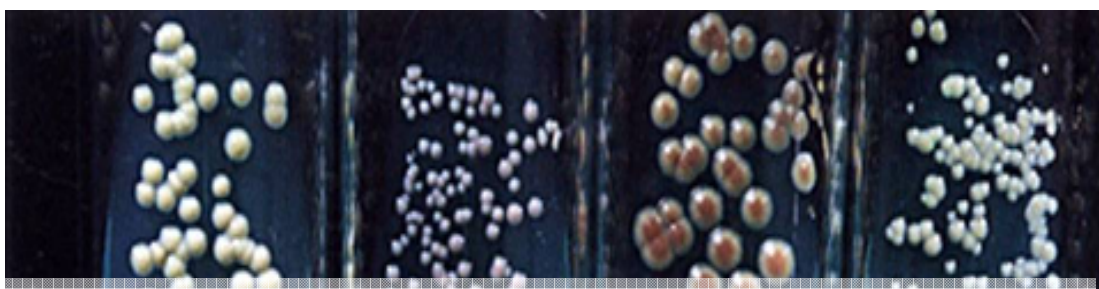




UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
MESTRADO EM MEDICINA TROPICAL

KEDMA DE MAGALHÃES LIMA



**ASPECTOS CLÍNICOS E LABORATORIAIS DAS
ONICOMICOSSES EM PACIENTES HIV-
POSITIVOS E SUSCEPTIBILIDADE DA
Candida spp AOS ANTIFÚNGICOS.**



RECIFE
2008

Kedma de Magalhães Lima

**Aspectos clínicos e laboratoriais das onicomicoses em
pacientes HIV - positivos e susceptibilidade da *Candida* spp
aos antifúngicos.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Medicina Tropical do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco, como parte dos requisitos para obtenção do Título de Mestre em Medicina Tropical.

Área de Concentração: Doenças Infecciosas e Parasitárias.

**RECIFE
2008**

Kedma de Magalhães Lima

**Aspectos clínicos e laboratoriais das onicomicoses em
pacientes HIV-positivos, com referência à susceptibilidade da
Candida spp aos antifúngicos.**

ORIENTADORA

Profª. Drª. Célia Maria Machado Barbosa de Castro
Professora Associada do Departamento de Medicina Tropical
Centro de Ciências da Saúde/Universidade Federal de Pernambuco

**RECIFE
2008**

Lima, Kedma de Magalhães

Aspectos clínicos e laboratoriais das onicomicoses em pacientes HIV-positivos e susceptibilidade da *Candida* spp aos antifúngicos / Kedma de Magalhães Lima. – Recife: O Autor, 2008.

138 folhas : il., fig., tab., quadros.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. CCS. Medicina Tropical, 2008.

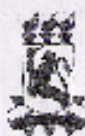
Inclui bibliografia e anexos.

1. Doenças infecciosas e parasitárias. 2. AIDS. 3. Onicomicoses – HIV-positivo. I. Título.

616.97
616.979 2

CDU (2.ed.)
CDD (22.ed.)

UFPE
CCS2008-035



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
PRÓ-REITORIA PARA ASSUNTOS DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA TROPICAL – MESTRADO E DOUTORADO

RELATÓRIO DA BANCA EXAMINADORA DA DISSERTAÇÃO DA MESTRANDA

KEDMA DE MAGALHÃES LIMA

No dia 09 de janeiro de 2008, às 09h00, na Sala Prof. Murillo La Graca - 3º. and do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco (C.C.S./UFPE), os Membros Doutores: Prof. Dr^a. Heloisa Ramos Lacerda de Melo (UFPE – Membro Externo), o Prof. Dr. Armando Marsden Lacerda Filho (UFPE - Membro Externo) e a Prof^a Dr^a Norma Suely Sobral da Silveira (UFPE – Membro Externo), componentes da Banca Examinadora, em sessão pública, argüíram a mestranda KEDMA DE MAGALHÃES LIMA sobre a sua dissertação intitulada “ASPECTOS CLÍNICOS E LABORATORIAIS DAS ONICOMICOSSES EM PACIENTES HIV-POSITIVOS, COM REFERÊNCIA À SUSCEPTIBILIDADE DA *Candida spp* AOS ANTIFÚNGICOS”. Ao final da argüição de cada membro da Banca Examinadora e resposta da mestranda, as seguintes menções foram publicamente fornecidas.

Prof^a. Dr^a. Heloisa Ramos Lacerda de Melo

Aprovado

Prof. Dr. Armando Marsden Lacerda Filho

Aprovado

Prof^a. Dr^a. Norma Suely Sobral da Silveira

Aprovado

Heloisa Ramos Lacerda de Melo

Prof^a. Dr^a. Heloisa Ramos Lacerda de Melo

Armando Marsden Lacerda Filho

Prof. Dr. Armando Marsden Lacerda Filho

Norma Suely Sobral da Silveira

Prof^a. Dr^a. Norma Suely Sobral da Silveira



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO

REITOR

Prof. Amaro Henrique Pessoas Lins

PRÓ-REITORIA PARA ASSUNTOS DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO

Prof. Anísio Brasileiro de Freitas Dourado

DIRETOR DO CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

Prof. José Thadeu Pinheiro

COORDENADORA DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA TROPICAL

Prof^ª. Heloísa Ramos Lacerda de Melo

VICE - COORDENADORA DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA TROPICAL

Prof^ª. Maria Rosângela Cunha Duarte Coelho

CORPO DOCENTE

Prof^ª. Célia Maria Machado Barbosa de Castro

Prof^ª. Elizabeth Malageño de Santana

Prof^ª. Geresa Dreyer Vieira

Prof^ª. Heloísa Ramos Lacerda de Melo

Prof^ª. Luiz Cláudio Arraes de Alencar

Prof^ª. Maria Amélia Vieira Maciel

Prof^ª. Maria de Fátima Pessoa Militão de Albuquerque

Prof^ª. Maria Rosângela Cunha Duarte Coelho

Prof^ª. Ricardo Arraes de Alencar Ximenes

Prof^ª. Sylvia de Lemos Hinrichsen

Prof^ª. Vera Magalhães da Silveira

Navegadores antigos tinham uma frase gloriosa: “Navegar é preciso; viver não é preciso”. Quero para mim o espírito desta frase, transformada a forma, para casar com o que sou: Viver não é necessário; o que é necessário é criar. Não conto gozar a minha vida; nem gozá-la penso. Só quero torná-la grande, ainda que para isso tenha de ser o meu corpo e a minha alma a lenha desse fogo. Só quero torná-la de toda a humanidade; ainda que para isso tenha de perdê-la como minha...

Fernando Pessoa

*Aos meus pais, **Antônio** e **Lenira**, a quem devo a vida e minha formação moral. Meu reconhecimento e gratidão pela paciência, compreensão e apoio constante nesta jornada.*

*Aos meus irmãos, **Kerlle** e **Kedson**, as melhores pontes com o meu passado e que, tenho certeza, sempre me apoiarão no futuro.*

*A **Leonardo** que esteve ao meu lado e através do seu amor e compreensão, apoiou-me nesta caminhada, que muito me fez crescer, permitindo que o meu sonho se realizasse.*

*À **Dr^a. Rossana Sette**, pela amizade, apoio e incentivo não apenas na realização desse trabalho, mas em muitos momentos da minha vida profissional e emocional.*

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Embora sejamos os únicos responsáveis pelo caminho que tomamos, a vida é repleta de pessoas que vêm ao nosso encontro e nos orientam para tomarmos a direção certa. Portanto tenho muito a agradecer.

A Deus. O que seria de mim sem a fé que eu tenho nele. Agradeço a Ti, Senhor, cada hora do meu dia, cada momento de dificuldade que pude sentir a tua presença dentro de mim. Não tenho palavras para agradecer tudo de bom que há em minha vida, as pessoas maravilhosas que colocastes em meu caminho. Quero que todo mundo saiba como sou agradecida por cada realização, por cada sonho meu que vejo tornar-se realidade. Muito obrigada!

Aos meus pais, irmãos, Léo e a toda minha família que, com muito carinho e apoio, não mediram esforços para que eu chegasse até aqui.

A Professora Dr^a Célia Maria Machado Barbosa de Castro, orientadora desta dissertação, agradeço o compromisso assumido, o empenho que colocou neste trabalho, os suportes que disponibilizou. Professora saiba que a senhora foi uma das pessoas que plantou em mim a semente de pesquisadora, sou reflexo da sua dedicação, empenho, responsabilidade e disciplina. Na verdade, sempre tentei me espelhar nos meus mestres da iniciação científica, e por sorte tenho o privilégio de concretizar mais um trabalho com uma pessoa que admiro tanto. Para agradecer a aliança, a confiança e a amizade as palavras serão sempre poucas.

Ao Professor Dr^a Jeferson Carvalhaes, por seu apoio e inspiração no amadurecimento dos meus conhecimentos e conceitos que me levaram a execução e conclusão da dissertação.

A Dr^a Rossana Sette, Dr. Francisco Montenegro e Dr. Cláudio Pereira, agradeço todas as oportunidades que me foram dadas.

A Dr^a Marília Delgado, por todo apoio, incentivo, ajuda e por repartir comigo os seus pacientes e os seus conhecimentos.

A Doutoranda em Biologia dos Fungos, Idalina Cambuim, pela amizade, troca de conhecimentos e camaradagem. Amiga, você foi muito importante na realização deste trabalho!

A Universidade Federal de Pernambuco, em especial ao programa de Pós-graduação em Medicina Tropical, por ter sido um lugar de aprendizagem profissional e pessoal.

A CAPES, pelo apoio financeiro durante os quase dois anos que estive no mestrado.

A Walter e Jupira pelo constante auxílio em todas as etapas do mestrado.

Aos colegas do Mestrado e Doutorado, com quem pude compartilhar momentos que me permitiram não só crescer intelectualmente, mas também crescer como ser humano, especialmente: Deyse, Tati, Eduardo, Cláudia, Robson e Millena.

A todos os profissionais do Hospital Correia Picanço, pela cordialidade e a ajuda diariamente demonstrados.

Um especial agradecimento é dirigido aos pacientes que autorizaram a coleta das amostras.

Enfim, a todos que de alguma maneira contribuíram para a realização deste trabalho, o meu muito obrigado!

“Se eu pudesse deixar algum presente a você, deixaria aceso o sentimento de amar a vida dos seres humanos. A consciência de aprender tudo o que foi ensinado pelo tempo afora. Lembraria os erros que foram cometidos para que não mais se repetissem. A capacidade de escolher novos rumos. Deixaria para você, se pudesse, o respeito àquilo que é indispensável. Além do pão, o trabalho. Além do trabalho, a ação. E, quando tudo mais faltasse, um segredo: o de buscar no interior de si mesmo a resposta e a força para encontrar a saída”.

Mahatma Gandhi

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS _____	12
LISTA DE TABELAS, QUADROS E FIGURAS _____	13
1. INTRODUÇÃO _____	16
2. REVISÃO DA LITERATURA _____	19
3. PERGUNTA CONDUTORA _____	34
4. OBJETIVOS _____	36
5. METODOLOGIA _____	38
6. ARTIGOS _____	46
ARTIGO I - Fungos filamentosos não-dermatófitos: onicomicoses em quatro pacientes infectados com o vírus da imunodeficiência humana.	
Resumo _____	49
Title _____	49
Texto _____	51
Caso 1 _____	51
Caso 2 _____	53
Caso 3 _____	54
Caso 4 _____	54
Discussão _____	56
Bibliografia _____	59

ARTIGO II - *Candida albicans* e *Candida tropicalis* isoladas de onicomicose em paciente HIV-positivo: co-resistência “*in vitro*” aos azólicos

Resumo_____	62
Introdução_____	63
Relato do Caso_____	64
Discussão_____	67
Conclusão_____	70
Abstract_____	70
Referências_____	71

ARTIGO III - Espécies e susceptibilidade antifúngica *in vitro* de leveduras isoladas em unhas de pacientes com AIDS

Resumo_____	75
Summary_____	75
Introdução_____	76
Materiais e métodos_____	78
Resultados_____	80
Discussão_____	83
Conclusão_____	85
Bibliografia_____	86

ARTIGO IV - Características clínicas e microbiológicas de onicomicoses em pacientes HIV-positivos

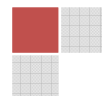
Resumo_____	90
-------------	----

Summary_____	90
Introdução_____	91
Materiais e métodos_____	93
Resultados_____	96
Discussão_____	100
Referências bibliográfica_____	106
7. CONCLUSÕES _____	111
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS _____	114
9. ANEXOS _____	124



LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AIDS	Síndrome da Imunodeficiência Adquirida
BDA	Batata dextrose-agar
CIM	Concentração Inibitória Mínima
CLSI	Clinical Laboratory Standards Institute
FFND	Fungos Filamentosos Não-Dermatófitos
HAART	Highly Active Antiretroviral Therapy
HIV	Vírus da Imunodeficiência Humana
KOH	Hidróxido de Potássio
NaCl	Cloreto de Sódio
NCCLS	National Committee for Clinical Laboratory Standards
OD	Onicomicose Distrófica
OMS	Organização Mundial de Saúde
OSB	Onicomicose Superficial Branca (Leuconíquia Superficial)
OSDL	Onicomicose Subungueal Distal e Lateral
OSP	Onicomicose Subungueal Proximal
SAC	Sabouraud com clorafenicol e com cicloeximida
SC	Sabouraud com clorafenicol e sem cicloeximida
T. A	Temperatura Ambiente



LISTA DE TABELAS, QUADROS E FIGURAS

METODOLOGIA

	Página
Figura 1 - Material utilizado para coleta das escamas ungueais.....	39
Figura 2 - Técnica da janela – Aspecto da unha apresentando dermatofitoma. Após a coleta de material subungueal por via transungueal.....	40
Figura 3 - Microcultivo em lâmina com BDA para fungos filamentosos.....	42
Figura 4 - Microcultivo de leveduras em microaerofilia e agar fubá-Tween 80.....	44
Figura 5 - Identificação de leveduras através da assimilação de carboidratos.....	44
Figura 6 - Identificação de leveduras através da fermentação de carboidratos.....	45
Figura 7 - ATB® FUNGUS 2.....	46
Figura 8 - Teste de susceptibilidade ao fluconazol pelo método de disco-difusão.....	47

ARTIGO I

	Página
Figura 1 – A. Unha com opacificação sem paroníquia, quebradiça, amarelada e com pontos negros. B. Aspecto microscópico do <i>Aspergillus niger</i> em lactofenol azul de algodão (x400).....	52
Figura 2 – A. Unha com hiperqueratose subungueal distal e lateral amarelada. B. Aspectos microscópicos do <i>Scytalidium hyalinum</i> em lactofenol azul de algodão (x400).....	53
Figura 3 – A. Unha dos pés com hiperqueratose subungueal distal e lateral, opacificação escura. B. Aspecto microscópico de <i>Scytalidium dimidiatum</i> em lactofenol azul de algodão (x400).....	54
Figura 4 – A. Unha com hiperqueratose subungueal distal e lateral, manchas brancas e opacas. B. Exame direto com KOH 30% demonstrando estruturas fúngicas reprodutivas (x400).....	55



Tabela 1 – Dados clínicos e achados microbiológicos dos quatro casos de pacientes diagnosticados com onicomicose por fungos filamentosos não-dermatófitos.....	56
---	-----------

ARTIGO II

	Página
Figura 1. A - Unhas das mãos apresentando onicodistrofia parcial e paroníquia. B – Presença de células de leveduras blastosporadas (a) e pseudohifas (b) em exame direto com KOH 30% (x400).....	65
Figura 2. Colônias semeadas em CHROMAgar <i>Candida</i> ®. A – Colônias azuis acinzentadas identificadas presuntivamente como <i>Candida tropicalis</i> . B – Colônias esverdeadas identificadas presuntivamente como <i>Candida albicans</i>	65
Figura 3. Aspectos microscópicos das leveduras. A – Presença de clamidoconídios e blastoconídios em cachos sugestivos de <i>Candida albicans</i> . B – Presença de blastoconídios em cadeias simples ou ramificadas sugestivas de <i>Candida tropicalis</i>	66

ARTIGO III

	Página
Figura 1. Leveduras semeadas em CHROMAgar <i>Candida</i> ®. Colônias esverdeadas, azul acinzentadas e esbranquiçadas, identificadas presuntivamente com <i>C. albicans</i> , <i>C. tropicalis</i> e <i>Candida</i> sp., respectivamente.....	80
Figura 2. Espécies de leveduras isoladas em unhas de pacientes com HIV. <i>Candida albicans</i> foi a espécie mais observada, seguida pela <i>Candida parapsilosis</i>	81
Figura 3. Micromorfologia em ágar fubá Tween 80 de espécies de <i>Candida</i> isoladas de onicomicose em pacientes HIV-positivos. A- <i>C. parapsilosis</i> , B- <i>C. albicans</i> , C- <i>C. tropicalis</i> , D- <i>C. glabrata</i> , E- <i>C. famata</i> , F- <i>C. guilliermondi</i>	81
Tabela 1. Susceptibilidade <i>in vitro</i> das espécies de <i>Candida</i> através do ATB FUNGOS 2®.....	82



ARTIGO IV

	Página
Quadro 1 – Coleta de escamas ungueais de acordo com os aspectos clínicos da lesão.....	94
Tabela 1 - Distribuição dos pacientes HIV-positivos acometidos por onicomicose segundo sexo, localização, fatores predisponentes, contagem de CD4+ e tempo de início da lesão.....	97
Figura 1 – Aspectos clínicos das onicomicoses em pacientes HIV-positivos. A -onicomicose subungueal distal e lateral, B -onicomicose distrófica, C -onicomicose subungueal proximal, D -onicomicose superficial distal e lateral associada a onicomicose branca superficial.....	98
Tabela 2 - Distribuição dos microrganismos isolados segundo sexo dos pacientes, localização e aspectos clínicos das onicomicoses em HIV-positivos.....	99
Quadro 2 – Apanhado dos casos de onicomicose com os respectivos sexos, idade, contagem de CD4, região anatômica, aspectos clínicos da lesão e espécies isoladas.....	101



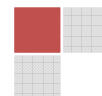
1. Introdução

INTRODUÇÃO

Onicomicose, denominação usada para descrever micose nas unhas, constitui um importante grupo de infecções fúngicas superficiais que afeta aproximadamente 5% da população mundial (MURRAY, DAWBER, 2002), representando em torno de 30% das micoses superficiais (MIDGLEY et al., 1994) e mais de 50% das onicopatias (LOPES et al., 1999; SCHELEFMAN, 1999; GHANNOUM et al., 2000).

Pacientes imunodeprimidos fazem parte do grupo de risco para onicomicoses (LEVY, 1997; SCHER, BARAN; 2003; TOSTI, HAY, ARENAS-GUZMAN, 2005; VENDER, LYNDE, POULIN, 2006). Alguns autores acreditam que essas infecções estejam presentes em mais de 30% de indivíduos com sorologia positiva para o vírus da imunodeficiência humana (HIV) (DAHDAH, SCHER; 2006). Neste caso, o maior índice das onicomicoses ocorre quando estes pacientes apresentam declínio na contagem de linfócitos T CD4+ no sangue periférico (GREGORY, 1996; RAJU et al., 2005).

Os agentes causais da micose ungueal incluem os dermatófitos, que acometem principalmente as unhas dos pés; as leveduras, especialmente pertencentes ao gênero *Candida* e os fungos filamentosos não-dermatófitos (FFND) (MERCANTINI et al. 1996; LUQUE et al., 1997; BRILHANTE et al., 2005; MARTELOZO, GUILHERMETTI, SVIDZINSKI, 2005). Os últimos fazem parte de um grupo amplo e heterogêneo, que tem seu habitat sobre vegetais e solos de todo mundo. São considerados como fungos contaminantes, sapróbios e agentes oportunistas, porém nos últimos anos tem aumentado sua frequência na etiologia das



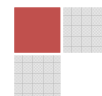
onicomicoses (MIDGLEY, MOORE, 1998; ARAÚJO et al., 2003a; ESCOBAR, CARMONA-FONSECA, 2003; GUGNANI et al., 2004).

As diferentes espécies fúngicas podem provocar alterações ungueais caracterizadas por hiperqueratose subungueal iniciada pelo bordo livre das unhas na região lateral e/ou distal, descolamentos ungueais nas proximidades das cutículas, reação inflamatória comprometendo as dobras periungueais (paroníquia) e o aparecimento de manchas brancas nas superfícies das unhas (leuconíquia) (MARTINS et al., 2005).

É importante ressaltar que várias espécies fúngicas consideradas de baixo potencial patogênico em indivíduos imunocompetentes podem causar infecção ungueal primária e promover porta de entrada para infecção disseminada, aumentando a mortalidade em pacientes imunodeprimidos (ARRESE, PIERARD, PIERARD, 1996; GARCÍA-RUIZ, AMUTIO, PONTÓN, 2004; BARAN, MCLOONE, HAY, 2005; VENKATESAN, PERFECT, MYERS, 2005). Além disso, em imunodeprimidos, as onicomicoses podem apresentar variações nas formas clínicas, agentes causais e dificuldade de resposta a terapêutica fúngica convencional (BARBER, CLAVEAU, THOMAS, 2006).

O tratamento das onicomicoses tem gerado muitos gastos ao sistema de saúde. Diferentes autores consideram essa infecção como a micose superficial de mais difícil tratamento. E mesmo nos casos em que a medicação é adequada ao agente etiológico identificado, nem sempre se obtém cura, sendo frequentes as recidivas (TORRES-RODRÍGUEZ, 1986; GUPTA, LAMBERT, 1999; JOISH, ARMSTRONG, 2002; SCHER, BARAN, 2003).

A resistência às drogas entre as leveduras, principalmente espécies de *Candida*, tem sido um problema crescente, pois muitas das espécies deste gênero são



menos susceptíveis aos derivados azólicos dificultando o tratamento da candidíase (MOHANTY et al., 2007). Essa é uma das razões da crescente importância dos testes de susceptibilidade, pois o conhecimento da sensibilidade às drogas torna possível otimizar o tratamento (COLOMBO et al., 1999; EVANS, 1999; ZARDO, MEZZARI, 2004; ROGERS, 2006).

Sabe-se que existe uma maior frequência das micoses ungueais, recidivas comuns e resistência ao tratamento (GOODMAN et al., 1987; HERRANZ et al., 1997; LOVELAND, 1998; GUPTA et al., 2000). Entretanto, há poucos estudos sobre os aspectos clínicos e laboratoriais das onicomicoses em HIV-positivos (GREGORY, 1996; DOMPMARTIN et al., 1990; CRIBIER et al., 1998; ARENAS et al., 1999; GUPTA et al., 2000; SALIM, RUNCO, 2002; SURJUSHE et al., 2007).

No Brasil, país com diferenças geográficas e climáticas que podem provocar alterações na epidemiologia e etiologia das onicomicoses, não existem estudos no Nordeste a respeito das micoses ungueais em portadores do vírus da AIDS.

Desta forma, faz-se importante o estudo das onicomicoses nos pacientes HIV-positivos. Assim como observar a susceptibilidade de espécies de *Candida* isoladas em escamas ungueais frente aos antifúngicos, principalmente os azólicos que são utilizados também para o tratamento das micoses sistêmicas.



2. Revisão da Literatura

Onicomicoses constituem uma das principais causas de enfermidades ungueais a nível mundial, tendo aumentado sua ocorrência nos últimos anos (MIDGLEY, MOORE; 1998; DAHDAH, SHER, 2006). Esse evidente aumento de frequência pode ser atribuído a imunodeficiências e outros fatores, como o uso abusivo de corticosteróides, de antibióticos e o uso de drogas imunossupressoras em pacientes transplantados (LEVY, 1997).

Geralmente as onicomicoses são subdiagnosticadas e tratadas exclusivamente como um problema estético de importância relativamente menor, desconhecendo-se seu impacto real, pois podem interferir em algumas profissões como manipuladores de alimentos, maestros, secretárias e trabalhadores de clubes desportivos (SCHER, 1994; LUBECK, 1998; FAERGEMANN, BARAN, 2003). O diagnóstico clínico e laboratorial das onicomicoses deve ser estabelecido tão precocemente quanto possível, pois é, extremamente importante para o sucesso do tratamento (KIOSHIMA et al., 2002).

2.1 Função e estrutura das unhas

As unhas têm várias funções, a de apreender e manipular objetos, proteger o tecido da ponta dos dedos, além de refletirem, através de suas alterações, doenças e condições graves cutâneas ou mesmo internas. Estas estruturas cobrem 1/5 da superfície dos dedos e chegam a cobrir 50% do hálux, além disso, são constituídas por queratina, proteína endurecida produzida pelas células da matriz da unha. Essa proteína da lâmina ungueal, bem como da área que a rodeia - tecido sub e periungueal - pode favorecer a colonização de uma imensa gama de microrganismos

LIMA, KM.



(RAMOS-E-SILVA, 2000). As unhas são consideradas parte integrante da estrutura sensorial da mão. A perda da margem livre pode reduzir drasticamente a capacidade sensorial dos dedos, com conseqüente limitação da destreza manual.

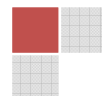
A onicomicose das unhas dos pés, algumas vezes, causa dor e desconforto, tornando difícil a permanência em pé, andar e praticar esportes. A infecção pode também resultar em prejuízo significativo para a saúde geral, a aparência física e o desempenho social. Além disso, trazem conseqüências psicológicas importantes, incluindo o constrangimento constante, preocupação com aparência e o receio de situações íntimas (LUBECK, 1993). Podendo, também, funcionar como porta de entrada para infecções disseminadas em pacientes imunocomprometidos (ARRESE, PIERARD, PIERARD, 1996; BARAN, MCLOONE, HAY, 2005).

2.2 Fatores predisponentes e formas de transmissão das onicomicoses

Numerosos fatores de risco podem favorecer o aparecimento de onicomicose, como certas enfermidades crônicas (diabetes melito, câncer), algumas afecções cutâneas (psoríase, atopias), fatores genéticos, infecções micóticas não-ungueais, imunodeficiências, idade, formas e estilo de vida (PHILPOT, SHUTTLEWORTH, 1989; GUPTA et al., 2000; SIGURGEIRSSON, STEINGRIMSSON, 2004; TOSTI, HAY, ARENAS-GUZMAN, 2005; TUCHINDA et al., 2006).

Alguns estudos demonstraram que há aumento da frequência e prevalência das onicomicoses predominantemente em pacientes maiores de 40 anos, principalmente pela diminuição do crescimento ungueal, dificuldade circulatória e diabetes (ARRESE et al., 2005; ANANE et al., 2007).

Pacientes portadores de micoses nos espaços interdigitais constituem um grupo com significativo risco para acometimento ungueal (GUPTA et al., 1998;



MIDGLEY, MOORE, 1998). Também é considerada doença infecciosa, pois membros da mesma família estão sob maior risco de contraí-la de parceiros ou irmãos afetados (GUPTA et al., 1998) e este risco aumenta para pacientes com AIDS (ELMETS, 1994; ALY, BERGER, 1996; CRIBIER et al, 1998; GUPTA, 2000; FAERGEMANN, BARAN, 2003; TOSTI, HAY, ARENAS-GUZMAN, 2005).

As onicomicoses podem ser transmitidas de forma direta, contato inter-humano, ou indiretamente, por roupas de cama, vestuários, calçados e utensílios contaminados com propágulos fúngicos, que podem ser originados do solo, liberados juntos com pêlos ou material de descamação da pele (GODOY, COLOMBO, 2004).

2.3 Etiologia das onicomicoses

Entre os agentes etiológicos de onicomicose destacam-se as leveduras, os dermatófitos e os FFND (BALESTTÉ, MOUSQUES, GEZUELE, 2003). Os dermatófitos anteriormente eram citados como os principais responsáveis por aproximadamente 90% das onicomicoses dos pés e as leveduras por 50% das infecções nas unhas das mãos (ELEWSKI, 1998).

Espécies de *Candida*, particularmente *Candida albicans*, são as principais responsáveis por causar onicomicose em unhas das mãos (LOPES et al., 1999; PONTES et al., 2002). Os FFND são pouco frequentes, porém algumas espécies, como *Fusarium* spp, *Scytalidium* spp e *Acremonium* spp, têm sido descritas como agentes de onicomicoses (MIDGLEY et al., 1994; TOSTI et al., 2000; PONTES et al., 2002; HATTORI et al., 2005; REGO et al., 2006; TORREZ-RODRIGUEZ, SELLART-ALTIENT, 2006). Vários autores consideram os dermatófitos os

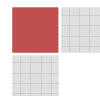


principais agentes causais, seguidos pelas leveduras (HANEKE, 1991; KENNA, ELEWSKI, 1996). Entretanto, alguns estudos realizados em diferentes países demonstraram que leveduras do gênero *Candida* são consideradas os principais responsáveis pela maioria dos casos de onicomicose (JESUDANAM et al., 2002; ARAÚJO et al., 2003a; KUSMARINAH, UNANDAR, 2005; BRILHANTE et al., 2005; MARTELOZO, GUILHERMETTI, SVIDZINSKI, 2005). Variações entre os relatos podem ser devidas a distintos grupos geográficos estudados e respectivas diferenças climáticas (VÉLEZ et al., 1997; ARAÚJO et al., 2003b).

Onicomicoses causadas por FFND, têm se tornado cada vez mais frequentes na prática médica (GUPTA et al., 2003; ESCOBAR, CARMONA-FONSECA, 2003). A ocorrência de infecções ungueais por esse grupo de fungos pode levar a uma dificuldade na decisão do clínico em relação a conduta terapêutica a ser estabelecida (SIDRIM, ROCHA, 2004). Neste contexto, torna-se essencial uma insistente busca diagnóstica para detecção correta da etiologia dessas lesões, visando oferecer tratamento mais específico e adequado para o paciente, principalmente naqueles casos clinicamente evidentes, com exames micológicos constantemente negativos ou com detecção de fungos considerados contaminantes.

2.4 Aspectos clínicos das onicomicoses

Unhas com infecções fúngicas podem apresentar diferentes formas clínicas, geralmente classificadas de acordo com localização, extensão do comprometimento e coloração (BARAN, BERKER, DAWBER, 2000; SIDRIM, ROCHA, 2004). Segundo Roberts, Evans, Allen (1990), as onicomicoses são classificadas em quatro tipos clínicos específicos de acordo com as alterações presentes: onicomicose



subungueal distal e lateral (OSDL), onicomicose branca superficial (OBS), onicomicose subungueal proximal (OSP) e onicomicose distrófica (OD).

A onicomicose subungueal distal e lateral é a forma clínica mais comum. Os dermatófitos predominam nesse aspecto clínico, com envolvimento ocasional por não-dermatófitos (ROBERTS, EVANS, ALLEN, 1990). Geralmente a OSDL se inicia na borda livre da unha, onde o fungo invade a porção inferior da placa ungueal, na camada córnea do hiponíquio e no leito ungueal. Como resultado da ação do patógeno ocorre a formação de material amarelado e friável. Com a evolução da micose, pode ocorrer o comprometimento do leito ungueal e descolamento parcial ou queda da unha (SIDRIM, ROCHA, 2004).

A onicomicose subungueal proximal freqüentemente afeta as unhas das mãos, primariamente resultado de infecção por *Candida*. Neste caso, pode ocorrer paroníquia, comprometimento do tecido periungueal decorrente da reação inflamatória das dobras da pele em torno da unha, podendo atingir também parte das dobras laterais com posterior edema, eritema e dor mais intensa nas fases de agudização (SIDRIM, ROCHA, 2004). Em portadores do HIV pode ser causada por dermatófitos, principalmente *Trichophyton rubrum* (ROBERTS, EVANS, ALLEN, 1990). A invasão fúngica se inicia abaixo da borda ungueal proximal, penetrando na camada ventral da parte proximal da lâmina ungueal. Hiperceratose esbranquiçada emerge da porção interna da borda ungueal, podendo se espalhar e com a evolução ocorre um deslocamento da unha na proximidade da cutícula, tornando-se turva e espessa (BARAN, BERKER, DAWBER, 2000).

A onicomicose branca superficial é uma infecção superficial da unha causada primariamente por *Trichophyton mentagrophytes* e, algumas vezes, pelo *Acremonium* sp. Caracteriza-se pelo aparecimento de manchas brancas que podem



se estender progressivamente. Com a evolução da lesão, podem ser observadas manchas de coloração amarelada (BARAN, BERKER, DAWBER, 2000; SIDRIM, ROCHA, 2004).

A destruição parcial ou total da lâmina ungueal, forma clínica OD é freqüentemente resultado de infecção dermatofítica, podendo ser consequência do desenvolvimento de qualquer uma das formas de infecção previamente mencionadas ou desenvolver-se na forma primária, neste caso a lâmina ungueal se torna frágil e se fragmenta (ROBERTS, EVANS, ALLEN, 1990).

2.5 Onicomicoses em pacientes com AIDS

Desde o aparecimento do HIV, ocorreu aumento significativo do número de casos de infecções fúngicas em diversos órgãos. As doenças dermatológicas estão classificadas entre as manifestações mais freqüentes nos indivíduos HIV-positivos. Além disso, podem ser o sinal mais precoce ou o único problema apresentado pelo paciente durante parte do curso da infecção (MICHELIM et al., 2004).

Entre as doenças dermatológicas podemos destacar a onicomicose, considerada como um marcador clínico prévio da infecção por HIV, ocorrendo com freqüência quando a contagem de células CD4 aproxima-se de 450 células/ μ l (ALY, BERGER, 1996; GREGORY, 1996; GUPTA et al., 2000).

A onicomicose subungueal proximalorma clínica mais comum em pacientes com AIDS (Acquired Immune Deficiency Syndrome), sendo o *Trichophyton rubrum* o agente etiológico encontrado na maioria dos casos (DOMPMARTIN et al., 1990; VITRAL et al., 1995; JOSEPH, 2005). Entretanto, Peña-Penabad et al. (2001), em relato de caso, observou a presença de OBS em criança de três anos de idade infectada com o HIV.

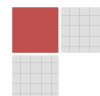


Arenas et al. (1999), em relato de caso, encontraram alta prevalência de leuconíquia e melanoníquia micótica em portadores do HIV. Esses autores ressaltaram o valor da exploração clínica cuidadosa nestes casos.

No mundo, há poucos trabalhos direcionados especificamente para o melhor conhecimento da incidência e importância clínica das onicomicoses em imunodeprimidos, em especial para indivíduos com AIDS. Na França, em estudo caso-controle realizado com 151 pacientes HIV-positivos e 103 HIV-negativos, observou-se que os sintomas ungueais são mais frequentes em pacientes soropositivos, e que esta ocorrência pode estar ligada ao grau da imunossupressão (CRIBIER et al., 1998).

Gupta et al. (2000), comparando o desenvolvimento de onicomicoses em pacientes HIV-positivos que vivem em país de clima temperado (Canadá) com pacientes HIV-positivo de clima tropical (Brasil) concluíram que a maior prevalência de doenças ungueais foi em canadenses, sendo os dermatófitos os principais agentes causais e os fatores predisponentes a contagem de CD4 aproximadamente de 370, história de onicomicose na família, *tinea pedis* e caminhadas com pés descalços em volta da piscina.

Alguns autores demonstraram que dermatófitos, como *Trichophyton rubrum* e *Microsporum gypseum*, podem apresentar lesões disseminadas na pele de pacientes imunodeprimidos e estas lesões se apresentam de forma atípica e agressiva. Além disso, a resposta à medicação antifúngica pode ser menos eficaz do que a esperada, sendo comuns às recorrências (ELMETS, 1994; ALY, BERGER, 1996; PORRAS et al., 1998; SCHER, BARAN, 2003; KWON et al., 2004; GALHARDO et al., 2004).



Estudos de onicomicoses em soropositivos realizados em países latinos, Argentina e Colombia, demonstraram que o maior número de casos foi por espécies do gênero *Candida* (RUGELES et al., 2001; SALIM, RUNCO, 2002). Estas leveduras possuem alto poder invasivo e são produtoras de enzimas como as proteinases e fosfolipases (SENET, 1997; RODRIGUES et al., 2003). Estas enzimas podem facilitar a fixação do microrganismo às mucosas do paciente, o que provoca ulcerações e ruptura de barreira, chegando a um processo invasivo e infeccioso. Além disso, podem comportar-se como patógeno primário em escamas da pele e mucosas, invadindo também a unha normal em pacientes com AIDS (DANIEL et al., 1998; TOSTI et al., 1998).

Estudo indiano realizado com 60 pacientes portadores de HIV e onicomicose detectou que a forma clínica mais freqüente foi a distrófica total, sendo as leveduras e os FFND os principais agentes das lesões (SURJUSHE et al., 2007).

Inúmeras espécies fúngicas antes considerada contaminantes passaram a ser importantes devido à imunodepressão, sendo responsáveis por infecções associadas, na maioria dos casos, a aumento da morbidade e mortalidade. Por exemplo, espécies de *Fusarium* podem causar infecção ungueal e promover porta de entrada para fungemia (ARRESE, PIERARD, PIERARD, 1996; CRIBIER et al., 1998). Neste caso, a confirmação de onicomicose por *Fusarium* deve ser considerada doença em pacientes imunocomprometidos, pois este agente pode produzir infecções em unhas, dermatomicoses e infecções sistêmicas (LÓPEZ-JODRA, TORRES-RODRIGUEZ, 1999; DIGNANI, ANAÏSSIE, 2004; SILVEIRA et al, 2004).

No Brasil, poucos estudos tratam das onicomicoses em portadores do vírus da AIDS (FEITAL et al., 1991; GUPTA et al., 2000). Não existe na literatura



nenhum trabalho a respeito destas lesões em pacientes que residam no Nordeste do país.

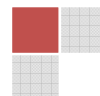
Embora a abordagem clínica/terapêutica dos pacientes HIV-positivos tenham evoluído bastante nos últimos anos, o que tem resultado em maior sobrevida e melhora sensível da qualidade de vida, as infecções micóticas sistêmicas e as onicomicoses ainda representam um dos grandes problemas do século XXI (FIGUEIREDO, MACHADO, 2003; SCHER, 2003).

2.6 Resposta aos antifúngicos

O emprego de qualquer medicação, duração e via de tratamento vai depender do diagnóstico correto do exame micológico. E ao administrar uma droga antifúngica, deve-se sempre avaliar seus efeitos adversos, prescrevendo apenas quando necessário, principalmente quando a administração é via sistêmica.

Onicomicose é enfermidade que não se resolve espontaneamente, necessitando instituir-se o tratamento, apesar de ser dificultoso e prolongado (BALESTTÉ, MOUSQUÉS, GEZUELE, 2003). Na atualidade se dispõem de numerosos antifúngicos tópicos e sistêmicos, entretanto a indicação de um tratamento adequado, assim como a atividade do mesmo, depende de múltiplos fatores como: a idade do paciente, a espécie fúngica diagnosticada, o número de unhas afetadas, o comprometimento da matriz e bordas laterais, o grau de engrossamento da unha, a presença de dermatofitomas, interação medicamentosa, entre outros (ELEWSKI, 1998).

Os antifúngicos de uso tópico utilizados para tratamento de onicomicose são bifonazol, isoconazol, tioconazol, miconazol, sertaconazol, amorolfina, ciclopiroxolamina, estando indicado quase exclusivamente para a OSB, quando esta

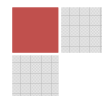


afeta menos que 50% da lâmina ungueal e naqueles pacientes em que o tratamento sistêmico está contra-indicado. Para tratamento sistêmico utiliza-se griseofulvina, cetoconazol, itraconazol, fluconazol e terbinafina. Destes os mais indicados, por obtenção de melhores resultados são: itraconazol, fluconazol e terbinafina (NIEWERT, KORTING, 1999; PALÁCIO et al., 1999; BALESTTÉ, MOUSQUÉS, GEZUELE, 2003).

Evidencia-se uma possível resistência dos dermatófitos ao fluconazol, entretanto não é apropriado falar de resistência dos dermatófitos a azólicos, já que não existe uma metodologia aprovada pelo NCCLS/CLSI para o estudo da sensibilidade aos antifúngicos apresentada por este grupo de fungos. Têm sido verificados fracassos terapêuticos obtidos quando se realizam tratamentos de dermatófitos com fluconazol, por esta razão não se recomenda o uso (BALESTTÉ, MOUSQUÉS, GEZUELE, 2003).

A terbinafina via oral é o antifúngico de eleição para onicomicoses causadas por fungos filamentosos. Herranz et al. (1997) confirmaram sua eficácia na onicomicose por dermatófitos associada com AIDS. Entretanto, apesar do sucesso na terapêutica ser alto, pode ocorrer falha quando o uso desse antifúngico se faz por períodos de tempo prolongados (NUCCI, COLOMBO, 2002).

O fluconazol está indicado nas onicomicoses causadas por leveduras do gênero *Candida*, com exceção da *C. krusei*. Entretanto, o uso freqüente e prolongado do fluconazol na profilaxia da candidíase oral tem determinado o aparecimento de leveduras resistentes a este azólico e este perfil de sensibilidade começa a ser observado de forma similar para o cetoconazol e itraconazol (EVANS, 1999). Neste contexto, não se pode deixar de mencionar que os azólicos são também utilizados para tratamento de micoses profundas, de evolução e prognóstico grave, portanto



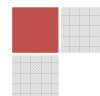
deve-se utilizar com cautela, indicando-se quando estes sejam estritamente necessários ou quando houver a certeza do diagnóstico micológico (BALESTTÉ, MOUSQUÉS, GEZUELE, 2003).

Assim, a identificação prévia da espécie de *Candida* e a determinação da susceptibilidade *in vitro* têm sido recomendadas em alguns casos, principalmente quando se trata de candidíase em pacientes infectados com HIV, micoses sistêmicas e vaginites recorrentes (ZARDO, MEZZARI, 2004).

2.7 Testes de susceptibilidade aos antifúngicos

O avanço da medicina nas últimas décadas, a introdução de novas drogas e a maior sobrevida de pacientes imunocomprometidos podem ser causas importantes para o aumento na incidência das infecções fúngicas, sendo as candidíases e as aspergiloses as mais freqüentes em pacientes imunologicamente comprometidos. Assim, a necessidade de padronização de testes de susceptibilidade frente aos antifúngicos tornou-se imperiosa, principalmente com a introdução de novas drogas antifúngicas.

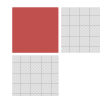
O National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS), atualmente designado CLSI (Clinical Laboratory Standards Institute) propôs a primeira norma de padronização para o antifungigrama em 1992, com tentativa de padronização em 1995 e conclusão da padronização no ano de 1997. Essas normas têm como padrão ouro a macrodiluição em caldo e sua equivalência na microdiluição em caldo (NCCLS/CLSI, 1997). Em 2002, nova atualização foi aprovada e publicada como norma M27-A2 (NCCLS/CLSI, 2002), que é o método de referência para o teste de sensibilidade de leveduras.



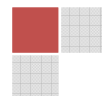
O método de microdiluição apresenta vantagens sobre a macrodiluição, devido à manipulação ser menos laboriosa, a não utilização de múltiplos tubos e sim de microplacas e, com isto utilizasse menor quantidade de antifúngicos e meios de cultura, sendo o ponto de corte de leitura definido visual e ou espectrofotometricamente. Porém, é requerido tempo de incubação final de 48 horas, tempo muito elevado principalmente para pacientes graves que requerem uma ação terapêutica imediata. Devido a estas dificuldades, muitos métodos vêm sendo testados como alternativas para o antifungigrama.

Vários sistemas comerciais, baseados no método de diluição em caldo do NCCLS/CLSI foram desenvolvidos por diferentes empresas e, entre eles, podem ser citados o ATB Fungus 2 (API-BioMerieux, Marcy l'Etoile, France); Candifast (International Microbiol/Stago Group, Milan, Italy); Fungitest [Bio-Rad SDP (inicialmente Sanofi Diagnostics Pasteur), Paris, France]; e o Sensititre Yeast One Colorimetric Antifungal Panel (Trek Diagnostic Systems, Inc., Westlake, Ohio, EUA), método comercial que utiliza o azul de alamar como indicador de oxido-redução.

Técnicas baseadas na difusão da droga em meio sólido, foram desenvolvidas como o método do Etest (AB Biodisc, Solna, Sweden) e mais recentemente o método de disco-difusão em ágar/M44-A (NCCLS/CLSI, 2004), com propostas de leituras em 24/48 horas. O método de disco difusão apresenta como vantagens a fácil realização e similaridade com o antibiograma, inclusive utilizando-se como meio de cultura básico o ágar Mueller Hinton, porém, os critérios de interpretação e padronização foram definidos inicialmente somente para o fluconazol e só em 2005 foram propostos pontos de corte para o voriconazol (PFALLER et al., 2005).



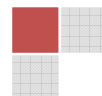
A citometria de fluxo tem sido utilizada para determinar o perfil de susceptibilidade aos antifúngicos utilizando um fluorocromo que intercala com o DNA da célula que apresenta lesão em sua membrana celular (RAMANI, CHATURVEDI, 2000). Trabalhos recentes mostram um potencial para a correlação da técnica baseada na citometria de fluxo com o método de referência (M27-A2). Esta metodologia se apresenta como promissora para o diagnóstico da sensibilidade das leveduras frente aos antifúngicos, devido ao fato de ser um método rápido (em média de 2 a 4 horas de realização), podendo abreviar a ação ou reorientação terapêutica (VALE-SILVA, BUCHTA, 2006).



3. Pergunta Condutora

PERGUNTA CONDUTORA

Quais os aspectos clínicos das lesões, os principais agentes etiológicos envolvidos e a susceptibilidade frente aos antifúngicos de espécies de *Candida* em onicomicoses de pacientes HIV-positivos atendidos no ambulatório de Dermatologia do Hospital Correia Picanço, Recife-PE, durante o período de Janeiro a Outubro de 2007?



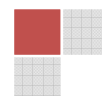
4. *Objetivos*

4.1 Geral

Descrever os aspectos clínicos e laboratoriais, bem como a susceptibilidade da *Candida* spp aos antifúngicos, em onicomicoses de pacientes HIV-positivos atendidos no ambulatório de Dermatologia do Hospital Correia Picanço, Recife-PE, durante o período de Janeiro a Outubro de 2007.

4.2 Específicos

- Identificar quais as espécies fúngicas isoladas de lesões ungueais de pacientes HIV-positivos;
- Descrever a presença de onicomicose segundo sexo, idade, início dos sintomas, localização das lesões (mãos e/ou pés), contagem das células CD4+ em pacientes infectados com o vírus da AIDS;
- Correlacionar os aspectos clínicos das onicomicoses com o grupo fúngico causal (leveduras, dermatófitos e FFND), sexo e a região anatômica acometida (mãos ou pés).
- Descrever a presença de onicomicoses em pacientes que estão em uso de antifúngicos e antiretrovirais.
- Identificar as espécies de *Candida* responsáveis por onicomicose em portadores de HIV e as respectivas susceptibilidades antifúngicas *in vitro*.



5. Metodologia

Para que o exame micológico tenha um maior índice de positividade é preciso que de início se classifique a onicomicose clinicamente. Isto é realizado, entre outras razões, para que se possa perceber onde é o limite entre a área sadia e afetada da unha e é neste ponto que se deve proceder à raspagem do material a ser examinado.

Antes da coleta micológica, a unha passou por um processo de anti-sepsia com a utilização de álcool a 70%. Este procedimento minimiza o desenvolvimento de microrganismos contaminantes, que podem interferir no crescimento do agente etiológico responsável pela onicomicose.

5.1 Coleta Micológica

Para coleta micológica foram utilizados cureta odontológica, tesoura, bisturi, álcool a 70%, luvas, gaze, placas de Petri e tubos contendo solução salina (NaCl 0,9%) (Figura 1).



Figura 1 – Material utilizado para coleta das escamas ungueais.

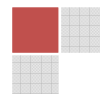


Os fragmentos superficiais de unhas danificadas foram colhidos, raspando-os com bisturi ou com o auxílio de tesoura estéril. O material que se depositava na região subungueal foi retirado cuidadosamente com cureta odontológica previamente esterilizada. Nos casos de paroníquia foram colhidas as escamas e o pus com swab, posteriormente inserido em solução salina (NaCl 0,9%).

Na forma clínica proximal utilizou-se cureta para coleta em profundidade, enquanto nos casos em que a região lesada apresentava difícil acesso, o material foi coletado por via transungueal ou técnica da janela (TAGLIALEGNA, 2004). Este procedimento é realizado com a utilização de um esculpidor discóide cleóide (referência Golgran 324), e tem demonstrado ser uma metodologia mais rápida e minimamente invasiva (Figura 2). Além disso, a técnica apresenta a vantagem adicional de contribuir para diminuição de agentes contaminantes no momento da coleta, sendo indicada principalmente para avaliação de estrias ungueais e dermatofitomas, massas densas de estruturas fúngicas no centro da unha, sem ocorrer onicólise (ROBERTS, EVANS, 1998).



Figura 2 – Técnica da janela – Aspecto da unha apresentando dermatofitoma. Após coleta de material subungueal por via transungueal.



5.2 Exame Micológico Direto

Após a coleta do material ungueal, as amostras clínicas foram processadas para exame micológico direto através de clarificação com hidróxido de potássio (KOH) a 30%, onde se colocou uma gota da solução e cobriu-se com lamínula, comprimindo levemente. Esse procedimento faz com que as células queratinizadas se dilatam e sofram clareamento, proporcionando índice de refração ótimo para evidenciar as hifas e as células de leveduras. Após 30 minutos, as lâminas foram observadas em microscópio óptico (x400) (MINAME, 2003; SIDRIM, ROCHA, 2004).

5.3 Cultura Micológica

A cultura foi realizada em ágar Sabouraud dextrose (SDA, Difco Laboratories, Detroit) com cloranfenicol (50 mg/l) e sem cicloeximida, que permite crescimento geral de fungos, e em ágar Sabouraud dextrose com cloranfenicol e com cicloeximida (Mycosel® acrescido de 50 mg/l de cloranfenicol), que tem como finalidade a inibição do crescimento de bactérias e fungos saprófitas. As placas contendo os meios foram incubadas à temperatura ambiente ($T. A = 28^{\circ}C \pm 1^{\circ}C$) por no máximo 30 dias.

No ágar Sabouraud com cloranfenicol e sem cicloeximida (SC), as amostras foram semeadas pela técnica de esgotamento, estando o material anteriormente suspenso em NaCl 0,9%. Enquanto que no ágar Sabouraud com cloranfenicol e cicloeximida (SAC), as amostras foram semeadas em sete pontos equidistantes.



Após o crescimento em cultura, o fungo foi semeado na superfície do meio Sabouraud simples (sem antibiótico), para posterior confecção do microcultivo e identificação das espécies.

O material foi considerado positivo quando houve presença do fungo em parasitismo no exame direto. Entretanto, a confirmação foi baseada no crescimento do agente etiológico no meio de cultura.

Quando foi isolado fungo filamentosso não-dermatófito, além da hifa no exame direto e do crescimento em cultura, uma segunda e terceira coleta foi realizada para confirmação do diagnóstico micológico (SIDRIM, ROCHA, 2004).

5.4 Identificação de fungos filamentosos

Foi realizado o microcultivo em lâmina com ágar batata dextrosado (BDA, Merck, Darmstadt, Germany), que estimula a produção de estruturas reprodutivas, como também a formação de pigmento (Figura 3).



Figura 3 – Microcultivo em lâmina com BDA para fungos filamentosos (KONEMANN, DOWELL, SOMMERS, 2001)

LIMA, KM.



5.5 Identificação de leveduras

As colônias características de leveduras foram submetidas a métodos de identificação “*in house*” segundo Kurtzman e Fell (1998). Os isolados foram submetidos à observação micromorfológica em ágar fubá-Tween 80, fermentação e assimilação de carboidratos, sendo testados 5 e 7 açúcares, respectivamente, além do crescimento em CHROMagar *Candida*® (Probac do Brasil, São Paulo).

Inicialmente, os isolados foram semeados em placas de CHROMagar *Candida*® e incubados a 30°C pelo período máximo de cinco dias. Colônias verdes foram presuntivamente identificadas como *C. albicans*/*C. dubliniensis* e confirmadas pela observação da produção de clamidoconídios em ágar fubá-Tween 80. A diferenciação entre *C. albicans*/*C. dubliniensis* foi realizada através da verificação da habilidade da *C. albicans* de crescer a 42° e 45°C e da capacidade de crescer em caldo Sabouraud hipertônico até 96h (NaCl 6,5%) (TINTELNOT et al., 2000; ALVES et al., 2002). Colônias apresentando outras colorações foram subcultivadas em ágar Sabouraud e identificadas de acordo com o método clássico (KURTZMAN, FELL, 1998).

A técnica de microcultivo de leveduras baseia-se no princípio de que leveduras quando incubadas em ágar fubá-Tween 80 podem apresentar 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 (Figura 4).



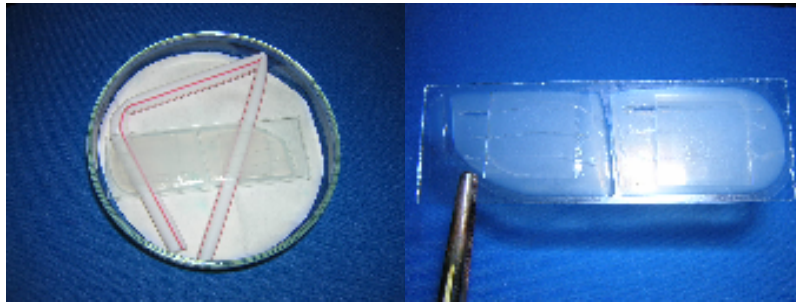
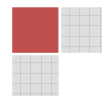


Figura 4 – Microcultivo de leveduras em microaerofilia e ágar fubá-Tween 80.

Além do microcultivo das leveduras, foi realizada a assimilação e a fermentação de carboidratos. A assimilação de carboidratos baseia-se na capacidade que as leveduras apresentam de utilizar determinado carboidrato como única fonte de carbono. Desta forma, utilizou-se nesta técnica, meio basal destituído de fonte de carbono, sendo semeada a levedura que se desejou identificar. Após a semeadura, adicionou-se ao cultivo um carboidrato e observou-se a capacidade de utilização deste como fonte de carbono. Quando o carboidrato foi assimilado pela levedura, observou-se crescimento desta ao redor da fonte de carbono (Figura 5).



Figura 5 – Identificação de leveduras através da assimilação de carboidratos.



A fermentação de carboidratos baseia-se na capacidade de uma levedura fermentar determinado carboidrato. Está diretamente relacionada com a produção de energia capaz de permitir, em baixas tensões de oxigênio, degradar açúcares para produção de energia, formando, entre outros metabólitos, etanol e gás carbônico (Figura 6).



Figura 6 – Identificação de leveduras através da fermentação de carboidratos.

Para identificação de leveduras e FFND foram adotados critérios preconizados por De HOOG et al. (2000); enquanto para o grupo dos dermatófitos foram considerados critérios apresentados por LARONE (1987) e LACAZ et al. (2002).

5. 6 Realização do antifungigrama para leveduras do Gênero *Candida*

Os testes de sensibilidade a antifúngicos *in vitro* foram realizados através da galeria ATB® FUNGUS 2 (API-BioMerieux, Marcy l'Etoile, France) que permite determinar a susceptibilidade de espécies de *Candida* aos antifúngicos, utilizando diferentes concentrações: 5-fluocitosina (0.5, 1, 2, 4, 8, 16, 32 e 64 mg/l),



anfotericina B (0.5, 1, 2, 4, 8 e 16 mg/l), fluconazol (0.25, 0.5, 1, 2, 4, 8, 16, 32, 64 e 128 mg/l) e itraconazol (0.125, 0.25, 0.5, 1, 2 e 4 mg/l) (Figura 7). Além disso, este *kit* utiliza meio semi-sólido em condições muito próximas da técnica de referência de microdiluição do NCCLS/CLSI.

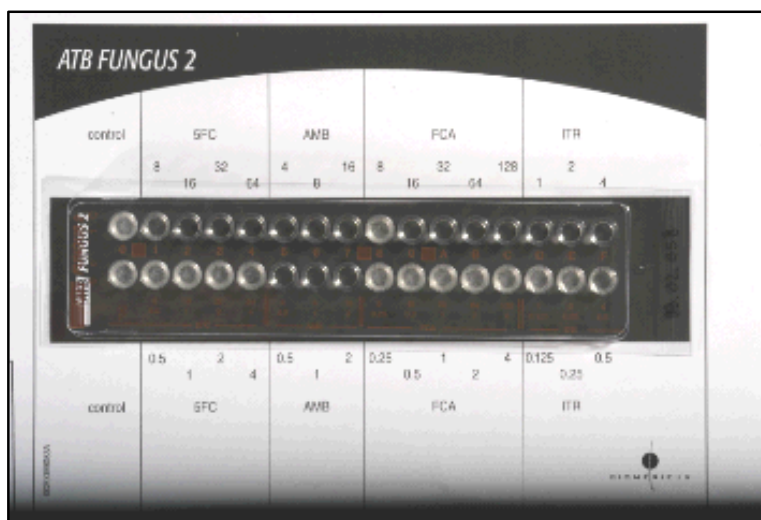


Figura 7 – ATB® FUNGUS 2

Discos de fluconazol de 25 mcg (CECON, Brasil) foram utilizados para pesquisa de sensibilidade através do método de disco-difusão em ágar Müller-Hinton, quando a levedura apresentou resistência a este azólico no ATB® FUNGUS 2. No método de disco-difusão a espécie é considerada sensível a fluconazol quando apresenta zona de inibição superior a 19 mm, intermediária com zona de inibição entre 19 e 14 mm, e resistente quando apresenta menos de 14 mm de zona de inibição.





Figura 8 – Teste de susceptibilidade ao fluconazol pelo método de disco-difusão.

5.7 Desenho do estudo e Análise estatística

Foi conduzido um estudo descritivo, tipo série de casos, de caráter exploratório, tendo as informações obtidas prospectivamente pelo preenchimento de um formulário específico para cada paciente incluído na pesquisa. O formulário foi preenchido a partir de entrevista ao paciente, após execução da coleta micológica e algumas informações foram conseguidas por consulta aos prontuários médicos.

Os dados foram digitados em dupla entrada no programa EPI-INFO 6.0 e, em seguida, comparados para correção dos erros de digitação. A análise foi feita pela identificação das frequências das variáveis, utilizando tabelas para demonstração dos valores absolutos e suas proporções correlatas.



6. *Artigos*

ARTIGO I – Revista Iberoamericana de Micologia

TÍTULO:

Fungos filamentosos não-dermatófitos: onicomicoses em quatro pacientes infectados com o vírus da imunodeficiência humana.

AUTORES:

Kedma de Magalhães Lima^{1 5}, Célia Maria Machado Barbosa de Castro¹, Idalina Inês Fonsêca Nogueira Cambuim², Jeferson Carvalhaes de Oliveira³, Marília Delgado⁴, Rossana Sette de Melo Rego⁵

ENDEREÇO DE CADA UM DOS AUTORES:

¹*Departamento de Medicina Tropical, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, PE, Brasil*

²*Departamento de Biologia dos Fungos, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, PE, Brasil*

³*Departamento de Microbiologia e Parasitologia, Universidade Federal Fluminense, Rio de Janeiro, RJ, Brasil*

⁴*Serviço de Dermatologia, Hospital Correia Picanço, Recife, PE, Brasil*

⁵*Serviço de Micologia, NKB-Medicina Diagnóstica, Recife, PE, Brasil*

ENDEREÇO PARA CORRESPONDÊNCIA:

Kedma de Magalhães Lima, Setor de Micologia, NKB-Medicina Diagnóstica, Avenida Lins Petit, 298, Ilha do Leite, CEP: 50070-230. Recife-Pernambuco, Brasil.
kedma_biom@hotmail.com



TÍTULO CURTO: Fungos filamentosos não-dermatófitos: onicomicoses em HIV-positivos.

RESUMO:

A infecção causada pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV) é um fator de risco para o desenvolvimento de onicomicoses, infecções micóticas causadas principalmente por leveduras e dermatófitos. Os fungos filamentosos não-dermatófitos (FFND) estão emergindo como agentes de lesões ungueais em imunodeprimidos. Apresentamos quatro casos de onicomicose por FFND (*Aspergillus niger*, *Scytalidium hyalinum*, *Scytalidium dimidiatum* e *Fusarium solani*) em pacientes portadores do HIV, residentes na cidade de Recife, Pernambuco - Brasil. O diagnóstico de onicomicoses causadas por espécies não-dermatofíticas em HIV-positivos requerem maior atenção em relação aos aspectos clínicos e laboratoriais, com a finalidade de estabelecer o agente causal e indicar tratamento específico e adequado, prevenindo invasões fúngicas para outros sítios.

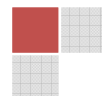
PALAVRAS CHAVE:

Imunodeficiência, Onicomicose, *Aspergillus*, *Scytalidium*, *Fusarium*.

TITLE: Non-dermatophytic moulds: onychomycosis in four patients infected with the human immunodeficiency virus

SUMMARY:

Patients infected with human immunodeficiency virus (HIV) are a risk group for onychomycosis, fungal infections caused mainly by dermatophytes and yeast. However, non-dermatohytic moulds are becoming common agents for nail infections in immunocompromised patients. We report four cases of onychomycosis caused by non-dermatophytic moulds (*Aspergillus niger*, *Scytalidium hyalinum*, *Scytalidium dimidiatum* and *Fusarium solani*) in patients infected with HIV from Recife, Pernambuco, Brazil. Onychomycosis by non-dermatophytic species in HIV-positive patients require greater attention in clinical and laboratory aspects, this way is possible to establish the specific and adequate treatment, preventing fungal invasion.



KEY WORDS:

Immunodeficiency, Onychomycosis, *Fusarium*, *Aspergillus*, *Scytalidium*

TEXTO:

As onicomicoses constituem uma das principais enfermidades ungueais a nível mundial e tem aumentado sua ocorrência nos últimos anos. Esse aumento pode ser atribuído a diversos fatores, incluindo a infecção causada pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV). Segundo Dahdah e Scher [7], 30% dos pacientes HIV-positivos apresentam onicomiose, cujo aspecto clínico predominante é a onicomiose subungueal proximal [17], que podem ocorrer quando as células CD4+ estão diminuídas no sangue periférico, sendo por isso considerada marcador clínico prévio da infecção por HIV [22].

Os fungos filamentosos não-dermatófitos (FFND) apresentam baixo potencial patogênico em imunocompetentes, podem causar infecção ungueal primária e promover porta de entrada para infecções disseminadas, aumentando a mortalidade em imunodeprimidos [3]. Assim, a confirmação de onicomiose por FFND deve ser considerada patologia séria nestes pacientes.

Apresentamos quatro casos de onicomiose por FFND (*Aspergillus niger*, *Scytalidium hyalinum*, *Scytalidium dimidiatum* e *Fusarium solani*) em pessoas infectadas com o HIV residentes na cidade de Recife, Pernambuco - Brasil.

CASO 1

Paciente masculino, de 54 anos de idade, procedente da zona urbana, com CD4+ de 753 células/ μ l, em tratamento antiretroviral (lamivudina, ritonavir,

LIMA, KM.



tenofovir e atazanavir) há 9 anos e sem tratamento prévio com antifúngico, apresentava a unha do segundo dedo da mão direita com distrofia, opacificação sem paroníquia, quebradiça, amarelada e com pontos negros há 1 ano (Figura 1A). No exame direto com hidróxido de potássio (KOH) a 30% se observou a presença de hifas hialinas, septadas, irregulares e ramificados em ângulo de 45°. As amostras foram semeadas em placas de ágar Sabouraud com cloranfenicol e sem cicloeximida (SC) e em ágar Sabouraud com cloranfenicol e com cicloeximida (SAC), deixando-se incubar a 30°C durante três semanas. Após 2-3 dias, nas placas de SC se observaram colônias com micélio lanoso de cor branco-amareladas nos sete pontos inoculados, que foram escurecendo nos 5-6 dias. O exame microscópio com lactofenol azul de algodão demonstrou conidióforos grandes e lisos, fiáldes bisseriadas que cubriam completamente a vesícula. O fungo foi identificado como *Aspergillus niger* devido a morfologia característica da colônia e seu aspecto microscópico (Figura 1B).

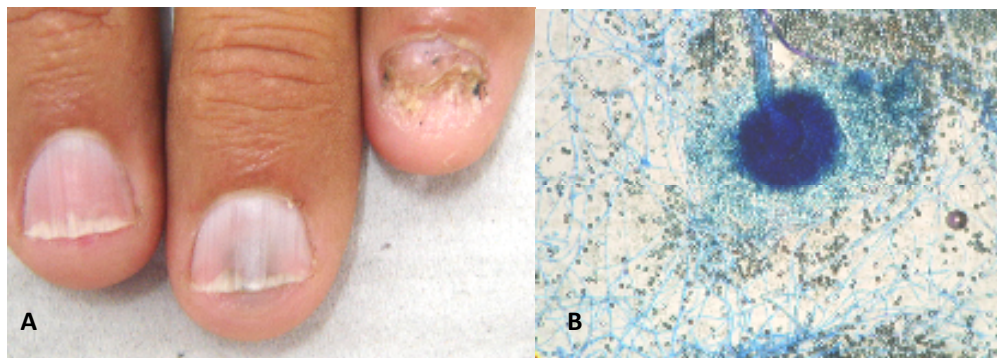
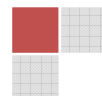


Figura 1 – A. Unha com opacificação sem paroníquia, quebradiça, amarelada e com pontos negros. B. Aspecto microscópico do *Aspergillus niger* em lactofenol azul de algodão (x400).



CASO 2

Paciente sexo feminino, 27 anos, procedente da zona urbana, criadora de animais domésticos, com CD4+ de 483 células/ μ l, em tratamento antiretroviral (atazanavir, zidovudina e lamivudina) há 2 anos e sem tratamento prévio com antifúngicos, observou, há 15 dias do exame dermatológico, que a unha do primeiro dedo do pé direito apresentava hiperqueratose subungueal distal e lateral com cor amarelada (Figura 2A). O exame direto com KOH 30% da amostra da unha demonstrou a presença de hifas hialinas, ligeiramente irregulares e ramificadas. Entre o terceiro e quarto dia se observou, no meio SC e no meio SAC, o crescimento de numerosas colônias brancas algodonosas. O exame microscópico com lactofenol azul de algodão evidenciou cadeias ramificadas com paredes grossas e artroconídios uni ou bicelulares. Através do exame microscópico, o agente patógeno foi identificado como *Scytalidium hyalinum* (Figura 2B).

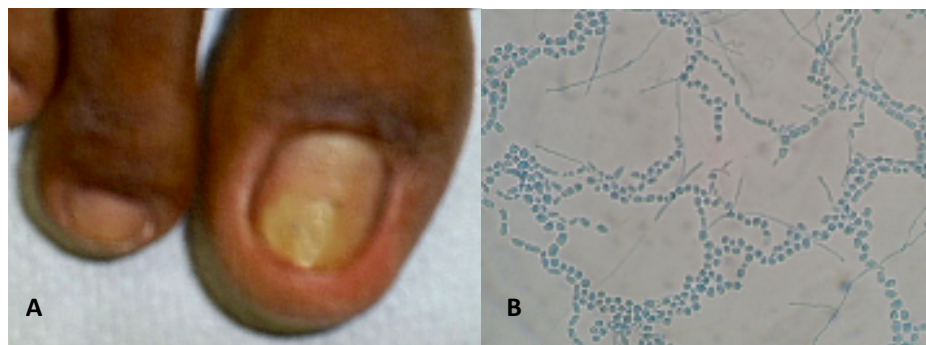


Figura 2 – A. Unha com hiperqueratose subungueal distal e lateral amarelada. B. Aspectos microscópicos do *Scytalidium hyalinum* em lactofenol azul de algodão (400X).

CASO 3

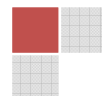
Paciente sexo feminino, 48 anos, procedente da zona urbana, com CD4+ de 442 células/ μ l, sem tratamento antiretroviral nem prévio com antifúngico, apresentava as unhas dos pés com hiperqueratose subungueal distal e lateral, opacificação escura sem paroníquia há 1 ano (Figura 3A). O exame direto das amostras ungueais com KOH 30% demonstrou presença de hifas hialinas, irregulares e ramificadas; entre o terceiro e quarto dia se observou no meio SC, o crescimento de numerosas colônias brancas algodinosas com desenvolvimento posterior de coloração escura. O fungo demácio foi identificado *Scytalidium dimidiatum* devido a morfologia característica da colônia e a seu aspecto microscópico (Figura 3B).



Figura 3 – A. Unha dos pés com hiperqueratose subungueal distal e lateral, opacificação escura. B. Aspecto microscópico de *Scytalidium dimidiatum* em lactofenol azul de algodão (x400).

CASO 4

Paciente sexo masculino, 45 anos, com neurotoxoplasmose, procedente da zona urbana, com CD4+ de 16 células/ μ l, em tratamento antiretroviral (zidovudina,



lamivudina e efavirenz) há 2 anos e sem tratamento prévio com antifúngico, apresentava as unhas de ambos os pés com hiperqueratose subungueal distal e lateral, coloração esbranquiçada e onicólise. Além disso, apresentava também manchas brancas e opacas na superfície da unha há 2 anos (Figura 4A). O exame direto das amostras ungueais demonstrou hifas hialinas, septadas, irregulares e ramificadas em ângulo de 45°, fiálides, conídios e clamidoconídios sugestivos de *Fusarium* sp (Figura 4B). Entre o quarto e quinto dia, nas placas de agar Sabouraud com cloranfenicol e sem cicloexemida, observaram-se colônias branco-lanosas com reverso incolor. O exame microscópico com lactofenol azul de algodão demonstrou abundante produção de macroconídios cilíndricos de três ou quatro septos, esporodóquios confluentes e microconídios no micélio aéreo sobre grandes monofiálides. Desenvolveram-se abundantes clamidosporos globosos, lisos e rugosos, solitários e aos pares. A partir destas características, a cepa foi identificada como *Fusarium solani*.

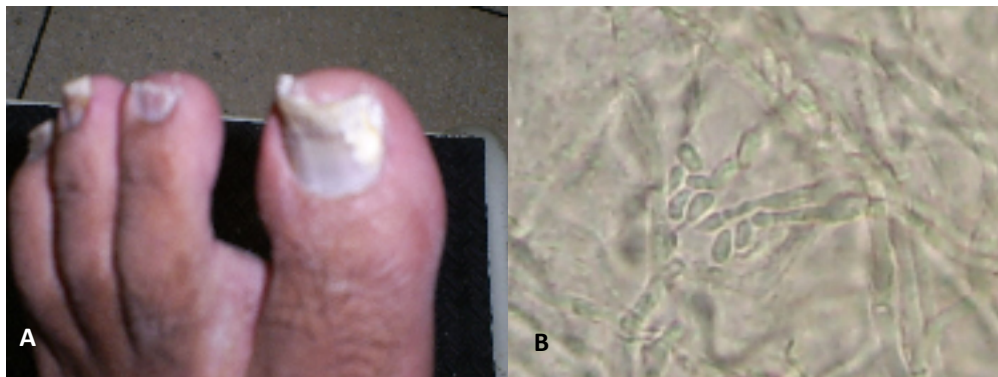


Figura 4 – **A.** Unha com hiperqueratose subungueal distal e lateral, manchas brancas e opacas. **B.** Exame direto com KOH 30% demonstrando estruturas fúngicas reprodutivas (x400).

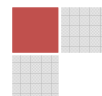


Tabela 1 – Dados clínicos e achados microbiológicos dos quatro casos de pacientes diagnosticados com onicomicose por fungos filamentosos não-dermatófitos.

	Caso 1	Caso 2	Caso 3	Caso 4
Agente etiológico	<i>Aspergillus niger</i>	<i>Scytalidium hyalinum</i>	<i>Scytalidium dimidiatum</i>	<i>Fusarium solani</i>
Sexo/idade	M/54	F/27	F/48	M/45
Procedência	Urbana	Urbana	Urbana	Urbana
CD4+ (células/μl)	753	483	442	16
Unhas afetadas	Unhas mão direita	Unha pé direito	Unhas pés direito e esquerdo	Unhas pés direito e esquerdo
Aspecto clínico da Unha	Distrofia total Opacificação amarelada e com pontos negros	Hiperceratose latero-distal amarelada	Hiperceratose lateral e distal escura	Hiperceratose lateral e distal com manchas brancas e opacas
Uso prévio de antifúngicos	Não	Não	Não	Não
ED (KOH 30%)	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo
Cultivo em agar Sabouraud com cloranfenicol e sem cicloeximida (SC)	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo
Cultivo em agar Sabouraud com cloranfenicol e com cicloeximida (SAC)	Negativo	Positivo	Negativo	Negativo

DISCUSSÃO

A imunodepressão pelo HIV é fator favorecedor importante para o desenvolvimento de onicomicoses. Nestes pacientes, as onicomicoses não devem ser tratadas como um problema cosmético menor, já que além de alterar a qualidade de vida dos pacientes [13,20,30], pode constituir porta de entrada para micoses disseminadas de difícil tratamento [1,14].

Em pacientes com o HIV, as onicomicoses são causadas geralmente por dermatófitos e leveduras [6,9,16]. Relatamos quatro casos de onicomicoses por FFND (Tabela 1). Os pacientes foram referidos ao estudo micológico depois do exame dermatológico. Em todos os casos, o exame micológico foi repetido três vezes para confirmação do diagnóstico.



O primeiro caso apresentou onicomicose distrófica total e os outros onicomicose subungueal distal e lateral, sendo que o quarto caso demonstrou também onicomicose branca superficial. A classificação das onicomicoses está de acordo com a classificação preconizada por Roberts, Evans, Allen [29].

A capacidade do *Aspergillus niger* em causar infecção ungueal foi descrito inicialmente por English [11] e depois por Roberts [28]. Esta espécie tem sido citada como agente etiológico de otites externa, processos pulmonares e endoftalmites em imuno-deprimidos [18,23,26]. Cribier *et al* [6] estudaram fragmentos ungueais de 155 pacientes HIV-positivos e observaram *A. niger* em apenas 1 caso. Tosti *et al.* [33] demonstraram que em onicomicose por *A. niger*, a lúnula apresenta-se escurecida, entretanto no caso clínico descrito no presente trabalho este fungo promoveu opacificação amarelada da unha e pontos negros.

Espécies de *Scytalidium*, diferentes da maioria dos fungos ambientais, possuem capacidade de invadir a queratina da unha [24]. O *Scytalidium hyalinum* é fungo hialino, porém pertence ao gênero *Scytalidium* pelas semelhanças clínicas, morfológicas e antigênicas com *S. dimidiatum*, do qual se diferencia pela cor. Além disso, *S. hyalinum* não é encontrado no ambiente e seu achado significa, em geral, infecção [19]. É importante salientar que o *S. hyalinum* desenvolve-se em ágar Sabouraud com cicloeximida, enquanto outros FFND são sensíveis a esse antimicótico.

O *S. dimidiatum* possui hifas septadas e pigmentadas, produz infecção adquirida pelo contato com terra ou material vegetal, não ocorrendo transmissão inter-humana [31]. Apesar de causar onicomicose e dermatomicose em imunocompetentes [12], o *S. dimidiatum* pode causar lesão disseminada, como



sinusites, micetomas, linfagites, linfadenites em imunodeprimidos [10,21,25]. Tanto *S. hyalinum* quanto *S. dimidiatum* são capazes de degradar a queratina, não necessitando de unhas previamente danificadas para produzir infecção. O paciente descrito no caso 3 desenvolveu onicomicose por *S. dimidiatum* em todas as unhas dos pés, e as características clínicas eram semelhantes às descritas por Pontarelli *et al.* [27].

Espécies de *Fusarium*, também degradadores de queratina, são causas comuns de onicomicose no Brasil [4,5,15]. Em imunocomprometidos, a infecção ungueal pode ser a porta de entrada para fungemia [3]. Além disso, é responsável por dermatomicoses e infecções sistêmicas [8,19]. Geralmente, *F. solani* e *F. oxysporum* provocam comprometimento da região proximal da unha associado à dor e inflamação periungueal [32]. No presente caso, o paciente apresentava comprometimento lateral e distal nas unhas dos pés, além de onicomicose branca superficial, por *Fusarium solani*. Outro fato interessante foi à observação de estruturas fúngicas reprodutivas no exame direto, sendo o agente etiológico secundariamente confirmado no cultivo. Este achado se justifica porque a unha apresentava onicólise que propicia a formação de uma cavidade que, em contato com o ar, permite acumulação de esporos do fungo, produzindo um quadro semelhante à micotização. Aspectos semelhantes foram observados por Araújo *et al.* [2] e Torres-Rodriguez, Sellart-Altisent [32].

As infecções por FFND podem ser comuns em pacientes infectados por HIV, o que requer maior atenção para não considerá-los simples contaminantes evitando um agravamento das lesões e prevenindo a invasão para outros sítios. Desta forma é importante um diagnóstico preciso, com metodologia de estudo correta, e a



publicação de estudos estatísticos, detalhando os principais agentes e as suas apresentações clínicas.

BIBLIOGRAFIA:

1. Ajello L. Phaeohyphomycosis: Definition and Etiology. PAHO Sci Publicatios 1975; 304: 126-130.
2. Araújo AJG, Souza MAJ, Bastos OMP, Oliveira JC. Onicomicoses por fungos emergentes: análise clínica, diagnóstico laboratorial e revisão. An Bras Dermatol. 2003; 78: 445-455.
3. Arrese JE, Piérard-Franchimont C, Piérard GE. Fatal hyalohyphomycosis following *Fusarium* onychomycosis in an immunocompromised patient. Am J Dermatopathol 1996; 18: 1296-1298.
4. Brilhante RSN, Cordeiro RA, Medrano DJA, Rocha MFG, Monteiro AJ, Cavalcante CSP, Meireles TEF, Sidrim JJC. Onychomycosis in Ceará (Northeast Brazil): epidemiological and laboratory aspects. Mem Inst Oswaldo Cruz 2005; 100: 131-135.
5. Calado NB, Sousa F Jr, Gomes NO, Cardoso FR, Zaror LC, Milan EP. *Fusarium* nail and skin infection: a report of eight cases from Natal, Brazil. Mycopathologia 2006; 161: 27-31.
6. Cribier B, Mena ML, Rey D, et al. Nail changes in patients infected with human immunodeficiency virus: a prospective controlled study. Arch Dermatol 1998; 134: 1216-1220.
7. Dahdah MJ, Scher RK. Onychomycosis – An Overview. US Dermatology review (Reference Section) 2006: 1-4.
8. Dignani MC, Anaissie E. Human fusariosis. Clin Microbiol Infect 2004; 10: 67-75.
9. Dompmartin D, Dompmartin A, Deluol AM, Grosshans E, Coulaud JP. Onychomycosis and AIDS: clinical and laboratory findings in 62 patients. Int J Dermatol 1990; 29: 337-339.
10. Dunn JJ, Wolfe MJ, Trachtenberg J, Kriesel JD, Orlandi RR, Carroll KC. Invasive fungal sinusitis caused by *Scytalidium dimidiatum* in a lung transplant recipient. Journal of Clinical Microbiology 2003; 41: 5817-5819.
11. English MP. The saprophytic growth of non-keratinophilic fungi on keratinized substrate, and a comparison with keratinophilic fungi. Trans Br Mycol Soc 1965; 48: 219-235.



12. Escobar ML, Carmona J. Lesiones ungueales y cutáneas por *Scytalidium dimidiatum* en Medellín (Colombia), 1990-1999. Presentación de 128 casos y revisión del problema del nombre del agente. *Iatreia* 2000; 13: 140-150.
13. Faergemann J, Baran R. Epidemiology, clinical presentation and diagnosis of onychomycosis. *Br J Dermatol* 2003; 65:1-4.
14. Gimenez C, Arcese W, Micozzi A, Martino P, Bianco P, Morace G. Onychomycosis as a possible origin of disseminated *Fusarium spp.* infection in a patient with severe aplastic anemia. *Clin Infect Dis* 1992; 14: 1167.
15. Godoy P, Nunes F, Silva V, Tomimori-Yamashita J, Zaror L, Fischman O. Onychomycosis caused by *Fusarium Solani* and *Fusarium oxysporum* in São Paulo, Brazil. *Mycopathologia* 2004; 157: 287-290.
16. Gupta AK, Taborda P, Taborda V, Gilmour J, Rachlis A, Salit I, Gupta MA, MacDonald Paul, Cooper EA, Summerbell RC. Epidemiology and prevalence of onychomycosis in HIV-positive individuals. *Int J Dermatol* 2000; 39: 746-753.
17. Joseph WS. Adult cases of onychomycosis. *Advanced Studies in Medicine* 2005; 5: 614-619.
18. Lesueur A, Salmon CD, Corlieu P, Ginsburg C, Sicard D. *Aspergillus niger* osteitis of the middle ear in a patient with HIV infection. *Presse Med* 1997; 26: 1098.
19. López-Jodra O, Torres-Rodriguez JM. Especies fúngicas poco comunes responsables de onicomicosis. *Rev Iberoam Micol* 1999; 16: 11-15.
20. Lubeck DP, Patrick DL, McNulty P, Fifer SK, Birnbaum J. Quality of life of persons with onychomycosis. *Qual Life Res* 1993; 2: 341-348.
21. Marriott DJ, Wong KH, Aznar E, Harkness JL, Cooper DA, Muir D. *Scytalidium dimidiatum* and *Lecythophora hoffmannii*: unusual causes of fungal infections in a patient with AIDS. *J Clin Microbiol* 1997; 35: 2949-2952.
22. Michelim L, Atti JL, Panarotto D, Lovatto L, Boniatti MM. Dermatoses em pacientes infectados pelo HIV com a contagem de linfócitos CD4. *Revista de Saúde Pública* 2004; 38: 758-763.
23. Mylonakis E, Barlam TF, Flanigan T, Rich JD. Pulmonary aspergillosis and invasive disease in AIDS: review of 342 cases. *Chest* 1998; 114: 251-262.
24. Oycka CA, Gugnani HC. Keratin degradation by *Scytalidium* species and *Fusarium solani*. *Mycoses* 1998; 41: 73-76.
25. Padin C, Fernandez-Zeppenfeldt G, Yegres F, Richard-Yegres N. *Scytalidium dimidiatum* an opportunistic fungus for both man and *Mangifera indica* trees in Venezuela. *Rev Iberoam Micol* 2005; 22: 172-173.



26. Paula JS, Bryk A Jr, Lauretti Filho A, Romao E. Secondary glaucoma associated with bilateral *Aspergillus niger* endophthalmitis in an HIV-positive patient: case report. Arq Bras Oftalmol 2006; 69: 395-397.
27. Pontarelli LN, Hasse J, Galindo C, Coelho MP, Nappi BP, Ivo-Dos-Santos J. Onychomycosis by *Scytalidium dimidiatum*: report of two cases in Santa Catarina, Brazil. Rev Inst Med Trop Sao Paulo 2005; 47: 351-353.
28. Roberts DT. Prevalence of dermatophyte onychomycosis in the United Kingdom: results of an omnibus survey. Br J Dermatol 1992; 126: 23-27.
29. Roberts DT, Evans EGV, Allen R. Fungal nail disease. London, England: Gower Medical Publishing 1990: 86.
30. Scher RK. Onychomycosis is more than a cosmetic problem. Br J Dermatol 1994; 130: 43-15.
31. Sutton DA. Coelomycetous fungi in human diseases. A review: clinical entities, pathogenesis, identification and therapy. Rev Iberoam Micol 1999; 16: 171-179.
32. Torres-Rodriguez JM, Sellart-Altisent M. Celulitis y onicomicosis proximal de ambos ortijos mayores producida por *Fusarium solani*. Rev Iberoam Micol 2006; 23: 241-244.
33. Tosti A, Piraccini BM, Lorenzi S. Onychomycosis caused by nondermatophytic molds: clinical features and response to treatment of 59 cases. J Am Acad Dermatol 2000; 42: 217-224.



RELATO DE CASO

***Candida albicans* e *Candida tropicalis* isoladas de onicomicose em paciente HIV-positivo: co-resistência “*in vitro*” aos azólicos**

Kedma de Magalhães Lima¹, Marília Delgado², Rossana Sette de Melo Rêgo³ e Célia Maria Machado Barbosa de Castro⁴

RESUMO

O presente estudo analisa um caso de onicomicose por espécies de *Candida* com resistência “*in vitro*” a fluconazol e itraconazol em portadora do vírus da imunodeficiência humana (HIV). A paciente apresentava onicomicose distrófica parcial com paroníquia crônica e uso prévio de fluconazol para tratamento de candidíase oral. Ao exame microscópico direto de escamas ungueais das mãos foram observadas células de leveduras arredondadas, blastosporadas, hialinas e pseudohifas; e em cultura, após crescimento: duas espécies de *Candida* que foram identificadas como *C. albicans* e *C. tropicalis*. Foram realizados testes de sensibilidade com ATB® FUNGUS 2 e método de disco-difusão. Ambas as espécies apresentaram resistência a fluconazol e itraconazol. As peculiaridades apresentadas por diferentes espécies de *Candida* justificam a necessidade de identificar leveduras em nível de espécie, bem como, determinar o perfil de sensibilidade aos antifúngicos, com a finalidade de orientar uma melhor abordagem terapêutica e minimizar a exposição destes pacientes a condições de risco para uma infecção disseminada.

DESCRITORES: Onicomicose. Candidíase. Antifungograma.

1. Mestranda em Medicina Tropical, Universidade Federal de Pernambuco, Recife-PE. kedma_biom@hotmail.com
2. Dermatologista do Hospital Correia Picanço, Recife-PE. mariliadelgado@terra.com.br
3. Supervisora do Setor de Microbiologia da NKB Diagnósticos-Pernambuco, Recife-PE. rossanasette@gmail.com
4. Professora Associada do Departamento de Medicina Tropical e responsável pelo setor de Microbiologia do Laboratório de Imunopatologia Keizo-Asami da Universidade Federal de Pernambuco, Recife-PE. ccastro@lika.ufpe.br

Endereço para correspondência: Kedma de Magalhães Lima, Rua Paes Cabral, nº 379, Apt. 02 Cordeiro CEP: 50630-170 Recife-PE.



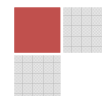
A onicomicose consiste na invasão da unha por fungos, sejam estes dermatófitos, leveduras ou fungos filamentosos não-dermatófitos. Constitui um importante grupo de infecções fúngicas superficiais que afeta aproximadamente 5% da população mundial (23), representando em torno de 30% das micoses superficiais (19) e mais de 50% das onicopatias (10, 17, 31).

Pacientes imunodeprimidos fazem parte do grupo de risco para onicomicoses (30, 36). Alguns autores acreditam que essas infecções estejam presentes em mais de 30% de indivíduos com sorologia positiva para o vírus da imunodeficiência humana (HIV) (3). Neste caso, o maior índice ocorre quando estes pacientes apresentam declínio na contagem de linfócitos T CD4+ no sangue periférico (11, 27).

O tratamento das infecções ungueais causadas por fungos tem gerado muitos gastos ao sistema de saúde. A onicomicose é a micose superficial de mais difícil tratamento, e mesmo nos casos em que a medicação é adequada ao agente etiológico identificado, nem sempre se obtém cura, sendo freqüente as recidivas (12, 14, 34).

Particularmente, a resistência aos antifúngicos entre as espécies de *Candida* tem sido um problema crescente, pois muitas das espécies não-*albicans* mais comumente isoladas são menos susceptíveis aos derivados azólicos, dificultando o tratamento da candidíase e de outras infecções causadas por leveduras (32, 35). Essa é uma razão da crescente importância dos testes de susceptibilidade, pois o conhecimento da sensibilidade aos agentes antifúngicos torna possível otimizar o tratamento (2, 9, 28, 37).

Este trabalho relata a ocorrência de um caso de onicomicose mista causada por *Candida albicans* e *Candida tropicalis*, ambas com resistência “*in vitro*” a fluconazol e a itraconazol, em paciente HIV - positivo.



RELATO DO CASO

Paciente do sexo feminino, de 41 anos, doméstica, residente na região metropolitana do Recife-PE, sem uso de antiretroviral, com contagem de linfócitos T CD4+ igual a 88 células/ μ L e uso prévio de fluconazol para tratamento de candidíase oral, foi encaminhada para diagnóstico micológico por apresentar lesão clínica suspeita de onicomicose. As unhas da mão direita (primeiro e segundo quirodáctilos direitos) e as unhas da mão esquerda (primeiro, terceiro e quinto quirodáctilos esquerdos) apresentavam-se com distrofia parcial e paroníquia crônica há três meses (Figura 1A).

Na coleta micológica, as escamas ungueais foram retiradas da região superficial da unha com o auxílio de um bisturi e, no momento da remoção do material, não se observou exudato periungueal.

O exame microscópico direto clarificado com KOH a 30% demonstrou a presença de numerosas células de leveduras arredondadas, blastosporadas, hialinas e pseudohifas (Figura 1B). Na cultura realizada em agar Sabouraud Dextrose (SDB; Difco, Detroit, USA) acrescido de cloranfenicol (50 mg/L) houve crescimento de dois tipos de colônias de leveduras, uma lisa e outra rugosa.

Através da morfologia macroscópica das colônias pode-se pressupor a existência de duas espécies diferentes, mas não a identificação. Desta forma, para identificação das espécies, as colônias características de leveduras foram submetidas a métodos “*in house*” propostos por Kurtzman e Fell (16).



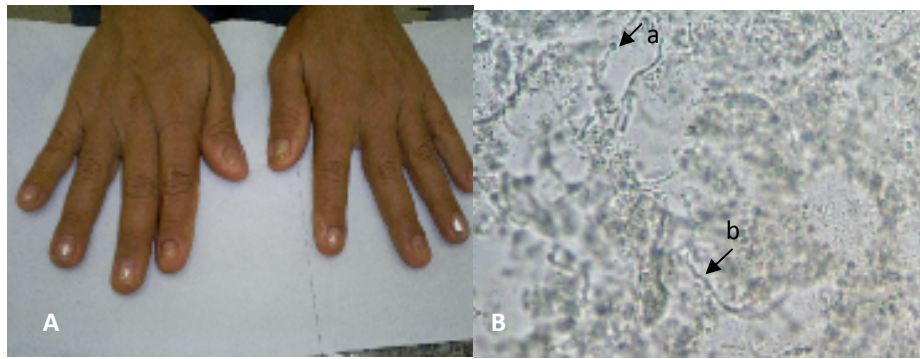


Figura 1. **A** - Unhas das mãos apresentando onicodistrofia parcial e paroníquia. **B** – Presença de células de leveduras blastosporadas (a) e pseudohifas (b) em exame direto com KOH 30% (x400)

Foram usados testes de produção de tubos germinativos, de clamidoconídios e provas de assimilação e fermentação de carboidratos, além do crescimento em CHROMagar Candida® (Probac do Brasil, São Paulo) (Figuras 2A e 2B). As colônias foram identificadas, respectivamente, como *Candida albicans* e *Candida tropicalis* (Figuras 3A e 3B).

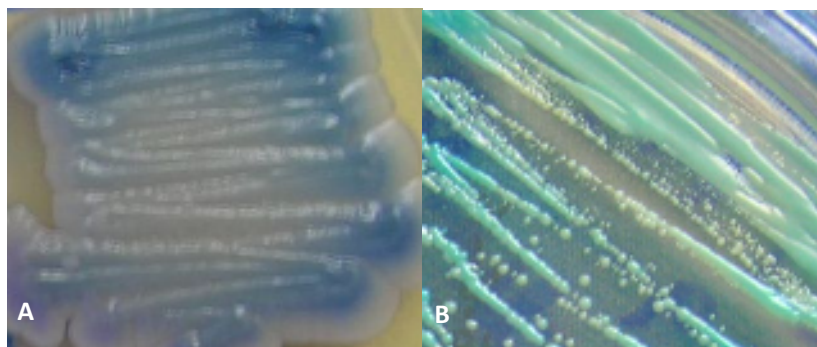
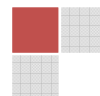


Figura 2. Colônias semeadas em CHROMagar Candida®. **A** – Colônias azuis acinzentadas identificadas presuntivamente como *Candida tropicalis*. **B** – Colônias esverdeadas identificadas presuntivamente como *Candida albicans*.



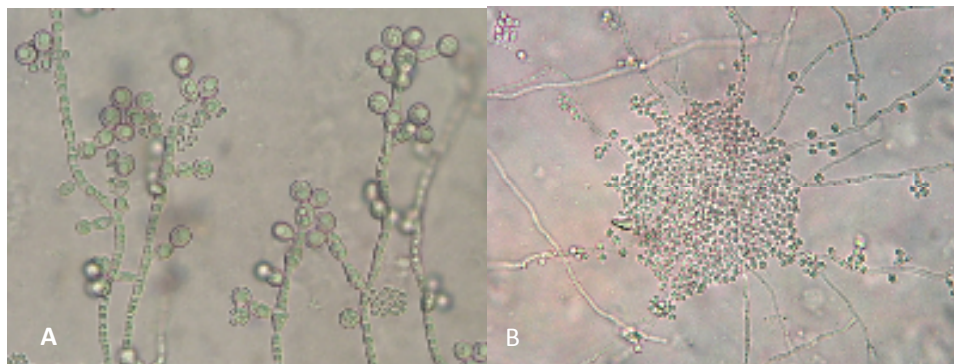


Figura 3. Aspectos microscópicos das leveduras. **A** – Presença de clamidoconídios e blastoconídios em cachos sugestivos de *Candida albicans*. **B** – Presença de blastoconídios em cadeias simples ou ramificadas sugestivos de *Candida tropicalis*.

Para determinar o perfil de sensibilidade “*in vitro*” aos antifúngicos foram utilizados o ATB® FUNGUS 2 (API-BioMerieux, Marcy l’Etoile, France) que permite determinar a susceptibilidade de espécies de *Candida* aos antifúngicos, utilizando diferentes concentrações inibitórias mínimas (CIM): 5-fluocitosina (0.5, 1, 2, 4, 8, 16, 32 e 64 mg/l), anfotericina B (0.5, 1, 2, 4, 8 e 16 mg/l), fluconazol (0.25, 0.5, 1, 2, 4, 8, 16, 32, 64 e 128 mg/l) e itraconazol (0.125, 0.25, 0.5, 1, 2 e 4 mg/l). Para interpretação clínica das CIM (sensível, intermediário e resistente) foram utilizadas concentrações críticas recomendadas pelo NCCLS/CLSI, 2002 para *Candida* spp (24).

Discos de fluconazol a 25 µg (CECON, Brasil) foram utilizados para pesquisa de sensibilidade por meio do método de disco-difusão em ágar (25) quando a levedura apresentou resistência a este azólico no ATB® FUNGUS 2. No método de disco-difusão a espécie é considerada sensível quando apresenta zona de inibição superior a 19 mm, intermediária com zona de inibição entre 19 e 14, e resistente quando apresenta menos de 14 mm de zona de inibição.



No ATB® FUNGUS 2, *Candida albicans* apresentou concentração inibitória mínima (CIM) de 64 mg/L para fluconazol, e 1 mg/L para itraconazol enquanto *Candida tropicalis* apresentou CIM de 64 mg/L para fluconazol, e 4 mg/L para itraconazol. Ambas apresentaram, desta forma, resistência a esses azólicos.

No método de disco-difusão, as duas espécies apresentaram zona de inibição menor que 14 mm, confirmando a resistência ao fluconazol.

DISCUSSÃO

Desde a descoberta do HIV, houve um crescente número de casos de infecções fúngicas. As doenças dermatológicas estão classificadas entre as manifestações mais frequentes nos indivíduos HIV-positivos. A onicomicose pode ser considerada marcador clínico precoce da infecção por HIV por se apresentar antecipadamente a outros sintomas ou ainda, como único quadro clínico do paciente durante parte do curso da infecção, sendo frequente quando a contagem de células CD4+ aproxima-se de 450 células/ml (13, 18). No presente caso, a paciente possuía contagem de células CD4+ abaixo de 100 células/mL, o que pode ter favorecido a instalação de infecção por *Candida* spp.

Entre os agentes etiológicos de onicomicose destacam-se as leveduras, os dermatófitos e os fungos filamentosos não-dermatófitos (1). Dermatófitos são responsáveis por aproximadamente 90% das onicomicoses dos pés e as leveduras por 50% das infecções nas unhas das mãos (7).

Espécies de *Candida*, particularmente *Candida albicans*, são as principais responsáveis por onicomicoses em unhas das mãos (8, 26). Daniel et al. (4) observaram que *Candida albicans* é o principal agente de onicomicose distrófica em pacientes imunossuprimidos. Nesta paciente, como há uma associação entre duas



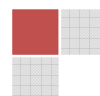
espécies de *Candida* não se sabe qual delas possui maior virulência ou é a responsável pelos aspectos clínicos da lesão.

A frequência de *Candida* em unhas das mãos de pacientes do sexo feminino deve-se às atividades exercidas em ambiente doméstico, nas quais ocorre um maior contato com a água, o que propicia a penetração do fungo. Em várias casuísticas a *Candida* é a principal responsável por oníquia e paroníquia (8). Estes dados concordam com o presente caso, no qual a paciente era do sexo feminino e trabalhava em serviços domésticos.

São poucos os trabalhos que ressaltam as infecções mistas em unhas. Rugeles et al. (29) estudando a etiologia e as características das onicomicoses em pacientes imunodeprimidos na Colômbia observaram a associação de *Candida* a outros fungos, entretanto, não retrata a associação de diferentes espécies de *Candida*. Sabe-se que outras espécies, como *C. tropicalis* e *C. parapsilosis*, causam infecções em unhas, o que comprova a participação de espécies não-*albicans* como patógenos emergentes (20).

O uso freqüente e prolongado do fluconazol para tratamento de candidíase, mucocutânea e sistêmica, tem determinado o aparecimento de leveduras resistentes a este azólico e este perfil de sensibilidade começa a ser observado de forma similar para o cetoconazol e itraconazol (9). No caso descrito, as espécies de *Candida* isoladas em escamas ungueais apresentaram co-resistência a fluconazol e itraconazol.

Para testar a susceptibilidade aos antifúngicos utilizou-se o ATB® FUNGUS 2, “kit” comercial desenvolvido pela BioMerieux que se baseia no método de microdiluição em caldo do NCCLS/CLSI. Alguns trabalhos demonstram que o

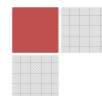


ATB® FUNGUS 2, quando comparado ao NCCLS M27-A2 (24) e EUCAST (33) apresenta-se como método alternativo simples e fácil para determinação da susceptibilidade “*in vitro*” de isolados de *Candida* spp para anfotericina B, 5-flucitosina, fluconazol e itraconazol (5, 6, 21).

O método de disco difusão em agar (25) propõe leituras em 24 e ou 48 horas, apresentando como vantagens a sua fácil realização e sua similaridade com o antibiograma normal, inclusive utilizando-se como meio de cultura básico o agar Mueller Hinton. Esta paciente fez uso de fluconazol por período prolongado para tratamento de candidíase bucal, desta forma utilizamos o método de disco-difusão para confirmar a resistência do fluconazol apresentada pelas duas leveduras ungueais no ATB® FUNGUS 2.

Para a *C. albicans*, a análise de isolados, provenientes de pacientes com infecções recorrentes, tem mostrado que a resistência ao fluconazol ocorre nas mesmas cepas que anteriormente eram susceptíveis, e isso pode ser decorrente, de modificações ocorridas nessas cepas ao longo da exposição do paciente à medicação (22). Alguns trabalhos demonstram que para *Candida albicans*, a resistência ao fluconazol pode chegar a 45% entre os indivíduos que receberam terapêutica prévia, sendo que dos isolados resistentes, 93% apresentam resistência cruzada ao itraconazol (15). Esse mesmo fato pode estar ocorrendo também com espécies não-*albicans*.

A identificação da espécie de *Candida* e a determinação da susceptibilidade “*in vitro*” aos antifúngicos têm sido recomendadas em alguns casos, principalmente quando se trata de candidíase em pacientes infectados com HIV, tornando-se necessário o conhecimento do mecanismo de resistência das espécies de *Candida* ao



fluconazol para auxiliar no desenvolvimento de estratégias em novas ações terapêuticas (22).

Neste contexto, não se pode deixar de mencionar que os azólicos fazem parte do arsenal antifúngico prescrito para o tratamento das micoses profundas, de evolução e prognóstico graves, portanto, devem ser utilizados com cautela e quando houver a certeza do diagnóstico micológico.

CONCLUSÃO

Pacientes HIV-positivos que apresentam baixa contagem de células CD4+ e com tratamento prévio com fluconazol para candidíase oral, podem desenvolver novas infecções por espécies de *Candida* resistentes aos azólicos. É de suma importância, nestes pacientes, a identificação da espécie de cândida, bem como a determinação do perfil de sensibilidade aos antifúngicos, com a finalidade de orientar o tratamento e evitar uma possível disseminação.

ABSTRACT

Candida albicans and *Candida tropicalis* isolated from an HIV-positive patient suffering fingernail onychomycosis: resistance to fluconazole and itraconazole.

The present study analyzes a case of onychomycosis by *Candida* species with resistance “*in vitro*” to fluconazole and itraconazole in a patient infected by the human immunodeficiency virus (HIV). The patient presented partial dystrophic onychomycosis with chronic paronychia and previous use of fluconazole for treatment of oral candidiasis. Scales scraped from the fingernails demonstrated hyaline yeasts with blastoconidia and pseudohyphae; and in culture, after growth: two species of *Candida* that have been identified as *Candida tropicalis* and *Candida albicans*. Antifungal susceptibility tests with 2 ATB® FUNGUS and method of Disc diffusion for fluconazole were carried out. Both species presented resistance to fluconazole and itraconazole. The peculiarities of the various species of *Candida* justify the need to identify yeast species, as well as the sensitivity profile to antifungal agents in clinical use, to better therapeutic and minimize the exposure of these patients to fungal dissemination.

KEYWORDS: Onychomycosis. Candidiasis. Antifungal agents.



REFERÊNCIAS

1. Ballesté R, Mousqués N, Gezuele E. Onicomicosis. Revisión del tema. *Revista médica del Uruguay* 19:93-106, 2003.
2. Colombo AL, Nucci M, Salomão R, Branchini MI, Richtmann R, Derossi A, Wey S. High rate of non-*albicans* candidemia in Brazilian tertiary care hospitals. *Diagnostic Microbiology and Infectious Diseases* 34:281-286, 1999.
3. Dahdah MJ, Scher RK. Onychomycosis – An Overview. *US Dermatology review (Reference Section)* 2006.
4. Daniel R, Norton L, Scher RK. The Spectrum of nail disease in patients with human immunodeficiency virus infection. *J Infection* 27: 93-97, 1992.
5. Durussel C, Nougier L, Bossy G, Parreno D, Zambardi G, Bille J. Evaluation of the new ATB FUNGUS 2 (bioMérieux) System in comparison with Reference Methods (NCCLS M27-A2, EUCAST) for the *In Vitro* Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts. Poster 302, *RICAI*, 2003.
6. Durussel C, Parreno D, Nougier L, Monnin V, Zambardi G, Bille J. Comparative Study of various Methods (NCCLS M27-A2, EUCAST) and ATB FUNGUS 2 (bioMérieux) for the *In Vitro* Antifungal Susceptibility Testing of *Candida* sp. Poster P-1628, *ECCMID*, 2004.
7. Elewski BE. Onychomycosis: pathogenesis, diagnosis and management. *Clinical microbiology reviews* 11 (3): 415-29, 1998.
8. Ellabib MS, Agaj M, Khalifa Z, Kavanagh K. Yeasts of the genus *Candida* are the dominant cause of onychomycosis in Libyan women but not men: results of a 2 year surveillance study. *Brit J Dermatol* 146: 1038-1041, 2002.
9. Evans EG. Resistance of *Candida* species to antifungal agents used in the treatment of onychomycosis: a review of current problems. *Br J Dermatol* 141 (Suppl 56): 33-5 1999.
10. Ghannoum MA, Hajjeh RA, Scher R, Konnikov N et al. A large-scale North American study of fungal isolates from nails: the frequency of onychomycosis, fungal distribution, and antifungal susceptibility patterns. *J Am Acad Dermatol* 43: 641-648, 2000.
11. Gregory N. Special patient populations: Onychomycosis in the HIV-positive patient. *J Am Acad Dermatol* 35: 13-16, 1996.
12. Gupta AK, Lambert J. Pharmaeconomic analysis of the new antifungal agents used to treat toenail onychomycosis in the USA. *Int J Dermatol* 38(2): 53-64, 1999.
13. Gupta AK, Taborda P, Taborda V, Gilmour J, Rachlis A, Salit I, Gupta, MA, MacDonald P, Cooper EA, Summerbell RC. Epidemiology and prevalence of onychomycosis in HIV-positive individuals. *Int J Dermatol* 39:746-53, 2000.
14. Joish VN, Armstrong EP. Newer drugs and overall costs of treating onychomycosis. *Rev Iberoam Micol* 19 (3): 130-132, 2002.



15. Kelly SL, Arnoldi A, Kelly DE. Molecular genetic analysis of azole antifungal mode of action. *Biochem Soc Trans* 21(4): 1034-8, 1993.
16. Kurtzman CP, Fell JW. *The yeast's: a taxonomic study*, 4th Ed. Elsevier, New York, 1998. p. 919-925.
17. Lopes JO, Alves SH, Mari CRD, Oliveira LTO, Brum LM, Westa-phalen JB, Furlan FW, Altermann MJ. A ten-year survey of onychomycosis in the central region of the Rio Grande do Sul, Brazil. *Rev Inst Med Trop* 1999; 41:147-149.
18. Michelin L, Atti JL, Panarottob D, Lovatto L, Boniatti, MM. Dermatoses em pacientes infectados pelo HIV com a contagem de linfócitos CD4. *Revista de Saúde Pública* 38 (6): 758-763, 2004.
19. Midgley G, Moore MK, Cook JC, Phan QG. Mycology of nail disorders. *J Am Acad Dermatol* 31: 68-74, 1994.
20. Miranda KC, Araujo CR, Khrais CHA, Lemos JÁ, Costa CR, Souza LKH, Passos XS, Fernandes OFL, Silva MRR. Identificação de leveduras do gênero *Candida* nas unhas e em descamação de pele em Goiânia (GO), durante o ano de 2003. *Revista de Patologia Tropical* 34 (2): 123-128, 2005.
21. Morera Y, Nougier L, Bossy G, Monnin V, Canard I, Zambardi G, Torres JM. Comparison of the newly designed ATB FUNGUS 2 Strip (bioMérieux) and NCCLS Microdilution Method for the *In Vitro* Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts. Poster 301, *RICA*, 2003.
22. Morschhäuser J. The genetic basis of fluconazole resistance developement in *Candida albicans*. *Biochem Biophys Acta* 1587: 240-48, 2002.
23. Murray SC, Dawber RP. Onychomycosis of toe nails: orthopaedic and podiatric considerations. *Australas J Dermatol* 43:105-12, 2002.
24. National Committee For Clinical Laboratory Standards/ Clinical Laboratory Standards Institute. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts. M27-A2. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Wayne, 2002.
25. National Committee for Clinical Laboratory Standards/ Clinical Laboratory Standards Institute. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts. M44-A. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Wayne, 2004.
26. Pontes ZB, Lima Ede O, Oliveira NM, Dos Santos JP, Ramos AL, Carvalho MF. Onychomycosis in João Pessoa city, Brazil. *Rev Argent Microbiol* 34: 95-99, 2002.
27. Raju PVK, Raghurama Rao G, Ramani TV, Vandana S. Skin disease: clinical indicator of immune status in human immunodeficiency virus (HIV) infection. *International Journal of Dermatology* 44: 646-649, 2005.
28. Rogers TR. Antifungal drug resistance: limited data, dramatic impact?. *International Journal of Antimicrobial Agents* 27(Suppl 1):7-11, 2006.
29. Rugeles MJ, Vasqués JL, Jaramilo E, Orozco B, Estrada S, Ospina S. Etiología y características clínicas de la onicomicosis en um grupo de pacientes inmunosuprimidos, *Infectio* 5: 7-13, 2001.



30. Scher RK, Baran R. Onychomycosis in clinical practice: factors contributing to recurrence. *Br J Dermatol* 149 (Suppl 65): 5-9, 2003.
31. Schlefman BS. Onychomycosis: a compendium of facts and a clinical experience. *J Foot Ankle Surg* 38: 290-302, 1999.
32. Sojakova M, Liptajova D, Borovsky M, Subik J. Fluconazole and itraconazole susceptibility of vaginal yeast isolates from Slovakia. *Mycopathologia* 157: 163-169, 2004.
33. Subcommittee of Antifungal Testing of the European Committee on Antibiotic Susceptibility Testing of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases. Method for the Determination of Minimum Inhibitory Concentration (MIC) by Broth Dilution of Fermentative Yeasts. EUCAST Discussion document E. Dis 7.1 *ESCMID*, 2002.
34. Torres-Rodriguez J. Actualización del diagnostico micológico de las dermatomicosis. *Rev Iberoam Micol* 3(1): 9-17, 1986.
35. Tortorano AM, Kibbler C, Peman J, Bernhardt H, Klingspor L, Grillof R. Candidaemia in Europe: epidemiology and resistance. *International Journal of Antimicrobial Agents* 27: 359-366, 2006.
36. Tosti A, Hay R, Arenas-Guzman R. Patients at risk of onychomycosis--risk factor identification and active prevention. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 19 (Supp 1): 13-6, 2005.
37. Zardo V, Mezzari A. Os antifúngicos nas infecções por *Candida* sp. *NewsLab* 63: 136-146, 2004.



ARTIGO III – Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial

Espécies e susceptibilidade antifúngica *in vitro* de leveduras isoladas em unhas de pacientes com AIDS

Species and antifungal susceptibility *in vitro* of yeast in nails from patients with AIDS

Kedma de Magalhães Lima¹, Rossana Sette de Melo Rêgo², Francisco Montenegro de Melo³ & Célia Maria Machado Barbosa de Castro⁴

¹Biomédica, especialista em Microbiologia e mestranda em Medicina Tropical, Universidade Federal de Pernambuco. Rua Paes Cabral, nº 379, Apt. 02 Cordeiro CEP: 50630-170 Recife, PE, Brasil. kedma_biom@hotmail.com

²Médica Micologista da NKB-PE Medicina Diagnóstica, Lins Petit, 298, Ilha do Leite, CEP: 50070-230 Recife, PE - Brasil. rossana.sette@nkb.com.br

³Médico, professor da Universidade de Pernambuco e assessor científico da NKB-PE Medicina Diagnóstica, Lins Petit, 298, Ilha do Leite, CEP: 50070-230 Recife, PE –Brasil. francisco.montenegro@nkb.com.br

⁴Médica, professora associada do departamento de Medicina Tropical e responsável pelo Laboratório de Imunopatologia da Universidade Federal de Pernambuco. Cidade Universitária, CEP: 50670-901 - Recife, PE – Brasil. ccastro@lika.upfe.br

Trabalho realizado no Departamento de Medicina Tropical da Universidade Federal de Pernambuco – UFPE

AUTOR RESPONSÁVEL PELA CORRESPONDÊNCIA:

Kedma de Magalhães Lima

LIMA, KM.



RESUMO: Em imunodeprimidos, espécies de *Candida* têm apresentado maior capacidade de invadir a unha tornando-se agente de onicomicoses. Objetivamos identificar leveduras responsáveis por onicomiose e as respectivas susceptibilidades antifúngicas *in vitro* em pacientes com AIDS. Avaliamos 23 cepas de leveduras isoladas de 21 amostras ungueais das mãos e/ou pés. As colônias foram identificadas por CHROMagar *Candida*® e testes padrões. O ATB FUNGUS 2® foi utilizado para testar susceptibilidade aos antifúngicos. Casos de resistência a fluconazol foram confirmados por teste de disco-difusão. Em 2 casos houve infecção mista por duas espécies de *Candida*. Das 23 espécies, 48% foram identificadas como *C. albicans*, 26% *C. parapsilosis*, 8,5% *C. tropicalis*, 8,5% *C. glabrata*, 4,3% *C. guilliermondii* e 4,3% *C. famata*. Nas leveduras isoladas, 39% apresentaram resistência aos azólicos, sendo 33% *C. albicans* e 67% espécies não-*albicans*. Pacientes com resistência relatam utilização prévia de antifúngicos para tratamento de candidíase oral ou onicomiose recorrente. Embora tenha ocorrido prevalência de *C. albicans*, espécies não-*albicans* mostraram-se menos susceptíveis aos azólicos. O fluconazol está indicado nas onicomicoses causadas por *Candida*, com exceção da *C. krusei*. Entretanto, o uso freqüente e prolongado do fluconazol tem determinado o aparecimento de leveduras resistentes a este azólico e este perfil de sensibilidade começa a ser observado de forma similar para o itraconazol.

UNITERMOS: Onicomiose, AIDS, *Candida*, Fluconazol.

SUMMARY: In immunocompromised patients, *Candida* sp tend to invade the normal nail and to cause onychomycosis. We objectify to identify yeast responsible for onychomycosis and respective antifungal susceptibility “in vitro” from patients with AIDS. Were evaluated 23 *Candida* species of 21 nail samples of the hands and/or feet. The colonies were identified by CHROMagar *Candida*® and tests biochemists. ATB FUNGUS 2® was used for antifungal susceptibility testing. The resistance for fluconazol was confirmed by disk diffusion. In 2 cases there mixing infection for two species. Of the 23 isolated species, 48% were *C. albicans*, 26% *C. parapsilosis*, 8,5% *C. tropicalis*, 8,5% *C. glabrata*, 4,3% *C. guilliermondii* and 4,3% *C. famata*. 33% of the species had presented resistance the azolic, 33% *C. albicans* and 67% no-*albicans* species. Patients with resistant specie had previously used antifungal for treatment of oral candidiasis or recurrent onychomycosis. *C. albicans* was species most isolated, however no-*albicans* species had shown little susceptibility to the azolic. The fluconazole is indicated in onychomycoses caused for *Candida*, with the exception of *C. krusei*. However, the frequent and prolonged use of fluconazole has given the emergence of resistant yeast to this azolics and this profile of sensitivity starts to be observed so similar to itraconazole.

KEY WORDS: Onychomycosis, AIDS, *Candida*, Fluconazole.



INTRODUÇÃO

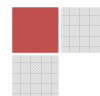
Leveduras, especialmente pertencentes ao gênero *Candida*, fazem parte da microbiota normal, no entanto, quando encontram fatores locais ou sistêmicos predisponentes podem comporta-se como patógeno primário ou secundário em escamas da pele, mucosas e unhas. Em pacientes imunodeprimidos, esse gênero tem demonstrado apresentar maior capacidade de invadir a unha normal tornando-se um dos principais agentes causais de onicomicose, patologia ungueal causada por fungos^(9, 27).

Diferentes estudos demonstram que os dermatófitos são os principais agentes de onicomicoses em pacientes com o Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV)^(8, 14), entretanto, trabalho realizado na América latina evidenciou leveduras do gênero *Candida* como principais agentes de onicomicose em imunodeprimidos, incluindo pacientes com HIV⁽²⁵⁾. Essas onicomicoses se caracterizam por apresentar padrões clínicos diferentes, variando de onicomicose proximal associada à paroníquia crônica, onicomicose distal secundária à candidíase mucocutânea crônica e onicolise candidiásica^(11, 28). As micoses ungueais são enfermidades que não se resolvem espontaneamente, necessitando instituir-se tratamento, apesar de ser dificultoso e prolongado⁽²⁾.

A resistência às drogas entre as espécies de *Candida* tem sido um problema crescente, reforçando ainda mais a importância da identificação das leveduras e a realização dos testes de susceptibilidade, pois o conhecimento da sensibilidade às drogas torna possível direcionar o tratamento^(7, 12).

O National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS), atualmente designado CLSI (Clinical Laboratory Standards Institute) propôs a

LIMA, KM.



primeira norma de padronização para o antifungigrama em 1992, com início da padronização em 1995 e conclusão em 1997. Essas normas têm como padrão ouro a macrodiluição em caldo e sua equivalência na microdiluição em caldo^(17, 18). Em 2002, nova atualização foi aprovada e publicada como norma M27-A2⁽¹⁸⁾, que é o método de referência para o teste de sensibilidade de leveduras.

O método de microdiluição apresenta vantagens sobre a macrodiluição, devido à manipulação ser menos laboriosa, a não utilização de múltiplos tubos e sim de microplacas e, com isto utilizando-se uma menor quantidade de antifúngicos e meios de cultura, sendo o ponto de corte de leitura definido visual e ou espectrofotometricamente. Porém é requerido um tempo de incubação final de 48 horas, tempo esse muito elevado principalmente para pacientes graves que requerem uma ação terapêutica imediata.

Devido a manipulação laboriosa, tempo de incubação elevado e utilização de grande quantidade de materiais, muitos métodos vêm sendo testados como alternativas para o antifungigrama. Vários “kits” comerciais, baseados no método de diluição em caldo do NCCLS/CLSI foram desenvolvidos por diferentes empresas e, entre eles, podem ser citados, ATB FUNGUS 2 (API-BioMerieux, Marcy l’Etoile, France). Além disto, mais recentemente foi aprovado o método de disco difusão em ágar M44-A⁽¹⁹⁾, com propostas de leituras em 24 e ou 48 horas. O método de disco difusão apresenta como vantagens a sua fácil realização e sua similaridade com o antibiograma normal, inclusive utilizando-se como meio de cultura básico, o ágar Mueller Hinton, porém, os critérios de interpretação e padronização foram definidos inicialmente somente para o fluconazol e só em 2005 foram propostos pontos de corte para o voriconazol⁽²¹⁾.



Não existem trabalhos que retratem a susceptibilidade de leveduras em unhas de pacientes imunodeprimidos. Desta forma, torna-se importante o estudo das espécies e as respostas aos azólicos de leveduras do gênero *Candida* isoladas nas unhas de pacientes com AIDS, já que estas são as drogas de escolha para tratamento de micoses superficiais, cutâneas e profundas tão comuns nestes pacientes.

O presente trabalho tem como objetivo identificar espécies de leveduras isoladas de onicomicose em portadores de HIV e as respectivas susceptibilidades antifúngicas *in vitro*.

MATERIAIS E MÉTODOS

Cepas estudadas

Foram analisadas 23 cepas de leveduras isoladas de 21 amostras ungueais das mãos e/ou pés de pacientes HIV-positivos de ambos os sexos e idade entre 25 e 55 anos. Os pacientes procuraram o ambulatório de dermatologia do Hospital Correia Picanço com queixa de onicomicose, esta unidade hospitalar localiza-se em Recife e é referência para atendimento de pacientes com AIDS em Pernambuco.

As amostras foram coletadas, após anti-sepsia da unha com álcool a 70%, por raspagem da lâmina subungueal com auxílio de uma cureta odontológica esterilizada, obtendo-se escamas bem finas que foram recolhidas em placas de Petri esterilizadas e em tubos estéreis contendo solução salina (NaCl 0,9%).



Isolamento e identificação das leveduras

Após 3 dias de crescimento em ágar Sabouraud dextrose (SDB; Difco, Laboratories, Detroit) acrescido de cloranfenicol (50 mg/l), os isolados foram semeados em placas de CHROMagar *Candida*[®] (Probac do Brasil, São Paulo) e incubados a 30°C pelo período máximo de cinco dias. Colônias esverdeadas foram presuntivamente identificadas como *C. albicans*/*C. dubliniensis* e confirmadas pela observação da produção de clamidoconídios em ágar fubá-Tween 80. A diferenciação entre *C. albicans* e *C. dubliniensis* foi realizada através da verificação da habilidade da *Candida albicans* em crescer a 42° e 45°C e em caldo Sabouraud hipertônico^(1,27). Colônias apresentando outras colorações foram subcultivadas em ágar Sabouraud e identificadas de acordo com os critérios adotados por Kurtzman e Fell (1998) e De HOOG *et al* (2000)^(10, 13).

Testes de susceptibilidade a antifúngicos

Os testes de sensibilidade *in vitro* a antifúngicos foram realizados através da galeria ATB FUNGUS 2[®] (Biomérieux), que permite determinar a sensibilidade das leveduras aos antifúngicos em meio semi-sólido em condições muito próximas da técnica de referência de microdiluição do NCCLS/CLSI⁽¹⁸⁾. A utilização deste sistema permite identificar a susceptibilidade aos antifúngicos: flucitosina, anfotericina B, fluconazol e itraconazol; com leituras realizadas após 24 horas.

As cepas que se mostraram resistentes ao fluconazol, foram submetidas ao teste de disco-difusão em agar Müller Hinton com fluconazol 25 mcg (CECON, Brasil) de acordo com a norma M44/NCCLS M27-A⁽¹⁹⁾.



RESULTADOS

As 23 espécies isoladas possuíam características macroscópicas de leveduras, mostrando-se como colônias esbranquiçadas, com bordas lisas ou irregulares após 24 a 48 horas do semeio no ágar Sabouraud com cloranfenicol.

Após semeio em CHROMagar *Candida*®, as leveduras foram presumidamente identificadas como *Candida albicans* e *Candida tropicalis* (Figura 1). As outras espécies de *Candida* foram identificadas apenas pelo método clássico⁽¹³⁾.



Figura 1. Leveduras semeadas em CHROMagar *Candida*®. Colônias esverdeadas, azul acinzentadas e esbranquiçadas, identificadas presuntivamente com *C. albicans*, *C. tropicalis* e *Candida* sp, respectivamente.

Após o método clássico, identificamos as 23 espécies, 11 (48%) *C. albicans*, 6 (26%) *C. parapsilosis*, 2 (8,5%) *C. tropicalis*, 2 (8,5%) *C. glabrata*, 1 (4,3%) *C. guilliermondii* e 1 (4,3%) *C. famata* (Figuras 2 e 3).

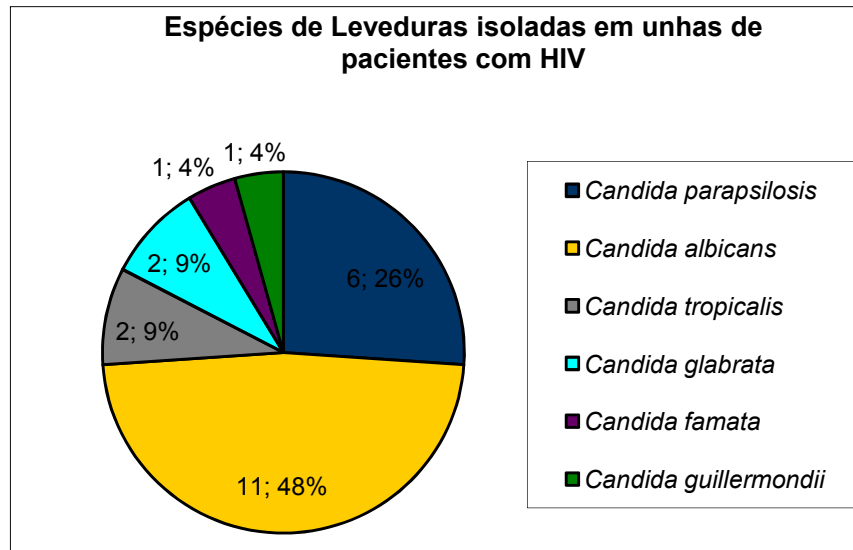


Figura 2. Espécies de leveduras isoladas em unhas de pacientes com HIV. A *Candida albicans* foi a espécie mais observada, seguida pela *Candida parapsilosis*.

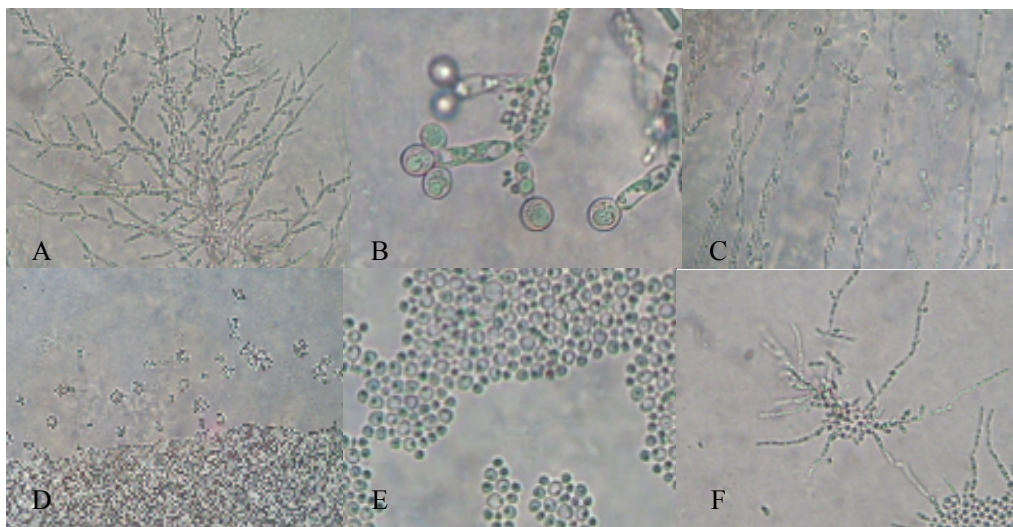


Figura 3. Micromorfologia em ágar fubá Tween 80 de espécies de *Candida* agentes de onicomicose em pacientes HIV-positivos. A- *Candida parapsilosis*, B- *C. albicans*, C- *C. tropicalis*, D- *C. glabrata*, E- *C. famata*, F- *C. guilliermondii*.

Em 2 casos houve infecção mista por *Candida albicans* e *Candida tropicalis*, que foram evidenciadas no CHROMagar *Candida*®, como colônia esverdeada e azul acinzentada, respectivamente.

Em todos os casos de cultura positiva para leveduras, observou-se em exame direto, após clarificação com hidróxido de potássio a 30%, presença de numerosas células de leveduras arredondadas, hialinas, blastosporadas e em alguns casos, pseudohifas e filamentos verdadeiros.

Nos testes de susceptibilidade *in vitro* aos antifúngicos, das 23 cepas isoladas, 39% (9) apresentaram resistência aos azólicos, sendo 33% (3) *C. albicans* e 67% (6) espécies não-*albicans*. Destas, 39% (8) das espécies apresentaram resistência ao fluconazol, 13% (3) a itraconazol e 21,7% (5) apresentaram resistência intermediária a fluconazol e/ou itraconazol. Não foram observadas espécies de *Candida* resistentes a flucitosina e a anfotericina B (Tabela 1).

Tabela 1. Susceptibilidade *in vitro* das espécies de *Candida* através do ATB FUNGOS 2®.

	N	FLUCONAZOL	ITRACONAZOL	ANFOTERICINA	FLUCITOSINA
		S I R	S I R	S I R	S I R
<i>C. albicans</i>	11	9 0 2	8 1 2	11 0 0	11 0 0
<i>C. parapsilosis</i>	6	1 3 2	6 0 0	6 0 0	6 0 0
<i>C. tropicalis</i>	2	1 0 1	1 0 1	2 0 0	2 0 0
<i>C. glabrata</i>	2	0 0 2	2 0 0	2 0 0	2 0 0
<i>C. famata</i>	1	0 0 1	0 1 0	1 0 0	1 0 0
<i>C. guilliermondii</i>	1	1 0 0	1 0 0	1 0 0	1 0 0
TOTAL	23	12 3 8	18 2 3	23 0 0	23 0 0



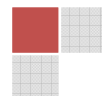
Todos os casos de resistência ao fluconazol foram confirmados pelo método de disco-difusão, demonstrando halo inferior a 14 mm (Sensível: ≥ 19 ; intermediário: 15-19 mm; Resistente: ≤ 14).

DISCUSSÃO

Infecções por leveduras do gênero *Candida* têm sido observadas desde o tempo de Hipócrates que descreveu a doença em pacientes imunocomprometidos⁽²⁶⁾. Essas leveduras podem comportar-se como patógeno primário em escamas da pele e mucosas, invadindo também a unha normal principalmente em pacientes com AIDS^(9, 28).

Além da imunodepressão, o aumento de infecções causadas por *Candida* tem sido relacionado ao uso indiscriminado de antifúngicos, que pode selecionar população de cepas resistentes a determinadas drogas^(6, 7, 24). O emprego de qualquer medicação, a duração e a via de tratamento depende do diagnóstico correto do exame micológico, e ao administrar uma droga antifúngica, deve-se sempre avaliar seus efeitos adversos, prescrevendo assim apenas quando necessário, principalmente quando a administração é via oral.

Leveduras do gênero *Candida* são comumente encontradas nas unhas. *C. albicans* é o patógeno mais comum, enquanto *C. tropicalis*, *C. krusei*, *C. parapsilosis* e *C. guilliermondii* são encontradas com menor frequência⁽⁹⁾. No presente trabalho foram isoladas seis espécies relacionadas a onicomicoses (*Candida albicans*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *C. glabrata*, *C. guilliermondii* e *C. famata*).

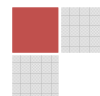


A *Candida albicans* foi à espécie mais observada nas amostras ungueais dos pacientes com AIDS. É, sem dúvida alguma, o agente mais frequentemente isolado de infecções superficiais e invasivas em diferentes sítios anatômicos e em casuísticas de todas as partes do mundo. Esta espécie é naturalmente sensível a todas as drogas antifúngicas de uso sistêmico, mas casos de resistência adquirida a azólicos são conhecidos em pacientes que foram expostos prolongadamente a estes medicamentos ^(3,15).

Foram isoladas *C. albicans* em onze amostras ungueais e espécies não-*albicans* em doze amostras. Ao todo, nove isolados demonstraram resistência a fluconazol e/ou itraconazol. Estes pacientes haviam utilizado previamente azólicos para tratamento de candidíase oral e/ou onicomicose, que se apresentava como recorrente. Alguns trabalhos demonstraram que para *Candida albicans*, a resistência ao fluconazol pode ser alta entre os indivíduos que receberam terapêutica prévia, e esses isolados resistentes quase sempre apresentam resistência cruzada ao itraconazol ^(4,16). Esse mesmo fato pode estar ocorrendo também com espécies não-*albicans*.

A presença de outras espécies de *Candida* como agentes de infecção reafirma o surgimento de espécies não-*albicans* como agentes de onicomicose. No presente trabalho estas espécies apresentaram menor sensibilidade aos azólicos quando comparadas com a *C. albicans*. Alguns estudos demonstram que muitas espécies não-*albicans* mais comumente isoladas são menos susceptíveis aos derivados azólicos, dificultando o tratamento da candidíase ⁽⁵⁾.

No presente estudo observou-se dois casos de infecções mistas envolvendo *C. albicans* e *C. tropicalis*, um dos casos com resistência cruzada a fluconazol e



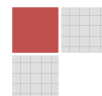
itraconazol. São poucos os trabalhos que ressaltam as infecções mistas em unhas. RUGELES *et al* ⁽²⁵⁾ estudando a etiologia e as características das onicomicoses em pacientes imunodeprimidos na Colombia observaram a associação de *Candida* a outros fungos, entretanto, não retrataram a associação de diferentes espécies de *Candida*.

Em pacientes susceptíveis ao aparecimento de micoses oportunistas, deve-se tentar por mecanismos os mais diversos, evitar o aparecimento de micoses. O diagnóstico precoce e o perfil de susceptibilidade se impõe, uma vez que as infecções oportunistas são sempre mais graves nos pacientes imunodeprimidos e, muitas vezes, podem tornar-se disseminada e resistente ao tratamento.

Até os dias atuais não há relatos, especificamente, sobre identificação de leveduras e testes de susceptibilidade a antifúngicos em escamas ungueais de pacientes com AIDS. Os trabalhos publicados referem-se à ocorrência desta micose, de uma forma geral, em imunodeprimidos. Daí a importância do conhecimento das principais espécies de *Candida* envolvidas em lesões ungueais e as respectivas susceptibilidades antifúngicas em HIV-positivos.

CONCLUSÕES

A *Candida albicans* foi a espécie mais isolada dentre as cepas em estudo. Percentual importante de espécies de *Candida* foi resistente a fluconazol e itraconazol, sendo que as espécies não-*albicans* se mostraram menos susceptíveis aos azólicos. Desta forma, torna-se importante a realização de testes de identificação e antifungigrama para os episódios de candidíase em escamas ungueais de pacientes



com AIDS, principalmente nos casos de recorrência, com metodologia de estudo correta e publicação de estudos estatísticos, detalhando as principais espécies de *Candida* e as respectivas respostas às medicações utilizadas na rotina médica.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ALVES, S.H. et al. Hypertonic sabouraud broth as a simple and powerful test for *Candida dubliniensis* screening. *Diagn Microbiol Infect Dis*, v. 43, n. 1, p. 85-6, 2002.
2. BALLESTÉ, R.; MOUSQUÉS, N.; GEZUELE, E. Onicomicosis. Revisión del tema. *Rev Med Uruguay*, v. 19, p. 93-106, 2003.
3. BATISTA, J. M.; BIRMAN, E. G.; CURY, A. E. Suscetibilidade a anti-fúngicos de cepas de *Candida albicans* isoladas de pacientes com estomatite protética. *Rev Odontol Univ São Paulo*, v. 13, n. 4, p. 343-348, 1999.
4. CALDERONE, R.A.; FONZI, W.A. Virulence factors of *Candida albicans*. *Trends Microbiol*, v. 9, n. 7, p. 327-35, 2001.
5. CENTENO, V. et al . Prevalencia de patrones de sensibilidad al Fluconazol de las especies de *Candida* aisladas en pacientes de Unidades de Cuidado Intensivo de Bucaramanga, Colombia. *Infectio*, v. 8, n. 3, p. 191-193, 2004.
6. CIRAK, M.Y.; KALKANCI, A.; KUSTIMUR, S. Use of molecular methods in identification of *Candida* Species and evaluation of fluconazole resistance. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, v. 98, n. 8, 2003.
7. COLOMBO, A.L. et al. High rate of non-albicans candidemia in Brazilian tertiary care hospitals. *Diagn Microbiol Infect Dis*, v. 34, p. 281-86, 1999.
8. CRIBIER, B. et al. Nail changes in patients infected with human immunodeficiency virus. A prospective controlled study. *Archives of Dermatology*, v. 134, p. 1216–1220, 1998.
9. DANIEL, C.R.I. et al. *Candida* infection of the nail: role of *Candida* as a primary or secondary pathogen. *Dermatology*, v. 37, p. 904-907, 1998.
10. DE HOOG, G.S. et al. *Atlas of clinical fungi*. 2. ed. The Netherlands-Spain: CBS/Universitat Rovira I Virgili, 2000.
11. ELEWSKI, B.E. Onychomycosis: pathogenesis, diagnosis and management. *Clinical microbiology reviews*, v. 11, n. 3, p. 415-29, 1998.



12. EVANS, E.G. Resistance of *Candida* species to antifungal agents used in the treatment of onychomycosis: a review of current problems. *Br J Dermatol*, v. 141, p. 33-5, 1999.
13. KURTZMAN, C.P.; FELL, J.W. *The yeast's: a taxonomic study*, 4th Ed. Elsevier, New York, p. 919-925, 1998.
14. GUPTA A.K. et al. Epidemiology and prevalence of onychomycosis in HIV-positive individuals. *Int J Dermatol*, v. 39, p. 746-753, 2000.
15. MORETI, M.L. A importância crescente das infecções fúngicas, *Ver Panam Infectol*, v. 9, n. 2, p. 8-9, 2007.
16. MORSCHHÄUSER, J. The genetic basis of fluconazole resistance development in *Candida albicans*. *Biochem Biophys Acta*, v. 1587, p. 240-48, 2002.
17. NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS/ CLINICAL LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. *Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts*. M27-A. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Wayne, Pa, 1997.
18. NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS/ CLINICAL LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. *Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts*. M27-A2. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Wayne, Pa, 2002
19. NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS/ CLINICAL LABORATORY STANDARDS INSTITUT. *Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts*. M44-A. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Wayne, Pa, 2004.
20. NUCCI, M.; COLOMBO, A. L. Emergence of resistant *Candida* in neutropenic patients. *Braz J Infect Dis*, v. 6, n. 3, p. 124-128, 2002.
21. PFALLER, M. A. et al. Results from the ARTEMID DISK global antifungal surveillance study: a 6,5 – year analysis of susceptibilities of *Candida* and other yeast species to fluconazole and voriconazole by standardized disk diffusion testing. *J Clin Microbiol*, v. 43, p. 5848-5859, 2005.
22. PANIZZO, M. M.; PÉREZ, C.; MANISCALCHI, M. T. Susceptibilidad in vitro a los antifúngicos de *Candida* sp y serotipos de *Candida albicans* aisladas de pacientes con vaginitis primaria y resurgente. *BSVM*, v. 20, n. 1, p. 1-1, 2000.
23. ROBERTS, D. T.; EVANS, E. G. Subungueal dermatophytoma complicating dermatophyte onychomycosis. *Br J Dermatol*, v. 138, p. 189-90, 1998.



24. ROGERS, T.R. Antifungal drug resistance: limited data, dramatic impact?. *International Journal of Antimicrobial Agents*, v. 27, p. 7-11, 2006.
25. RUGELES, M.J. et al . Etiología y características clínicas de la onicomicosis en um grupo de pacientes inmunosuprimidos, *Infectio*, v. 5, p. 7-13, 2001.
26. SERRACARBASSA, P. D.; DOTTO, P. Endoftalmite por *Candida albicans*. *Arq Bras Oftalmol*, v. 66, n. 5, p. 701-707, 2003.
27. TINTELNOT, K. et al. Evaluation of phenotypic markers for selection and identification of *Candida dubliniensis*. *J Clin Microbiol*, v. 38, n. 4, p. 1599-608, 2000.
28. TOSTI, A. et al. *Candida* onychomycosis in HIV infection. *Eur J Dermatol*, v. 8, n. 3, p. 173-4, 1998.

Endereço para correspondência:

Kedma de Magalhães Lima

Rua Paes Cabral, nº 379, Apt. 02, Cordeiro CEP: 50630-170 Recife-PE

e-mail: kedma.biom@gmail.com

Fone: (81) 3226-9079



INVESTIGAÇÃO CLÍNICA, EPIDEMIOLÓGICA,
LABORATORIAL E TERAPÊUTICA.

Características clínicas e microbiológicas de onicomicoses em pacientes HIV-positivos

Clinical and microbiological characteristics of onychomycosis in HIV-positives patients

Kedma de Magalhães Lima¹, Idalina Inês Fonsêca Nogueira Cambuim², Marília Delgado³, Cláudio Figueiredo de Araújo Pereira⁴ & Célia Maria Machado Barbosa de Castro⁵

¹LIMA, K.M. Mestranda em Medicina Tropical, Universidade Federal de Pernambuco e Micologista do NKB-PE Medicina Diagnóstica.

²CAMBUIM, I.I.F.N. Doutoranda em Biologia dos Fungos, Universidade Federal de Pernambuco.

³DELGADO, M. Médica Dermatologista do Hospital Correia Picanço, Recife, Pernambuco.

⁴PEREIRA, C.F.A.P. Médico Patologista Clínico e professor Assistente do departamento de Microbiologia e Parasitologia da Universidade Federal Fluminense, Rio de Janeiro.

⁵CASTRO, C.M.M.B. Professora associada do departamento de Medicina Tropical e responsável pelo Laboratório de Imunopatologia da Universidade Federal de Pernambuco.

Trabalho desenvolvido no Hospital Correia Picanço, setor de Micologia Médica do NKB-PE Medicina Diagnóstica e Departamento de Medicina Tropical da Universidade Federal de Pernambuco.

ENDEREÇO AUTOR PRINCIPAL:

Kedma de Magalhães Lima

Rua Paes Cabral, nº 379, Apt. 02, Cordeiro CEP: 50630-170 Recife-PE

e-mail: kedma.biom@gmail.com

Fone: (81) 3226-9079



Características clínicas e microbiológicas de onicomicoses em pacientes HIV-positivos

RESUMO: *FUNDAMENTOS*-Onicomicoses afetam 15-40% dos indivíduos com HIV. São causadas por leveduras, dermatófitos e fungos filamentosos não-dermatófitos (FFND), apresentando as formas clínicas de onicomicose subungueal distal e lateral (OSDL), branca superficial (OBS), distrófica (OD) e subungueal proximal (OSP). Objetivamos descrever os aspectos clínicos e laboratoriais das onicomicoses em HIV-positivos. *MÉTODOS*-Estudo série de casos realizado no Hospital Correia Picanço, Recife, Pernambuco. Foram coletadas escamas ungueais de lesões sugestivas de onicomicose em pacientes encaminhados para exame micológico. Os fragmentos foram retirados com cureta estéril e submetidos à pesquisa direta e cultura. *RESULTADOS* – Dos 100 pacientes com micoses superficiais, 35(35%) possuíam suspeita de onicomicose. Destes, 5(14,5%) apresentavam lesões ungueal em pés e nas mãos. Das 40 amostras, 22(55%) pertenciam ao sexo feminino, 18(45%) ao masculino; 21(52,5%) eram em unhas das mãos e 19(47,50%) em unhas dos pés. A idade média foi de 40,7 anos. Dos 21 casos de OSDL, 71,42% eram nos pés e dos 15 casos de OD, 93,33% eram nas mãos. Leveduras foram isoladas em 21(52,5%), FFND em 7(17,5%), dermatófitos em 4(10%) e infecções mistas (leveduras + bactérias) em 3(7,5%). O diagnóstico micológico para as suspeitas de onicomicose foi confirmado nas 40 amostras, entretanto não houve crescimento fúngico em 5 cultivos. *CONCLUSÕES*-A OSDL foi a principal forma clínica nas unhas dos pés, enquanto a OD, nas unhas das mãos. Em todas as suspeitas de onicomicose houve confirmação por exame direto e/ou cultura micológica. Levedura foi patógeno predominante, seguido em frequência por FFND, passando os dermatófitos a um plano inferior.

PALAVRAS-CHAVES: Onicomicoses, HIV, não-dermatófitos, leveduras.

SUMMARY: *BACKGROUND*-The onychomycosis affect 15-40% of individuals with HIV. They are caused by yeast, dermatophytes and nondermatophytic molds (NDM) that can cause distal and lateral hyperkeratosis, dystrophy, paronychia and leukonychia. Our objective is to describe the clinical and laboratory aspects of onychomycosis in HIV-positive. *METHODS*-A case series study was carried out in Hospital Correia Picanço, Recife, Pernambuco. They were collected material of nail lesions suggestive of onychomycosis in patients assigned to mycological examination. The fragments were removed with sterile curette. We made direct microscopy examination and culture for identification of species. *RESULTS*-Of the 100 patients assigned to mycological examination, 35(35%) had suspected onychomycosis. Of these, 5(14.5%) had injury toenails and fingernails. Of the 40 samples, 22(55%) belonged to the female, 18(45%) were males, 21(52.5%) were fingernails and 19(47.50%) in toenails. Mean age was 40.7 years. Of the 21 cases of distal and lateral hyperkeratosis, 71.42% were in toenails. Of the 15 patients with dystrophy, 93.33% were fingernails. Yeasts were isolated in 21(52.5%), NDM in 7(17.5%), dermatophytes in 4(10%) and mixed infection (yeast+bacteria) in 3(7.5%). The diagnosis mycological for suspected onychomycosis has been confirmed in 40 suspected, however there has been growth in 5 culture. *CONCLUSIONS*-The distal and lateral hyperkeratosis was the main clinical aspect of the toenails, while dystrophy in fingernails. In all suspected of onychomycosis were confirmed by direct examination and/or culture. Yeast was predominant pathogen, followed in frequency by NDM, passing the dermatophytes the lower level.

KEYWORDS: Onychomycosis, HIV, non-dermatohytic, yeast.



INTRODUÇÃO

Em pacientes infectados com o vírus da imunodeficiência humana (HIV) ocorrem inúmeras doenças cutâneas e mucocutâneas¹. Entre as doenças dermatológicas podemos destacar a onicomicose, considerada como um marcador clínico precoce da infecção por HIV. Essa micose ungueal ocorre com frequência quando a contagem de células CD4 aproxima-se de 450 células/ μl ^{2,3}.

Onicomicose associada à síndrome de imunodeficiência adquirida (Aids) é caracterizada pela maior frequência de aspectos clínicos incomuns e resistência ao tratamento convencional⁴. Várias espécies fúngicas oportunistas são frequentemente isoladas e podem ser reflexo do estado de imunocomprometimento¹. Apenas alguns estudos têm demonstrado a etiologia e as alterações clínicas provocadas por fungos nas unhas que ocorrem em associação com infecção pelo HIV^{3,5,6}.

Os agentes causais de patologias ungueais incluem as leveduras, especialmente pertencentes ao gênero *Candida*; os dermatófitos, que acometem principalmente as unhas dos pés; e os fungos filamentosos não-dermatófitos (FFND), que fazem parte de um grupo amplo e heterogêneo, que ocorrem em vegetais e solos de todo mundo⁷. Os FFND são considerados como fungos contaminantes, sapróbios e agentes oportunistas, porém, sua frequência como agente etiológico de onicomicose tem aumentado⁸.

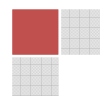
As diferentes espécies fúngicas podem provocar alterações ungueais caracterizadas por hiperqueratose subungueal iniciada pelo bordo livre das unhas na região lateral e/ou distal, descolamento ungueal na proximidade da cutícula, reação inflamatória comprometendo as dobras periungueais (paroníquia) e o aparecimento de manchas brancas na superfície das unhas (leuconíquia)⁹. A melanoníquia



longitudinal, manchas escuras na superfície da unha, também é considerada sintoma bem conhecido em associação ou não a tratamento com zidovudina¹⁰.

Sabe-se que infecção fúngica nos pés (*tinea pedis*) associada à onicomicose possui maior frequência em pacientes HIV-positivos¹¹. Além disso, onicomicoses em imunodeprimidos podem apresentar variações nas formas clínicas e agentes causais¹². O *Trichophyton rubrum* tem sido relacionado em vários trabalhos como principal agente causal de onicomicose em HIV-positivos^{11, 13}, sendo a onicomicose branca superficial a principal característica clínica. Estudos mais recentes têm demonstrado que, em países da América latina, a realidade das onicomicoses em portadores do HIV é diferente, ocorrendo outros grupos de fungos como principais agentes causais e diferentes formas clínicas de apresentação^{5, 14}.

Para pacientes HIV-positivos, existem poucos estudos que correlacionem os aspectos clínicos das onicomicoses e os grupos fúngicos, bem como idade, sexo do paciente, tempo de início da lesão, nível de CD4 e região anatômica (mãos ou pés). Justifica-se ainda o presente estudo pela variação de doenças dermatológicas verificada entre diferentes países ou regiões, sendo relevante conhecer o espectro das onicomicoses entre pacientes infectados pelo HIV em distintas regiões. Assim, o objetivo do presente estudo é descrever os aspectos clínicos e microbiológicos das onicomicoses em um grupo de pacientes com HIV residentes na região metropolitana do Recife, Pernambuco, Nordeste no Brasil.



PACIENTES E MÉTODOS

Seleção dos pacientes

Foram estudadas lesões sugestivas de onicomicose em mãos e/ou pés de todos os pacientes HIV-positivos que foram atendidos no ambulatório de Dermatologia do Hospital Correia Picanço, Recife, Pernambuco, Brasil e encaminhados para pesquisa micológica de lesões diversas no período de Janeiro a Outubro de 2007. Os pacientes provinham da região metropolitana do Recife. O Hospital Correia Picanço é referência para acompanhamento de pacientes com AIDS no estado de Pernambuco.

Todos os pacientes foram inicialmente avaliados por dermatologista.

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco. Foram incluídos no estudo os pacientes que assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido e que permitiram o preenchimento de um formulário contendo dados pessoais, características das lesões, fatores predisponentes, além do uso de antifúngicos e antiretrovirais.

Após o diagnóstico, o dermatologista responsável pela suspeita clínica da onicomicose recebeu o laudo micológico com informações do exame direto e cultura.

Coleta e processamento das amostras

Antes da coleta micológica, a unha passou por um processo de anti-sepsia com a utilização de álcool a 70%, este procedimento minimiza o desenvolvimento de microrganismos contaminantes, que podem interferir no crescimento do agente etiológico responsável pela micose ungueal.



As amostras foram coletadas de acordo com o quadro 1 visando obtenção de escamas bem finas que foram recolhidas em placas de Petri e em tubos estéreis contendo solução salina (NaCl 0,9%).

Quadro 1 – Coleta de escamas ungueais de acordo com os aspectos clínicos da lesão.

Forma Clínica	Coleta
Onicomicose subungueal distal e lateral	Realizada com bisturi de ponta fina por baixo da lâmina ungueal, retirando o material existente entre a zona sã e a afetada.
Onicomicose branca superficial	Obtida da superfície externa da lâmina ungueal mediante raspado intenso da zona afetada.
Onicomicose subungueal proximal	Material geralmente apresenta dificuldade, inicialmente deve-se fazer um raspado ao nível da lâmina externa da unha e progressivamente abrir um orifício em profundidade para se realizar a coleta da amostra (Coleta via transungueal).
Onicomicose distrófica	As amostras são retiradas da região superficial e subungueal da unha; se houver exudato também deve ser coletado.

Após a coleta do material ungueal, a amostra clínica foi processada para exame micológico direto através da clarificação com hidróxido de potássio (KOH) a 30%, onde se colocou uma gota da solução e cobriu-se com lamínula, comprimindo levemente. Esse procedimento promove a dilatação das células queratinizadas, proporcionando índice de refração ótimo para evidenciar as hifas e as células de leveduras. Após 30 minutos, a lâmina foi observada em microscópio (x400).

A cultura foi realizada em ágar Sabouraud (SDB; Difco, Detroit, USA) acrescido de cloranfenicol (50 mg/l) e agar Sabouraud com cicloeximida (Mycosel®) e cloranfenicol. As placas contendo as amostras semeadas foram incubadas à temperatura ambiente (T. A = 28°C±1°C) por 30 dias. Após o crescimento em cultura, o fungo foi isolado na superfície do meio Sabouraud

LIMA, KM.



simples (sem antibiótico), para posterior confecção do microcultivo e identificação das espécies.

Para identificação de fungos filamentosos, foi utilizado o microcultivo em lâmina com ágar batata dextrosado (BDA, Merck, Darmstadt, Germany). A presença de estruturas fúngicas em exame direto confirmou a suspeita de onicomicose.

Em pacientes com cultura positiva para fungo filamentoso não-dermatófitos, além da observação de estruturas fúngicas no exame direto e do crescimento em cultura, uma segunda e terceira coleta foi realizada para confirmação do diagnóstico micológico.

As leveduras foram identificadas de acordo com métodos propostos por Kurtzman e Fell¹⁵ além do crescimento em CHROMagar *Candida*® (Probac do Brasil, São Paulo).

Desenho do estudo e Análise estatística

Foi conduzido um estudo descritivo, tipo série de casos, de caráter exploratório, tendo as informações sido obtidas prospectivamente pelo preenchimento de um formulário específico para cada paciente incluído na pesquisa. O formulário foi preenchido a partir de entrevista ao paciente, após execução da coleta micológica e algumas informações foram conseguidas por consulta aos prontuários médicos.

Os dados foram digitados em dupla entrada no programa EPI-INFO 6.0 e, em seguida, comparados para correção dos erros de digitação. A análise foi feita pela identificação das frequências das variáveis, utilizando tabelas para demonstração dos valores absolutos e suas proporções correlatas.



RESULTADOS

Dos 100 pacientes com suspeita de micoses diversas e encaminhados para exame micológico, 35 (35%) possuíam alterações ungueais compatíveis com onicomicose. Destes, 19 (54,28%) eram do sexo feminino e 16 (45,72%) do sexo masculino. Sendo que 5 pacientes (14,5%), 2 homens e 3 mulheres, apresentavam lesões em unhas dos pés e das mãos. A média da idade foi de 40,7 anos, variando de 22 a 59 anos. Desta forma, das 40 amostras analisadas, 22 (55%) pertenciam ao sexo feminino, 18 (45%) ao sexo masculino; 21 (52,5%) eram em unhas das mãos e 19 (47,50%) em unhas dos pés.

Todas as 40 amostras foram positivas para fungos em exame direto e/ou cultura micológica.

Quanto aos fatores predisponentes, 42,85% dos pacientes possuíam micose não-ungueal (66,7% *tinea pedis*), 14,28% onicomicose de recorrência, 8,57% possuíam história de candidíase oral.

Os níveis de CD4 mais recentes eram conhecidos em todas as amostras e a média foi de 495,9 células/ μ l ($\pm$ 278,61), variando entre 16 e 1158 células/ μ l.

Dos 35 pacientes, 51,42% estavam em tratamento com antiretroviral, 28,58% utilizavam algum tipo de antifúngico oral ou tópico e 20% estavam em uso de antiretroviral e antifúngico.

Em relação ao tempo de início da lesão ungueal, 16 (45, 71%) observaram o aparecimento da onicomicose há 6-12 meses (Tabela 1).



Tabela 1 - Distribuição dos pacientes HIV-positivos acometidos por onicomicose segundo sexo, localização, fatores predisponentes, contagem de CD4+ e tempo de início da lesão.

Variáveis	Onicomicoses	
	N	%
Casos		
Suspeitos	40	100%
Confirmados	40	100%
Região acometida		
Mãos	21	52,5%
Pés	19	47,5%
Sexo		
Mulheres	19	54,28%
Homens	16	45,72%
Fator predisponente		
Micose não-ungueal	15	42,85%
Candidíase oral	3	8,57%
Onicomicose recorrente	5	14,28%
Contagem CD4		
<200	9	24,71%
251-350	2	5,71%
351-500	14	40%
>500	10	28,58%
Uso de medicação		
Antiretroviral	18	51,42%
Antifúngico	10	28,58%
Antiretroviral e antifúngico	7	20%
Início da lesão ungueal		
<1 mês	1	2,86%
1-6 meses	8	22,86%
6-12 meses	16	45,71%
>12 meses	8	22,86%
Desconhecido	2	5,71%

Em relação aos aspectos clínicos das onicomicoses, das 40 amostras ungueais, 21(52%) apresentavam OSDL, 15 (37%) possuíam OD, em 3 (8%) casos foram observadas OSP, enquanto em 1 (3%) caso houve associação de OBS com OSDL (Figura 1). Os hálux e os polegares formam os principais dedos acometidos



pelas onicomicoses. Foram observados 2 casos de melanoníquia associada à OSDL e 8 casos de paroníquia associada à OD.



Figura 1 – Aspectos clínicos das onicomicoses em pacientes HIV-positivos. **A**-onicomicose subungueal distal e lateral, **B**-onicomicose distrófica, **C**-onicomicose subungueal proximal, **D**-onicomicose superficial distal e lateral associada a onicomicose branca superficial.

Nas lâminas montadas com KOH, estruturas fúngicas foram observadas nas 40 amostras, entretanto houve crescimento fúngico em 35 cultivos (87,50%). Das 35 culturas positivas, leveduras foram isoladas em 21 (52,50%), sendo que em 2 amostras observou-se infecção por duas espécies distintas de *Candida*, FFND em 7 (17,50%), dermatófitos em 4 (10%) e infecções mistas (leveduras + bactérias) em 3 (7,50%).

Dos 21 casos de OSDL, 13 (61,90%) foram em unhas dos pés, 14 (66,66%) em amostras ungueais femininas e 52,38% causadas por leveduras. Para as OD, dos



15 casos, 12 (80%) foram em unhas das mãos, 8 (53,3%) em amostras ungueais femininas e 10 (66,6%) causadas por leveduras.

A tabela 2 demonstra a correlação dos grupos fúngicos isolados em relação ao sexo dos pacientes, localização e aspectos clínicos das onicomicoses em HIV-positivos.

Dos 5 pacientes que apresentaram simultaneamente lesão em unhas das mãos e dos pés, 4 possuíam os mesmos agentes em ambas regiões e 1 apresentou levedura em unhas das mãos e FFND em unhas dos pés.

Das 23 espécies de leveduras puras isoladas, 11 (48%) foram identificadas como *C. albicans*, 6 (26%) *C. parapsilosis*, 2 (8,5%) *C. tropicalis*, 2 (8,5%) *C. glabrata*, 1 (4,3%) *C. guilliermondii* e 1 (4,3%) *C. famata*.

Dentre as 7 culturas positivas para FFND, foram identificadas as espécies *Scytalidium hyalinum* (1 caso), *Sytralidium dimidiatum* (1 caso), *Phialophora reptans* (1 caso) *Aspergillus niger* (1 caso), *Cylindrocarpon destructans* (1 caso) e *Fusarium solani* (2 caso).

Dos 4 dermatófitos isolados em cultura, 3 foram *Trichophyton rubrum* e 1 *Trichophyton mentagrophytes*.

Foram observados 3 casos de associação de *Candida albicans* com *Pseudomonas aeruginosa*, 1 em OD e 2 em OSDL associada a melanoníquia.

O apanhado dos casos de onicomicose com os respectivos sexos, idade, contagem de CD4, região anatômica, aspectos clínicos da lesão e espécies isoladas pode ser resumido no quadro 3.



Tabela 2 - Distribuição dos microrganismos isolados segundo sexo dos pacientes, localização e aspectos clínicos das onicomicoses em HIV-positivos.

Cultura Micológica	n	%	Mãos		Pés		Aspectos clínicos			
			M	F	M	F	OSDL	OD	OSP	OSDL/OBS
LEVEDURAS	21	52.50%	5	9	4	3	11	10	0	0
FFND	7	17.50%	3	0	0	4	3	2	1	1
DERMATÓFITOS	4	10%	1	0	3	0	2	0	2	0
BACTÉRIAS + LEVEDURAS	3	7.50%	0	2	1	0	2	1	0	0
Negativo	5	12.5%	1	0	0	4	3	2	0	0
AMOSTRAS TOTAIS	40	100%	10	11	8	11	21	15	3	1

Dos 5 pacientes que apresentaram simultaneamente lesão em unhas das mãos e dos pés, 4 possuíam os mesmos agentes em ambas regiões e 1 apresentou levedura em unhas das mãos e FFND em unhas dos pés.

Das 23 espécies de leveduras puras isoladas, 11 (48%) eram *C. albicans*, 6 (26%) *C. parapsilosis*, 2 (8,5%) *C. tropicalis*, 2 (8,5%) *C. glabrata*, 1 (4,3%) *C. guilliermondii* e 1 (4,3%) *C. famata*.

Dentre as 7 culturas positivas para FFND, observamos *Scytalidium hyalinum* (1 caso), *Sytalidium dimidiatum* (1 caso), *Phialophora reptans* (1 caso) *Aspergillus niger* (1 caso), *Cylindrocarpon destructans* (1 caso) e *Fusarium solani* (2 caso).

Dos 4 dermatófitos isolados em cultura, 3 foram *Trichophyton rubrum* e 1 *Trichophyton mentagrophytes*.

Observamos 3 casos de associação de *Candida albicans* com *Pseudomonas aeruginosa*, 1 em OD e 2 em OSDL associada a melanoníquia.

O apanhado dos casos de onicomicose com os respectivos sexos, idade, contagem de CD4, região anatômica, aspectos clínicos da lesão e espécies isoladas pode ser resumido no quadro 2.



Quadro 2 – Apanhado dos casos de onicomicose com os respectivos sexos, idade, contagem de CD4, região anatômica, aspectos clínicos da lesão e espécies isoladas.

	Sexo	Idade	CD4	Região anatômica	Aspecto	Etiologia
1	M	54	753	MÃOS	OD	<i>Aspegillus niger</i>
2	M	25	387	PÉS	OSDL	<i>C. albicans</i> + <i>P. aeruginosa</i>
3	F	41	88	MÃOS e PÉS	OD (ambas)	<i>C. albicans</i> + <i>C. tropicalis</i> e NEG
4	F	41	84	MAOS	OSDL	<i>C. albicans</i> + <i>P. aeruginosa</i>
5	F	27	483	PÉS	OSDL	<i>Scytalidium hyalinum</i>
6	F	48	442	PÉS	OSDL	<i>Scytalidium dimidiatum</i>
7	M	51	697	PÉS	OD	<i>C. parapsilosis</i>
8	F	49	19	PÉS	OSDL	NEG
9	F	46	686	PÉS	OSDL	NEG
10	F	34	644	MÃOS	OD	<i>C. glabrata</i>
11	M	29	445	PÉS	OSDL	<i>C. guilliermondi</i>
12	F	51	1158	MÃOS	OSDL	<i>C. albicans</i>
13	F	36	382	MÃOS	OD	<i>C. albicans</i>
14	M	45	16	PÉS	OSDL/OBS	<i>Fusarium solani</i>
15	M	31	764	MÃOS	OSDL	<i>C. famata</i>
16	M	22	16	MÃOS e PÉS	OSP (ambas)	<i>Trichophyton rubrum</i> (ambas)
17	F	29	400	PÉS	OSDL	<i>C. albicans</i>
18	F	55	614	MÃOS	OD	<i>C. albicans</i> + <i>P. aeruginosa</i>
19	M	53	461	MÃOS	OD	<i>C. albicans</i>
20	F	49	44	MÃOS	OSDL	<i>C. albicans</i>
21	M	46	725	MÃOS	OD	<i>Phialophora reptans</i>
22	M	55	453	MÃOS e PÉS	OSDL (ambas)	<i>C. parapsilosis</i> (ambas)
23	M	34	394	MÃOS	OD	<i>C. albicans</i> + <i>C. tropicalis</i>
24	M	40	347	MÃOS	OD	<i>C. albicans</i>
25	F	40	607	MÃOS e PÉS	OSDL e OSP	<i>C. parapsilosis</i> e <i>Cylindrocarpon destructans</i>
26	F	59	931	PÉS	OSDL	<i>C. glabrata</i>
27	M	43	458	PÉS	OSDL	<i>Trichophyton rubrum</i>
28	M	39	275	PÉS	OSDL	<i>Trichophyton mentagrophytes</i>
29	F	40	585	MÃOS e PÉS	OSDL (ambas)	<i>C. parapsilosis</i> (ambas)
30	F	29	165	PÉS	OD	NEG
31	M	32	36	MÃOS	OSDL	NEG
32	F	36	109	PÉS	OSDL	<i>Fusarium solani</i>
33	F	33	314	MÃOS	OD	<i>C. albicans</i>
34	M	49	454	MÃOS	OD	<i>C. albicans</i>
35	F	34	470	MÃOS	OD	<i>C. albicans</i>

DISCUSSÃO

Recentemente, houve um aumento no interesse das onicomicoses em pacientes infectados pelo HIV. Entretanto, existem poucos estudos realizados no



mundo, inclusive no Brasil, país com características geográficas e climáticas que podem provocar alterações na epidemiologia e etiologia das onicomicoses.

A literatura relata que a prevalência de onicomicose em portadores de HIV varia entre 15-40%^{16,17}. Estudo comparando onicomicoses em HIV-positivos do Canadá e Brasil demonstrou prevalência de 24% (96/400) e 20% (20/100), respectivamente³. Da mesma forma, Surjushe et al.⁶ em estudo realizado na Índia, relatou prevalência de 24% (60/250). A prevalência em nosso estudo foi 35% (35/100), o que concorda com os estudos acima.

No presente estudo, a idade média dos pacientes afetados foi de 40,7 anos. Este resultado é similar aos estudos de Cribier et al.¹³ (idade média de $36,5 \pm 8,0$ anos) e Salim, Runco⁵, onde o maior número de casos pertenceu ao grupo entre 31 e 40 anos. A observação destas patologias em indivíduos adultos provavelmente está relacionado com o aumento da exposição ocupacional ao traumatismo e aos fungos patogênicos com a idade.

Em nosso estudo, 19 pacientes eram do sexo feminino e 16 do sexo masculino. Foi observada predominância de envolvimento feminino, dado em desacordo com estudos de Surjushe et al.⁶ (sexo proporção h/m de 2:1) e Ravnborg et al.¹⁸ (sexo proporção h/m 2:1). Este fato não se deve ao tamanho da amostragem, pois Herranz et al.¹⁹ observou mais casos de onicomicoses em homens em estudo de 21 pacientes (sexo proporção 9.5:1). Um dos fatores que pode facilitar o envolvimento ungueal, favorecendo a invasão por fungos em mulheres, é o contato constante com água em serviços domésticos, ocupações que são mais propensas a traumas ungueais²⁰.

Dos pacientes com onicomicoses do presente estudo, 37,14% possuíam associação de onicomicose com algum tipo de micose não-ungueal, principalmente



tinea pedis. Dos 21 pacientes HIV-positivos e onicomicose estudados por Herranz et al.¹⁹, 7 possuíam micose não-ungueal, a maioria *tinea pedis* (5/21).

Dos 22 doentes estudados por Ravnborg et al.¹⁸, 21 apresentavam envolvimento em unhas dos pés e 19 em unhas das mãos. Em estudos de Cribier et al.¹³ com 47 pacientes, 42 possuíam onicomicose em unhas dos pés, 3 em unhas das mãos e 2 em unhas das mãos e dos pés. Em nosso estudo, em 35 pacientes, 16 possuíam lesão em unhas das mãos, 14 em unhas dos pés e 5 possuíam onicomicose em ambas regiões. Assim, as unhas das mãos foram mais comumente afetadas. Este achado discorda de vários estudos realizados anteriormente. O envolvimento predominante da unha da mão pode ser devido a uma maior sensibilidade da unha ao trauma por trabalhos manuais com posterior invasão pelo fungo.

Foi observada uma distribuição heterogênea quanto à presença de onicomicose e sua relação com a contagem de células CD4, sendo o maior número de pacientes observados no intervalo de 351-500 células/ μ l. Segundo Michelim et al.¹, as doenças dermatológicas são prevalentes entre os pacientes infectados pelo HIV, sendo que a frequência e o número dessas manifestações correlacionam-se com o *status* imunológico e com a progressão da doença. Entretanto, os dados observados no presente estudo concordam com pesquisas que revelam a existência de correlação negativa entre contagem de linfócitos CD4 e doenças dermatológicas^{21, 22}.

Neste contexto, Gupta et al.³ observaram que a maior prevalência de doenças ungueais era em portadores do HIV com contagem de CD4 aproximadamente de 370, história de onicomicose na família, *tinea pedis* e caminhadas descalço em volta da piscina.



No grupo de pacientes analisados foi observada predominância de OSDL, seguido pela OD. Estes dados concordam com Herranz et al.¹⁹ e Gupta et al.³ que observaram a OSDL como aspecto predominante, e discordam com estudos anteriores em que OSP constituiu mais freqüente aspecto clínico^{11, 13}.

As formas clínicas apresentaram variação no início dos sintomas, não necessitando de maior tempo para produção de onicomicose distrófica.

No estudo conduzido por Surjushe et al.⁶ na Índia, das 32 culturas positivas, dermatófitos foram isolados em 21,66%, leveduras em 20% e FFND em 11,66%. Salim, Runco⁵ observaram em 68 cultivos, crescimento de leveduras em 57,3%, dermatófitos em 25,6% e FFND em 17,1%. Em nosso estudo, das 35 culturas positivas, leveduras foram isoladas em 52,50%, FFND em 17,50%, dermatófitos em 10% e infecções mistas (leveduras + bactérias) em 7,50% amostras. Variações da etiologia podem ser devidas a distintos grupos geográficos estudados e respectivas diferenças climáticas, tipo de coleta de amostra realizada, amostragens com variações de outros parâmetros (idade, hábitos de vida e sexo). Estes fatores podem gerar resultados divergentes sobre a amplitude de espécies envolvidas na etiologia das onicomicoses²³.

Entre as leveduras, a *Candida albicans* foi a espécie mais isolada seguida pela *C. parapsilosis*, acometendo principalmente as unhas das mãos e causando OSDL e OD. A predominância de onicomicoses causadas por espécies de leveduras pode está relacionada às constantes exposições à umidade. Além disso, em dois casos, observamos duas espécies distintas de *Candida* como agente de onicomicose.

Nos pacientes positivos para onicomicoses causadas por FFND, *Fusarium solani*, foi isolado em 2 casos, ambos em unhas dos pés e com aspecto clínico de OSDL, sendo que 1 deles apresentou associação com OBS. A associação de dois



aspectos de onicomicose em um mesmo paciente também foi observado por Gupta et al.³. O isolamento do *Fusarium solani* em unhas dos primeiros pododáctilos concordam com estudos realizados por Baran, Tosti, Piraccini²⁵. De forma similar, Godoy et al.²⁶ relataram oito casos de onicomicoses por *Fusarium solani* e *Fusarium oxysporum*, esses achados foram confirmados por cortes histológicos.

No presente estudo não foi detectada onicomicose por fungos filamentosos associada à doença sistêmica, mas existem vários relatos na literatura em que o paciente com AIDS foi a óbito devido à infecção sistêmica por *Fusarium* que provavelmente originou-se de unha infectada. Com o aumento da frequência de onicomicose por *Fusarium* é necessária uma atenção redobrada no diagnóstico laboratorial, devido ao potencial invasivo deste fungo^{27,28}.

Foram detectadas também espécies do gênero *Scytalidium* em unhas dos pés de dois pacientes. Embora, Lacaz et al.²⁹ tenham observado onicomicose OD causada por *S. dimidiatum* em dois pacientes HIV-positivo, os dois casos de espécies de *Scytalidium* observados nesse estudo possuíam aspecto de OSDL.

Espécies de *Scytalidium* e de *Fusarium* possuem capacidade de metabolizar queratina das unhas, no entanto com intensidade menor que os dermatófitos. Do ponto de vista clínico, Maraki, Tselentis²³ consideram como fungo agente de onicomicose aquele que, uma vez removido do organismo com terapia antifúngica, permite a cura clínica da unha. No presente estudo, não foi possível acompanhar a terapêutica das onicomicoses, pois o tratamento requer período mínimo de três a seis meses¹⁹, e nem todos os pacientes têm a medicação específica disponível.

Além do *Fusarium* e *Scytalidium*, observamos onicomicose por *Aspergillus niger* (1 caso), *Phialophora reptans* (1 caso) e *Cylindrocarpon destructans* (1 caso).



Aspergillus e *Phialophora* causaram OD; enquanto o *Cylindrocarpum* causou OSP, forma clínica ainda não relatada para FFND.

Nos casos em que foram isolados dermatófitos, *Trichophyton rubrum* foi isolado em 3 amostras com aspecto de OBS, sendo 2 provenientes do mesmo paciente (unhas dos pés e das mãos); *Trichophyton mentagrophytes* foi isolado em 1 amostra com aspecto de OSDL. Dois destes pacientes eram portadores de *tinea pedis*, o que pode explicar a dermatofitose ungueal; e 1 paciente possuía dermatofitose disseminada por *T. rubrum*. Vários autores demonstraram que dermatófitos podem causar lesões disseminadas na pele de pacientes com imunodepressão, estas lesões se apresentam de forma atípica e agressiva em pacientes imunodeprimidos, dificultando o tratamento²⁴.

Não foi possível isolar o fungo em 5 cultivos. Em todos os casos os pacientes utilizaram tratamento com antifúngico para candidíase oral ou onicomicose de recorrência.

Das 40 amostras estudadas, 7,5% apresentaram exame direto positivo para numerosas células de leveduras e bactérias Gram-negativas, dois casos em unhas das mãos. Entretanto, houve acentuado crescimento de colônias oxidase-positiva, identificadas como *Pseudomonas aeruginosa*, e crescimento reduzido de leveduras identificadas como *Candida albicans*, apenas por meio cromogênico. A presença de bactérias resistentes ao cloranfenicol adicionado ao ágar Sabouraud, não permitiu que as espécies do gênero *Candida* demonstrassem suas características fenotípicas nos outros testes adicionais.

É importante salientar que em todos os casos de interação fungo-bactéria, o paciente apresentava unhas escurecidas e haviam passado por internamento em enfermaria hospitalar. Alguns estudos têm demonstrado que a *P. aeruginosa* forma



biofilme denso nos filamentos da *C. albicans*, provocando a morte do fungo, evitando, desta forma, o crescimento no meio de cultura ³⁰. Outros fatores de virulência importantes em doenças causadas por *Pseudomonas* também estão envolvidos na inviabilidade de estruturas somáticas da *C. albicans* ³¹. Em nenhum estudo anteriormente descrito relatou-se caso de infecção mista por fungos e bactérias em unhas de HIV-positivos.

Onicomicoses em pacientes infectados pelo HIV demonstra muita diversidade, em comparação com pacientes HIV-negativos. Não apenas pelas diferenças na clínica, mas também agentes etiológicos. Isto pode ser devido à imunossupressão nos doentes infectados com HIV, o que predispõe esta população a infecções pouco frequentes.

O presente estudo demonstrou que leveduras, FFND e infecções mistas foram causas comuns de onicomicose, sendo estes agentes responsáveis por variações nos aspectos clínicos das lesões. Apesar de todas as suspeitas de onicomicose terem sido confirmadas em exame direto e/ou cultura micológica, observamos que os diversos agentes podem provocar diferentes aspectos clínicos. Desta forma, apenas o exame micológico possibilita o direcionamento do tratamento.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Michelim L, Atti J L, Panarotto D, Lovatto L, Boniatti M M. Dermatological disease among HIV-infected patients with CD4-lymphocyte count. Rev Saúde Pública. 2004; 38(6):758-763.
2. Gregory N. Special patient populations: Onychomycosis in the HIV-positive patient. J Am Acad Dermatol. 1996; 35:13-16.
3. Gupta A, Taborda P, Taborda V, Gilmour J, Rachlis A, Salit Irv, et al. Epidemiology and prevalence of onychomycosis in HIV-positive individuals. Report. Int J Dermatol. 2000; 39(10):746-753.



4. Daniel CRI, Gupta AK, Daniel MP, et al. Candida infection of the nail: role of Candida as a primary or secondary pathogen. *Dermatology*. 1998; 37: 904-907.
5. Salim R, Runco R. Onicomicosis en pacientes con infección por VIH (Tucumán, Argentina). *Bol Micol*. 2002; 17:89-94.
6. Surjushe A, Kamath R, Oberai C, Saple D, Thakre M, Dharmshale S, Gohil A. A clinical and mycological study of onychomycosis in HIV infection. *Indian J Dermatol Venereol Leprol*. 2007; 73:397-401.
7. Mercantini N, Marsella R, Morretto D. Onychomycosis in Rome, Italy. *Mycopathologia*. 1996; 136: 25-32.
8. Araújo AJG, Souza MAJ, Bastos OMP, Oliveira JC. Onicomicoses por fungos emergentes: análise clínica, diagnóstico laboratorial e revisão. *An Bras Dermatol*. 2003; 78:445-55.
9. Martins JEC, Melo NT, Heins-Vaccari EM. Atlas de micologia médica. Barueri, SP: Manole; 2005: 170p.
10. Gallais V, Lacour JP, Perrin C. Areal hyperpigmented macules and longitudinal melanonychia in AIDS patient. *Br J Dermatol*. 1992; 126(4):387-91.
11. Levy LA. Epidemiology of onychomycosis in special - risk populations. *J Am Podiatr Med Assoc*. 1997; 87 (12):546-50.
12. Joseph WS. Adult cases of onychomycosis. *Adv Stud Med*. 2005; 5:S614-S619.
13. Cribier B, Mena ML, Rey D, Partisani M, Fabien V, Lang JM. Et al. Nail changes in patients infected with human immunodeficiency virus. A prospective controlled study. *Arch Dermatol*. 1998; 134:1216-1220.
14. Rugeles MJ, Vasqués JL, Jaramilo E, Orozco B, Estrada S, Ospina S. Etiología y características clínicas de la onicomicosis en um grupo de pacientes inmunosuprimidos. *Infectio*. 2001; 5:7-13.
15. Kurtzman CP, Fell JW. The yeast's: a taxonomic study. 4th ed. New York: Elsevier; 1998: 919-925.
16. Goodman DS, Teplitz DE, Wishner A. et al. Prevalence of cutaneous diase in patients with acquired immunodeficiency syndrome (AIDS) or AIDS-related complex. *J Am Acad Dermatol*. 1987; 17:210-20.
17. Prose NS, Abson KG, Scher RK. Disorders of the nails and hair associated with human immunodeficiency virus infection. *Int J Dermatol*. 1992;31; 453-457.
18. Ravnborg L, Baastrup N, Svejgaard E. Onychomycosis in HIV-infected patients. *Acta Derm Venereol*. 1998; 78:151-2.
19. Herranz P, Garcia R, De Lucas R. et al. Toenail onychomycosis in patients with acquired immune deficiency syndrome: tratament with terbinafine. *Br J Dermatol*. 1997; 137:577-580.
20. Esteves JA, Baptista AP, Rodrigo FG. *Dermatologia*. 2th ed. Lisboa: Calouste Gulbenkian;1998.
21. Jensen BL, Weismann K, Sindrup JH, Sondergaard J, Schmidt K. Incidence and prognostic significance of skin disease in patients with HIV/AIDS: a 5-year observational study. *Acta Derm Venereol*. 2000; 80:140-3.
22. Jing W, Ismail R. Mucocutaneous manifestations of HIV infection: a retrospective analysis of 145 cases in a Chinese population in Malaysia. *Int J Dermatol*. 1999; 38:457-63.
23. Maraki S, Tselentis Y. Dermatophytoses in Crete, Greece, between 1992 and 1996. *Mycoses*. 1998; 41 (3-4):175-178.



24. Galhardo MC, Wanke B, Reis RS, Oliveira LA, Valle AC. Disseminated dermatophytosis caused by *Microsporum gypseum* in an AIDS patient: response to terbinafine and amorolfine. *Mycoses*. 2004; 47(5-6):238-41, 2004.
25. Baran R, Tosti A, Piraccini BM. Uncommon clinical patterns of *Fusarium* nail infection: report of three cases. *Br J Dermatol*. 1997; 136:424-427.
26. Godoy P, Nunes F, Silva V, Tomimori-Yamashita J, Zaror L, Fischman O. Onychomycosis caused by *Fusarium solani* and *Fusarium oxysporum* in São Paulo, Brazil. *Mycopathologia* 2004; 157: 287-290.
27. Matsumoto T, Ajello L, Matsuda T, Szaniszló PJ, Walsh TJ. Developments in hyalohyphomycosis and phaeohyphomycosis. *J Med Vet Mycol*. 1994; 32 Suppl 1:329-49.
28. Ellis DH, Marley JE, Watson AB, Williams TG. Significance of non-dermatophyte moulds and yeasts in onychomycosis. *Dermatology*. 1997; 194 Suppl 1:40-2.
29. Lacaz CS, Pereira AD, Heins-Vaccari EM, Cucé LC, Benatti C, Nunes RS et al . Onychomycosis caused by *Scytalidium dimidiatum*. Report of two cases. Review of the taxonomy of the synanamorph and anamorph forms of this coelomycete. *Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo*. 1999; 41(5): 318-323.
30. Hogan DA, Kolter R. *Pseudomonas-Candida* interactions: an ecological role for virulence factors. *Science*. 2002;21:296(5576):2229-32.
31. Kaleli I, Cevahir N, Demir M, Yildirim U. et al. Anticandidal activity of *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from clinical specimens. *Mycoses*. 2007; 50:74-8.

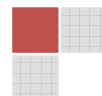


7. Conclusões



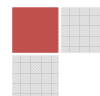
CONCLUSÕES

- A espécie *Candida albicans* foi o principal agente de onicomicose na população estudada, sendo identificada principalmente nas formas clínicas: superficial distal e lateral e distrófica. Alguns pacientes apresentaram infecção por duas espécies distintas de *Candida*, e em um deles foi observada co-resistência a azólicos.
- Fungos filamentosos não-dermatófitos foram mais observados que os dermatófitos. Algumas espécies de FFND raramente encontradas como agente de micose foram observadas neste estudo, *Phialophora reptans* e *Cylindrocarpum aquaspersum*.
- A infecção mista de *Candida albicans* com *Pseudomonas aeruginosa* possibilitou o desenvolvimento atenuado das colônias de leveduras em meio Sabourand com cloranfenicol.
- Os hálux e os polegares foram os principais dedos acometidos por onicomicose.
- A onicomicose subungueal proximal foi observada em poucos casos. A forma clínica predominante nas unhas dos pés foi a onicomicose subungueal distal e lateral, e nas unhas das mãos a onicomicose distrófica. Sendo que os agentes apresentaram variações quanto aos aspectos clínicos observados. Observamos associação de dois tipos de onicomicose em um único paciente.
- Os pacientes com lesões ungueais apresentaram níveis de CD4 no intervalo de 16 a 1158 células/ μ l, com detecção de maior prevalência entre 351 a 500



células/ μ l. Não foi detectada diferença estatística da presença de onicomicose com a diminuição da contagem de CD4.

- Houve predominância de onicomicose no sexo feminino. A idade média dos pacientes afetados foi de 40,7 anos. O tempo médio entre o aparecimento dos sintomas e o diagnóstico micológico foi de 6 a 12 meses. Micoses não-ungueais representaram importante fator predisponente ao desenvolvimento da infecção.
- Muitos pacientes informaram já haver utilizado antifúngico sistêmico ou tópico para tratamento de onicomicose ou de outras dermatoses, sendo que todos apresentaram recorrência da lesão. Mesmo pacientes em uso de antiretroviral ou que fizeram uso de antifúngicos foram acometidos por onicomicose.
- Percentual importante de espécies de *Candida* foi resistente a fluconazol e itraconazol, sendo que as espécies não-*albicans* se mostraram menos susceptíveis aos azólicos. Dos antifúngicos testados, as leveduras isoladas apresentaram menor susceptibilidade ao fluconazol, o que poderia ser explicado pelo uso prévio desta medicação.
- Apesar de todas as suspeitas de onicomicose terem sido confirmadas em exame direto e/ou cultura micológica, observamos que os diversos agentes podem provocar diferentes aspectos clínicos. Desta forma, apenas o exame micológico possibilita o direcionamento do tratamento.



8. Referências Bibliográficas

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

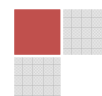
1. ALVES, S.H.; MILAN, E.P.; DE LAET SANTANA, P. et al. Hypertonic sabouraud broth as a simple and powerful test for *Candida dubliniensis* screening. **Diagn Microbiol Infect Dis**, v. 43, n. 1, p. 85-6, 2002.
2. ALY, R.; BERGER, T. Common superficial fungal infections in patients with AIDS. **Clin Infect Dis**, v. 22 (Suppl. 2), p. 128-132, 1996.
3. ANANE, S.; CHTOUROU, O.; CHEDI, A. et al. Onychomycosis in the elderly. **Ann Dermatol Venereol**, v.134, n. 10, p. 743-7, 2007.
4. ARAÚJO, A.J.G.; SOUZA, M.A.J.; BASTOS, O.M.P. et al. Onicomicoses por fungos emergentes: análise clínica, diagnóstico laboratorial e revisão. **An Bras Dermatol**, v. 78, n. 4, p. 445-455, 2003a.
5. ARAÚJO, A.J.G.; BASTOS, O.M.P.; SOUZA, M.A.J. et al. Ocorrência de onicomicose em pacientes atendidos em consultórios dermatológicos da cidade do Rio de Janeiro, Brasil. **An Bras Dermatol**, v. 78, n. 3, p. 299-308, 2003b.
6. ARENAS, R.; ARISTIMUÑO, M.; ABIEGA, C. et al. La infección por el virus de la inmunodeficiencia humana y onicomicosis. **Dermatol Venez**, v. 37, n. 1, p. 28-9, 1999.
7. ARRESE, J.E.; VALVERDE, J.C.; PIERARD, G.E. Un nuevo enfoque sobre la epidemiología de las onicomicosis. **Rev Iberoam Micol**, v. 22, p.163-166, 2005.
8. ARRESE, J.E.; PIÉARD-FRANCHIMONT, C.; PIÉARD, G.E. Fatal hyalohyphomycosis following *Fusarium* onychomycosis in an immunocompromised patient. **Am J Dermatopathol**, v. 18, p. 1296-1298, 1996.
9. BALLESTÉ, R.; MOUSQUÉS, N.; GEZUELE, E. Onicomicosis. Revisión del tema. **Rev Med Uruguay**, v. 19, p. 93-106, 2003.
10. BARAN, R.; BERKER, D.; DAWBER, R. **Doenças da unha: tratamento clínico e cirúrgico**. Rio de Janeiro: Revinter, 2000, 92 p.
11. BARAN, R.; MCLOONE, N.; HAY, R.J. Could proximal white subungual onychomycosis be a complication of systemic spread? The lessons to be learned from *Maladie Dermatophytique* and other deep infections. **Br J Dermatol**, v. 153, n. 5, p. 1023-5, 2005.
12. BARBER, K.; CLAVEAU, J.; THOMAS, R. Review of treatment for onychomycosis: consideration for special populations. **J Cutan Med Surg**, v. 10, p. 48-53, 2006.



13. BRILHANTE, R.S.N.; CORDEIRO, R.A.; MEDRANO, D.J.A. et al. Onychomycosis in Ceará (Northeast Brazil): epidemiological and laboratory aspects. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, v. 100, n. 2, p. 131-135, 2005.
14. COLOMBO, A.L.; NUCCI, M.; SALOMAO, R. et al. High rate of non-albicans candidemia in Brazilian tertiary care hospitals. **Diagn Microbiol Infect Dis**, v. 34, p. 281-86, 1999.
15. CRIBIER, B.; MENA, M.L.; REY, D. et al. Nail changes in patients infected with human immunodeficiency virus. A prospective controlled study. **Arc Dermatol**, v.134, p. 1216–1220, 1998.
16. DAHDAH, M.J.; SCHER, R.K. Onychomycosis – An Overview. **US Dermatology review (Reference Section)**, 2006.
17. DANIEL, C.R.I; GUPTA, A.K; DANIEL, M.P. et al. *Candida* infection of the nail: role of *Candida* as a primary or secondary pathogen. **Dermatol**, v. 37, p. 904-907, 1998.
18. DE HOOG, G.S.; GUARRO, J.; GENE, J. et al. **Atlas of clinical fungi**. 2a. ed. The Netherlands-Spain: CBS/Universitat Rovira I Virgili, 2000, 1126 p.
19. DIGNANI, M.C.; ANAISSIE, E. Human fusariosis. **Clin Microbiol Infect**, v. 10, Suppl 1, p. 67-75, 2004.
20. DOMPMARTIN, D.; DOMPMARTIN, A.; DELUOL, A.M. et al. Onychomycosis and AIDS: clinical and laboratory findings in 62 patients. **Int J Dermatol**, v. 29, p. 337–339, 1990.
21. ELEWSKI, B.E. Onychomycosis: pathogenesis, diagnosis and management. **Clin Microbiol Rev**, v. 11, n. 3, p. 415-29, 1998.
22. ELMETS, C.A. Management of common superficial fungal infections in patients with AIDS. **J Am Acad Dermatol**, v. 31 p. 60-63, 1994.
23. ESCOBAR, M.L.; CARMONA-FONSECA, J. Onicomicosis por hongos ambientales no dermatofíticos. **Rev Iberoam Micol**, v. 20, p. 6-10, 2003.
24. EVANS, E.G. Resistance of *Candida* species to antifungal agents used in the treatment of onychomycosis: a review of current problems. **Br J Dermatol**, v. 141 Suppl 56, p. 33-5, 1999.
25. FAERGEMANN. J.; BARAN, R. Epidemiology, clinical presentation and diagnosis of onychomycosis. **Br J Dermatol**, v. 65, p. 1–4, 2003.
26. FEITAL, T.; FISCHMAN, O.; ALCHORNE, M. et al. Onicomicoses em pacientes portadores do vírus da AIDS. **An Bras Dermatol**, v. 66, n. 3, p. 113-6, 1991.



27. FIGUEIREDO, J.F.C.; MACHADO, A.A. Emergências em adultos portadores de síndrome de imunodeficiência adquirida. **Medicina, Ribeirão Preto**, v. 36, p. 357-364, abr. /dez. 2003.
28. GALHARDO, M.C.; WANKE, B.; REIS, R.S. et al. Disseminated dermatophytosis caused by *Microsporum gypseum* in an AIDS patient: response to terbinafine and amorolfine. **Mycoses**, v. 47, n. 5-6, p. 238-41, 2004.
29. GARCÍA-RUIZ, J.C.; AMUTIO, E.; PONTÓN, J. Infección fúngica invasora em pacientes inmunodeficientes. **Rev Iberoam Micol**, v. 21, p. 55-62, 2004.
30. GHANNOUM, M.A.; HAJJEH, R.A.; SCHER, R. et al. A large-scale North American study of fungal isolates from nails: the frequency of onychomycosis, fungal distribution, and antifungal susceptibility patterns. **J Am Acad Dermatol**, v. 43, p.641-648, 2000.
31. GODOY, P.; COLOMBO, A.L. Biologia e relevância clínica das espécies do gênero *Fusarium* spp. **Prática hospitalar**, São Paulo, Ano VI, n. 34, 2004.
32. GOODMAN, D.S.; TEPLITZ, D.E.; WISHNER, A. et al. Prevalence of cutaneous diase in patients with acquired immunodeficiency syndrome (AIDS) or AIDS-related complex. **J Am Acad Dermatol**, v. 17, p. 210-20, 1987.
33. GREGORY, N. Special patient populations: Onychomycosis in the HIV-positive patient. **J Am Acad Dermatol**. v. 35, p. 13–16, 1996.
34. GUARRO, J.; NUCCI, M.; AKITI, T. et al. Mixed Infection Caused by Two Species of *Fusarium* in a Human Immunodeficiency Virus-Positive Patient. **J Clin Microbiol**, v. 38, n. 9, p. 3460–3462, 2000.
35. GUGNANI, H.C.; VIJAYAN, V.K.; TYAGE, P. et al. Onychomycosis Due to *Emericella quadrilineata*. **J Clin Microbiol**, v. 42, n. 2, p. 914–916, 2004.
36. GUPTA A. K.; TABORDA, P.; TABORDA, V. et al. Epidemiology and prevalence of onychomycosis in HIV-positive individuals. **Int J Dermatol**, v. 39, p. 746-753, 2000.
37. GUPTA, A.K. et al. Prevalence and epidemiology of toenail onychomycosis in diabetic subjects: a multicentre survey. **Brit J Dermatol**, v. 139, n. 4, p. 665-671, 1998.
38. GUPTA, A.K.; LAMBERT, J. Pharmoeconomic analysis of the new antifungal agents used to treat toenail onychomycosis in the USA. **Inter J Dermatol**, v. 38, n. 2, p. 53-64, 1999.
39. GUPTA, A.K.; RYDER, J.E.; BARAN, R. et al. Non-dermatophyte onychomycosis. **Dermatol Clin**, v. 21, n. 2, p. 257-68, 2003.
40. HANEKE, E. Fungal infections of the nail. **Sem Dermatol**, v. 10, p. 41-53, 1991.



41. HATTORI, N.; SHIRAI, A.; SUGIURA, Y. et al. Onychomycosis caused by *Fusarium proliferatum*. **Br J Dermatol**, v. 153, n. 3, p. 647-9, 2005.
42. HERRANZ, P.; GARCIA, R.; DE LUCAS, R. et al. Toenail onychomycosis in patients with acquired immune deficiency syndrome: treatment with terbinafine. **Brit J Dermatol**, v. 137, p. 577-580, 1997.
43. JESUDANAM, T.M.; RAO, G.R.; LAKSHMI, D.J. et al. Onychomycosis: A significant medical problem. **Indian J Dermatol Venereol Leprol**, v. 68, p. 326-329, 2002.
44. JOISH, V.N.; ARMSTRONG, E.P.; Newer drugs and overall costs of treating onychomycosis. **Rev Iberoam Micol**, v. 19, n. 3, p. 130-132, 2000.
45. JOSEPH, W.S. Adult cases of onychomycosis. **Advan Stud Med**, v. 5, p. S614-S619, 2005.
46. KENNA, M.E.; ELEWSKI, B.E. A US epidemiological survey of superficial fungal diseases. **J Am Acad Dermatol**, v. 35, p. 539-542, 1996.
47. KIOSHIMA, F. et al. Onicomicoses: do diagnóstico ao tratamento. **Arq Cienc Saúde Unipar**, v. 6, n. 2, p. 159-163, 2002.
48. KONEMANN, A.; DOWELL, S.; SOMMERS, J. R. **Diagnóstico Microbiológico – texto e Atlas colorido**, 5ª edição, Editora MEDSI; São Paulo, 2001.
49. KUSMARINAH, B.; UNANDAR, B. Epidemiology of Onychomycosis in Indonesia: Data Obtained from Three Individual Studies. **Jpn J Med Mycol**, v. 46, n. 3, p. 171-176, 2005.
50. KURTZMAN, C.P.; FELL, J.W. **The yeast's: a taxonomic study**, 4ª edição Elsevier, New York, p. 919-925, 1998.
51. KWON, K.S.; JANG, H.S.; SON, H.S. et al. Widespread and invasive *Trichophyton rubrum* infection mimicking Kaposi's sarcoma in a patient with AIDS. **J Dermatol**, v. 31, n. 10, p. 839-43, 2004.
52. LACAZ, C.S. et al. **Tratado de micologia médica**. 9ª ed. São Paulo: Sarvier; 2002- 1104 p.
53. LARONE, D.H. **Medical important fungi: a guide to identification**. 2a ed. New York: American Society for Microbiology, 1987. 230 p.
54. LEVY, L.A. Epidemiology of onychomycosis in special - risk populations. **J Am Podiatr Med Assoc**, v. 87, n. 12, p. 546-50, 1997.
55. LOPES, J.O.; ALVES, S.H.; MARI, C.R. et al. A ten-year survey of onychomycosis in the central region of the Rio Grande do Sul, Brazil. **Rev Inst Med Trop**, v. 41, p.147-149, 1999.



56. LÓPEZ-JODRA, O.; TORRES-RODRIGUEZ, J. M. Espécies fúngicas poco comunes responsables de onicomicosis. **Rev Iberoamer Micol**, v. 16, n. 1, p. 11-15, 1999.
57. LOVELAND, L.J. Onychomycosis in HIV-positive patients. **Clin Podiatr Med Surg**, v. 15, p. 305-15, 1998.
58. LUBECK, D.P. Measuring health-related quality of life in onychomycosis. **J Am Acad Dermatol**, v. 38, n. 5, p. 64-689, 1998.
59. LUBECK, D.P.; PATRICK, D.L.; MCNULTY, P. et al. Quality of life of persons with onychomycosis. **Qual Life Res**, v. 2, n. 5, p.341-8, 1993.
60. LUQUE, A.G. Estudio micológico de 100 casos de lesiones ungueales de la ciudad de Rosário. República Argentina. **Rev Iberoam Micol**, v. 14, p. 164-167, 1997.
61. MARTELOZO, I.C.; GUILHERMETTI, E.; SVIDZINSKI, T.I.E. Ocorrência de onicomicose em Maringá, Estado do Paraná, Brasil. **Acta Sci Health Sci**, v.27, n.2, p. 177-182, 2005.
62. MARTINS, J.E.C.; MELO, N.T.; HEINS-VACCARI, E.M., **Atlas de micologia médica**, Barueri, SP: Manole, 2005, 170p.
63. MERCANTINI, N.; MARSELLA, R.; MORRETTO, D. Onychomycosis in Rome, Italy. **Micopathology**, v. 136, p. 25-32, 1996.
64. MICHELIM, L.; ATTI, J.L.; PANAROTTOB, D. et al. Dermatoses em pacientes infectados pelo HIV com a contagem de linfócitos CD4. **Ver Saúde Pública**, v. 38, n. 6, p. 758-763, 2004.
65. MIDGLEY, G.; MOORE, M.K. Onychomycosis. **Rev Iberoam Micol**, v. 15, p. 113-117, 1998.
66. MIDGLEY, G.; MOORE, M.K.; COOK, J.C. et al. Mycology of nail disorders. **J Am Acad Dermatol**, v. 31, p. 68-74, 1994.
67. MINAMI, P.S. **Micologia: métodos laboratoriais de diagnóstico das micoses**. Barueri, Manole, 2003, 199p.
68. MOHANTY, S.; XESS, I.; HASAN, F. et al. Prevalence & susceptibility to fluconazole of *Candida* species causing vulvovaginitis. **Indian J Med Res.**, v. 126, p. 216-9, 2007.
69. MURRAY, S.C., DAWBER, R.P. Onychomycosis of toenails: orthopaedic and podiatric considerations. **Australas J Dermatol**, v. 43, p.105-12, 2002.
70. NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS/ CLINICAL LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts.



- M27-A. **National Committee for Clinical Laboratory Standards**, Wayne, Pa, 1997.
71. NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS/ CLINICAL LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts. M27-A2. **National Committee for Clinical Laboratory Standards**, Wayne, Pa., 2002.
 72. NIEWERT, M.; KORTING, H.C. Management of onychomycosis. **Drugs**, v. 58, p. 283-96, 1999.
 73. NUCCI, M.; COLOMBO, A.L. Emergence of resistant *Candida* in neutropenic patients. **Brazil J Infect Dis**, v. 6, n. 3, p. 124-28, 2002.
 74. PALACIO, H.; SHIBOSKI, C.H.; YELIN, E.H. et al. Access to and utilization of primary care services among HIV-infected women. **J Acquir Immune Defic Syndr**, v. 21, n. 4, p. 293-300, 1999.
 75. PENA-PENABAD, C.; GARCIA-SILVA, J.; ALMAGRO, M. et al. Superficial white onychomycosis in a 3-year-old human immunodeficiency virus-infected child. **J Eur Acad Dermatol Venereol**, v. 15, n. 1, p. 51-3, 2001.
 76. PFALLER, M. A.; DIEKEMA, D. J.; RINALDI, M. G. et al. Results from the ARTEMID DISK global antigungal surveillance study: a 6, 5 – year analysis of susceptibilities of *Candida* and other yeast species to fluconazole and voriconazole by standardized disk diffusion testing. **J Clin Microbiol**, v.43, p. 5848-5859, 2005.
 77. PHILPOT, C.M.; SHUTTLEWORTH, D. Dermatophytes onychomycosis in children. **Clin Exp Dermatol**, v. 14, p. 203-205, 1989.
 78. PONTES, Z.B.; LIMA, O.; OLIVEIRA, N.M. et al. Onychomycosis in João Pessoa city, Brazil. **Rev Argent Microbiol**, v. 34, p. 95-99, 2002.
 79. PORRAS, B.; COSTNER, M.; FRIEDMAN-KIEN, A. E. et al. Update on cutaneous manifestations of HIV infection. **Med Clin North Am**, v. 82, p. 033-80, 1998.
 80. RAJU, P.V.K.; RAGHURAMA RAO, G.; RAMANI, T.V. et al. Skin disease: clinical indicator of immune status in human immunodeficiency virus (HIV) infection. **International Journal of Dermatology**, v. 44, p. 646–649, 2005.
 81. RAMANI, R.; V. CHATURVEDI. Flow cytometry antifungal susceptibility testing of pathogenic yeasts other than *Candida albicans* and comparison with the NCCLS brothe microdilution test. **Antimicrob Agents Chemother**, v. 44, p. 2752-2758, 2000.
 82. RAMOS-E-SILVA, M. Onicomicoses - diagnóstico diferencial. **Dermatol Atual**, v. 6, n. 1, p. 27-34, 2000.



83. REGO, R.S.M.; MAGALHÃES, K.; MONTENEGRO, F. Onicomicose por fungos não dermatófitos: onicopatia em ascensão. **In: 40º Congresso da SBPC/ML**, Curitiba, 2006.
84. ROBERTS, D. T.; EVANS, E. G. Subungueal dermatophytoma complicating dermatophyte onychomycosis. **Br J Dermatol**, v. 138, p. 189-90, 1998.
85. ROBERTS, D.T.; EVANS, E.G.V.; ALLEN, R. Fungal nail disease. **London, England: Gower Medical Publishing**, p. 86, 1990.
86. RODRIGUES, A. G.; PINA-VAZ, C.; COSTA-DE-OLIVEIRA, S. et al. Expression of plasma coagulase among pathogenic *Candida species*. **J Clin. Microbiol.**, v. 41, n. 12, p. 5792-5793, 2003.
87. ROGERS, T.R. Antifungal drug resistance: limited data, dramatic impact?. **Inter J Antim Agents**, v. 27S, p. S7-S11, 2006.
88. RUGELES, M.J.; VASQUÉS, J.L.; JARAMILO, E. et al. Etiología y características clínicas de la onicomicosis en um grupo de pacientes inmunosuprimidos. **Infectio**, v.5, p. 7-13, 2001.
89. SALIM, R.; RUNCO, R. Onicomicosis en pacientes con infección por VIH (Tucumán, Argentina). **Bol Micol**, v. 17, p. 89-94, 2002.
90. SCHLEFMAN, B. S. Onychomycosis: a compendium of facts and a clinical experience. **J Foot Ankle Surg**, v. 38, p. 290-302, 1999.
91. SCHER, R.K. New dimensions for medical mycology in the 21st century. **Nippon Ishinkin Gakkai Zasshi**, v. 44, n. 1, p.1, 2003.
92. SCHER, R.K. Onychomycosis is more than a cosmetic problem. **Br J Dermatol**, v. 130, p. S43-S15, 1994.
93. SCHER, R.K.; BARAN, R. Onychomycosis in clinical practice: factors contributing to recurrence. **Br J Dermatol**, v. 149, Suppl 65:5-9, 2003.
94. SENET, J. M. Risk factors and physiopathology of candidíases. **Rev Iberoam Micol**, v. 14, p. 6-13, 1997.
95. SIDRIM, J. J. C.; ROCHA, M. F. G. **Micologia médica à luz de autores contemporâneos**, Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004, 388p.
96. SIGURGEIRSSON, B.; STEINGRIMSSON, O. Risk factors associated with onychomycosis. **J Eur Acad Dermatol Venereol**, v. 18. n. 1, p. 48-51, 2004.
97. SILVEIRA, N.S.S.; SILVA, A.C.N.A; REGO, R.S.M et al. Diagnóstico micológico em hemoculturas de pacientes pediátricos com câncer. **In: IV Congresso Brasileiro de Micologia**, Ouro Preto, MG, outubro, 2004.



98. SURJUSHE, A.; KAMATH, R.; OBERAI, C. et al. A clinical and mycological study of onychomycosis in HIV infection. **Indian J Dermatol Venereol Leprol**, v. 73, p.397-401, 2007.
99. TAGLIALEGNA, T. Técnica da janela – Método de coleta de material subungueal por via transungueal. **In: IV Congresso Brasileiro de Micologia**, Ouro Preto, MG, outubro, 2004.
100. TINTELNOT, K.; HAASE, G.; SEIBOLD, M. et al. Evaluation of phenotypic markers for selection and identification of *Candida dubliniensis*. **J Clin Microbiol**, v. 38, n. 4, p. 1599-608, 2000.
101. TORRES-RODRÍGUEZ, J.M. Actualización del diagnóstico micológico de las dermatomicosis. **Rev Iberoam Micol**, v.3, n.1, p. 9-17, 1986.
102. TORRES-RODRIGUEZ, J.M.; SELLART-ALTISENT, M. Celulitis y onicomicosis proximal de ambos ortijos mayores producida por *Fusarium solani*. **Rev Iberoam Micol**, v. 23, p. 241-244, 2006.
103. TOSTI, A.; HAY, R.; ARENAS-GUZMAN, R. Patients at risk of onychomycosis risk factor identification and active prevention. **J Eur Acad Dermatol Venereol**, v. 19, Suppl 1, p. 13-6, 2005.
104. TOSTI, A.; PIRACCINI, B.M.; LORENZI, S. Onychomycosis caused by nondermatophytic molds: clinical features and response to treatment of 59 cases. **J Am Acad Dermatol**, v. 42, p. 217-24, 2000.
105. TOSTI, A.; PIRACCINI, B.M.; LORENZI, S. et al. *Candida* onychomycosis in HIV infection. **Eur J Dermatol**, v. 8, n. 3, 173-4, 1998.
106. TUCHINDA, P.; BOONCHAI, W.; PRUKPAISARN, P. et al. Prevalence of onychomycosis in patients with autoimmune diseases. **J Med Assoc Thai**, v. 89, n. 8, p. 249-52, 2006.
107. VALE-SILVA, L.A.; BUCHTA, V. Antifungal susceptibility testing by flow cytometry: is it the future? **Mycoses**, v. 49, p. 261–273, 2006.
108. VÉLEZ, A.; LINARES, M. J.; FENÁNDEZ-ROLDÁN, J. C. et al. Study of onychomycosis in Cordoba, Spain: prevailing fungi and pattern of infection. **Mycopathologia**, v. 137, n. 1, p. 1-8, 1997.
109. VENDER, R.B.; LYNDE, C.W.; POULIN, Y. Prevalence and Epidemiology of onychomycosis. **J Cutan Med Surg**, v.10, p.28-33, 2006
110. VENKATESAN, P.; PERFECT, J.R.; MYERS, S. Evaluation and management of Fungal infections in Immunocompromised patients. **Dermatologic Therapy**, v. 18, p. 44–57, 2005.
111. VITRAL, E.A.; BARBOSA, M.C.B; DE-CARVALHO, M.T.F. et al. Onicomicose branca subungueal e Aids. **An Bras Dermatol**, v. 70, n. 2, p. 143-145, 1995.



112. ZARDO, V.; MEZZARI, A. Os antifúngicos nas infecções por *Candida* sp. **NewsLab**, ed. 63, p. 136-146, 2004.



9. Anexos



9.1 Documento do Comitê de ética



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
Comitê de Ética em Pesquisa

Of. N.º 287/2006-CEP/CCS

Recife, 21 de dezembro de 2006

Registro do SISNEP FR – 115441

CAAE – 0291.0.172.000-06

Registro CEP/CCS/UFPE Nº 282/06

Título: **"Aspectos Clínicos e laboratoriais das oncomicoses em pacientes HIV-Positivos, com referência à susceptibilidade da candida spp a antifúngicos"**

Pesquisador Responsável: Kedma de Magalhães Lima

Senhora Pesquisadora:

Informamos que o Comitê de Ética em Pesquisa envolvendo seres humanos do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco (CEP/CCS/UFPE) registrou e analisou, de acordo com a Resolução N.º 196/96 do Conselho Nacional de Saúde, o protocolo de pesquisa em epígrafe, aprovando-o e liberando-o para início da coleta de dados em 21 de dezembro de 2006.

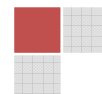
Ressaltamos que o pesquisador responsável deverá apresentar relatório anual da pesquisa.

Atenciosamente,


Prof. Geraldo Bosco Lindoso Couto
Coordenador do CEP/CCS / UFPE

A

Mestranda Kedma de Magalhães Lima
Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical – CCS/UFPE



9.2 Formulário do paciente

INSTRUMENTO DA PESQUISA: Aspectos clínicos e laboratoriais das onicomicoses em pacientes HIV - positivos, com referência à susceptibilidade da *Candida spp* a antifúngicos.

FORMULÁRIO PARA COLETA MICOLÓGICA

1. DADOS DO PACIENTE

Nome: _____ Procedência: a) Rural b) Urbana
Idade: _____ Sexo: a) M b) F
Profissão: _____ Telefone p/contato: _____

2. HISTÓRICO DA DOENÇA BASE

Tempo da doença: _____
CD4/CD8: _____
Uso de HAART: a) sim b) não
Patologias relacionadas: _____

3. CARACTERÍSTICAS DAS LESÕES UNGUEAIS

Localização: a) mãos b) pés c) ambas **Quant. Unhas afetadas:** _____

Início onicopatia: _____

Características:

- a) OSDL
- b) OBS
- c) OSP
- d) ODT
- e) ODP

Cor: 0 Amarelada 0 Esbranquiçada 0 Escurecida 0 Esverdeada 0 Negra

Dermatofitoma: a) sim b) não **Paroníquia:** a) sim b) não

Fatores predisponentes: 0 esportista 0 infecções micóticas não-ungueais mãos
0 infecções micóticas não-ungueais pés 0 trabalho de jardinagem 0 familiares c/
micoses superficiais 0 animais de estimação 0 outros (qual? _____)

4. USO DE ANTIFÚNGICOS

Sistêmico: a) sim b) não

Tópico: a) sim b) não

Tempo de uso do antifúngico: _____

Tipos de antifúngicos utilizados: _____

5. PESQUISA MICOLÓGICA:

Exame direto: _____

Cultura: _____

Microcultivo: _____

Sensibilidade a antifúngicos: _____

6. OBSERVAÇÕES

LIMA, KM.



9.3 Instruções aos autores da Revista de Patologia Tropical



REVISTA DE PATOLOGIA TROPICAL

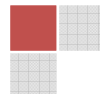
Normas para publicação

- A Revista de Patologia Tropical se propõe a difundir o conhecimento no campo das doenças transmissíveis, seus agentes e vetores nos seres vivos e suas consequências na saúde pública. Para tal, aceita originais de artigos, revisões, resenhas, comunicações, relatos de casos, tanto na área humana como animal, sobre temas de interesse da Patologia Tropical e Saúde Pública, em português, espanhol e inglês.
- O encaminhamento do manuscrito deverá ser acompanhado de carta assinada por todos os autores, reafirmando que o material não foi publicado nem está sendo submetido a outro periódico. As pesquisas que envolvam seres humanos ou animais requerem uma prévia aprovação do Comitê de Ética correspondente.
- Os trabalhos são submetidos aos consultores e só são publicados caso recebam parecer favorável. As opiniões emitidas são de inteira responsabilidade do autor, não refletindo a opinião do Conselho Editorial.
- Os textos devem ser apresentados em disquete (programa Microsoft Word 8.0 ou conversíveis, assim como tabelas, legendas e equações no menu do programa) e em duas cópias impressas, espaço duplo, em uma só face do papel.
- Os artigos devem apresentar, sempre que possível, a seguinte estrutura:
 - a. título
 - b. autor(es)
 - c. endereço para correspondência
 - d. filiação científica (Departamento, Instituto, Faculdade, Universidade);
 - e. órgão financiador (se houver)
 - f. resumo (com, no máximo, 200 palavras)
 - g. descritores (no mínimo, três)
 - h. introdução
 - i. material e métodos
 - j. resultados
 - k. discussão
 - l. abstract e keywords
 - m. agradecimentos
 - n. referências.
- As referências devem ser apresentadas em ordem alfabética, com entrada pelo último sobrenome do(s) autor(es). Quando houver mais de um trabalho do mesmo autor citado, deve-se seguir a ordem cronológica das publicações.
- Exemplos de referências:
 - a. artigo: Wilson M, Bryan RT, Fried JA, Ware DA, Schantz PM, Pilcher JB, Tsang VCW. Clinical evaluation of the cysticercosis enzyme-linked immunoelectrotransfer blot in patients with neurocysticercosis. J Infect Dis 164:1007-1009, 1991.



- b. tese: Spadeto AL. Eficácia do Benzonidazol no tratamento de crianças com infecção crônica recente pelo *Trypanosoma cruzi* após 6 anos de seguimento: Ensaio clínico aleatório, duplo-cego, placebo controlado. Goiânia [Tese de Mestrado em Medicina Tropical - IPTSP/UFG], 1999.
- c. livro: Smith PG, Morrow RH. Ensayos de Campo de Intervenciones en Salud en Países en Desarrollo: Una Caja de Herramientas. OPAS. Washington, 1998.
- As chamadas numéricas devem corresponder ao número estabelecido nas referências bibliográficas. Notas de rodapé devem ser evitadas.
- Das comunicações científicas não se exige a estrutura comum aos artigos.
- As ilustrações devem apresentar a qualidade necessária para permitir uma boa reprodução gráfica, trazendo no verso o nome do autor, o número e a legenda respectiva. Devem estar designadas como figura (Figura 1, Figura 2 ...) no texto. As tabelas devem ser executadas no mesmo programa usado na elaboração do texto.
- Em caso de inserção de fotografias coloridas, as despesas decorrentes do processo de separação de cores caberão aos autores do trabalho.
- Os autores terão direito a cinco separatas de seus trabalhos. Maior número poderá ser solicitado às expensas dos autores, através de contato com o Editor.
- Os trabalhos deverão ser enviados para:

Revista de Patologia Tropical
Caixa Postal 131
74001-970 – Goiânia – Goiás – Brasil
ou pelo E-mail: revista@iptsp.ufg.br



9.4 Instruções aos autores do Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial



INSTRUÇÕES AOS AUTORES

ISSN 1676-2444 *versão impressa*
ISSN 1678-4774 *versão online*

- [Análise dos trabalhos](#)
- [Direitos autorais](#)
- [Ética](#)
- [Como preparar um trabalho antes de enviá-lo aos Editores](#)
- [Endereço para envio dos originais](#)

O **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, continuação do Jornal Brasileiro de Patologia, de periodicidade bimestral (fevereiro, abril, junho, agosto, outubro e dezembro), destina-se à publicação de trabalhos científicos que contribuam para a divulgação do conhecimento e para o desenvolvimento da área de Medicina Laboratorial (Patologia Clínica, Patologia, Citopatologia) e aceita artigos escritos em português, inglês ou espanhol, das seguintes categorias: artigos originais, relatos de casos, comunicações breves, cartas aos editores e resenhas. Profissionais de competência reconhecida serão convidados pelo Conselho Editorial a escrever artigos de revisão e de atualização.

Análise dos trabalhos

O manuscrito recebido para publicação será enviado para um ou mais avaliadores, pares científicos, de renome e conhecimento específico que contemple o assunto abordado no artigo. Após resposta do avaliador, o Editor do JBPML entrará em contato com os autores comunicando a eventual rejeição ou os passos a serem tomados para a publicação definitiva do manuscrito.

Direitos autorais

Solicita-se aos autores enviar, junto com a carta aos Editores, um termo de responsabilidade. Desta forma, os trabalhos, quando submetidos à publicação, deverão ser acompanhados de documento de transferência de direitos autorais, contendo a assinatura de cada um dos autores, cujo modelo é apresentado a seguir:

“Eu/Nós..., autores do trabalho intitulado..., o qual

LIMA, KM.



submeto(emos) à apreciação do ***Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial***, concordo(amos) que os direitos autorais a ele referentes se tornarão propriedade exclusiva da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial, vedada qualquer reprodução total ou parcial, em qualquer outra parte ou meio de divulgação impresso sem que a prévia e necessária autorização seja solicitada e obtida.

Declaro(amos) também que o artigo é original em sua forma e conteúdo, não tendo sido publicado em outro periódico científico, completo ou em parte, e certifico(amos) que não se encontra sob análise em qualquer outro veículo de comunicação científica.

Atesto(amos) que o(s) autor(es) participou(aram) efetivamente da concepção e realização do artigo em questão e dos experimentos que resultaram nessa comunicação.

De igual forma, declaro(amos) estar comprometido(s) com a análise dos dados e com a redação do manuscrito.

De forma inequívoca, não tenho(mos) nenhum conflito de interesse com o tema abordado nem com os produtos citados.

Data:.. Assinatura:..”

Ética

Estudos realizados com seres humanos, incluindo-se órgãos e/ou tecidos isoladamente, bem como prontuários clínicos ou resultados de exames clínicos, deverão estar de acordo com a Resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde (<http://www.bioetica.ufrgs.br/res19696.htm>). O trabalho a ser publicado deverá ser acompanhado de consentimento, por escrito, do paciente e de cópia da aprovação (certificado) do Comitê de Ética da Instituição onde foi realizada a pesquisa, em consonância com a Declaração de Helsinki, 1989 (<http://www.bioetica.ufrgs.br/helsin4.htm>).

Nos trabalhos experimentais envolvendo animais, devem ser respeitados os princípios éticos de experimentação animal do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) (<http://www.cobea.org.br/etica.htm#10>) e as normas estabelecidas no Guide for Care and Use of Laboratory Animals (Institute of Laboratory Animal Resources, Commission on Life Sciences, National Research Council, Washington, D.C., 1996)



(<http://oacu.od.nih.gov/regs/guide/guidex.htm>).

É essencial que as drogas e substâncias químicas usadas sejam identificadas com precisão. Não devem ser utilizados nomes ou iniciais do paciente no material ilustrativo, assim como é vetado informar nomes comerciais, de empresas e/ou registros de hospitais.

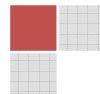
Como preparar um trabalho antes de enviá-lo aos Editores

Deverão ser enviadas três cópias impressas dos trabalhos, bem como uma cópia em disquete 3 1/2, contendo o arquivo do texto em Word for Windows 6.0 ou posterior. As ilustrações e tabelas devem ser preparadas em programa processador de gráficos.

Devem constar na primeira página: 1) título do artigo: deve ser conciso e completo, descrevendo o assunto a que se refere. Palavras supérfluas devem ser omitidas. Apresentar a versão do título para o inglês; 2) nome completo do(s) autor(es); 3) titulação acadêmica e indicação da instituição a que cada autor está filiado, acompanhada do respectivo endereço; 4) nome do departamento e/ou instituição no qual o trabalho foi realizado; 5) indicação do autor responsável pela correspondência; 6) se foi subvencionado, indicar o nome da agência de fomento que concedeu o auxílio; 7) se foi baseado em tese, indicar título, ano e instituição onde foi apresentada; 8) se foi apresentado em reunião científica, indicar nome, local e data de realização do evento.

Resumos e unitermos

Devem constar na segunda página dois resumos: um em português (Resumo) e outro em inglês (Abstract). Os resumos devem identificar os objetivos, os procedimentos e as conclusões do trabalho (máximo de 150 palavras para resumos não-estruturados e de 250 para resumos estruturados). Os resumos estruturados, a serem apresentados pelos artigos originais e de revisão, devem incluir as informações do conteúdo dos artigos, com a indicação dos cabeçalhos, que constituem a divisão formal do artigo. Os unitermos, palavras que representam o assunto



tratado no trabalho, devem ser em número de três a seis, fornecidos pelo autor, utilizando-se o vocabulário controlado Decs – Descritores em Ciências da Saúde (Bireme), acrescidos de outros termos, quando necessário. Devem ser apresentados em português e inglês.

O endereço para correspondência do autor responsável deve vir no final do artigo.

Agradecimentos

Devem ser breves, diretos e dirigidos apenas à pessoa ou às instituições que contribuíram substancialmente para a elaboração do trabalho. Virão antes das referências bibliográficas.

Estrutura do texto

Artigos originais

São contribuições destinadas a divulgar resultados de pesquisa original inédita que possam ser replicados ou generalizados. Os artigos podem conter até 4 mil palavras. A sua estrutura formal deve seguir o esquema de apresentação do texto para esse tipo de artigo: Introdução, Objetivos, Material e método, Resultados, Discussão e Conclusões. O uso de subtítulos é recomendado particularmente na Discussão do artigo. Implicações clínicas e limitações do estudo devem ser apontadas. Sugere-se o detalhamento do tópico Material e método. Para esses artigos exige-se a apresentação de um resumo estruturado em português e inglês, com cabeçalhos obedecendo à apresentação formal do artigo: Introdução (Background), Objetivos (Objectives), Material e método (Material and method), Resultados (Results), Discussão (Discussion) e Conclusões (Conclusions). O Abstract (resumo em inglês) deve ser precedido pelo título em inglês. As referências bibliográficas devem aparecer no final do texto.

Comunicações breves

São relatos curtos que devem apresentar: 1) dados de estudos preliminares com achados sugestivos que garantam uma investigação mais definitiva; 2) estudos de replicação; e 3) estudos negativos de tópicos importantes. Esses artigos devem ter até 1.500 palavras, incluir resumo não-estruturado e, no máximo, uma tabela ou figura, além das referências bibliográficas. Artigos de revisão e atualização Artigos de revisão e/ou atualização apenas serão publicados por convite específico dos editores. Avaliação crítica sistematizada da literatura sobre determinado assunto, devendo conter conclusões. Devem conter até 5 mil palavras. A organização do texto do artigo, com exceção



de Introdução, Discussão e Conclusão, fica a critério do autor. Para esses artigos exige-se um resumo estruturado no idioma do texto e outro em inglês. Uma lista extensa de referências bibliográficas deve aparecer no final do texto.

Relatos de casos

São trabalhos de observações clínicas originais acompanhados de análise e discussão. Devem conter até 1.500 palavras. A sua estrutura deve apresentar, no mínimo, os seguintes tópicos: Introdução, Relato(s) dos(s) caso(s), Discussão.

Incluir um resumo não-estruturado no idioma do texto e em inglês.

Cartas aos Editores

Inclui cartas que visam a discutir artigos recentes publicados na revista ou a relatar pesquisas originais ou achados científicos significativos. Cartas breves, com no máximo 500 palavras (incluindo referências, sem tabelas ou figuras), serão consideradas se estiver explícita a frase para publicação.

A carta deve ser assinada por todos os seus autores.

Referências

As referências bibliográficas devem aparecer no final do artigo, em ordem alfabética numerada. Devem seguir as normas da Associação Brasileira de Normas Técnicas – NBR-6023 (agosto 2000). Os títulos dos periódicos deverão ser referidos na forma abreviada de acordo com o Index Medicus (List of Journals Indexed in Index Medicus). Se a lista de referências não seguir a norma adotada, os trabalhos serão imediatamente rejeitados, sem revisão de conteúdo.

Os autores devem certificar-se de que as referências citadas no texto constam da lista de referências com datas exatas e nomes de autores corretamente grafados. A exatidão das referências bibliográficas é de responsabilidade dos autores. Comunicações pessoais, trabalhos inéditos ou em andamento poderão ser citados, quando absolutamente necessários, mas não devem ser incluídos na lista de referências bibliográficas; apenas mencionados no texto ou em nota de rodapé. A lista de referências deve seguir o estilo dos exemplos abaixo, e se mais de três autores colaboraram numa publicação, deve ser listado o primeiro seguido da expressão latina et al.

Exemplos:

- Artigos de periódicos (um só autor)

LIMA, KM.



COTRIM, F.L.S. Coleta de sangue para dosagem de triglicerídeos. J Bras Patol, v. 33, n. 4, p. 201-02, 1997.

- Artigos de periódicos (mais de três autores)

ABREU, E.S. et al. Doença de Hodgkin infanto-juvenil no estado do Ceará e sua relação com o vírus Epstein-Barr: parâmetros clínicos e análise morfológica imuno-histoquímica e por hibridização in situ. J Bras Patol, v. 33, n. 4, p. 178-84, 1998.

- Artigo de periódico on-line

YAZLE, J.S.R. et al. Assistência hospitalar como indicador da desigualdade social. Rev Saúde Publ, São Paulo, v. 31, n. 5, 1997. Disponível em: <http://www.fsp.usp.br/rsp>. Acesso em: 23 mar. 1998.

- Livros no todo (dois autores)

RINGSVEN, M.K.; BOND, D. Gerontology and leadership skills for nurses. Albany, N.Y.: Delmar Publishers, 1996.

- Capítulos ou parte de livro editado por outro autor

SCIVOLETO, R. Sistema nervoso autônomo. In: ZANINI, A. C.; OGA, S. Farmacologia aplicada. 4. ed. São Paulo: Atheneu, 1989. Cap. 9; p. 97-141.

- Parte de livro em meio eletrônico

SÃO PAULO (Estado). Secretaria do Meio Ambiente. Tratados e organizações ambientais em matéria de meio ambiente. In: _____. Entendendo o meio ambiente. São Paulo, 1999. v. 1. Disponível em: <http://www.bdt.org/sma/entendendo/atual/htm>. Acesso em: 8 mar.1999.

- Evento em meio eletrônico

SILVA, R. N.; OLIVEIRA, R. Os limites pedagógicos do paradigma da qualidade total da educação. In: CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFPE, 4., 1996, Recife. Anais eletrônicos... Recife: UFPE, 1996. Disponível em: <http://www.propesq.ufpe.br/anais/educ/ce04.htm>. Acesso em: 21 jan.1997.

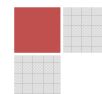
- Tese ou dissertação

Oliveira, C.M. Isolamento e caracterização de estreptococos de placa dental. Rio de Janeiro, 1974. Tese (doutoramento) – Instituto de Microbiologia, Universidade Federal do Rio de Janeiro.

- Citações no texto

Devem ser identificadas por algarismos arábicos (números-índice). Podem também ser acrescentados o nome do autor e o ano. As referências com mais de um autor devem conter o sobrenome do autor seguido da expressão et al., como, por

LIMA, KM.



exemplo, Higashi et al1.

Tabelas e figuras

As tabelas deverão ser numeradas consecutivamente com algarismos arábicos e encabeçadas por seu título, recomendando-se a não-repetição dos mesmos dados em gráficos. Na montagem das tabelas, seguir as Normas de apresentação tabular estabelecidas pelo Conselho Nacional de Estatística e publicadas pelo IBGE (1993). As ilustrações (gráficos, fotografias, desenhos, etc.) deverão ser numeradas consecutivamente com algarismos arábicos e citadas como figuras.

Devem ser suficientemente claras para permitir sua produção. Os gráficos deverão vir preparados em programa processador de gráficos. Deverão ser indicados os locais aproximados no texto onde as ilustrações serão intercaladas como figuras.

Abreviações e nomes de medicamentos

As abreviações devem ser indicadas no texto no momento de sua primeira utilização. Empregar o nome genérico de medicamentos e indicar a fonte de componentes não-disponíveis para prescrição.

As unidades de medida, inclusive suas abreviaturas, devem ser expressas no sistema métrico decimal e, quando o autor assim o desejar, também no System International (SI) entre parênteses.

Endereço para envio dos originais

Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial
R. Dois de Dezembro, 78/salas 909 e 910 – Catete
CEP 22220-040 – Rio de Janeiro-RJ – Brasil
Tel.: (21) 3077-1400 ou 3077-1408
E-mail: jbpml@sbpc.org.br

[\[Home\]](#) [\[Sobre esta revista\]](#) [\[Corpo editorial\]](#) [\[Assinaturas\]](#)

© 2007 SBPC/ML, SBP, SBC Rua Dois de Dezembro, 78/909 Catete
22220-040 Rio de Janeiro RJ Brasil
Tel.: +55 21 3077-1400 / 3077-1408
Fax. +55 21 2205-3386

LIMA, KM.



Local, _____ de _____ de 200__
 Ar Bras Dermatol. 2007;82.

[illegible][illegible]