



Universidade Federal do Rio de Janeiro
Instituto de Microbiologia Paulo de Góes
Concurso Público para provimento efetivo de vagas no cargo de
Professor da Carreira de Magistério Superior

Edital UFRJ nº 54, de 30 de janeiro de 2024 (Consolidado com
seus editais de retificação) Versão inicial publicada no DOU em:
02/02/2024 | Edição: 24 | Seção: 3 | Página: 71 a 80, código
MC-054 – Setor: Micologia – Departamento de Microbiologia
Geral – Instituto de Microbiologia Paulo de Góes – CCS –
UFRJ.

PROVA ESCRITA

CANDIDATO: 905758

Tópico 2 - Biologia celular e ultraestrutura de fungos

Os fungos são seres saprofíticos, amplamente distribuídos na natureza consumindo matéria orgânica em decomposição. Estão presentes no solo e em associações com plantas e animais. Seu metabolismo é quimioorganotrófico, realizando respiração aeróbica e/ou fermentação. Para a sua nutrição, ~~os~~ produzem diversas enzimas hidrolíticas, que são secretadas para a quebra de macromoléculas no exterior da célula. Por esse motivo, os fungos possuem um grande potencial biotecnológico, como fontes de alérgenos e de enzimas usadas em vários segmentos da indústria.

Os fungos são seres eucariotas, assim como os animais e as plantas, mas diferem deles, dentre outras características, pela composição da parede celular. Essa estrutura é ausente em animais e apresenta composição distinta em vegetais.

A parede celular fúngica é a primeira barreira com o ambiente externo e sua composição é dinâmica. Apesar de ser composta majoritariamente por carboidratos e glicoproteínas, ela varia significativamente entre as espécies fúngicas e em um mesmo fungo durante seu crescimento.

Um dos componentes mais conservados da parede é a quitina, um polímero de N-acetilglucosamina. Ela se localiza mais internamente na parede e confere a rigidez característica dessa estrutura, cuja função inclui a proteção mecânica e osmótica. Além disso, a quitina é capaz de modular a resposta imune do hospedeiro e induzir processos alérgicos. O filo

2
Zigomycota apresenta uma versão desacetilada do quitina, chamado de quitosano.

A β -(1,3) glicana também forma a camada mais interna da parede e é composta por unidades de glicose unidas por ligação glicosídica do tipo β -(1,3). Seu grau de ramificação varia entre os fungos e esta molécula é um importante antígeno fúngico, sendo reconhecido por receptores de células do sistema imune. Por isso, ela vem sendo estudada como plataforma de formação de nanopartículas a serem usadas como vacinas.

Já o α -glicana pode ser composta por unidades de glicose α -(1,4)(1,6) ou α -(1,3) ligadas. A α -(1,4)(1,6) glicana é descrita como indutora da resposta imune, através da liberação de citocinas pró-inflamatórias, enquanto o α -(1,3) glicana está mais envolvida na formação de hifas e ~~no~~ no reconhecimento de β -glicana em fungos como Histoplasma e Paracoccidioides. Seu reconhecimento é um importante mecanismo de defesa da resposta imune.

As âncoras de GPI (glicosil fosfatidil inositol) são estruturas que constam de glicopíngulos na superfície da célula com as β -glicanas posicionadas mais internamente. Assim, são importantes para a integridade da parede celular e interações célula-célula.

Algumas moléculas são importantes para a adesão fúngica, como o ácido piídico, composto por derivados monossacarídicos de 9 carbonos. Além dele, se destacam as mannosotriínas e os peptído polissacarídicos, como peptído- α -lactonamansas e peptído- α -mannomansas. Essas moléculas são compostas por uma cadeia peptídica ligada a diferentes cadeias de polissacarídicos O e N ligados glicosidicamente.

Outras moléculas da parede celular são importantes por mediarem anti-genes e proteger os fungos da resposta imune. A camada polissacarídica, composta majoritariamente por glicuronoxilomannans (GXN) e típica do fungo Cryptococcus spp., aumenta significativamente a espessura da célula. Com isso, ela protege contra a fagocitose e modula a resposta imune ao inibir a liberação de citocinas, como TNF- α e IL-1, e de espécies reativas de oxigênio (ROS).

A melanina é um importante pigmento presente na superfície dos fungos. Fungos hialinos não produzem melanina ou produzem apenas nos esporos.

Já os fungos melanizados apresentam melanina nas hifas. A melanina, além de ~~de~~ encobrir os antígenos da parede celular, confere fotoproteção e proteção contra estresse oxidativo, como a produção de ROS pelas células da resposta imune.

As hidrofobinas são proteínas hidrofóbicas presentes principalmente nos esporos e que se dissolvem nas hifas. Além de promover o ancoramento de antígenos e proteger contra a resposta imune, elas conferem a hidrofobicidade necessária os esporos fúngicos para resistir a tensões superficiais da água e serem sobrevividos pelo vento no ambiente.

Além da parede celular, a cutícula glomérula é uma estrutura de grande relevância. Além dos fosfolípidos que compõem a bicamada lipídica, estão presentes o ergosterol (o esterol dos fungos), responsáveis pela integridade e fluidez da membrana. Já os esfingolípidos, como a glucosilceramida, contribuem para o crescimento e resistência, além de abrigar, junto com o ergosterol, microdomínios responsáveis pela difusão de co-receptores de sinalização.

No citoplasma das células fúngicas estão presentes a reserva energética na forma de glicogênio e trealose, além de vacíolos para o armazenamento de nitrogênio e fósforo, o armazenamento de proteínas e a secreção de vesículas. ~~As células~~. Também é encontrado o núcleo celular no citoplasma, formado por uma caroteca lipídica cobrindo o DNA fúngico, o qual é o maior entre os seres eucarióticos.

~~A macromorfologia dos~~ Os fungos secretam vesículas intracelulares, responsáveis pela liberação de enzimas hidrolíticas e polimerizantes. Sua composição é variada, contendo proteínas, lipídeos e carboidratos. Elas são capazes de modular a resposta imune, atuando na produção de citocinas e ROS. Por isso, são estudadas como potencial de formulação de vacinas ~~e de~~.

A macromorfologia dos fungos é bastante variada. Enquanto leveduras formam colônias de borda delimitada e aspecto gomoso e coloração variada, os fungos filamentosos formam colônias de aspecto algodão em mofo, de borda indefinida e coloração diversificada. ~~O crescimento é radial~~

O crescimento de fungos filamentosos ocorre pelo alongamento dos esporos, formando tubos germinativos e hifas. ~~Esse crescimento é apical e na extremidade~~ Na extremidade das hifas é encontrada uma região estreita chamada de Spitzenkörper

ela, há o acúmulo de mitocôndrias para garantir o suprimento de energia, vesículas contendo enzimas hidrolíticas para a nutrição e síntese para a formação da parede celular. As hifas se ramificam e se estreitam, formando o micélio que cresce de forma ramificada.

As hifas podem ser septadas ou não, e o septo é importante para compartimentalizar as hifas e proteger em caso de danos. Os septos ~~podem ser abertos~~ possuem poros que permitem a passagem de conteúdos intracelulares e a sua abertura é regulada por estruturas como os corpos de Worthing e o dioporo-poroxistoma.

Os esporos de fungos filamentosos são formados de por origem telotica, a partir de hifas especializadas, ou de origem telotica, a partir da diferenciação de hifas já existentes.

~~O crescimento~~ A reprodução sexuada envolve a plasmogamia e formação de estruturas específicas, como micocarpos em Ascomycota, basidiocarpos em Basidiomycota e zigoto em Zygomycota. Nessa estrutura ocorre a cariogamia, meiose e formação de esporos geneticamente distintos.

Enquanto os fungos filamentosos são a forma pluricelular dos fungos, as leveduras são unicelulares e seu crescimento se dá ~~por~~ por brotamento, ~~em~~ em unipolar ou multipolar, com a formação de blastoconídios. Em alguns casos, os blastoconídios podem não se desenvolver e formar grande hifa.

Alguns fungos podem ser dimórficos, transitando entre leveduras e hifas na forma filamentosa, o que pode ser induzido por temperatura, níveis de oxigênio, fotoperíodo e nutrientes. A forma filamentosa, ao contrário, garante a disponibilidade dos esporos hidrofílicos no ar, enquanto a leveduriforme no hospedeiro oferece proteção, uma vez que fatores de resistência e a parede celular se modificam.

Fungos também formam biofilmes, uma estratégia de crescimento que consiste na proliferação física aderida à superfície e estabilizada por uma matriz extracelular. Essa matriz, naturalmente polimerizada, oferece proteção a antifúngicos, ao impedir sua difusão, e evita a resposta imune.

Assim, os fungos apresentam aspectos variados da sua biologia celular e a sua complexidade é similar para o entendimento da sua interação com o ambiente, inclusive o hospedeiro humano.

Figura 3 - Atributos de virulência fúngica

Os fungos não são amplamente distribuídos na natureza e são capazes de causar infecções em humanos. Estima-se que existam mais de 5 milhões de espécies, porém algumas são capazes de infectar o hospedeiro humano.

Para isso, os fungos precisam se adaptar ao hospedeiro e dispõem de diversos atributos, como adesinas, moléculas de superfície, lipídeos, toxinas, dentre outros. Dessa forma, os fungos conseguem se aderir ao tecido hospedeiro, invadir esse tecido e evadir da resposta imune.

Algumas adesinas já foram descritas, como a família Als em *Candida albicans* e BADA em *Blastoschizum* spp. elas promovem a ligação dos fungos às células epiteliais e endoteliais e em proteínas de matriz, como colágeno, laminina e fibronectina.

A parede celular apresenta diversos antígenos, como a quitina e a β -glucana, que formam a base da parede e modulam a resposta imune ao serem reconhecidos por receptores em células fagocitárias. Já a α -glucana é capaz de mascarar o β -glucana, um importante mecanismo de evasão do sistema imune. Algumas moléculas são importantes para a adesão ao tecido hospedeiro, como as manânicas, proteínas e os peptidoglicanos.

Outras moléculas de superfície desempenham papel de mascarar antígenos e proteger contra a resposta imune. É o caso da capsula polissacarídica de *Cryptococcus neoformans*, que protege contra a fagocitose e contra a liberação de ROS, além de impedir a liberação de citocinas como TNF- α e IL-1. As proteínas hidrofóbicas também mascaram antígenos e dificultam o acesso da resposta imune. Já a melanina, além de mascarar antígenos, protege os fungos contra radiação e produção de ROS por células do sistema imune.

Diversas enzimas desempenham papel na virulência fúngica. As lipólases desorganizam os lipídios de membrana de células epiteliais e permitem a invasão tecidual. Além disso, ^{clivam} o surfactante pulmonar importante para manter a tensão superficial do ar nos pulmões, crucial para a respiração. Já as proteases, como asparticas, serinas ou metalo proteases, promovem a destruição das células proteicas, além de desorganizar o epitélio e ajudar na invasão.

6
crucial. As proteínas ainda protegem contra a resposta imune ao eliciar anticorpos e fatores do complemento além de fatores de coagulação que ajudam a retê-los no fugo, o que contribui para a sua disseminação.

Outras enzimas são importantes para garantir a sobrevivência intracelular em fagocitos, como a urease que transforma a ureia em amônia e eleva o pH do fagolisossomo. E enzimas como catalase, peroxidase e superóxido dismutase que combatem radicais livres e protegem os fagos contra a liberação de ROS.

Proteínas importantes na resistência fúngica ainda incluem as proteínas de choque térmico (HSPs), que desregulam fagos na termotolerância, morfologia e resistência a antifúngicos. Isso último é devido ao estímulo da produção de quitina, reforçando maior proteção osmótica aos fagos. As HSPs são chaperonas que auxiliam no funcionamento da célula fúngica. Já a calicembrina é uma toxina fúngica que contribui para a integridade da parede celular, elevando a produção de quitina e, assim como as HSPs, contribuindo para a resistência a antifúngicos. Estudos já mostraram que inibidores de calcineurina promovem efeito antifúngico.

No hospedeiro, a oferta de ferro livre é limitada, uma vez que ele é encontrado complexado às moléculas como Transferrina e Lactoferrina. Assim, considerando que o ferro é essencial para o metabolismo fúngico, os fungos dispõem de mecanismos de captação de ferro. Estes incluem o sistema de oxidação/redução, que facilita a ativação do ferro, receptores de hemoglobina, que promovem o sequestro do ferro do sangue ferido, e sideróforos que sequestram o ferro das moléculas transportadoras no hospedeiro.

Os fungos também produzem toxinas, que alteram a integridade da epitelial. A gliotoxina, produzida por Aspergillus spp., gera estresse oxidativo nas células epiteliais, reorganiza o citoesqueleto para facilitar a internalização fúngica e causa ruptura de células fagocitárias. Já a candidalima, produzida por espécies de Candida, forma furros na membrana de células epiteliais, causando danos no tecido hospedeiro.

Os fungos produzem vesículas extracelulares (VEs), responsáveis pela secreção de moléculas para o meio extracelular. As VEs possuem composição variada, contendo proteínas, lipídios e carboidratos, e debru-

podem ser de secretas fatores de virulência. Além disso, são capazes de modular a resposta imune, suprindo a fagocitose e liberação de citocinas e ROS. Por isso, são estudados como veículos de formulação de vacinas.

Algumas estratégias de virulência dos fungos contribuem para a sua virulência. A formação de biofilmes promove a adesão às superfícies bióticas e abióticas. Além disso, a produção da matriz extracelular majoritariamente polissacarídica que envolve a população de células do biofilme protege contra a ação de antifúngicos e da resposta imune. Os antifúngicos não conseguem difundir no biofilme, o qual também apresenta bombas de efluxo de forma intrínseca e bombas hidrolases que elevam os antifúngicos. Em relação à resposta imune, os biofilmes impedem a fagocitose, modulam a liberação de citocinas e possuem efeito imunossupressor.

Fungos dimórficos apresentam estratégias de virulência baseadas na conversão morfológica. Enquanto a forma filamentosa no ambiente produz esporos hidrofóbicos que facilitam a dispersão pelo ar e a inalação para que eles alcancem os pulmões do hospedeiro, a forma de levedura garante proteção no hospedeiro. Fatores de virulência, como as adesinas BAD1 de *Blastomyces* spp. e gp43 de *Paracoccidioides* spp., são expressos na fase fase de levedura. Além disso, a parede pode regular e modular a transição morfológica. Enquanto a fase filamentosa apresenta maior quitina e α -glucana e menor β -glucana, a fase leveduriforme possui menor quantidade de quitina e α -glucana, e maior de β -glucana, o que garante maior rigidez e proteção osmótica e o encasamento da β -glucana, evitando o reconhecimento de receptores como a lectina-1.

Com isso, é possível perceber a versatilidade dos fungos em apresentar mecanismos de se adaptar ao hospedeiro humano. Conhecer os atributos de virulência é crucial para o melhor entendimento da relação fungo hospedeiro e dos mecanismos de virulência que contribuem para o desenvolvimento das doenças.

★

Tópico 4 - micose superficial, cutânea e subcutânea

As micose superficial, cutânea e subcutânea compreendem juntas o grupo de micose ~~com~~ a maior incidência no mundo, abrangendo cerca de 1 bilhão de casos anuais. A diferença entre elas se dá pela região da pele acometida. As micose superficial acometem a epiderme da pele, especificamente a camada córnea e a parte extrafolicular dos pelos. As micose cutânea afetam a derme e o folículo piloso, onde os pelos são ancorados, e as micose subcutânea atingem o tecido conjuntivo abaixo da derme, podendo alcançar músculos e ossos.

As micose superficial ~~na~~ não causam risco à vida do paciente, mas são incômodas. Geralmente não induz resposta inflamatória exacerbada. Os principais exemplos são a pitíriase versicolor, a tinea negra e as quadras brancas e pretas.

A pitíriase versicolor é causada pelo fungo do gênero Malassezia, como Malassezia furfur, uma levedura polimórfica lipofílica. Ela ~~se~~ está presente de forma comensal na microbiota da pele, porém pode ~~se~~ converter para forma patogênica por diversos fatores, como predisposição genética, diabetes, estado imunológico, idade e condições físico-químicas da pele, como maior oleosidade. ~~Em~~ Em levedura gemmifera que quebram lipídios da pele para nutrição. Além disso, produz sinal e ácido oxalico, que induz apoptose de melanócitos e impedem a melanização, respectivamente.

As lesões são lipofílicas e são localizadas em regiões ricas em lipídios (maior concentração de lipídios) da pele, como ~~tronco~~ tronco, ombros e costas. As lesões também são descamativas, o que favorece o diagnóstico.

Para o diagnóstico, o diagnóstico é feito pela raspagem das lesões para observação das leveduras em exame microscópico direto. Além disso, sinais clínicos são observados, como o sinal de Zilber em que é feita uma pressão nas lesões para se ver a descamação. Já o tratamento envolve o uso tópico de antifúngos de ação local e oral, como cetoconazol. A administração oral de itraconazol pode ser feita em casos mais extensos.

A ~~do~~ tinea negra é causada pelo fungo Hortae werneckii, um fungo melanizado e pleomórfico que causa lesões de borda limitadas, em decimações e de crescimento progressivo. As lesões são localizadas na palma das mãos e planta dos pés e a infecção ocorre pelo contato com o fungo no ambiente, como solo, areia de praia e ambientes marinhos, pois o fungo é halotolerante.

O diagnóstico é baseado na coleta de material das lesões e observação do fungo em exame microscópico direto. A cultura pode ser feita para mostrar a melanização. Já o tratamento é feito pelo uso de derivados azólicos de forma tópicos em pomadas.

As pedras branca e preta são causadas, respectivamente, pelos fungos Trichosporon spp. (branca) e Piedraia hortae (melanizada). Elas se criam na parte intrafolicular dos pelos. Enquanto na pedra branca são formados nódulos brancos de consistência macia no pelo, na pedra preta são vistos nódulos escuros e duros. A infecção ocorre pelo contato com ambientes ricos em fungos, como muros e paredes, ou por certos hábitos, como tricotomia indígena que possuem ilhas de palma no corpo.

O diagnóstico consiste em observar os nódulos dos pelos em ~~microscópio~~ microscópio e o tratamento é feito pela remoção dos pelos e aplicação tópica de antifúngicos.

As micoses cutâneas são causadas por fungos filarícticos, chamados de dermatomicose ou dermatofitose, os que incluem como causadores albricis. As dermatomicoses são causadas por fungos não dermatófitos e causam lesões ~~em~~ semelhantes às dermatofíticas. Como esses fungos são relevantes nas micoses subcutâneas, serão discutidos em mais detalhes mais a frente.

As dermatofitoses são causadas por fungos dermatófitos que penetram líticos, ou seja, capazes de clivar a queratina da pele, melanina, queratina e a hidratação e elasticidade da pele. Os principais gêneros são Trichophyton, Microsporum e Epididymophyton. A infecção ocorre pelo abrindo da pele em contato com lençóis, almofadas ou solo contaminados.

As dermatofitoses são classificadas quanto à origem do fungo, que pode ser geofílico, zoofílico ou antropofílico, o que infecta os

na severidade da doença. Também podem ser classificadas pelo local das lesões, chamadas de *lineas*. Essas lesões possuem intensa inflamação, são erosivas e causam prurido. As lesões na pele glabra (sem pelo) ocorrem em regiões de dobras, como entre os dedos das mãos (*linea manuum*) e dos pés (*linea pedis*) ou nas axilas (*linea axillae*), já as lesões do pêloso incluem as pernas do corpo calçado (*linea corporis*) ou barba (*linea barbae*). As unhas também são afetadas a partir da borda livre até a matriz, causando dorimento e espessamento.

O diagnóstico é feito pela coleta do material das lesões para exame direto ou microscópico para observação das estruturas de reprodução dos fungos. O tratamento envolve o uso de antifúngicos em forma de pomos tópicos ou oral.

Já a candidíase cutânea é causada por *C. albicans*, presente como micróbota da pele, intestino ou trato genital, na forma de leveduras. A doença pode assumir formas filamentares, sendo prototípica. A candidíase pode ser cutânea, em regiões de dobras, associada à diabetes e falta de higiene. A candidíase oral está relacionada à recém-nascidos, onde um micróbota oral formada, ou como indicadora de AIDS em adultos. Já a candidíase vaginal está relacionada à gravidez ou pelo uso de antibióticos, e quanto a vulvovaginite é a infecção na vulva do gênero pelo contato com ambientes infectados.

O diagnóstico envolve a observação de lâminas e o tratamento é feito com derivados azólicos.

As micose subcutâneas estão relacionadas ao trauma, como perfurações, arranhões e cortes. A *dermatomycosis* é causada por *dermatophytes* e é comum na região marginal. As lesões incluem queratólise e se localizam nos braços, pernas e orelhas, mais comuns em homens trabalhadores do campo. O tratamento envolve ~~terapia sistêmica~~ uso de antifúngicos e hidratação, ^{mas resistentes são frequentes}.

A *blastomycosis* é causada principalmente pelos gêneros *Blastomyces* e *Cladophiala* e é comum na América Latina. As lesões são granulomatosas e se iniciam no local do trauma com formação

de lesões satélites. É comum em áreas agrícolas e trabalhadores do campo, mais expostos ao trauma. O tratamento envolve a excisão cirúrgica das lesões e uso de desinfetantes apropriados.

Oomycetose é a oomycetose causada por fungos, como os gêneros Madurella e Scedosporium. É comum em países de clima tropical e em desnutridos, cuja população total é maior. Acabete mais lesões agudas devido a maior exposição a atividades agrícolas. A doença é caracterizada pela formação de massa nodosa, abscesso e fístula com todo o tipo de fungos. Em casos letais, a amputação dos membros pode ser necessária. O tratamento requer amputação cirúrgica e longo uso de antifúngicos de forma oral.

A esporotricose é causada pelo gênero Sporothrix, como S. schenckii, S. brasiliensis e S. globosa. É o único fungo dimórfico causador de miomas subcutâneos. As formas clínicas são a esporotricose ~~clínica~~ localizada, onde uma única lesão se forma no local do trauma, e a esporotricose linfocutânea, onde lesões vão surgindo ao longo dos vasos linfáticos do membro afetado com sinal de dissecção linfática. Esta última é a forma mais comum. Já a esporotricose disseminada está associada à imunossupressão.

As formas de transmissão podem ser a clássica, a partir do solo contaminado ou a zoonótica, a partir do contato com animais infectados, como cães e gatos, os quais também desenvolvem a doença. Apesar de presente em todos os continentes, a esporotricose é mais comum na América Latina, como no Brasil. Nesse local, no passado predominava a espécie S. schenckii, mais prevalente no solo e, por isso a transmissão clássica era mais comum. No entanto, com a introdução de S. brasiliensis, mais adaptada ao hospedeiro animal, a transmissão zoonótica passou a prevalecer. Com isso, nos últimos anos o Brasil e outros países da América do Sul vêm enfrentando uma epidemia de esporotricose felina, com transmissão entre gatos domésticos e o homem.

O tratamento da esporotricose é baseado no uso oral de itraconazol e no uso de iodeto de potássio. No entanto, tanto para a esporotricose como as demais miomas subcutâneas, o tratamento é di-

fácil devido à resistência dos fungos a casos de recidiva. Em muitos casos, o tratamento é longo, de semanas à meses.

Já o diagnóstico dos micrismas subcutâneos é baseado no exame microscópico de amostras das lesões e na histopatologia. O histórico clínico deve ser levado em consideração, pois a morfologia das lesões se distingue entre as doenças.

Dessa forma, os micrismas superficiais, cutâneos e subcutâneos compreendem uma grande variedade de doenças e fungos patogênicos. O estudo desse grupo de micrismas é importante para o melhor entendimento e da relevância da micologia médica, uma vez que sua incidência é alta e compreendem muitas doenças presentes na rotina da população em geral, como é o caso especialmente dos micrismas superficiais e cutâneos.