Anais Brasileiros de Dermatologia 2025;**100(3)**:557–582

SOCIEDADE BRASILEIRA DE DERMATOLOGIA

Anais Brasileiros de Dermatologia

www.anaisdedermatologia.org.br

CARTAS - INVESTIGAÇÃO

Primeiro caso de *Trichophyton indotineae* no Brasil: critérios clínicos, micológicos e identificação genética de resistência à terbinafina☆,☆☆

Prezado Editor,

Os dermatófitos resistentes à terbinafina são atualmente um problema de saúde global, particularmente *Trichophyton indotineae*. A terbinafina, potente antifúngico no combate aos dermatófitos, inibe a enzima esqualeno epoxidase (SQLE), restringindo o crescimento fúngico ao interferir na biossíntese do ergosterol; mutações pontuais nos genes *SQLE* são a principal causa de resistência aos antifúngicos.[1] *Trichophyton indotineae*, anteriormente denominado *T. mentagrophytes* variedade VIII, apresenta frequentemente mutações no gene *SQLE*.[2,3] Apresentamos o primeiro relato de paciente diagnosticado no Brasil com dermatofitose causada por *T. indotineae* resistente à terbinafina.

Paciente do sexo masculino, de 40 anos, sem comorbidades, natural do Brasil e proveniente de Londres, relatou lesões eritemato-descamativas pruriginosas nos membros inferiores e glúteos iniciadas em janeiro de 2024 (fig. 1). O paciente relatou viagens curtas e frequentes durante o segundo semestre de 2023 para Áustria, Eslováquia, Hungria e Polônia em agosto, e para Escócia e Turquia em novembro e dezembro. Ele procurou atendimento dermatológico em Piracicaba (SP, Brasil), onde foram observados, ao exame micológico direto, presença de hifas septadas hialinas, e na cultura utilizando-se Agar Sabouraud e Mycosel®, crescimento de *T. mentagrophytes*. O paciente foi diagnosticado com quadro de der-

Figura 1 Aspecto clínico das lesões de dermatofitose causada por *Trichophyton indotineae* acometendo região posterior de membros inferiores.

DOI referente ao artigo:
https://doi.org/10.1016/j.abd.2025.01.001

☆ Como citar este artigo: Veasey JV, Gonçalves RDJ, Valinoto GCJ, Carvalho GSM, Celestrino GA, Reis APC, et al. First case of *Trichophyton indotineae* in Brazil: clinical and mycological criteria and genetic identification of terbinafine resistance. An Bras Dermatol. 2025;100:557–60.

☆☆ Trabalho realizado na Clínica de Dermatologia, Hospital da Santa Casa de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil.

Figura 2 Aspecto clínico da recidiva da dermatofitose causada por *Trichophyton indotineae* acometendo face anterior da coxa direita.

matofitose; terbinafina foi prescrita na dose de 500 mg/dia por 14 dias, em março de 2024.

Embora sem melhora clínica, o paciente retornou a Londres; em maio de 2024, consulta mantendo as lesões nas mesmas localizações (fig. 2). Nessa oportunidade, prescreveu-se itraconazol 200 mg/dia por 14 dias, com remissão clínica completa. No entanto, evoluiu com recaída após a descontinuação do tratamento, quando foi prescrito fluconazol 150 mg/dia por sete dias, que se mostrou ineficaz. Com novo ciclo de tratamento com itraconazol na mesma posologia, o paciente evoluiu com o mesmo resultado: boa resposta inicial seguida de recaída quatro dias após a descontinuação do tratamento. Realizou-se coleta de raspado cutâneo para nova análise micológica, e tratamento com itraconazol foi prescrito novamente. Houve melhora do quadro, e o paciente retornou à Inglaterra, perdendo mais uma vez o seguimento dermatológico.

Nesse cenário de dermatofitose disseminada refratária à terbinafina, mas suscetível ao itraconazol, evidência microbiológica sugestiva do complexo de espécies *T. mentagrophytes*/*T. interdigitale*, e histórico de viagens internacionais frequentes, fortemente sugeriu-se tratar de um caso de *T. indotineae*. Com o material da segunda coleta foi confirmada essa suspeita, identificado o isolado como *T. indotineae* resistente a terbinafina e fluconazol pela análise dos exames micológicos (fig. 3) associados ao sequenciamento de DNA da região do espaçador transcrito interno (ITS) do DNA ribossômico. O gene *SQLE* também foi amplificado e sequenciado usando os *primers* descritos.[4] As sequências foram depositadas no GenBank sob o número de acesso PQ634380 (*T. indotineae*) PQ655447 (SQLE). As sequências empregadas são mostradas na figura 4. Além disso, o teste de suscetibilidade antifúngica para terbinafina, fluconazol e itraconazol foi realizado pelo método de referência de microdiluição em caldo *in vitro* descrito pelo EUCAST (E.DEF 9.4).

O isolado pesquisado é resistente à terbinafina e fluconazol, com valores de concentração inibitória mínima (CIM) de $\geq$ 16 μg/mL (valor limite superior) e 8 μg/mL, respectivamente; e suscetível ao itraconazol (valor CIM de 0,064 μg/mL). Os resultados do sequenciamento revelaram duas mutações de resistência à terbinafina (Phe^{397}Leu e Thr^{414}His).

Na última década, *T. indotineae* causou grandes surtos de infecções graves e difíceis de tratar por todo o mundo. As lesões podem ser atípicas com múltiplas morfologias, incluindo placas concêntricas eritematosas, escamosas, papuloescamosas e pustulosas, além de quadros modificados por uso de corticoides tópicos.[5]

Casos de *T. indotineae* resistentes à terbinafina descritos são frequentemente introduzidos por imigrantes de países endêmicos.[5,6] A alta taxa de transmissão inter-humana é um forte contribuinte para sua disseminação; casos familiares representam cerca de 50% dos pacientes, e o compartilhamento de fômites é um denominador comum.[5–8] No entanto, poucos casos foram relatados até o momento, principalmente em virtude de identificação incorreta e subnotificação.[6] Esse pode ser o cenário no Brasil, onde a dermatofitose resistente à terbinafina pode estar sendo negligenciada, visto que a identificação etiológica de dermatófitos permanece desafiadora, pois o sequenciamento de DNA não é usado rotineiramente no diagnóstico de micoses superficiais.

O surgimento de *T. indotineae* resistente à terbinafina é notável considerando sua frequência de até 75% em comparação com 44% para *T. rubrum*.[9,10] Esse fenômeno pode estar ligado a uso inadequado de antibióticos, antifúngicos e corticosteroides, mudanças climáticas e uso indiscriminado de pesticidas e o retorno de movimentos migratórios intensos vistos após a pandemia de COVID-19.[7,8]

Apresentamos o primeiro relato de dermatofitose causada por *T. indotineae* no Brasil, com a evolução típica de resistência terapêutica a diversos antifúngicos e resistência à terbinafina associada a mutações do gene *SQLE*. As caracterizações fenotípica e geno-

Figura 3 Exames micológicos de *Trichophyton indotineae*. (A) Exame microscópico direto (com 10% de KOH) em microscopia de luz (400×) evidenciando hifas septadas hialinas ramificadas e artroconídios. (B) Macromorfologia de cultura de fungos em meio Sabouraud de anverso branco aveludado e reverso com pigmento amarelo claro. (C) Micromorfologia em microscopia de luz (400×), corada com azul de lactofenol, evidenciando presença de numerosos microconídios piriformes e clavados e macroconídios septados em forma de fuso.

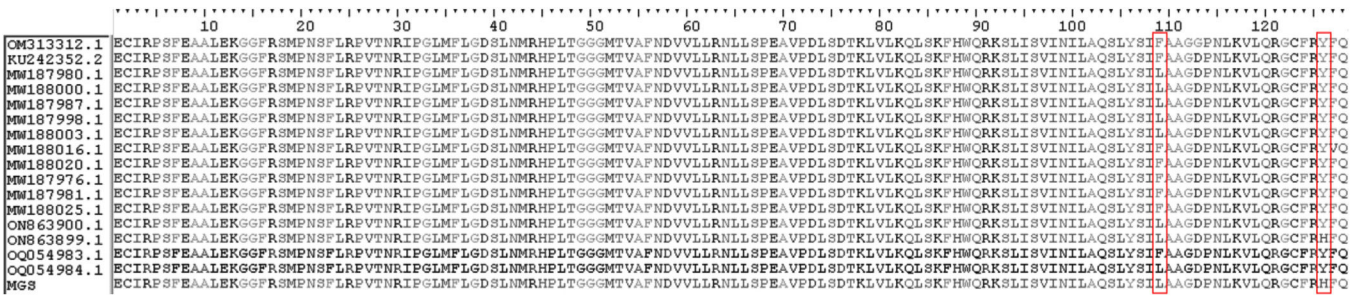

Figura 4 Alinhamento do gene *SQLE* sob alinhamento de múltiplas sequências CLUSTAL no BioEdit. As sequências de aminoácidos de *SQLE* do isolado *T. indotineae* IMT-1778 (MGS) foram comparadas com a sequência de referência da cepa *T. mentagrophytes* TIMM2789 (GenBank acc. n° KU242352.) e do isolado *T. interdigitale* DK-Tinterdig-WT (GenBank acc. n° OM313312.1), bem como sequências *SQLE* de cepas *T. indotineae* resistentes à terbinafina (GenBank acc. n° MW187976, MW187980, MW187981, MW187987, MW187998, MW188000, MW188003, MW188016, MW188020, MW188025, ON863900, ON863899, OQ054983 e OQ054984). As substituições de aminoácidos que foram consideradas diferentes no isolado IMT-1778-MGS são apresentadas, e suas posições são mostradas em caixas vermelhas.

típica foram essenciais para o diagnóstico e escolha terapêutica adequados, mas a resistência à terbinafina dificulta as opções de tratamento e ressalta a necessidade de melhor vigilância, estratégias de prevenção e abordagens terapêuticas alternativas.

Suporte financeiro

Nenhum.

Contribuição dos autores

John Verrinder Veasey: Concepção e o desenho do estudo; Levantamento dos dados, ou análise e interpretação dos dados; Redação do artigo ou revisão crítica do conteúdo intelectual importante; Participação efetiva na orientação da pesquisa; Participação intelectual em conduta propedêutica e/ou terapêutica de casos estudados; Revisão crítica da literatura; Aprovação final da versão final do manuscrito.

Renata Diniz Jacques Gonçalves: Obtenção, análise e interpretação dos dados; Participação intelectual em conduta propedêutica e/ou terapêutica de casos estudados; Aprovação final da versão final do manuscrito.

Guilherme Camargo Julio Valinoto: Aprovação final da versão final do manuscrito; Revisão crítica da literatura.

Gustavo de Sá Menezes Carvalho: Aprovação final da versão final do manuscrito; Revisão crítica da literatura.

Giovanna Azevedo Celestrino: Levantamento dos dados, ou análise e interpretação dos dados; Revisão crítica da literatura.

Ana Paula Carvalho Reis: Levantamento dos dados, ou análise e interpretação dos dados; Revisão crítica da literatura.

Ana Paula Cordeiro Lima: Levantamento dos dados, ou análise e interpretação dos dados; Revisão crítica da literatura.

Antonio Charlys da Costa: Levantamento dos dados, ou análise e interpretação dos dados; Revisão crítica da literatura.

Marcia de Souza Carvalho Melhem: Levantamento dos dados, ou análise e interpretação dos dados; Revisão crítica da literatura.

Gil Benard: Levantamento dos dados, ou análise e interpretação dos dados; Revisão crítica da literatura.

Maria Gloria Teixeira Sousa: Concepção e o desenho do estudo; Levantamento dos dados, ou análise e interpretação dos dados; Redação do artigo ou revisão crítica do conteúdo intelectual importante; Participação efetiva na orientação da pesquisa; Revisão crítica da literatura; Aprovação final da versão final do manuscrito.

Conflito de interesses

Nenhum.

Referências

1. Yamada T, Maeda M, Alshahni MM, Tanaka R, Yaguchi T, Bontems O, et al. Terbinafine Resistance of Trichophyton Clinical Isolates Caused by Specific Point Mutations in the Squalene Epoxidase Gene. Antimicrob Agents Chemother. 2017;61:e00115–117.
2. Kano R, Kimura U, Kakurai M, Hiruma J, Kamata H, Suga Y, et al. Trichophyton indotineae sp. nov.: A New Highly Terbinafine-Resistant Anthropophilic Dermatophyte Species. Mycopathologia. 2020;185:947–58.
3. Cañete-Gibas CF, Mele J, Patterson HP, Sanders CJ, Ferrer D, Garcia V, et al. Terbinafine-Resistant Dermatophytes and the Presence of Trichophyton indotineae in North America. J Clin Microbiol. 2023;61:e0056223.
4. Jia S, Long X, Hu W, Zhu J, Jiang Y, Ahmed S, et al. The epidemic of the multiresistant dermatophyte. Front Immunol. 2022;13:1113065.
5. Khurana A, Sharath S, Sardana K, Chowdhary A. Clinico-mycological and therapeutic updates on cutaneous dermatophytic infections in the era of Trichophyton indotineae. J Am Acad Dermatol. 2024;91:315–23.
6. Bortoluzzi P, Prigitano A, Sechi A, Boneschi V, Germiniasi F, Esposto MC, et al. Report of terbinafine resistant Trichophyton spp. in Italy: Clinical presentations, molecular identification, antifungal susceptibility testing and mutations in the squalene epoxidase gene. Mycoses. 2023;66:680–7.
7. Seidel D, Wurster S, Jenks JD, Sati H, Gangneux JP, Egger M, et al. Impact of climate change and natural disasters on fungal infections. Lancet Microbe. 2024;5:e594–605.
8. Baker RE, Mahmud AS, Miller IF, Rajeev M, Rasambainarivo F, Rice BL, et al. Infectious disease in an era of global change. Nat Rev Microbiol. 2022;20:193–205.
9. Bishnoi A, Vinay K, Dogra S, Bishnoi A, Vinay K, Dogra S. Emergence of recalcitrant dermatophytosis in India. Lancet Infect Dis. 2018;18:250–1.
10. Ebert A, Monod M, Salamin K, Burmester A, Uhrlaß S, Wiegand C, et al. Alarming India-wide phenomenon of antifungal resistance in dermatophytes: A multicentre study. Mycoses. 2020;63:717–28.

John Verrinder Veasey [a,b,*],
Renata Diniz Jacques Gonçalves [c],
Guilherme Camargo Julio Valinoto [b],
Gustavo de Sá Menezes Carvalho [b],
Giovanna Azevedo Celestrino [d],
Ana Paula Carvalho Reis [d],
Ana Paula Cordeiro Lima [e],
Antonio Charlys da Costa [f],
Marcia de Souza Carvalho Melhem [d],
Gil Benard [d] e Maria Gloria Teixeira Sousa [d]

[a] *Clínica de Dermatologia, Hospital da Santa Casa de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil*
[b] *Disciplina de Dermatologia, Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil*
[c] *Clínica Privada, Piracicaba, Brasil*
[d] *Laboratório de Micologia Médica, Divisão de Dermatologia Clínica, Instituto de Medicina Tropical, Hospital das Clínicas, Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil*
[e] *Departamento de Patologia, Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil*
[f] *Laboratório de Virologia, Instituto de Medicina Tropical, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil*

* Autor para correspondência.
E-mail: johnvveasey@gmail.com (J.V. Veasey).

Recebido em 29 de novembro de 2024; aceito em 15 de janeiro de 2025

https://doi.org/10.1016/j.abdp.2025.02.001
2666-2752/ © 2025 Publicado por Elsevier España, S.L.U. em nome de Sociedade Brasileira de Dermatologia. Este é um artigo Open Access sob uma licença CC BY (http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

Caracterização *in vitro* de biofilme produzido por *Fusarium oxysporum*, um agente de onicomicose☆,☆☆

Prezado Editor,

Onicomicose causada por fungos não dermatófitos, como *Fusarium* spp., é mais prevalente do que se pensava anteriormente, especialmente em climas mais quentes.[1] Além disso, a onicomicose tem sido atualmente atribuída a fungos que se organizam em forma de biofilme.[2] O biofilme é uma comunidade microbiana complexa, altamente aderida à unha e cercada por matriz que fornece proteção e resistência antifúngica.[2,3]

O grupo de pesquisa dos autores tem estudado o gênero *Fusarium* spp. como agente de onicomicose em hospedeiros imunocompetentes. Foi relatada sua alta prevalência na região estudada, e foram estabelecidos critérios clínicos e laboratoriais para esse gênero como agente causal de onicomicose, determinando o perfil de suscetibilidade aos antifúngicos sistêmicos mais comumente usados no Brasil.[4] Posteriormente, os autores provaram que *Fusarium* spp. usa a queratina ungueal como fonte única de nutrientes,[5] e foram iniciados estudos sobre a etiopatogenia da onicomicose causada por *Fusarium* com base em modelo *ex vivo* usando fragmentos de unha humana estéril.[3]

Mais recentemente, foi relatado pelos autores, pela primeira vez, que *Fusarium oxysporum* é capaz de formar biofilme na unha humana como única fonte nutricional.[6,7] Também foi descrita molécula orgânica volátil 2-etil-1-hexanol (2EH) como componente de *quorum sensing* capaz de modular tal biofilme.[8] Essas descobertas foram relevantes para confirmar a etiopatogenia da onicomicose por *Fusarium*. Entretanto, não revelaram as características próprias do biofilme formado sob suporte nutricional. Assim, o presente estudo teve como objetivo caracterizar a formação de biofilme *in vitro* de *F. oxysporum*, avaliando sua capacidade natural, durante sete dias, com disponibilidade controlada de nutrientes.

Este estudo foi conduzido com *F. oxysporum* CMRP2925 isolado de um caso de onicomicose descrito anteriormente.[4] O isolado foi reativado para confirmar sua pureza e identificação, antes dos ensaios, e foi cultivado em meio Sabouraud Dextrose Agar (SDA; DifcoTM, MI, EUA) por sete dias a 25 °C. Os biofilmes foram preparados de acordo com Galletti et al.,[9] com algumas modificações. Suspensão contendo 1×10^7 conídios mL^{-1} foi preparada em meio RPMI 1640 (Gibco, NY, EUA), com L-glutamina, bicarbonato de sódio, ácido 3-(N-morfolino)propanossulfônico 0,165 M (pH 7,2) e glicose a 2%. Essa suspensão foi colocada em placas de microtitulação de fundo plano de 96 poços e incubada a 35 °C em agitador a 110 rev min^{-1}, por sete dias. A cada 24 horas, o meio de cultura era renovado removendo 100 μL do líquido antigo e adicionando o mesmo volume de RPMI fresco. Durante os sete dias, os biofilmes foram avaliados sob diferentes aspectos, como descrito anteriormente.[6,9] Resumidamente, a viabilidade celular foi avaliada pela contagem de unidades formadoras de colônias (UFC), quantificação da biomassa total por violeta cristal, atividade metabólica pelo ensaio de redução do sal de tetrazólio, 2,3-(2-metoxi-4-nitro-5-sulfofenil)-5-([fenilamino]carbonil)-2H hidróxido de tetrazólio (XTT), caracterização da matriz extracelular (MEC) e observação da estrutura do biofilme por microscopia eletrônica de varredura (MEV).

No geral, as características do biofilme foram semelhantes, traçando paralelo entre maior suporte nutricional com RPMI e apenas tecido ungueal.[6] Em ambas as situações, foi possível mostrar que o terceiro e quarto dias foram críticos. Em meio rico e pH neutro, o número de UFC permaneceu constante em todos os momentos (fig. 1A), desde o primeiro dia, com aumento da atividade metabólica no terceiro dia, estabilizando-se a partir desse momento. Perfil semelhante foi encontrado para proteínas e ácidos nucleicos. Curiosamente, os polissacarídeos foram significantemente consumidos até o terceiro dia, continuando a declinar gradualmente até o sétimo dia. Por outro lado, utilizando tecido ungueal como fonte nutricional, observou-se aumento de UFC até o terceiro dia, alta atividade metabólica apenas no quarto dia, enquanto o aumento de proteínas e carboidratos ocorreu tardiamente, corroborando os resultados dos ácidos nucleicos.[6] Essas diferenças podem ser atribuídas à disponibilidade de nutrientes, com renovação diária do meio RPMI (alimento à vontade), e ao fato de que no tecido ungueal (alimento restrito), o próprio fungo necessitou de período de adaptação.

Além disso, foi observado aumento progressivo na quantidade de biomassa (fig. 1B) entre o primeiro e o terceiro dias, seguido de estabilidade, o que parece estar associado ao consumo de polissacarídeos (fig. 2), componente fundamental durante o desenvolvimento

DOI do artigo original: https://doi.org/10.1016/j.abd.2024.11.005
☆ Como citar este artigo: Barros ILE, Veiga FF, Estivalet Svidzinski TI. *In vitro* characterization of biofilm produced by *Fusarium oxysporum*, an onychomycosis agent. An Bras Dermatol. 2025;100:560–3.
☆☆ Trabalho realizado na Universidade Estadual de Maringá, Maringá, PR, Brasil.