4). Frutificação predominante na *F. pedrosoi*, apesar de apresentar também os outros tipos de frutificação, ou seja, é um fungo com reprodução polimorfa.

A cromomicose, também conhecida como cromoblastomicose, blastomicose negra, micose de Pedroso e Lane, doença de Carrion, doença de Fonseca, doença de Fonseca-Carrion e outras, é uma doença granulomatosa com manifestações em forma de pápula, nódulos, verrugas e outros. Os agentes etiológicos são fungos demáceos, sendo o *Fonsecaea pedrosoi* o mais frequente no Brasil.

Manifestações clínicas

As lesões se iniciam como pápulas, verrugas ou ulcerações superficiais e indolores. Evoluem por meses ou anos. Com o passar do tempo, adquirem aspecto eritematoescamoso, psoriaseforme, papuloso, com nódulos infiltrados, massas ulceradas

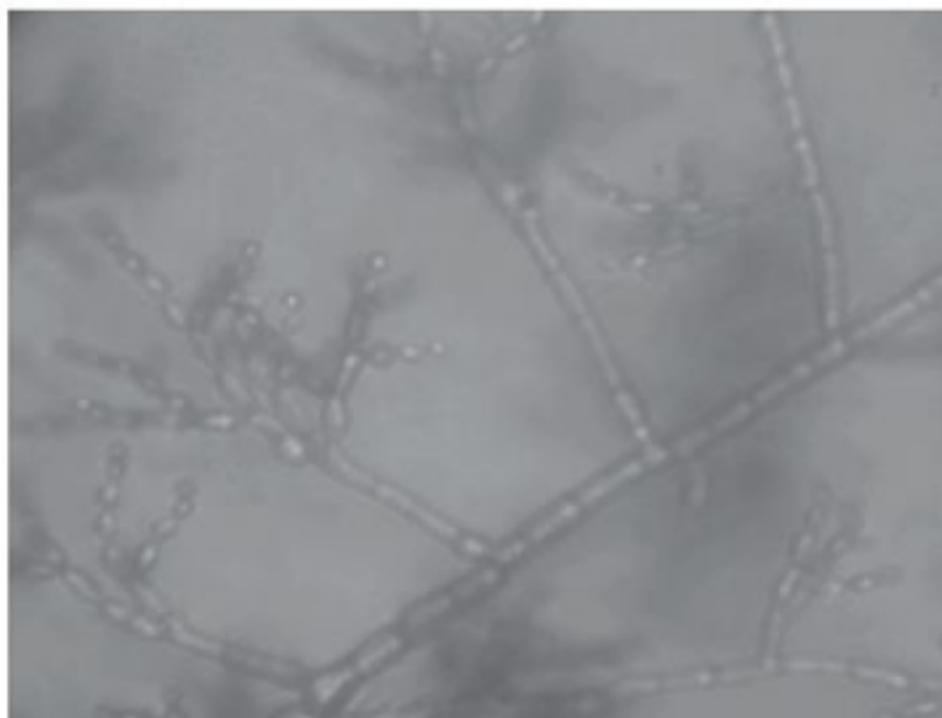


Figura 4 Reprodução tipo cladosporium. (Veja a imagem colorida no miniatlas ao final do livro.)

e tumores. Essas lesões sangram com facilidade e eliminam líquido seroso que seca, formando crostas, com aspecto de couve-flor. Localizam-se mais frequentemente no pé e na perna, sendo raramente bilateral, podendo ocorrer também em ombros, braços e mãos, e com menor frequência nas nádegas e em outras regiões do corpo.

O prognóstico é bom, mas a cronicidade e a dificuldade de tratamento podem afetar o membro atingido. As lesões ulceradas e as cicatrizes podem evoluir para os carcinomas.

Diagnóstico laboratorial

Exame direto

O diagnóstico da cromomicose é feito pela demonstração do agente no material coletado direto da lesão, dos microabscessos ou dos “pontos negros”, por raspagem ou biópsia. Observa-se em KOH 10-40%. Os cortes histológicos são corados por hematoxilinaeosina, PAS ou prata.

Os fungos se apresentam como células fúngicas globosas, ovaladas, parede espessa, coloração castanha, com ou sem septação interna e são denominados corpos fumagoides, corpos escleróticos ou talo moriforme de cor amarelo-havana ou castanho (Figura 5). Essa estrutura é característica de todos os agentes. Raramente formas filamentosas septadas aparecem nos tecidos.

Como o número de parasitas é muito pequeno no material clínico, deve-se fazer várias lâminas e procurar com cuidado antes de liberar um resultado negativo.

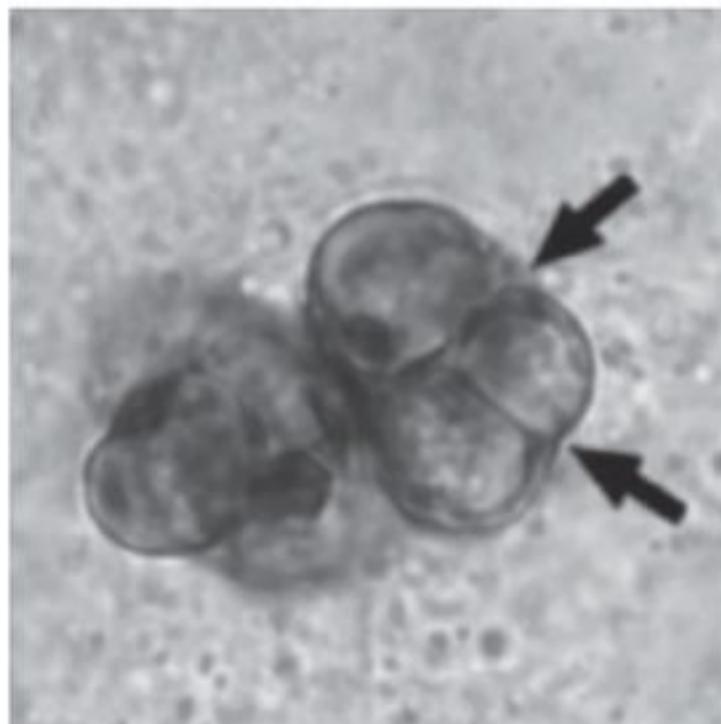


Figura 5 Estrutura moriforme, corpo esclerótico ou corpo fumagoide. Fonte: Salgado et al. (2004). (Veja a imagem colorida no miniatlas ao final do livro.)

Cultura

A cultura é feita em ágar Sabouraud dextrose com cloranfenicol (100 mg/mL) ou gentamicina (40 mg/mL). Incubação entre 25 e 30°C, por 20 a 30 dias. A colônia é escura, filamentosa e não permite o diagnóstico de gênero e espécie. A identificação é feita pela observação macro e microscópica da colônia, de preferência com cultura em lâmina, uma vez que se pode observar o tipo de reprodução (esporulação) apresentado pelo fungo, com predomínio de um deles para cada gênero e/ou espécie.

Tratamento

É um problema, pois as medicações nem sempre atuam em todos os casos. Quando o acesso é fácil e a lesão não é extensa, a retirada cirúrgica é utilizada, porém, mesmo assim podem ocorrer recidivas. Os medicamentos anfotericina B, 5-fluorocitosina e itraconazol têm sido utilizados na forma isolada ou associada, com resultados variáveis. Cabe ao clínico escolher o tratamento mais adequado para cada quadro clínico.

LOBOMICOSE

Considerações gerais

Causada pelo fungo *Lacazia loboi*. A infecção foi observada pela primeira vez por Jorge Lobo, no Recife, em 1931, em um paciente proveniente da região amazônica.

Micose subcutânea, crônica e benigna que raramente atinge o sistema linfático, não se manifesta por disseminação visceral, somente na forma cutânea. É também conhecida como blastomicose queloidiana ou doença de Jorge Lobo. Caracteriza-se por infecção granulomatosa, podendo apresentar ulcerosa, esporotricóide, cicatricial ou outros.

A doença também foi observada em golfinhos da espécie *Tursiops truncatus* e *Sotalia guianensis*. Condições climáticas ideais encontram-se na região amazônica. O Brasil é o país com maior número de casos.

Os pacientes, quando procuram o médico com a doença, geralmente já se encontram em avançada evolução. O início da infecção tem manifestação de diferentes formas, dificultando, assim, o conhecimento do verdadeiro mecanismo de transmissão. Acredita-se que seja pela implantação direta do fungo através de traumatismo local. Os sintomas referidos pelos pacientes são prurido e dor.

Manifestações clínicas

As lesões clínicas se manifestam com maior frequência nos membros inferiores e superiores e no pavilhão auricular, sendo geralmente unilateral. A forma característica é o nódulo queloidiano, “pequena verruga”. Os nódulos apresentam tamanho variado, na forma de massas nodulares com consistência sólida, lisa, brilhante, cor “café com leite” ou “marfim queimado” e com pequenas escamas e crostas. A micose é restrita à pele e ao tecido subcutâneo.

A infecção ocorre com maior frequência em adultos jovens com atividades de pesca, caça e agricultura. É importante o diagnóstico diferencial com leishmaniose, hanseníase, quelóide, tumores e outros.

Diagnóstico laboratorial

Exame direto

O material é coletado por biópsia ou por escarificação da pele. Do material obtido se faz um exame direto e histopatológico. O exame direto pode ser feito com KOH 10-40% entre lâmina e lamínula ou corte histológico corado. Os fungos se apresentam com formas arredondadas, membrana dupla e espessa, com aspecto catenular de três a oito elementos, ligados uns aos outros por uma formação tubular. Às vezes podem aparecer gemulações laterais, sugerindo o *Paracoccidioides brasiliensis*. Diferenciam-se pelo tamanho dos gêmulos, que raramente são pequenos no *L. loboi*, ao contrário do *P. brasiliensis* (Figura 6).

Cultura

Na cultura ainda não se obteve o crescimento do *L. loboi*.

Tratamento

O tratamento com antimicóticos é difícil. Geralmente, as lesões são retiradas por processos cirúrgicos e faz-se uma correção plástica; “o doente não morre da doença, mas morre com ela”. Nas lesões mais extensas, ocorrem recidivas com frequência. Muitas vezes é necessária a mutilação da região afetada.

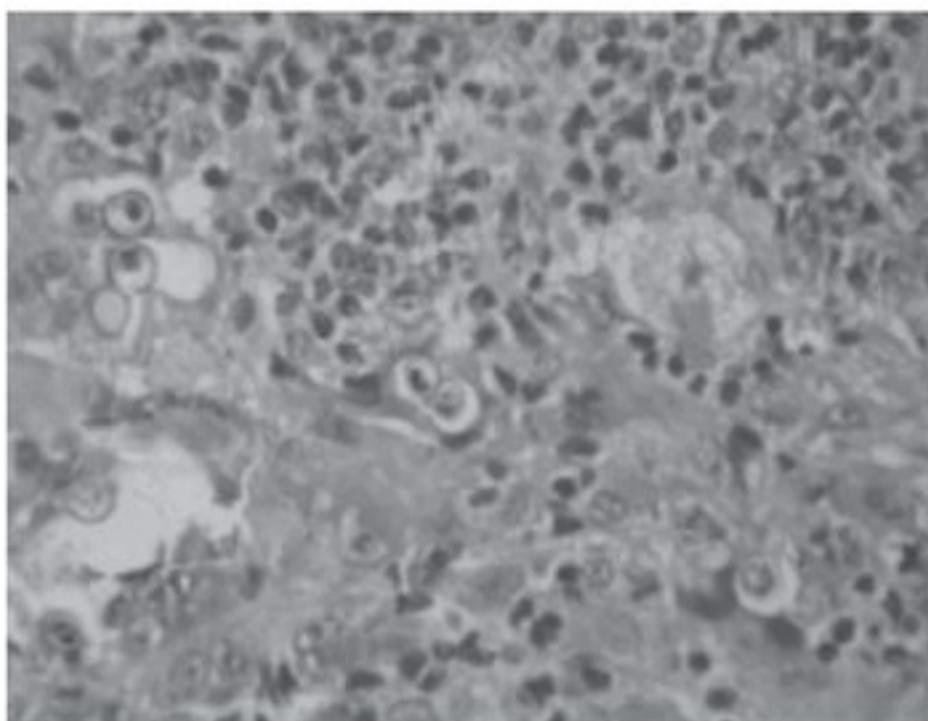


Figura 6 Exame direto: formas arredondadas, membrana dupla, catenular. Fonte: Talhari et al. (2010). (Veja a imagem colorida no miniatlas ao final do livro.)

RINOSPORIDIOSE

Considerações gerais

Seu agente etiológico, *Rhinosporidium seeberi*, afeta as mucosas, principalmente nasal e ocular. Formam-se pólipos, resultando massas de coloração avermelhada ou vinhosa com pontos brancos, ricos em microrganismos de onde devem ser pesquisados. É uma infecção granulomatosa crônica e benigna.

Acredita-se que a contaminação ocorra pela via dos orifícios naturais do corpo, por contato direto, banhando-se em águas contaminadas de açudes e águas estagnadas e também da poeira; não ocorre de homem a homem. Os indivíduos de baixa renda são os mais afetados. No Brasil, os casos são esporádicos.

Manifestações clínicas

Na cavidade nasal, ocular ou outras mucosas, surge uma massa polipoide, em forma de pequenas granulações ou grandes massas com superfície irregular, avermelhada, semelhante a um morango, salpicada por pontos brancos, os esporângios, que sangram com facilidade. Provocam obstrução nasal, seguida de prurido, cefaleia e rinorreia. No olho, pode atingir a conjuntiva e o saco lacrimal, simulando uma conjuntivite. Nos outros locais, surge a sensação de corpo estranho, obstrução e tosse. A doença atinge qualquer idade, sendo os homens os mais afetados.

6. Lacaz CS, Porto E, Martins JEC, Heins-Vaccari EM, Melo NT. Tratado de micologia médica Lacaz. 9. ed. São Paulo: Sarvier; 2002.
7. Minami PS. Como diagnosticar a cromomicose no laboratório. LAES. 1990;11(66):76-8.
8. Parker JD, Sarosi GA, Tosh FE. Treatment of extracutaneous sporotrichosis. Arch Intern Med. 1970;25:858-63.
9. Roitt IM, Brostoff J, Male DK. Imunologia. 3rd ed. São Paulo: Manole; 1993.
10. Salgado CG, da Silva JP, Diniz JA, da Silva MB, da Costa PF, Teixeira C, et al. Isolation of *Fonsecaea pedrosoi* from thorns of *Mimosa pudica*, a probable natural source of chromoblastomycosis. Rev Inst Med Trop S Paulo. 2004;46(1):33-6.
11. Severo LC, Bassanesi MC, Londero AT. Tinea nigra: report of four cases observed in Rio Grande do Sul (Brazil) and a review of brazilian literature. Mycopathologia. 1994;126:157-62.
12. Sidrim JLC, Moreira JLB. Fundamentos clínicos e laboratorial da micologia médica. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1999.
13. Sidrim JJC, Rocha MFG. Micologia médica à luz de autores contemporâneos. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2004.
14. Talhari G, Rabelo R, Nogueira L, Santos M, Chrusciak-Talhari A, Talhari S. Lobomycose. An Bras Dermatol. 2010;85(2):239-40;
15. Tilton RC, McGinnis MR. Fundamentals of mycology. 4. ed. In: American Society for Microbiology. Manual of clinical microbiology. Washington, DC: ASM; 1987. p.515-629.
16. Veronesi R, Focaccia R. Tratado de infectologia. Sao Paulo: Atheneu; 1997.
17. Zaitz C, Campbell I, Marques SR, Ruiz LRB, Souza VM. Compêndio de micologia médica. Rio de Janeiro: Medsi; 1998.

Micoses sistêmicas

INTRODUÇÃO

São micoses causadas por agentes fúngicos que invadem sistemas ou órgãos do indivíduo. Apresentam algumas características em comum, por exemplo, cada fungo apresenta uma virulência individual e inerente a cada espécie, são dimórficos, vivem como saprófitas no ambiente, na forma filamentosa e, quando inalados, por homem ou animal, liberam estruturas de reprodução, os conídios.

A infecção pode ser autolimitada ou evoluir para a gravidade. Antes da manifestação clínica da doença, ocorre uma fase de latência que pode perdurar até 20 anos ou mais. Ao se instalar no hospedeiro, o fungo inicia nova fase de seu ciclo biológico. Sua forma filamentosa passa para a forma leveduriforme, pela ação da temperatura, aeração e aporte nutricional do hospedeiro. A temperatura é a condição fundamental para a passagem de fase, sendo esses fungos denominados dimórficos [*in vitro* são capazes de passar da forma filamentosa (25 a 30°C) para a leveduriforme (35 a 37°C) e vice-versa].

Vivem em zonas tropicais de clima quente e úmido. O contágio entre indivíduos é excepcional. São quatro os agentes clássicos de micoses sistêmicas: *Paracoccidioides brasiliensis*, *Histoplasma capsulatum*, *Coccidioides immitis* e *Blastomyces dermatitidis*.

PARACOCCIDIOIDOMICOSE

Considerações gerais

É a doença causada pelo *Paracoccidioides brasiliensis*, fungo dimórfico, sendo levedura no tecido parasitado, na forma de células globosas a piriforme e filamentosas nos meios de cultura artificiais. Infecta principalmente pulmões, pele e mucosa. No passado, a doença foi chamada blastomicose sul-americana, termo que se tornou impróprio na micologia e na clínica, porque não há relação entre o microrganismo causador da paracoccidioidomicose e o da blastomicose.

A infecção do *P. brasiliensis* ocorre por inalação dos conídios (propágulos) infectantes. Os conídios são pequenos o suficiente para serem depositados diretamente no alvéolo. No hospedeiro, a transição da forma conídio para levedura ocorre em torno de 18 horas. Isso se deve à diferença de temperatura do ambiente para o organismo hospedeiro. A forma de levedura é a invasiva, sendo responsável pela patologia. Micélios e conídios não são encontrados no tecido de pacientes infectados.

A infecção ocorre desde criança, nas áreas endêmicas, e tem maior prevalência em jovens de 15 a 19 anos. Observa-se na prática que o índice de casos de paracoccidioidomicose no homem é muito maior que na mulher. Acredita-se que a produção de hormônios estrógenos esteja inter-relacionada com a doença. É a única entre as micoses sistêmicas que apresenta essa característica. Além disso, os homens se expõem profissionalmente, na zona rural, mais que as mulheres, além de apresentarem altas taxas de alcoolismo e tabagismo. A doença é rara entre as crianças e na pré-puberdade (em torno de 12 anos), sem haver prevalência de sexo.

Acredita-se que o *habitat* do fungo seja o solo rico em vegetação. O Brasil é o país com maior número de casos da América do Sul.

A paracoccidioidomicose é a micose respiratória mais comum nas Américas do Sul e Central e no México. A área de abrangência na América Latina vai desde o México até a Argentina, porém não existem registros de casos autóctones no Chile, Guiana Francesa, Suriname, Nicarágua, Belize e em várias ilhas da América Central. É autóctone e restrita ao continente americano. A incidência é variável entre os países e também entre distintas regiões no mesmo país, como no nordeste e norte do Brasil, onde é ausente ou rara, mas é alta a incidência no centro, sudeste e sul do país.

A maioria dos casos de paracoccidioidomicose disseminada infantojuvenil ocorre nos estados centrais do Brasil – São Paulo, Minas Gerais, Rio de Janeiro e Goiás. No Rio Grande do Sul, é considerada área de alta endemicidade. Londero et al. relataram quatro casos de paracoccidioidomicose disseminada infantojuvenil, em adolescentes

(9 a 17 anos). No Rio Grande do Sul, foram registrados os dois únicos casos de formas pulmonares exclusivos da micose em criança.

Etiologia

O *P. brasiliensis* é um fungo dimórfico. Cresce como fungo filamentoso à temperatura de 25 a 30°C e como levedura no tecido e *in vitro* entre 35 e 37°C.

Na temperatura de 25 a 30°C, a forma filamentosa cresce lentamente. No ágar Sabouraud dextrose, produz colônia branca ou creme, elevada com pregas e dobras, aspecto de “pipoca estourada”. O micélio aéreo é curto e a colônia bem aderida ao meio. Na micromorfologia dessa colônia, apresenta hifas septadas com artrósporos, clamidosporos e aleuriosporos globosos.

A transformação da fase filamentosa para levedura se obtém cultivando a colônia em ágar infusão de cérebro-coração (BHI) ou ágar sangue com glicose e cisteína. Incubação entre 35 e 37°C. A colônia cresce na cor creme com aspecto enrugado e cerebriforme.

Na micromorfologia dessa fase, a colônia apresenta células leveduriformes, multinucleadas e conectadas às células-mãe por ligação de base estreita.

Durante muito tempo acreditou-se que a porta de entrada do *P. brasiliensis* fosse a mucosa da cavidade oral ou nasal, dado o hábito dos pacientes de levarem talos de capim à boca ou palitar os dentes com gravetos. Também foi considerado o hábito de utilizar folhas de vegetais para a limpeza anal por trabalhadores rurais, resultando na implantação do microrganismo anorretal. Atualmente, a via inalatória é a mais aceita como a forma de adquirir o *P. brasiliensis*. Excepcionalmente pode haver a prenetração cutânea, mas é preciso evidências clínicas e experimentais para sua comprovação.

A transformação da fase miceliana para leveduriforme tem influência da ação inibitória de estrógenos da mulher sobre o fungo, não ocorrendo com os hormônios masculinos. A transformação de filamentoso em levedura *in vitro* é inibida por 17-beta-estradiol e por dietilestilbestrol, porém não é inibida por testosterona ou 17-alfa-estradiol. O mecanismo do 17-beta-estradiol atua sobre o *P. brasiliensis*, bloqueando a síntese de proteínas que se expressam durante a transformação da fase filamentosa em levedura e assim o estrógeno, por meio desse mecanismo, interfere na patogenicidade do *P. brasiliensis*.

Manifestações clínicas

A paracoccidioidomicose apresenta forma de infecção e doença.

Na paracoccidiodomicose infecção, o propágulo é inalado e se instala no pulmão, que é destruído no parênquima pulmonar deixando lesões cicatriciais no pulmão ou se multiplica e produz o foco primário. A infecção primária raramente é diagnosticada por causa da escassez de sintomas e por não acontecer em surtos epidêmicos. Acredita-se que o complexo primário fúngico seja formado e involua discretamente, deixando apenas a hipersensibilidade retardada e anticorpos transitórios como indícios da infecção.

A paracoccidiodomicose doença pode ocorrer em sequência à infecção primária ou por reativação depois do período de latência, que pode durar anos. A partir disso, a disseminação do fungo pode ocorrer por via hematogênica nos diferentes órgãos ou sistemas. As manifestações clínicas estão associadas à interação agente-hospedeiro e todas as variáveis que podem interferir nessa interação. Quando se instala a infecção, o paciente não apresenta sinais clínicos e laboratoriais de doença. São paracoccidiodina positivos, ou seja, estão infectados, mas não progrediram para a doença e esta fase pode perdurar por meses a anos.

Quando a infecção progride para doença ocorre a reativação do foco infeccioso. O paciente começa a apresentar evidências clínicas e laboratoriais.

A paracoccidiodomicose doença pode apresentar as formas regressiva, aguda ou subaguda, tipo juvenil, podendo ser moderada ou grave, e a forma crônica, tipo adulto, de leve, moderada ou grave.

A forma regressiva indica casos que, em geral, apresentam sintomas respiratórios e alterações radiológicas pulmonares, que regredem espontaneamente, sem necessidade de tratamento com antifúngicos.

A forma aguda ou subaguda é juvenil, o paciente apresenta idade inferior a 30 anos e os sintomas predominam com adenomegalia cervical ou generalizada.

A forma crônica corresponde à forma adulta, na qual o paciente apresenta idade superior a 25 e se manifesta com predominância na forma de pneumopatia e/ou ulceração na mucosa bucofaringiana.

Diagnóstico laboratorial

Exame direto

Em secreções, pus, exsudatos, líquidos orgânicos, escarro, biópsia e outros com KOH 10-40%, o *P. brasiliensis* apresenta forma arredondada, hialina, parede birrefringente, contendo gemulação lateral múltipla, base de inserção fina e os gêmulos apresentam tamanhos diferentes da célula-mãe – esta forma corresponde à criptoesporulação, demonstrando uma forma com o aspecto de roda de leme ou do “Mickey

Mouse”, o que a determina como característica do fungo. As colorações PAS e prata também são importantes no diagnóstico histopatológico. A forma característica de múltiplos brotamentos e célula-mãe única no tecido só são confundidas com uma espécie saprófita, o *Mucor circinelloides*, que produz brotamentos semelhantes às células do *Paracoccidioides brasiliensis*.

O achado do *P. brasiliensis* no sedimento urinário é raro, mesmo em casos de paracoccidioidomicose disseminada.

Cultura

Cresce em ágar Sabouraud dextrose ou ágar Sabouraud com cloranfenicol e cicloheximida, em cerca de 21 dias. Na temperatura entre 25 e 30°C, crescimento da forma filamentosa, a colônia apresenta superfície branco-amarelada e cotonosa, aspecto de pipoca estourada. Na temperatura entre 35 e 37°C, a forma de levedura cresce em BHI, com a colônia de cor creme e aspecto enrugado (cerebriforme). É importante no diagnóstico a reversão das fases 25 a 30°C e 35 a 37°C (Figura 1).

Micromorfologia 25 a 30°C: hifas septadas, clamidoconídios e conídios; 35 a 37°C: formas leveduriformes.

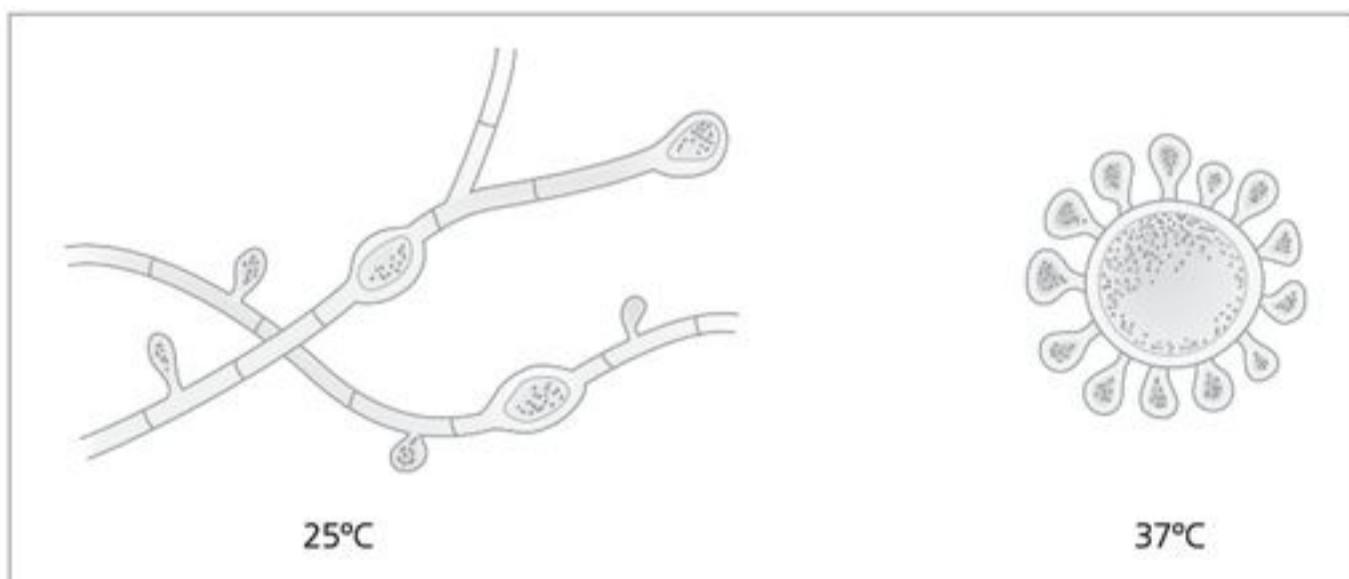


Figura 1 Micromorfologia colonial do *P. brasiliensis*.

Imunologia

Os pacientes com paracoccidioidomicose produzem anticorpos específicos em quantidade suficiente para o diagnóstico imunológico, que se torna fácil, rápido e às vezes mais sensível que o diagnóstico micológico. Os filtrados de cultura ricos em gp43 são antígenos específicos do *P. brasiliensis*. A paracoccidioidina é um alérgeno específico usado na reação intradérmica de hipersensibilidade com a finalidade de

conhecer a epidemiologia. Esses testes intradérmicos com a paracoccidioidina são realizados em regiões endêmicas de paracoccidioidomicose. Outros testes imunológicos podem ser usados para complementar o diagnóstico da doença, o controle de cura e o levantamento epidemiológico.

Diagnóstico diferencial

A paracoccidioidomicose pode ser confundida clinicamente com tuberculose, histoplamose, esporotricose, cromoblastomicose, linfoma, carcinoma, sarcoidose, leishmaniose e outras.

Tratamento

O tratamento recomendado e que tem sido eficaz pertence a três grupos, a anfotericina B, sulfadiazina e os derivados azólicos (cetoconazol, itraconazol e fluconazol).

O paciente com paracoccidioidomicose deve ser, clínica e laboratorialmente, acompanhado anualmente, por toda sua vida, garantindo que não haja recidiva.

Os títulos sorológicos podem não desaparecer, apenas diminuir, e o paciente permanece ao longo da vida com uma cicatriz sorológica.

BLASTOMICOSE

Considerações gerais

Inicialmente conhecida como doença de Gilchrist, é causada pelo *Blastomyces dermatitidis*, que se caracteriza por infecção crônica, granulomatosa e supurativa. Sua contaminação ocorre pela inalação dos propágulos, os conídios, pela via respiratória e se depositam nos pulmões.

É um fungo dimórfico: na temperatura entre 25 e 30°C, a forma filamentosa contém conídios e hifa septada e, na temperatura entre 35 e 37°C, a forma de levedura apresenta uma massa úmida formada por células leveduriformes. Seu *habitat* não está completamente estabelecido, e sua ecologia é obscura.

O *B. dermatitidis* tem sido isolado do solo, de vegetais em decomposição próximos a lagos, rios e ambientes úmidos em bosques.

Ocorre com maior frequência no homem entre 20 e 40 anos, e as mulheres normalmente não são acometidas a não ser por mudanças hormonais, como gravidez, menopausa e outros. As crianças raramente são acometidas, mas, quando o são, costumam apresentar quadro grave.

Manifestações clínicas

A blastomicose pode ser sintomática ou assintomática. As manifestações podem ocorrer na forma cutânea de evolução crônica, forma cutânea de inoculação primária e na forma disseminada dos tipos pulmonar aguda e crônica. Da forma pulmonar, por disseminação hematogênica, podem surgir envolvimento cutâneo, osteoarticular ou ainda atingir outros órgãos.

Diagnóstico laboratorial

Exame direto

Em colorações de PAS ou prata, as formas fúngicas apresentam-se arredondadas em gemulação, globosas, paredes finas, refringentes, gêmulo quase sempre único e com base de implantação larga na célula-mãe, o que o diferencia do *Paracoccidioides brasiliensis*. São observados em escarro, tecido, exsudato ou outros.

Cultura

A cultura pode ser realizada em ágar Sabouraud dextrose, ágar Sabouraud dextrose com cloranfenicol e ciclo-heximida ou BHI e incubada na temperatura entre 25 e 30°C, por três a quatro semanas. A colônia filamentosa apresenta cor branca a marrom, sulcada ou lisa e centro elevado.

Na micromorfologia, observam-se hifas, conidióforos e, na extremidade, conídios arredondados ou globosos.

Na temperatura entre 35 e 37°C, em BHI, a colônia apresenta aspecto granular ou levemente enrugado, cor branca a creme. Na micromorfologia, observam-se células leveduriformes que se formam a partir dos conídios (Figura 2).

Imunologia

Provas sorológicas, como ELISA (*enzyme-linked immunosorbent assay*), estão disponíveis, mas apresentam boa sensibilidade e baixa especificidade.

Diagnóstico diferencial

As formas de blastomicose pulmonar se confundem com tuberculose, histoplasmose, neoplasia, precisando de diagnóstico diferencial.

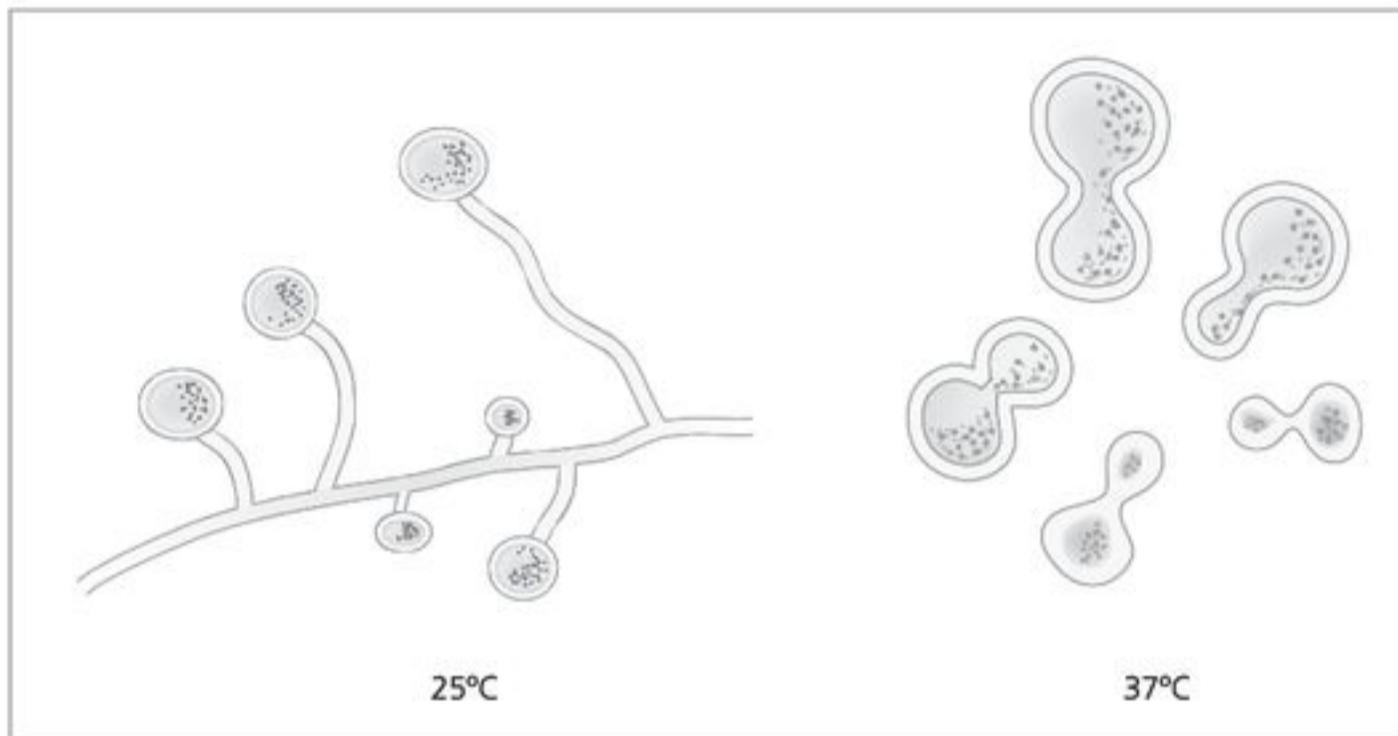


Figura 2 Micromorfologia colonial do *B. dermatitidis*.

Da mesma forma, a manifestação cutânea deve ser diferenciada de cromomicose, esporotricose, tuberculose, e a óssea de mieloma e coccidioidomicose.

Tratamento

O tratamento pode ser feito com os antifúngicos anfotericina B, itraconazol, cetoconazol e outros.

HISTOPLASMOSE

Considerações gerais

A histoplasmose humana classifica-se em clássica e africana, sendo uma cosmopolita, causada pelo *Histoplasma capsulatum* var. *capsulatum*, e a outra, africana, causada pelo *Histoplasma capsulatum* var. *duboisii*. A histoplasmose clássica é uma infecção micótica sistêmica que compromete os pulmões e o sistema reticuloendotelial. O fungo é um parasita intracelular e dimórfico. Seu *habitat* natural são locais que contenham excrementos de aves e morcegos, como cavernas, grutas, galinheiros e outros. Tem distribuição universal, principalmente em regiões endêmicas de clima subtropical e temperado.

A transmissão se dá por via respiratória, por inalação dos propágulos. No pulmão, forma-se um processo semelhante ao da tuberculose, podendo se disseminar via hematogênica para outros órgãos.

Os materiais que podem ser cultivados são escarro, biópsia, nódulo linfático, medula óssea, líquido cefalorraquidiano (LCR), sangue e outros.

Alguns animais são suscetíveis a histoplasmose, como cão, gato, cavalo, gado e outros, sendo o cão o mais suscetível.

No Brasil, a enfermidade é rara nas suas formas clássicas, mas é frequente quando associada à síndrome da imunodeficiência adquirida (Aids).

A espécie *H. capsulatum* var. *duboisii*, agente da histoplasmose africana, ocorre nas regiões de clima tropical e úmido da África. Casos não autóctones têm ocorrido em outras regiões, incluindo a América do Sul. Apresenta comprometimentos cutâneo, ósseo, ganglionar ou visceral. O aspecto é variável de pápula, nódulos ou ulcero-vegetante. O diagnóstico é feito pelo exame direto ou histopatológico.

As duas formas de histoplasmose humana apresentam diferenças nos aspectos clínicos e epidemiológicos da micose e nos aspectos parasitários do fungo.

Manifestações clínicas

A histoplasmose clássica se manifesta desde formas leves até graves e disseminadas. A gravidade da manifestação depende das circunstâncias em que ocorreu o contágio, ou seja, a quantidade de inóculo introduzido no organismo e as condições do hospedeiro. As formas clínicas mais comuns apresentam infecção assintomática, histoplasmose aguda, histoplasmose disseminada e histoplasmose pulmonar crônica.

As histoplasmoses assintomática e aguda acometem principalmente hospedeiros normais, chegando a 95% e 99% em áreas endêmicas. Resulta de uma infecção pulmonar primária. Em geral, regride espontaneamente, sendo autolimitada. Ocorre pela exposição a focos altamente infectantes. As manifestações clínicas podem se apresentar desde simples quadro gripal a quadro pulmonar pneumônico com necessidade de suporte ventilatório.

As formas disseminadas e pulmonar crônica costumam estar mais presentes em hospedeiro imunocomprometido e têm caráter progressivo. A doença progride com evidências de focos extrapulmonares e extraganglionares de curso agudo ou crônico. A forma crônica decorre de infecção exógena em indivíduo com algum defeito estrutural do pulmão. O fungo permanece quiescente, porém, viável no parênquima pulmonar ou em outros tecidos, podendo ser reativado em situações de desequilíbrio entre hospedeiro e parasita.

A histoplasmose atinge desde crianças até jovens e adultos. Quando não diagnosticada e não tratada corretamente, pode evoluir para óbito.

Diagnóstico laboratorial

Exame direto

A pesquisa direta em esfregaço ou corte histológico, corado pela prata, *wright*, *giemsa* ou PAS são as colorações recomendadas. A visualização direta do fungo é muito difícil, pelo seu tamanho reduzido e intracelular, dentro dos histiócitos. A forma intracelular costuma ser confundida com *Leishmania*, entretanto, a coloração prata do corte histológico permite a identificação diferencial da presença de fungo. Portanto, é essencial o isolamento em cultura para sua identificação de certeza (Figura 3).

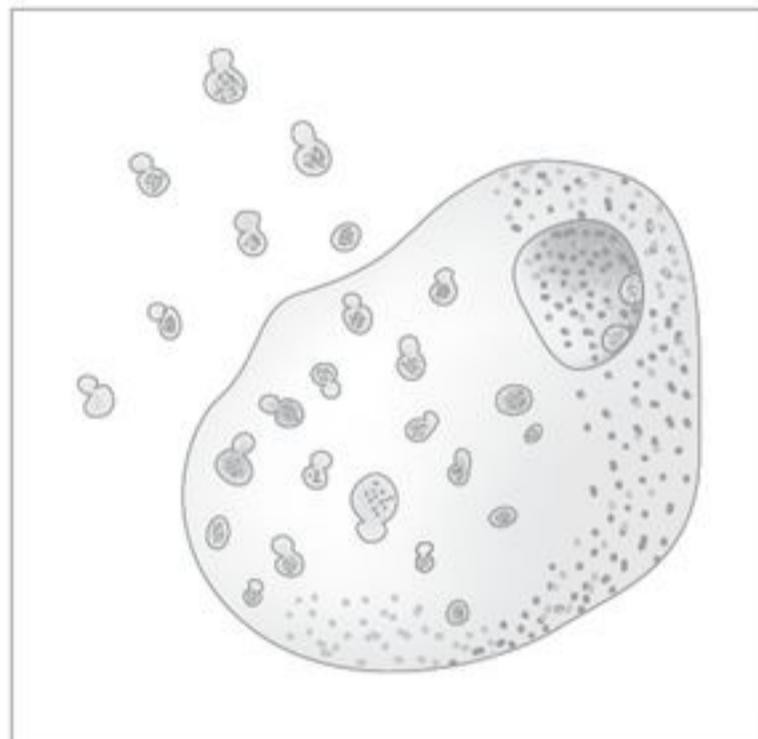


Figura 3 Presença de elementos leveduriformes intracelulares.

Cultura

O diagnóstico de certeza depende do isolamento do fungo em meio ágar Sabouraud dextrose ou ágar Sabouraud com cloranfenicol e ciclo-heximida. O material usado pode ser biópsia, aspirado, lavado brônquico, sangue, medula óssea ou outros. A colônia filamentosa se manifesta na cor branco-cotonosa, tornando-se depois acastanhada e granulosa. O crescimento é lento, entre três e quatro semanas, na temperatura entre 25 e 30°C.

Ao exame micromorfológico, observam-se dois tipos de macroconídios, um com superfície mamilonada denominado estalagmósporos e outro macroconídio de parede lisas (Figura 4).

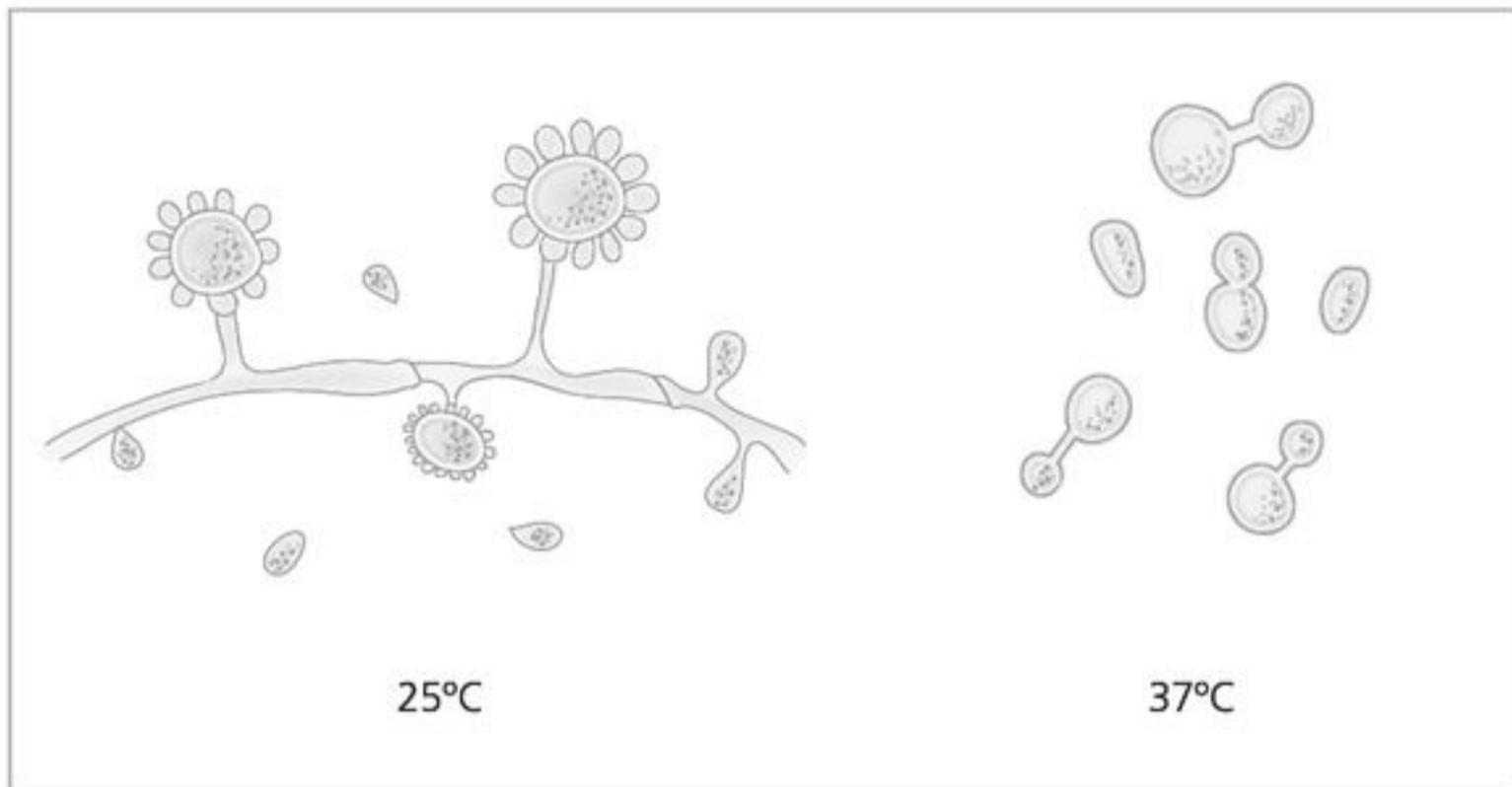


Figura 4 Micromorfologia do *Histoplasma capsulatum*.

Na temperatura entre 35 e 37°C, em meio de cultura BHI, o fungo cresce com macromorfologia leveduriforme, glabras, lisas e cor branco-amarelada. Na micromorfologia, as células são leveduriformes, pequenas, ovais, gemulação única e base estreita.

Imunologia

Testes sorológicos têm sido usados para diagnóstico e estudo epidemiológico da histoplasmose. Os mais usados para a detecção de anticorpos são fixação de complemento e imunodifusão dupla. Podem ocorrer reações cruzadas com *Blastomyces dermatitidis*, *Paracoccidioides brasiliensis*, *Aspergillus* sp., *Coccidioides immitis* e outros menos frequentes.

Os testes para detecção de antígenos costumam diminuir a proporção de reações cruzadas. As técnicas de radioimunoensaio (RIA), ELISA e métodos moleculares como reações em cadeia da polimerase (PCR) e sondas genéticas têm sido recomendados. Essas técnicas detectam o antígeno circulante, presentes no início da doença, bem como podem ser úteis no monitoramento do tratamento e em casos de recidivas.

Tratamento

Os antifúngicos recomendados são a anfotericina B, itraconazol, cetoconazol e outros.

COCCIDIOIDOMICOSE

Considerações gerais

Micose sistêmica causada pelo fungo dimórfico, o *Coccidioides immitis*. É um fungo geofílico encontrado geralmente em zonas desérticas e semiáridas, altas temperaturas e solos alcalinos. Causa micose sistêmica, predominantemente pulmonar. A coccidioidomicose é a mais infecciosa das micoses conhecidas, por ser este fungo mais virulento de todos. Pode acometer também pele, laringe, ossos, articulações, meninges. É endêmico no sudeste dos Estados Unidos, norte do México, Américas Central e do Sul – Venezuela, Bolívia, Argentina e Nordeste do Brasil.

A porta de entrada no homem é o trato respiratório pela inalação de seus propágulos, os artroconídios da fase filamentosa do fungo. A doença não é transmitida entre os humanos ou entre os animais.

Após a inalação, os artroconídios atingem os pulmões, crescem e são revertidos para a forma de esférulas com endosporos no interior, onde são observadas no tecido infectado. Cada endosporo é capaz de se desenvolver dentro de uma nova esfera, dessa forma propagando o ciclo infectivo.

No Brasil, a coccidioidomicose foi registrada por Vianna et al. (1979), que relataram o primeiro caso da doença em nativo do Brasil. Posteriormente, foram detectados casos na Bahia e no Ceará, diagnosticados pela histopatologia. Em 1991, o *C. immitis* foi isolado pela primeira vez em cultura em microepidemia em Oeiras (PI), onde três homens e oito cães de caça realizando uma caçada de tatus foram expostos à forma filamentosa do fungo, altamente infectante. Os sintomas surgiram após dez dias, e em três cães a doença evoluiu rapidamente levando-os a óbito. Diogenes et al. (1995) detectaram esferulina altamente positivas em Jaquaribara (CE). Sidrim et al. detectaram uma microepidemia em Aiuba (CE), onde quatro homens e dois cães foram expostos ao fungo em caçadas de tatus e apresentaram evolução clínica da doença. Com esses dados ficou definido que o nordeste brasileiro é uma zona endêmica de coccidioidomicose e tem relação com a forma de caça ao tatu pela escavação de tocas para retirá-los.

A doença ocorre no homem e em animais, sendo o cão o hospedeiro mais suscetível depois do homem. A coccidioidomicose canina é mais prevalente em áreas endêmicas, sendo um problema de saúde pública nesses locais. O *C. immitis* é encontrado na profundidade do solo, entre 10 e 30 cm da superfície, sendo necessário o revolvimento da terra ou grandes ventanias para que o fungo atinja a superfície e, com a veiculação de ar por correntes, seja inalado pelo hospedeiro.

Manifestações clínicas

A doença se manifesta na forma pulmonar aguda, forma assintomática, cutânea primária, e na forma disseminada. A forma pulmonar assintomática envolve clinicamente 60% dos indivíduos que apresentam uma infecção respiratória leve, inaparente e rápida, sendo evidenciado apenas pelos testes cutâneos. Nos quadros clínicos sintomáticos, são observados desde sintomas respiratórios brandos que simulam quadros respiratórios com tosse, expectoração, febre e dores torácicas até sintomas de pneumonias graves, envolvendo cerca de 5% dos quadros. Raramente ocorre a disseminação hematogênica ou linfática a partir do pulmão, os órgãos mais atingidos são pele, medula óssea e meninges, ocorrendo em menos de 1% dos indivíduos infectados. Os quadros clínicos quando graves e generalizados são quase sempre mortais. Os fatores predisponentes são imunossupressão e quantidade de propágulos inalados para determinar a intensidade da infecção.

Dodd et al. (1990) detectaram o primeiro caso de coccidioidomicose ocorrida em transplante de fígado. Em outros relatos, foram detectados também em ossos, articulações, meninges e trato genital feminino.

O ciclo biológico do *C. immitis* ocorre em solo salino de clima seco, que propicia o desenvolvimento dos artroconídios da fase filamentosa do fungo. Esses artroconídios são levados por correntes de ar e inalados pelo homem e por animais. Ao penetrarem pela via respiratória sofrem modificação para a fase leveduriforme, a esférula, provocando lesão pulmonar e em outros órgãos com manifestações clínicas.

Diagnóstico laboratorial

Exame direto

O exame micológico é realizado em escarro, aspirado brônquico, liquor, raspado de lesões, pus, secreções, biópsias ou outros. Na pesquisa direta com KOH 10-40% ou cortes histológicos corados pelo PAS, prata ou HE, é observado elemento arredondado, esférula de parede espessa, que se reproduz por endosporulação, de tamanho variável, contorno sem estado de maturação. No interior, contém estruturas menores, de tamanho variável e redondo, os endosporos (Figura 5).

Cultura

A cultura tem crescimento rápido em ágar Sabouraud dextrose, ágar Sabouraud dextrose suplementado com cloranfenicol e ciclo-heximida. A colônia tem apresen-

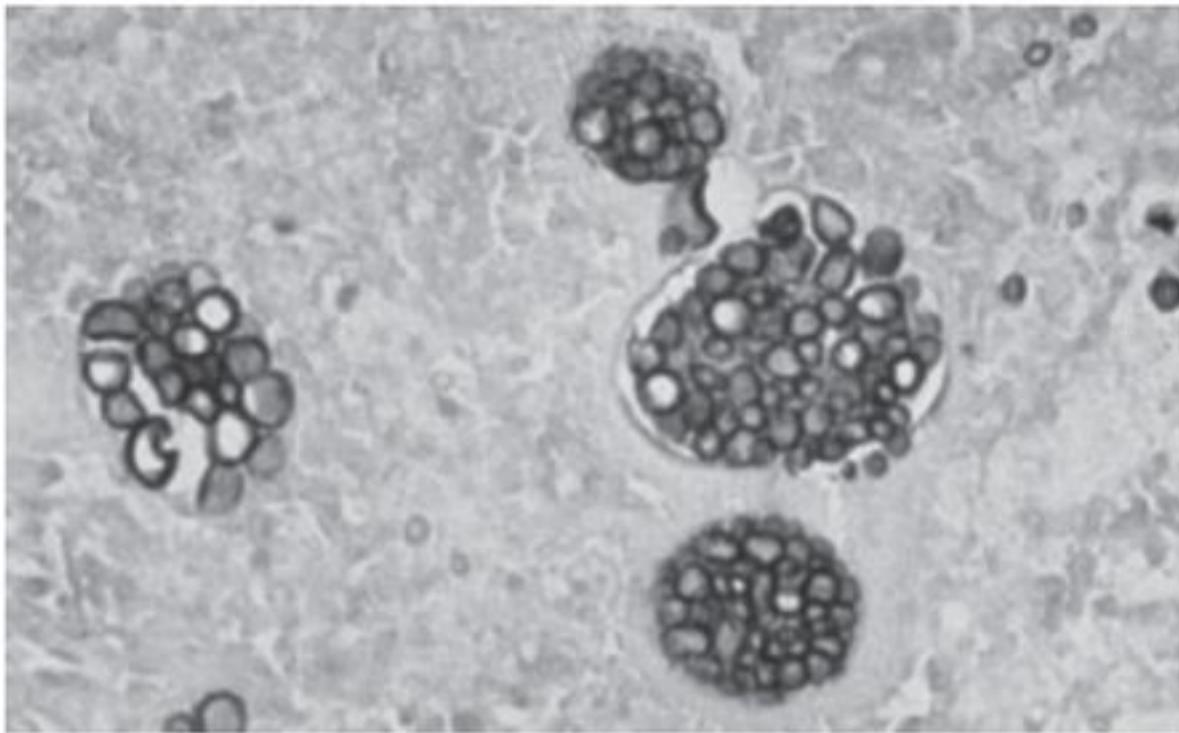


Figura 5 Elemento arredondado contendo endosporos. Fonte: Veras et al. (2003).

tação algodonosa, com micélios aéreos brancos, passando a castanho. Ao exame microscópico da colônia filamentosa observam-se hifas hialinas, septadas e ramificadas, artroconídios, “em forma de barril” e clamidoconídios intercalados. Para o isolamento em hemocultura utiliza-se a lise-centrifugação ou métodos automatizados.

Mesmo sendo um fungo dimórfico, não apresenta reversão da fase filamentosa para a leveduriforme, *in vitro*, com a alteração de temperatura. Mesmo em temperatura entre 37 e 40°C continua apresentando colônias compatíveis com fungo filamentoso. A reversão só é obtida por inoculação em cobaia para a reversão *in vivo*. A reversão *in vitro* ocorre utilizando o meio de cultura de converse, modificado por Levine, ou o meio modificado para reversão. Nessa fase, o fungo deve ser incubado em microaerofilia, atmosfera com 20% de CO₂ e a 40°C. A reversão ocorre em três a cinco dias.

Ao manipular as culturas de *Coccidioides immitis* deve-se ter muito cuidado, pela alta infecciosidade, e deve-se trabalhar com equipamento de proteção individual e em câmara de fluxo laminar de nível II de segurança. Em casos de suspeita, é importante alertar ao laboratório para diminuir a possibilidade de acidentes (Figura 6).

Imunologia

Para se evitar a manipulação direta do fungo, os testes imunológicos têm sido usados buscando uma metodologia rápida e eficaz. O teste intradérmico com a coccidioidina tem sido usado como valor epidemiológico.

Testes de fixação do complemento, ELISA, aglutinação de partículas de látex, imunodifusão dupla, contraímunoeletroforese, entre outros, podem ser utilizados para diagnóstico, acompanhamento ou prognóstico da coccidioidomicose.

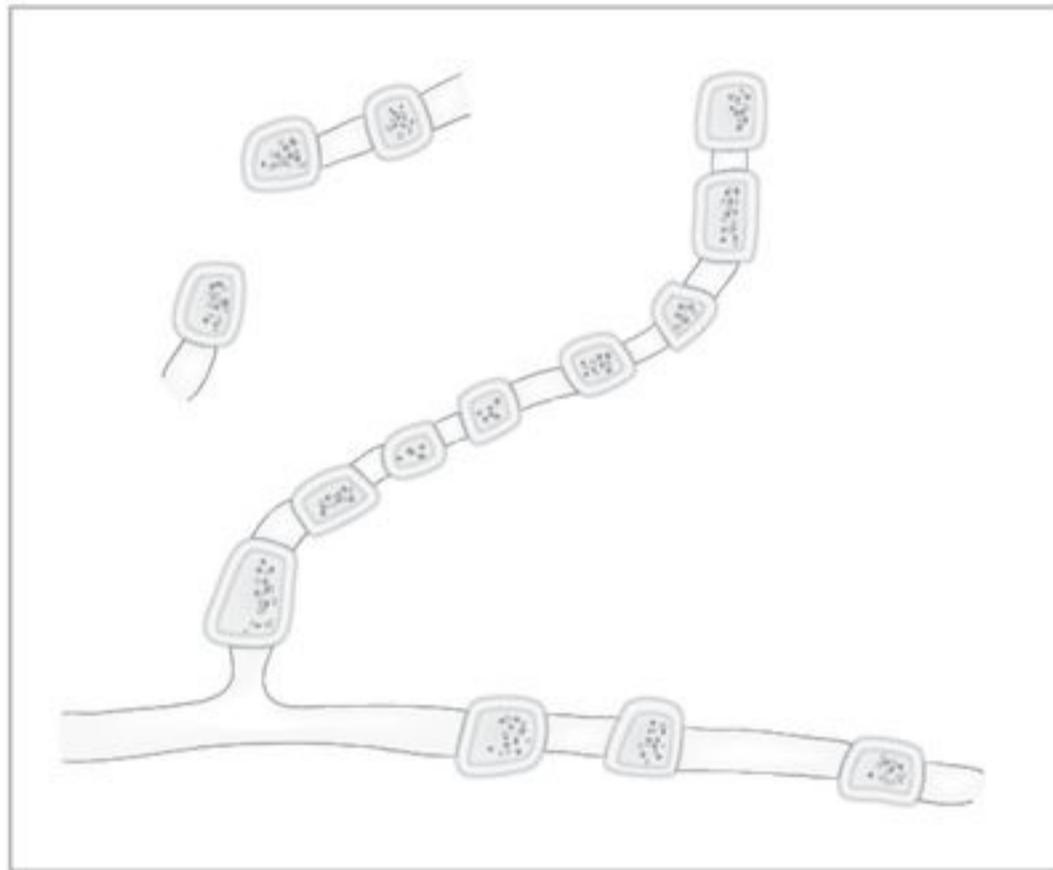


Figura 6 Micromorfologia colonial do *C. immitis* a 25°C.

Tratamento

Os agentes antifúngicos viáveis são anfotericina B, cetoconazol, fluconazol, itraconazol ou outros.

BIBLIOGRAFIA

1. Ampel NM, White J, Varanasi UR, Larwood TR, Van Wyck DB, Galgiani JN. Coccidioidal peritonitis associated with continuous ambulatory peritoneal dialysis. *Am J Kidney Dis.* 1988;11(6):512-4.
2. Benninghoven CD, Miller ER. Coccidioidal infection in bone. *Radiology.* 1942;38:663.
3. Bried JM, Galgiani JN. Coccidioides immitis infections in bones and joints. *Clin Orthop.* 1986;211:235.
4. Bried JM, Speeder DP, Shehab ZM. Coccidioides immitis osteomyelitis in a 12-month old child. *J Ped Orthop.* 1987;7(3):328-30.
5. Byland DJ, Nanfro JJ, Marsh WL Jr. Coccidioidomycosis of the female genital tract. *Arch Pathol Lab Med.* 1986;110(3):232-5.
6. Conant NF, Smith DT, Backer RD, Callaway JL. *Manual of clinical mycology.* 3. ed. Philadelphia: W.B. Saunders; 1971.
7. Cooper BH. A case of pseudo paracoccidioidomycosis: detection of the yeast phase of *Mucor circinelloides* in a clinical specimen. *Mycopathologia.* 1987;97:189.
8. Costa RO. *Micologia médica. Edição suplementar do J Bras Medicina (JBM);* 2003.
9. Deus Filho A. Curso de atualização – micoses: coccidioidomicose. *J. Bras Pneumol.* 2009;35(9):920-30.
10. Diogenes MJN, Jamaru WF, Silva MA, Carvalho FF. Inquérito epidemiológico com esferulina em Jaguaribara-CE, Brasil. *An Bras Dermatol.* 1995;70(6):525-9.
11. Dixon DM, Fromthing RA. Morphology, taxonomy, and classification of the fungi. In: Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover RH (eds.). *Manual of clinical microbiology.* 6. ed. Washington DC: American Society of Microbiology; 1995. p.699-708.

12. Dodd LG, Nelson SD. Disseminated coccidioidomycosis detected by percutaneous liver biopsy in a liver transplant recipient. *Am J Clin Path.* 1990;93(1):141-4.
13. Giraldo R, Restrepo A, Gutiérrez F, Robledo M, Londoño F, Hernández H, et al. Pathogenesis of paracoccidioidomycosis: a model based on the study of 46 patients. *Mycopathologia.* 1976;58:63.
14. Hurwitz S. *Clinical pediatric dermatology.* Philadelphia: W.B. Saunders; 1981.
15. Klein BS, Vergeront JM, Weeks RJ, Kumar UN, Mathai G, Varkey B, et al. Isolation of blastomyces dermatitidis in soil associated with a large outbreak of blastomycosis in Wisconsin. *N Engl J Med.* 1986;314:529-34.
16. Koneman EW, Allen SD, Dowell VR Jr, Janda WM, Sommers HM, Winn WC Jr. *Color atlas and textbook of diagnostic microbiology.* 3rd ed. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins; 1988.
17. Lacaz CS, Porto E, Martins JEC, Heins-Vaccari EM, Melo NT. *Tratado de micologia médica Lacaz.* 9. ed. São Paulo: Sarvier; 2002.
18. Londero AT, Gonçalves A Jr, Cruz MLS, Rozembaum RC, Rosamélia Q, Machado ES, et al. Paracoccidioidomicose disseminada "infanto-juvenil" em adolescentes. *Arq Bras Med.* 1987;61(1):5-12.
19. Londero AT, Lopes JO, Ramos CD, Severo LC. A prova da dupla difusão em gel de ágar no diagnóstico da paracoccidioidomicose. *Rev Assoc Med Rio Gr Sul.* 1981;25(4):272-5.
20. Londero AT, Ramos CD. Paracoccidioidomycosis. A clinical and mycologic study of forty-one cases observed in Santa Maria, RS, Brazil. *Am J Med.* 1972;52:771.
21. Londero AT, Severo LC. The gamut of progressive pulmonary paracoccidioidomycosis. *Mycopathologia.* 1981;75:65.
22. Lopes JO, Alves SH. Paracoccidioides brasiliensis no sedimento urinário. Relato de um caso e revisão da literatura. *Rev Assoc Med Rio Gr Sul.* 1990;34(3):191-2.
23. McEwen JG, Bedoya V, Patiño MM, Salazar ME, Restrepo A. Experimental murine paracoccidioidomycosis induced by the inhalation of conidia. *J Med Vet Micrology.* 1987;25:165-75.
24. Saliba NA. Pulmonary histoplasmosis. *JAMA.* 1960;173:902.
25. Severo LC, Picon PD, Londero AT, Rubião Filho HJ. Histoplasmosse aguda. Relato de dois casos. *Rev Ass Med Rio Gr Sul.* 1981;25(1):64-7.
26. Sidrim JLC, Moreira JLB. *Fundamentos clínicos e laboratorial da micologia médica.* Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1999.
27. Sidrim JJC, Rocha MFG. *Micologia médica à luz de autores contemporâneos.* Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2004.
28. Small JM, Larsen RA, Peric-Golia L. The frequency of fungal involvement in abnormal vocal cord biopsy specimens. *Arch Pathol Lab Med.* 1986;110:141-3.
29. Sugar AM. Paracoccidioidomycosis. *Infect Dis Clin North Am.* 1988;2(4):913-24.
30. Tilton RC, McGinnis MR. *Fundamentals of mycology.* 4. ed. In: American Society for Microbiology. *Manual of clinical microbiology.* Washington, DC: ASM; 1987. p.515-629.
31. Veras KN, Jacobina KS, Soares VY, Avelino MA, Vasconcelos Cde M, Parente JM. Coccidioidomycosis: an unusual cause of acute respiratory distress syndrome. *J Pneumol.* 2003;29(1):45-8.
32. Veronesi R, Focaccia R. *Tratado de infectologia.* Sao Paulo: Atheneu; 1997.
33. Vianna H, Passos HV, Sant Ana AV. Coccidioidomicose relato do primeiro caso ocorrido em nativo do Brasil. *Rev Inst Med Trop.* 1979;21:51-5.
34. Zaitz C, Campbell I, Marques SR, Ruiz LRB, Souza VM. *Compêndio de micologia médica.* Rio de Janeiro: Medsi; 1998.
35. Walsh T, Mitchell TG, Larone DH. Dimorphic fungi causing systemic mycoses. In: American Society for Microbiology. *Manual of clinical microbiology.* 7. ed. Washington, DC: ASM; 1999. p.749-64.
36. Wanke B, Aidê MA. Curso de atualização – Micoses, paracoccidioidomicose. *J Bras Pneumol.* 2009;35(12):1245-9.
37. Ward JI, Weeks M, Allen D, Hutcheson RH Jr, Anderson R, Fraser DW, et al. Acute histoplasmosis: clinical, epidemiologic and serologic findings of an outbreak associated with exposure to a fallen tree. *Am J Med.* 1979;66:587-95.

38. Wheat J, French ML, Kamel S, Tewari RP. Evaluation of cross-reaction In *Histoplasma capsulatum* serologic tests. *J Clin Microbiol.* 1986;23:493-9.
39. Wheat LJ. Histoplasmosis. *Infect Dis clin North Am.* 1988;2(4):841-59.
40. Wheat J, French MLV, Kohler RB, Zimmerman SE, Smith WR, Norton JA, et al. The diagnostic laboratory tests for histoplasmosis. *Ann Intern Med.* 1982;97:680-5.

Outras micoses

INTRODUÇÃO

São micoses causadas por fungos patógenos oportunistas que acometem principalmente indivíduos com quadro de imunossupressão, tanto de caráter transitório, relacionado ao uso de corticosteroides e outras drogas imunossupressoras, como permanentes. São fungos fundamentalmente do meio ambiente, exceto a *Candida* sp. que habita também o meio endógeno, como os tratos gastrointestinal, oral ou genital. São encontrados no solo, principalmente em resíduos orgânicos, e a maioria desses agentes não são virulentos, podendo, dessa forma, não produzir doença ao entrarem em contato com o homem ou animal, desde que as barreiras naturais de defesa do hospedeiro estejam íntegras, o que impede a instalação do fungo com dano tecidual e conseqüentemente a doença. A maioria deles se deposita na pele ou mucosa e eventualmente são inalados.

Muitos fungos que anteriormente eram considerados não patogênicos hoje fazem parte deste grupo de fungos agentes de micoses oportunistas. São os fatores intrínsecos e extrínsecos do hospedeiro que permitem a esses fungos provocar danos teciduais em órgãos ou sistemas ou permanecer inertes a qualquer dano. Dessa forma, a maioria dos fungos é proveniente do meio externo, não apresenta virulência clássica,

sendo, portanto, microrganismos oportunistas. A exceção ocorre com o *Coccidioides immitis*, fungo que vive também no solo, mas que apresenta virulência particular tornando-o o agente mais infeccioso de todos os fungos.

Nos últimos anos, as micoses oportunistas têm aumentado, incluindo o número de espécies diferentes e também o aumento da gravidade das infecções.

Para que o agente seja diagnosticado corretamente é necessária a integração entre o micologista e o clínico. São várias as micoses oportunistas já diagnosticadas, sendo que a seguir são descritas as mais frequentes.

CRIOCOCOSE

Considerações gerais

Micose oportunista crônica, aguda ou subaguda, causada por fungo encapsulado, o *Cryptococcus* sp. O fungo é cosmopolita e encontrado em ambientes urbanos e rurais. Atualmente duas espécies têm sido relatadas como patogênicas em humanos, o *Cryptococcus neoformans* e o *Cryptococcus gattii*.

Tem distribuição universal. Acredita-se que a infecção ocorre pela inalação da levedura encapsulada ou de variantes não encapsuladas. A doença inicia pelo pulmão, podendo ser assintomática e evoluir para a cura espontânea ou se disseminar por via hematogênica para o cérebro e para o sistema nervoso central (SNC), provocando meningoencefalite, na pele, no osso ou em outros.

O *Cryptococcus* sp. apresenta variabilidade antigênica com cinco sorotipos A, B, C, D e AD. Importantes diferenças entre os sorotipos têm sido demonstradas, sendo que o *Cryptococcus neoformans* apresenta os sorotipos A, D e AD e o *Cryptococcus gattii* os sorotipos B e C.

O ambiente do *Cryptococcus neoformans* em todo o mundo é o das excretas de aves, sobretudo dos pombos. O *Cryptococcus gattii* foi inicialmente isolado no Vale Barossa, na Austrália, em uma região indígena com baixa incidência de Aids. Está presente em materiais associados ao *Eucalyptus comadulensis* e de outras árvores em decomposição, como lenha, casca, folhas e resíduos. Presente na Austrália, no México, no Brasil, nos Estados Unidos (Califórnia), na Ásia, na África e outros. A presença do *Cryptococcus neoformans* na doença está relacionada aos indivíduos imunodeprimidos ou com doenças crônicas, ao passo que o *Cryptococcus gattii* tem sido encontrado com maior frequência em indivíduos imunocompetentes.

São conhecidas também as formas sexuadas de *C. neoformans*, *Filobasidiella neoformans* e *F. bacillispora*, para o *Cryptococcus gattii*. Esse critério de variedade está firmado nas diferenças metabólicas, cujo principal marcador é o meio de canavanina-

-glicina-azul de bromotimol (meio-CGB). Outra espécie de *Cryptococcus*, o *C. laurentii*, tem sido também descrita como patógena para o homem.

Um fator primário de virulência da levedura é a cápsula formada por um complexo de carboidratos com propriedades antifagocíticas. A presença de melanina na parede celular também reforça o fator virulência.

A morfologia típica oval ou células de leveduras em brotamento de 5 a 10 micras de tamanho com uma cápsula de mucicarmim positivo é distinta e favorece o diagnóstico. Excepcionalmente ocorrem casos de criptococose por *Cryptococcus* sp. deficiente capsular. Estudos experimentais revelaram que essas leveduras não encapsuladas são capazes de produzir criptococose em ratos e camundongos, desenvolvendo a cápsula. No homem, não houve desenvolvimento da cápsula *in vivo*.

Manifestações clínicas

A criptococose apresenta as formas pulmonar regressiva, progressiva e disseminada.

Na criptococose pulmonar regressiva os sintomas são imperceptíveis e o diagnóstico consiste em achados casuais de nódulos residuais pulmonares, geralmente periféricos e não calcificados.

A criptococose pulmonar progressiva ocorre em cerca de 10% dos casos e os sintomas são inespecíficos, que costuma ser um achado radiológico casual. Podem ocorrer manifestações como febre, dor no peito, tosse, perda de peso, com escarro mucoide e sanguinolento.

Em formas invasivas, as manifestações clínicas são mais graves e aumentam quando a imunidade do hospedeiro estiver comprometida. Nesses casos, podem ocorrer lesões miliares, adenomegalias hilares e também derrame pleural.

A criptococose disseminada é a mais frequente, ocorre em cerca de 90% dos casos. Essa forma corresponde aos quadros extrapulmonares. A via hematogênica leva o fungo para qualquer órgão ou sistema. A manifestação mais frequente é a meningoencefalite. Manifesta-se com cefaleia, alterações de comportamento, náuseas, vômitos, febre e outros.

Outras manifestações, como lesões osteoarticulares nas vértebras, pelve, crânio, costelas ou cutâneas com aspecto de pápulas, celulite ou ulceração e que drenam exsudato rico em elementos fúngicos e nos rins, suprarrenais e próstata também ocorrem.

Os achados clínicos da doença são similares àqueles da tuberculose pulmonar, sendo necessária a confirmação dos achados laboratoriais. Uma história de exposição a pombos ou solo contaminado com fezes de pombos é de grande importância no diagnóstico da doença.

Ocasionalmente, a criptococose disseminada pode apresentar massa expansiva do SNC associada ou não à lesão meníngea.

Diagnóstico laboratorial

O diagnóstico laboratorial de criptococose requer a visualização do fungo em materiais orgânicos, histopatologia mostrando organismos encapsulados ou detecção do antígeno polissacarídeo do *Cryptococcus neoformans* no soro ou LCR.

Exame direto

O processo mais simples é feito a partir do material biológico suspeito, como liquor, escarro, pus ou outros. São colocados em contato com uma gota de tinta da China (tinta nanquim ou nigrosina) entre lâmina e lamínula. Formas arredondadas, às vezes em gemulação e uma cápsula de polissacarídeos não corados pela tinta são observados ao microscópio ótico (Figura 1). Em cerca de 90% dos casos, o diagnóstico é conclusivo.

Colorações em tecidos, como PAS, mucicarmim de Mayer e *alcion blue*, são úteis para detectar a cápsula de polissacarídeo. A coloração Fontana Masson pode ser utilizada para evidenciar a presença da melanina na parede celular do *Cryptococcus*.

Cultura

A cultura é feita em ágar Sabouraud dextrose. Cresce bem entre 30 e 35°C em 72 horas. O fungo é sensível à ciclo-heximida. Meios de cultura contendo *Guizotia*

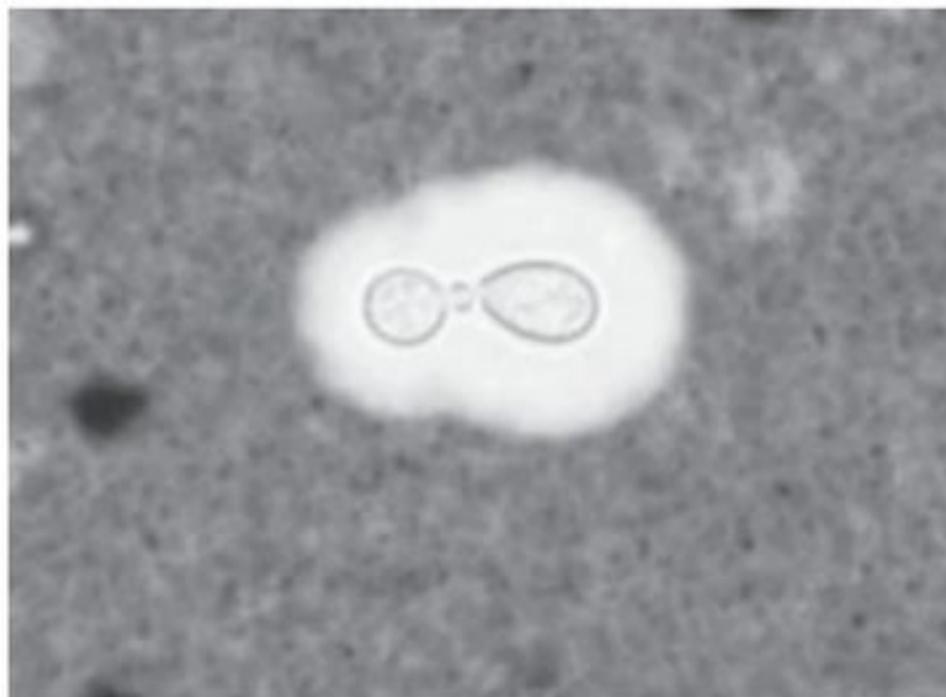


Figura 1 Exame direto com tinta da China.

abyssinica ou outras sementes de níger, como alpiste e girassol, podem ser utilizadas para diagnóstico. O *C. neoformans* produz uma fenoloxidase que é evidenciada pela cor marrom nessas culturas, permitindo distinguir o fungo de outras leveduras (Figura 2).

As colônias são inicialmente brancas com aspecto mucoide e viscoso que tende a escorrer para o fundo do tubo por causa da composição da cápsula. O exame microscópico da colônia é de difícil diagnóstico, podendo ser confundido com outras leveduras, como *Candida* sp. Provas bioquímicas, como ureia, canavanina e outras são necessárias para confirmação do gênero e da espécie.

O método de lise-centrifugação, ou métodos automatizados, permite o isolamento da levedura em culturas de sangue.

Imunologia

O teste de aglutinação de partículas de látex para detecção do antígeno polissacarídeo do *Cryptococcus neoformans* é útil na prática, tendo valor superior a 90% de sensibilidade e especificidade nas infecções criptocócicas. É recomendado quando o exame direto e a cultura são negativos. Falsos-positivos, porém, podem ocorrer quando associados a outros agentes de infecções disseminadas, como o *Trichosporon inkin* e bacilos gram-negativos.

Tratamento

São agentes antifúngicos disponíveis para o tratamento da criptococose: anfotericina B, 5-fluorocitosina, fluconazol e itraconazol.

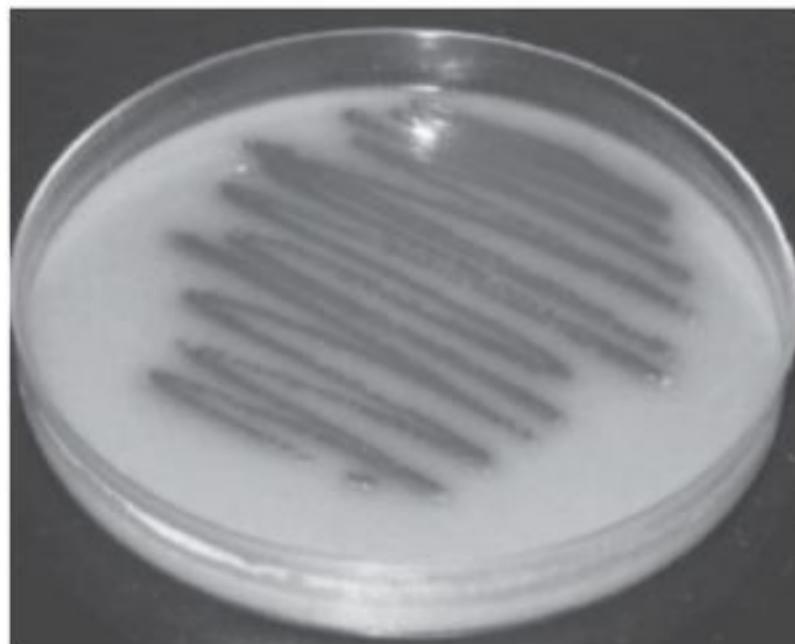


Figura 2 Cultura de *Cryptococcus* sp. em ágar níger. Fonte: Lugarine (2007). (Veja a imagem colorida no miniatlas ao final do livro.)

Nas formas pulmonares progressiva e disseminada, inclusive a meningoencefalítica, o antifúngico de escolha é a anfotericina B associada a 5-fluorocitosina, com opção também de associação com o fluconazol ou o itraconazol.

CANDIDÍASE

Considerações gerais

A candidíase ou candidose é a mais frequente micose oportunista. Seu agente etiológico, a *Candida* sp., é uma levedura capaz de provocar qualquer tipo de doença: superficial, cutânea, subcutânea ou sistêmica. As condições gerais do hospedeiro são importantes nas patologias provocadas por esta levedura. Qualquer órgão ou sistema pode ser atingido, tendo como fator predisponente o equilíbrio entre o parasito e o hospedeiro.

É uma doença de difícil diagnóstico dada sua ampla variação na apresentação clínica e a grande variedade de espécies potencialmente patogênicas. Além disso, deve-se considerar também o fato de ser flora saprófita humana. Existem cerca de 80 espécies de *Candida*, entre elas a *Candida albicans*, *C. guilliermondii*, *C. krusei*, *C. parapsilosis*, *C. stellatoidea*, *C. tropicalis*, *C. kefyr*, *C. lusitaniae*, *C. pseudotropicalis*, *C. dubliniensis* e *C. glabrata* já foram isoladas como agentes de doença. A infecção por *C. lusitaniae* é importante pela resistência à anfotericina B. *C. albicans* é encontrada também no solo e na água que contém dejetos humanos e de animais, mas a maioria das infecções são endógenas.

Esse grupo de leveduras tem assumido relevante importância por ser identificado como agente causador de diversas infecções nosocomiais em pacientes imunocomprometidos. Entre os principais agentes das fungemias e candidíases invasivas destacam-se *C. glabrata*, *C. parapsilosis* e *C. krusei*, esta última intrinsecamente resistente ao fluconazol. Pacientes hospitalizados representam um grupo de risco para o desenvolvimento de candidemias, principalmente em virtude do aumento da utilização de cateteres venosos centrais para terapia antimicrobiana ambulatorial e nutrição parenteral.

A candidíase pode manifestar-se nas formas superficial, cutânea, mucosa, cutaneomucosa, subcutânea ou sistêmica. Todas são problemas de saúde pública. Das espécies patogênicas, a *Candida albicans* é a mais frequente. É um habitante normal nas mucosas respiratória, digestiva e genital. É a principal infecção micótica oportunista do homem devida a Aids, estado imunodeprimido, pós-operatório, uso de antimicrobianos, recém-nascido de baixo peso e outros.

A doença se manifesta em situações de alteração no estado geral do indivíduo, como diabetes, neoplasia, uso de antibióticos, corticosteroides e imunossupressores, ou imunodeficiência. Em indivíduos que permanecem com as mãos em contato permanente com água pode provocar as onicomicoses com paroníquias. Em obesos, a micose pode manifestar-se em locais com frequente umidade, como nas dobras mamárias e abdominais. Em recém-nascidos, a candidíase ocorre na mucosa oral, o “sapinho”. Na mucosa vaginal, quando passa de saprófita para infecciosa, provoca secreção branco-leitosa, com odor desagradável e prurido vulvar.

A lesão apresenta forma eritematosa, inflamatória e pouco descamativa. Às vezes aparecem vesículas ou pústulas, recobertas com induto esbranquiçado.

Na unha, parece ser uma dermatofitose, mas tem início na matriz da unha e avança na direção do bordo livre, ao contrário das dermatofitoses que iniciam pelos bordos livres.

A candidíase disseminada é uma infecção relativamente comum nos pacientes neutropênicos, transplantados, neonatos, com cateter intravenoso e Aids. Tem causas importantes de morbimortalidade nosocomial, sendo a *Candida albicans* a mais frequentemente encontrada.

Nos tecidos, a *Candida* sp. apresenta três formas morfológicas: célula leveduriforme, pseudo-hifa e hifa.

Qualquer *Candida* sp. produz brotamento, como célula de levedura, os blastosporos ou blastoconídios e as formas filamentosas, a pseudo-hifa ou pseudomicélio, exceção à *Candida glabrata*, que produz somente brotamento em célula de levedura.

O gênero *Candida* produz diversos fatores de virulência, entre eles proteinases e lipases que contribuem para a invasão do hospedeiro. Outros fatores que também predisõem o aparecimento da doença:

- Locais: obesidade, umidade constante e traumatismo.
- Gerais: diabetes, imunodeficiência, medicação imunossupressora, corticosteroides e antibióticos.

Portanto, sempre que houver candidíase de repetição, o clínico ou o especialista deve procurar uma causa básica no indivíduo.

Manifestações clínicas

As manifestações clínicas da candidíase apresentam grande variedade de formas, divididas em três grandes grupos: candidíase cutaneomucosa, sistêmica ou visceral e alérgica.

A candidíase cutaneomucosa inclui as manifestações clínicas de candidíase intertriginosa, onicomicose, candidíase oral, vulvovaginite, balanopostite e candidíase cutaneomucosa crônica.

A candidíase intertriginosa resulta da extensão da vulvovaginite ou da balanopostite, quando localizadas nas regiões interglúteas e genitocrurais. Outras dobras, como axilas, regiões inframamárias ou crianças com fraldas, são fatores desencadeantes para este quadro de candidíase.

A onicomicose apresenta duas formas clínicas: infecção do tipo *onyxis*, que ocorre na lâmina ungueal e do tipo *perionyxis* que se manifesta de forma inflamatória na região da pele que circunda a unha. Portanto, ocorre o comprometimento ungueal e periungueal observado em pessoas com atividades predominantemente em umidade ou que já tenham manifestações clínicas de candidíase oral ou genital.

Na candidíase oral, também chamada estomatite cremosa ou sapinho, apresenta placas brancas, aspecto cremoso, facilmente destacáveis. Uma forma pseudomembranosa pode cobrir a língua, o palato e a mucosa bucal. É frequente entre recém-nascidos, diabéticos e debilitados. Pode propagar-se para faringe, laringe, esôfago e disseminar-se via hematogênica.

Na forma vulvovaginite, muito comum em mulheres grávidas, diabéticos ou em uso de antibióticos, as lesões são semelhantes às da boca, provocando secreção vaginal e prurido.

A forma cutaneomucosa crônica, comum em imunodeprimidos ou com deficiências nutricionais, normalmente é generalizada.

A candidíase sistêmica é grave, de difícil diagnóstico, com sintomas inespecíficos. Atinge um órgão ou se dissemina para vários outros.

A candidíase alérgica pode manifestar-se quando ocorre o contato humano com a levedura, na forma de lesões cutâneas vesiculosas e distantes do foco primário. Apresenta-se como uma lesão estéril, principalmente nos espaços interdigitais das mãos ou outras partes do corpo. Com o tratamento as lesões desaparecem sendo, portanto, denominadas candidites, por serem semelhantes às dermatofitides, lesões de pele provocadas por antígenos de dermatófitos. Uretrite, gastrite, balanite, rinossinusite, cefaleia podem ser resultantes das manifestações alérgicas.

Diagnóstico laboratorial

Exame direto

As lesões aparecem na forma eritematosa, com induto esbranquiçado que as recobre. O exame direto é realizado do material coletado diretamente das lesões com

alça de platina, raspados ou de outros materiais clínicos. O espécime é colocado sobre uma lâmina, com uma gota de KOH 10-40%, e é sobreposta uma lamínula ou feita coloração de gram. Ao microscópio óptico podem ser observadas células leveduriformes em brotamento, os blastoconídios ou blastosporos, pseudo-hifa com pontos regulares comprimidos lembrando “salsichas” ou hifas verdadeiras septadas (Figura 3). Os blastoconídios e as pseudo-hifas são gram-positivos. A presença de grande quantidade de tais elementos em material clínico pode significar o diagnóstico.

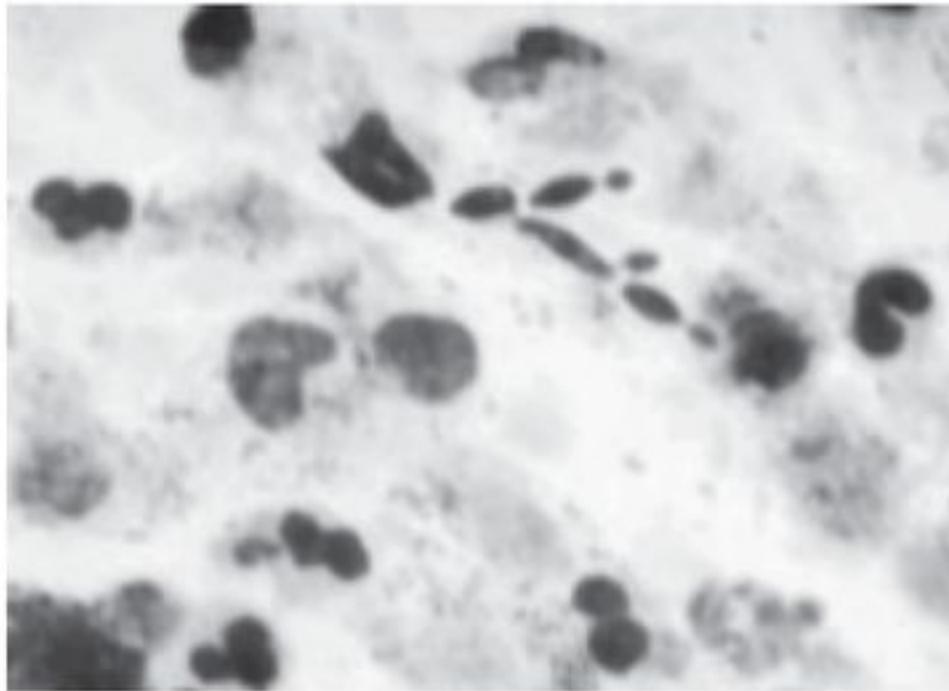


Figura 3 Célula leveduriforme em brotamento e pseudo-hifa. (Veja a imagem colorida no miniatlas ao final do livro.)

Cultura

A cultura é feita em ágar Sabouraud dextrose com ou sem suplemento de cicloheximida ou em meios diferenciais, como CHROMágar Candida®, que possibilita detectar infecções mistas por leveduras, temperatura entre 25 e 37°C. A colônia cresce em três a cinco dias com aspecto cremoso, branco, opaco, às vezes emitindo filamentos no meio de cultura. No exame microscópico, observam-se blastoconídios e eventualmente pseudo-hifas.

As espécies de *Candida* sp. (Figura 4) crescem bem em ágar sangue 5% ou em meios para fungos, como o ágar Sabouraud dextrose. A identificação das espécies é feita por testes metabólicos de fermentação de açúcares e determinados em 48 horas.

Para identificação das espécies, existem provas bioquímicas, como fermentação dos açúcares (zimograma) ou assimilação de carbono e nitrogênio (auxonograma).

Para o diagnóstico da *C. albicans* pode ser utilizada a prova de formação do tubo germinativo (efeito Reynolds-Brandt). Consiste em preparar uma suspensão da colô-

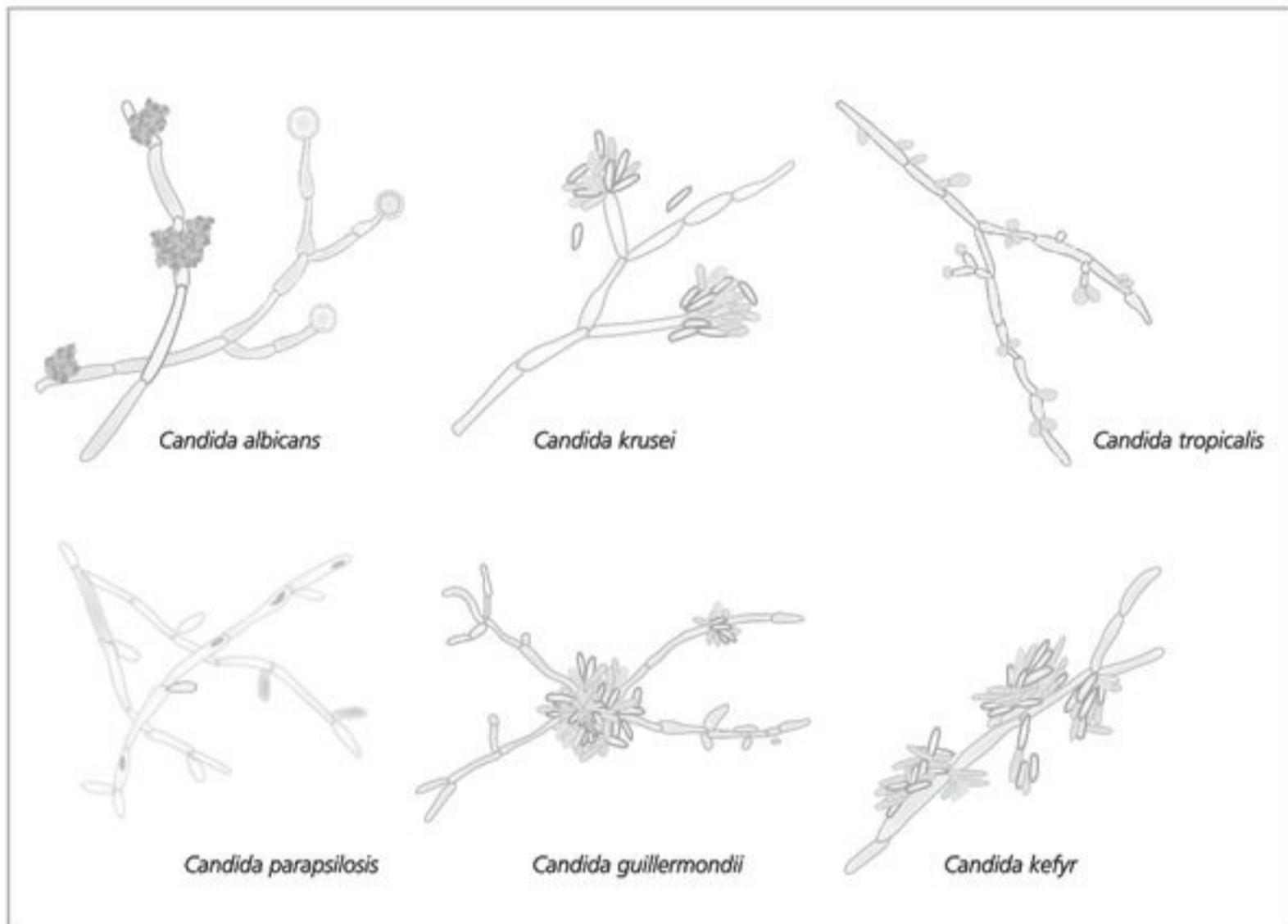


Figura 4 Micromorfologia colonial das espécies de *Candida* de interesse clínico.

nia em 0,5 a 1 mL de soro sanguíneo, incubando entre 35 e 37°C, durante 2 a 4 horas. Examinar ao microscópio uma gota da suspensão, para observar os tubos germinais formados. Essa prova também é positiva para *C. stellatoidea* e *C. dubliniensis*.

Outra prova para diagnóstico de *C. albicans* é a formação de clamidoconídios arredondados, parede dupla, isolados ou agrupados na extremidade da pseudo-hifa. São formados em meios de cultura ricos em amido, como o ágar fubá, acrescido de Tween 80 ou o meio de cultura *corn meal*.

Podem ser utilizados também sistemas automatizados ou semiautomatizados para o diagnóstico final e definitivo do gênero e espécies de *Candida*.

Imunologia

O uso de imunoblot para análise e identificação dos anticorpos ou antígenos pode ser útil no sorodiagnóstico de candidíase sistêmica. A alta sensibilidade e a resolução dessa técnica permitem a separação e a identificação de pequenas quantidades de anticorpos ou antígenos proteicos circulantes de *Candida* sp. em uma pequena amostra de soro do paciente.

Tratamento

Existe considerável interesse na profilaxia antifúngica em pacientes neutropênicos. Para prevenir supercrescimento, que resulta em candidemia, usam-se nistatina, anfotericina B, cetoconazol, fluconazol, itraconazol e outros.

A *Candida albicans* e suas outras espécies têm sido grande causa de morbimortalidade nosocomial em pacientes imunocomprometidos ou em outras patologias graves. O diagnóstico das formas graves da doença é difícil e depende de um conjunto de achados clínicos, sendo o tratamento nessas doenças a anfotericina B, apesar da toxicidade.

No tratamento da candidíase, deve haver preocupação maior com a causa e não apenas com a levedura.

ZIGOMICOSE

É uma micose ocasional causada por diferentes espécies de fungos com manifestações clínicas cutâneas, subcutâneas e sistêmicas. São fungos saprófitas ubíquos do ambiente, como solo, insetos, répteis e anfíbios e que se tornam patogênicos dependendo do grau de resistência do hospedeiro, da quantidade de inóculo e dos fatores de virulência do fungo.

A zigomicose é causada por fungos da classe Zygomycetes, que são formados por hifas hialinas, espessas e cenocíticas em ângulo de 90° (Figura 5). A reprodução assexuada ocorre pela formação de esporangiosporos contidos em estruturas protetoras,

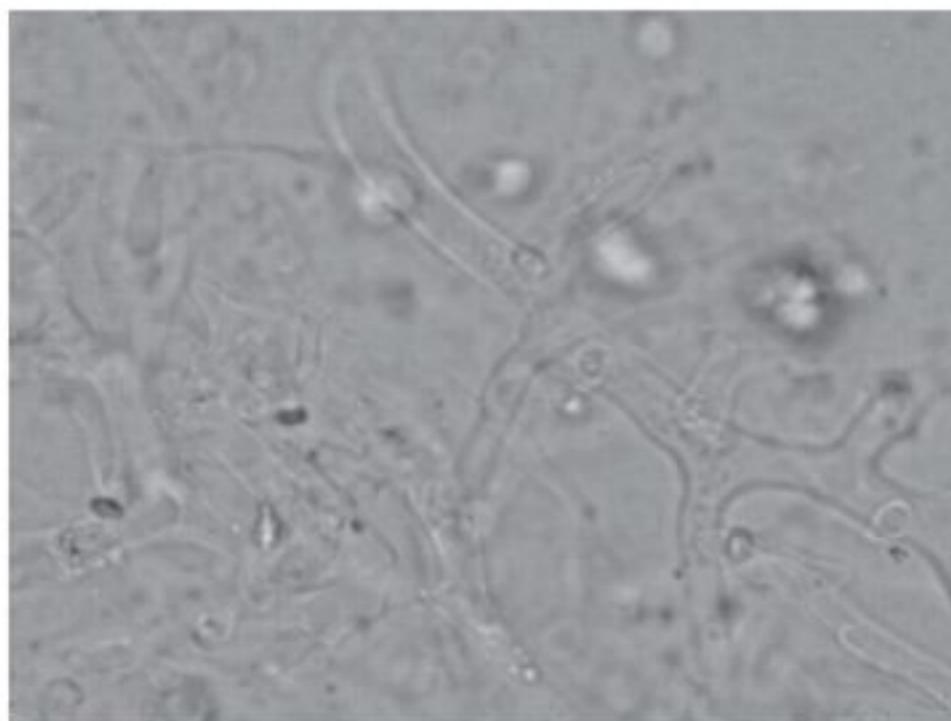


Figura 5 Exame direto dos fungos da classe Zygomycetes. Fonte: Malhotra et al. (2009). (Veja a imagem colorida no miniatlas ao final do livro.)

os esporângios. A reprodução sexuada ocorre quando são formados os zigósporos após a atração de hifas sexuais específicas, os zigóforos.

A classe dos Zygomycetes divide-se em duas ordens, Mucorales e Entomophthorales, originando mucormicose e entomofotoromicose.

MUCORMICOSE

Considerações gerais

É uma doença de progressão rápida, mais frequente em pacientes imunocomprometidos. É cosmopolita, de distribuição universal em climas quente e úmido. Os fungos agentes da mucormicose são encontrados no solo e em matéria orgânica em decomposição.

A ordem Mucorales inclui os fungos dos gêneros *Rhizopus*, *Mucor*, *Rhizomucor*, *Absidia*, *Mortierella*, *Saksenaea*, *Syncephalastrum*, *Cunninghamella* e outros. O *Mucor* sp. e o *Rhizopus* sp. têm sido encontrados entre os principais fungos contaminantes do ambiente.

Os agentes da mucormicose apresentam fatores de virulência intrínsecos, apesar de serem considerados saprófitas e não patogênicos. Os agentes patogênicos em sua maioria são termotolerantes, crescendo em temperaturas entre 36 e 43°C. O *Rhizopus* sp. consegue sobreviver até 72 horas em temperatura de até 82°C e outras espécies também suportam extremos de temperatura. As espécies não termotolerantes são mais frequentemente encontradas causando infecções cutâneas.

A mucormicose humana inicia pela inalação de esporos, via respiratória, que podem permanecer nos seios da face ou nos alvéolos resultando manifestações clínicas cerebrais e pulmonares. Quando ingeridos com alimentos provocam distúrbios gastrointestinais. Em casos de inoculação direta por traumatismo ou materiais contaminados, surgem lesões cutâneas ou subcutâneas. Atinge qualquer idade e ambos os sexos.

As manifestações clínicas na mucormicose têm apresentação cutânea e subcutânea, pulmonar, rinocerebral e gastrointestinal. A forma rinocerebral é a mais comum em aproximadamente 50% dos casos, alta taxa de mortalidade em torno de 70% e está associada à cetoacidose diabética. Após a inalação dos esporos fúngicos com posterior colonização dos seios nasais, inicia-se um quadro clínico que pode ser sugestivo de sinusite, porém evolui rapidamente. Surge comprometimento dos tecidos afetados com necrose e produção de secreção seropurulenta e serossanguinolenta de cor escura. Ao atingir o nervo óptico, atinge também o SNC.

A forma pulmonar é decorrente da inalação dos esporos e posteriormente ocorre disseminação via hematogênica. Na mucormicose gastrointestinal, o fungo é con-

duzido via oral por meio de alimentos contaminados, como frutas e pão, podendo posteriormente se disseminar pelos vasos sanguíneos. Nas formas não invasivas o prognóstico é favorável, caracterizando-se apenas pela colonização do fungo na região gástrica. Porém, pode ocorrer invasão de vasos e necrose tecidual e, como consequência, surge a mucormicose gástrica invasiva. Essa é a forma mais comum da doença, caracterizada pela presença de úlceras necróticas gástricas ou intestinais, podendo evoluir para peritonite com índices de mortalidade de até 98%.

As mucormicoses cutânea e subcutânea são raras e ocorrem por continuidade em lesão preexistente ou inoculação direta por traumatismo ou transmissão iatrogênica, por material contaminado, como gazes, esparadrapos, unguentos contaminados, injeções e cateteres.

A manifestação clínica da mucormicose invasiva se caracteriza pela invasão do fungo em vasos, provocando trombose, invasão vascular, infartos nos diferentes órgãos e necrose tecidual. Quando a doença invade estruturas como crânio, pulmão ou outros órgãos internos geralmente é fatal, sendo a mortalidade entre 80 a 95%, mesmo com terapia específica. Ela ocorre principalmente em pacientes com doenças crônicas, como diabéticos e imunodeprimidos.

Diagnóstico laboratorial

Como a mucormicose comumente é uma doença grave, o diagnóstico rápido é muito importante. O diagnóstico é realizado por exames micológico, histopatológico e da clínica do paciente.

Exame direto

Em esfregaço do material de raspado das lesões, aspirados, escarro, lavado brônquico e outros com KOH 10-40% observam-se hifas hialinas, largas, pleomórficas, pouco ou não septadas, cenocíticas e com ramificações dispostas em ângulos de 45° a 90°. O *calcofluor white* apresenta os elementos fúngicos em verde-amarelo brilhante. Outras colorações como PAS, giemsa e Wright também são indicadas para confirmar a presença do fungo nos tecidos.

Cultura

Semeia-se em ágar Sabouraud dextrose ou outros meios, à temperatura entre 25 e 30°C ou a 37°C. Os mucorales têm crescimento rápido de até quatro dias. Os zigomycetes são sensíveis à ciclo-heximida.

A identificação pode ser feita pela observação macro e microscópica dos aspectos morfológicos ou também cultivo em lâmina (Figura 6).

Tratamento

A excerese cirúrgica é recomendada quando se observam lesões e o acesso é possível. A anfotericina B é o antifúngico de escolha para a maioria dos casos. Os mucorales são resistentes a vários antifúngicos, como nistatina, naftidina e derivados azólicos, fluconazol, cetoconazol e itraconazol.

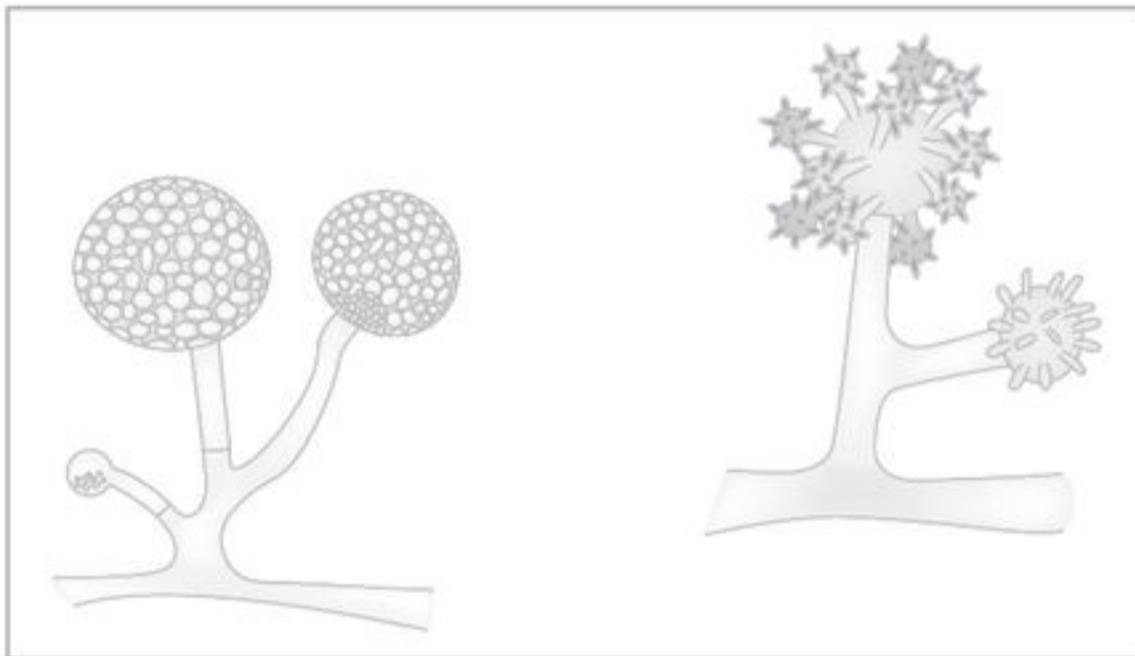


Figura 6 Micromorfologia colonial dos mucorales.

ENTOMOPHTHROMICOSE

Considerações gerais

Fungos da ordem Entomophthorales, os gêneros *Conidiobolus* sp. e *Basidiobolus* sp., são os agentes da doença denominada conidiobolomicose e basidiobolomicose, respectivamente. É uma micose subcutânea e cutaneomucosa, crônica, atinge principalmente indivíduos imunocompetentes, tendo bom prognóstico.

A via de inoculação pode ser traumática por picada de insetos, contato com solo e vegetais ou por inalação dos esporos. A basidiobolomicose acomete mais crianças menores de 10 anos do sexo masculino e a conidiobolomicose tem o paciente adulto como o mais atingido e raramente crianças ou adolescentes.

A entomofthoromicose se manifesta nas formas subcutânea crônica, centrofacial e visceral.

Conidiobolomicose

Na conidiobolomicose o agente mais frequente é o *C. coronatus*, com baixo poder de virulência, e o menos frequente é o *C. incongruus*. O *C. coronatus* é encontrado mais frequentemente causando a zigomicose centrofacial. Apresenta termotolerância a 37°C, demonstrando ser bem adaptado à temperatura humana. A invasão se inicia no tecido subcutâneo e por infiltração para os seios paranasais, resultando aumento do tecido subcutâneo do nariz, lábios, tecido perinasal e olhos. Aparecem nódulos ou tumorações subcutâneas, duro à palpação, em geral assintomáticos pela invasão do tecido subcutâneo e muscular. A disseminação é rara.

O *C. incongruus* tem sido relatado como o responsável por casos de infecções invasivas e graves, em imunocompetentes ou em imunodeprimidos.

Ocorre em climas quentes e úmidos. No Brasil, o maior número de casos ocorre no Nordeste e no Norte, sobretudo nos estados da Bahia, Maranhão, Piauí e Pará.

Basidiobolomicose

O agente da basidiobolomicose, o *B. ranarum*, é um fungo com poucos fatores de virulência conhecidos. Apresenta relativa termotolerância, crescendo em até 37°C.

Infecção que atinge os tecidos subcutâneos e periféricos, geralmente nos membros inferiores. A manifestação clínica ocorre na forma de nódulos pouco dolorosos que progridem de forma lenta, sendo fortemente aderidos a planos profundos. As lesões eventualmente ulceram e a área atingida se apresenta inflamada, eritematosa e quente. Excepcionalmente pode disseminar-se.

Ocorre em clima quente. No Brasil, o maior número de casos ocorre no nordeste.

Diagnóstico laboratorial

O diagnóstico é realizado por meio de exames micológico, histopatológico e da clínica do paciente.

O diagnóstico laboratorial é importante para o diagnóstico diferencial entre doenças como a esporotricose, elefantíase, tuberculose ou linfoma.

Exame direto

O exame direto é realizado com o material coletado e processado com KOH 10-40%, em esfregaços ou cortes histológicos corados com PAS ou GMS em que observam-se hifas largas, ramificadas, paredes finas e raras septações.

Cultura

Cresce em ágar Sabouraud dextrose ou outros, incubado a 30°C ou a 37°C. Apresenta crescimento rápido, colônia branca ou bege e aspecto membranoso.

O cultivo em lâmina facilita a visualização dos conídios de reprodução sexuada e assexuada de ambos *Conidiobolus* sp. e *Basidiobolus* sp. (Figura 7).

Tratamento

O tratamento da entomophthoromicose ainda é empírico. A remoção dos nódulos e a utilização de medicamentos têm sido usadas. No entanto, não existe a droga de eleição dos agentes da entomofthoromicose. Algumas drogas têm sido usadas com sucesso, como a solução saturada de iodeto de potássio, sulfametoxazol-trimetoprim, anfotericina B e derivados azólicos combinados com o iodeto de potássio, entre eles o cetoconazol.

HIALO-HIFOMICOSE

São micoses provocadas por fungos filamentosos de paredes hialinas e septadas. São saprófitas na natureza, mas podem provocar doença no homem sempre que houver desequilíbrio entre hospedeiro e parasita. Pertencem a este grupo os gêneros *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp., *Fusarium* sp., *Acremonium* sp. e outros.

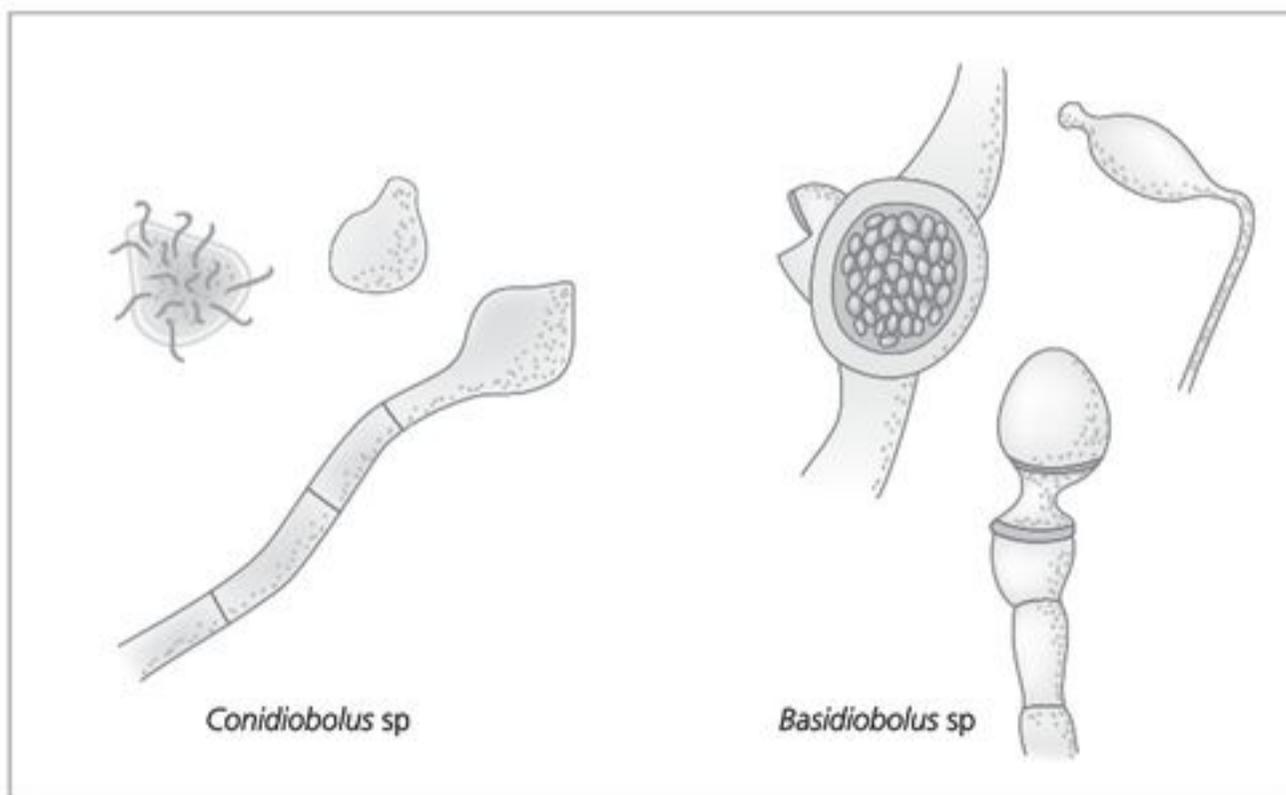


Figura 7 Micromorfologia colonial.

Na natureza, existem grupos de fungos, hialinos e demáceos que geralmente não são patogênicos, mas ocasionalmente podem causar hialo-hifomicose ou feo-hifomicose. A denominação se baseia na presença de elementos fúngicos com ou sem pigmento marrom-claro a preto ou hialino na parede celular do fungo. Esses fungos, quando presentes em tecidos ou líquidos orgânicos, devem ser avaliados quanto à patogenicidade. Entre as hialo-hifomicoses já descritas, alguns fungos adquiriram denominação própria da doença, sendo eles já deslocados deste grupo. A aspergilose é a mais frequente, seguida pela fusariose. Os demais fungos hialinos permanecem como causadores de hialo-hifomicose.

A hialo-hifomicose invade os tecidos de indivíduos imunocomprometidos, podendo também atingir os imunocompetentes. As manifestações clínicas podem ocorrer na forma superficial, subcutânea ou sistêmica.

ASPERGILOSE

Considerações gerais

As aspergiloses são micoses produzidas por fungos oportunistas do gênero *Aspergillus*, com cerca de 300 espécies já descritas. São encontrados em abundância na natureza, como em restos orgânicos, solo, vestimentas, residências, ar-condicionado e até em antissépticos. São veiculados por correntes de ar, sendo a principal via de acesso ao homem a respiratória. Entre os mais frequentes agentes de infecções no homem estão *A. fumigatus*, *A. niger*, *A. flavus*, *A. nidulans* e *A. terreus*. O *A. fumigatus* é o mais prevalente e isto se explica por sua maior abundância no ambiente e também por ser um fungo termófilo, cresce bem à temperatura entre 37 e 40°C.

O *Aspergillus* sp., por ser muito comum na natureza, está presente no ar inclusive hospitalar, sendo frequentemente isolado no homem. Assim, em condições fisiológicas normais os mecanismos de defesa em nível broncopulmonar, preferentemente os macrófagos alveolares, constituem uma barreira eficaz frente ao fungo. A ausência ou a deficiência desses fatores de defesa facilitam a invasão e a multiplicação do *Aspergillus* sp. no organismo humano.

O processo se inicia habitualmente no pulmão e o quadro clínico vai depender da interação hospedeiro-parasita, devendo-se levar em conta o caráter saprofítico e ubiquitário do fungo, o estado imunológico do hospedeiro e o estado broncopulmonar do paciente.

A aspergilose é a principal causa de mortalidade por pneumonia em pacientes transplantados de medula óssea e órgãos sólidos, principalmente nos casos de transplante de pulmão e coração. O *A. fumigatus* é hoje a mais comum espécie do gênero

isolada em pacientes com aspergilose, e o *A. flavus*, a segunda mais comum espécie isolada, entretanto mais associada à aspergilose dos seios paranasais, e não com a bola fúngica.

O *A. terreus*, por sua vez, é hoje considerado o principal patógeno emergente do gênero, expressando na maioria das vezes resistência à anfotericina B. Outras espécies do gênero também já foram relacionadas como patógenos emergentes, como *A. ustus*, no entanto, o número de casos ainda é muito restrito. Em contrapartida, é importante salientar que este gênero é no Brasil o principal representante dos fungos anemófilos, o que aumenta o alerta da disseminação aérea deste patógeno em ambientes que necessitem rígido controle de antígenos aéreos.

Manifestações clínicas

A aspergilose cutânea pode ocorrer por inoculação traumática ou por disseminação hematogênica a partir de um foco primário, geralmente pulmonar. As formas clínicas observadas são pápulas, pústulas, nódulos, abscessos e outras. As manifestações clínicas podem ser primária, como nas onicomicoses, ou secundária, em pacientes que fizeram uso local de terapia antimicrobiana e corticoides nas otomicoses.

O aspergiloma ou bola fúngica ocorre quando o indivíduo inala os conídios do fungo e estes se instalam em uma cavidade pulmonar preexistente, deixada por doenças prévias, entre elas a mais frequente é a tuberculose. Em condições adequadas de nutrição e aeração, o fungo se desenvolve na cavidade formando uma massa miceliária compacta, denominada bola fúngica ou aspergiloma. Em casos semelhantes, cujo fungo não seja o *Aspergillus* sp., a bola será denominada fungoma. As espécies mais frequentes são *A. fumigatus*, *A. flavus* e *A. niger*.

A aspergilose pulmonar é uma das mais comuns entre as aspergiloses. O processo ocorre pela inalação dos conídios e como consequência o pulmão será o foco. Além do pulmão, os seios da face também podem ser atingidos resultando sinusite aspergilar. Por disseminação hematogênica podem atingir também outros órgãos.

Na aspergilose imunoalérgica, ao serem inalados, os conídios fúngicos podem desenvolver reações alérgicas que se manifestam na forma de aspergilose broncopulmonar alérgica em indivíduos atópicos e na forma de alveolite alérgica em indivíduos não atópicos. Os processos alérgicos ocorrem em indivíduos que inalam os elementos fúngicos de forma contínua ou não.

Outro processo também relevante do *Aspergillus* sp. são os quadros de intoxicação por produtos metabólicos do fungo, denominados micotoxinas. Os fungos do gênero *Aspergillus* produzem micotoxinas conhecidas como aflatoxinas, as quais têm sido associadas a quadros de sintomatologia hepática, como a hepatite e o hepatoma.

Diagnóstico clínico

O diagnóstico das diversas formas clínicas produzidas por *Aspergillus* sp. baseia-se na busca do fungo em materiais biológicos, na detecção de anticorpos circulantes ou na resposta precoce ou tardia dos testes cutâneos.

O aspergiloma ou bola fúngica representa a forma mais comum de doença pulmonar relacionada com *Aspergillus* sp.

Na aspergilose broncopulmonar alérgica, vários critérios são avaliados para diagnóstico: asma, eosinofilia no escarro e no sangue, formas fúngicas no escarro, precipitinas no soro, positivo para alérgenos do *Aspergillus* nos testes cutâneos e outros.

A aspergilose invasiva é frequentemente encontrada em hospedeiros cujas defesas estejam alteradas, como em doença crônica, terapia imunossupressora e imunodeficiência.

Diagnóstico laboratorial

O diagnóstico da aspergilose é uma tarefa difícil de ser concluída. Primeiramente, o clínico deve suspeitar pelos sinais e sintomas do paciente. No laboratório, devem ser realizados exames micológico e histopatológico. Se necessário, incluir também provas imunológicas para confirmar os achados.

Exame direto

A fresco com KOH 10-40% ou corado são observadas hifas hialinas regulares, septadas e bifurcadas em ângulo agudo. As cabeças conidiais podem também ser observadas quando há lesões bem aeradas, como queimaduras e otomicose.

Na histopatologia, o material é preparado em lâmina e corado com PAS, HE, GMS e outras para evidenciar a presença de estruturas fúngicas, invadindo o tecido (Figura 8).

Cultura

A cultura e a identificação da espécie são necessárias para confirmar o diagnóstico de aspergilose. O fungo cresce bem em ágar Sabouraud dextrose com cloranfenicol, temperatura entre 25 e 30°C, por dois a quatro dias. A colônia é filamentosa, pulverulenta por causa da cabeça aspergilar, podendo apresentar várias cores, como preta, verde e amarela. Apresenta hifas-hialinas septadas, conidióforo longo com vesícula globosa na extremidade da hifa, coberta por métulas, seguidas de fiálides que dão origem

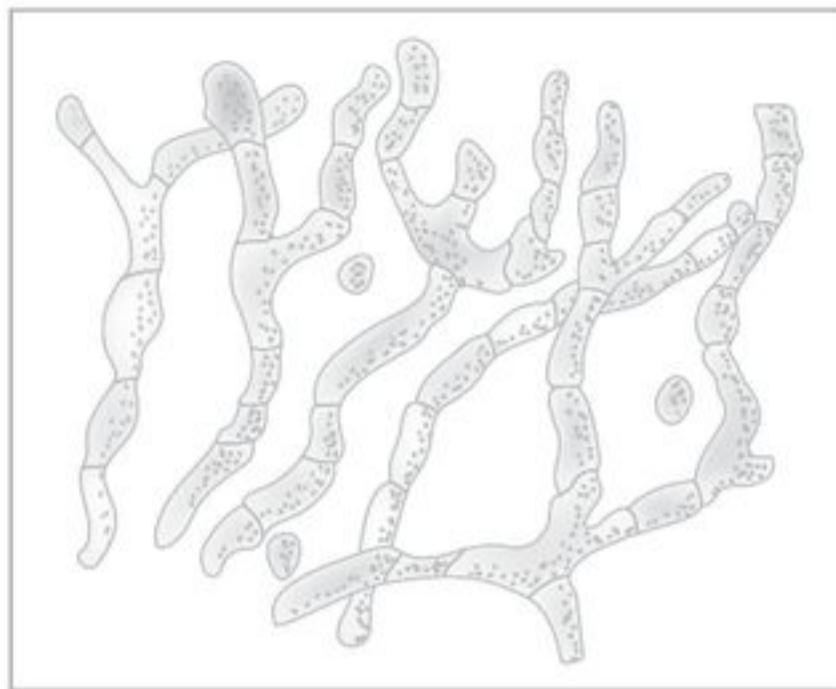


Figura 8 Exame direto do *Aspergillus* sp.

aos conídios. A macromorfologia pela cor da colônia e a micromorfologia colonial pela disposição de suas métulas e fiáldes confirmam a espécie (Figura 9). As espécies agentes mais frequentes de aspergilose humana são *A. niger*, *A. fumigatus* e *A. flavus*.

Imunologia

A imunologia é de fundamental importância para confirmar os casos de aspergiloma e aspergilose imunoalérgicas. Nos outros casos de aspergilose, os resultados

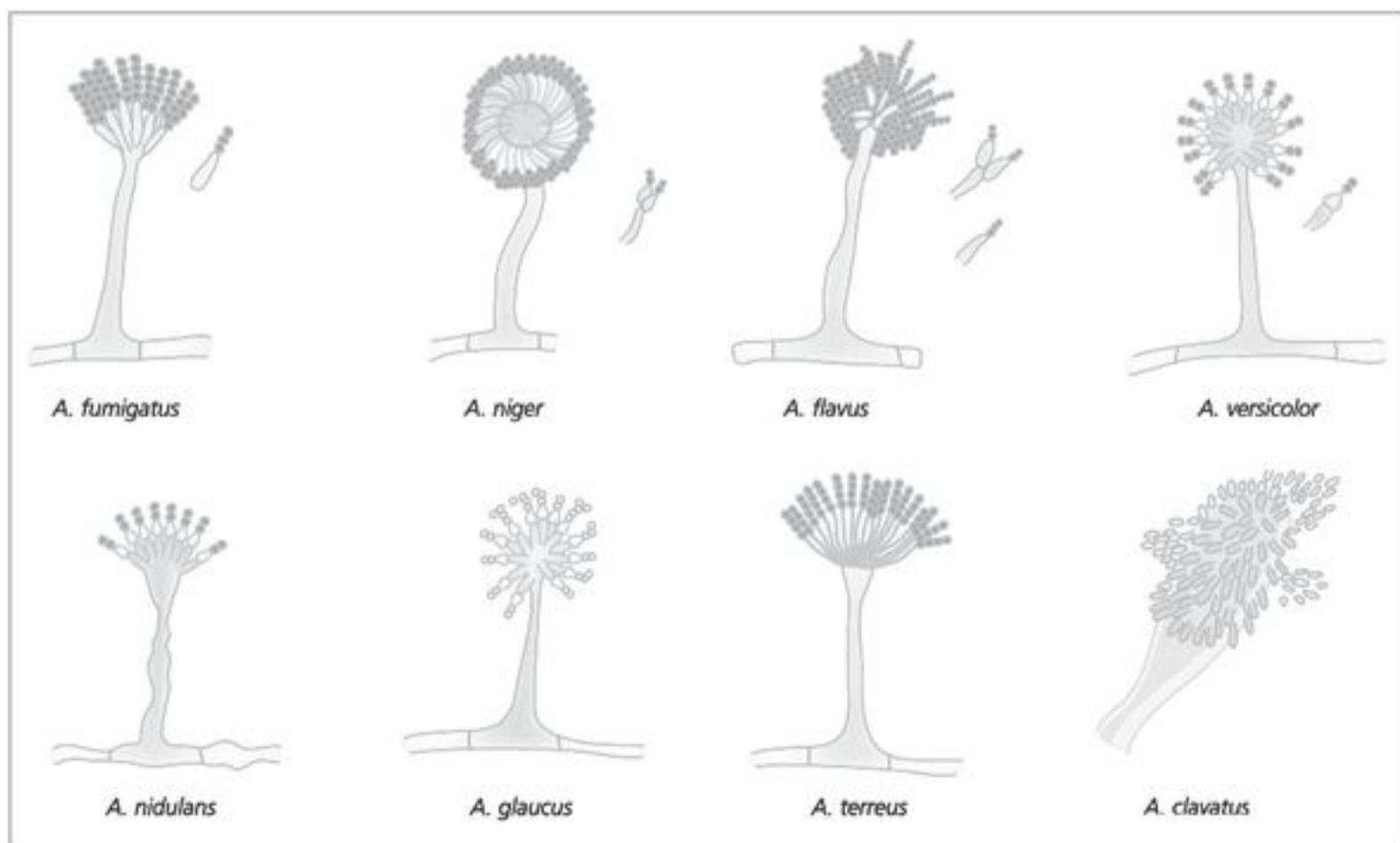


Figura 9 Micromorfologia do *Aspergillus* sp.

geralmente são negativos ou positivam tardiamente. São utilizadas as técnicas de imunodifusão, contraímunoeletroforese, ELISA e outras.

Tratamento

Dependendo da forma clínica, as condutas terapêuticas variam desde tratamentos tópicos, sistêmicos e procedimentos cirúrgicos. Os antifúngicos que têm sido indicados são anfotericina B, 5-fluorocitosina, itraconazol, nistatina, cetoconazol ou outros.

Nas aspergiloses imunoalérgicas e nas micotoxicoses, o tratamento inclui a remoção dos fatores predisponentes e uma terapêutica específica.

PENICILOSE

Considerações gerais

O agente *Penicillium* sp. é encontrado amplamente espalhado na natureza. Existem várias espécies do gênero que podem gerar infecções no homem e em animais, bem como a produção de toxinas gerar micotoxicoses, otites, sinusites, ceratites, infecções urinárias e pulmonares, quadros alérgicos e outros. Atualmente, o *P. marneffe* tem sido o mais patogênico do gênero para homem e animais. Fungo dimórfico, foi isolado primeiramente em 1955 em ratos (*Rhizomys sinensis*) no sul do Vietnã. A partir daí foram isolados casos em indivíduos imunodeprimidos ou não, após retornarem de países do sudeste asiático ou que mantiveram contato acidental com o fungo.

As manifestações clínicas da infecção pelo *P. marneffe* entre ambos HIV-positivo e negativo incluem febre, tosse crônica, infiltrado pulmonar, linfadenopatia generalizada, septicemia, anemia, hepato e esplenomegalias, perda de peso, diarreia e lesões de pele. Nas lesões de pele, podem ser confundidas com outras lesões associadas à tuberculose, molusco contagioso, criptococose e histoplasmose.

No diagnóstico laboratorial deve ser diferenciado do *Histoplasma capsulatum* por serem ambos parasitas intracelulares. O *P. marneffe* se reproduz por brotamento fissão e apresenta um simples septo transversal. A pesquisa de anticorpos fluorescentes específicos ou anticorpo monoclonal para o *P. marneffe* pode ser usada como diagnóstico dos tecidos. A cultura é o diagnóstico definitivo na qual pode ser distinguido de outras espécies de *Penicillium*.

O diagnóstico de doença é confirmado com a presença de células leveduriformes nos cortes de tecido. As culturas devem ser obtidas a partir do fragmento de tecido. No diagnóstico cultural de escarro, lavado brônquico ou secreção é necessária confirmação, pois poderá ser apenas contaminação dos esporos do ar.

Diagnóstico laboratorial

O diagnóstico laboratorial envolve a confirmação das espécies do *Penicillium* sp. e da espécie dimórfica o *P. marneffe*.

Penicillium sp.

Exame direto

O exame direto com KOH 10-40% ou em lâmina corada para o histopatológico apresenta hifas hialinas septadas no material biológico ou nos tecidos.

Cultura

Em ágar Sabouraud dextrose sem ciclo-heximida cresce colônia filamentosa ave-ludada, branca inicialmente, passando a esverdeada.

Na micromorfologia, são observadas hifas septadas com conidióforo perpendicular que se subdividem em ramos seguidos de métulas e fiálides em forma de pincel e formação de conídios (Figura 10).

Penicillium marneffe

Exame direto

Por ser um fungo dimórfico, no exame direto do material biológico ou no histopatológico são observadas células leveduriformes no interior de histiócitos.

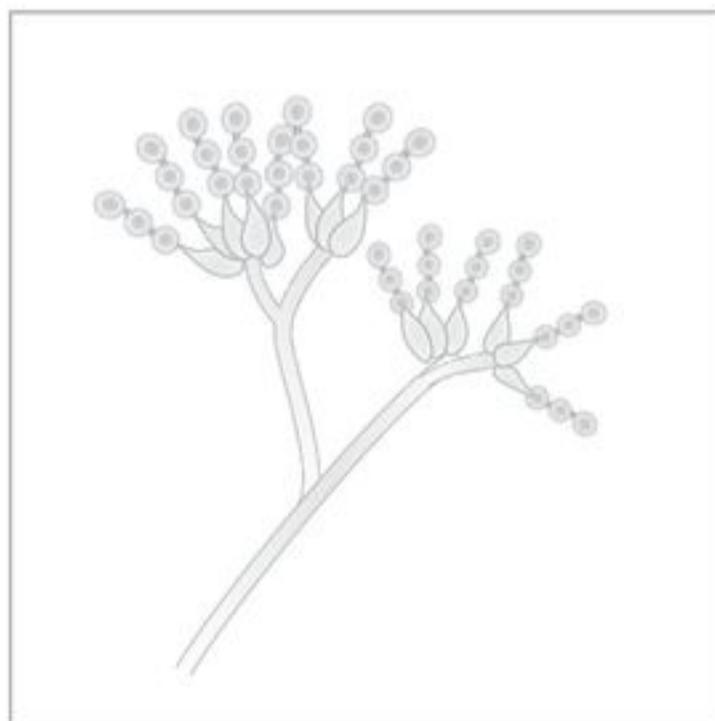


Figura 10 Micromorfologia do *Penicillium* sp.

Cultura

Em ágar Sabouraud dextrose sem ciclo-heximida. Quando incubado à temperatura entre 25 e 30°C, as colônias são filamentosas cinzentas com pigmento avermelhado, tornando-se posteriormente azul-esverdeadas. Na temperatura entre 35 e 37°C, cresce uma colônia leveduriforme de branca a creme (Figura 11).

Na micromorfologia da colônia filamentosa, as estruturas de identificação são do gênero. Na colônia leveduriforme, observam-se células leveduriformes, ovais, que se multiplicam por brotamento fissão.

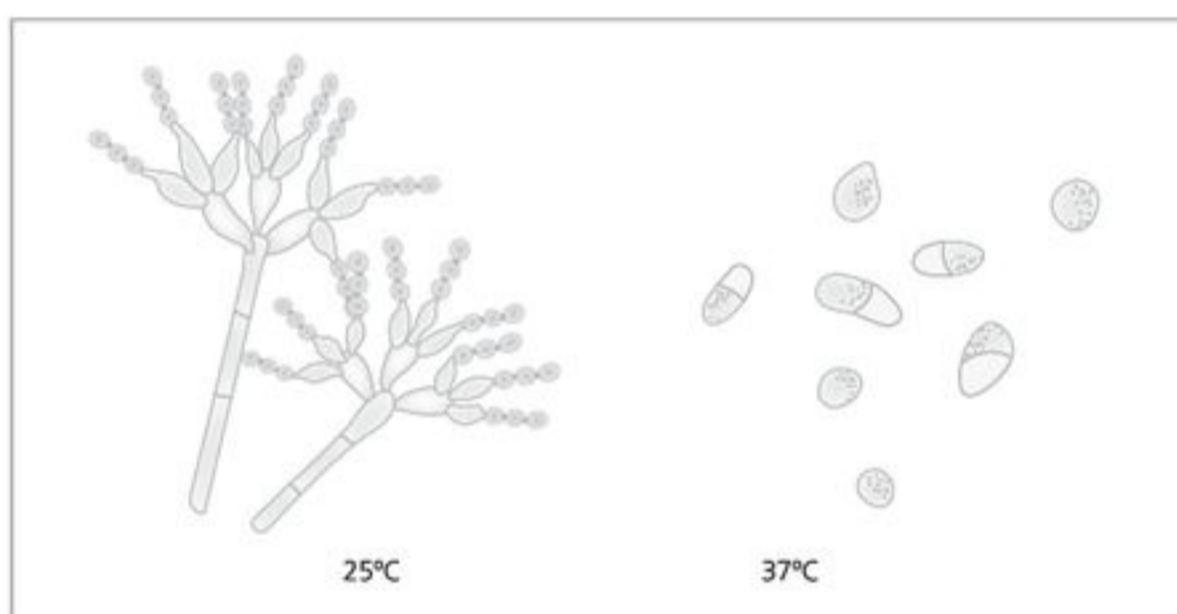


Figura 11 Micromorfologia colonial do *P. marneffeii*.

Tratamento

Dependendo da forma clínica, as condutas terapêuticas variam desde tratamentos tópicos e sistêmicos a procedimentos cirúrgicos. O tratamento com antifúngicos é feito com itraconazol, cetoconazol, 5-fluorocitosina ou outros que sejam sensíveis *in vitro*. O *Penicillium* sp. é moderadamente sensível à anfotericina B e geralmente resistente ao fluconazol.

FUSARIOSE

Considerações gerais

As espécies desse gênero representam um emergente grupo de fungos hialinos que causam graves infecções respiratórias e disseminadas em pacientes imunocomprometidos. *Fusarium* representa hoje nas estatísticas de diversos países o segundo fungo filamentoso patogênico mais comum ao homem, vindo logo após o gênero *Aspergillus*.

Caracterizado por macroconídeos em forma de canoa, *F. solani*, *F. oxysporum* e *F. moniliforme* são as espécies emergentes do gênero, relacionadas antes na literatura apenas como perigosos agentes produtores de micotoxinas. Autores associam a emergência desse gênero com a pressão seletiva dos agrotóxicos antifúngicos usados no controle da contaminação dessas espécies nos diferentes cultivares de *habitat* deste gênero, especialmente pela poderosa ação mutagênica desses agentes tóxicos. É importante salientar que o reino Fungi contempla microrganismos eucarióticos, com longas sequências de genes repetitivos, o que aumenta a probabilidade da mutação e expressão de fatores de virulência.

A integridade da resposta imune inata do indivíduo é fundamental para a defesa natural a esses patógenos. Os macrófagos alveolares, principalmente em locais de alta concentração de poeira e umidade, são fundamentais na proteção da ação colonizadora e reprodutiva dos esporos desse gênero. Nos indivíduos imunocomprometidos, a neutropenia é sempre um fator crítico, principalmente se o paciente estiver sendo submetido à terapia com doses elevadas de corticosteroides. Assim como os patógenos do gênero *Aspergillus*, este organismo é altamente angioinvasivo e conduz rapidamente para quadro de infarto hemorrágico do pulmão.

A porta de entrada do *Fusarium* spp. é o trato respiratório superior, embora haja relatos de casos com infecção por contaminação por biofilme em cateter. Essas portas de entrada podem conduzir à disseminação do fungo, gerando fungemia. O exame clínico, no paciente com suspeita de pneumonia por *Fusarium*, pode encontrar lesões cutâneas em forma de nódulo, como consequência da infecção tecidual disseminada. Biópsia dessas lesões pode revelar extensiva necrose ao redor dos elementos fúngicos com hifas caracteristicamente hialinas e com ramificação em ângulo de 90°. Pesquisando a fisiologia de isolados oriundos dessas lesões, detecta-se forte expressão de fatores de virulência enzimáticos. A cultura do sangue nesse cenário somente é positiva na metade dos casos, o que aumenta a possibilidade de diagnóstico errôneo e fatal nos quadros sistêmicos da doença.

O tratamento das disseminadas fusarioses é ainda desapontador, resultando em alta taxa de morbimortalidade. A fusariose é frequentemente resistente aos antifúngicos disponíveis, com progressão da infecção mesmo durante a terapia empírica com anfotericina B. A recuperação do quadro neutropênico em pacientes imunossuprimidos é essencial para a sobrevivência, no entanto, pode não ser suficiente.

Manifestações clínicas

A ceratite é a forma mais frequente de fusariose e ocorre entre jovens com história de traumatismo accidental da córnea.

Nas micetomas, cerca de 25% são causadas pelas três espécies mais frequentes do *Fusarium* sp.

As onicomicoses por *Fusarium* sp. são raras e se manifestam como pontos brancos e pequenos na superfície da unha, denominada onicomicose superficial branca. O agente mais frequente é o *F. oxysporum*.

Em pele queimada e ulcerada, esse gênero tem sido descrito como o terceiro mais frequente depois da *Candida albicans* e do *Aspergillus* sp.

Nos casos de fusariose disseminada, é um problema grave que na maioria das vezes se torna fatal. As espécies de *Fusarium* apresentam a característica de invadir vasos e provocar trombose e necrose. Durante a disseminação hematogênica vários órgãos são atingidos, como pulmões, rins, olhos, fígado e baço.

Diagnóstico laboratorial

Na fusariose, também devem ser considerados os diagnósticos clínico, micológico e histopatológico.

Exame direto

No exame direto do material biológico com KOH entre 10-40% e em esfregaços ou cortes histológicos corados com PAS, HE, GMS, são observadas hifas hialinas septadas, algumas vezes irregulares e ramificações em ângulo de 45°, o que lembra a estrutura do *Aspergillus* sp.

Cultura

Em ágar Sabouraud dextrose sem ciclo-heximida, são observadas colônias filamentosas brancas e no verso apresentam pigmento róseo, cinza ou violeta.

Na micromorfologia, são observadas fiálides perpendiculares aos filamentos fúngicos e macrofialoconídios septados fusiformes e afilados em forma de meia lua ou canoa. Os microfialoconídios são ovoides ou cilíndricos, sem septos e unicelulares (Figura 12).

Tratamento

As condutas terapêuticas variam desde tratamentos tópicos, sistêmicos e procedimentos cirúrgicos, dependendo da forma clínica. São usados anfotericina B, clotrimazol, fluconazol e outros.

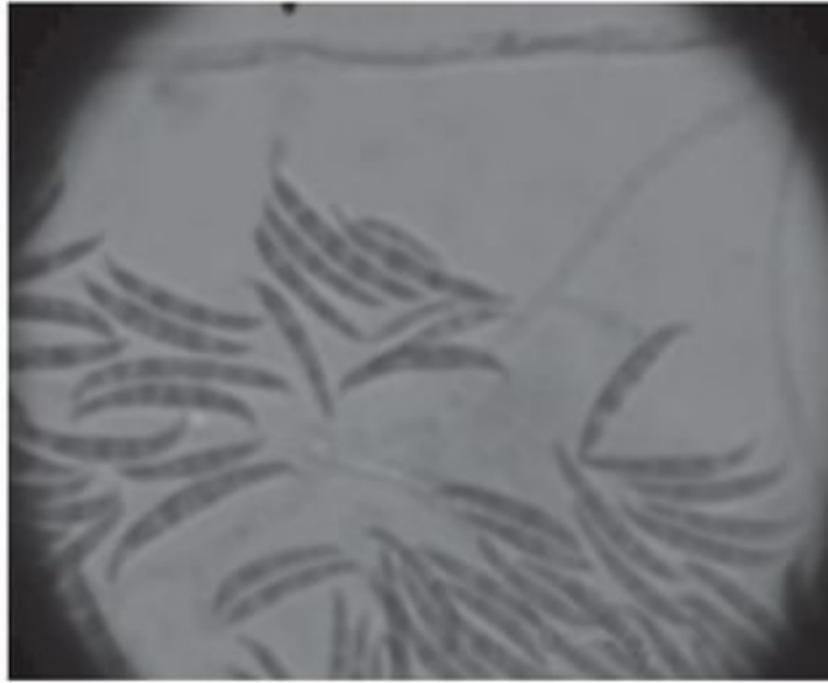


Figura 12 Micromorfologia colonial do *Fusarium* sp. (Veja a imagem colorida no miniatlas ao final do livro.)

ACREMONIOSE

Considerações gerais

Acremonium spp. são fungos hialinos que, quando crescem em cultura, produzem pequenos conídios sobre fiálides delgadas, lembrando o inicial crescimento do *Fusarium* spp. Após a incubação, entretanto, não revelam características macroconidiais observadas em isolados de *Fusarium* spp. O *Acremonium* causa espectro de infecções que vão desde micoses cutâneas até infecção disseminada. O trato respiratório inferior (TRI) e o TGI são as portas de entrada desse patógeno emergente em indivíduos imunocomprometidos. As lesões cutâneas podem desenvolver-se durante quadro de fungemia e de disseminação da doença. A resposta à terapia com anfotericina B é variada, sugerindo resistência adquirida do *Acremonium* a esse fármaco. A alternativa terapêutica nesses casos pode ser os antifúngicos triazólicos.

A espécie mais frequente é o *A. recifei*, encontrado principalmente no solo, nas plantas e nos esgotos. Pode ser agente de micetomas, ceratites, fungemias, onicomicoses e outros casos de hialo-hifomicoses.

As manifestações clínicas incluem granuloma, meningite, endocardite, artrite, lesão subcutânea e infiltrado pulmonar difuso em doença granulomatosa crônica.

Diagnóstico laboratorial

Também devem ser considerados os diagnósticos clínico, micológico e histopatológico.

Exame direto

Sem valor diagnóstico.

Cultura

Em ágar Sabouraud dextrose sem ciclo-heximida, a colônia apresenta-se filamentosa de cor creme, cinza, rósea ou marrom.

Na micromorfologia, as hifas são septadas, hialinas e paredes finas. Surgem fiálides perpendiculares com comprimentos variáveis e base mais larga que o ápice. Sobre as fiálides podem ser observados grupamentos de conídios ovais, mais ou menos alongados em forma de “salsicha”, em grupos pela presença de substância mucoide. Clamidoconídios intercalares e terminais nas hifas podem estar presentes.

Tratamento

Dependendo da forma clínica, as condutas terapêuticas variam desde tratamentos tópicos, sistêmicos e procedimentos cirúrgicos. São usados anfotericina B, cetocozazol, itraconazol e outros com cura na maioria dos casos.

FEO-HIFOMICOSE

Considerações gerais

Termo introduzido por Ajello et al., em 1974, engloba um grupo de fungos da família Dematiaceae denominados demácios, presentes no solo e em vegetais. A denominação feo-hifomicose corresponde a toda infecção fúngica causada por fungos demáceos, com exceção da cromomicose. Os agentes são patógenos em indivíduos sadios e imunocomprometidos. A doença pode ocorrer também em animais. Esses fungos podem causar, além da feo-hifomicoses, também micetomas eumicóticos.

Os fungos dematiáceos septados representam um grupo de fungos patogênicos com pigmentos de melanina dentro da parede celular. Entre os potencialmente patogênicos ao homem destacam-se *Pseudallescheria boydii*, *Scedosporium prolificans* (*Scedosporium inflatum*), *Bipolaris* spp., *Cladophialophora bantiana* (*Cladosporium bantianum*), *Dactylaria gallopava*, *Alternaria* spp. e *Curvularia* spp.

Cada vez mais reconhecido como patógeno, esse grupo de fungos é associado a quadros de pneumonia, sinusites e infecções sistêmicas em pacientes imunocom-

prometidos. Estudos clínicos e experimentais em laboratório demonstram que esses microrganismos possuem crescente predisposição para infecções do SNC.

São caracterizados por conter parede celular com pigmento melânico de cor marrom a amarelo e colônias pretas a marrom. Conforme a localização, manifestam-se clinicamente nas formas superficiais, cutâneas e subcutâneas por implantação traumática ou evoluem para sistêmicas.

São vários os fungos responsáveis pela feo-hifomicose, sendo oportunistas, cosmopolitas e encontrados principalmente na zona rural. Os fungos demáceos mais frequentemente envolvidos em feo-hifomicoses são *Cladosporium bantianum*, *Wangiella dermatitidis*, *Exophiala jeanselmei*, *Phialophora richardsiae*, *Scytalidium lignicola*, *Phoma* sp., *Curvularia geniculata*, *Alternaria* sp., *Bipolaris hawaiiensis*, *Hendersonula toruloidea* e outros.

Outros fungos dematiáceos também merecem ser destacados. *Ramichloridium obovoideum* e *R. mackenziei* possuem esporádicos relatos associados também a sinusites e infecções do SNC, entretanto, em pacientes convalescentes pós-transplantes de órgãos sólidos ou medula. Outro patógeno esporádico, mas também considerado emergente, é a *Wangiella (Exophiala) dermatitidis*, convencionalmente identificada em culturas apenas como um fungo dematiáceo. É um típico fungo filamentoso demáceo que desenvolve hifas nos tecidos infectados, principalmente nas infecções do SNC. É relatada resistência adquirida a diversos agentes antifúngicos.

Manifestações clínicas

A feo-hifomicose se manifesta de forma variável, dependendo do sítio anatômico acometido, a espécie fúngica envolvida e o estado imunológico do indivíduo. A partir desses achados a doença pode se apresentar como uma micose superficial, subcutânea ou sistêmica.

A feo-hifomicose superficial caracteriza-se pelas formas clínicas que envolvem o extrato córneo da pele, pelos e unhas. Clinicamente são semelhantes às dermatofitoses.

A forma subcutânea é a mais comum e caracteriza-se pela evolução crônica, de início por traumatismo, que inocula o fungo demáceo. No local da inoculação, surgem nódulos com secreção serossanguinolenta ou seropurulenta. Os nódulos são de consistência mole, não aderidos à pele, flutuantes e envolvidos por uma cápsula. Esses nódulos podem ulcerar espontaneamente e drenar secreção rica em hifas demáceas.

A feo-hifomicose sistêmica é a forma clínica mais rara, encontrada em pacientes imunocomprometidos, como diabéticos, leucêmicos e outros. A doença se instala a partir da inalação dos elementos fúngicos infectantes e por disseminação hematogê-

nica atinge órgãos, especialmente o cérebro e outros, como coração, intestino, fígado, baço, rins. A forma cerebral geralmente é acometida pelo fungo *Cladosporium batianum* (*Xylohypha batiana*).

Diagnóstico laboratorial

O exame direto, a cultura e o histopatológico são essenciais para o diagnóstico.

Exame direto

Ao exame direto com KOH 10-40% de qualquer material biológico são observadas hifas demáceas com aspecto toruloide.

No exame histopatológico, as colorações mais utilizadas são a HE ou PAS para procurar a pigmentação castanha das hifas. A coloração prata não permite visualização, mascarando, portanto, a presença de fungos demáceos.

Cultura

Cresce bem em ágar Sabouraud dextrose sem ciclo-heximida, entre 25 e 30°C, em período de 5 a 30 dias. O fungo *Xylohypha batiana* suporta bem temperatura de até 42 a 43°C. As macro e micromorfologias coloniais fornecem o diagnóstico.

Tratamento

O tratamento depende da localização da doença e do fungo envolvido. A terapêutica antifúngica varia de uso tópico, oral, intravenoso e outros. Em algumas apresentações clínicas, o tratamento cirúrgico é a opção de escolha. Os antifúngicos mais usados são anfotericina B, 5-fluocitosina, itraconazol e fluconazol.

PNEUMOCISTOSE

Considerações gerais

O agente da pneumocistose, o *Pneumocystis jiroveci*, foi descrito como agente de infecção humana em 1952. Microrganismo extracelular que se desenvolve nos alvéolos pulmonares de animais domésticos e vertebrados selvagens, é o agente causador de pneumonia em prematuros e crianças desnutridas. Tem distribuição universal com facilidade de transmissão e acentuado tropismo pulmonar.

É adquirido no ambiente por inalação, causando pneumocistose pulmonar. Cerca de 75% das crianças saudáveis, nos primeiros anos de vida, apresentam títulos de anticorpos detectáveis para o *P. jiroveci*. A infecção primária é assintomática ou subclínica no indivíduo imunocompetente. Permanece latente em lesões granulomatosas. Na alteração do sistema imunológico, pode manifestar-se como pneumonia ou disseminação. Tem alta frequência em pacientes com Aids. Além da forma pulmonar ou disseminada, o *P. jiroveci* também pode provocar lesões cutâneas, coriorretinites e processos perirretais.

O gênero contém uma espécie com variações genotípicas e fenotípicas na estrutura antigênica, sugerindo a existência de espécies ou cepas diferentes. Acomete, de forma esporádica, indivíduos HIV negativos que apresentem algum tipo de imunodeficiência, como transplante, uso de drogas imunossupressoras ou outros. Casos raros ocorrem em indivíduos imunocompetentes. Em crianças, ocorre em prematuros ou mal nutridos, de forma epidêmica.

Diagnóstico laboratorial

Exame direto

O exame direto é o método de diagnóstico definitivo para o *P. jiroveci*, porque não há possibilidade de cultivo do fungo. São usadas colorações como prata, giemsa, Papanicolaou e outros. O material biológico usado para o diagnóstico pode ser biópsia, escarro, lavado broncoalveolar (LBA), escovados ou outros.

As técnicas de diagnóstico para o *P. jiroveci* ainda apresentam pouca sensibilidade e especificidade. Recentemente, técnicas que utilizam anticorpos monoclonais como a PCR, as que pesquisam ácidos nucleicos e a genotipagem têm sido utilizadas na busca de melhores resultados que as colorações convencionais. Porém, a especificidade diagnóstica ainda necessita de melhoras.

Tratamento

Como o fungo não apresenta ergosterol na membrana celular, o uso de antifúngicos é inadequado. O tratamento de escolha tem sido o sulfametoxazol-trimetoprim, também usado como profilaxia em pacientes que recebem transplantes ou terapia antineoplásica.

Outras drogas são utilizadas como segunda alternativa, a pentamidina ou a dapsona e como terceira escolha a clindamicina e primaquina.

Prognóstico

Nos pacientes não tratados, a mortalidade atinge 100% e em pacientes tratados em torno de 15%.

Para diminuir a incidência de pneumocistose, tem-se usado a quimioprofilaxia para prevenir a doença, isto se deve ao alto índice de mortalidade.

Nos pacientes imunodeprimidos que não apresentam a doença, deve-se evitar o contato com os portadores da micose, pois o fungo já foi detectado no ar exalado por pacientes com pneumocistose.

FUNGOS EMERGENTES

Considerações gerais

Os fungos patogênicos representam hoje uma importante causa de morbimortalidade em pacientes com imunodeficiências primária e adquirida. Vários agentes fúngicos patogênicos estão com os mecanismos de virulência muito bem compreendidos na atualidade, auxiliando no entendimento do desenvolvimento dos processos infecciosos, principalmente os invasivos. *Candida albicans*, por exemplo, é o mais comum agente causal da infecção fúngica nosocomial disseminada; *Aspergillus fumigatus*, por sua vez, o mais comum agente associado à pneumonia fúngica nosocomial; e, por fim, *Cryptococcus neoformans*, hoje o trivial agente causal da meningite em HIV-positivos.

Entretanto, a partir dos anos de 1990 observou-se crescente aumento de casos de micoses por fungos não relacionados como patogênicos, mas somente como saprofíticos. Esses agentes mais comumente representados por leveduras de *Candida* não *albicans* e mais raramente por fungos filamentosos, como *Fusarium* spp., zigomicetos e fungos dermatíceos, são hoje os principais responsáveis pela incerteza no sucesso da terapêutica em infecções fúngicas invasivas ou disseminadas. O padrão futuro de patógenos emergentes ainda é incerto, já que o uso descontrolado de antifúngicos para fins terapêuticos ou como agrotóxicos vem proporcionando seletiva pressão de fungos antes inócuos ao homem.

Rhodotorula sp.

Considerações gerais

Rhodotorula rubra e *R. glutinis* são as espécies mais isoladas em material biológico, como pele, urina, fezes e escarro. *Rhodotorula* sp. é uma levedura presente no solo, na água, no ar, em suco de frutas e outros.

Os imunodeprimidos são os mais atingidos, podendo haver disseminação com manifestações de fungemia, endocardite, meningite e peritonite. O uso de cateter venoso ou outros procedimentos invasivos são fatores de risco para a infecção.

Diagnóstico laboratorial

Exame direto

Ao exame direto do material clínico com tinta da China (nanquim) são observadas células esféricas alongadas, brotamento simples, rodeadas por cápsula que podem ser confundidas com *C. neoformans*.

Cultura

A cultura em ágar Sabouraud dextrose com cloranfenicol e sem ciclo-heximida em 48 a 72 horas, à temperatura entre 32 e 35°C contribui para o diagnóstico. As colônias apresentam cor vermelho-coral e mucoide.

Como teste confirmatório, a assimilação de carboidratos e a redução do nitrato ajudam no diagnóstico definitivo.

Tratamento

O rápido diagnóstico, a retirada do cateter e o uso do 5-fluorocitosina são as alternativas mais eficientes no manejo da infecção por *Rhodotorula* sp.

Trichosporon spp.

O *Trichosporon* spp., fungo patogênico emergente, pode causar infecção sistêmica oportunista fatal em pacientes imunocomprometidos. A mortalidade associada a fungo leveduriforme alcançou quase 80% no fim da década de 1980. Desde então, o prognóstico para a infecção com esse agente oportunista tem melhorado muito, alcançando hoje aproximadamente 80% de sobrevivência, graças aos avanços no conhecimento quanto ao diagnóstico, ao tratamento e à prevenção. As espécies dessa levedura apresentam elevada resistência à anfotericina B, sendo caracterizadas hoje como importante modelo para a compreensão da resistência aos antibióticos poliênicos pelas leveduras.

Trichosporon spp. são caracterizados pela presença de hifas, pseudo-hifas, blastoconídios e artroconídios, bem como são bioquimicamente distintos de outras leveduras conhecidas. Nos últimos anos, após o advento da taxonomia genética sobre os microrganismos, diversas reclassificações ocorreram nesse gênero, sendo atualmente extinta a espécie *T. beigelii*, um importante patógeno superficial no Brasil, que se sub-

dividiu em seis espécies (*T. ovoides*, *T. inkin*, *T. asahii*, *T. asteroides*, *T. cutaneum* e *T. mucoides*). *Trichosporon asahii* com *T. inkin* são as espécies encontradas com mais frequência nas micoses superficiais de pelos, também denominadas *pedra* branca.

Na região asiática, ambas as espécies também têm sido caracterizadas como a causa da hipersensibilidade do tipo verão, raramente diagnosticada no Brasil em virtude da confusão do diagnóstico empírico pelos clínicos. No entanto, apesar deste espectro aparentemente inócuo para doenças em humanos, *Trichosporon* tem como consequência infecções com efeitos devastadores em pacientes neutropênicos e imunocomprometidos.

Tricosporonose disseminada ocorre em pacientes de alto risco, em especial aqueles com neutropenia e ruptura da mucosa, devidas à quimioterapia citotóxica. As usuais portas de entrada são o TGI e os cateteres vasculares; entretanto, aspiração dos blastoconídios pode também ocorrer e conduzir para quadro de broncopneumonia tricosporonótica. A partir dessas portas de entrada, o microrganismo pode disseminar-se amplamente pelo organismo do hospedeiro, resultando em característica infecção sistêmica, incluindo fungemia, falência renal, infiltração pulmonar, lesões cutâneas múltiplas e retinite. Se o paciente encontra-se em avançado quadro de neutropenia, há grande probabilidade de tricosporonose hepática crônica.

Dada a estreita relação taxonômica com *Cryptococcus neoformans* e *C. gattii*, os patógenos do gênero *Trichosporon* expressam aumentadamente um antígeno que reage com a glucuronoxilomanana (GXM) em fungemias, quando em comparação com isolados ambientais. Esse antígeno demonstrou ser também capaz de suprimir a fagocitose, particularmente na população de monócitos, contribuindo para o fenômeno de persistência da fungemia, mesmo após o tratamento com anfotericina B e mesmo que os isolados sejam suscetíveis em testes *in vitro*.

Paecilomyces spp.

Paecilomyces spp. (Figura 13) são também fungos hialinos que podem causar infecções emergentes em pacientes imunocomprometidos. Essas infecções podem manifestar-se como fungemias, micoses subcutâneas e do TRI. As principais portas de entrada no organismo são o próprio trato respiratório superior (TRS) e a pele, por traumatismos, caracterizando uma micose subcutânea oportunista. *P. lilacinus* é o principal representante emergente do gênero.

É importante salientar que nos quadros de suspeita de fungemia, durante o isolamento desse gênero, bem como de *Fusarium* spp. e *Acremonium* spp., deve ser descartada a hipótese de contaminação da amostra pelo ambiente, por causa da alta concentração de esporos aéreos desses típicos representantes dos fungos anemófilos.

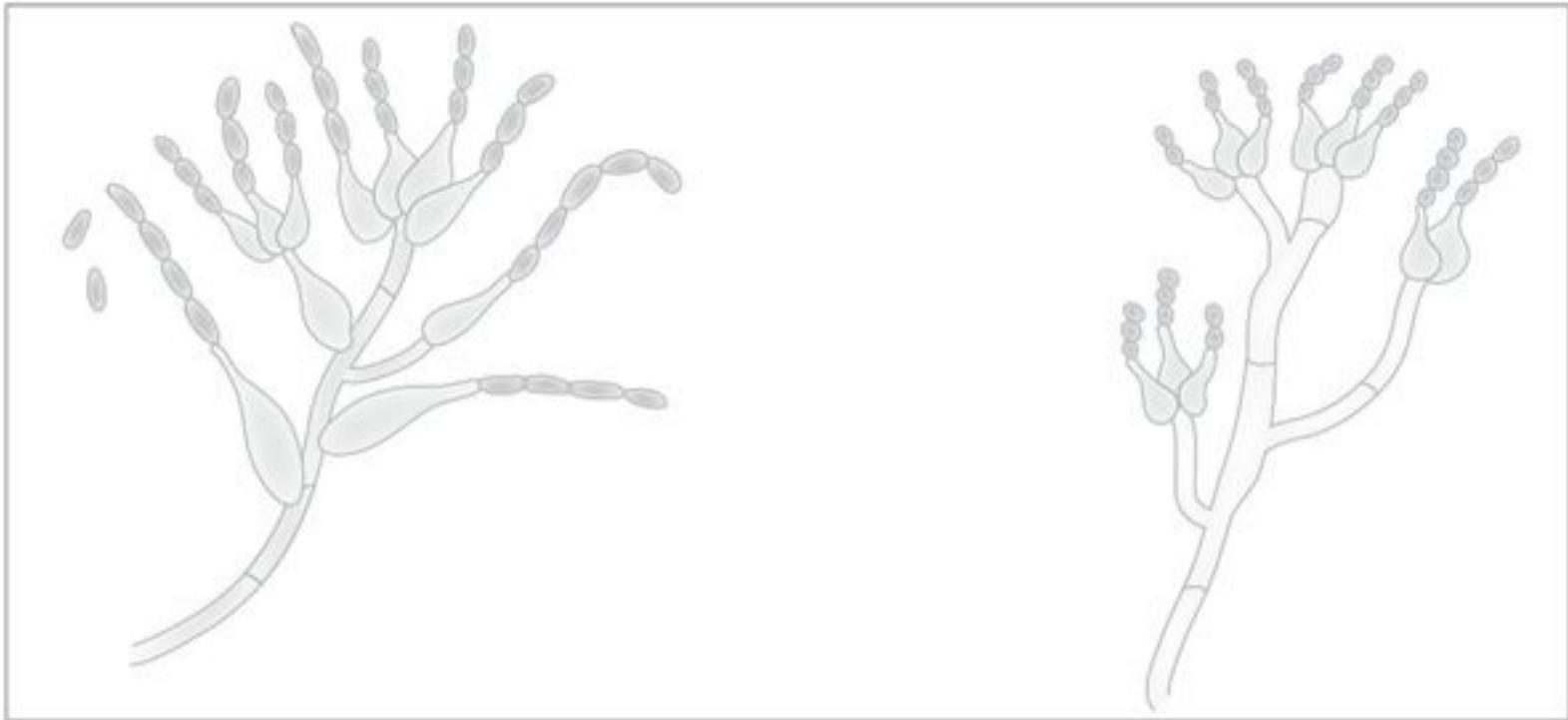


Figura 13 Micromorfologia do *Paecilomyces* sp.

Diferentemente dos representantes do gênero *Aspergillus*, quando *Fusarium*, *Paecilomyces* e *Acremonium* invadem os tecidos, não ocorre somente a produção de hifas, mas também peculiares estruturas macroconidiais, que facilmente alcançam a circulação dos tecidos, disseminando-se pelo organismo. A única exceção a essa regra é o *A. terreus*, a emergente espécie das aspergiloses invasivas.

Algumas espécies de *Paecilomyces*, tais como *P. lilacinus*, podem ser resistentes *in vitro* e *in vivo* para anfotericina B, fluconazol e itraconazol.

Trichoderma spp.

Gênero fúngico até então considerado de baixa patogenicidade, recentemente vários centros de pesquisa distribuídos mundialmente têm relatado infecções devidas principalmente ao *Trichoderma longibrachiatum*. Embora esse gênero seja composto por numerosas espécies, recentes estudos taxonômicos com o auxílio da biologia molecular indicam que todas as infecções em humanos são causadas pela espécie *T. longibrachiatum*. Essa particular especificidade é também observada em outros fungos filamentosos hialinos oportunistas, como o *Penicillium marneffe*, a única espécie patogênica do gênero *Penicillium*. *Paecilomyces lilacinus* e *P. variotii* representam hoje as duas únicas espécies patogênicas do gênero *Paecilomyces*.

O *T. longibrachiatum* tem sido reportado como agente de micoses sistêmicas e subcutâneas em pacientes com imunodeficiências primárias e secundárias. Nas lesões teciduais, o fungo aparece como um emaranhado de hifas hialinas no corte tecidual. A falha na suscetibilidade desse agente à quimioterapia antifúngica condiz com as

elevadas concentrações inibitórias mínimas para os antifúngicos convencionais nos testes *in vitro*, incluindo anfotericina B, fluconazol e itraconazol.

Bipolaris spp.

São reconhecidos como os mais comuns agentes da sinusite feo-hifomicótica, que tradicionalmente é resistente à anfotericina B. Recentes publicações indicam que o itraconazol possui boa atividade nesses quadros, sem nenhum relato de resistência.

BIBLIOGRAFIA

1. Ajello L, Georg LK, Steigbigel RT, Wang GJK. A case of phaeohyphomycosis caused by a new species of *Phialophora*. *Mycologia*. 1974;66:490-8.
2. Bartlett MS, Smith JW. *Pneumocystis carinii*, an opportunist in immunocompromised patients. *Clin Microbiol Rev*. 1991;4(2):137-49.
3. Benjamini E, Leskowitz S. *Immunology: a short course*. 2. ed. New York: Wiley-Liss; 1991.
4. Bottone EJ, Kirschner PA, Salkin IF. Isolation of highly encapsulated *Cryptococcus neoformans* serotype B from a patient in New York City. *J Clin Microbiol*. 1986;23(1):186-8.
5. Capetti E, Popesco IG, Gheorghiu T, Dobre I, Natase G. Contribution à l'étude de pollen et de moisissures atmosphériques de *Candida B.* et de *G.B.* (region souscarpatique meridionale de Roumanie). *Acta allergol*. 1969;24:39-48.
6. Conant NF, Smith DT, Backer RD, Callaway JL. *Manual of clinical mycology*. 3. ed. Philadelphia: W.B. Saunders; 1971.
7. Costa RO. *Micologia médica. Edição suplementar do J Bras Medicina (JBM)*; 2003.
8. Dixon DM, Fromthing RA. Morphology, taxonomy, and classification of the fungi. In: Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover RH (eds.). *Manual of clinical microbiology*. 6. ed. Washington DC: American Society of Microbiology; 1995. p.699-708.
9. Einarsson R, Aukrust L. Allergens of the fungi imperfecti. *Clin Rev Allergy*. 1992;10:165-90.
10. Fleming RV, Walsh TJ, Anaissie EJ. Emerging and less common fungal pathogens. *Infect Dis Clin North Am*. 2002;16(4):915-33.
11. Greenfield RA, Bronze MS. Emerging pathogens and knowledge in infectious diseases. *Am J Med Sci*. 2010;340(3):177-80.
12. Horner WE, Helbling A, Salvaggio JE, Lehrer SB. Fungal allergens. *Clin Microbiol Rev*. 1995;8(2):161-79.
13. Koneman EW, Allen SD, Dowell VR Jr, Janda WM, Sommers HM, Winn WC Jr. *Color atlas and textbook of diagnostic microbiology*. 3rd ed. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins; 1988.
14. Kotylo PK, Israel KS, Cohen JS, Bartlett MS. Subcutaneous phaeohyphomycosis on the finger caused by *Exophiala spinifera*. *Am J Clin Pathol*. 1989;91:624-7.
15. Lacaz CS, Porto E, Martins JEC, Heins-Vaccari EM, Melo NT. *Tratado de micologia médica Lacaz*. 9. ed. São Paulo: Sarvier; 2002.
16. Lugarine C. Isolamento de *Cryptococcus neoformans* a partir de excretas de Passeriformes e Psittaciformes no estado do Paraná. [Dissertação]. Curitiba: Universidade Federal do Paraná; 2007.
17. Malhotra S, Duggal S, Bhatia NK, Sharma N, Hans C. Rhinocerebral zygomycosis with pulmonary aspergillosis in a non-HIV-infected patient: an unusual case report from India. *J Med Microbiol*. 2009;58:146-50.
18. McGinnis MR, Salkin IF, Schell WA, Pasarell L. Dematiaceous fungi. In: American Society for Microbiology. *Manual of clinical microbiology*. 6. ed. Washington, DC: ASM; 1995. p.644-58.

19. McGinnis MR, Schell WA, Carson J. Phaeoannellomyces and the phaeococcomycetaceae, new dematiaceous blastomycete taxa. *Sabouraudia*. 1980;23:179-88.
20. Pfaller MA, Diekema DJ. Rare and emerging opportunistic fungal pathogens: concern for resistance beyond *Candida albicans* and *Aspergillus fumigatus*. *J Clin Microbiol*. 2004;42(10):4419-31.
21. Sanchez A, Larsen R. Emerging fungal pathogens in pulmonary disease. *Curr Opin Pulm Med*. 2007;13(3):199-204.
22. Sidrim JLC, Moreira JLB. Fundamentos clínicos e laboratorial da micologia médica. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1999.
23. Sidrim JJC, Rocha MFG. Micologia médica à luz de autores contemporâneos. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2004.
24. Tilton RC, McGinnis MR. Fundamentals of mycology. 4. ed. In: American Society for Microbiology. Manual of clinical microbiology. Washington, DC: ASM; 1987. p.515-629.
25. Veronesi R, Focaccia R. Tratado de infectologia. São Paulo: Atheneu; 1997.
26. Zaitz C, Campbell I, Marques SR, Ruiz LRB, Souza VM. Compêndio de micologia médica. Rio de Janeiro: Medsi; 1998.
27. Walsh TJ, Groll AH. Emerging fungal pathogens: evolving challenges to immunocompromised patients for the twenty-first century. *Transpl Infect Dis*. 1999;1(4):247-61.
28. Walsh TJ, Groll A, Hiemenz J, Fleming R, Roilides E, Anaissie E. Infections due to emerging and uncommon medically important fungal pathogens. *Clin Microbiol Infect*. 2004;10(suppl 1):48-66.

Micetomas

EUMICETOMAS E ACTINOMICETOMAS

Considerações gerais

Infecção crônica de tecidos cutâneos e subcutâneos, resultante da implantação direta do agente na região do membro afetado.

Caracteriza-se pelo aumento de volume da região ou membro atingido pelo aparecimento de nódulos, que progridem até haver a formação de fístula e drenagem de secreção sanguinolenta e seropurulenta contendo grãos do agente. Os grãos são microcolônias do agente infeccioso e apresentam cor amarela, vermelha, branca ou preta. Os micetomas têm origem bacteriana, os actinomicetos, ou por fungos filamentosos hialinos ou demáceos. Quando o micetoma for formado por actinomicetos será denominado micetoma actinomicótico ou actinomicetoma e quando formado por fungos, micetomas eumicótico ou eumicetoma. Geralmente, ocorre nos pés e nas mãos. A doença resulta de traumatismo pela implantação dos microrganismos do solo para o tecido.

Os eumicetomas estão mais presentes em regiões tropicais e subtropicais, e os actinomicetomas são mais cosmopolitas. A maioria dos casos acomete indivíduos entre 20 e 50 anos de idade, sendo raros em crianças e idosos. Não há relatos de transmissão

de homem para homem nem de homem para animal ou vice-versa. Os micetomas, quando não tratados adequadamente, progridem lentamente e em casos excepcionais podem chegar à invalidez parcial ou total e ao óbito.

Os micetomas eumicóticos são formados por grãos brancos produzidos por fungos filamentosos hialinos ou grãos negros dos fungos demáceos. Os fungos mais envolvidos na causa de grãos brancos são *Aspergillus nidulans*, *Acremonium falciforme*, *Fusarium moniliforme* e outros. Os grãos negros são formados principalmente pelos fungos demáceos *Madurella micetomatis*, *Madurella grisea*, *Exophiala jeanselmei*, *Leptosphaeria senegalensis* e *Curvularia lunata*.

Os micetomas actinomicóticos causados por bactérias, os actinomicetos, produzem grãos que podem ser agrupados em brancos ou amarelos e em vermelhos e pretos. Os grãos brancos ou amarelos são produzidos pelos actinomicetos, mais frequentemente *Actinomadura madurae*, *Streptomyces somaliensis*, *Nocardia brasiliensis*, *Nocardia asteroides* e *Nocardia caviae* e os produtores de grãos vermelhos e pretos mais frequentes são *Actinomadura pelletieri* e o *Streptomyces paraguayensis*.

Os actinomicetos são bactérias gram-positivas e filamentosas sendo encontradas no ambiente e são exógenas e aeróbias pertencendo aos gêneros *Nocardia*, *Actinomadura* e *Streptomyces*. As espécies do gênero *Nocardia* são moderadamente acidorresistentes à coloração de Kinyoun ou Ziehl-Neelsen modificada, ao passo que os gêneros *Actinomadura* e *Streptomyces* não apresentam essa característica.

Manifestações clínicas

Os micetomas eumicóticos são infecções podais, excepcionalmente em outras regiões do corpo. A maioria se apresenta na forma de lesões localizadas, simples ou múltiplas, com tumefação deformante, aspecto elefantíaco fistulizadas, duras à palpação, pouco doloridas e drenam secreção serrossanguinolenta.

Os actinomicetomas não atingem somente as regiões podais, também outros locais, como braços, pernas e ossos. Clinicamente, os dois tipos de micetomas são praticamente impossíveis de serem diferenciados, necessitando do diagnóstico laboratorial por meio de exames direto e histopatológico. A identificação do microrganismo só é possível por cultura e provas bioquímicas.

Diagnóstico laboratorial

O diagnóstico de um micetoma é feito pela observação clínica e pelos exames micológico e histopatológico.

Exame direto

O diagnóstico inicia-se com a coleta do material biológico através de *swab* em que haja secreção espontânea. Em lesões ainda fechadas, são realizadas punções para se obter o grão visto na secreção. Alternativa de coleta é a biópsia em lesões ainda fechadas.

Os grãos podem ser vistos em KOH 10-40%, em colorações como HE, prata para fungos e gram ou Ziehl-Neelsen, nos casos de bactérias.

Os exames macro e microscópico do grão ajudam na diferenciação dos micetomas. Quando o grão é formado por filamentos micelianos caracteriza a presença de fungo filamentososo. No entanto, quando o grão é formado por estruturas filamentosas finas é sugestivo de bactéria filamentososa, os actinomicetos (Figura 1).

Cultura

A semeadura dos grãos é realizada em meios de cultura conforme a suspeita observada no exame direto do grão.

Quando o grão é formado por fungo, o material é semeado em ágar Sabouraud dextrose sem ciclo-heximida, incubados entre 25 e 30°C. A identificação é feita mediante a descrição do grão e complementada com morfologias macro e microscópicas da colônia. Crescimento em três a quatro semanas.

Se o grão for formado por bactérias, a semeadura é realizada em meios de cultura para identificação bacteriana. Temperatura entre 35 e 37°C e provas bioquímicas.

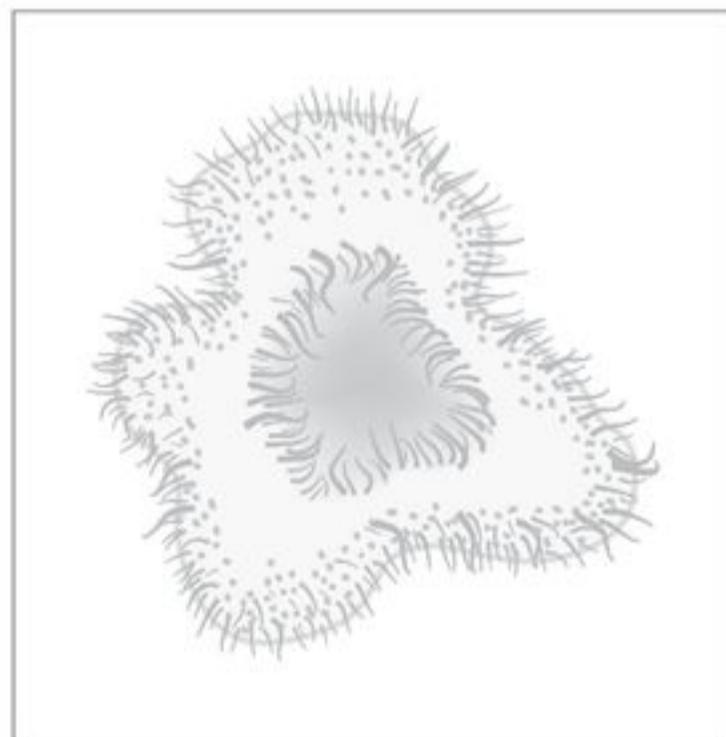


Figura 1 Exame direto do grão.

Tratamento

O tratamento cirúrgico é a primeira opção recomendada, pois a reação tecidual do hospedeiro e a fibrose dificultam a ação da droga na concentração adequada.

A associação da cirurgia com exereses total da lesão e o tratamento clínico aumentam o índice de cura. Nos casos de actinomicetoma, é recomendado o uso de antimicrobianos, como o sulfametoxazol-trimetoprim, rifampicina e tetraciclina. Para os eumicetomas são usadas as drogas antifúngicas, como cetoconazol e miconazol.

PSEUDOMICETOMA

Considerações gerais

São micetomas causados por dermatófitos, como *Trichophyton mentagrophytes*, *T. verrucosum*, *T. violaceum*, *T. tonsurans*, *Microsporum canis*, *M. audouinii*, *M. ferrugineum* e outros. Apresentam reação eosinofílica periférica característica da reação de Splendore-Hoeppli. O micélio apresenta, no grão, pequenas quantidades sem formar o entrelaçamento compacto dos grãos dos eumicetomas. São, portanto, grãos moles e lobulados. A reação tecidual é eritematosa, descamativa, supurada e crostosa, raramente com granuloma.

Excepcionalmente, os dermatófitos invadem as camadas profundas não queratinizadas da pele. Quando isso ocorre, formam-se abscessos ou reação granulomatosa.

Diagnóstico laboratorial

Exame direto

Os grãos são observados em material biológico como cortes histológicos, interior do extrato córneo e do folículo piloso na forma de hifas ou cadeias de artrósporos. As colorações usadas podem ser a hematoxilina-eosina ou outras especiais para fungos.

Cultura

Identificação do dermatófito conforme rotina já preconizada.

Tratamento

Tratamento cirúrgico conservador, mutilante ou debridamento, associado a antifúngico.

BOTRIOMICOSE

Considerações gerais

Infecção bacteriana crônica que se localiza no tecido subcutâneo e na pele do homem e de animais. A disseminação pode ocorrer em imunocomprometidos.

Os agentes da botriomicose são bactérias não filamentosas que formam grãos. São agentes etiológicos *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus* sp., *Proteus* sp. e outros. O grão apresenta consistência mole, cor branco-amarelada com cerca de 1 mm de tamanho. Produz a reação imunológica de Splendore-Hoeppli. Manifesta-se com reação inflamatória purulenta com presença de neutrófilos, linfócitos, eosinófilos, plasmócitos, fibroblastos e histiócitos.

Diagnóstico laboratorial

Exame direto

Os grãos botriomicóticos são indistinguíveis dos actinomicóticos, as bactérias não são visualizadas no interior do grão quando corado pela hematoxilina-eosina, Gridley ou PAS. Colorações como Brown-Brenn ou giemsa são usadas para visualização dos cocos e bacilos permitindo a diferenciação com micetomas.

Cultura

As bactérias são identificadas em meios de cultura bacteriológica e posterior identificação com provas bioquímicas.

Tratamento

Tratamento cirúrgico, conservador, mutilante ou debridamento associado à terapia antibiótica.

ACTINOMICETOS

No passado, os actinomicetos eram considerados fungos, porque podem formar grãos e micetomas actinomicóticos. Atualmente são classificadas como bactérias gram-positivas filamentosas, tanto aeróbios quanto anaeróbios, e alguns são acidorresistentes. Os aeróbios são encontrados no ambiente, e os anaeróbios, no TGI, abdo-

minal e genital. Habitam as cáries dentárias e criptas amigdalíneas, como comensais no homem e em outros animais, e crescem entre 35 e 37°C.

São actinomicetos clinicamente importantes os gêneros *Actinomyces*, *Nocardia*, *Actinomadura*, *Streptomyces* e *Actinomadura*.

Actinomicose

Considerações gerais

O *Actinomyces* sp., agente etiológico da actinomicose, infecção anaeróbia, com as espécies *A. israelii*, *A. viscosus*, *A. meyeri* e *A. odontolyticus*. Essa infecção bacteriana é endógena, crônica, de ocorrência esporádica e não contagiosa. Não está associada à imunodepressão, mas à falta de higiene oral e ao uso de contraceptivo intrauterino, o DIU. Está presente na saliva, lavado brônquico, placas dentárias, amígdalas e criptas tonsilares. O agente mais comum no homem é o *A. israelii*. A forma cervicofacial é a mais frequente e raramente a intratorácica. Actinomicose em criança é incomum.

As espécies de *Actinomyces* não têm vida livre na natureza. Fazem parte da flora residente na cavidade oral, TGI e genital feminino, incapazes de penetrar na mucosa íntegra. O trauma inicial viabiliza a invasão. As manifestações clínicas mais frequentes são cervicofacial, torácica e abdominal.

O diagnóstico do *Actinomyces* geralmente é simples. O achado do *Actinomyces*, principalmente *A. israelii*, em material biológico não é suficiente para o diagnóstico de doença, é necessária a confirmação clínica.

Diagnóstico laboratorial

Exame direto

No exame direto corado pelo gram, aparecem como filamentos gram-positivos e não acidorresistentes ao método Ziehl-Neelsen modificado (Tabela 1).

O grão, quando presente, é branco composto por entrelaçado de filamentos finos, com clavas na periferia, sem estrutura interna.

Cultura

Crescem bem entre 35 e 37°C, durante 24 a 48 horas, em condições de anaerobiose. As colônias são diminutas, múltiplas e de consistência dura.

Provas bioquímicas, como a fermentação dos açúcares, caracterizam e diferenciam as espécies de *Actinomyces* sp.

Tabela 1 Características morfológicas do *Nocardia* versus *Actinomyces*

	Coloração gram	Coloração Ziehl-Neelsen modificada
<i>Nocardia</i> sp.	Filamentos bacterianos gram-positivos	Álcool acidorresistente
<i>Actinomyces</i> sp.	Filamentos bacterianos gram positivos	Álcool não acidorresistente

Tratamento

A droga de escolha para a actinomicose é a penicilina G.

Em mulheres com uso de DIU e com esfregaços positivos, mesmo assintomáticas, sugere-se a remoção do dispositivo.

Nocardiose

Considerações gerais

O agente etiológico é a *Nocardia* com as espécies patogênicas *N. asteroides*, *N. farcinica*, *N. nova*, *N. brasiliensis*, *N. otitidiscaviarium* e outras menos frequentes. Habitam o solo e são *Actinomycetes* aeróbios. A nocardiose é uma infecção oportunista, exógena, sistêmica com porta de entrada pelo pulmão ou a localizada por penetrar na pele ou tecido subcutâneo por alguma forma de trauma, causando infecção subcutânea e quando houver a formação de grão determina o actinomicetoma. A nocardiose é caracterizada pela infecção sem a formação de grãos e não é contagiosa. Podem ser inalados, causando infecção visceral, permanecendo circunscrito ao pulmão ou se espalhar via hemática a outros órgãos ou sistemas do organismo.

A nocardiose causa pneumonia e empiema, principalmente em indivíduos imunocomprometidos. A coleta deve ser em condições adequadas para evitar contaminação do TRS.

Clinicamente, a nocardiose visceral ou sistêmica se manifesta como pulmonar, cerebral ou disseminada e a nocardiose subcutânea sob a forma de micetoma actinomicótico, nocardiose linfocutâneo ou nocardiose cutânea generalizada. A forma pulmonar se confunde com a tuberculose.

Petrillo et al. (1978) relataram os dois primeiros casos de nocardiose pulmonar humana no Brasil.

A *Nocardia* sp. é uma bactéria acidorresistente, aeróbia, filamentosa e não é um comensal normal no trato respiratório do homem, é encontrada no solo e vegetais. As espécies de importância clínica são *N. nova* e *N. farcinica*, as quais formam o complexo *N. asteroides*.

Quando há formação de grãos estes são compostos por filamentos finos com clavos na periferia e sem estrutura interna.

Diagnóstico laboratorial

Exame direto

Ao exame direto corado pelo gram, aparecem filamentos bacterianos ramificados gram-positivos e acidorresistentes quando corados pelo Ziehl-Neelsen modificado. O contrário ocorre com os outros actinomicetos que também se apresentam no gram como filamentos gram-positivos, porém não são, ou são fracamente acidorresistentes quando corados pelo Ziehl-Neelsen modificado.

É importante o diagnóstico diferencial com o bacilo da tuberculose por ser também acidorresistente.

Cultura

Cresce bem entre 25 e 30°C em ágar Sabouraud dextrose sem ciclo-heximida. A colônia é leveduriforme, glabrosa com sulcos e dobras e/ou granulosa. A cor é geralmente laranja, mas pode variar de amarelo a rosa ou marrom, que se difunde no meio de cultivo com “cheiro de terra molhada”, o reverso da colônia é alaranjado.

Provas bioquímicas como a hidrólise da caseína, tirosina e xantina, crescimento em gelatina 0,4%, identificam e diferenciam as espécies de *Nocardia* sp.

Tratamento

O tratamento de escolha é o sulfametoxazol-trimetoprim. Em alguns casos de abscessos, devem ser removidos cirurgicamente.

Rodococose

Considerações gerais

A rodococose tem como agente o *Rhodococcus* sp. que é frequentemente confundido com *Nocardia* e *Mycobacterium* por apresentar características semelhantes incluindo acidorresistência. As duas espécies mais frequentes são o *R. equii* e o *R. rhodochrous* e são considerados patógenos emergentes. A infecção tem como fator desencadeante o contato com o ambiente. A via mais comum é a inalatória, mas podem ocorrer lesões cutâneas a partir de contaminação por ferimentos.

A rodococose pode apresentar pneumonia, abscesso renal, hepático, cerebral, osteomielite ou outros. Vem aumentando o número de casos em pacientes com Aids ou em outros indivíduos imunodeprimidos.

O primeiro caso de rodococose na América Latina foi relatado por Severo et al., em 1981.

Diagnóstico laboratorial

Exame direto

A pesquisa direta de secreções e fragmentos de tecido é realizada com colorações de gram, acidorresistência (Zihel-Neelsen ou Kinyoun) e os grãos com hematoxilina-eosina. O *Rhodococcus* é gram-positivo e fracamente acidorresistente.

Cultura

Cresce bem em meios de cultura para bacteriologia em dois a quatro dias na temperatura entre 35 e 37°C. As colônias apresentam a cor salmão.

Tratamento

O *Rhodococcus* sp. é sensível a vários antimicrobianos, como aminoglicosídeos, vancomicina, ciprofloxacina, imipenem, eritromicina ou outros. É resistente às cefalosporinas. Deve-se realizar o antibiograma para a escolha da droga a ser administrada. Para maior eficácia, deve ser administrada via parenteral.

Além da antibioticoterapia, é indicada também a cirúrgica em tecido necrótico, drenagem de lesões supurativas.

Outras doenças causadas por actinomicetos

- Eritrasma: *Corynebacterium minutissimum*.
- Tricomiose axilar: *Corynebacterium tenuis*.
- Queratólise plantar: *Corynebacterium* sp., *Dermatophilus* sp., *Nocardia* sp. e *Actinomyces* sp.

Eritrasma

Infecção causada pelo actinomiceto *Corynebacterium minutissimum* e localiza-se no extrato córneo das regiões axilares, genitais e interdígitos dos pés. É mais frequente nos homens. Ocorre em clima quente e úmido.

Caracteriza-se por manchas acastanhadas com bordas bem nítidas. Os fatores que contribuem para a infecção são sudorese, maceração da pele e outros.

Diagnóstico laboratorial

Exame direto No exame direto das lesões com KOH 10-40% ou coloração de gram, observam-se formas cocoides e filamentos, são gram-positivos.

Fluorescem de vermelho-coral com a lâmpada de Wood.

Cultura Em meios de cultura para bacteriologia entre 35 e 37°C, e diagnóstico com provas bioquímicas.

Tricomiose axilar

Doença de clima tropical. Caracteriza-se por formar nódulos amarelos, vermelhos ou negros nos pelos axilares e em menor frequência nos pubianos.

O *C. tenuis* se manifesta nos pelos sob três variedades: amarela (flava), vermelha (rubra) e preta (nigra). A variedade flava é a mais frequente.

Diagnóstico laboratorial

Exame direto No exame direto com KOH 10-40%, são observados nódulos amorfos com estruturas filamentosas curtas e entrelaçadas. São gram-positivos.

Cultura Meios de cultura para bacteriologia entre 35 e 37°C e diagnóstico com provas bioquímicas.

Queratólise plantar

Vários actinomicetos são os agentes da doença. Caracteriza-se por lesões em formas circulares e pequenas na região plantar. Infecções secundárias por bactérias podem resultar em fissuras na área atingida.

Diagnóstico laboratorial

Exame direto No exame direto com KOH 10-40% são observadas estruturas cocoides e filamentosas. São gram-positivos.

Cultura Em meios de cultura para bacteriologia entre 35 e 37°C e com confirmação do diagnóstico por meio de provas bioquímicas.

BIBLIOGRAFIA

1. Conant NF, Smith DT, Backer RD, Callaway JL. Manual of clinical mycology. 3. ed. Philadelphia: W.B. Saunders; 1971.
2. Koneman EW, Allen SD, Dowell VR Jr, Janda WM, Sommers HM, Winn WC Jr. Color atlas and textbook of diagnostic microbiology. 3rd ed. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins; 1988.
3. Lacaz CS, Porto E, Martins JEC, Heins-Vaccari EM, Melo NT. Tratado de micologia médica Lacaz. 9. ed. São Paulo: Sarvier; 2002.
4. Petrillo VF, et al. Pulmonary nocardiosis report of the first two Brazilian cases. Mycopathologia. 1978;66(1-2):17-20.
5. Sidrim JLC, Moreira JLB. Fundamentos clínicos e laboratorial da micologia médica. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1999.
6. Sidrim JJC, Rocha MFG. Micologia médica à luz de autores contemporâneos. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2004.
7. Tilton RC, McGinnis MR. Fundamentals of mycology. 4. ed. In: American Society for Microbiology. Manual of clinical microbiology. Washington, DC: ASM; 1987. p.515-629.
8. Veronesi R, Focaccia R. Tratado de infectologia. São Paulo: Atheneu; 1997.
9. Zaitz C, Campbell I, Marques SR, Ruiz LRB, Souza VM. Compêndio de micologia médica. Rio de Janeiro: Medsi; 1998.

Fungos anemófilos

INTRODUÇÃO

Os fungos, por meio de seus elementos de disseminação, propágulos ou esporos, são dispersados na natureza por vias como ar, água, insetos, homem e animais. Os que são dispersados pelo ar denominam-se fungos anemófilos. Os conhecimentos qualitativo e quantitativo desses fungos em determinada região são importantes por serem aeroalérgenos desencadeadores de doenças respiratórias, como rinite e asma, quando inalados.

Os fungos anemófilos podem provocar patologias por colonização tecidual ou por indução a quadros de hipersensibilidade.

Os grupos de fungos que liberam esporos no ar e que são importantes aeroalérgenos são: *Oomycetes*; *Zygomycetes*, representados pelo *Rhizopus* e *Mucor*; *Ascomycetes*, liberam ascos que contêm ascosporos e são representados pela *Leptosphaeria*, *Chaetomium*, *Venturia*, *Alternaria*, *Phoma*, *Aspergillus* e *Penicillium*; e *Basidiomycetes*, que liberam basidiosporos, cujos representantes são os fungos patógenos de plantas, *Rusts* e *Smuts*. *Ascomycetes*, *Basidiomycetes* e *Zygomycetes* contêm o maior número de gêneros conhecidos que produzem reações alérgicas.

Para diagnosticar os fungos anemófilos são preconizadas técnicas de coleta com pesquisa qualitativa (cultura em placa ou pesquisa em lâmina) e quantitativa utilizan-

do equipamentos capazes de quantificar os esporos de fungos anemófilos por metros cúbicos de ar medido, em 24 horas. As técnicas qualitativas, ou seja, cultura em placa ou pesquisa em lâmina, são realizadas com exposição durante algum tempo no ambiente. Esse método de identificação baseia-se nas características de esporulação dos fungos, não permitindo identificá-los quando não se reproduzem em cultura, e também não possibilita quantificá-los.

O estudo quantitativo desses fungos requer coleta contínua, permitindo amostragem desses elementos. São utilizados equipamentos como o Burkard® e o Rotorod Sampler® para a coleta dos esporos. Posteriormente pelas características morfológicas podem ser identificados por microscopia óptica e quantificados por metros cúbicos de ar medidos, em 24 horas, conforme padrão do fabricante do equipamento.

A formação dos esporos pelos fungos passa por vários processos, ocorre a produção de diferentes tipos de esporos pelo mesmo fungo, ao mesmo tempo em resposta a diferentes condições ambientais. Os esporos são formados pela reprodução sexual (fase teleomórfica ou estágio perfeito) por meio de fissão nuclear, exemplo *Ascomycetes* e *Basidiomycetes*, ou sem fissão nuclear, o que produz o estágio anamórfico ou imperfeito, exemplo filo *Deuteromycotina* (*Fungi imperfecti*). Assim, alguns esporos de diferentes fungos, apresentam morfologia semelhante, tornando sua identificação inviável em nível de gênero, por exemplo, *Aspergillus* e *Penicillium*. Outros esporos são tão pequenos, transparentes ou sem características individuais que impossibilitam a identificação, por exemplo, *Phoma*, *Neurospora* e *Candida*. Muitos outros esporos, especialmente ascosporos e os basidiosporos, não são identificados como partículas específicas (Figura 1).

No Brasil, as pesquisas realizadas são qualitativas, não havendo dados de pesquisas quantitativas em equipamentos de coleta contínua de fungos anemófilos, como Rotorod Sampler® ou o Burkard®.

Poucas são as publicações sobre a prevalência de fungos na atmosfera de cidades brasileiras, apesar de ser qualitativa a maior frequência pertence aos gêneros *Cladosporium*, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Rhodotorula*, *Aureobasidium*, *Candida*, *Fusarium*, *Curvularia*, *Rhizopus*, *Helminthosporium* e *Trichoderma*.

É importante ressaltar que existe diferença entre fungos predominantes no ambiente domiciliar e no ar. Naturalmente, as condições da moradia determinam maior ou menor probabilidade de desenvolvimento de colônias de fungos. Cerca de 300 espécies já foram descritas como alergizantes. No mundo, as espécies pertencentes aos gêneros *Alternaria*, *Cladosporium*, *Aspergillus* e *Penicillium* são as mais frequentes.

O conhecimento dos fungos anemófilos de determinada cidade ou região é importante para o diagnóstico etiológico e o tratamento específico de manifestações alérgicas provocadas por alérgenos inalantes.

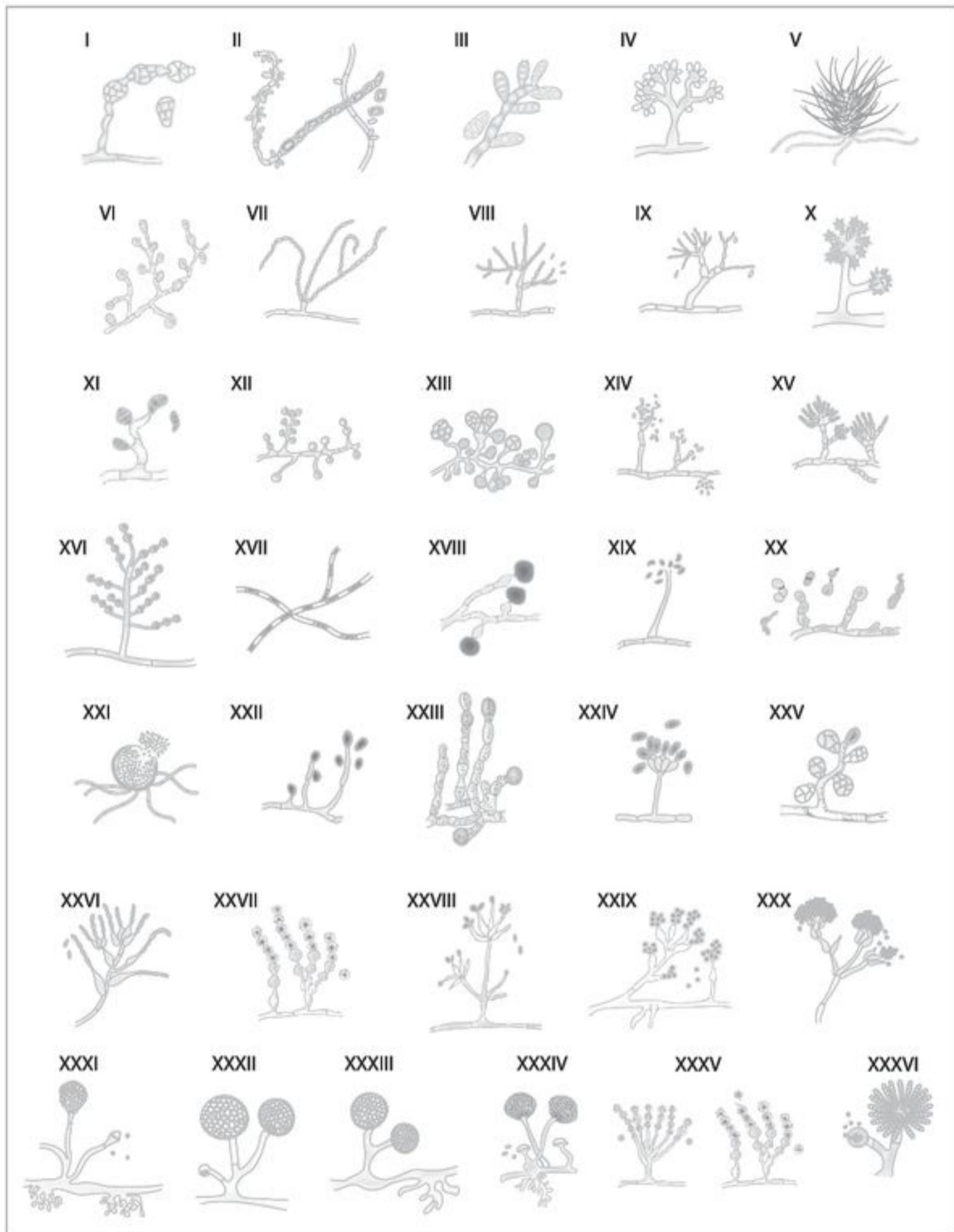


Figura 1 Fungos anemófilos de interesse clínico. (I) *Alternaria* spp.; (II) *Aureobasidium pullulans*; (III) *Bipolaris* spp.; (IV) *Botrytis* spp.; (V) *Chaetemonium* sp.; (VI) *Chrysosporium* sp.; (VII) *Cladophialophora bantiana*; (VIII) *Cladophialophora carrionii*; (IX) *Cladosporium* sp.; (X) *Cunninghamella* sp.; (XI) *Curvularia* sp.; (XII) *Emmonsia* sp.; (XIII) *Epicoccum* sp.; (XIV) *Exophiala jeanselmei*; (XV) *Fonsecaea compacta*; (XVI) *Geomyces* sp.; (XVII) *Malbranchea* sp.; (XVIII) *Nigrospora* sp.; (XIX) *Phaeoacremonium* sp.; (XX) *Phaeoananelomyces werneckii*; (XXI) *Phoma* sp.; (XXII) *Scedosporium apiospermum*; (XXIII) *Scytalidium* sp.; (XXIV) *Stachybotrys chartarum*; (XXV) *Ulocladium* sp.; (XXVI) *Paecilomyces* sp.; (XXVII) *Scopulariopsis* sp.; (XXVIII) *Verticillium* sp.; (XXIX) *Trichoderma* sp.; (XXX) *Gliocladium* sp.; (XXXI) *Absidia corymbifera*; (XXXII) *Mucor* sp.; (XXXIII) *Rhizomucor*; (XXXIV) *Rhizopus* sp.; (XXXV) *Scopulariopsis* spp.; (XXXVI) *Scyncephalastrum* sp.

Mecanismos ativos na natureza, como temperatura, umidade relativa do ar e chuvas, são condicionantes da variação de fungos na atmosfera. A intensidade da exposição pode determinar a relevância clínica. Segundo Horner et al. (1995), nos Estados Unidos e outros países industrializados, 20% da população apresenta doenças alérgicas.

COLETA E IDENTIFICAÇÃO DE ESPOROS DE FUNGOS ANEMÓFILOS

Diversas técnicas são preconizadas para coleta e identificação de fungos anemófilos, dependendo do local estudado. Em ambientes fechados, empregam-se os métodos qualitativos, como o cultivo em placa ou pesquisa do esporo em lâmina, para a identificação desses fungos. O cultivo em placa, que se baseia nas características de esporulação, não permite identificar os fungos que não se reproduzem em cultura. Um dos métodos mais utilizados é o da gravidade, que consiste em expor uma lâmina ou uma placa de Petri com meio de ágar Sabouraud, durante algum tempo no ambiente. As partículas se depositam no meio de cultivo, germinam e crescem, formando colônias que podem ser isoladas e identificadas. Essa técnica permite verificar a variação sazonal e os fungos mais frequentes nessa via de dispersão, mas não possibilita quantificá-los.

As placas de cultura têm a desvantagem de poder ser rapidamente cobertas por contaminantes do ambiente e de as colônias de fungos que nelas se formam não indicarem a quantidade real do número de esporos de fungos por unidade de volume de ar. A exposição tem que ser limitada a poucos minutos. Os resultados obtidos das amostras em cultura dependem de alguns fatores, como viabilidade e facilidade de cultivo dos microrganismos, o meio de cultura utilizado e as condições de incubação. A média de temperatura de incubação utilizada fornece ampla variedade de condições de crescimento. Alguns esporos de fungos não germinam, sendo necessária a identificação pela microscopia, caso de *rusts* e *smuts*, que não crescem em meios de cultura; outros fungos somente podem ser identificados pelo isolamento em cultura.

Quando se pretende caracterizar a composição de fungos no ar são realizadas outras formas de coleta. Nesse caso, são utilizados métodos de pesquisa direta em amostra volumétrica de ar. Assim, o estudo da periodicidade dos fungos aéreos requer uso de coleta contínua, a qual permite amostragem de 24 horas ou mais. Há aparelhos que permitem definir a periodicidade dos fungos no ar. Atualmente, as técnicas de identificação de esporos e sua quantificação utilizam principalmente equipamentos como o Burkard® e o Rotorod Sampler®, que permitem identificar, pelas características morfológicas, os esporos dos fungos anemófilos e quantificá-los por metros cúbicos de ar

medidos em 24 horas. Ambos são instrumentos volumétricos, porém, os princípios de operação e recolhimento de partículas são diferentes.

O aparelho Burkard® é orientado pelo vento e seu princípio básico de coleta é a sucção. Uma fita plástica recebe as partículas suspensas na atmosfera. Após a remoção da fita do equipamento, ela é corada com Calberla e analisada no microscópio óptico com aumento de 40 ou 100 vezes (imersão). O total de partículas por dia (p/m^3) pode ser determinado pelo comprimento da fita (48 mm) examinada. O volume de ar é calculado por um fator normal padrão de 10 litros por minuto ($1 \times 10^{-2} m^3/min$). Tal volume de ar corresponde à velocidade de 6 m/s (Frenz, 1999).

O Rotorod Sampler® (Figura 2) é constituído de um coletador de impacto para coletar partículas na superfície de bastões (hastes) presos em um prendedor de metal de aproximadamente 10 cm de comprimento, montado em um pequeno motor. O volume de ar que passa sobre a superfície dos bastões permite o cálculo da média de rotação dos bastões (geralmente em torno de 2.500 rotações por minuto).

O Rotorod Sampler® retira a amostra do ar através do bastão (haste) de plástico, com dimensões de $1,52 \times 1,52 \times 32$ mm (Figura 3). Antes de ser fixado no equipamento, o bastão é lubrificado com silicone sólido. A ação de um motor elétrico faz com que gire rapidamente e as partículas suspensas na atmosfera sejam recolhidas. Após completar o ciclo definido de coleta, o bastão é retirado, colocado sobre um suporte e corado com Calberla. Uma lamínula de 22×22 mm é sobreposta sobre o conjunto, que é, então, observado ao microscópio óptico em aumento de 40 ou 100 vezes (imersão). O número total de esporos dos fungos, que deve corresponder a toda a extensão da lamínula, é posteriormente calculado pelo volume de ar de determinado



Figura 2 Equipamento Rotorod Sampler® para coleta de esporos de fungos anemófilos.

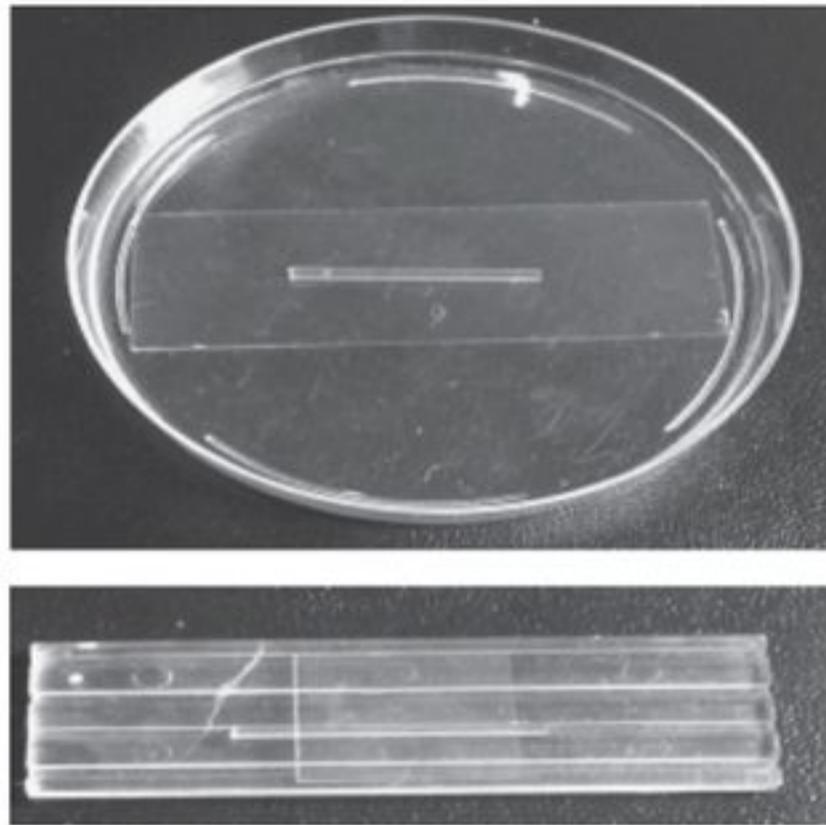


Figura 3 Haste coletora de esporos de fungos do equipamento Rotorod Sampler®.

período, conforme o ciclo que foi definido. A concentração é expressa pelo número de partículas por metro cúbico de ar (p/m^3).

O volume de ar medido no Rotorod Sampler® pode ser calculado pelas condições padrões do fabricante. Um ciclo de 10% do total equivale a 1 minuto (60 s) de coleta e 9 minutos (540 s) de pausa ($600\text{ s} - 60\text{ s} = 540\text{ s}$), em um período de 24 horas de coleta. Para a determinação padrão do volume de ar, é necessário calcular conforme o modelo do equipamento, que pode ser Rotorod Sampler® 20 ou 40. No modelo Rotorod Sampler® 40, adotado para o presente trabalho, o volume constante medido, conforme o fabricante, foi de $3,12\text{ m}^3$ de ar. O resultado final é calculado mediante divisão do número de esporos de fungos contados no bastão coletor pelo volume padrão de $3,12\text{ m}^3$ de ar, o que resulta na quantidade de esporos por m^3 de ar em 24 horas. A amostra assim coletada corresponde ao número de partículas encontradas na atmosfera. A concentração é expressa pelo número de partículas por metro cúbico (p/m^3). O volume de ar medido pelo equipamento é calculado pelo padrão: 10% do ciclo completo em 24 horas de coleta. Nessas condições e nesse equipamento Rotorod 40, o volume corresponde a $3,12\text{ m}^3$ de ar, como já se viu. O número de esporos é obtido pela seguinte fórmula: número de esporos = número esporos contados $\times 3,12\text{ m}^3$; o resultado é expresso em número de esporos/ m^3 de ar em 24 horas. Os parâmetros padrões fornecidos pelo fabricante podem ser alterados conforme as necessidades da pesquisa. Neste capítulo, optou-se pela adoção dos padrões de coleta e dos cálculos padrões do equipamento Rotorod Sampler® modelo 40.

Ambos os equipamentos, Burkard® e Rotorod Sampler®, são fidedignos em coletar amostras de pólenes e esporos de fungos no ar. Segundo Frenz (1999), o Burkard® tem sido mais eficiente para detectar partículas menores que 10 micras, ao passo que

o Rotorod Sampler® tem sido igual ou superior ao Burkard® em coletar partículas maiores que 10 micras.

A identificação de fungos oferece algumas dificuldades práticas. A observação microscópica dos esporos de fungos nem sempre permite identificá-los pelo gênero ou espécie. A maior parte dos esporos não identificados são basidiósporos, ascósporos, esporos hialinos de fungos anamórficos e zigósporos.

As características avaliadas para identificar um grupo de esporos de fungos incluem cor, tamanho, forma, septação e aspecto da superfície. Quanto à cor, os esporos podem apresentar-se como sem cor (hialinos) ou com leve bronzeado, verdes, amarelos, marrons ou pretos. O tamanho dos esporos varia de 1 até mais de 100 micras, sendo a média de 7 a 12 micras. A maioria dos esporos apresenta forma esférica, oval, elíptica ou cilíndrica. Alguns são em forma de fio (filiformes), espiral, curvados ou apendiculados. Quanto à septação pode estar ausente (não septado) ou haver somente septo transversal ou transversal e longitudinal (moriforme). A superfície dos fungos anemófilos pode ser lisa, pregueada, puntiforme, verrucosa, espinhosa ou reticulada. Alguns esporos de fungos apresentam morfologia semelhante, o que torna a identificação inviável em nível de gênero, a exemplo do *Aspergillus* sp. e do *Penicillium* sp. Outros esporos são muito pequenos, transparentes ou não têm características individuais que possibilitem a identificação, caso de *Phoma* sp., o *Neurospora* sp. e a *Candida* sp. Outros esporos, especialmente os ascósporos e os basidiósporos, não são identificados como partículas específicas, por pertencerem ao filo *Deuteromycota* (*Fungi Imperfecti*), cujas formas liberadas nem sempre apresentam características individuais capazes de serem identificadas.

Os esporos também diferem entre si quanto ao tamanho; assim, os do *Aspergillus* sp. e *Penicillium* sp. têm aproximadamente 2,5 micras, os da *Alternaria* sp. entre 20 e 63 micras e os do *Helminthosporium* sp., cerca de 160 micras. Segundo Emberlin (2000), o mais abundante e ubíquo gênero de fungo anemófilo em todo o mundo é o *Cladosporium*. O tamanho de seu esporo é variável, 10 a 25 micras, e sua forma, também variável, pode ser de ovoide a cilíndrica, “forma de limão” ou irregular. O mesmo autor refere que os esporos de *Alternaria* são os segundos mais abundantes, podendo exceder as concentrações do *Cladosporium* em algumas regiões secas e úmidas. Eles apresentam a forma elíptica ou oval, possuem septos transversais e verticais e medem de 60 a 500 micras.

FUNGOS E HIPERSENSIBILIDADE

A importância do estudo da flora fúngica anemófila baseia-se no fato de que esses fungos podem provocar doenças tanto por colonização tecidual quanto por indução de quadros de hipersensibilidade.

Os fungos do ar, quando inalados, podem atuar como alérgenos, desencadeando manifestações clínicas típicas de hipersensibilidade. As reações alérgicas normalmente ocorrem no ponto de deposição do alérgeno. De modo geral, partículas maiores que 10 micras são depositadas na conjuntiva e na nasofaringe, provocando sintomas nasais e oculares característicos da rinoconjuntivite. Partículas menores do que 10 micras, especialmente aquelas com menos de 5 micras, podem atingir as vias aéreas inferiores, onde as reações alérgicas tendem a se manifestar como asma.

As reações de hipersensibilidade são didaticamente classificadas em quatro tipos. O tipo I compreende as reações provocadas pela produção de anticorpos IgE. A expressão clínica da sensibilização atópica é constituída por manifestações de rinite, asma, eczema e, eventualmente, urticária. A reação alérgica envolve a participação de IgE e a ativação de mastócitos sensibilizados, o que resulta liberação de mediadores farmacológicos, como histamina, leucotrienos, prostaglandinas e citocinas.

O efeito da produção de IgE é principalmente local, no ponto de entrada do alérgeno no organismo, ou seja, nas superfícies de mucosas. A sensibilização ocorre após múltiplas exposições a pequenas quantidades de alérgenos depositados na superfície de mucosas. O nível sérico de IgE pode aumentar em indivíduos alérgicos.

A característica fundamental da sensibilização alérgica é a presença de anticorpos IgE específicos para determinado antígeno. Dessa forma, a identificação de hipersensibilidade tipo I está baseada na detecção da presença desses anticorpos. Isso pode ser realizado por meio de provas séricas (identificação de IgE específica no soro) ou por testes cutâneos de leitura imediata, identificando a IgE fixada aos mastócitos. A prova clínica clássica para o diagnóstico é o teste cutâneo de leitura imediata.

Os três outros tipos de hipersensibilidade não têm participação significativa na fase efetora das condições alérgicas objeto deste capítulo. A reação citotóxica (tipo II) refere-se à ação de anticorpos contra componentes da membrana celular ou adsorvidos a ela. O tipo III de hipersensibilidade caracteriza as reações por complexos imunes e consequente ativação do sistema do complemento. Os mecanismos de hipersensibilidade tardia envolvendo a participação de linfócitos T estão compreendidos no tipo IV.

Aproximadamente 300 espécies de fungos já foram descritas como alergizantes. No mundo, as mais frequentes são as pertencentes aos gêneros *Alternaria*, *Cladosporium*, *Aspergillus* e *Penicillium*.

Existem dificuldades na padronização de alérgenos de fungos para aplicação diagnóstica. Isso ocorre porque os fungos apresentam variabilidade em sua composição bioquímica. Existe dúvida sobre qual a melhor fonte de alérgenos: esporos, conídios ou micélio. Muitos extratos são preparados do micélio, e uma pequena quantidade de esporos. Os extratos de fungos, quando preparados sem esporos, podem ser inadequados se o micélio não contiver os mesmos alérgenos dos esporos. Assim, é

importante comparar a composição antigênica e alergênica do micélio e dos esporos de diferentes fungos. Atualmente, os extratos alergênicos utilizados para fins diagnósticos são preparados a partir do micélio vegetativo e reprodutivo do fungo, isso porque os elementos de reprodução são formados a partir da modificação do micélio vegetativo. A caracterização dos extratos, no entanto, apresenta dificuldades por causa de fatores como variações entre os extratos da mesma espécie de fungo, alterações nos meios de cultivo, tempo de crescimento, frações do fungo (micélio ou esporos) e determinantes antigênicos comuns entre espécies ou gêneros.

Os extratos fúngicos disponíveis, em geral, são substâncias brutas extraídas do fungo mediante processos simples em que se empregam líquidos extratores (soluções de coca, Evans, Frugoni, soluções bicarbonatadas e outras). Esses extratos alergênicos constituem-se de misturas heterogêneas de diferentes proteínas, carboidratos e outras substâncias não identificadas. Nos últimos anos, surgiram preparações padronizadas utilizando antígenos purificados e específicos de cada espécie fúngica, com vistas a obter resultados mais específicos. Existem no mercado alérgenos específicos de fungos que podem ser pesquisados por meio da detecção de IgE específica. Entre eles, *Aspergillus niger*, *A. fumigatus*, *A. oryzae*, *A. terreus*, *A. nidulans*, *A. flavus*, *A. clavatus*, *Penicillium notatum*, *P. brevi-compactum*, *Cladosporium herbarum*, *Helminthosporium halodes*, *Fusarium moniliforme*, *Stemphylium botryosum*, *Rhizopus nigricans*, *Aureobasidium pullulans*, *Phoma betae*, *Epicoccum purpurascens*, *Trichoderma viride*, *Curvularia lunata*, *Pityrosporum orbiculare*, *Barley smut*, *Cephalosporium acremonium*, *Trichosporon pullulans*, *Ulocladium chartarum*, *Trychophyton* sp., *Chaetomium globosum* e *Eurotium*.

DIAGNÓSTICO DA SENSIBILIZAÇÃO ALÉRGICA

O diagnóstico da sensibilização alérgica a fungos pode ser efetuado pela identificação de IgE específica no soro ou do teste cutâneo. Os testes sorológicos detectam IgE específica para determinado alérgeno. A IgE participa da defesa contra microrganismos como fungos, vírus, bactérias e parasitas. Isoladamente, o nível sérico de IgE não discrimina o indivíduo atópico. Pacientes atópicos podem ter níveis de IgE normais, enquanto indivíduos não atópicos podem apresentar níveis elevados.

No soro, reações imunoenzimáticas são utilizadas para o diagnóstico de doenças fúngicas. O antígeno (Ag) é marcado por substâncias não radioativas, como substâncias fluorescentes, enzimas e outras. O método que utiliza tal reação é denominado ELISA e é aplicado para dosagem de anticorpo. Com o avanço da tecnologia, o teste ELISA clássico recebeu um complemento, o ELISA de captura, que é extremamente sensível, pelo qual é possível detectar e dosar Ac específicos contra um componente

antigênico em especial. Outros testes utilizados para esse diagnóstico são contraímuno-elektroforese (CIE), contrarrádio imuno-elektroforese (Crie), *radioallergosorbent test* (Rast) e fluorimunoenzimático.

Atualmente, o método fluorimunoenzimático está sendo muito utilizado para diagnóstico, ele faz uso de uma pequena cápsula e de uma malha de celulose que prende, covalentemente, anti-IgE (na pesquisa de IgE total) ou o alérgeno de interesse (na pesquisa de IgE específica). A reação é revelada por anti-IgE marcada com a enzima betagalactosidase, que age sobre o substrato 4-metil-umbeliferil fosfato.

A prevalência de sensibilização a fungos, segundo Gompertz et al. (1999), aponta variação entre 5 e 86% dos casos de asma brônquica ou rinite alérgica. A Tabela 1 representa um exemplo. Essa grande diferença de resultados pode ser atribuída à ausência de uniformidade nos estudos realizados.

Tabela 1 Frequência de positividade de testes cutâneos com alérgenos de fungos anemófilos em pacientes com asma brônquica e rinite alérgica	
Extrato alergênico	Positivos (%)
<i>Candida</i>	58,6
<i>Aureobasidium</i>	37,1
<i>Penicillium</i>	30
<i>Curvularia</i>	28,6
<i>Fusarium, Mucor e Phoma</i>	24,3
<i>Aspergillus, Epicoccum e Pestalotia</i>	22,9
<i>Alternaria, Trichoderma e Helminthosporium</i>	21,4
<i>Cladosporium, Geotrichum, Rhodotorula, Rhizopus e Scopulariopsis</i>	20
<i>Chaetomium</i>	18,5
<i>Circinella e Nigrospora</i>	17,1
<i>Neurospora</i>	15,7
<i>Cephalosporium e Paecilomyces</i>	14,3

Fonte: Gambale (1983).

O teste cutâneo é realizado na face volar do antebraço. A leitura dos resultados é feita em torno de 15 minutos após a aplicação do teste. A presença de anticorpo IgE para o alérgeno aplicado induz ativação local de mastócitos e liberação de mediadores pré-formados, aumentando a permeabilidade vascular e provocando edema e prurido local, manifestados na forma de pápula e eritema. O teste cutâneo é um método simples, rápido, indolor, de baixo custo e seguro, de sensibilidade e especificidade elevadas, sendo muito boa a correlação entre o teste cutâneo positivo e os sintomas

relacionados à exposição a alérgenos inalados. Reações cruzadas com antígenos de espécies diferentes de fungos podem ocorrer.

As preparações dos extratos de alérgenos para uso em teste cutâneo foram padronizadas pela WHO International Union of Immunological Societies, cujos critérios basearam-se na pureza, na atividade, na esterilidade e na estabilidade dos extratos alergênicos. Foi estabelecida a potência de 100.000 UI para uso como teste cutâneo em pacientes alérgicos a fungos.

BIBLIOGRAFIA

1. Agarwal MK, Shivpuri DN, Mukerji KG. Studies on the allergenic fungal spores of Delhi, India metropolitan area. *J Allergy*. 1969;44:193-203.
2. Al-Doory Y, Domson JF. *Mould Allergy*. Philadelphia: Lea e Febigh; 1984.
3. Benjamini E, Leskowitz S. *Immunology: a short course*. 2. ed. New York: Wiley-Liss; 1991.
4. Burge HA, Levetin E, Muilenberg, ML, Solomon, WR. Fungus spore identification. *American Academy of Allergy Asthma Immunology*; 1996. p.3-22.
5. Chapman JA. How relevant are pollen and mold spore counts to clinical practice? *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2000;84:467-8.
6. Einarsson R, Aukrust L. Allergens of the fungi imperfecti. *Clin Rev Allergy*. 1992;10:165-90.
7. Emberlin JC. Aerobiology. In: Busse William W, Holgate ST (eds.). *Asthma and rhinitis*. 2. ed. Oxford: Blackwell Science; 2000. p.1083-106.
8. Frenz DA. The effect of windspeed on pollen and spore counts collected with the Rotorod Sampler and Burkard spore trap. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2000;85:392-4.
9. Frenz DA. Comparing pollen and spore counts collected with de Rotorod® Sampler and Burkard® spore trap. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 1999;83:341-9.
10. Gambale W, Purchio A, Paula CR. Influência de fatores abióticos na dispersão aérea de fungos na cidade de São Paulo, Brasil. *Rev Microbiol*. 1983;14(3):204-14.
11. Gompertz OF, Gambale W, Paula CR, Corrêa B. Fungos e alergia. In: Trabulsi LR, Alterthum F (orgs.). *Microbiologia*. 3. ed. São Paulo: Atheneu; 1999. p.421-2.
12. Homburger HH, Katzmann JA. Method in laboratory immunology: principles and interpretation of laboratory tests of allergy. In: Middleton Jr E, Reed CE, Ellis EI, Adkinson Jr NF, Yunginger JW, Busse W (eds.). *Allergy principles and practice*. 4. ed. Chicago: Mosby-Year; 1993. p.554-72.
13. Homrich MH. Observações sobre a ocorrência de fungos alergógenos no ar de Porto Alegre e arredores. *Rev Bras Biol*. 1961;21(2):149-53.
14. Horner WE, Helbling A, Salvaggio JE, Lehrer SB. Fungal allergens. *Clin Microbiol Rev*. 1995;8(2):161-79.
15. Luo W. Deposition of large particles in the nose and mouth. *Grana*. 1991;30:79-81.
16. Mezzari A, Kist OM, Coser TA, Signori LGH, Borges FK, Chazan M, et al. Os fungos anemófilos e seus esporos. *NewsLab*. 2009;97:116-26.
17. Mezzari A, Mezzari F, Toscana C, Canto B. A sensibilização dos indivíduos por fungos anemófilos. *NewsLab*. 2007;83:118-27.
18. Mezzari A, Perin C, Santos Junior SA, Bernd LAG. Airborne fungi in the city of Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil. *Rev Inst Medic Trop S Paulo*. 2002;44:269-72.
19. Mezzari A, Perin C, Santos Junior SA, Bernd LAG, Gesu G. Os fungos anemófilos e sensibilização em indivíduos atópicos. *Rev Assoc Med Bras*. 2003;49:270-3.
20. Nelson H. Diagnostic procedures in allergy I: allergy skin testing. *Ann Allergy*. 1983;51:411-7.

21. Oliveira Lima A, Seabra O, França AT, Cukier J. Incidência de fungos na atmosfera de algumas cidades brasileiras. *Hospital*. 1963;63(5):93-102.
22. Oliveira MTB, Braz RFS, Ribeiro MAG. Airborne fungi isolated from Natal, state of Rio Grande do Norte-Brazil. *Rev Microbiol*. 1993;24(3):198-202.
23. Passarelli N, Miranda MP, Castro C. A study of the incidence of airborne fungi in the city of Rio de Janeiro. *Ann Allergy*. 1949;7:334.
24. Passarelli N, Miranda MP, Castro C. Cogumelos do ar na cidade do Rio de Janeiro. *Rev Med Cir Bras*. 1944;52:173.
25. Pinheiro LFL, Neder RN, Azevedo L. Flora micológica e bacteriana do ar na cidade de Piracicaba. *Hospital*. 1966;69(3):223-9.
26. Purchio A, Gambale W, Paula CR. Airborne fungi of Baixada Santista, state of São Paulo, Brazil. *Rev Microbiol*. 1984;15(4):258-65.
27. Roitt IM, Brostoff J, Male DK. *Imunologia*. 3rd ed. São Paulo: Manole; 1993.
28. Salvaggio J, Aukrust L. Mold induced asthma. *J All Clin Immunology*. 1981;68:327-46.
29. Terho EO. Diseases due to allergen exposure. *Allergy*. 1985;40(supl.3):7-9.

Algas

INTRODUÇÃO

As algas se assemelham às leveduras e foram primeiramente descritas como fungos. Atualmente, as algas que podem causar doenças no homem são descritas como microrganismos eucariontes, membros da divisão Clorophyta, aclorofiladas, o gênero *Prototheca*, e clorofiladas, o gênero *Chlorella*.

PROTOTHECA

Considerações gerais

As algas *Prototheca* têm sido descritas como originadas da *Chlorella*, por mutação. Ainda existem controvérsias em relação a sua origem e características. São microrganismos ubíquos, encontrados em látex de plantas (*Ulmus americana*), solo, caldos de destilaria, fezes, escarro, água doce e salgada, leite, teteiras de ordenhadeiras mecânicas e outros.

O gênero *Prototheca* contém as espécies *P. stagnora*, *P. wickerhamii* e *P. zopfii*. A prototecose manifesta-se no homem na forma geralmente cutânea e excepcionalmente como bursites, enterites e disseminada. No Brasil, o primeiro caso de protote-

case humana foi registrado em 1983, na cidade de Passo Fundo (RS), onde o paciente apresentava um nódulo de crescimento rápido no cotovelo. Posteriormente, em 1995, outro caso descrito no Brasil foi de um paciente que havia ingerido queijo fresco contaminado com *Prototheca zopfii*.

Nos animais, a prototecose é mais frequente que no homem. A mastite bovina, por exemplo, é um problema para a pecuária pela perda da produção de leite e consequentemente prejuízo econômico.

A infecção ocorre por inoculação do agente através de trauma ou exposição profissional.

Diagnóstico laboratorial

Exame direto

O exame direto é realizado a fresco ou corado com o material biológico a ser pesquisado. As algas apresentam estruturas unicelulares, com endosporulação podendo serem confundidas com leveduras e são definidas como mórula ou esporângio. Utiliza-se KOH 10-40%, colorações de PAS, Gomori ou Gridley e outros.

Cultura

Semeados em ágar Sabouraud dextrose sem suplemento, temperatura entre 25 e 30°C, durante 48 horas. Confirmação com a macro, micromorfologia colonial e provas adicionais (Tabela 1).

Tabela 1 Características bioquímicas das espécies

Assimilação				
Espécie	Sacarose	Trealose	Inositol	N-propanol
<i>P. wickerhamii</i>	-	+	-	-
<i>P. zopfii</i>	-	-	-	+
<i>P. stagnora</i>	+	-	-	-

-: reação negativa; +: reação positiva.

Tratamento

As drogas não estão ainda preconizadas para o tratamento da prototecose. Têm sido utilizados a anfotericina B, a nistatina e agentes antimicrobianos, como gentami-

cina e kanamicina. Os antifúngicos cetoconazol, fluconazol e itraconazol têm apresentado sucesso terapêutico em alguns casos.

A exérese cirúrgica ou debridamento dos tecidos com associação ao tratamento clínico tem sido indicado.

CHLORELLA

Considerações gerais

São algas clorofiladas. Raramente infectam o homem, mais comum em animais. As lesões apresentam tonalidade esverdeada nos gânglios, nódulos linfáticos da faringe, fígado, pulmões e pele.

As *Chlorelas* são semelhantes às *Protothecas* no tamanho, na forma e no tipo de reprodução por endosporulação. São diferenciadas pela presença de cloroplastos e grânulos de amido no citoplasma e dos endosporos.

A fonte, as vias de infecção e o período de incubação da infecção são ainda desconhecidos.

Diagnóstico laboratorial

Exame direto

Em cortes histológicos, cora-se por PAS, Gridley e prata Gomori com formas semelhantes à *Prototheca*, que se caracterizam pela presença da mórula ou esporângio.

Cultura

Não obtido ainda o cultivo *in vitro*.

BIBLIOGRAFIA

1. Conant NF, Smith DT, Backer RD, Callaway JL. Manual of clinical mycology. 3. ed. Philadelphia: W.B. Saunders; 1971.
2. Dixon DM, Fromthing RA. Morphology, taxonomy, and classification of the fungi. In: Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover RH (eds.). Manual of clinical microbiology. 6. ed. Washington DC: American Society of Microbiology; 1995. p.699-708.
3. Koneman EW, Allen SD, Dowell VR Jr, Janda WM, Sommers HM, Winn WC Jr. Color atlas and textbook of diagnostic microbiology. 3rd ed. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins; 1988.
4. Lacaz CS, Porto E, Martins JEC, Heins-Vaccari EM, Melo NT. Tratado de micologia médica Lacaz. 9. ed. São Paulo: Sarvier; 2002.

5. Sidrim JLC, Moreira JLB. Fundamentos clínicos e laboratorial da micologia médica. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1999.
6. Sidrim JJC, Rocha MFG. Micologia médica à luz de autores contemporâneos. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2004.
7. Tilton RC, McGinnis MR. Fundamentals of mycology. 4. ed. In: American Society for Microbiology. Manual of clinical microbiology. Washington, DC: ASM; 1987. p.515-629.
8. Veronesi R, Focaccia R. Tratado de infectologia. Sao Paulo: Atheneu; 1997.
9. Zaitz C, Campbell I, Marques SR, Ruiz LRB, Souza VM. Compêndio de micologia médica. Rio de Janeiro: Medsi; 1998.

Terapêutica e resistência aos antifúngicos

TERAPÊUTICA ANTIFÚNGICA

Considerações gerais

O aumento da variedade de patógenos associados a infecções fúngicas graves não tem encontrado correspondência com o número de agentes antifúngicos disponíveis para terapêutica. Limitações na eficácia e na tolerância dos agentes antifúngicos em uso, falha na resposta clínica, resistência adquirida e grande toxicidade têm estimulado a pesquisa de novas formulações que possam ser mais eficientes para o tratamento de pacientes com infecções por fungos filamentosos ou leveduras. Agentes antifúngicos convencionais são geralmente fungistáticos e apenas impedem o crescimento fúngico, proporcionando rápido relapso ou incompleta erradicação do microrganismo, dependendo muito da efetiva ação da resposta imune do hospedeiro. Somente a inibição do crescimento antifúngico pode não ser suficiente para prevenir a disseminação do microrganismo em pacientes imunocomprometidos.

O início da terapêutica antifúngica corresponde ao uso tópico de soluções compostas de ácido salicílico, ácido benzoico e iodo. Posteriormente, a solução saturada

de iodeto de potássio, via oral, no tratamento da esporotricose, que ainda hoje é indicada na dose de 3 g ao dia de solução saturada, até a cura das lesões. O iodeto de potássio é também utilizado nas entomofotoromicoses, tanto na conidiobolomicose quanto na basidiobolomicose. Para o tratamento da pitiríase versicolor são usados, ainda, hipossulfito de sódio e sulfeto de selênio, em uso tópico.

Os estudos mais recentes exploram as vias metabólicas na busca de antifúngicos. As pesquisas focam a síntese da quitina na parede celular, a produção tubular na replicação do DNA, a síntese do ergosterol na membrana celular e a síntese de ácidos.

Atualmente, o arsenal terapêutico vem aumentando muito e já está bastante variado com novos antifúngicos surgindo com o objetivo de serem cada vez mais eficazes e com menos efeitos colaterais.

Historicamente, os antifúngicos surgiram após as drogas antibacterianas. O primeiro antifúngico foi preparado em 1939, a griseofulvina, e usado clinicamente em 1958, após comprovação da aplicação no tratamento de dermatofitoses em animais de laboratório.

No início dos anos 1950, foram preparados os poliênicos, originando a nistatina, em 1951. Esse antifúngico foi utilizado para o tratamento de *Candida* spp. Em 1956, surgiu a anfotericina B, quando então houve um grande avanço na terapêutica antifúngica. A flucitosina surgiu em 1964, e ambas são usadas no tratamento de micoses sistêmicas. A flucitosina, no entanto, apresenta rápido mecanismo de resistência quando administrada sozinha, necessitando ser associada à anfotericina B.

A partir dos anos 1960, surgiram os derivados azólicos, entre eles miconazol (1967) e clotrimazol (1969), e desde então outros foram preparados, como econazol (1975), isoconazol (1979), ticonazol (1979), cetoconazol (1981), tioconazol (1984) e oxiconazol (1986). Posteriormente também foram preparados os derivados triazólicos, como fluconazol (1990) e itraconazol (1992), e, a partir do ano 2000, voriconazol, ravuconazol e posaconazol. Esses antifúngicos apresentam menos efeitos colaterais e propriedades terapêuticas mais seguras e eficazes.

Na década de 1990, surgiram também os derivados morfolínicos, a amorolfina, em 1994, e também as alilaminas representadas pela naftifina e terbinafina, em 1993, usadas em dermatomicoses. Em 2001, surgiu a caspofungina, uma equinocandina com ação importante no tratamento da aspergilose e candidíases invasivas.

Para resumir, atualmente as drogas antifúngicas utilizadas na terapêutica das micoses humanas incluem as derivadas de microrganismos, nos derivados poliênicos, nistatina e anfotericina B e também griseofulvina. Como agentes químicos iodeto de potássio, flucitosina; derivados azólicos, alilaminas, naftifina e terbinafina; derivados morfolínicos, amorolfina; e, por fim, equinocandina, representada pela caspofungina.

Antifúngicos

Poliênicos (anfotericina B, nistatina)

Os antibióticos poliênicos, os polienos, são compostos por uma grande família de drogas produzidas por espécies de *Streptomyces* e, entre eles, os mais conhecidos e utilizados na terapêutica de doenças humanas são a anfotericina B e a nistatina. Essas moléculas se ligam ao ergosterol, esteroide exclusivo da membrana celular fúngica, induzindo a formação de poros na membrana, tendo como consequência o aumento da permeabilidade e o extravasamento de íons, principalmente potássio, levando eventualmente à morte celular.

A anfotericina B foi isolada em meados da década de 1950 e, mesmo com elevada toxicidade, sua potência, seu espectro de ação e os 50 anos de experiência clínica têm assegurado que este antifúngico permaneça como fármaco de escolha no tratamento da maioria das micoses sistêmicas. A anfotericina B é associada a efeitos adversos significativos, como nefrotoxicidade e quadros febris.

A nistatina é frequentemente utilizada no tratamento de infecções fúngicas da pele ou membranas mucosas, na forma de cremes, pomadas e pastas. Desde que foi comprovada sua compatibilidade nesse tipo de aplicação, essa substância tem sido usada no tratamento de candidíase em crianças. Existem também relatos do uso tópico da nistatina em tratamentos de dermatofitoses da pele.

Não poliênicos (griseofulvina)

Em 1958, a griseofulvina tornou-se o primeiro agente antifúngico oral disponível comercialmente para o tratamento de micoses superficiais. Essa droga foi isolada como um produto do fungo *Penicillium griseofulvum*, em 1939. A griseofulvina inibe a síntese dos ácidos nucleicos e a mitose, paralisando a divisão celular na metáfase. Também pode interferir nas funções dos microtúbulos do fuso, causar mudanças morfogênicas nas células dos fungos e antagonizar a síntese da quitina na parede celular dos fungos. Griseofulvina é uma droga fungistática e geralmente efetiva em peles, pelos e unhas infeccionadas por dermatófitos dos gêneros *Trichophyton*, *Microsporum* e *Epidermophyton*.

Sabe-se também que essa droga é pouco absorvida no trato gastrointestinal e não há informação sobre os mecanismos de transporte até as unhas e os cabelos. Além de ser uma droga fungistática, a griseofulvina possui atividade anti-inflamatória e algumas propriedades vasodilatadoras, cujo efeito foi observado após a administração de altas doses.

A griseofulvina é indicada para o tratamento de infecções micóticas de pele, pelos e unhas. Seu mecanismo de ação atua nos microtúbulos, prejudicando a síntese e polimerização dos ácidos nucleicos, inibindo a multiplicação dos fungos.

Alilaminas

Os antibióticos derivados de alilaminas, terbinafina e naftifina, representam uma classe de agentes antifúngicos com grande espectro de atividade, incluindo dermatófitos, leveduras, bolores e fungos dimórficos (*Histoplasma* e *Blastomyces*).

A terbinafina é empregada tanto tópica quanto oralmente no tratamento de infecções de pele, unhas e cabelos, causadas por fungos. Comparada com outros fungicidas, essa droga, cuja atividade é mais fungicida que fungistática, pode ser utilizada em concentrações menores, por tempo reduzido e, supostamente, com mínimos efeitos colaterais. Por isso, a terbinafina é ainda considerada um antimicótico de primeira linha para o tratamento de onicomicoses. O modo de ação da terbinafina é semelhante aos dos agentes antifúngicos tiocarbamatos (como tolinaftato) que bloqueiam a síntese do ergosterol inibindo a esqualeno epoxidase. Além da falta do ergosterol, o acúmulo do esqualeno pode ser um dos fatores que levam à morte celular.

Derivados azólicos

Os azóis (cetoconazol, miconazol, fluconazol, voriconazol, isoconazol, econazol, tioconazol, clotrimazol, posaconazol, ravuconazol e outros) são compostos totalmente sintéticos. O mecanismo de ação baseia-se na inibição da esterol-14-alfa-desmetilase, um sistema enzimático microsossomal dependente do citocromo P450, prejudicando a síntese do ergosterol na membrana citoplasmática e levando ao acúmulo de 14-alfa-metilesteróis. Esses metilesteróis não possuem a mesma forma e propriedades físicas que o ergosterol e levam à formação da membrana com propriedades alteradas, que não desempenha as funções básicas necessárias ao desenvolvimento do fungo. Os azóis causam menos reações adversas que a anfotericina B, mas são menos potentes. Podem ter ação fungistática ou fungicida. O uso excessivo dos azóis leva ao aparecimento de resistência em espécies suscetíveis.

Os primeiros azólicos foram o miconazol e o cetoconazol, denominados imidazólicos. O cetoconazol ainda está no mercado, mas é uma droga com certa toxicidade, podendo interferir na esteroidogênese humana e, raramente, causar hepatite fulminante. Seu uso atual restringe-se ao tratamento tópico de infecções gineco e dermatológicas, como candidíases e dermatofitoses. Na década de 1980, surgiram novos derivados azólicos, os triazólicos de primeira geração. Os novos compostos resultam

de modificações moleculares de fluconazol e itraconazol. Voriconazol é o primeiro triazólico de segunda geração, deriva do fluconazol e inicialmente recebeu aprovação pelo Food and Drug Administration (FDA) para tratamento de aspergilose e outras infecções invasivas por fungos filamentosos emergentes pertencentes aos gêneros *Fusarium* e *Scedosporium*.

Entre as três novas drogas azólicas, no presente momento, o voriconazol foi aprovado, para uso clínico, pelo FDA, nos Estados Unidos, e pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa), no Brasil, e o posaconazol, na apresentação de suspensão oral, foi aprovado pelo FDA para uso profilático de infecções fúngicas, incluindo aspergilose invasiva, em pacientes imunossuprimidos. A anidulafungina e o posaconazol encontram-se em análise pela Anvisa para sua aprovação no Brasil.

Ciclopirox (ciclopiroxolamina)

Apresentado nas formas farmacêuticas creme, solução e xampu, é indicado para o tratamento das tinhas de corpo, pés, candidíase e pitiríase versicolor. O mecanismo de ação da ciclopiroxolamina consiste na inibição do transporte de substâncias essenciais, como aminoácidos, para o interior das células fúngicas. A ciclopiroxolamina interfere na biossíntese de proteínas, RNA e DNA desses microrganismos.

Candinas

Equinocandinas (caspofungina e micafungina) são drogas que inibem a síntese da beta-(1,3)-D glucana que é um componente da parede celular de muitos fungos filamentosos e de leveduras. São drogas que agem seletivamente na parede celular e não na membrana celular do fungo. Assim, não ocorrem os efeitos na membrana celular do hospedeiro, tornando melhor a tolerância. As equinocandinas são fungicidas de efeito rápido contra muitas *Candida* spp. e fungistática contra *Aspergillus* spp. Elas não são muito ativas contra *Zygomycetes*, *Cryptococcus neoformans* (esse organismo tem baixo conteúdo de betaglucana na parede celular) ou *Fusarium* spp. Para aspergilose refratária, a taxa de resposta está por volta de 40%. A caspofungina pode também ser útil no tratamento do *Pneumocystis carinii*, por causa do alto conteúdo de betaglucana na parede celular de organismo.

A caspofungina é a única equinocandina aprovada nos Estados Unidos, sendo indicada no tratamento de candidíase. Sua ação é discutida na *Candida parapsilosis*. Resultados de estudos de caspofungina na candidíase invasiva e na candidemia sugerem equivalente eficácia da anfotericina B, mas com efeitos tóxicos substancialmente menores. A caspofungina só está disponível por via endovenosa.

Nucleosídeos pirimidínicos

Outro agente antifúngico sistêmico utilizado é o pró-fármaco flucitosina. Todos os fungos sensíveis são capazes de desaminar a flucitosina em 5-fluorouracila, um potente antimetabólito; como resultado final, a síntese do DNA destes fica prejudicada. Embora as células dos mamíferos não convertam a flucitosina em fluorouracila, o que é crucial para a ação seletiva do composto, alguns microrganismos da flora intestinal o fazem, causando certa toxicidade aos humanos. A flucitosina tem espectro de ação restrito, com atividade clinicamente útil somente contra *Cryptococcus neoformans* e os agentes da cromomicose. A resistência medicamentosa que surge durante a terapia é causa importante de fracasso terapêutico.

A flucitosina é um análogo fluorado da citosina que se converte em fluorouracil no organismo. O fluorouracil inibe a timidilato sintetase, alterando a síntese de DNA e a síntese proteica do fungo. Está disponível somente por via oral.

TESTES DE SUSCETIBILIDADE AOS ANTIFÚNGICOS

Considerações gerais

O número de fármacos disponíveis para o tratamento de infecções fúngicas, sejam elas superficiais, cutâneas, subcutâneas, sistêmicas ou oportunistas é limitado quando comparado com os antibacterianos disponíveis no mercado. Associado a isso, nas últimas décadas diversos fungos patogênicos desenvolveram a capacidade de superar a ação inibitória das drogas antifúngicas através de diferentes mecanismos de resistência adquirida. O número crescente de infecções fúngicas em todo o mundo tem favorecido potencialmente a ocorrência desse fenômeno, principalmente pelo crescente aumento de tratamentos concomitante ao incorreto uso dos antifúngicos em relação ao tempo e dose recomendada para a eficácia esperada.

Evolução da resistência aos antifúngicos

A indicação de profilaxia e terapia empírica ou preventiva antifúngica tem sido cada vez mais frequente, dada a gravidade das infecções fúngicas e sua alta mortalidade. No entanto, cabe ressaltar que o uso profilático ou empírico de antifúngicos tem sido indicado como um recurso para o médico que, na tentativa de salvar a vida de seu paciente grave e na falta de recursos diagnósticos, lança mão do uso de antifúngicos de modo precipitado, induzindo à resistência. O especialista deve sempre buscar o diagnóstico da infecção fúngica e lutar pelo aprimoramento dos recursos

laboratoriais em sua instituição, no sentido de oferecer terapêutica antifúngica e antimicrobiana adequada.

Entre os principais mecanismos bioquímicos que contribuem para o aparecimento do fenótipo de resistência a drogas estão redução da captação ou aumento do efluxo celular, modificação ou degradação da droga dentro da célula, mudanças na interação da droga com o seu sítio alvo ou ainda a interação com outras enzimas.

O antifungigrama, ou teste de suscetibilidade aos antifúngicos, ainda não pode ser empregado rotineiramente da mesma forma que ocorre com o antibiograma para patógenos bacterianos.

Embora tenha o respaldo do Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), o antifungigrama ainda é recomendado para situações mais específicas, por exemplo, quando o paciente portador de fungemia e/ou imunocomprometido não responde bem ao tratamento e existe a necessidade de se detectar o desenvolvimento de resistência ou avaliar uma alternativa terapêutica.

Somente em 1982 o National Committee for Clinical of Laboratory Standards (NCCLS, atualmente CLSI) organizou um subcomitê para padronização do teste de suscetibilidade a antifúngicos para leveduras, pelo método de microdiluição em caldo. Em 1985, foi liberado, ainda sujeito a modificações. Os fatores pré-analíticos mais relevantes foram estudados e, em 1992, foram definidos e publicados no documento M27-P, depois adaptado para M27-T (tentativa). Em 1997, foi liberado o documento NCCLS M27-A, referente ao teste de suscetibilidade a antifúngicos pelo método de macrodiluição e microdiluição em caldo para leveduras e, em 1998, foi editado o NCCLS M38-P, específico para formas de conídios de fungos filamentosos. Foram publicados, em 2002, dois documentos: M27-A2, que preconiza para leitura da CIM para fungos leveduriformes no período de 24 e 48 horas em microdiluição; e M38-A, como referência para o teste de suscetibilidade de diluição em caldo para fungos filamentosos, para os agentes causais de infecções fúngicas invasivas como *Aspergillus*, *Fusarium*, *Rhizopus arrhizus*, *Pseudallescheria boydii* e *Sporothrix schenckii*. No ano de 2008, foram publicados mais dois documentos de atualização, o M27-A3 para fungos leveduriformes e o M38-A2 para fungos filamentosos.

BIBLIOGRAFIA

1. Aoun M. Standard antifungal therapy in neutropenic patients. *Int J Antimicrob Agents*. 2000;16(2):143-5.
2. Cantón E, Espinel-Ingroff A, Pemán J. Trends in antifungal susceptibility testing using CLSI reference and commercial methods. *Expert Rev Anti Infect Ther*. 2009;7(1):107-19.
3. Denning DW, Hope WW. Therapy for fungal diseases: opportunities and priorities. *Trends Microbiol*. 2010;18(5):195-204.
4. Lass-Flörl C, Perkhofer S, Mayr A. In vitro susceptibility testing in fungi: a global perspective on a variety of methods. *Mycoses*. 2010;53(1):1-11.

5. Niimi M, Firth NA, Cannon RD. Antifungal drug resistance of oral fungi. *Odontology*. 2010;98(1):15-25.
6. Pappas PG. Opportunistic fungi: a view to the future. *Am J Med Sci*. 2010;340(3):253-7.
7. Perez Diaz CE. Use of antifungal combination therapy. *Drugs Today (Barc)*. 2010;46(suppl C):47-50.

Controle de qualidade

Em micologia, como nas demais áreas das doenças infecciosas, é fundamental um perfeito relacionamento entre o médico e o laboratório. Muitos pacientes não têm as enfermidades etiologicamente caracterizadas pela falta dessa interação.

Para que seja realizado o adequado exame micológico, é preciso iniciar com a suspeita clínica, seguida de adequada coleta de material biológico e, conseqüentemente, culminar com o diagnóstico micológico evidenciando o agente etiológico.

Em todas as etapas do diagnóstico micológico, é preciso o permanente controle dos procedimentos técnicos e cuidados com a biossegurança de todos os profissionais envolvidos.

Finalmente, o resultado do exame micológico deve estar em concordância com a suspeita clínica evidenciada pelos sintomas do paciente. Pois agentes etiológicos inusitados podem surgir na rotina e dificultar o diagnóstico micológico, tendo como conseqüência o comprometimento da resolução do caso clínico em evidência.

BIBLIOGRAFIA

1. Lacaz CS, Porto E, Martins JEC, Heinz-Vaccari EM, Melo NT. Tratado de micologia médica Lacaz. 9.ed. São Paulo: Sarvier; 2002.
2. Sidrim JJC, Rocha MFG. Micologia médica à luz de autores contemporâneos. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2004.
3. Versalovic J, Jorgensen JH, Landry ML, Warnock DW. Manual of clinical microbiology. 10.ed. Washington DC: ASM; 2011.

Soluções e meios de cultura

SOLUÇÕES

Clareadores e corantes

Hidróxido de potássio a 10-40%

No exame direto da amostra biológica, a estrutura fúngica pode ser confundida com resquícios de material celular de consistência fibrosa, proteinácea ou pigmentada. O KOH consegue dissolver as estruturas teciduais e clarear os pigmentos sem alterar as estruturas fúngicas, tornando as células fúngicas visíveis.

Procedimento

1. Colocar uma gota de KOH sobre uma lâmina de microscopia.
2. Adicionar sobre a gota uma alíquota ou fragmento da amostra clínica.
3. Misturar bem, com a alça de platina e, se necessário, promover o desbridamento do material com uma lâmina de bisturi estéril.
4. Cobrir a preparação com uma lamínula e a pressionar suavemente com a base de uma alça de metal, para alcançar uma monocamada de células.

5. Deixar a montagem em repouso por 10 a 30 minutos à temperatura ambiente para clarificar do material ou acelerar o processo por maceração por meio de rápidas passagens da preparação sobre a chama do bico de Bunsen.
6. As estruturas fúngicas serão visualizadas por característica refratária.

Lactofenol azul-algodão (lactofenol de Amann)

Tem a finalidade de visualizar o micélio vegetativo e reprodutor de um fungo filamentosos, bem como as características da célula vegetativa e reprodução por brotamento de leveduras.

Procedimento

1. Colocar uma gota de lactofenol azul-algodão sobre a lâmina.
2. Retirar pequeno fragmento da cultura do fungo filamentosos ou da levedura, utilizando alça ou fio de platina e colocar sobre a gota de lactofenol e homogeneizar.
3. Cobrir com uma lamínula e examinar ao microscópio nas objetivas de 10 e 40 vezes.

Coloração com ácido periódico de Schiff (PAS)

A coloração pelo PAS é uma técnica histológica para detecção de fungos em tecidos. Essa técnica cora os polissacarídeos presentes na parede celular fúngica, deixando os fungos corados de vermelho sobre um fundo verde. Proteger a montagem da luz.

Procedimento

1. Esfregação do espécime clínico:
 - Para escarro, líquido cefalorraquidiano (LCR), líquido pleural, pus e outros deve-se empregar os métodos usuais de fixação: secar ao ar ou na chama do bico de Bunsen.
 - Para pele, pelos e unhas, fixar com albumina de Meyer: ovo branco, 50 mL; e glicerina, 50 mL. Misturar o ovo com a glicerina e filtrar em papel de filtro ou passar através de uma gaze estéril espessa. Adicionar cristais de timol para preservar a albumina. Colocar uma pequena quantidade de albumina de Meyer sobre o centro de uma lâmina de microscopia, espalhando de maneira a formar um filme uniforme. Com uma alça de metal, colocar os espécimes dermatológicos sobre o filme de albumina. A fixação pode ser feita por secagem ao ar ou por passagens rápidas na chama do bico de Bunsen (não superaquecer).
2. Técnica de coloração:

- Deixar o esfregaço por 1 minuto em álcool etílico absoluto. Drenar o excesso de álcool e colocar o esfregaço em ácido periódico 5%, por 5 minutos.
- Lavar o esfregaço em água corrente por 2 minutos e deixar em fucsina básica por 2 minutos.
- Lavar o esfregaço em água corrente por 2 minutos e deixá-lo por 3 a 5 minutos em metabissulfito de sódio. Em seguida, lavar o esfregaço em água corrente por 5 minutos.
- Deixar o esfregaço em verde-claro por 5 segundos e lavar em água corrente por 5 a 10 segundos.
- Desidratar o esfregaço por passagens em álcool etílico 85%, 95% e absoluto com intervalos de 2 minutos.
- Deixar em xileno por 2 minutos. Cobrir a preparação com lamínula e observar com iluminação normal.

Montagem com giemsa

As colorações pelo giemsa ou Wright são aplicadas para esfregaços de sangue com a finalidade de evidenciar a presença de formas leveduriformes de *Histoplasma capsulatum* intracelulares que aparecem como células de coloração púrpura com halos hialinos (este halo não é uma cápsula, mas sim um artefato de coloração).

Procedimento

1. Fixar o esfregaço com álcool metílico absoluto durante 3 a 5 minutos.
2. Cobrir o esfregaço com o corante de giemsa e deixar por cerca de 15 minutos.
3. Lavar em água corrente. Secar a lâmina com papel absorvente.

Coloração de Wright

Baseia-se na mistura de Romanowsky: azul de metileno (corante básico) + eosina (corante ácido), permitindo a coloração simultânea do núcleo e do citoplasma das células.

Procedimento

1. Fixar o esfregaço com álcool metílico absoluto durante 3 a 5 minutos.
2. Cobrir o esfregaço com a solução do corante de Wright durante 1 minuto.
3. Adicionar cuidadosamente igual volume da solução-tampão sobre a lâmina e deixar por 3 minutos.

4. Lavar rapidamente com água corrente e secar.

Coloração com nigrosina ou tinta da China

Este procedimento é empregado para a observação das cápsulas de *Cryptococcus neoformans* que eventualmente estejam presentes em liquor. A nigrosina ou tinta da China (nanquim) não cora efetivamente as estruturas fúngicas; na verdade, essa técnica produz contraste, no qual as cápsulas translúcidas ou hialinas se destacam em um fundo negro. Existem numerosos artefatos que lembram as leveduras encapsuladas de *C. neoformans*. A maioria destes é de células brancas e vermelhas, células da glia e macrófagos. Somente quando típicas leveduras gemulantes com halos hialinos são vistas contra um fundo escuro é que se pode considerar o exame positivo. Montagens com KOH 10% devem ser usadas como controle. Se a quantidade de liquor for pequena para o processamento (centrifugação), apenas corar com nanquim o espécime cru, antes do cultivo. A vantagem da nigrosina sobre nanquim é a produção de um fundo mais homogêneo, o que facilita a pesquisa da cápsula.

Procedimento

1. Colocar uma gota de nigrosina ou nanquim sobre uma lâmina de microscopia.
2. Misturar uma pequena porção de LCR à nigrosina (a preparação deve ser fina e de coloração amarronzada).
3. Cobrir com uma lamínula e aguardar por 10 minutos para permitir a acomodação das estruturas.
4. Examinar com objetivas de baixo e alto poder e com média a forte intensidade luminosa.

Coloração com branco de calcoflúor

O branco de calcoflúor é absorvido especificamente pela quitina da parede celular fúngica. Como a célula humana não contém quitina, os tecidos do hospedeiro não são corados. Esta substância produz fluorescência esbranquiçada ou esverdeada, dependendo do comprimento de onda usado (habitualmente 340 nm), quando observado sob microscópio de UV (fluorescência). Em espécimes consistentes, o calcoflúor pode ser misturado ao KOH no momento da preparação microscópica. O calcoflúor não fluoresce em esférulas de *Coccidioides immitis* e, em preparações vaginais, apresenta certa dificuldade de interpretação.

Procedimento

1. Colocar uma gota de branco de calcoflúor sobre uma lâmina de microscopia (pode-se acrescentar uma gota de KOH a 10% à gota de branco de calcoflúor depositada sobre a lâmina, para melhorar a preparação).
2. Colocar o espécime na solução de branco de calcoflúor e KOH a 10%.
3. Cobrir com uma lamínula e examinar em microscópio com fonte de UV para elementos fúngicos fluorescentes.

MEIOS DE CULTURA

Ágar Sabouraud dextrose (ASD)

Indicação Meio básico em laboratório de micologia, também denominado simplesmente ágar Sabouraud. Trata-se de meio ácido e nutricionalmente pobre. Nessas condições, impede o desenvolvimento de bactérias; entretanto, fungos oportunistas e alguns patogênicos crescem sem maiores problemas. A composição contendo 4% de glicose ou dextrose e pH 5,5 é indicada para o estudo morfológico dos dermatófitos; entretanto, a com 2% de glicose (ou dextrose) e pH 6,5 é de escolha para o isolamento de primário de fungos patogênicos, com exceção apenas do *Histoplasma capsulatum*.

Composição Peptona (10 g), glicose ou dextrose (20 a 40 g), ágar (20 g), água destilada (1.000 mL)

Forma de preparo Misturar os ingredientes na água destilada e aquecer para dissolver. Dispensar em tubos e autoclavar a 121°C, por 15 minutos. Inclinar e deixar solidificar. Placas podem também ser empregadas.

Caldo Sabouraud dextrose (CSD)

Indicação Trata-se do mesmo meio, entretanto sem a adição de ágar.

Composição 20 ou 40 g de dextrose, 10 g de peptona e 1.000 mL de água destilada.

Forma de preparo Misturar os ingredientes na água destilada e aquecer para dissolver. Dispensar em tubos e autoclavar a 121°C, por 15 minutos.

Ágar ou caldo Sabouraud dextrose com cloranfenicol

Indicação Trata-se de ágar ou caldo Sabouraud acrescido de um potente antibacteriano.

Composição Peptona (10 g), glicose (20 g), ágar (20 g), água destilada (1.000 mL), cloranfenicol (100 a 200 mg).

Forma de preparo Dissolver 100 mg de cloranfenicol em 10 mL de álcool 95°C. Adicionar em um litro de ASD antes da autoclavação.

Ágar ou caldo Sabouraud com gentamicina

Indicação Trata-se de ágar ou caldo Sabouraud acrescido de um potente antibacteriano.

Composição Peptona (10 g), glicose (20 g), ágar (20 g), água destilada (1.000 mL), gentamicina (40 mg)

Forma de preparo Dissolver 40 mg de gentamicina em 10 mL de álcool 95°C. Adicionar um litro de ASD antes da autoclavação.

Ágar Mycosel® ou micobiótico

Indicação É a variante do ASD com cloranfenicol e ciclo-heximida (meios comerciais Mycosel®, Micobiotic® Ágar ou Meio Seletivo® para fungos) e é comumente utilizado para isolamento de fungos patogênicos, principalmente dermatófitos. A ciclo-heximida é utilizada para selecionar dermatófitos, inibindo parcial ou totalmente o crescimento de fungos anemófilos; já o cloranfenicol inibe o crescimento de bactérias e de alguns fungos filamentosos. Seu uso também está indicado para cultivo de materiais coletados de lesões com suspeita de dermatofitose, uma vez que aumenta a sensibilidade no isolamento desses fungos, como já citado. No entanto, deve-se ter em vista que essa substância poderá inibir o isolamento de fungos oportunistas, como *Aspergillus* sp., *Histoplasma capsulatum* na fase leveduriforme e certas leveduras patogênicas dos gêneros *Candida*, *Rhodotorula*, *Trichosporon* e *Cryptococcus*.

Composição Peptona (10 g), glicose (10 g), ágar (15 g), água destilada (1.000 mL), cloranfenicol (100 a 200 mg), ciclo-heximida (500 mg).

Forma de preparo Diluir separadamente 400 mg de ciclo-heximida (actidione) em 10 mL de acetona. Diluir 100 mg de cloranfenicol em 10 mL de álcool 95°C. Misturar as soluções e adicionar 1 litro de ASD antes da esterilização. Acertar o pH em 5,6.

O ágar Mycosel® pode ser suplementado, antes de ser autoclavado, com óleo de oliva (0,5 a 1 mL) para isolamento da levedura lipofílica *Malassezia furfur*.

Ágar infusão de cérebro-coração (*brain heart infusion agar* – BHIA)

Indicação É um meio rico utilizado para a recuperação de fungos, principalmente de dimórficos.

Composição *Brain heart infusion* (BHI) (37 g), ágar (20 g), água destilada (1.000 mL).

Forma de preparo Misturar os ingredientes na água destilada e aquecer para dissolver. Dispensar em tubos e autoclavar a 121°C, por 15 minutos. Inclinando e deixar solidificar. Placas podem também ser empregadas.

Caldo infusão de cérebro-coração

Indicação Trata-se do mesmo meio, entretanto, sem a adição de ágar.

Composição BHI (37 g), água destilada (1.000 mL).

Forma de preparo Misturar os ingredientes na água destilada e aquecer para dissolver. Dispensar em tubos e autoclavar a 121°C, por 15 minutos.

Ágar Sabouraud – infusão de cérebro-coração (*Sabouraud brain heart infusion* – SABHI)

Indicação Combinação entre ASD e BHI em partes iguais. A adição do BHI suplementa o meio de Sabouraud e permite que fungos de crescimento lento ou fastidioso se desenvolvam. Crescem nesse meio fungos oportunistas e patogênicos, agentes de micoses subcutâneas ou profundas. Dermatófitos também podem ser isolados a partir desse meio, porém não é um meio recomendado para cultura de espécimes de pele, pelos e unhas.

Composição Dextrose (40 g), peptona (10 g), BHI (37 g), ágar (20 g), água destilada (1.000 mL).

Forma de preparo Misturar os ingredientes na água destilada e aquecer para dissolver. Dispensar em tubos e autoclavar a 121°C, por 15 minutos, inclinar e aguardar solidificar. Também podem ser utilizadas placas.

Ágar Sabouraud – infusão de cérebro-coração com sangue de carneiro (SABHI com sangue)

Aumenta a possibilidade de isolamento de *Histoplasma capsulatum*, pela adição de 5 a 10% de sangue de carneiro desfibrinado ao SABHI autoclavado e fundido a 45 a 50°C. Meio de escolha para conversão à fase leveduriforme dos fungos *Histoplasma capsulatum* e *Blastomyces dermatitidis*.

Caldo BHI-sangue com cloranfenicol

Indicação Meio especialmente indicado para o isolamento primário de *Histoplasma capsulatum*.

Composição BHI (37 g), ágar (20 g), água destilada (1.000 mL), cloranfenicol (100 a 200 mg), sangue desfibrinado de carneiro estéril (5 a 10%).

Forma de preparo Misturar o BHI e o ágar à água destilada e aquecer para dissolver. Autoclavar a 121°C, por 15 minutos. Acrescentar os antibacterianos. Deixar esfriar até 50°C e adicionar de 50 a 100 mL de sangue desfibrinado de carneiro estéril, agitando o frasco. Dispensar em tubos inclinados ou em placas de Petri.

Caldo BHI-sangue com cloranfenicol e ciclo-heximida

Mesma função que o caldo BHI-sangue com cloranfenicol, entretanto inibindo o crescimento de fungos anemófilos.

Ágar extrato de levedura e fosfato

Indicação Purificação de culturas de *Histoplasma capsulatum* e *Blastomyces dermatitidis* acentuadamente contaminadas.

Composição Extrato de levedura (1 g), solução concentrada de fosfato (2 mL), ágar (20 g), água destilada (1.000 mL).

Forma de preparo Em volume de 400 mL de água destilada dissolver o ágar e o extrato de levedura e adicionar 2 mL da solução de fosfato (dissolver 40 g de fosfato de sódio dibásico em 300 mL de água destilada e adicionar 60 g de fosfato de potássio monobásico). Distribuir em tubos e autoclavar a 121°C, por 20 minutos. Placas podem ser empregadas.

Meio de Czapeck-Dox

Indicação Meio bastante utilizado no estudo das *Aspergilaceas* (*Aspergillus*, *Penicillium* e outros) e dos agentes da cromomicose (*Fonsecaea*, *Phialophora*, *Cladosporium*).

Composição Sacarose (30 g), nitrato de sódio (3 g), fosfato de potássio dibásico (1 g), sulfato de magnésio 7H₂O (0,5 g), cloreto de potássio (0,5 g), sulfato ferroso 7H₂O (0,01 g), ágar (15 g), água destilada (1.000 mL).

Forma de preparo Aquecer a água destilada para dissolver o ágar, adicionar os sais, agitando e, em seguida, misturar a sacarose, dissolvendo-a completamente. Distribuir e autoclavar a 121°C, por 15 minutos.

Ágar fubá

Indicação Meio geralmente utilizado para o crescimento de fungos filamentosos e *Zygomycetes*. Também é utilizado para diferenciação de espécies de *Candida* por microcultivo.

Composição Fubá (50 g), ágar (15 g), água destilada (1.000 mL).

Forma de preparo Adicionar o fubá em 250 mL de água e ferver até borbulhar. Filtrar o fubá em gaze dobrada em quatro. Dissolver o ágar em 250 mL de água e restaurar o volume da infusão de fubá para 250 mL com água quente e juntar as suspensões. Ajustar o pH para 6,6 a 6,8.

Ágar batata dextrose (BDA)

Indicação Identificação de fungos hialinos, demáceos e *Zygomycetes*. O BDA é um dos meios mais comumente utilizados em micologia médica para esporulação e produção de pigmentos de diversos fungos oportunistas e patogênicos.

Composição Glicose (10 g), infusão de batatas (200 a 500 mL), ágar (20 g), água destilada (1.000 mL).

Forma de preparo Misturar os ingredientes na água destilada e aquecer para dissolver. Dispensar em tubos e autoclavar a 121°C, por 15 minutos. Inclinar e deixar solidificar. Placas podem também ser empregadas.

Dermatophyte test medium (DTM)

Indicação O DTM só é recomendado para a recuperação de dermatófitos de espécimes de pele, pelos e unhas acentuadamente contaminados. A viragem da cor do meio de amarelo para vermelho indica o crescimento de dermatófitos. Outros fungos também podem produzir a mudança da cor, determinando falso-positivos.

Composição Fitona (10 g), glicose (10 g), solução de vermelho de fenol (40 mL), ácido clorídrico 0,8 N (6 mL), ciclo-heximida (500 mg), sulfato de gentamicina (100 mg), tetraciclina (100 mg), ágar (20 g), água destilada (1.000 mL), pH 5,5.

Forma de preparo Inicialmente misturar a solução de vermelho de fenol (500 mg de vermelho de fenol + 15 mL de hidróxido de sódio 0,1 N + 100 mL de água destilada) ao ágar e ciclo-heximida, e aquecer para dissolver em água destilada. Dispensar em tubos e autoclavar a 121°C, por 15 minutos. Adicionar solução de tetraciclina (100 mg de cloridrato de tetraciclina dissolvida em 10 mL de álcool absoluto) somente no meio autoclavado e resfriado a 45 a 50°C. Inclinar e deixar solidificar. Placas podem também ser empregadas.

Ágar acidocafeico

Indicação O meio é recomendado para o isolamento quando o agente suspeito for do gênero *Cryptococcus*. A produção de colônias negras auxilia no reconhecimento dessa levedura.

Composição Dextrose (50 g), sulfato de amônia (5 g), extrato de levedura (2 g), fosfato de potássio dibásico (0,8 g), sulfato de magnésio 7H₂O (0,7 g), ácido cafeico (0,18 g), cloranfenicol (50 mg), solução de citrato férrico (4 mL), ágar (15 g) e água destilada (1.000 mL).

Forma de preparo Pela mistura dos ingredientes em água destilada com aquecimento para dissolver, acrescentar o cloranfenicol e posteriormente dispensar em tubos para autoclavar a 121°C, por 15 minutos. Incliná-lo e deixar solidificar. Placas podem também ser empregadas. A solução de citrato férrico é preparada pela dissolução de 10 mg de citrato férrico em 20 mL de água destilada.

Ágar semente de níger

Indicação O meio é recomendado para o isolamento quando o agente suspeito for do gênero *Cryptococcus*. A produção de colônias negras auxilia no reconhecimento dessa levedura.

Composição Glicose (1 g), extrato de semente de níger (200 mL), cloranfenicol (50 mg), gentamicina (40 mg), difenil (10 mL), ágar (20 g), água destilada (800 mL).

Forma de preparo

1. Preparo do extrato de níger: triturar 70 g de semente (alpiste) em liquidificador, ressuspendendo em 350 mL de água destilada, para autoclavar a 121°C, por 15 minutos. Na sequência, o conteúdo deve ser filtrado em gaze por três vezes até que a mistura fique aparentemente homogênea.
2. Preparação do meio: dissolver a quantidade proporcional de ágar puro para misturar ao extrato de níger. Em seguida deve ser aquecido rapidamente (em torno de três minutos) em forno micro-ondas para dissolver o ágar com o extrato de níger para obter uma mistura homogênea. Finalmente, autoclavar a mistura a 121°C, por 15 minutos.

Ágar extrato de malte

Indicação Identificação de fungos leveduriformes e hialinos (*Aspergillus*, *Penicillium* e *Fusarium*) e *Zygomycetes*.

Composição Peptona (10 g), glicose (20 g), extrato de malte (20 g), ágar (20 g), água destilada (1.000 mL).

Forma de preparo Misturar os ingredientes em água destilada e aquecer para dissolver. Dispensar em tubos e autoclavar a 121°C, por 15 minutos. Inclinando e deixar solidificar. Placas podem também ser empregadas.

Ágar extrato de malte – extrato de levedura

Indicação Identificação de fungos leveduriformes.

Composição Extrato de malte (3 g), extrato de levedura (3 g), peptona (5 g), dextrose (10 g), ágar (15 g), água destilada (1.000 mL).

Forma de preparo Misturar os ingredientes em água destilada e aquecer para dissolver.

Dispensar em tubos e autoclavar a 121°C, por 15 minutos. Inclinando e deixar solidificar. Placas podem também ser empregadas.

Finalidade dos meios de cultura

De acordo com a finalidade micológica os meios especiais podem ser classificados em:

- Meios de pré-enriquecimento: são aqueles que permitem a dessensibilização de microrganismos injuriados, como para amostras que sofreram algum tipo de tratamento (térmico ou químico), por exemplo: água peptonada e água glicosilada.
- Meios de enriquecimento: quando proporcionam nutrientes adequados ao crescimento de microrganismos presentes usualmente em número baixo ou de crescimento lento. Esses meios têm a propriedade de estimular o crescimento de determinados microrganismos, mas existem alguns que também podem inibir o crescimento de outros, por exemplo: caldo Sabouraud e caldo YM (extrato de levedura e extrato de malte).
- Diferenciais: quando contêm substâncias que permitem estabelecer diferenças entre microrganismos muito parecidos, como meio CHROMagar® *Candida*.
- Seletivos: os que contêm substâncias que inibem o desenvolvimento de determinados grupos de microrganismos, permitindo o crescimento de outros, por exemplo: ágar canavanina-glicina-azul de metileno (CGB). A maioria deles é também diferencial, permitindo diferenciar as colônias (sólidos) dos microrganismos.
- Identificação: prestam-se à realização de provas bioquímicas e verificação de funções fisiológicas de organismos submetidos à identificação, por exemplo: ágar ureia.

- Dosagem: empregados em determinações de vitaminas, antibióticos e aminoácidos.
- Contagem: empregados em determinação quantitativa da população microbiana, por exemplo: ágar de contagem em placas e ágar batata dextrose.
- Estocagem ou manutenção: utilizados para conservação de microrganismos no laboratório, garantindo sua viabilidade, por exemplo: ágar Sabouraud dextrose 4% e ágar YM.

BIBLIOGRAFIA

1. Koneman EW, Winn Jr W, Allen S, Janda W, Procop G, Schreckenberger P, et al. Koneman diagnóstico microbiológico, texto e atlas colorido. 6.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2008.
2. Lacaz CS, Porto E, Martins JEC, Heinz-Vaccari EM, Melo NT. Tratado de micologia médica Lacaz. 9.ed. São Paulo: Sarvier; 2002.
3. Larone DH. Medically important fungi: a guide to identification. 4.ed. Washington: ASM Press; 2002.
4. McGinnis MR. Laboratory handbook of medical mycology. New York: Academic Press; 1980.
5. Mezzari A. Micologia no laboratório. Porto Alegre: Sagra Luzzatto; 2001.
6. Minami PS. Micologia: métodos laboratoriais de diagnóstico das micoses. Barueri: Manole. 2003.
7. Sidrim JJC, Rocha MFG. Micologia médica à luz de autores contemporâneos. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2004.

Índice remissivo

A

- Actinomicetoma 133
- Ágar Sabouraud dextrose 15, 22, 37, 39, 40, 42, 48, 55, 70, 75, 82, 84, 87, 89, 93, 100, 105, 109, 112, 115, 118, 119, 121, 123, 125, 128, 135, 140, 157, 173, 180
- Anemófilos 114, 130, 144, 145, 147, 153, 174
- Antifúngicos 13, 160, 162
- Aspergillus* 9, 10, 30, 33, 65, 91, 112, 113, 114, 115, 116, 120, 121, 127, 130, 134, 144, 145, 150, 152, 153, 164, 166, 174, 176, 178
- Azóis 163

B

- Basidiobolomicose 110, 111, 161
- Blastomicose 8, 27, 75, 81, 85, 86, 87
- Blastomyces* 80, 85, 91, 163, 175, 176
- Bola fúngica 11, 13, 114, 115

C

- Calcoflúor 36, 172, 173
- Candida* 9, 10, 22, 23, 25, 26, 30, 33, 58, 60, 97, 101, 102, 103, 105, 106, 107, 121, 127, 145, 150, 153, 174, 177, 179
- Candidíase 9, 27, 102, 162, 164
- Chlorella* 156, 158
- Chrysosporium* 146
- Cladosporium* 9, 41, 72, 124, 125, 145, 146, 150, 151, 152, 153, 176
- Coccidioides 80, 91, 94, 98, 172
- Coccidioidomicose 8, 27, 87, 91, 92
- Conidiobolomicose 110, 111, 161
- Conidiobolus* 9, 110, 112

- Criptococose 9, 13, 27, 30, 98
- Cromomicose 8, 68, 70, 72, 73, 74, 87, 124, 165, 176
- Cryptococcus* 9, 20, 21, 25, 30, 98, 99, 100, 101, 127, 129, 164, 165, 172, 174, 178
- Cunninghamella* 9, 108, 146
- Curvularia* 9, 65, 124, 134, 145, 146, 152, 153

D

- Dermatofítides 64, 104
- Dermatófitos 26, 28, 30, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 56, 58, 60, 61, 63, 64, 65, 66, 104, 120, 136, 173, 174
- Dermatofitoses 8, 13, 44, 45, 46, 47, 48, 58, 59, 63, 64, 65, 66, 103, 125, 161, 162, 163, 174
- Dermatomicoses 8, 65, 161

E

- Entomophthorales 9, 108, 110
- Epidermophyton* 9, 45, 46, 47, 49, 50, 62
- Esférula 92, 93
- Esporotricose 8, 13, 68, 69, 70, 71, 85, 87, 111, 161
- Eumicetomas 133

F

- Feo-hifomicose 9, 21
- Fluconazol 37, 58, 85, 94, 101, 102, 107, 110, 120, 122, 125, 130, 131, 158, 161, 163, 164
- Fonsecaea* 9, 72, 73, 146, 176
- Fungemia 36, 120, 122, 128, 129, 130, 166
- Fusariose 113, 121
- Fusarium* 9, 10, 65, 112, 120, 121, 122, 127, 130, 134, 145, 152, 153, 164, 166, 178

G

Geotrichum 25, 153

Grão 13, 135, 136, 137, 138, 139

H

Hialo-hifomicose 9, 112

Histoplasma 9, 21, 30, 80, 88, 90, 117, 163, 171, 173, 174, 175, 176

Histoplasmose 8, 13, 27, 87, 88, 89, 90, 117

Hortaea werneckii 41

I

Itraconazol 37, 59, 71, 75, 85, 88, 91, 94, 101, 102, 107, 117, 119, 123, 125, 130, 131, 158, 161, 164

L

Lacazia loboi 75

Levedura 3, 7, 20, 34, 35, 58, 68, 70, 81, 82, 84, 85, 98, 99, 101, 102, 103, 104, 107, 128, 129, 170, 174, 176, 178, 179

Lobomicose 8, 68

M

Malassezia 9, 10, 20, 28, 34, 35, 36, 37, 174

Micetoma 13, 64, 133, 134, 139

Micose 1, 3, 12, 15, 34, 35, 37, 39, 60, 61, 62, 63, 65, 73, 76, 81, 82, 88, 91, 102, 103, 107, 110, 124, 127, 130

Microsporum 9, 45, 46, 47, 49, 50, 51, 60, 64, 136

Mucor 9, 84, 108, 144, 146, 153

Mucorales 9, 108

Mucormicose 108, 109

N

Nistatina 107, 110, 117, 157, 161, 162

Nocardia 21, 134, 138, 139, 140, 141

Nódulos 13, 14, 38, 39, 64, 69, 73, 76, 88, 99, 111, 112, 114, 125, 133, 142, 158

O

Onicomucose 15, 35, 40, 58, 61, 104, 121

P

Paracoccidioides 9, 20, 76, 80, 81, 84, 86, 91

Paracoccidioidomicose 8, 13, 27, 81

Paroníquia 58, 60

Penicillium 9, 10, 65, 112, 117, 118, 120, 131, 144, 145, 150, 151, 152, 153, 162, 176

Phialophora 9, 72, 124, 176

Piedra 34, 38, 39, 129

Piedraia 9, 38

Pitiríase 8, 28, 34, 36, 37, 161, 164

Pneumocistose 9, 126

Pneumocystis 126, 164

Prototecose 156, 157

Prototheca 156, 157, 158

R

Rhinoctadiella 9, 72

Rhinosporidium 77

Rhizomucor 108, 146

Rhizopus 9, 108, 145, 146, 152, 153, 166

Rhodotorula 25, 128, 145, 153, 174

Rinosporidiose 8, 68

S

Sporothrix 9, 68, 166

T

Tinea 8, 34, 44, 45, 47, 59, 60, 62, 63

Tinha 45, 47, 49, 57, 61, 65

Trichophyton 9, 24, 25, 26, 45, 46, 47, 49, 50, 52, 53, 54, 55, 56, 60, 136

Trichosporon 9, 25, 30, 33, 39, 58, 101, 128, 129, 152, 174

U

Úlcera 13

Unha 15, 35, 47, 58, 60, 61, 103, 104, 121

X

Xylohypha 125

Z

Zigomicose 9, 107, 111

Zygomycetes 107, 108, 144, 164, 177, 178

Miniatlas colorido

CAPÍTULO 3 – ROTINA DE DIAGNÓSTICO

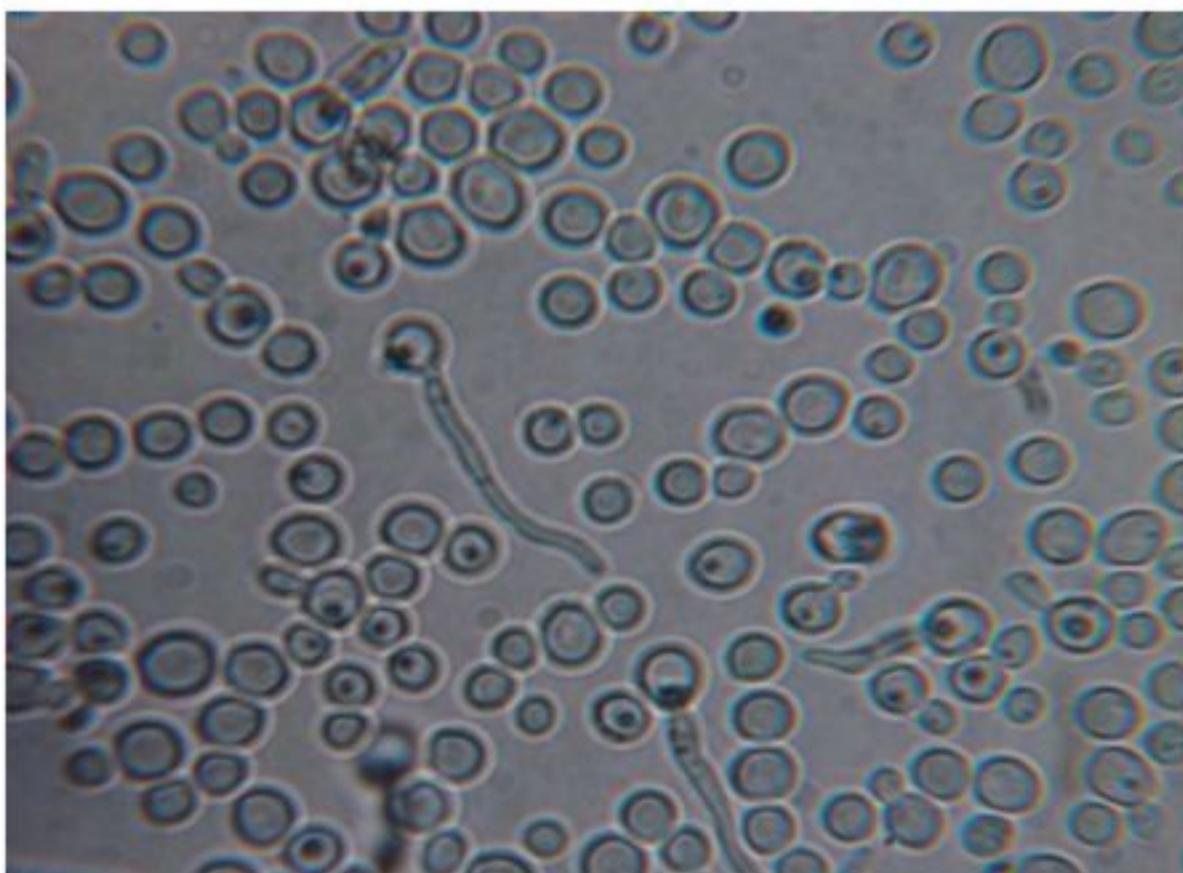


Figura 2 Tubo germinativo.

CAPÍTULO 5 – MICOSES CUTÂNEAS

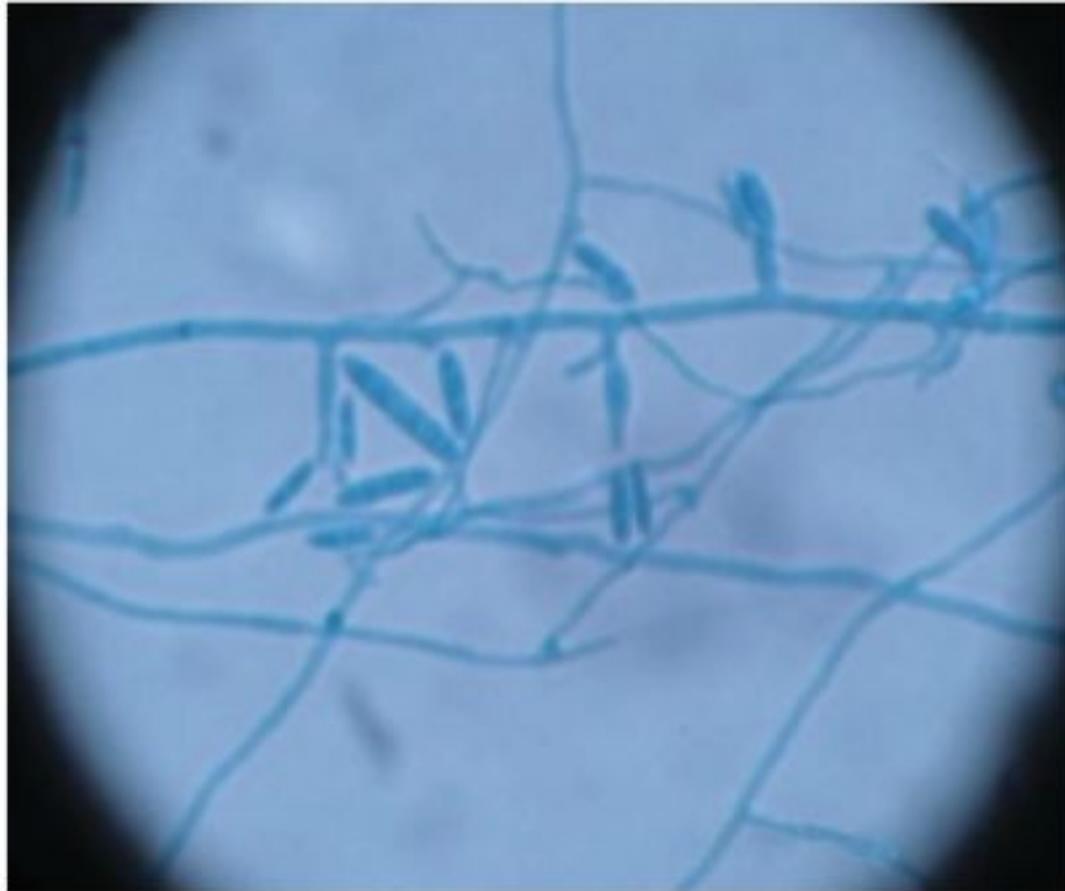


Figura 2 Micromorfologia colonial do *E. floccosum*.

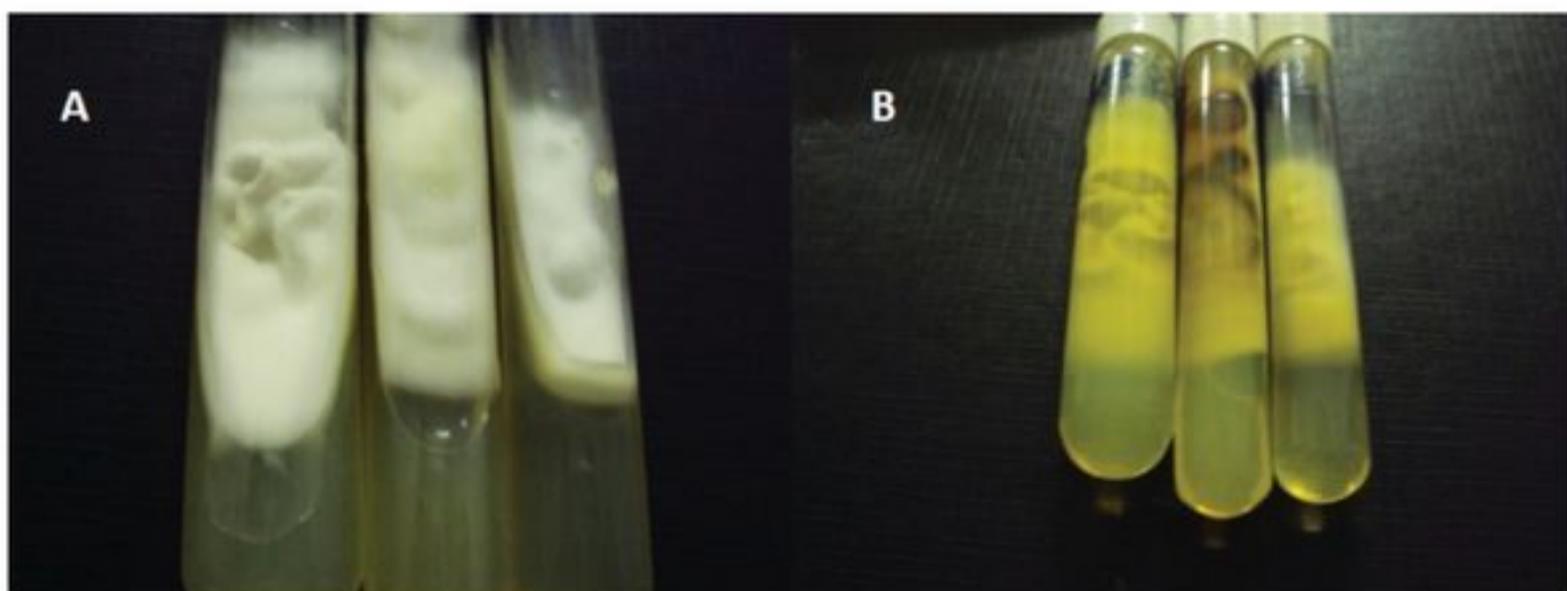


Figura 8 Frente e verso da colônia do *Trichophyton rubrum*, comparando com colônias de *Epidermophyton floccosum* (A) e *Microsporum canis* (B).

CAPÍTULO 6 – MICOSES SUBCUTÂNEAS

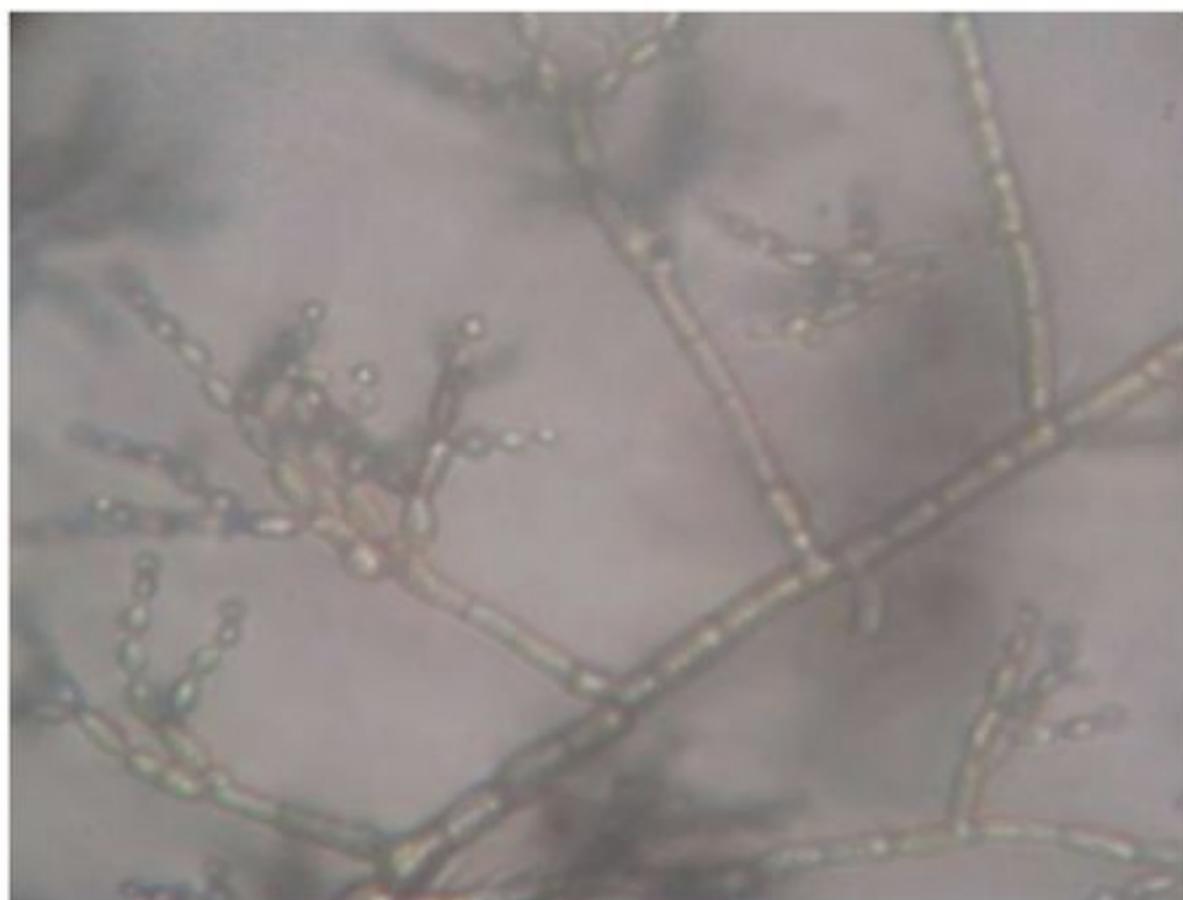


Figura 4 Reprodução tipo *cladosporium*.

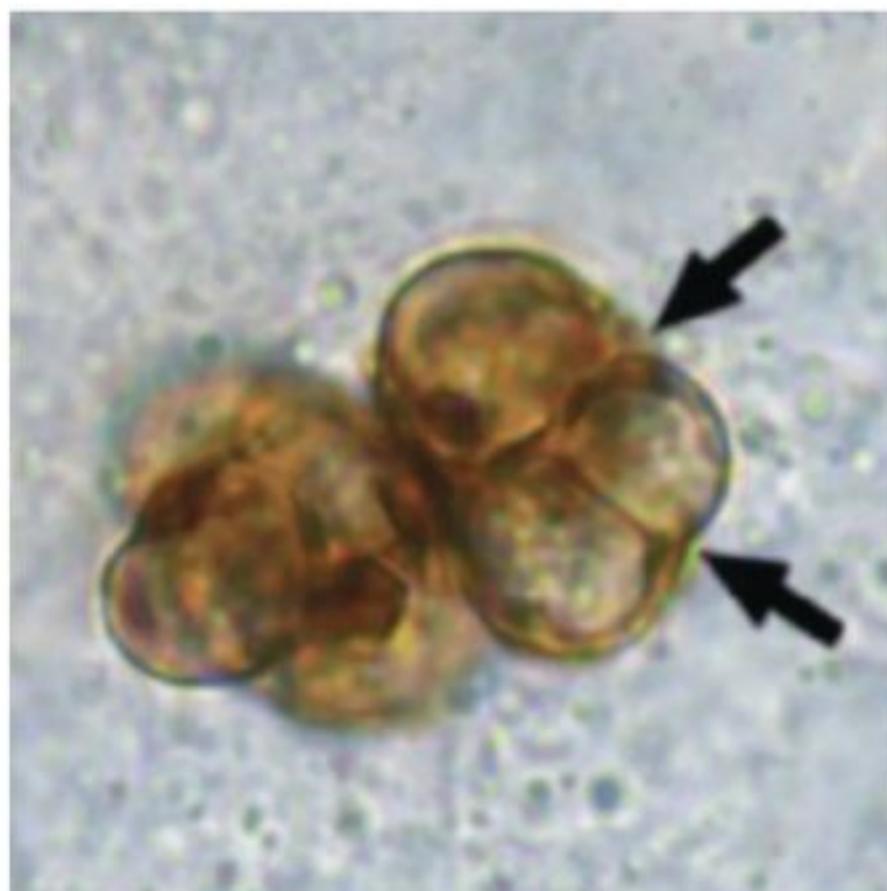


Figura 5 Estrutura moriforme, corpo esclerótico ou corpo fumagoide. Fonte: Salgado et al. (2004).

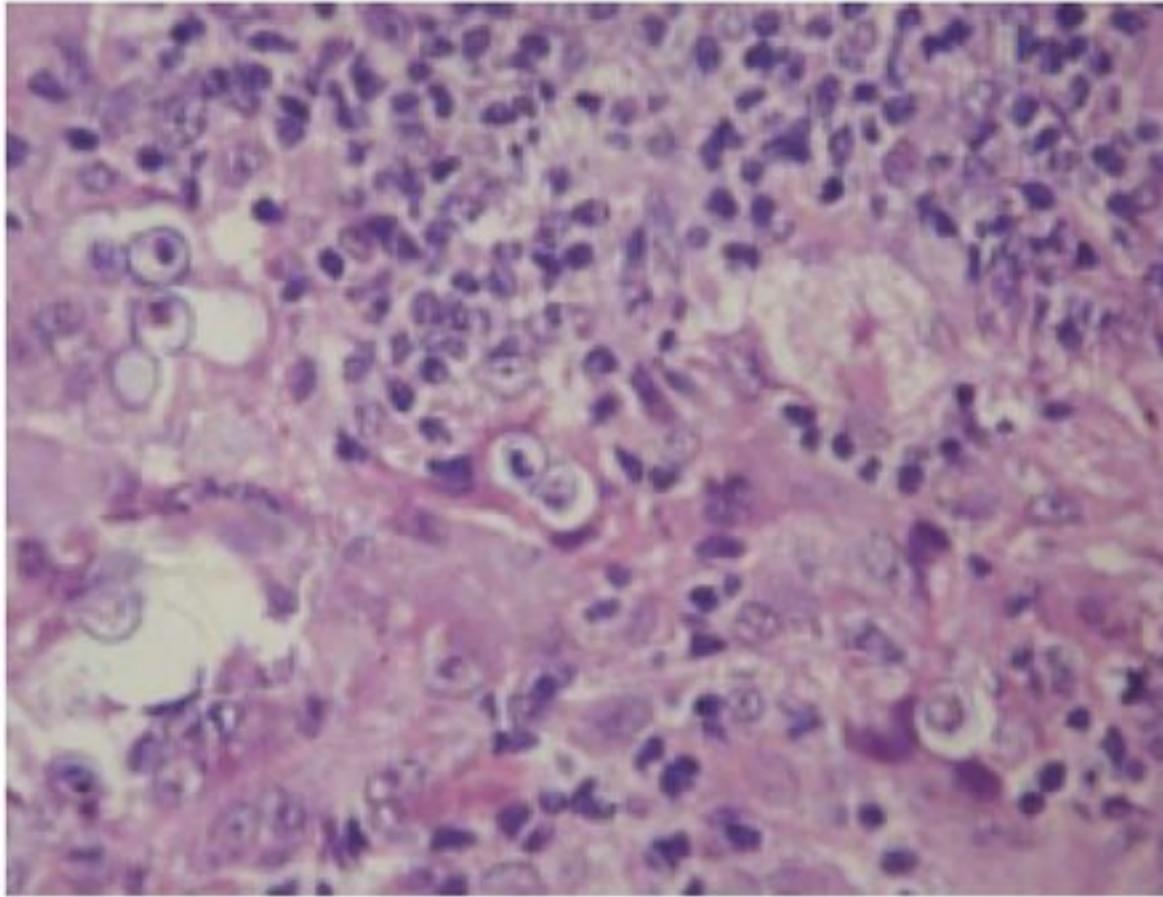


Figura 6 Exame direto: formas arredondadas, membrana dupla, catenular. Fonte: Talhari et al. (2010).

CAPÍTULO 8 – OUTRAS MICOSES



Figura 2 Cultura de *Cryptococcus* sp. em ágar níger. Fonte: Lugarine (2007).

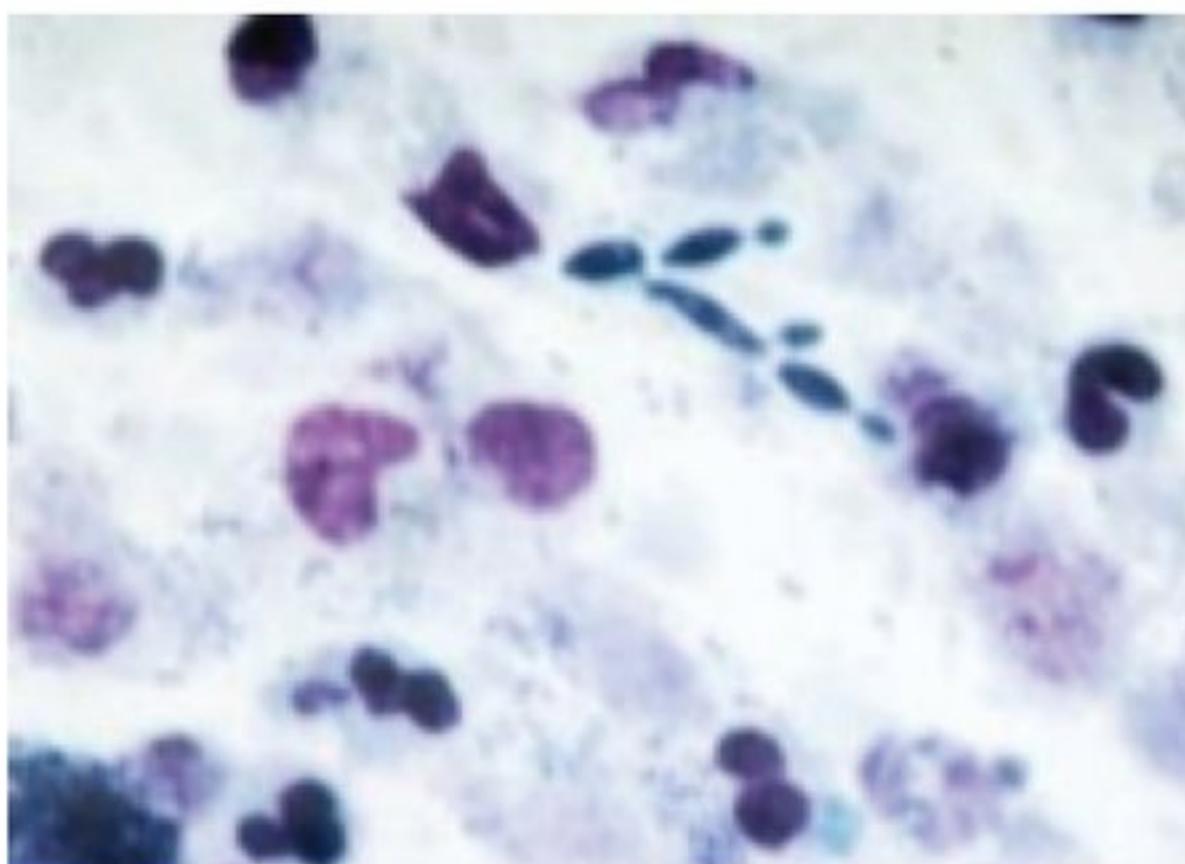


Figura 3 Célula leveduriforme em brotamento e pseudo-hifa.



Figura 5 Exame direto dos fungos da classe Zygomycetes. Fonte: Malhotra et al. (2009).



Figura 12 Micromorfologia colonial do *Fusarium* sp.

Adelina Mezzari

Diretora do curso de Farmácia da Fundação Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre (UFCSPA). Docente da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) e dos cursos de Farmácia, Medicina, Biomedicina, Nutrição, Enfermagem e Fisioterapia da UFCSPA. Pós-doutora pelo Programa de Pós-graduação em Informática na Educação do Centro Interdisciplinar de Novas Tecnologias na Educação da UFRGS. Doutora na área de Microbiologia com ênfase em Micologia pelo Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias da UFRGS. Mestre em Microbiologia Clínica pela UFCSPA. Líder de grupo de pesquisa no Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) com enfoque na Caracterização da Epidemiologia, Virulência e Suscetibilidade dos Fungos Agentes das Micoses de Interesse Clínico.

Alexandre Meneghello Fuentesfria

Docente da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS). Docente e Orientador *stricto sensu* do Programa de Pós-graduação em Microbiologia Agrícola e do Ambiente da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (PPGMAA/UFRGS). Doutor em Ciências – Biologia Celular e Molecular pela UFRGS. Mestre em Microbiologia Ambiental (área de concentração em Micologia) pela UFRGS. Desenvolve pesquisas com identificação fenotípica e molecular de fungos, formação e inibição de biofilme de espécies fúngicas emergentes e avaliação de sua suscetibilidade a antifúngicos comerciais, sanitizantes, antimicrobianos nanoencapsulados, extratos brutos, óleos voláteis e biomoléculas ativas de plantas medicinais.