



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.

P R O V A E S C R I T A

CANDIDATO: 965621



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: 965621

Tema 2 – Biologia Celular e Ultraestrutura Fúngica

A biologia celular e ultraestrutura dos fungos é rica na sua diversidade, mas também ~~tem~~ são compostas por características morfoestruturais e biológicas que são compartilhadas entre os mais variados Filos, Classes e Gêneros. A grande maioria dos fungos são cosmopolitas e podem ser isolados tanto da natureza quanto de hospedeiros vertebrados e invertebrados. Na natureza, mais comumente encontramos estruturas fúngicas adaptadas ao substrato disponível ou resistentes a fatores abióticos, como radiação UV e mudanças de temperatura. Ascomycetes e Basidiomycetes são bons exemplos ricos em espécies de fungos dimórficos e que estão em constante adaptação aos mais variados fatores da natureza ou do hospedeiro. Na natureza é comum encontrar fungos em sua forma filamentosa, que é composta por hifas e estruturas de reprodução, como esporangióforos e conídios. Geralmente filamentosos macroscópicos, os fungos filamentosos são organizados em hifas, que podem ser septadas ou não-septadas, e que dão origem ao micélio vegetativo – relacionada com a fixação e à captação de nutrientes do substrato – e ao micélio reprodutivo – relacionada com a expansão

2

e reprodução dos fungos. Microscopicamente, observa-se que, embora pareçam separadas definitivamente, as hifas septadas possuem poros que facilitam a comunicação célula-célula dessa estrutura pluricelular fúngica. Sob a ótica do microscópio eletrônico de transmissão (MET) é possível observar "aberturas" que possibilitam a troca de citoplasma, organelas e até mesmo núcleos entre células vizinhas que formam as hifas. É possível observar estruturas eletrodensas como a membrana plasmática e corpos de Woronin. Também não é incomum a presença de células com mais de um núcleo, enquanto outras aparentam estar sem nenhum núcleo em determinado momento.

○ micélio reprodutivo também é composto por estruturas de reprodução, que pode ser sexuada ou assexuada. A reprodução sexuada dá origem a células filhas que carregam as informações genéticas parentais. Ao formar um zigósporo, as células filhas podem se organizar entre 4 ou 8 novas células revestidas por uma bolsa. Esses esporangióforos contidos no esporângio são facilmente observados sob microscopia de ótica de campo claro e, com o auxílio da MET, é possível observar pequenas estruturas esféricas ovaladas de parede delgada. Já as formas de dispersão responsáveis pela reprodução assexuada são haplóides e podem assumir várias formas distinguíveis sob microscópio de campo claro, como as formas piriformes, elíptica ou segmentada. As estruturas haplóides de dispersão e reprodução assexuada são chamadas de conídios (ou conidiósporos) e podem ser subdivididos em artroconídios (resultantes da mudança morfológica de uma célula componente de uma hifa), blastoconídios (resultantes da evaginação e fissão de uma célula filha a partir de uma célula parental) e clamidoconídios (resultantes invaginação e produção interna em uma célula constituinte de hifa).

Além das formas macroscópicas, os fungos podem assumir uma forma unicelular, conhecida como leveduriforme. As leveduras são fungos unicelulares que, em casos de fungos patogênicos, estão associados com a capacidade de parasitar e colonizar os tecidos de hospedeiros. As leveduras são células eucarióticas que possuem parede celular, citoplasma rico em organelas, núcleo único e retículo endoplasmático (RE) evidente na grande maioria dos casos. As leveduras não possuem organelas fotossintéticas e geralmente possuem um grande número de mitocôndrias. Sob o olhar da MET é possível observar um citoplasma repleto de minúsculas estruturas eletrodensas, retículo endoplasmático evidente com aspecto floculento repleto de pequenos pontos eletrodensos e, em algumas espécies, é possível observar uma grande quantidade de vesículas em diversos estágios de maturação. Já a parede celular dos fungos é constituída majoritariamente por D-glucoses (ligadas umas às outras por ligações $\beta(1,3)$ e $\beta(1,6)$ -glucanas), N-acetilglicosamina (NAG) e quitina, o que faz sua presença ser facilmente detectada sob microscópio óptico de campo claro e MET (onde aparece como uma extensa faixa que envolve a célula e de aspecto intensamente eletrodense). Mais internamente, a membrana plasmática das leveduras é rica em ergosterol e repleta de proteínas embêidas em fosfolípidos. Pode não ser tão fácil observá-la sob microscópio óptico de campo claro, mas pode ser empregada alguma coloração ou impregnação para facilitar a visualização.

Algumas leveduras podem apresentar uma camada pigmentada e rica em melanina logo no espaço entre a parede celular e a membrana plasmática, como são os casos das leveduras patogênicas do gênero Sporothrix e do gênero Cryptococcus. A espessura e a densidade da camada de melanina depende de alguns fatores, como a biodisponibilidade de moléculas usadas na biossíntese, como a L-DOPA.

4
A camada de melanina pode ser facilmente observada sob MET (aparece como uma espessa faixa enegrecida intensamente eletrodensa) e pode ser observada em alguns casos sob microscópio óptico de campo claro.

Outra estrutura que pode ser observada em leveduras é uma camada externa composta por polissacarídeos. Geralmente chamada de cápsula, essa estrutura é facultativa e uma cápsula proeminente é observada apenas em ^{algumas} espécies, como as do gênero Cryptococcus.

Embora um grande número de vesículas, extensa produção de melanina e proeminentes cápsulas polissacarídicas sejam observadas em todas as leveduras, é importante saber que essas estruturas das leveduras estão geralmente associadas à capacidade de resistir e infectar hospedeiros. Estudos já demonstraram que o conteúdo das vesículas de diversas espécies fúngicas é vasto, podendo conter material genético, enzimas e polissacarídeos. Além disso, a superfície e a membrana vesiculares podem ser revestidas com per tais constituintes internas. Já a camada de melanina e a cápsula polissacarídica protegem as leveduras de fatores abióticos e também de ataques e estresses produzidos pelo hospedeiro. Desta forma, essas estruturas são de extrema importância para a biologia das leveduras.

Tema 3 - Atributos de Virulência Fúngicas

5

Os atributos de virulência dos fungos são um conjunto de fatores e mecanismos que proporcionam aos fungos a capacidade de se adaptar, sobreviver e infectar hospedeiros, sobretudo mamíferos. A grande maioria dos fungos não são patogênicos (estima-se que ~~existam~~ apenas cerca de 150-200 espécies sejam patogênicas) e, portanto, não possuem atributos de virulência a serem destacados.

Os fatores que atribuem virulência aos fungos são variados, mas podemos destacar alguns fatores que ~~at~~ contribuem para a patogenicidade de importantes gêneros causadores das principais micoses, como Candida, Cryptococcus e Sporothrix.

As espécies do gênero Candida há muito tempo figuram como os principais agentes etiológicos de micoses de importância médica. A C. albicans está no topo da lista de patógenos prioritários recentemente divulgado pela OMS (2022), juntamente com Aspergillus fumigatus e C. neoformans. Outras espécies, como a C. auris (que foi descoberta em 1997 e classificada como resistente em algum grau a todos os antifúngicos disponíveis na época) e o C. gattii (que ao contrário do C. neoformans não é oportunista e pode infectar indivíduos aparentemente saudáveis) também aparecem na lista da OMS. Diversas espécies de Candida possuem uma capacidade para mudar sua ~~se~~ morfologia em resposta a mudanças drásticas no ambiente. O dimorfismo da Candida ~~se~~ é um dos principais fatores de virulência desse fungo que, em condições normais é comensal das superfícies mucosas e da pele. Imunossupressão, disbiose e mudanças drásticas de pH são alguns dos fatores que induzem a mudança de morfologia e "comportamento" da Candida. As leveduras, sob estas condições, ~~at~~ podem alterar sua morfologia assumindo a forma de pseudo-hifas, alterando também a expressão de

6

~~proteases~~, como as de enzimas, como hidrolases, e adesinas. O aumento da expressão das SAPs (hidrolases atuantes na degradação das membranas das células epiteliais e consequente destruição da barreira epitelial) é observada em leveduras e pseudohifas com caráter invasivo e com intenso tigmotropismo. Outro importante mecanismo que confere virulência às muitas espécies de Candida é a resistência a antifúngicos. As espécies de Candida possuem dois mecanismos principais para resistirem às ações fungistáticas e fungicidas (principalmente aos Azóis) que são o aumento de bombas de efluxo (que basicamente expulsam de forma ativa imidazóis e triazóis do interior das leveduras) e a diminuição da expressão de alvos farmacológicos (como a ERG1) e a superexpressão de enzimas alternativas na via da síntese de ergosterol (como a ERG11). Além disso, a Candida possui uma alta capacidade para a formação de biofilme complexo (constituído de proteoglicanos e outros microrganismos) e com capacidade de aderência a superfícies biológicas e não-biológicas, protegendo leveduras, hifas e pseudo hifas das ações de antifúngicos e das células e mediadores da resposta imunológica do hospedeiro.

Interessantes fatores de virulência que atribuem a capacidades patogênicas podem ser destacados nas leveduras de Sporothrix schenckii e S. brasiliensis. Proteínas envolvidas na translocação de moléculas de superfície de Sporothrix ainda não foram completamente caracterizadas, mas já é sabido que esta translocação é responsável por "esconder" antígenos e camuflar leveduras durante o processo infeccioso. Outro mecanismo de escape da resposta imunológica do hospedeiro é a produção de melanina por vias de DOPA e DHN. Já é sabido que cepas que produzem menos melanina (ou não produzem) são mais suscetíveis à fagocitose e ações de espécies reativas de oxigênio.

(ROS) e óxido nítrico (NO) no interior dos fagócitos. Também é sabido que cepas de S. brasiliensis mais virulentas que cepas de S. schenckii produzem mais melanina pela via que utiliza DHN em detrimento da via que usa L-DOPA. Os aspectos biomoleculares envolvidos nesse processo ainda são pouco compreendidos, mas podem indicar o porquê de cepas de S. brasiliensis serem mais virulentas e se apresentarem mais prevalentes em casos mais graves no Brasil. Interessantemente, estudos recentes estão associando o aumento da expressão de enzimas responsáveis pela degradação de células e matriz extracelular de mamíferos ~~com~~ e a diminuição da expressão de enzimas que degradam vegetais e matéria orgânica dos solos com o surgimento de novas cepas altamente virulentas de S. brasiliensis. Neste caminho, também estão associando o aumento da expressão de adesinas específicas para colágeno tipo II e fibronectina com o surgimento de novas cepas virulentas de Sporothrix.

As espécies C. neoformans e C. gattii (~~hoje~~ atualmente há uma proposta para classificá-las como um complexo de espécies) são fungos que, na sua forma leveduriforme, infectam hospedeiros vertebrados, sobretudo humanos. Assim como a maioria dos fungos patogênicos, o C. neoformans foi classificado como oportunista e ganhou notoriedade durante a epidemia de AIDS no final da década de 70 e início da década de 80. Contudo, assim como outros agentes etiológicos a carga fúngica que entra em contato com o hospedeiro é fundamental para a patogênese. A criptococose acomete principalmente indivíduos imunodeprimidos, imunossuprimidos e transplantados. Embora não seja comum, é crescente o número de casos de indivíduos aparentemente saudáveis com criptococose, sobretudo em tecidos críticos, como o sistema nervoso central (SNC). Já o C. gattii foi reconhecido como uma espécie distinta após o surto ocorrido

8

na região da Columbia Britânica no final dos anos 90 e início dos anos 2000 (surto do Pacífico Norte).

Ao contrário do C. neoformans, o C. gattii acomete indivíduos aparentemente saudáveis, apresentando, inclusive, baixos números de incidência em indivíduos HIV+.

Embora sejam diferentes em alguns aspectos, ambas as espécies compartilham interessantes fatores de virulência, como a presença de uma extensa capsula polissacarídica que, dentre várias coisas, "esconde" os antígenos da parede celular das leveduras. A capsula é constituída majoritariamente por glucuronoxilomanana (GXM) - em torno de 90% da composição - e por glucuronoxilomananogalactona (GXMGal) - em torno de 5% da composição. Já foi comprovada a ação anti-inflamatória e pró-apoptótica da GXM, além de sua capacidade de cobrir os sítios de ligação de diversos receptores da resposta imunológica, provocando uma "paralisia imunológica". Além disso, a capsula é reconhecida por proteger as leveduras da fagocitose. Assim como em outros fungos, a melanina produzida pelas leveduras de Cryptococcus é importante para sua proteção contra fatores abióticos (como a radiação UV) e contra ROS e NO no interior dos fagócitos. Outro interessante mecanismo de subversão da resposta imunológica das leveduras de Cryptococcus é sua capacidade de exocitose não-lítica, onde conseguem entrar e sair de células sem lisá-las. Além disso, são hábeis em realizar a transcitose, migrando e atravessando barreiras epiteliais (como a barreira hematoencefálica) e a vasculatura, onde conseguem transitar de uma célula para a outra da hospedeira sem ~~st~~ lisá-las e "chamar a atenção" do sistema imunológico. Por fim, outro mecanismo ~~de~~ que atribui virulência às leveduras de Cryptococcus é sua capacidade de assumir tamanhos exagerados em sua forma leveduriforme.

As leveduras exageradamente grandes de Cryptococcus são chamadas de titan cells (ou células titãs, em português). Ainda sabe-se pouco sobre todas as implicações dessa mudança morfológica, mas sabe-se que podem chegar a ter 100µm de diâmetro, o que impede sua fagocitose.

Tema 4- Micoses Superficiais, Cutâneas e Subcutâneas

As micoses superficiais, cutâneas e subcutâneas são doenças causadas por fungos classificadas como dermatofitos. As dermatofitoses, como também são chamadas, em sua grande maioria, são micoses que causam baixo risco à saúde do hospedeiro, salvo algumas dermatofitoses causadas por fungos altamente invasivos, com o S. schenckii e S. brasiliensis.

As micoses superficiais são causadas por fungos que acometem impreterivelmente as superfícies ricas em queratina dos hospedeiros, como fios de cabelo e unhas. Fungos como Piedraia sp são causadores da piedra negra ~~e piedra branca~~, que acometem principalmente a região rica em folículos pilosos, como o couro cabeludo, onde formam pequenos nódulos rígidos e que facilmente podem ser destacados. Piedra negra é caracterizada pela formação de pequenos nódulos rígidos de cor escura e que ficam presos aos fios de cabelo. Enquanto a piedra branca é geralmente de coloração esbranquiçada e facilmente destacada do couro cabeludo ~~e~~ e é causada pelos fungos do gênero Trichophyton.

Outra dermatofitose é a pitíriase versicolor, caracterizada pela presença de pequenas lesões esbranquiçadas e descamativas na pele. Geralmente é indolente e não está associada a outros sintomas como febre ou edemas. Fungos do gênero Malassezia são os agentes etiológicos da doença.

Embora sejam mais conhecidas por suas características em estágio de doenças sistêmicas, fungos como Coccidioides e Histoplasma também podem causar lesões cutâneas e subcutâneas. Lesões eritematosas, localizadas e, em alguns casos, ulceradas, podem ser observadas em pacientes com criptococose. Embora seja uma micose po-

tencialmente sistêmica, a criptococose pode acometer a derme e a epiderme, ainda que na grande maioria dos casos o sítio primário da infecção seja o trato respiratório superior. Assim como a criptococose, a paracoccidiodomicose (PCM) também é lembrada pelo seu potencial sistêmico, mas é comum que pacientes recorram por assistência médica após o aparecimento de lesões verrucosas ou vesiculobolhosas na região da face (principalmente narinas e lábios). A PCM pode ser causada por duas principais espécies, Paracoccidioides brasiliensis e P. lutzii. Embora tenham tido sido descrita no início do século passado por Adolpho Lutz, a PCM é subnotificada e negligenciada em diferentes regiões do país.

A exemplo da criptococose e da PCM, a candidíase pode se manifestar como lesões cutâneas, onde lesões eritematosas, sem forma definida, descamativa e geralmente dolorosa são encontradas em pacientes imunossuprimidos, imunodeficientes, HIV+ ou sob forte estresse.

A dermatofitose de grande relevância médica e veterinária no Brasil é a esporotricose. Embora tenha potencial para acometer o SNC e olhos, a esporotricose é geralmente caracterizada observada na forma de lesões únicas ou múltiplas, eritematosas, podendo ser ulceradas ou papilomatosas (ou até mesmo vesiculobolhosas) na pele dos membros superiores. De forma menos comum, as lesões também podem ser encontradas nos membros inferiores e na face. A infecção do trato genito-urinário é rara. A esporotricose tem como principais agentes etiológicos o S. schenckii e S. brasiliensis, sendo a segunda espécie a detentora das cepas mais virulentas e responsáveis pelos surtos mais recentes no estado do Rio de Janeiro. A transmissão geralmente ocorre

entre animal-humano ou horizontal (animal-animal).

A esporotricose tem sido considerada popularmente como a "doença do gato" devido ao alto número de felinos infectados e portadores de lesões, principalmente nas regiões da cabeça. ~~e men~~ As leveduras de Sporothrix colonizam as garras dos gatos (e também de outros animais) e, por conta dos seus hábitos, os felinos são os grandes disseminadores do fungo e causam lesões em outros animais e em humanas.

Até a década de 70, a esporotricose era considerada uma ~~doença~~ ^{doença} ocupacional (doença do jardineiro), mas o grande número de gatos e cães abandonados propiciou a rápida disseminação do Sporothrix, que também cresce no solo, material em decomposição e cascas de árvores, bem como espinhos. A notificação ~~em~~ ^{nos} estados do RJ, PE, PB e MG é obrigatória, mas existe uma ideia de que a subnotificação seja muito grande. Entre 1998 e 2020, estima-se mais de 5.000 casos de esporotricose em humanos na região metropolitana do RJ. O difícil e prolongado tratamento com itraconazol, terbinafina + iodeto de potássio contribui para o abandono dos animais infectados, acelerando o processo de disseminação. Mais recentemente, países da América do Sul, como Argentina e Peru, têm relatado aumento significativo dos casos de esporotricose, colocando a América do Sul como o centro da transmissão zoonótica da doença.