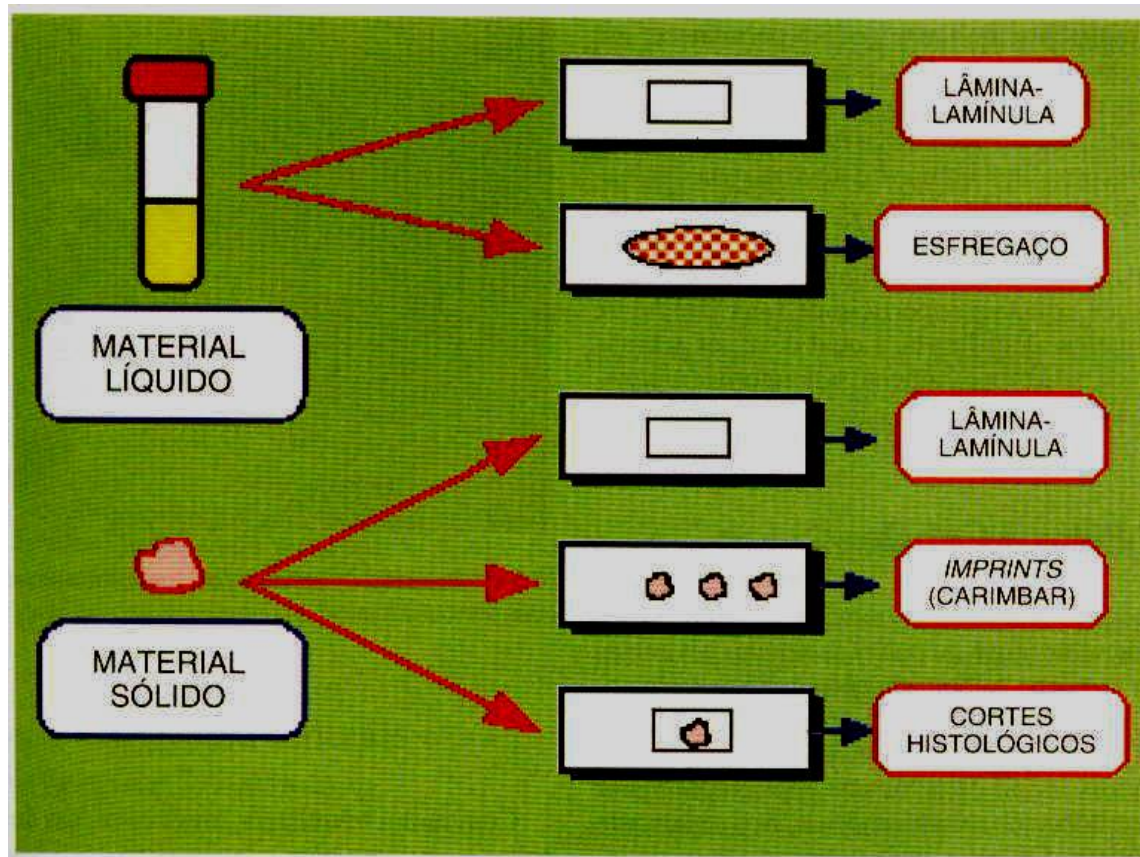


Resumo  
Diagnóstico  
laboratorial das  
micosesII

# Diagnóstico micológico

1. Coleta do material
2. Exame direto
3. Cultura

# Material Clínico



# Coleta de material clínico

## 1º Assepsia

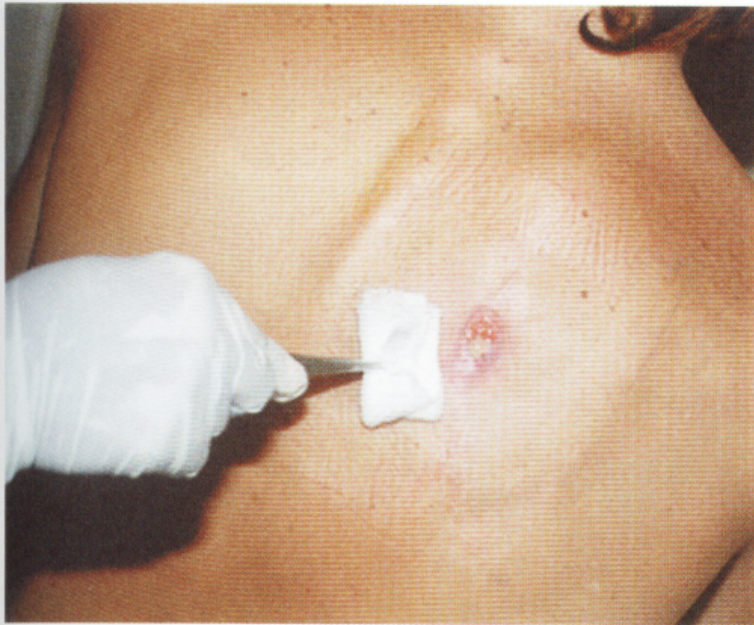


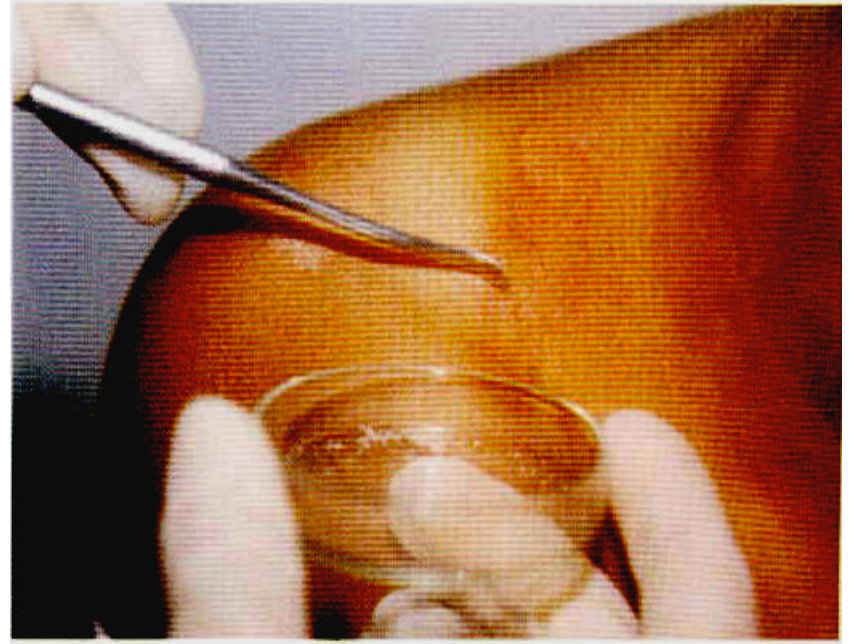
Fig. 4.2 Utilização de técnica asséptica na coleta de material num

# Coleta de material

- Pêlo/Cabelo



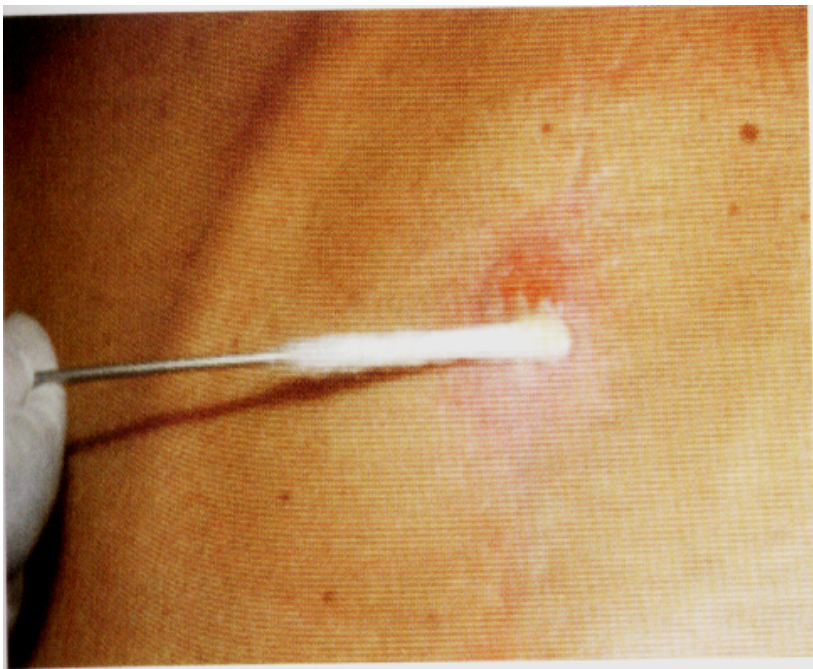
- Pele



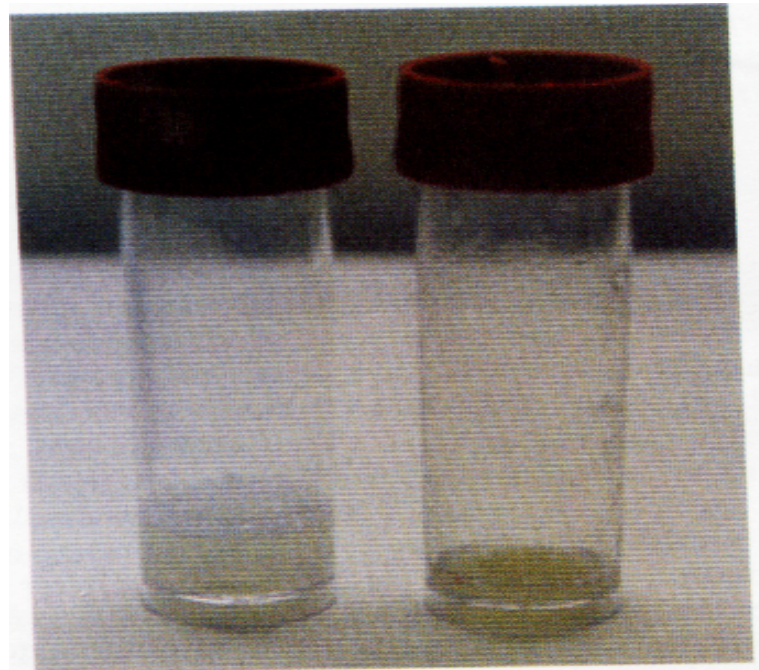
# Unha



-Pus



-Escarro



# Exame microscópico direto

- Material clínico clarificado com KOH 10-20%
- Biópsia:
  - Fragmento do tecido com KOH
  - Histopatológico: Coloração: Gomori, PAS, HE



# Cultura

- Técnica de complemento ao exame microscópico

## Crescimento:

- Filamentoso: 1 a 3 semanas
- Leveduriformes: 3 a 10 dias

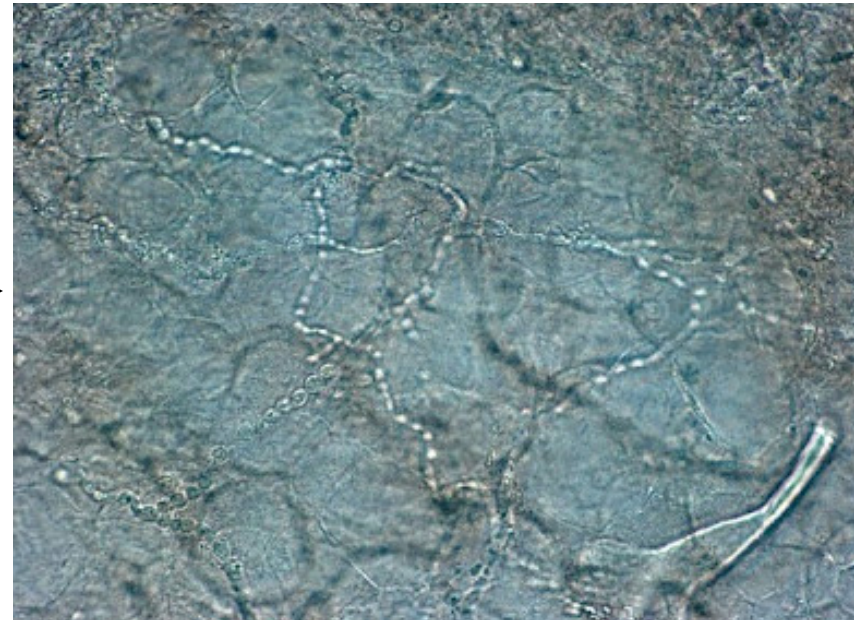
Meio de cultura: Ágar Sabouraud  
+cloranfenicol+cicloheximida

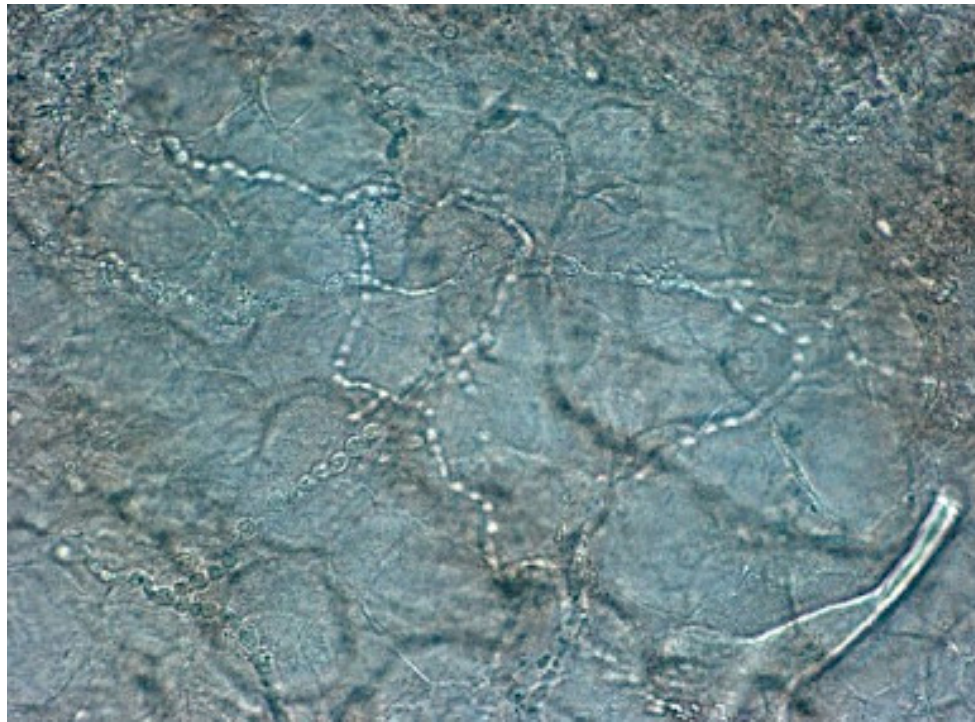
# LAUDO EM MICOLOGIA

Material pele - Exame direto KOH



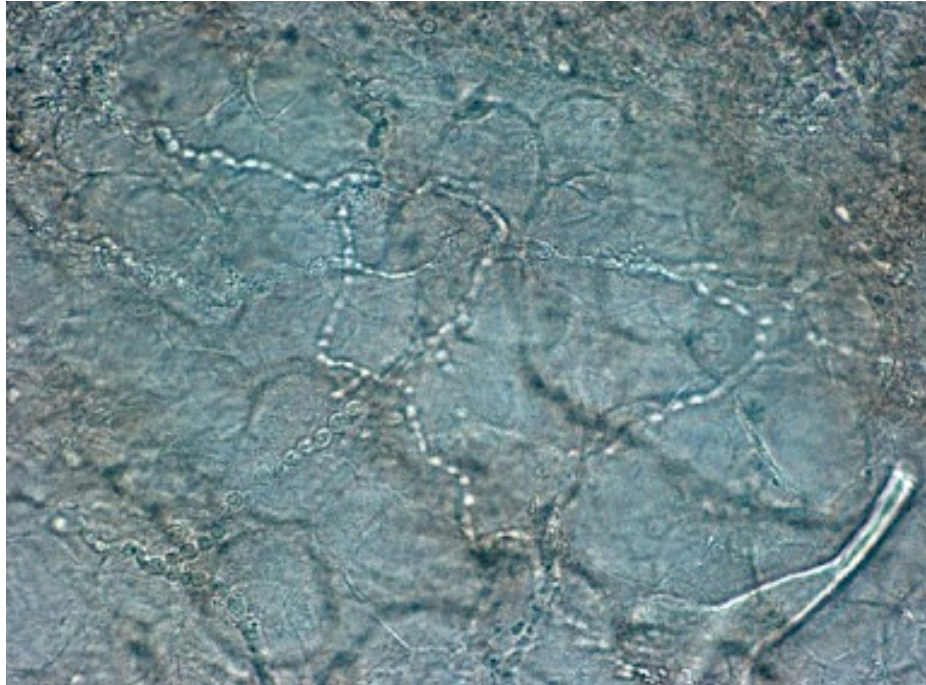
Fig. 12.8 Característica clínica da herpes circinada.





- **1a Etapa** Presença de....
- **2a Etapa** Forma Hifas.....  
 Coloração Hialinas....  
 Septos Septadas.....  
 Achado característico Artroconidiadas
- **3a Etapa** grupamento fúngico Sugestivo de dermatófito

# LAUDO FINAL

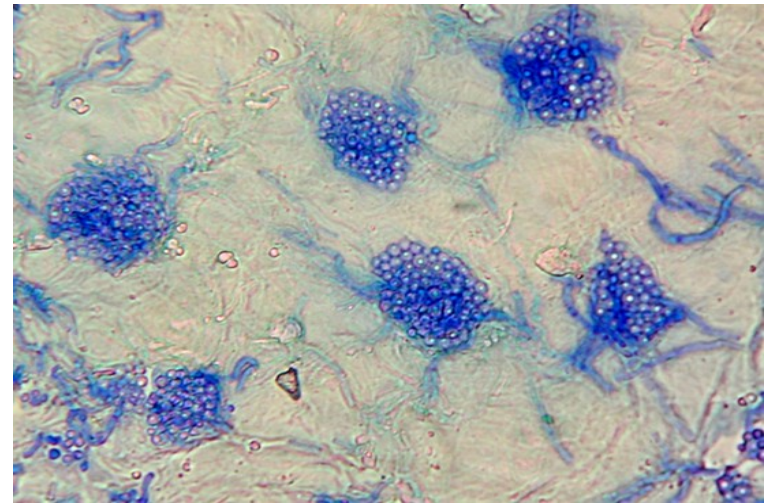


**#Presença de hifas hialinas septadas e artroconidiadas, sugestivas de dermatófitos**

•Laudo final: Após a cultura com o isolamento do patôgeno

•Gênero e espécie: *Microsporum canis*

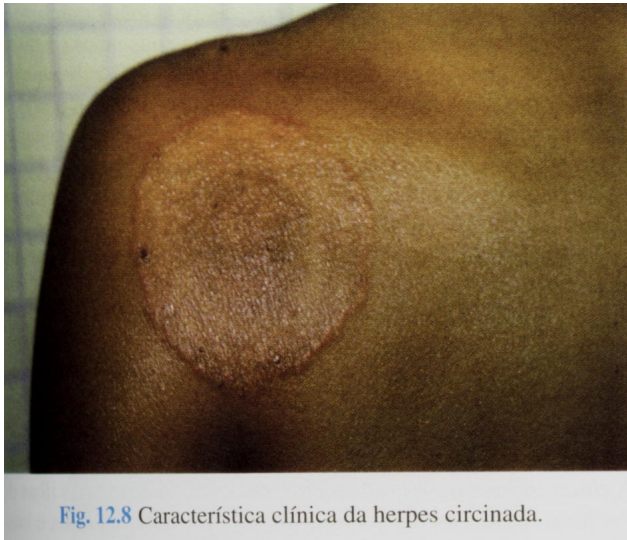
# Micoses Superficiais-Pitiríase versicolor



Exame direto

*Malassezia furfur*

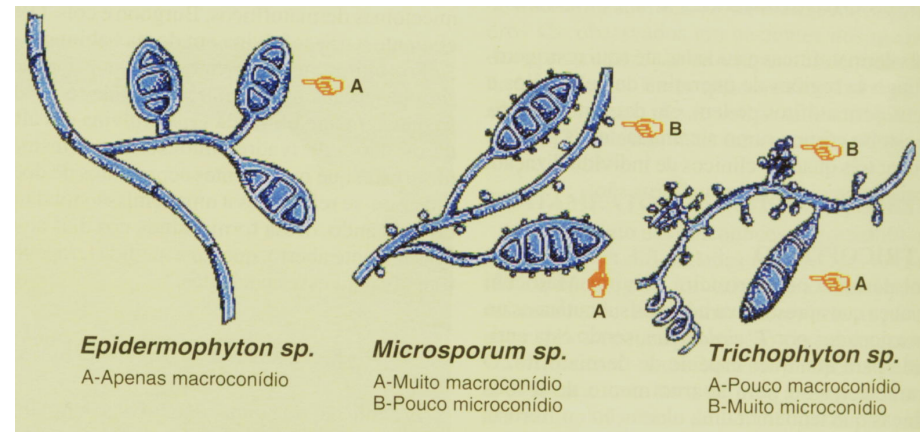
# Micose Cutâneas - DERMATOFITOSE



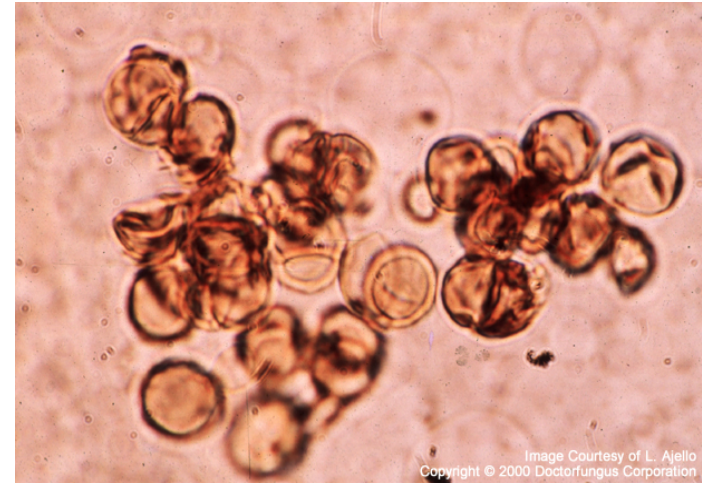
cultura



- Microsporum canis*
- Microsporum gypseum*
- Trichophyton rubrum*
- Trichophyton mentagrophytes*
- Trichophyton tonsurans*
- Epidermophyton floccosum*



# Micoses Sub-cutaneas: Cromoblastomicose

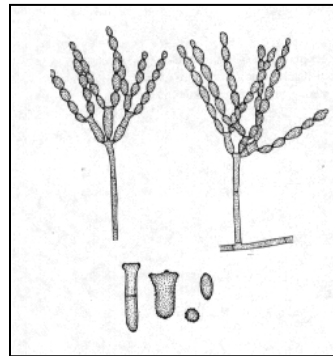


Exame direto

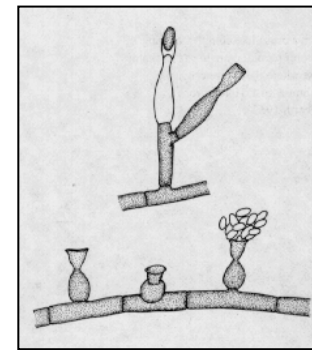
cultura



*Cladosporium*



*Phialophora*

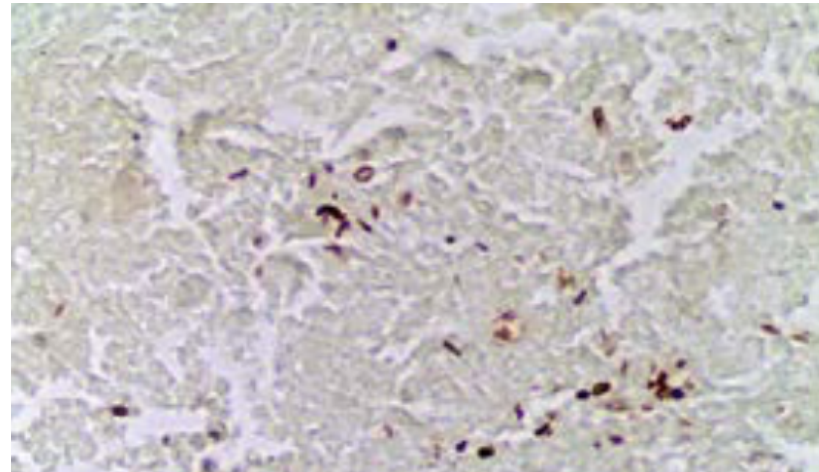


*Rhinocladiella*



*Clodophialophora carrionii*  
*Phialophora verrucosa*  
*Rhinocladiella aquaspersa*  
*Fonsecaea pedrosoi*

# Micoses Sub-cutaneas: esporotricose



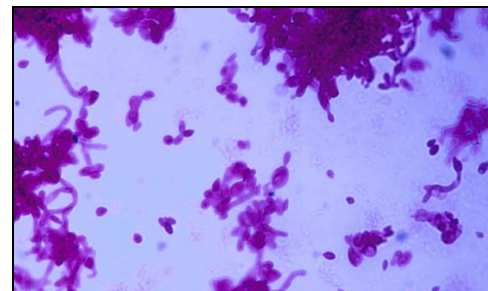
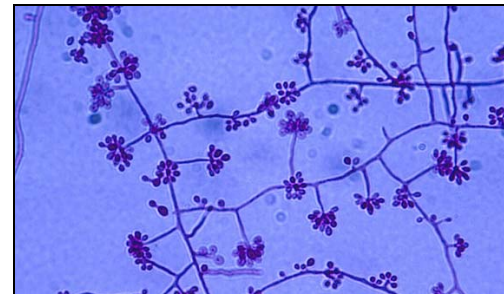
Exame direto de biopsia  
Corado pela Prata

*Sporothrix schenckii*  
*Sporothrix brasiliensis*

cultura

Temp. ambiente

37°C



Dimorfismo  
térmico

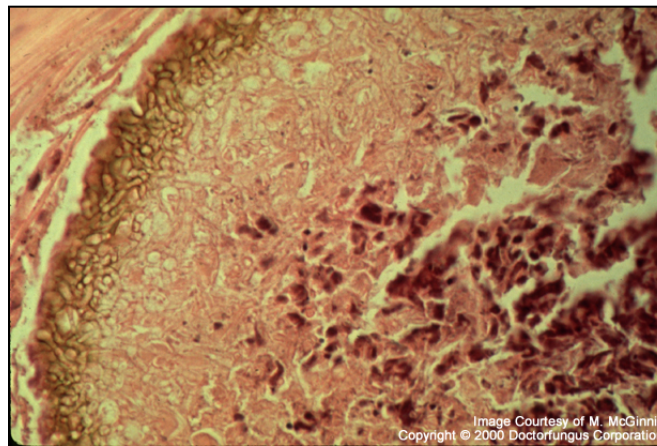


# Micoses Sub-cutaneas:micetoma



*Madurella grisea*  
*Madurella mycetomatis*

maduromicose

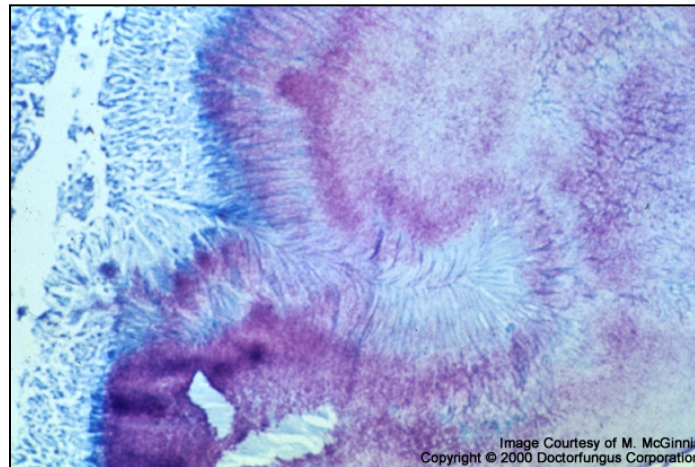


grãos



*Actinomyces israelii*  
*Nocardia brasiliensis*

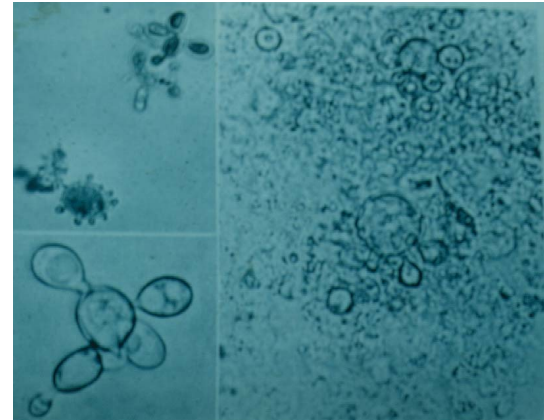
actinomicose



# Micose Sistêmica- Paracoccidioidomicose



Exame direto  
escarro



cultura



37°C



Image Courtesy of L. Ajello  
Copyright © 2000 Doctorfungus Corporation

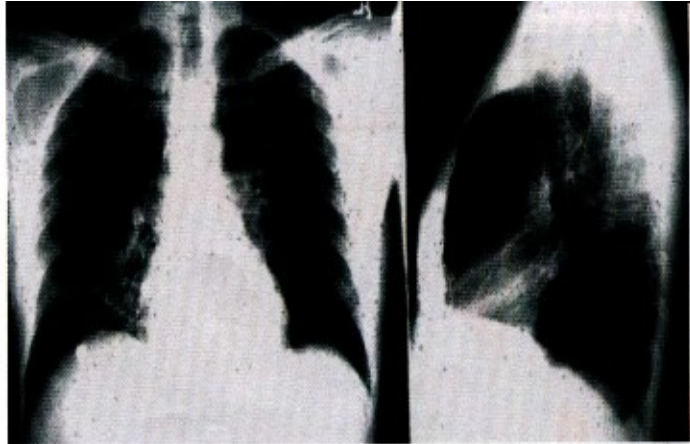


Courtesy of  
The Geraldine Kaminski Medical Mycology Library  
Produced by: David Ellis and Roland Hermanis  
Copyright © 2003 Doctorfungus Corporation

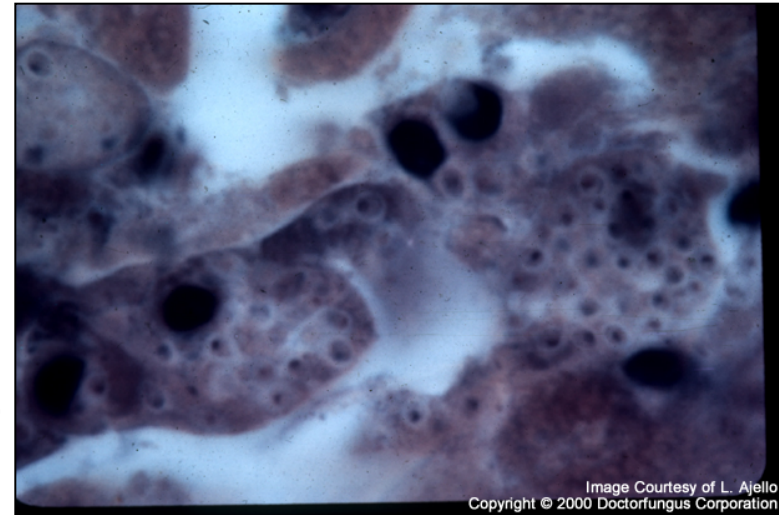
*Paracoccidioides brasiliensis*

**SOROLOGIA**

# Micose Sistêmica- Histoplasmose



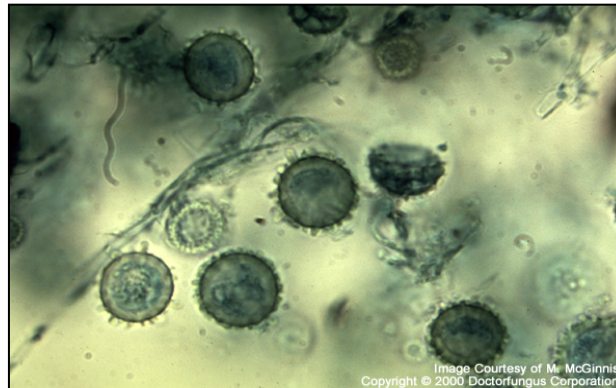
Exame direto  
Escovado bronquico



cultura



25°C



37°C

levedura

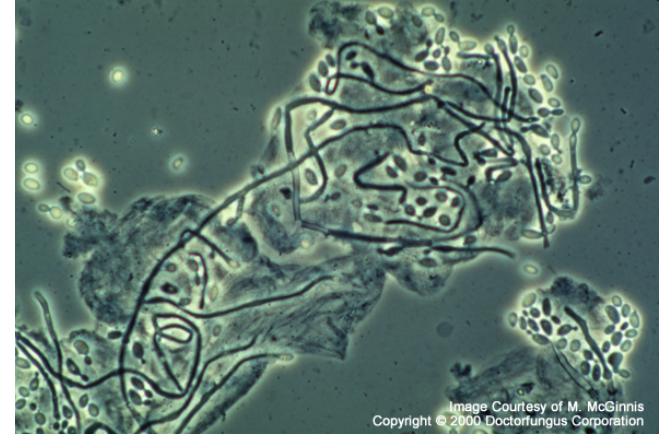
*Histoplasma capsulatum*

**SOROLOGIA**

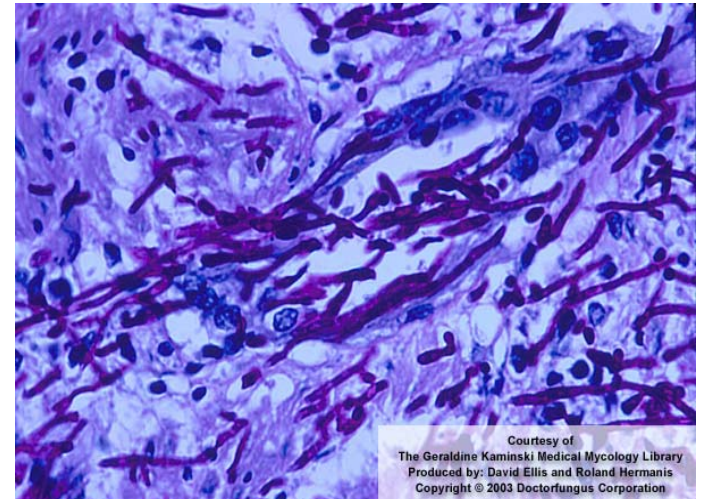
# Micoses oportunistas-candidiases



Exame direto



- Tubo germinativo
- Microcultivo
- Auxanograma
- Zimograma

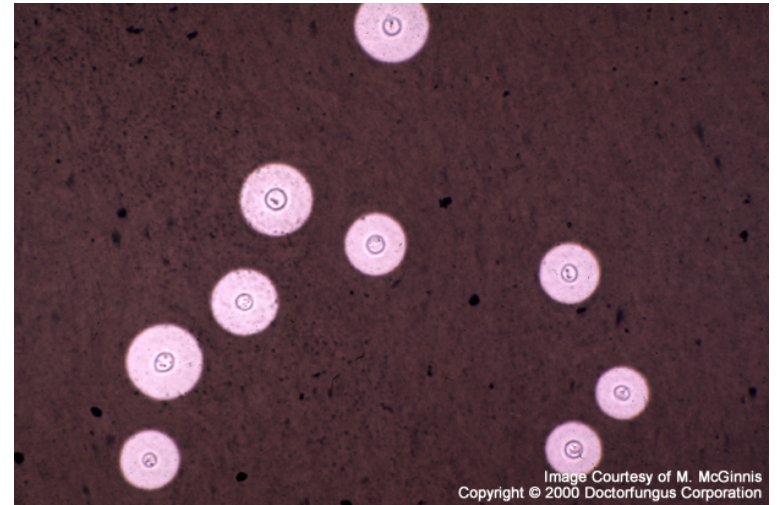


*Candida albicans*

# Micoses oportunistas- criptococose

Exame direto

Líquor  
Tinta da china ou nanquim  
→



cultura



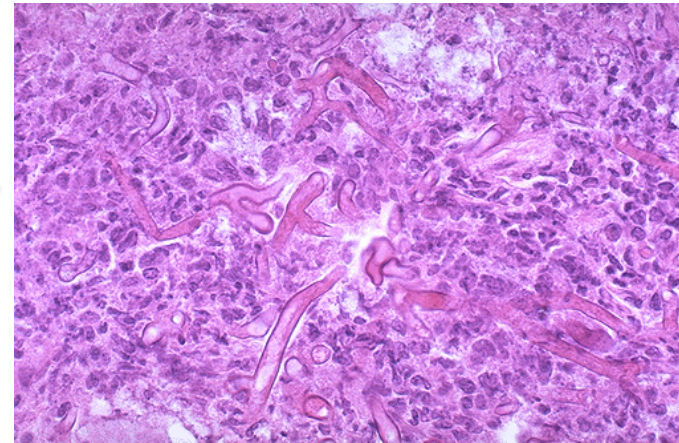
Agar niger: criptococcus +

*Cryptococcus neoformans*

# Micoses oportunistas-zigomicose



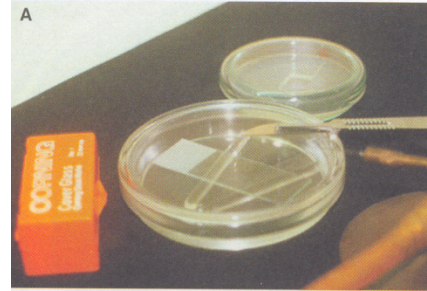
Exame direto ou biopsia



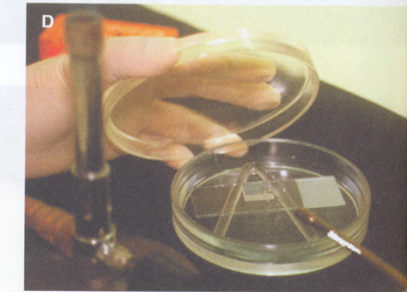
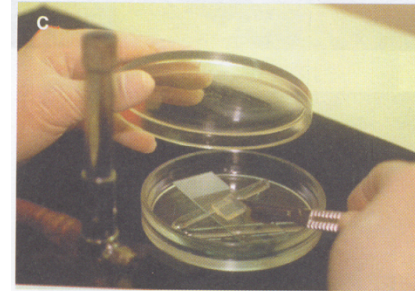
- *Mucor sp*
- *Rhizopus sp*

# Identificação de fungos filamentosos

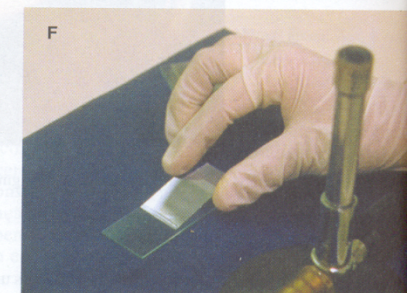
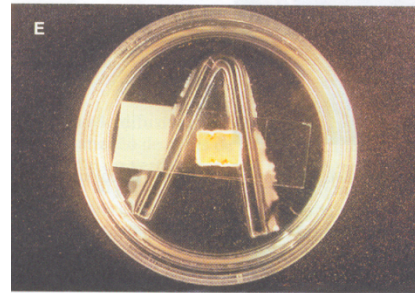
- Técnica do esgarçamento



- Técnica do microcultivo:  
Ágar batata



- **Micélio reprodutivo:** Formado por conídeos ou esporos



## **Técnica de esgarçamento:**

Utilizada como primeira tentativa (mais rápida) para identificação de colônias filamentosas. As estruturas fúngicas são quebradas, tornando-se mais difícil a identificação.

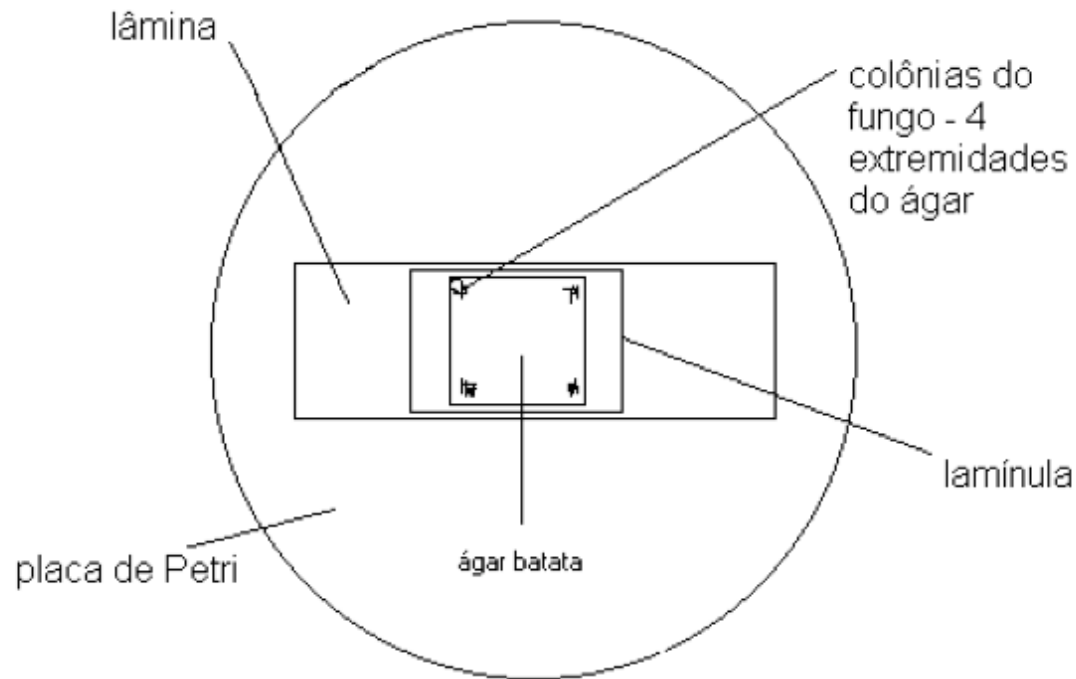
Com alça de platina em “L”, retirar um pedaço da colônia de bolor crescida no ágar.

Colocar 1 a 2 gotas de Lactofenol azul-algodão. Cobrir com lamínula, comprimindo levemente. Observar em microscópio com aumento de 400X.



## Microcultivo em lâmina:

No microcultivo em lâmina, as estruturas permanecem íntegras além de ser utilizado um meio de cultura (ágar batata), que estimula a produção de macro e microconídios, que na maioria das vezes identificam o fungo. Estimula, também, a formação de pigmento.



# Identificação de leveduras

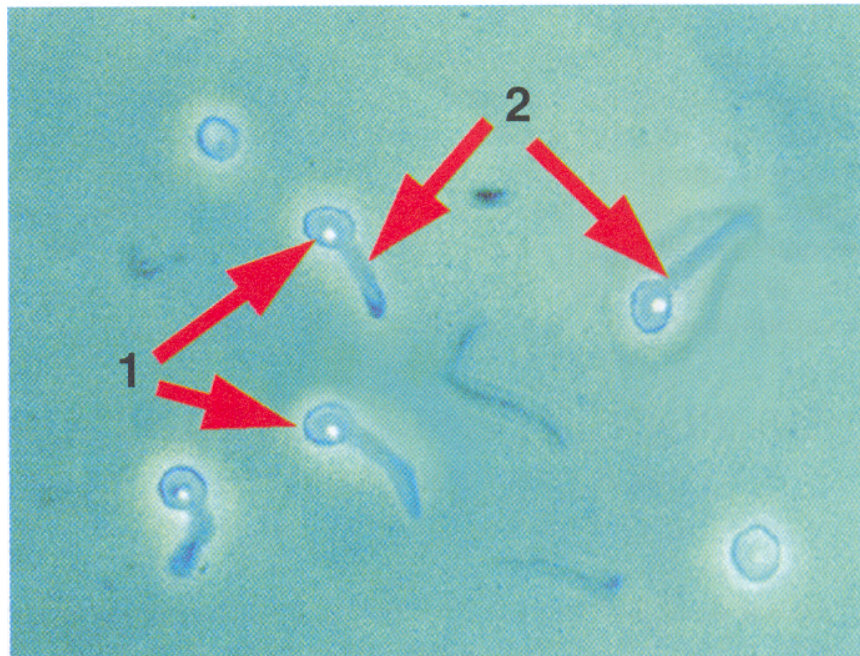
- Tubo germinativo
- Microcultivo
- Auxanograma - Assimilação de carbono e nitrogênio
- Zimograma- Fermentação de açúcares

## PROVA DO TUBO GERMINATIVO:

A prova do tubo germinativo é um teste que caracteriza rápida e presuntivamente a levedura da espécie *Candida albicans*.

A técnica é muito simples e baseia-se, fundamentalmente, na semeadura de um pequeno inóculo dessa levedura em soro, que pode ser de várias espécies animais. Os soros recomendados são o humano, o fetal bovino ou de cavalo, podendo-se, ainda, utilizar albumina de ovo.

2 horas a 37°C



# MICROCULTIVO DE LEVEDURAS

Esta técnica baseia-se no princípio de que leveduras, quando incubadas num meio com Tween-80 apresentam a capacidade de filamentar, formando pseudo-hifas e/ou hifas verdadeiras. Assim, pelas características morfológicas diferenciadas das estruturas filamentosas, pode-se sugerir a espécie de levedura implicada na identificação

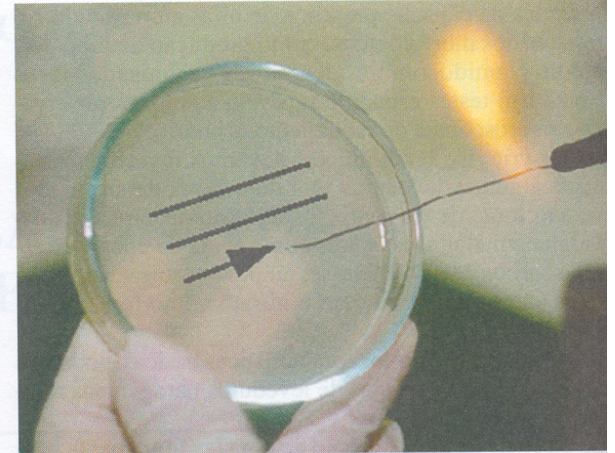


Fig. 9.3 Placa com ágar fubá mostrando esquematicamente onde serão feitas as estrias com os inóculos da levedura cuja morfologia se quer observar.

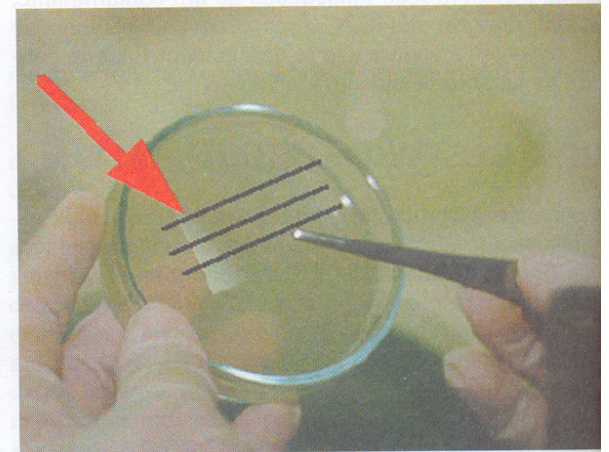


Fig. 9.4 Colocação da lamínula sobre os inóculos da levedura

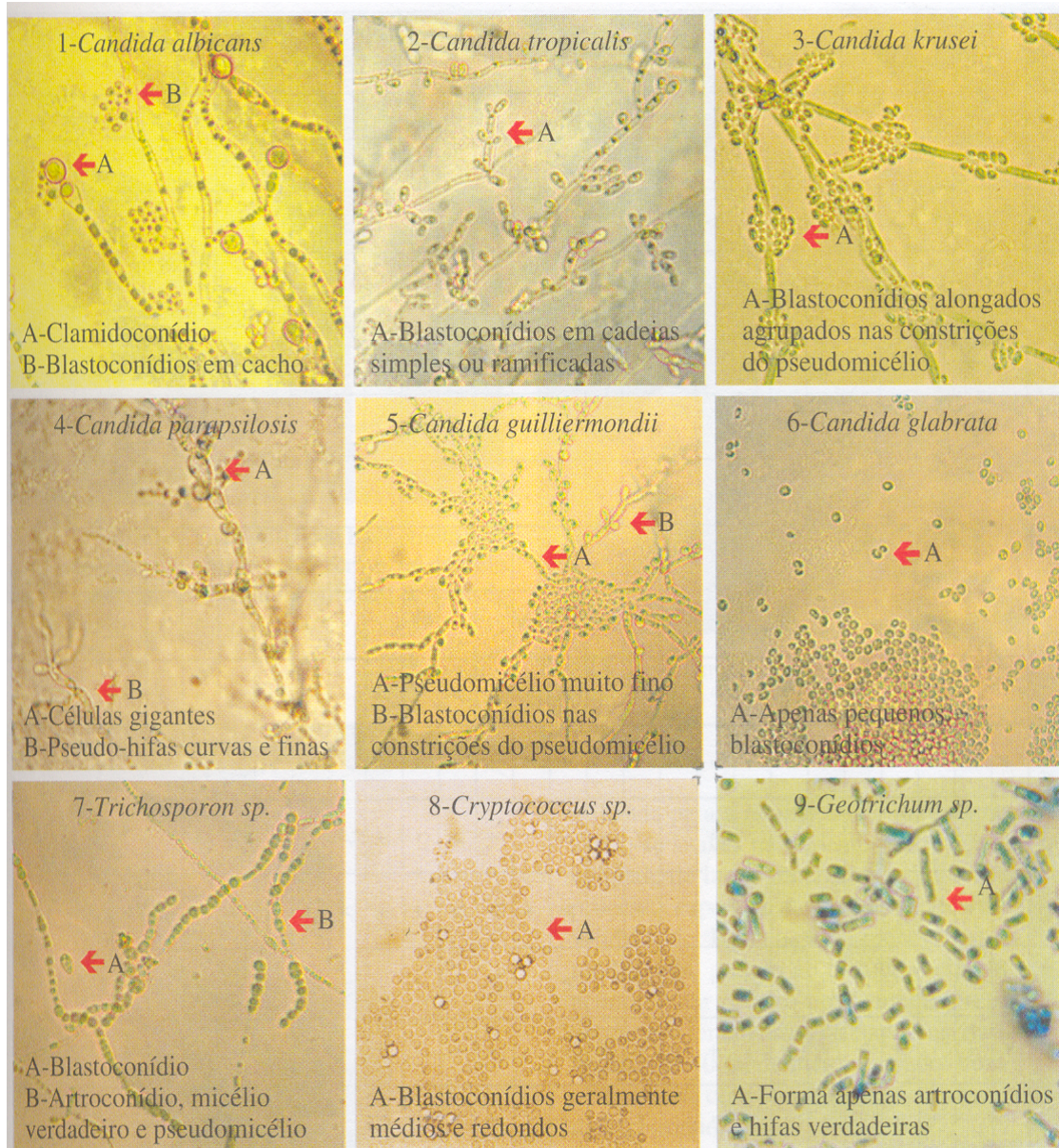
# Microcultivo de leveduras: Preparo do inóculo



# Microcultivo de leveduras:



# Microcultivo – Ágar fubá com Tween-80



# Auxonograma (Assimilação de Carboidratos e Nitrogênio)

## Assimilação de Carboidratos:

Esta técnica baseia-se na capacidade que as leveduras apresentam de utilizar determinado carboidrato como única fonte de carbono, para sua viabilidade celular. Desta forma utiliza-se, nesta técnica, um meio basal destituído de qualquer fonte de carbono (sem o qual a célula fúngica não pode crescer), onde será semeada a levedura que se deseja identificar. Após a semeadura, adiciona-se ao cultivo um carboidrato e observa-se a capacidade de utilização deste como fonte de carbono. Quando o carboidrato é assimilado pela levedura, observa-se crescimento desta ao redor da fonte de carbono.

## Assimilação de Nitrogênio:

A assimilação de nitrogênio demonstra a capacidade que algumas leveduras apresentam de assimilar nitrato de potássio (nitrogênio inorgânico), como única fonte de nitrogênio utilizado na sua viabilidade biológica.



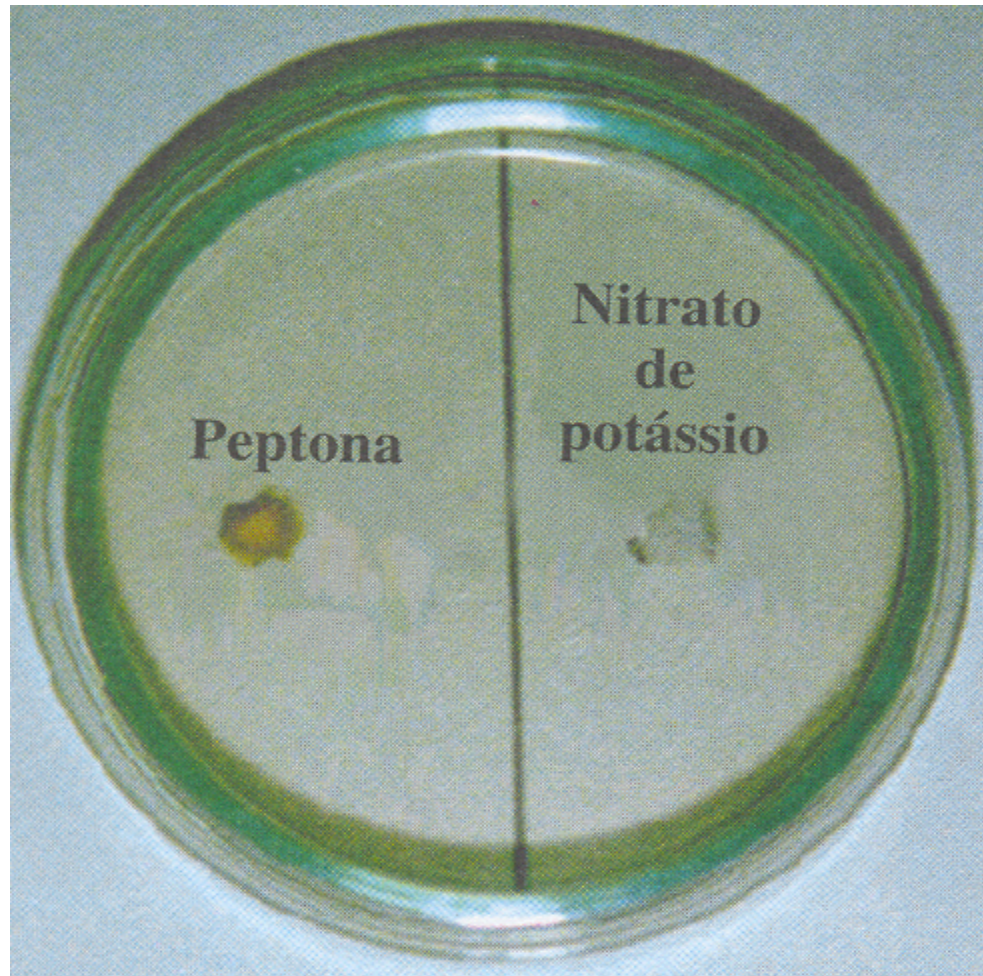
# Auxonograma – Assimilação de carbono

Meio: *Yeast Nitrogen Base*



# Assimilação de Nitrogênio

Meio: *Yeast Carbon Base*



# Auxonograma

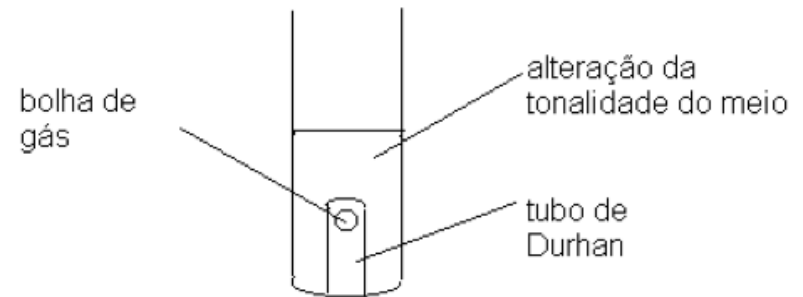
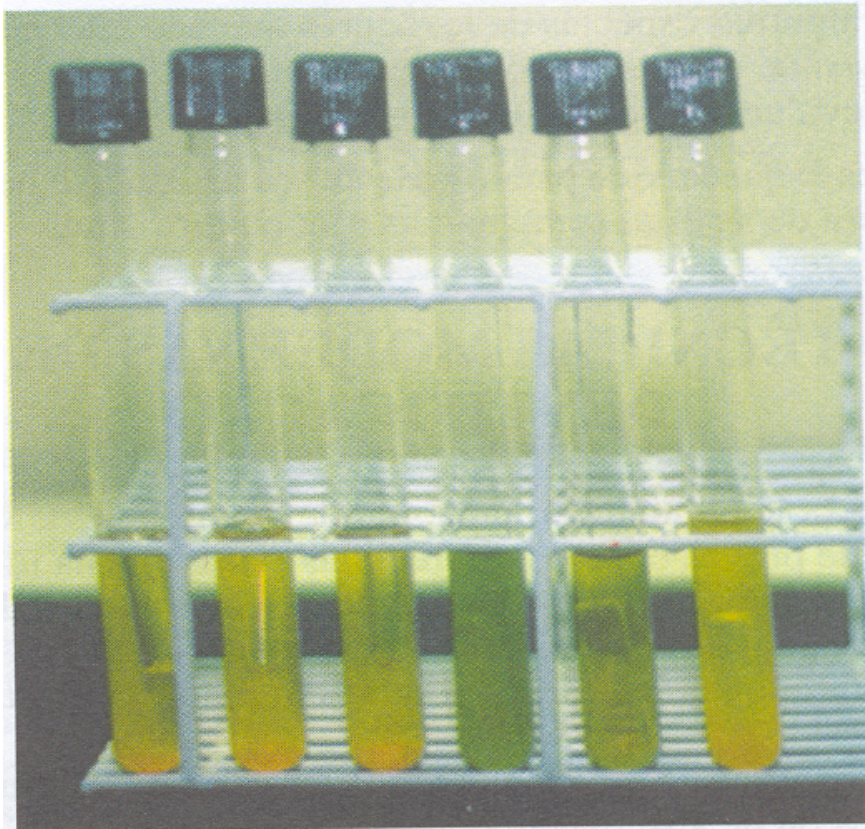




# FERMENTAÇÃO DE CARBOIDRATOS:

A capacidade de uma levedura fermentar determinado carboidrato está diretamente ligada à habilidade desta de possuir sistemas enzimáticos eficientes, capazes de permitir, em baixas tensões de oxigênio, degradar açúcares para produção de energia, formando, entre outros metabólitos, etanol e gás carbônico.

Assim, utiliza-se também na identificação das leveduras essa característica fenotípica, onde se investiga a habilidade que uma determinada levedura possui de fermentar um açúcar, através da demonstração da produção de  $\text{CO}_2$ .



# Zimograma



# Identificação final das leveduras

LEVEDURAS	ASSIMILAÇÃO											FERMENTAÇÃO													
	Inu	Ram	Ara	Gli	Sac	Lac	Gal	Raf	Ino	Xil	Cel	Tre	Dul	Mal	Mel	Gli	Sac	Lac	Gal	Tre	Mal	Cap	Tg	U	KNO <sub>3</sub>
<i>C. 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. tropicalis</i>	NT	-	-	+	+	-	+	-	-	+	V	+	-	+	-	V	V	-	G	G	G	-	-	-	-
<i>C. glabrata</i>	NT	NT	NT	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	G	-	-	-	G	-	-	-	-	-
<i>C. rugosa</i>	NT	NT	NT	+	-	-	+	-	-	V	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>C. lusitanae</i>	NT	+	NT	+	+	-	V	-	-	+	+	+	-	+	-	G	V	-	V	V	-	-	-	-	-

NT = não testado; G = produção de gás; + = positivo; - = negativo; V = variável; Inu = inulina; Ram = L-rambinose; Gli = glicose; Sac = sacarose; Gal = D-galactose; Raf = rafinose; Ino = inositol; Xil = D-xilose; Cel = celobiose; Tre = trealose; Dul = dulcitol; Mal = maltose; Mel = melibiose; Cap = capsula; Tg = tubo germinativo; U = urease; KNO<sub>3</sub> = nitrato de potássio.