

Diagnóstico Laboratorial das Micoses

Sequência diagnóstica de uma dermatofitose (tinea unguium)



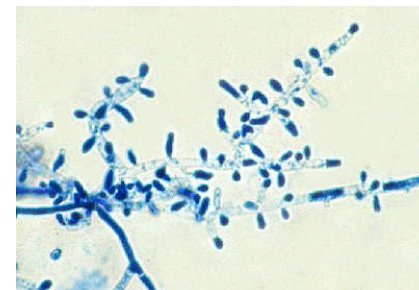
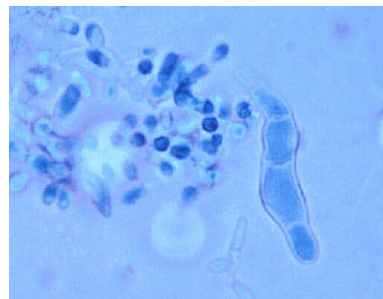
clínico



Exame direto



cultivo



Microscopia

O diagnóstico depende sempre de:

→ Coleta apropriada e cuidadosamente estocada

→ Coleta de informações do paciente (sexo, idade, profissão...)

→ Processamento do material

→ Interpretação dos resultados

Principais Técnicas para Diagnóstico em Micologia Médica

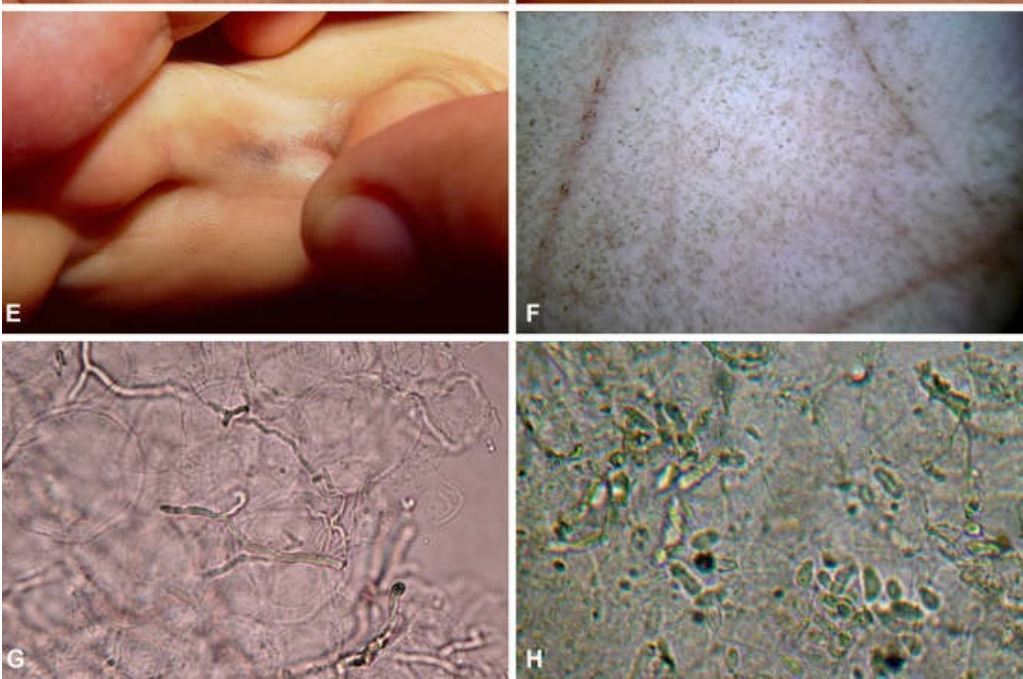
1. Exame micológico direto

→ simples e barato

→ materiais clínicos: escamas, pelos, unhas, secreção, pus, crostas, grãos, espécime de biópsia, líquido, urina.

→ muito útil para as micoses superficiais, cutânea e subcutânea e também algumas sistêmicas.

Stud Mycol. 2008; 61: 77–82.



The Lancet 364: 1173-1182 (2004)

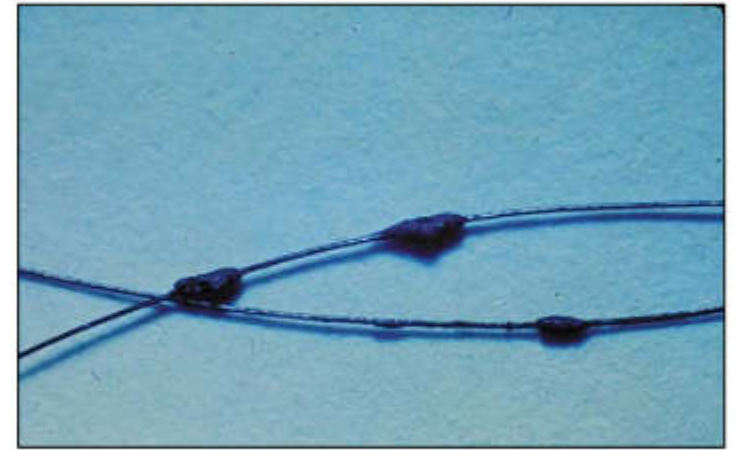
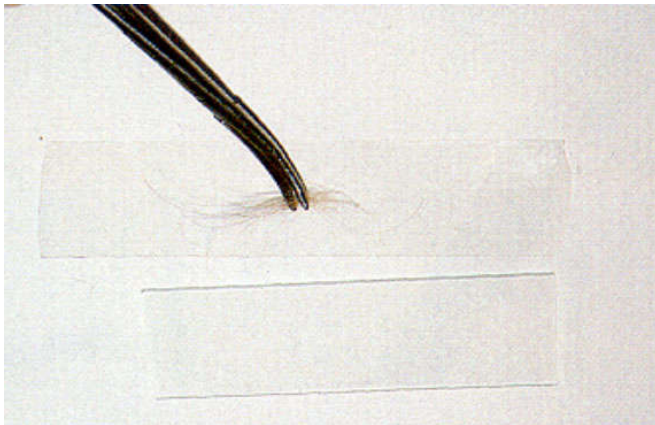


Figure 4: Black piedra as darkly pigmented, firmly attached nodules
Courtesy of Prof Luiz Guilherme Martins Castro, São Paulo, Brazil.



2. Cultura

→ Indispensável para o isolamento e a identificação do fungo patogênico

→ Quando isolado de sítios estéreis (liquor e sangue tem significado importante), de materiais como pus, escarro e urina deve ser interpretado com cautela

→ meio de cultivo predominante é o Ágar Sabouraud

Isolado de pele

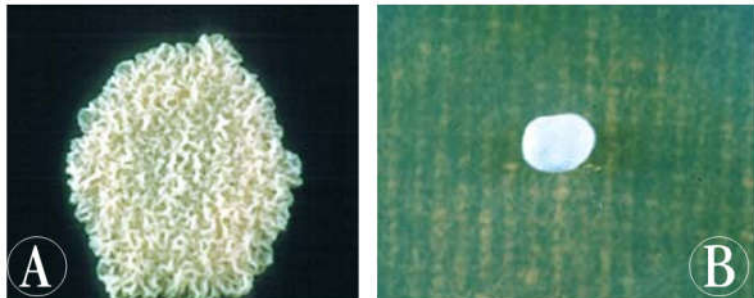


M. canis

Escarro

37°C

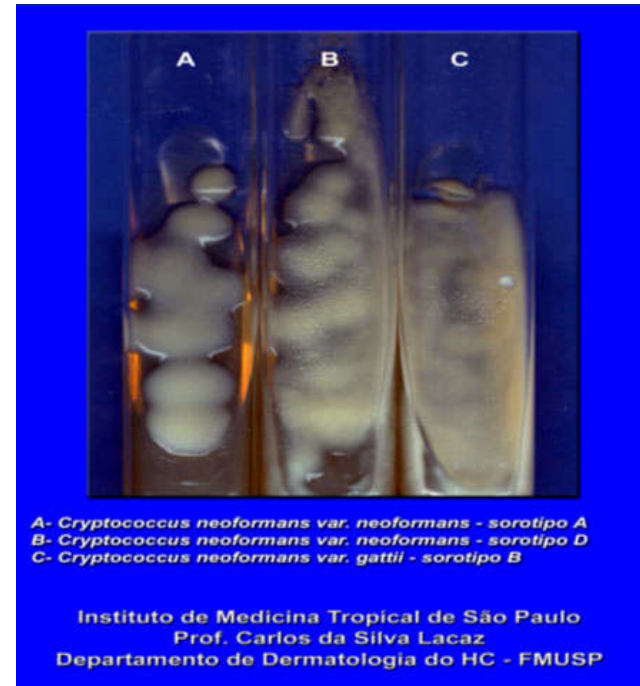
20°C



Rev Soc Bra Med Trop 39(3):297-310

P. brasiliensis

Liquor



A- *Cryptococcus neoformans* var. *neoformans* - sorotipo A
B- *Cryptococcus neoformans* var. *neoformans* - sorotipo D
C- *Cryptococcus neoformans* var. *gattii* - sorotipo B

Instituto de Medicina Tropical de São Paulo
Prof. Carlos da Silva Lacaz
Departamento de Dermatologia do HC - FMUSP

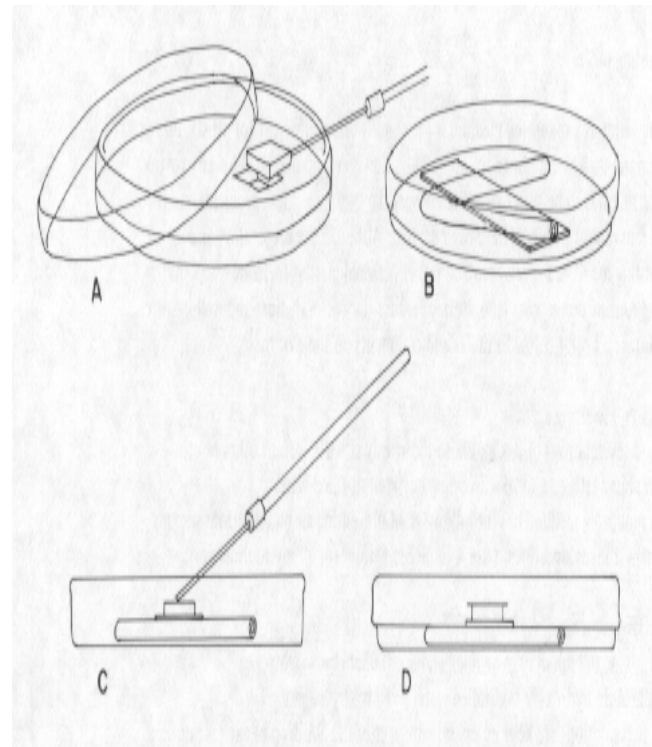
C. neoformans

3- Microcultivo

→ cultivo em um pequeno bloco de agar colocado entre lâmina e lâminula para microscopia

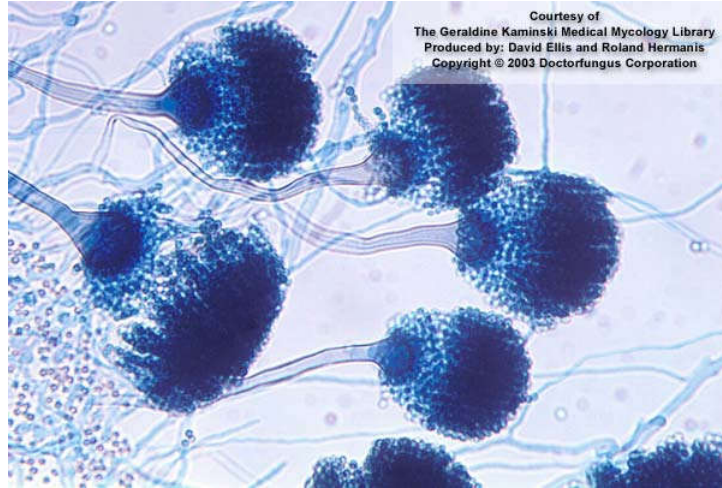
→ Estudo dos aspectos microscópicos característicos

→ Micélio vegetativo e micélio reprodutivo





M. canis



A. fumigatus



P. funiculosum



C. albicans

4- Testes Biológicos

Normalmente são utilizados como forma de distinguir espécies dentro de um mesmo gênero. Exemplos:

- Testes de crescimento em meio de cultivo seletivo
- Análise de pigmentação
- Testes de perfuração de pelo

C. neoformans vs *C. gatti* em meio CGB



Figura 1 - A: Aspecto microscópico de segmento de pulmão afetado pelo *Cryptococcus neoformans*. Os alvéolos estão totalmente preenchidos por fungos com membrana de duplo contorno e que se reproduzem por brotamento simples. Os fungos estão separados entre si por espessa cápsula mucopolissacarídica, não individualizável nesta coloração (HE). Este é o aspecto mais característico da espécie. A cápsula tem espessura semelhante ao diâmetro do corpo celular do fungo. **B -** Imagem microscópica de *Cryptococcus* corada pela tinta nanquim. **C -** Meio de cultivo CGB diferenciando *Cryptococcus neoformans* (amarelo claro) de *Cryptococcus gattii* (em azul).

Fotos B e C: gentilmente cedidas pelo Prof. I. C. Severo



T. mentagrophytes → Perfura o pelo

T. Rubru → Não perfura o pelo



5- Testes Bioquímicos

Também utilizados na distinção entre espécies próximas.

→ Avaliam capacidades bioquímicas específicas, ex:

→ Capacidade fermentativa (zimograma)

→ Capacidade assimilação nutrientes (auxanograma)

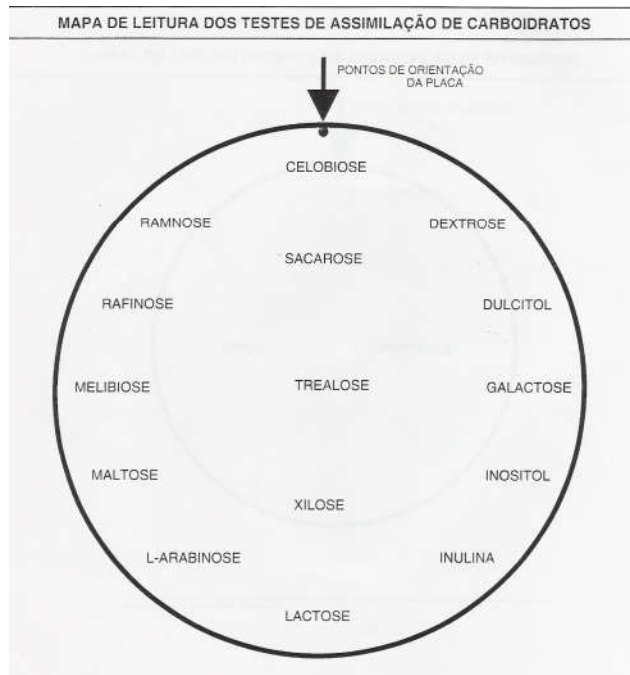
→ Utilização de uréia (prova da urease)

Quadro 9.1 Identificação das principais leveduras de interesse clínico

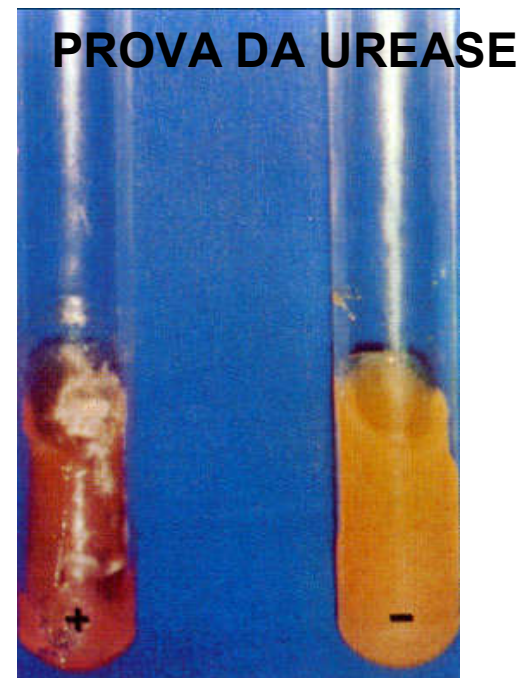
LEVEDURAS	Assimilação															Fermentação						Cap	Tg	U	KNO ₃
	Inu	Ram	Ara	Gli	Sac	Lac	Gal	Raf	Ino	Xil	Cel	Tre	Dul	Mal	Mel	Gli	Sac	Lac	Gal	Tre	Mal				
<i>Candida albicans</i>	NT	NT	NT	+	V	-	+	-	-	+	-	+	-	+	-	G	-	-	V	G	G	-	+	-	-
<i>C. guilliermondii</i>	-	NT	NT	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	V	G	G	-	V	G	-	-	-	-	
<i>C. krusei</i>	NT	NT	NT	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	G	-	-	-	-	-	V	-	V	
<i>C. parapsilosis</i>	-	NT	+	+	+	-	+	-	-	+	-	+	-	+	-	V	-	-	V	V	-	-	-	-	
<i>C. pseudotropicalis</i>	+	NT	NT	+	+	+	V	+	-	V	V	V	-	V	-	G	G	G	G	-	-	-	-		
<i>C. stellatoidea</i>	NT	NT	NT	+	-	-	+	-	-	+	-	+	-	+	-	G	-	-	-	-	G	-	+	-	
<i>C. tropicalis</i>	NT	-	-	+	+	-	+	-	-	+	V	+	-	+	-	V	V	-	G	G	G	-	-	-	
<i>C. zeylanoides</i>	NT	NT	NT	+	-	-	V	-	-	-	V	+	-	-	-	V	-	-	-	V	-	-	-		
<i>C. lambica</i>	NT	NT	NT	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	G	-	-	-	-	-	V	-		
<i>C. lipolytica</i>	NT	NT	NT	+	-	-	-	-	-	-	V	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	V	+		
<i>C. lusitanae</i>	NT	+	NT	+	+	-	V	-	-	+	+	+	-	+	-	G	V	-	V	V	-	-	-		
<i>C. rugosa</i>	NT	NT	NT	+	-	-	+	-	-	V	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
<i>C. famata</i>	NT	NT	NT	+	V	V	+	+	-	+	V	V	+	+	V	V	V	-	-	G	V	-	-		
<i>C. glabrata</i>	NT	NT	NT	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	G	-	-	-	G	-	-	-		
<i>Cryptococcus neoformans</i>	NT	NT	NT	+	+	-	+	V	+	+	V	V	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-		
<i>C. albidus</i>	NT	NT	NT	+	+	V	V	V	V	+	+	V	V	+	V	-	-	-	-	-	-	V	-		
<i>C. gastricus</i>	NT	NT	NT	+	V	V	+	-	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-		
<i>C. laurentii</i>	NT	NT	NT	+	+	+	+	V	+	+	+	+	+	+	V	-	-	-	-	-	-	+	-		
<i>C. terreus</i>	NT	NT	NT	+	-	V	V	-	+	+	+	V	V	V	-	-	-	-	-	-	-	+	-		
<i>C. luteolus</i>	NT	NT	NT	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+		
<i>C. uniguttulatus</i>	NT	NT	NT	+	+	-	V	V	+	+	V	V	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-		
<i>Rhodotorula rubra</i>	NT	NT	NT	+	+	-	V	+	-	+	V	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	V	-		
<i>R. glutinis</i>	NT	NT	NT	+	+	-	V	V	-	+	V	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	V	-		
<i>Trichosporon inkii</i>	-	-	V	+	+	+	V	-	+	+	+	+	NT	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+		
<i>T. ovoides</i>	-	+	V	+	+	+	+	V	+	+	+	V	NT	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+		
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	NT	NT	NT	+	+	-	+	V	-	-	-	V	-	V	-	G	G	-	G	V	G	-	-		
<i>Geotrichum candidum</i>	NT	NT	NT	+	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
<i>G. capitatum</i>	NT	NT	NT	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
<i>Hansenula anomala</i>	NT	-	NT	+	+	-	V	V	-	V	+	+	-	+	-	G	G	-	V	V	V	-	-		

NT = não testado; G = produção de gás; + = positivo; - = negativo; V = variável; Inu = inulina; Ram=L-ramnose; Ara = L-arabinose; Gli = glicose; Sac = sacarose; Lac = lactose; Gal = D-galactose; Raf = rafinose; Ino = inositol; Xil = D-xilose; Cel = celobiose; Tre = trealose; Dul = dulcitol; Mal = maltose; Mel = melibiose; Cap = cápsula; Tg = tubo germinativo; U = urease; KNO₃ = nitrato de potássio.

Auxanograma



Zimograma



T. mentagrophuytes

T. rubrum

Anatomopatológico

→ Demonstração de elementos fúngicos em tecidos

Cromoblastomicose

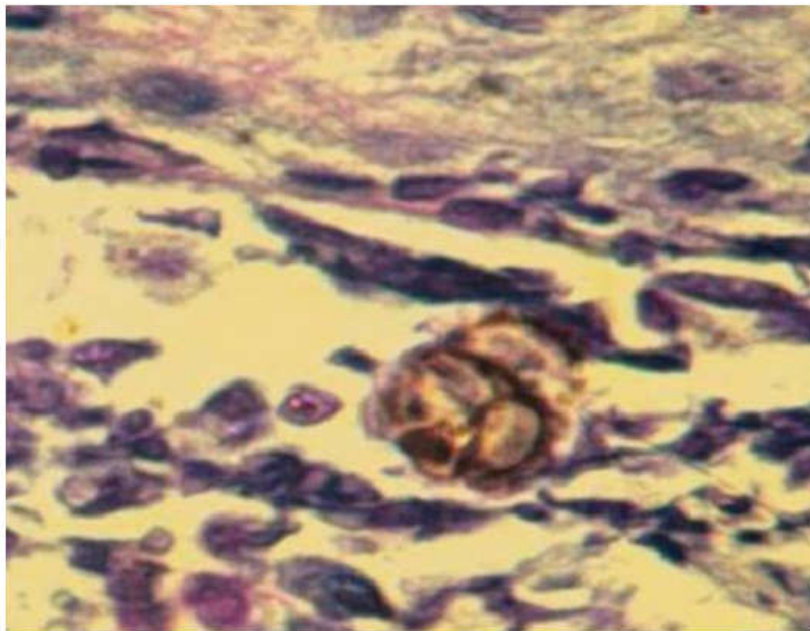
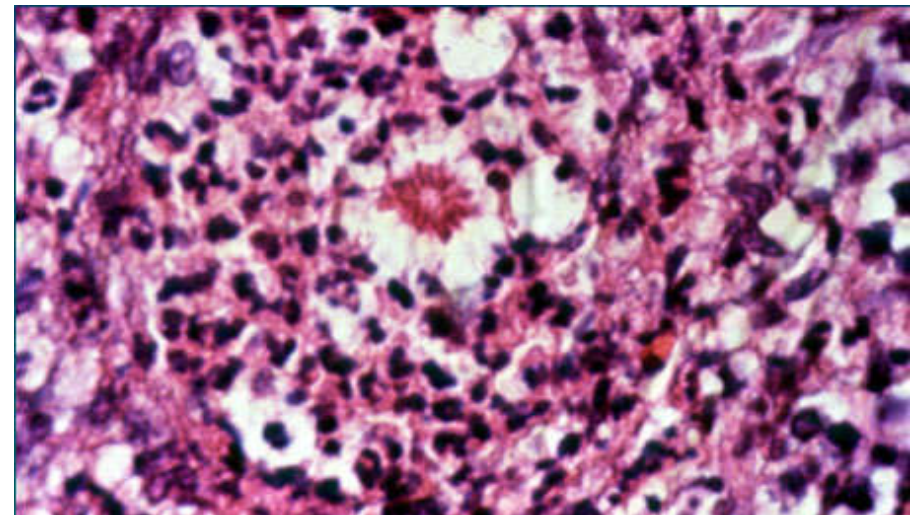


FIGURA 3: Biópsia de pele mostrando célula muriforme típica (corpo esclerótico) em meio a um microabscesso. PAS x 1000

An.Bras.Dermatol (2011) 86:138-141

Esporotricose



CORPO ASTERÓIDE

Criptococose

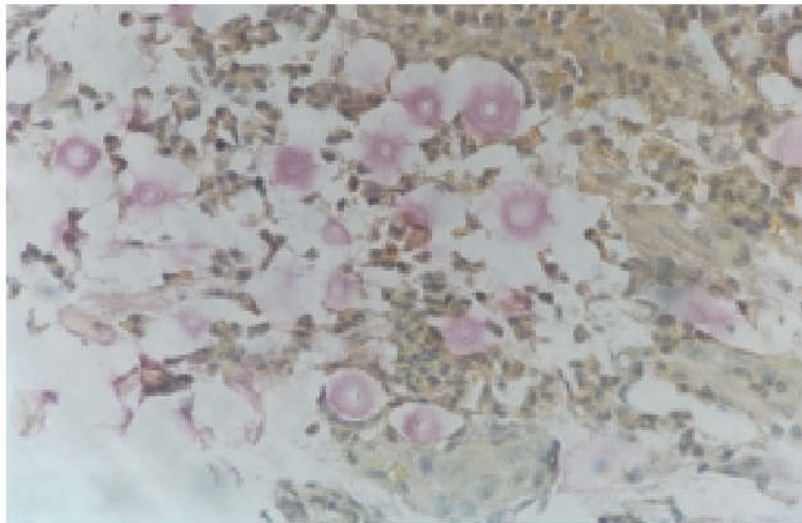


Fig. 3 - Histopathological slides positive for *C. neoformans* (mucicarmine method, 500x).

Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo
44 (4):225-228, July-August, 2002.

Paracoccidioidomicose

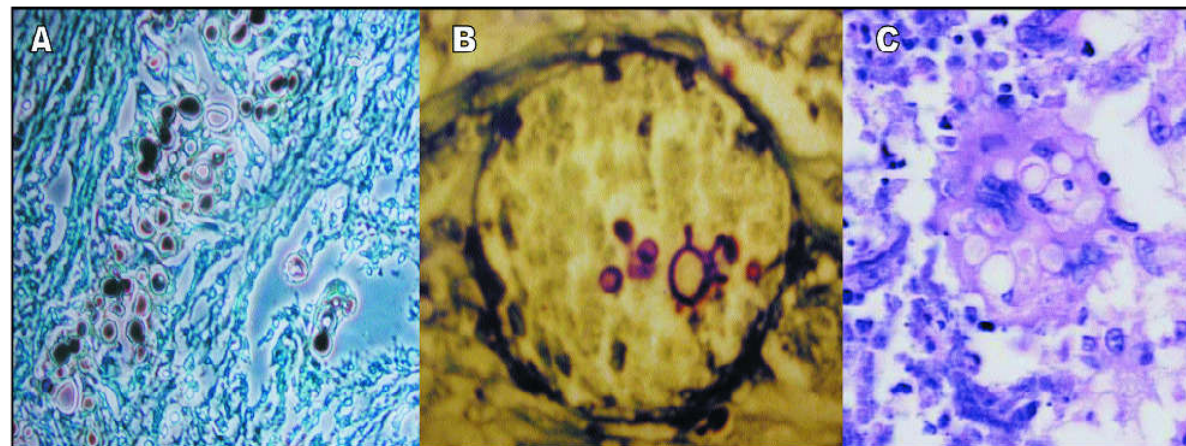


Fig 3. Cortes histológicas demonstrando o *P. brasiliensis*. Coloração de Grocott, 200X), A, Prata (600X), B, e HE (200X), C.

Arq Neuropsiquiatr 2006;64(2-A)

7- Luz UV (Lâmpada de Wood)

→ auxílio no diagnóstico e controle de micoses superficiais e cutâneas



Presença sugestiva de *M. canis*

8- Intradermorreação:

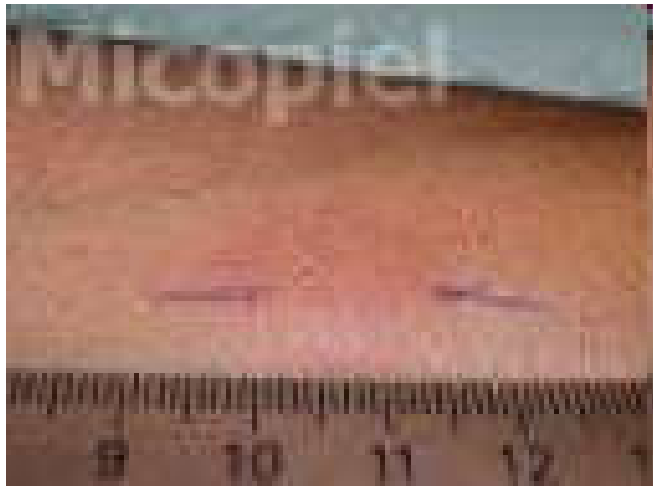
→ Injeção intradérmica de antígeno padronizado na face anterior do antebraço.

→ Leitura após 48h, e considera-se positivo o surgimento de pápula eritematosa igual ou maior que 5mm

→ Resultado pode indicar: infecção ativa, passada ou apenas sensibilização ao antígeno

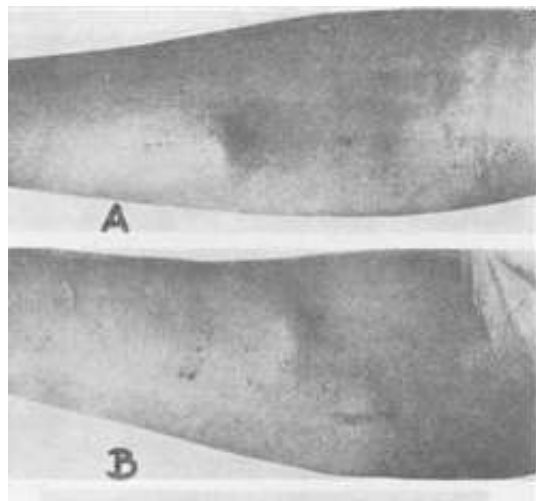
→ Utilizada com frequência em inquéritos epidemiológicos em regiões endêmicas de micoses.

Reações Intradérmicas positivas



Piel Latinoamericana caso clinico # 22

Paracoccidiodina



Esporotriquina

Annals Bras. Dermatol 25:1

9- Sorologia

→ Auxílio no diagnóstico e na avaliação prognóstica

Mycopathologia (2008) 165:289–302

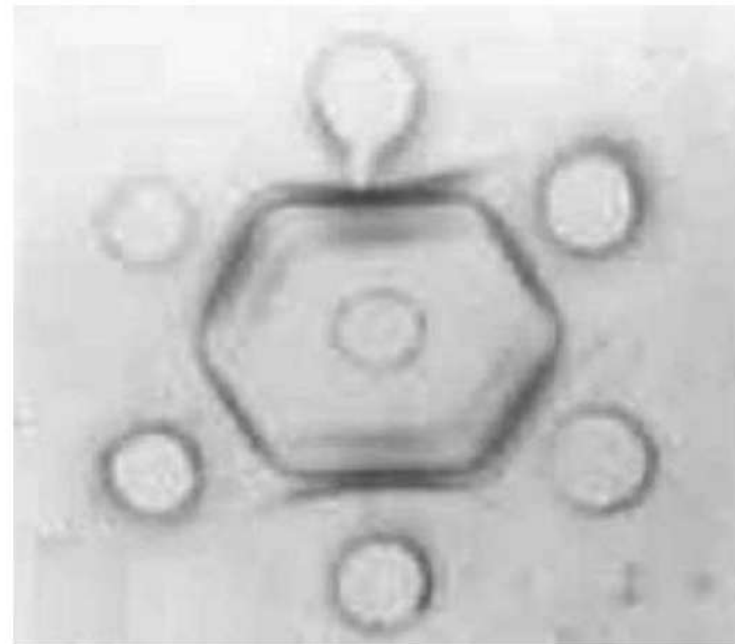
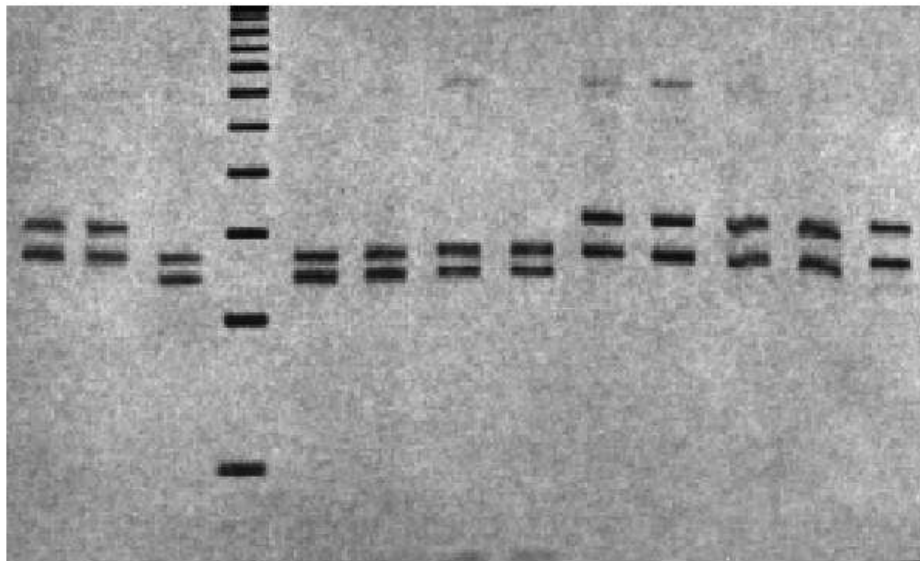


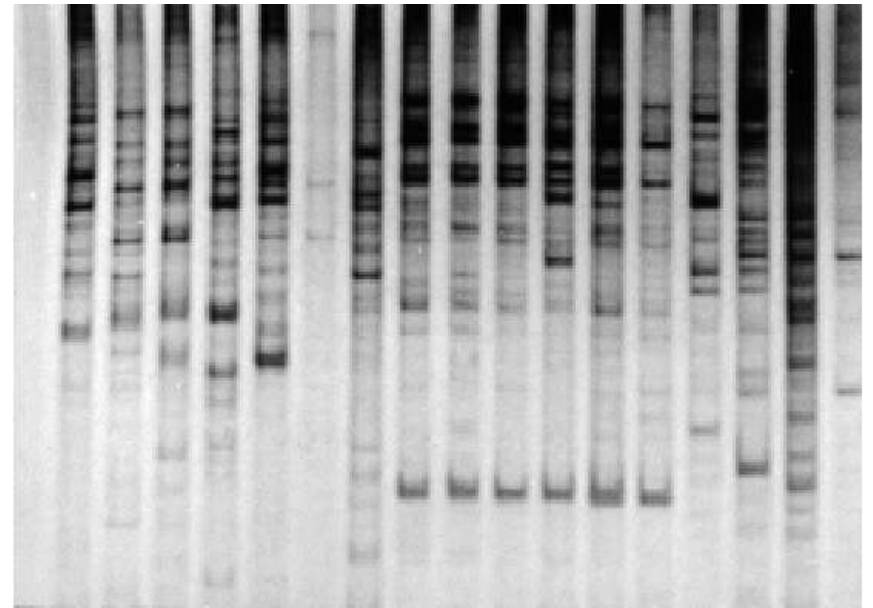
Fig. 2 Immunodiffusion test for paracoccidioidomycosis. In the well center, Ag7 antigen; in the outer wells serum of PCM patients

10- Técnicas Moleculares

→ Frequente o uso de RFLP (*restriction fragment length polymorphism*) e RAPD (*random amplified polymorphic DNA*)



RFLP



RAPD