

Micoses

Superficiais e Cutâneas

Carlos Pelleschi Taborda

Departamento de Microbiologia ICB/USP

Chefe do Laboratório de Micologia Médica IMTSP/LIM-53 -FMUSP

2019

Doenças causadas por fungos

- Micoses superficiais
- Micoses cutâneas
- Micoses subcutâneas
- Micoses sistêmicas (profundas)

Micoses Superficiais

Caracterizado por um grupo de fungos cuja relação com o hospedeiro está no limite entre o saprofitismo e parasitismo.

Estes fungos atingem as camadas mais superficiais da pele e do pêlo.

Algumas bactérias podem produzir lesões semelhantes e são denominadas pseudomicoses.

Pitiríase versicolor e doenças por *Malassezia* spp



- Pitiríase versicolor também conhecida como *tinea* versicolor, é uma micose superficial benigna e crônica.
- As lesões são constituídas por placas hipo ou hiperpigmentadas, escamosas e de bordas delimitadas, que podem confluir, cobrindo áreas extensas do corpo.

Manifestações clínicas



Dermatite seborréica grave



onicomicose



Dermatite seborréica leve

- Casos de sepse ou infecção invasora por *Malassezia* não apresentam claramente uma característica particular.

Patogenia

- Alterações bioquímicas ou fisiológicas na pele ou secreção devido a fatores genéticos ou causas externas, pode tornar indivíduos sadios em susceptíveis.
- Outras condições descritas são:
 - alterações neurológicas, estresse, secreção cutânea aumentada de ácidos graxos, imunodepressão, doenças crônicas, níveis séricos aumentados de andrógenos ou cortisol, hipovitaminose, calor, umidade, uso externo de cremes estéticos e pouca higiene pessoal.

O agente etiológico



- O agente etiológico é a *Malassezia* spp., levedura lipodependente e polimórfica que, em parasitismo se apresenta como células leveduriformes globosas ou ovais agrupadas e filamentos curtos, septados e irregulares.
- A levedura é considerada da microbiota cutânea humana, colonizando o hospedeiro nas primeiras semanas de vida.
- O fungo tem sido associado a doenças como dermatite seborréica, onicomicose e infecções sistêmicas.

Taxonomia

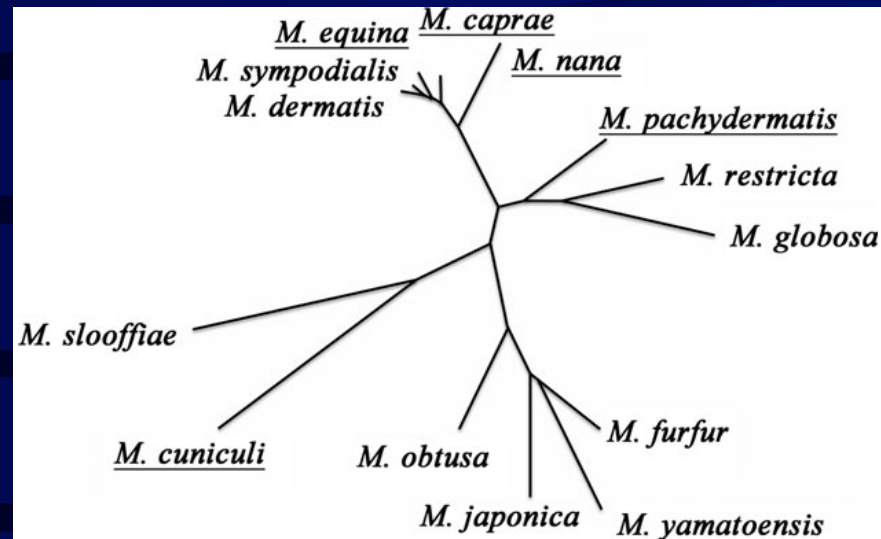


Figure 1. Internal transcribed spacer sequence-based phylogenetic tree of *Malassezia* spp. *Malassezia* spp. consists of 14 species, nine species colonizing human skin and five species (underlined) colonizing animal skin.

Table 1. Detection rate (%) of nine human-associated *Malassezia* species in healthy subjects and patients with SD, AD and PV

Condition	<i>M. globosa</i>	<i>M. restricta</i>	<i>M. sympodialis</i>	<i>M. furfur</i>	<i>M. dermatitis</i>	<i>M. slooffiae</i>	<i>M. obtusa</i>	<i>M. japonica</i>	<i>M. yamatoensis</i>	Reference
Healthy skin	86.7	83.4	36.7	26.7	30	16.7	10	10	6.7	(42)
(Japanese)	100	100	62.5	12.5	34.4	6.3	12.5	12.5	15.6	(52)
AD (mild)	100	100	61.9	28.6	42.9	23.8	23.8	19	23.8	(52)
AD (severe)	100	100	58.8	5.9	29.4	11.8	11.8	5.9	23.5	(52)
SD	93.5	74.2	25.8	6.5	35.5	32.3	9.7	12.9	9.7	(42)
<i>Malassezia</i> folliculitis	69	88	55	20	5	0	0	0	0	(34)
PV	93.9	93.9	34.6	10.2	24.4	4.1	8.1	6.1	4.1	(3)
Psoriasis	82	96	64	18	27	27	18	27	14	(51)

AD, atopic dermatitis; SD, seborrheic dermatitis; PV, pityriasis versicolor.

Identificação laboratorial

-Exame direto:

Células esféricas ou ovaladas, com ou sem brotamentos, isoladas ou agrupadas em forma de cacho de uva e curtos fragmentos de hifas.

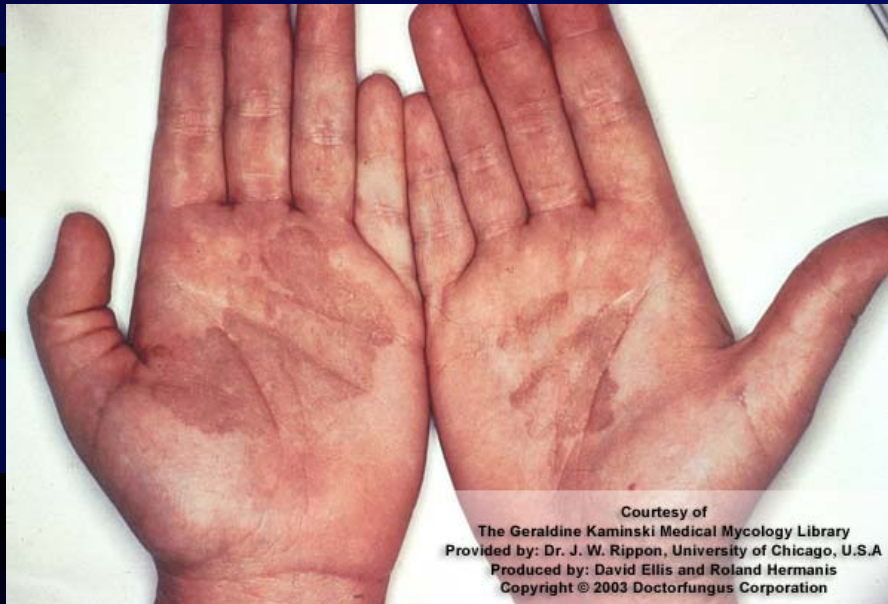


-Isolamento:

Meio com substâncias oleoginosas. As colônias são brancas a creme de aspecto mucóide e brilhante.



Tinea Nigra



- O agente desta micose é *Hortaea werneckii*, considerada uma levedura escura polimórfica, que em parasitismo, apresenta-se principalmente com hifas demáceas, septadas e ramificadas.
- Fungo habita diversos ambientes com elevada concentração de sal, sendo isolado do mar, frutos-do-mar e da areia.

Aspectos clínicos

Piedra Branca



- O aspecto clínico caracteriza-se pelo aparecimento de pequenas nodosidades, de consistência mucilaginosa, coloração branco-amarelada ou amarelo-acastanhada e aspecto fusiforme.

Trichosporon

- Historicamente o agente da *Piedra* branca tem sido designado como *Trichosporon beigeli*.
- Atualmente existem mais de 19 espécies descritas de *Trichosporon*, porém, 6 estão diretamente envolvidas em processos clínicos.
 - *T. cutaneum* (inicialmente designada como *T. beigeli*)
 - *T. asahii*
 - *T. mucoides*
 - *T. ovoides*
 - *T. asteroides*
 - *T. Inkin*
 - *T. pullulans*
 - *T. loubieri*

Isolamento do fungo a partir de material clínico



- O material será incubado a temperatura ambiente por 2 a 5 dias.
 - As colônias apresentam uma textura glabrosa, com relevo variando do rugoso a ceribriforme. A coloração pode variar de creme a branco.

Aspectos clínicos

Piedra Preta



- Diferente do que observado com a Piedra branca, a piedra preta é fortemente aderida ao cabelo não sendo fácil a remoção por processos mecânicos.
- O agente causador é *Piedraia hortae*

Diagnóstico laboratorial



- Microscopia direta, utilizando-se potassa de 10 a 40%.
- Evidencia-se estruturas semelhantes a um mosaico, formadas por um grupamento de unidades fúngicas de coloração acastanhada, podendo estar associada ou não a filamentos septados similares a artroconídios.

Dermatófitos

(dermato e fitos = planta de pele)

Epidemiologia

Os dermatófitos podem ser divididos em três grandes grupos em relação ao *habitat*.

- Geofílicos
- Zoofílicos
- Antropofílicos

As espécies pertencem a 3 gêneros:

- *Microsporum*
- *Trichophyton*
- *Epidermophyton*

Toward a Novel Multilocus Phylogenetic Taxonomy for the Dermatophytes

G. Sybren de Hoog · Karolina Dukik · Michel Monod · Ann Packeu · Dirk Stubbe ·
Marijke Hendrickx · Christiane Kupsch · J. Benjamin Stielow · Joanna Freeke ·
Markus Göker · Ali Rezaei-Matehkolaei · Hossein Mirhendi · Yvonne Gräser

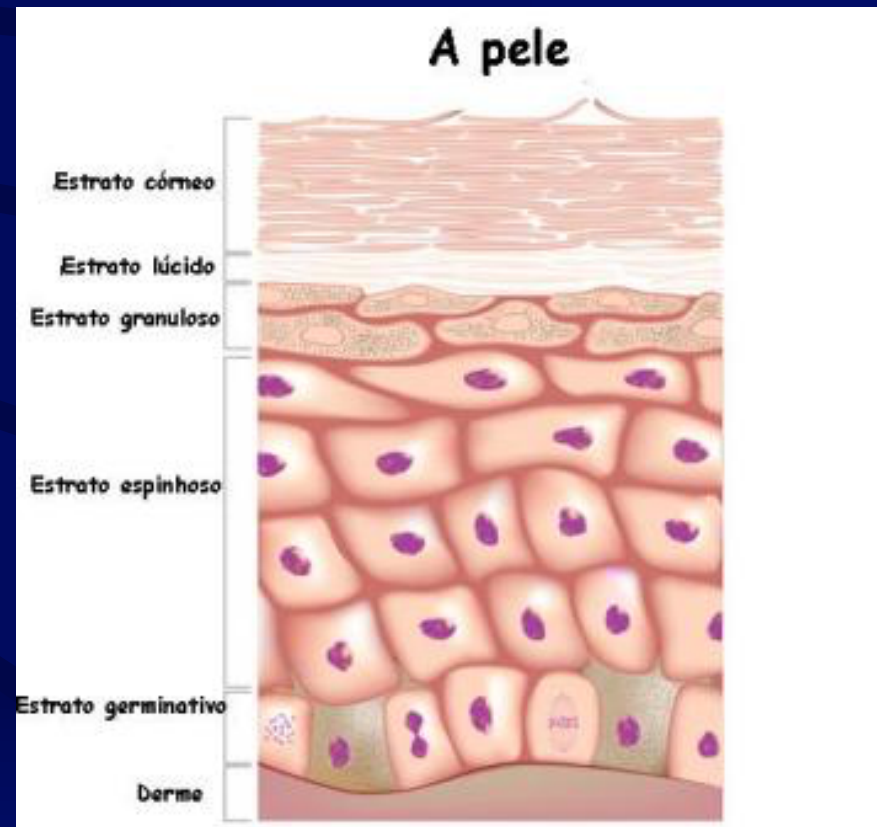
In the newly proposed taxonomy, *Trichophyton* contains 16 species, *Epidermophyton* one species, *Nannizzia* 9 species, *Microsporum* 3 species, *Lophophyton* 1 species, *Arthroderma* 21 species and *Ctenomyces* 1 species, but more detailed studies remain needed to establish species borderlines. Each species now has a single valid name. Two new genera are introduced: *Guarromyces* and *Paraphyton*. The number of genera has increased, but species that are relevant to routine diagnostics now belong to smaller groups, which enhances their identification.

Epidemiologia

- Quanto a distribuição geográfica, os dermatófitos são cosmopolitas, havendo no entanto, variações regionais.
- Muitas espécies são de distribuição mundial.
 - *T. rubrum*
 - *E. floccosum*
- Outras apresentam-se mais restritas.
 - *M. ferrugineum* – Ásia e África
 - *T. megninii* – Europa
 - *T. concentricum* – América do Sul e ilhas do Pacífico
 - *T. tonsurans* – EUA, México e Caribe
- A literatura mundial aponta *T. rubrum*, *T. violaceum* e *T. mentagrophytes* como as espécies mais isoladas.
 - Não é verdade absoluta!

Patogenia e imunidade

- A colonização por dermatófitos é limitada ao **extrato córneo** resultando clinicamente em uma reação inflamatória.
- Resposta imune?
 - Inibidor de queratinase
 - Descamação epidermal
 - Linfócitos
 - Macrófagos
 - Neutrófilos
 - Mastócitos



Patogenia e imunidade

- A instalação da doença inicia-se pela inoculação de artroconídios ou fragmentos de hifas depositados sobre a pele, favorecido por uma lesão cutânea ou escoriações.
- Filamento fúngico desenvolve-se a favor da escoriação, penetrando na camada córnea da epiderme.
- Instalação do processo não está restrita a forças mecânicas, mas também a ação de enzimas.
 - Queratinases
 - Enzimas semelhantes a quimiotripsina

Patogenia e imunidade

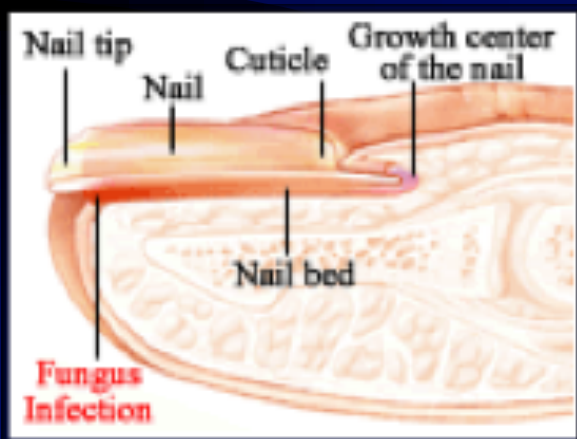
Na dermatofitose os pêlos, quando atacado, são secundários à evolução de uma lesão da pele.



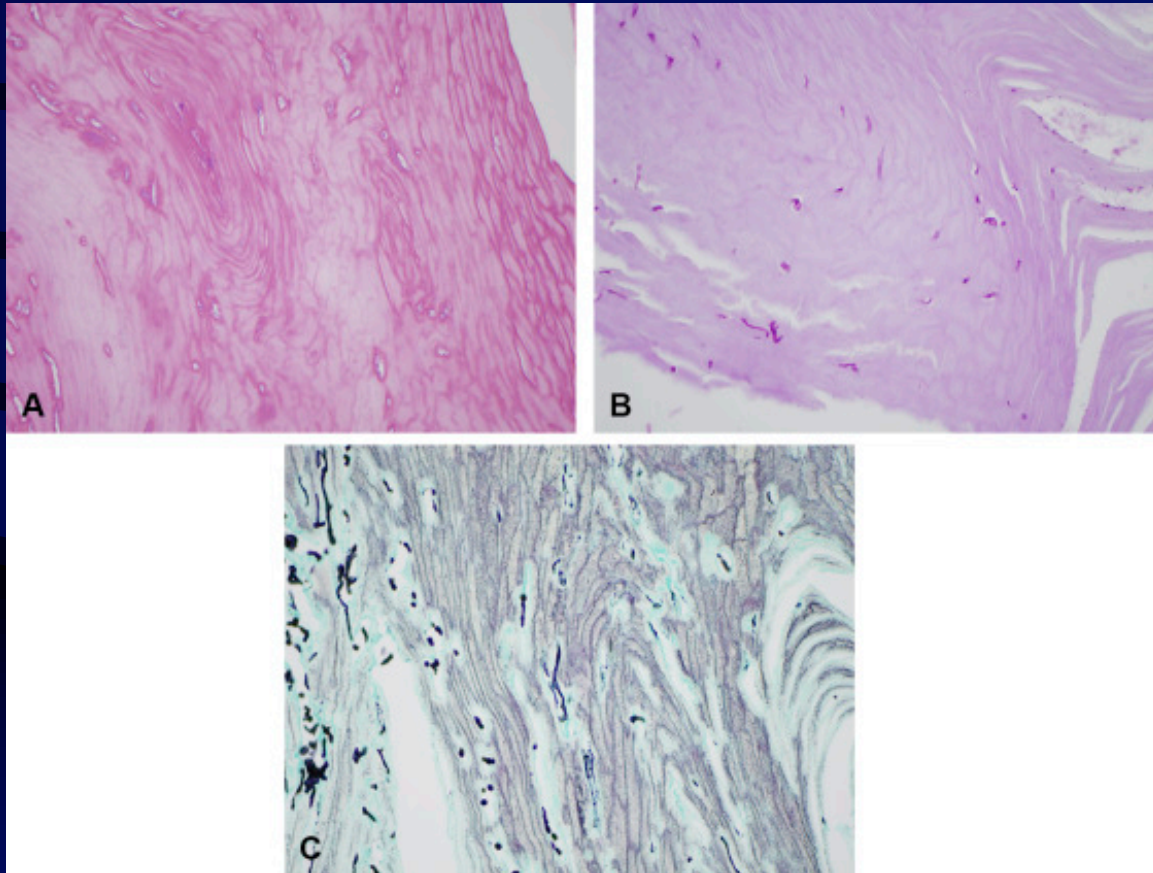
- O crescimento do fungo observado do infundíbulo até o nível do bulbo pilar é conhecido como “franja de Adamson”. Nesse estágio, observam-se dois movimentos:
 - Crescimento fúngico que tende para a profundidade do pêlo, utilizando como fonte nutricional a queratina recém-formada.
 - Crescimento do pêlo que tende da profundidade para a superfície.

Patogenia e imunidade

- O comprometimento das unhas se faz secundariamente à penetração do dermatófito na camada córnea do **hiponiquium**, que é a porção distal do leito ungueal.
 - A invasão começa preferencialmente da parte distal em direção à parte proximal.
 - Esta característica é importante na diferenciação das onicomicoses por leveduras, que comprometem primariamente a prega ungueal proximal.



Histologia – onicomycose *T. rubrum*



Fatores de Risco para onicomicose

prevalência mundial de onicomicose é 5,5 %

- Trauma
- Idade avançada
- Diabetes
- Obesidade
- Tumores
- Imunosupressão
- Tinea pedis
- Psoríase
- Histórico familiar de onicomicose

Tinea corporis



Tinea cruris



Tinea unguium





Tinea barbae

Tinea capitis

Trichophyton schoenleinii



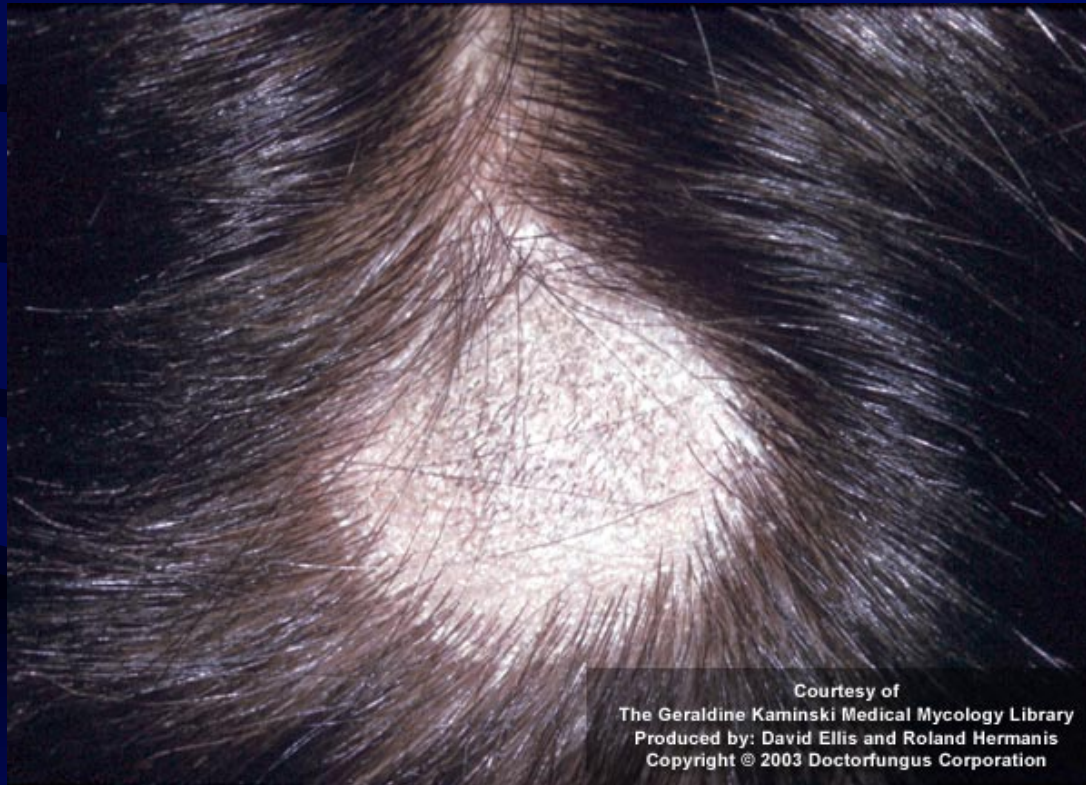
Image Courtesy of Libero Ajello
Copyright © 2002 Doctorfungus Corporation

Trichophyton tonsurans



Image Courtesy of Libero Ajello
Copyright © 2002 Doctorfungus Corporation

Tinea capitis



Microsporum canis

Diagnóstico Laboratorial

Coleta de material clínico

- **escamas de pele:**

- tratamento local com álcool etílico 70%
- raspar com bisturi as bordas da lesão cutânea

- **unhas:**

- desprezar toda a hiperqueratose formada na parte mais distal e atingir regiões mais adentro da matriz ungueal.

-**pêlos e cabelos:**

- pêlos em regiões de alopecia, quebrados:
retirada com auxílio de pinça flambada ou estéril.

Diagnóstico e identificação das micoses

- Exame direto (a fresco)
- Cultura em meios específicos
- Identificação do fungo
 - Análise macroscópica da colônia
 - Análise microscópica da colônia
 - Microcultivo
 - Ensaio bioquímicos
- PCR/testes moleculares?

Coleta de amostras clínicas

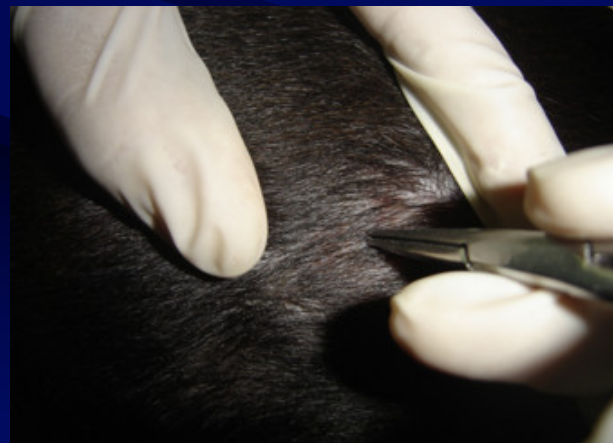


Table III. Comparison of techniques used for diagnosis of onychomycosis^{53,87}

Technique	Nail plate penetrance	Fungal viability	Identification of pathogen	Sensitivity (%)	Specificity (%)	Cost per examination (approximate)	Dependent on expertise of examining physician*	Commonly used
KOH	No	No	No	67-93	38-78	\$6-11 ^{72,73}	Yes	Yes
Fungal culture	No	Yes	Yes	31-59	83-100	\$14-48 ^{72‡}	No	Yes
Histopathology with PAS	Yes	No	No	92	72	\$29-365 ^{72,73‡§}	No	Yes
PCR [†]	No	No	Yes	95	100	\$30/probe [‡]	No	Increasing

KOH, Potassium hydroxide; PAS, periodic acid–Schiff; PCR, polymerase chain reaction.

*Note that results of histopathology are dependent on the expertise of the dermatopathologist and the results of fungal culture and polymerase chain reaction studies are dependent on the microbiology laboratory.

[†]It is typical that 3 probes (dermatophyte, saprophyte, and Candida) are run initially. If negative, no further testing is performed. If the test is positive, further testing is performed for the specific species. For example, if the sample is initially positive for dermatophytes, further testing is performed for *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Microsporum*, and *Epidermophyton*.

[‡]Bako Pathology, personal communication, August 21, 2017.

[§]Weill Cornell Pathology, personal communication, March 1, 2018.

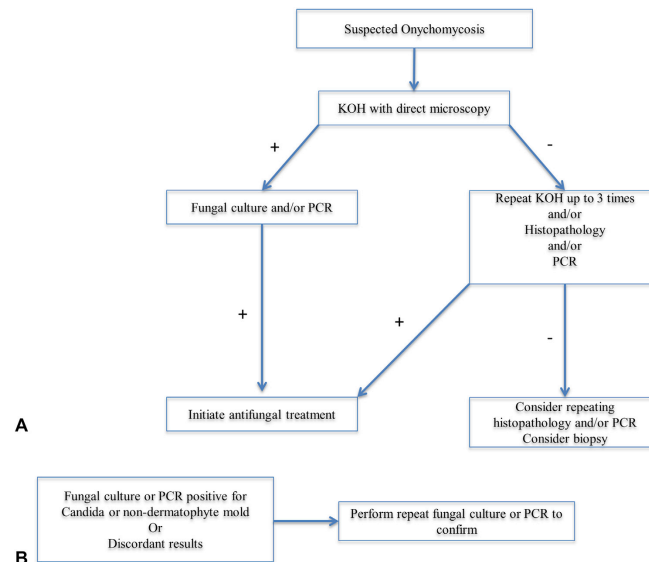
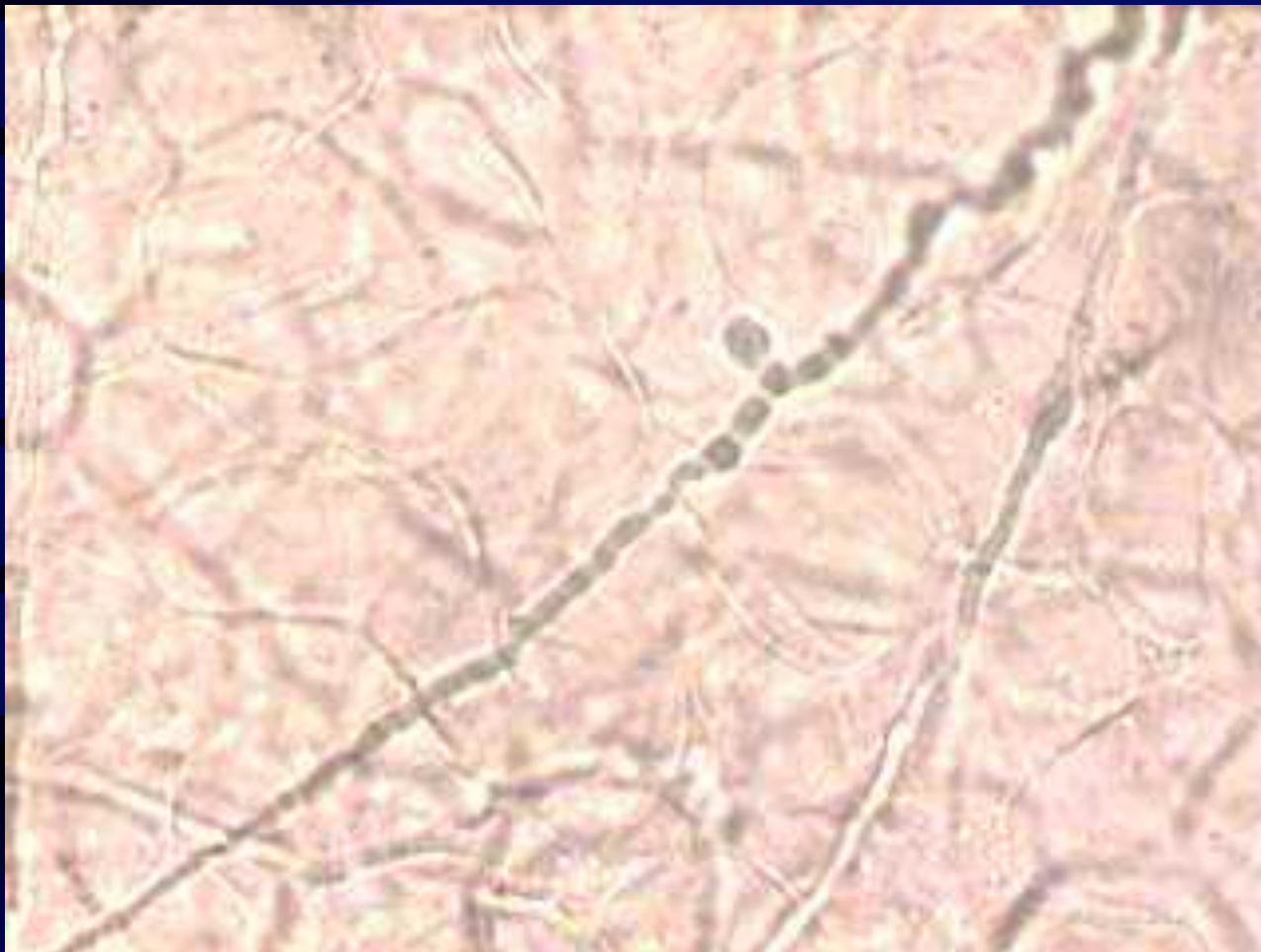


Fig 15. Algorithms for diagnosis of onychomycosis. **A**, Suggested algorithm for the diagnosis of suspected onychomycosis. **B**, Suggested algorithm for fungal culture or polymerase chain reaction study that is positive for Candida, nondermatophyte mold, or discordant results.

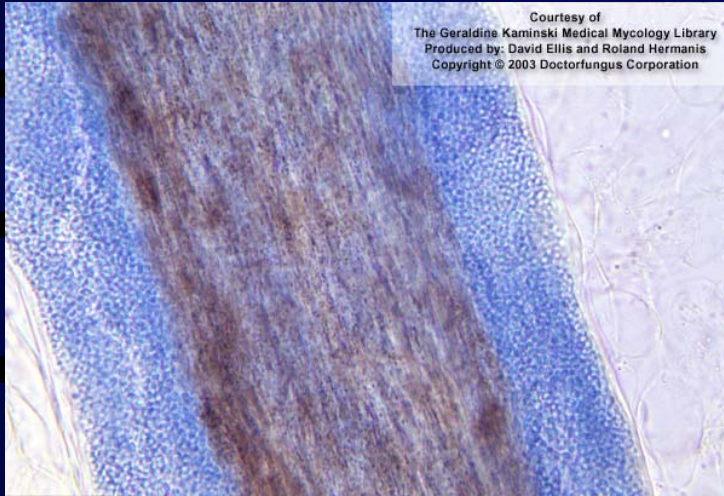
Exame direto



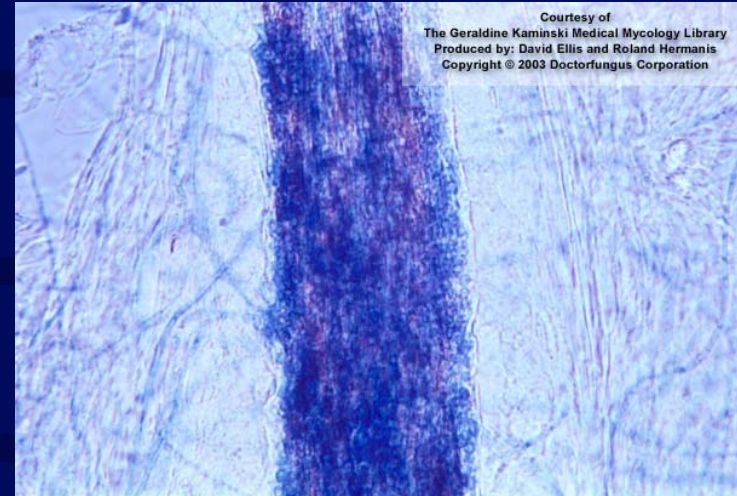
Exame direto: solução de hidróxido de potássio 10 a 40% presença de hifas septadas hialinas

Exame direto

Microsporium canis



Trichophyton rubrum



Trichophyton schoenleinii



Trichophyton tonsurans



Cultura para dermatófitos

-MEIOS PARA ISOLAMENTO PRIMÁRIO

Ágar Sabouraud-Dextrose (ASD)

*ASD com adição de cicloheximida e cloranfenicol
(Agar Mycosel ou Mycobiotic)*

- CONDIÇÕES DE CULTIVO

30° C por 4 semanas (tempo de crescimento variável: mínimo 15 dias).

Identificação dos dermatófitos

- Características macroscópicas:

morfologia da colônia, bordos, relevo, textura, cor (pigmentação no anverso e reverso do meio)

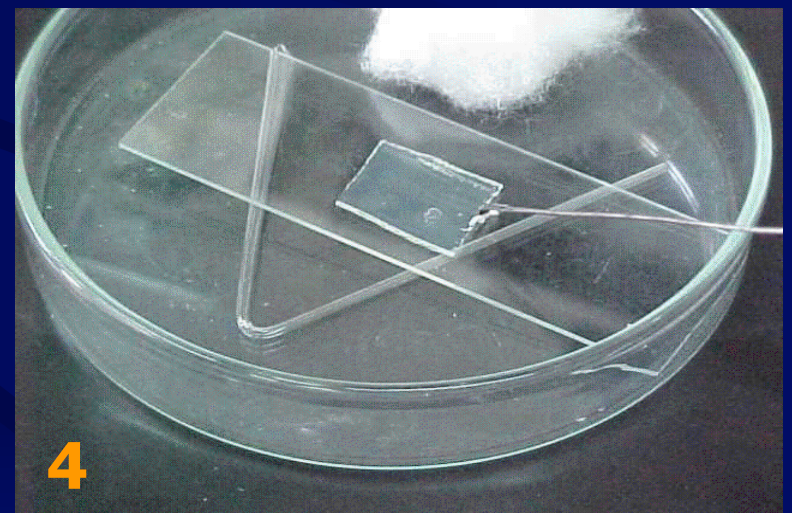
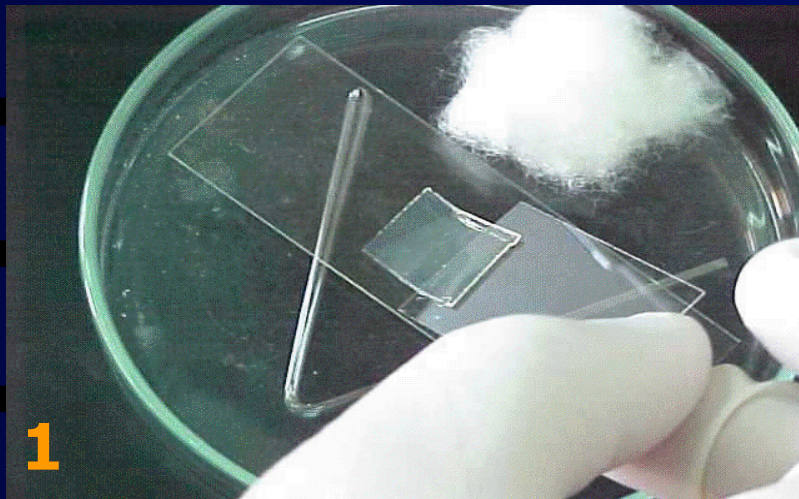
- Características microscópicas:

presença de hifas hialinas ou demácias

presença de hifas septadas ou não septadas

presença de artroconídios

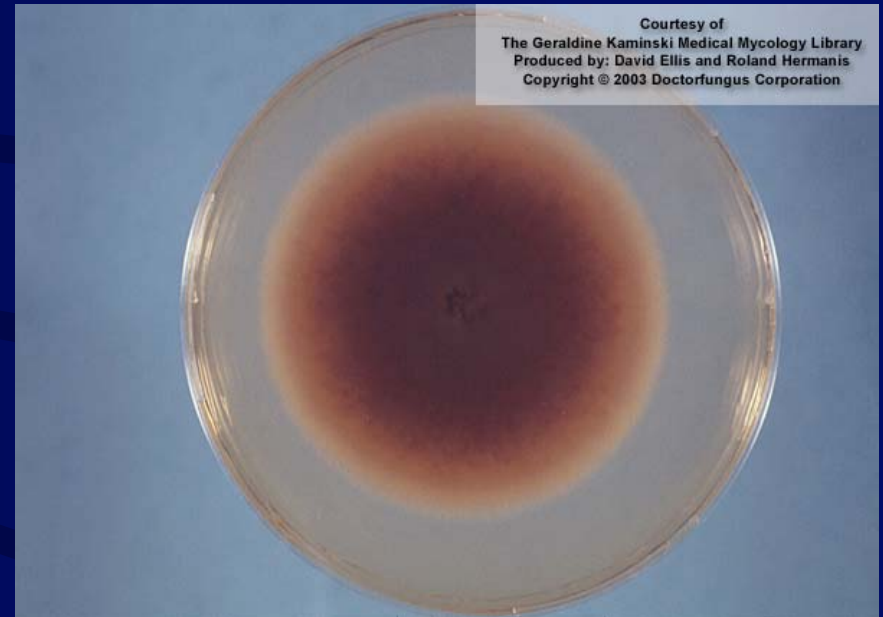
Técnica de Microcultivo



Trichophyton mentagrophytes



anverso



reverso

Trichophyton mentagrophytes

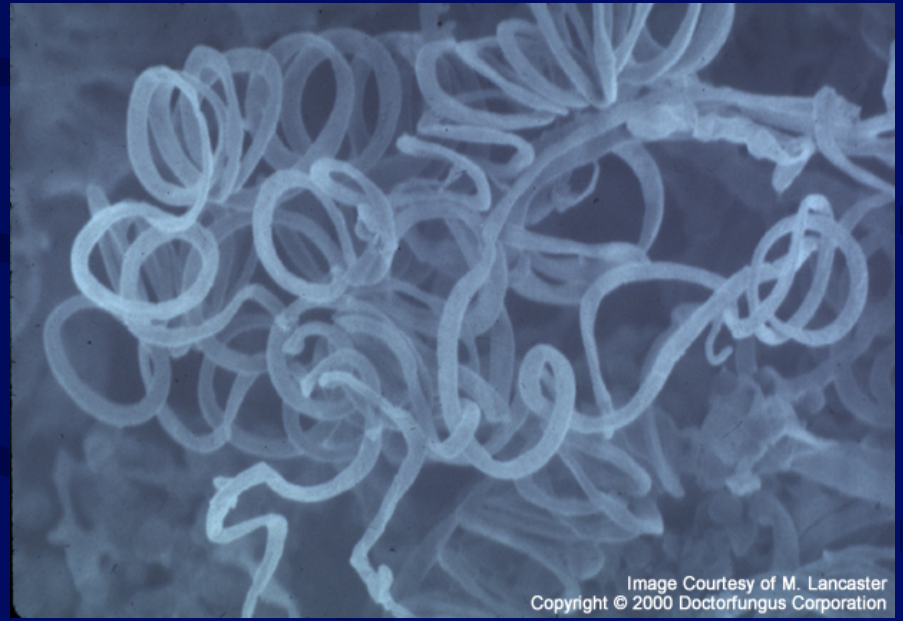
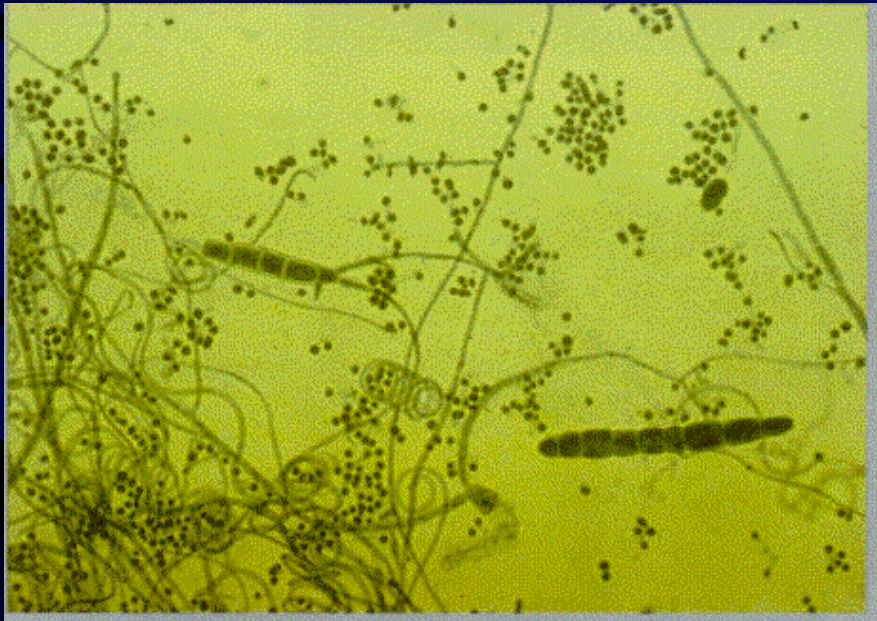
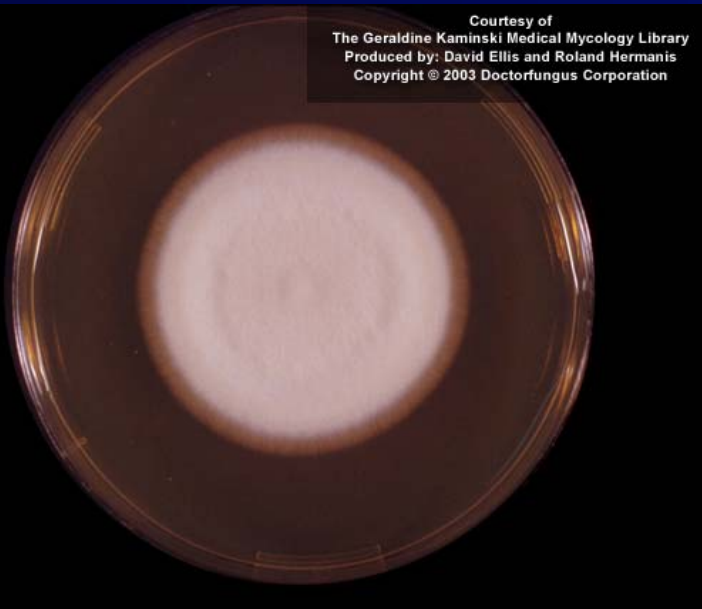


Image Courtesy of M. Lancaster
Copyright © 2000 Doctorfungus Corporation

Trichophyton rubrum

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



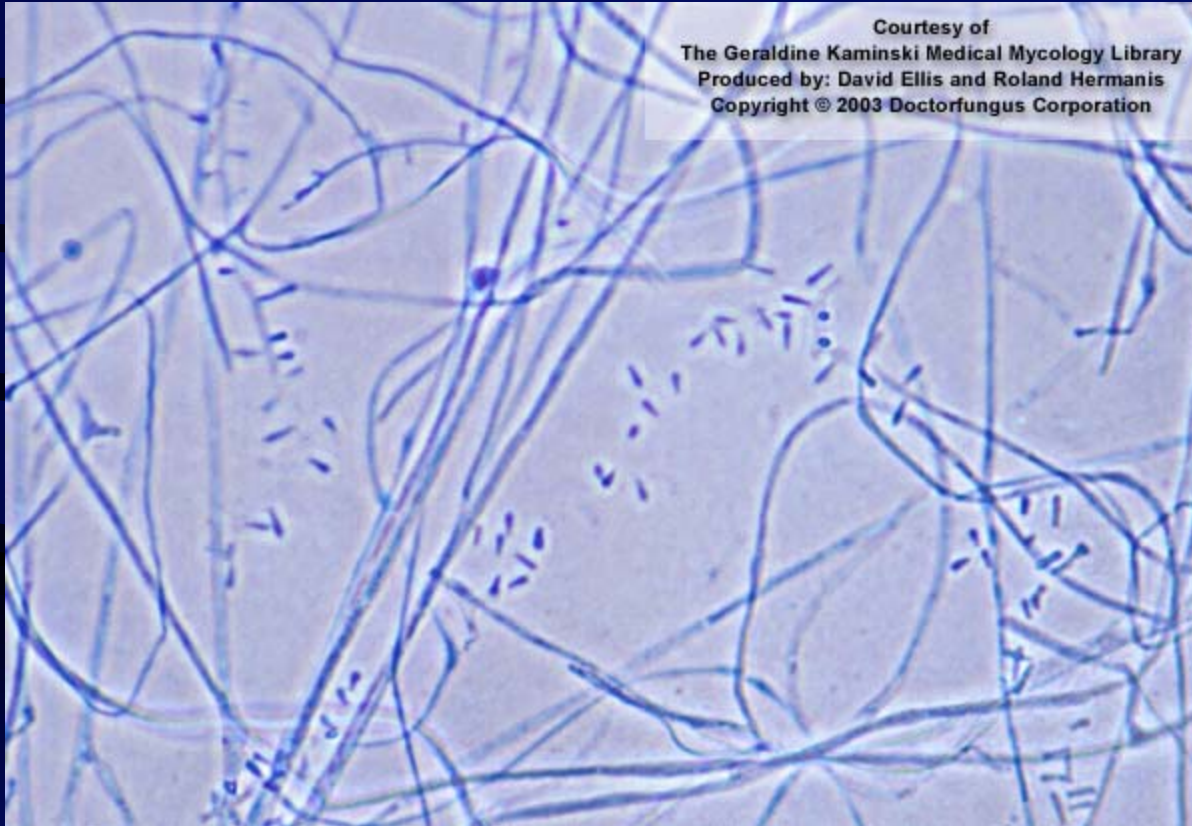
anverso

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



reverso

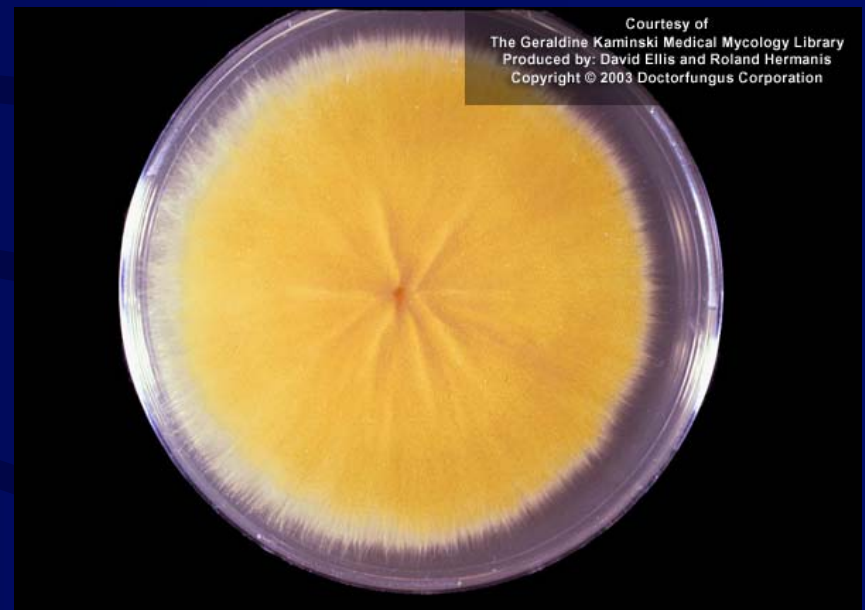
Trichophyton rubrum



Microsporum canis



anverso



reverso

Microsporium canis

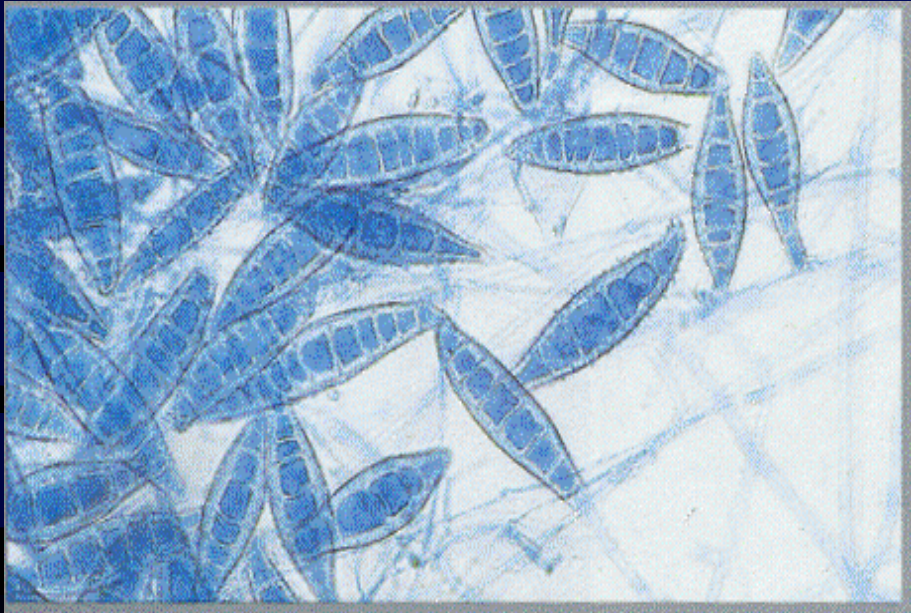


Image Courtesy of Libero Ajello
Copyright © 2002 Doctorfungus Corporation

Microsporium gypseum



Image Courtesy of L. Ajello
Copyright © 2000 Doctorfungus Corporation

anverso



Image Courtesy of Libero Ajello
Copyright © 2002 Doctorfungus Corporation

reverso

Microsporium gypseum



Epidermophyton floccosum



anverso



reverso

Epidermophyton floccosum



Fungos Filamentosos não Dermatófitos e Leveduras

30% a 40% das onicomicoses são causadas por não dermatófitos

Onicomicose é a infecção de unha mais freqüente entre as doenças ungueais, constituindo aproximadamente metade de todas as alterações. Pode ser causada por **dermatófitos**, **leveduras** ou **fungos filamentosos não dermatófitos**.

Podemos destacar entre os fungos filamentosos não dermatófitos:

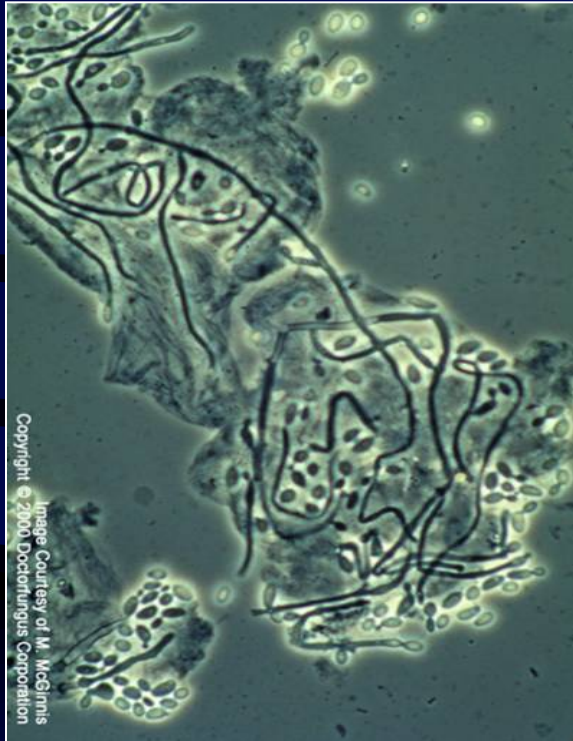
- *Scytalidium dimidiatum*
- *Neocytalidium*
- *Alternaria alternata*
- *Scopulariopsis brevicaulis*
- *Aspergillus* spp.
- *Fusarium* spp.
- *Acremonium* spp.

Onicomucose por *Candida* spp.

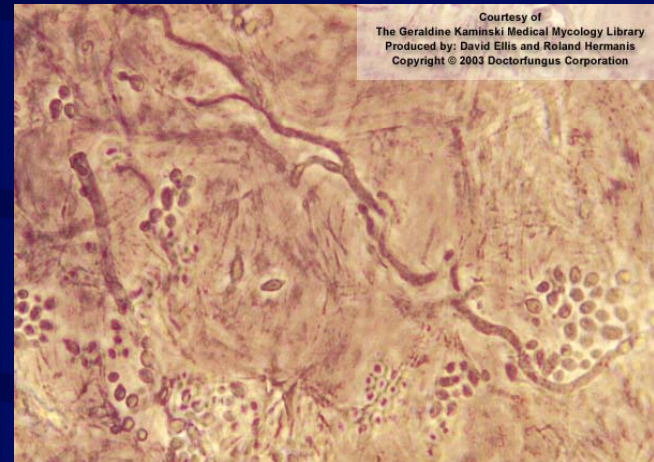


Exame direto

Exame direto: mucosa oral



Exame direto: pele



Exame direto: vagina



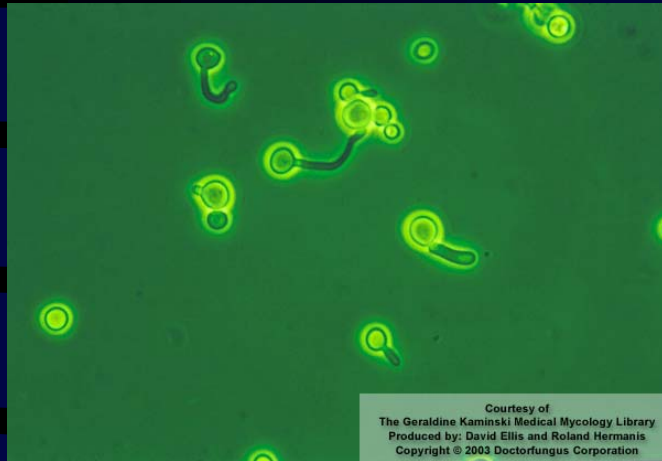
Cultura – Ágar Sabouraud



Image Courtesy of W. Schell
Copyright © 2000 Doctorfungus Corporation

Identificação laboratorial

Tubo germinativo +



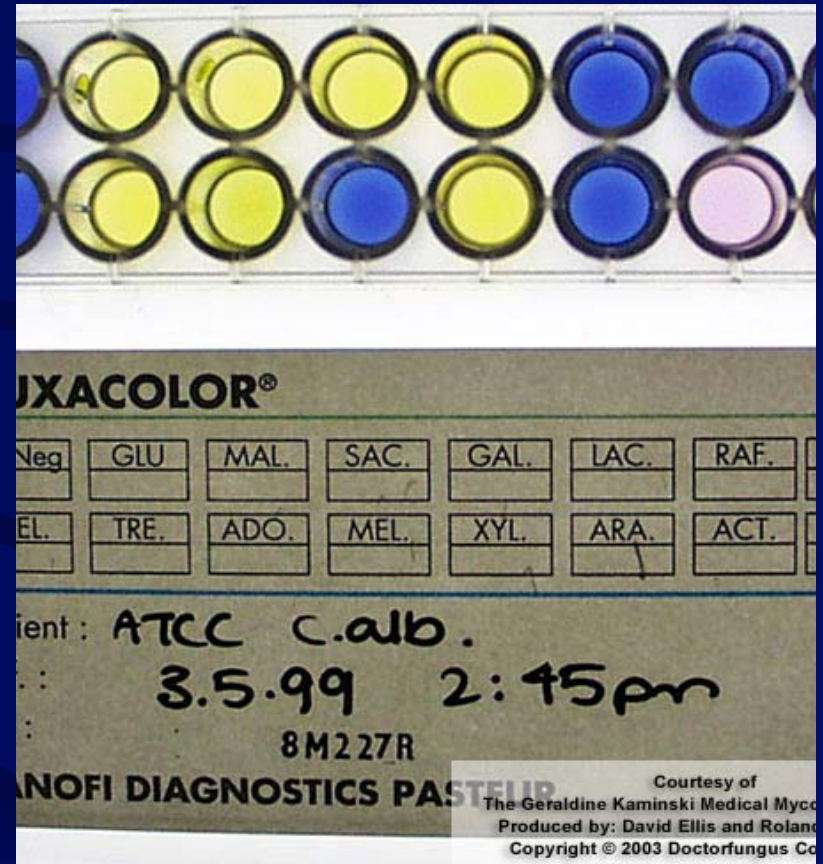
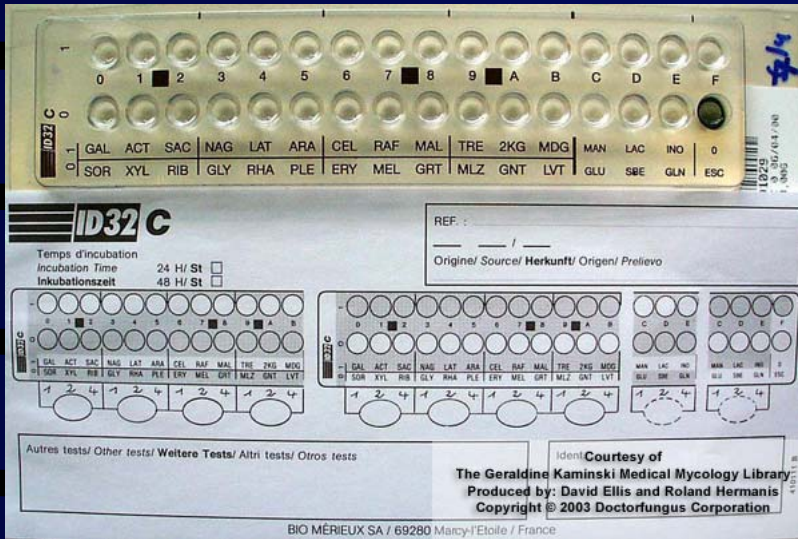
Microcultivo



Urease -



Auxanagrama



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	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	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>	NI	-	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.

CHROMagar Candida

Identificação laboratorial



C. tropicalis *C. albicans*
C. parapsilosis
C. glabrata

Testes moleculares x proteômicos x automação

