

## Microscopia eletrônica da *Tinea nigra*

Isabelle Maffei Guarenti, Hiram Larangeira de Almeida Jr.

### Resumo

*Tinea nigra* é uma rara micose superficial causada pelo fungo *Hortaea werneckii*. Esta infecção apresenta-se como mancha assintomática acastanhada ou enegrecida, mais frequentemente na região palmo-plantar. Foram realizados neste estudo: dermatoscopia de uma lesão, a qual demonstrou um padrão homogêneo de pigmentação não-melanocítica com espículas na mácula; microscopia eletrônica de varredura (MEV) da cultura fúngica, mostrando conidiogênese simpodial; e MEV de uma amostra da lesão, a qual revelou epiderme com queratinócitos, eliminação de filamentos fúngicos e importante agregação de hifas. Os achados de MEV se correlacionaram com aqueles do exame dermatoscópico e ainda permitiram documentar o modo de disseminação da *tinea nigra*, demonstrando como as hifas são eliminadas na superfície da lesão.

**Palavras-chave:** *Tinea*; Dermatomycoses; Mycoses; Electron microscopy; Ultrastructure

## Introdução

Tinea nigra é uma rara micose superficial. Ela é causada por um fungo demáceo que vive em ambientes com altas concentrações salinas, devido ao seu comportamento halofílico, mais comumente em regiões de clima tropical e subtropical. Este fungo é conhecido na atualidade como *Hortaea werneckii*, mas já foi classificado nos gêneros *Cladosporium*, *Cryptococcus*, *Exophiala* e *Phaeonellomyces* previamente. Alguns casos de tinea nigra relatados foram causados por *Stenella araguata*, *Scopulariopsis brevicaulis*, *Phoma eupyrena*, and *Chaetomium globosum*.<sup>1-7</sup>

Esta infecção apresenta-se como mancha assintomática acastanhada ou enegrecida, única ou em maior número, com bordas bem definidas. Ela ocorre mais frequentemente na região palmo-plantar, mas lesões em outras localizações têm sido descritas. Tipicamente é unilateral e tem crescimento centrífugo. Acomete principalmente crianças e adolescentes do sexo feminino com pele clara e acredita-se que seja adquirida através da pele erodada.<sup>1,2,3,8-10</sup>

O diagnóstico é clínico e deve ser confirmado por exame micológico direto da lesão, após clarificação com hidróxido de potássio, ou por cultura em Agar Sabouraud em temperatura ambiente. Hifas demáceas septadas irregulares são observadas no primeiro exame, enquanto colônias de crescimento lento, negras, úmidas e brilhantes são vistas no segundo. A coloração castanha dos fungos demáceos ocorre devido à presença de melanina na sua parede celular.<sup>1-4,8-11</sup>

A realização do correto diagnóstico é importante, pois as lesões podem ser confundidas com melanoma maligno ou nevo melanocítico juncional, e biópsias desnecessárias podem ser realizadas. Então a dermatoscopia vem sendo utilizada como ferramenta clínica adjunta na diferenciação da tinea nigra de lesões melanocíticas. Os achados

dermatoscópicos da tinea nigra são de um padrão reticulado homogêneo de pigmentação não-melanocítica acastanhada com espículas que não seguem os dermatóglifos.<sup>1,12-15</sup>

O tratamento da doença pode ser realizado com antifúngicos e queratolíticos tópicos, com resolução completa em duas a quatro semanas. Foi relatado o uso de terbinafina e butenafina recentemente. Na literatura há também um relato de caso de cura espontânea desta micose.<sup>1-4,9,16-18</sup>

Como os achados de microscopia eletrônica da tinea nigra são limitados, este estudo objetivou a maior elucidação da ultraestrutura desta dermatose.

## **Materiais e métodos**

A amostra foi coletada através de *shaving* superficial de uma lesão de tinea nigra, obtida com um bisturi, removendo um fragmento de epiderme para microscopia eletrônica de varredura e para cultura em meio de Agar Sabouraud. A amostra para a primeira técnica foi preparada por método de rotina com apoio técnico e estrutural da EMBRAPA-CPACT-Pelotas.

## **Resultados**

Menina de 11 anos de idade apresentava uma lesão hipercrômica, assintomática, na região palmar direita há dois meses. Não havia história de trauma local ou de comorbidades. O exame físico revelou mácula acastanhada de formato irregular com bordas bem delimitadas (Figura 1a). O exame dermatoscópico demonstrou um padrão homogêneo de pigmentação não-melanocítica com espículas na mácula (Figura 1b). Um

*shaving* superficial da lesão foi realizado, obtido por exérese horizontal com um bisturi, sem sangramento. O fragmento removido de epiderme foi processado de rotina para cultura e para microscopia eletrônica de varredura.

A cultura em meio de Agar Sabouraud, em temperatura ambiente, produziu após 10 dias colônias negras e úmidas, que foram identificadas como sendo de *Hortaea werneckii* (Figura 1c). A microscopia eletrônica de varredura (MEV) da cultura fúngica demonstrou múltiplas hifas, produzindo conídios lateralmente ou terminalmente nas hifas ou das paredes laterais das mesmas – conidiogênese simpodial (Figura 1d). Algumas células conidiogênicas com anelações também foram encontradas na cultura.

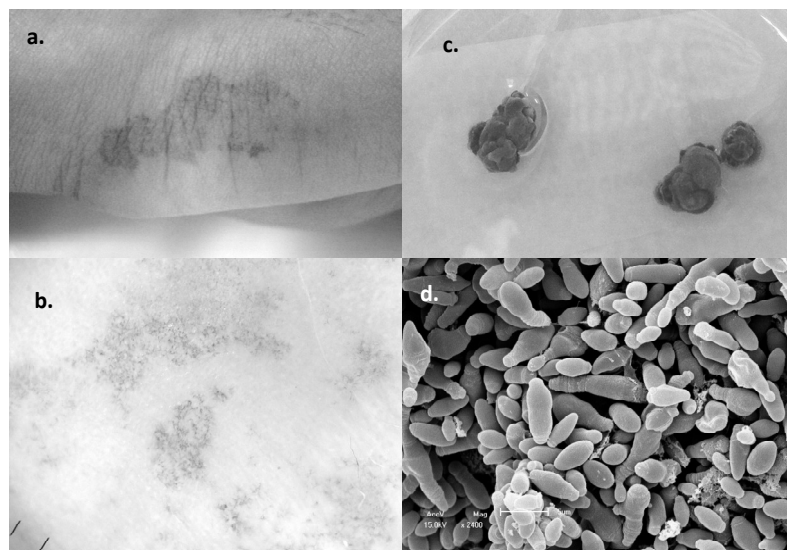


Figura 1- a. mácula acastanhada na palma direita; b. exame dermatoscópico da lesão com padrão pigmentado homogêneo não-melanocítico com espículas; c. cultura em meio de Agar Sabouraud, demonstrando colônias negras e úmidas de *Hortaea werneckii*; d. MEV da cultura, revelando múltiplas hifas com formato de garrafa e células conidiogênicas globosas. (2400 x)

A microscopia eletrônica de varredura (MEV) da superfície externa da amostra demonstrou a epiderme com queratinócitos e hifas (Figura 2a) e a eliminação de filamentos fúngicos (Figura 2b). A superfície interna da amostra foi também examinada, pois alguns fragmentos foram colocados invertidos para o exame no *stub*. Nestes foi visualizada agregação importante de hifas entre os queratinócitos, o que formou pequenas colônias fúngicas (Figura 3).

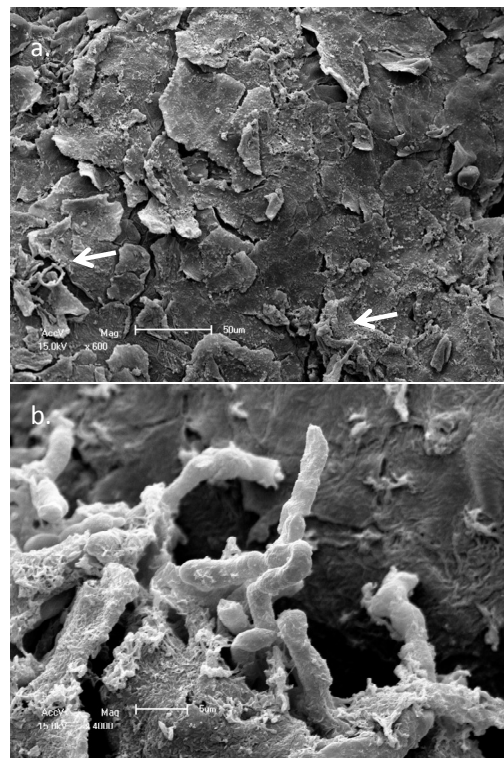


Figura 2- Achados da MEV da superfície externa da amostra. a. epiderme com queratinócitos e fungos (↑) (600 x); b. eliminação das hifas (4000 x).

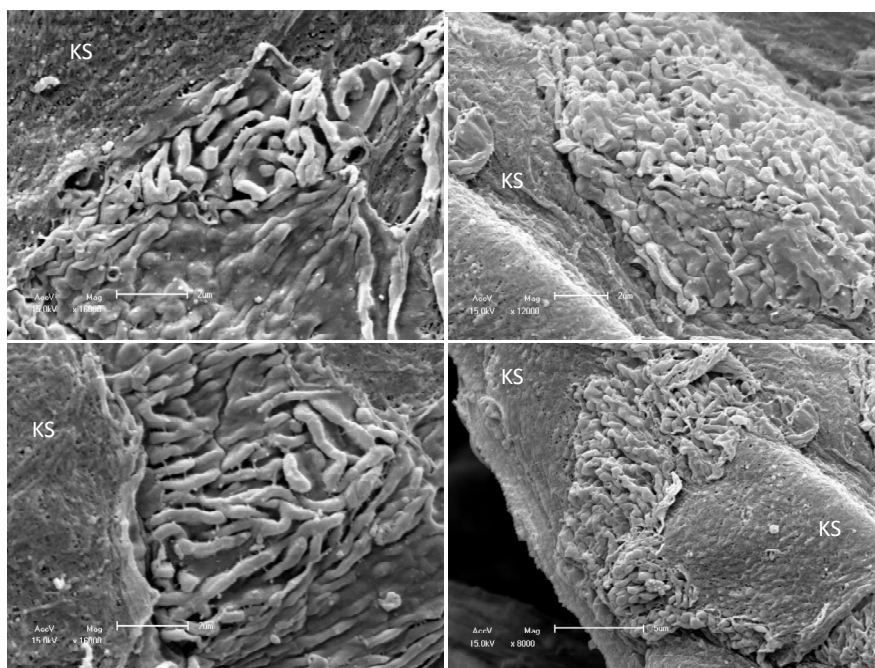


Figura 3- MEV da superfície interna da amostra, demonstrando agregações de hifas entre queratinócitos, formando pequenas colônias fúngicas. KS= superfície interna do queratinócito. (8000-16000 x)

## Discussão

Tinea nigra é uma rara micose superficial, cujo agente causal é atualmente chamado de *Hortaea werneckii*, após diferentes opiniões sobre a sua taxonomia, apresentadas por muitos micologistas. De acordo com Nishimura & Miyaji, este fungo apresenta uma combinação de conidiogênese simpodial e anelídica, diferenciando-o das espécies de *Exophiala*, o que foi demonstrado em poucos estudos, inclusive no trabalho aqui apresentado.<sup>19-23</sup> Além disso, os achados de MEV deste estudo se correlacionam com aqueles do exame dermatoscópico, pois as agregações de hifas encontradas entre os queratinócitos devem ser as espículas acastanhadas observadas. A MEV ainda permitiu

documentar o modo de disseminação da tinea nigra, demonstrando como as hifas são eliminadas na superfície da lesão.

## Referências

1. Xavier MHSB, Ribeiro LHS, Duarte H, Saraça G, Souza ACL. Dermatoscopy in the diagnosis of tinea nigra. *Dermatol Online J.* 2008;14(8):15.
2. Tilak R, Singh S, Prakash P, Singh DP, Gulati AK. A case report of tinea nigra from North India. *Australas J Dermatol.* 2012;53(1):14.
3. Bonifaz A, Badali H, de Hoog GS, Cruz M, Araiza J, Cruz MA, Fierro L, Ponce RM. Tinea nigra by *Hortaea werneckii*, a report of 22 cases from Mexico. *Stud Mycol.* 2008; 61:77-82.
4. Rossetto AL, Cruz RCB. Tinea nigra in geographical forms of "heart" and "parrot beak". *An Bras Dermatol.* 2011;86(2)389-90.
5. Kogej T, Stein M, Volkman M, Gorbushina AA, Galinski EA, Gunde-Cimerman N. Osmotic adaptation of the halophilic fungus *Hortaea werneckii*: role of osmolytes and Melanization. *Microbiology.* 2007;153:4261–4273.
6. McGinnis MR, Sigler L, Rinaldi MG. Some Medically Important Fungi and Their Common Synonyms and Names of Uncertain Application. *Clin Infectious Diseases.* 1999;29:728–30.
7. Revankar SG, Sutton DA. Melanized Fungi in Human Disease. *Clin Microbiology Reviews.* 2010;23(4):884–928.

8. Giraldi S, Marinoni LP, Bertogna J, Abbage KT, de Oliveira VC. Tinea nigra: six cases in Parana state. *An bras Dermatol.* 2003; 78(5):593-600.
9. de Almeida Jr HL, Dallazem RN, Santos LS, Hallal SAS. Bilateral tinea nigra in a temperate climate. *Dermatol Online J.* 2007;13(3):25.
10. Revankar SG. Dematiaceous fungi. *Mycoses.* 2007; 50: 91–101.
11. Dixon, D. M. and Polak-Wyss, A. (1991), The medically important dematiaceous fungi and their identification. *Mycoses*, 34: 1–18.
12. Haneke E, Kienlein-Kletschka B. Histology and electron microscopy of tinea nigra. *Mykosen.* 1983; 26(10):514-20.
13. Piliouras P, Allison S, Rosendahl C, Buettner PG, Weedon D. Dermoscopy improves diagnosis of tinea nigra: a study of 50 cases. *Australas J Dermatol.* 2011;52(3):191-4.
14. Rezusta A, Gilaberte Y, Betran A, Gene J, Querol I, Arias M, Revillo MJ. Tinea nigra: a rare imported infection. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2010, 24:89-91.
15. Paschoal FM, de Barros JA, de Barros DPT, de Barros JC, Machado CDAS Filho. Study of the Dermatoscopic Pattern of Tinea Nigra: Report of 6 Cases. *SKINmed.* 2010;8:319–321.
16. Rossetto AL, Cruz RCB. Spontaneous cure in a case of Tinea nigra. *An Bras Dermatol.* 2012; 87(1):160-2.



17. de Almeida HL Jr. Successful treatment of *Tinea nigra palmaris* with topical terbinafine. *An bras Dermatol.* 2000;75(5):639-640.
18. Rossetto AL, Cruz RCB. *Tinea nigra*: successful treatment with topical butenafine. *An Bras Dermatol.* 2012;87(6):936-41.
19. Varga VES, Godoy P. *Tinea nigra*. *Micologia médica à luz de autores contemporâneos.* Guanabara Koogan 2004;12:124-128.
20. Zaitz C, Campbell I, Marques SA, Ruiz LRB, Framil VMS. Morfologia, reprodução e taxonomia dos fungos. *Compêndio de micologia médica.* Guanabara Koogan 2010;8:89-98.
21. Diniz LM. Study of nine observed cases of *Tinea Nigra* in Greater Vitória (Espírito Santo state, Brazil) over a period of five years. *An bras Dermatol.* 2004; 79(3):305-310.
22. Nishimura K, Miyaji M. Further studies on the phylogenesis of the genus *Exophiala* and *Hortaea*. *Mycopathologia.* 1985; 92(2):101-9.
23. Uezato H, Gushi M, Hagiwara K, Kayo S, Hosokawa A, Nonaka S. A case of *tinea nigra palmaris* in Okinawa, Japan. *Journal of Dermatology.* 2006; 1: 23–29.