



Universidade do Estado do Rio de Janeiro

Centro Biomédico

Faculdade de Ciências Médicas

Andréia Pizarro Leverone

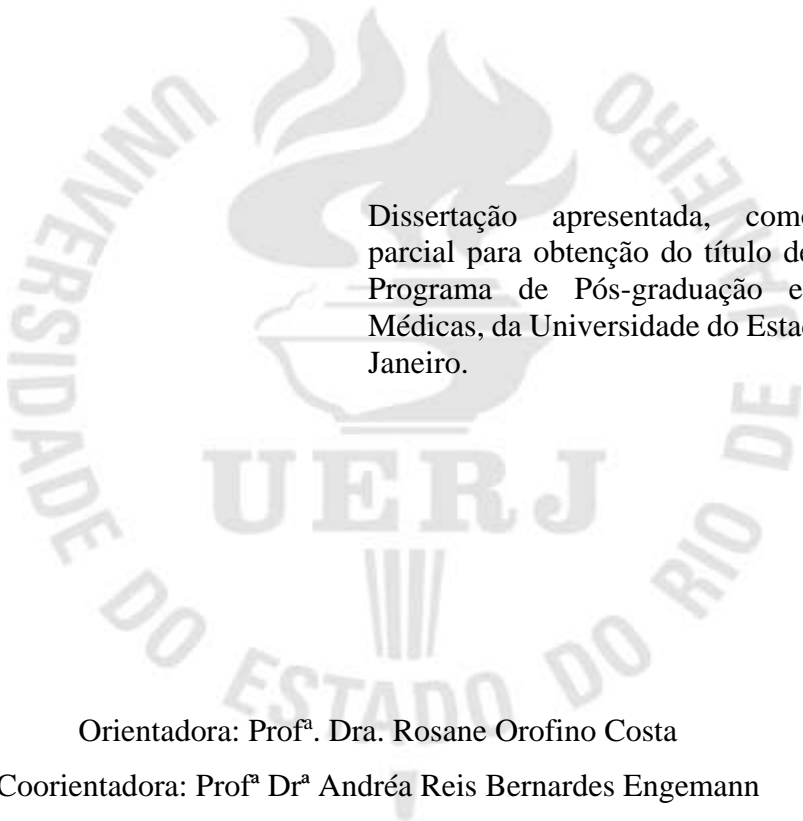
**Tratamento da onicomicose causada por *Neoscytalidium*
dimidiatum com laser de neodímio em cristal de ítrio-alumínio-
granada (*laser Nd:YAG*)**

Rio de Janeiro

2016

Andréia Pizarro Leverone

**Tratamento da onicomicose causada por *Neoscytalidium dimidiatum* com
laser de neodímio em cristal de ítrio-alumínio-granada (laser Nd:YAG)**



Dissertação apresentada, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre, ao Programa de Pós-graduação em Ciências Médicas, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro.

Orientadora: Prof^ª. Dra. Rosane Orofino Costa

Coorientadora: Prof^ª Dr^ª Andréa Reis Bernardes Engemann

Rio de Janeiro

2016

CATALOGAÇÃO NA FONTE
UERJ/REDE SIRIUS/BIBLIOTECA CB-A

L661 Leverone, Andréia Pizarro

Tratamento da onicomicose causada por *Neoscytalidium dimidiatum* com laser de neodímio em cristal de ítrio-alumínio-granada (laser Nd:YAG) / Andréia Pizarro Leverone – 2016.

115 f.

Orientadora: Prof^a Dra. Rosane Orofino Costa

Coorientadora: Prof^a Dr^a Andréa Reis Bernardes Engemann

Dissertação (Mestrado) – Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Faculdade de Ciências Médicas. Pós-graduação em Ciências Médicas.

1. Micoses – Teses. 2. Micoses fungóides – Teses. 3. *Neoscytalidium dimidiatum* – Teses. 4. Anticomicóticos – Teses. 5. Onicomicose. 6. Lasers de estado sólido. I. Costa, Rosane Orofino. II. Engemann, Andréa Reis Bernardes. III. Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Faculdade de Ciências Médicas. IV. Título.

CDU 616.5-002.72

Bibliotecária: Thais Ferreira Vieira – CRB7/5302

Autorizo, apenas para fins acadêmicos e científicos, a reprodução total ou parcial desta dissertação, desde que citada a fonte.

Assinatura

Data

Andreia Pizarro Leverone

Tratamento da onicomicose causada por *Neoscytalidium dimidiatum* com laser de neodímio em cristal de ítrio-alumínio-granada (*laser Nd:YAG*)

Dissertação apresentada, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre, ao Programa de Pós-graduação em Ciências Médicas, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro.

Aprovada em: 19 de dezembro de 2016

Orientadora:

Prof^a Dra. Rosane Orofino Costa

Faculdade de Ciências Médicas – UERJ

Coorientadora:

Prof^a Dr^a Andréa Reis Bernardes Engemann

Faculdade de Ciências Médicas – UERJ

Banca Examinadora:

Prof^a Dra. Jane Marcy Neffá Pinto

Universidade Federal Fluminense

Prof. Dr. Carlos Baptista Barcaui

Faculdade de Ciências Médicas – UERJ

Prof. Dr. Denizar Vianna Araujo

Faculdade de Ciências Médicas – UERJ

Rio de Janeiro

2016

DEDICATÓRIA

**DEDICO ESTE TRABALHO AOS MEUS PAIS, PELOS ENSINAMENTOS DE VIDA, ÀS MINHAS
FILHAS JULIA E VITORIA PELO AMOR, COMPREENSÃO E PACIÊNCIA NA MINHA AUSÊNCIA
E ÀS MINHAS AMIGAS DE CORAÇÃO, QUE SEMPRE ME APOIARAM, INCONDICIONALMENTE,
ATÉ O FIM.**

AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente, à minha família, base de tudo, por ter chegado até esse momento.

Às minhas amigas, pelo apoio e força nas horas difíceis, sempre com incentivos para continuar até o fim.

À minha querida e orientadora Professora Rosane Orofino Costa, que se tornou mãe nas horas em que precisava, e amiga em todas as outras, que não desistiu de mim e me conduziu até o fim. Obrigada pelos ensinamentos, pelos puxões de orelha quando foram necessários e, principalmente, pelo profissionalismo admirável, pelo qual procuro me inspirar. Difícil expressar com palavras tudo aquilo que vivemos nesses três anos.

À minha coorientadora e querida amiga Professora Andréa Reis, pelos ensinamentos e principalmente por ter tido a oportunidade de conviver com uma pessoa forte e admirável. Um ser humano incrível, como poucos eu conheci. Considero uma inspiração de vida.

Aos amigos do laboratório de Micologia HUPE/UERJ pelo carinho e profissionalismo, em especial ao Raphael, pela paciência, pois sem as lições de informática, nada teria acontecido.

À nossa querida secretária e amiga Denise, que ouvia meus desabafos sempre me dando força para continuar...

A todos os colegas da banca, que tiveram a paciência em me ouvir e aumentar meus conhecimentos.

Aos pacientes, que confiaram no meu trabalho, alguns me acompanham até hoje.

Agradeço ao Professor David Rubem Azulay, por ter me apoiado e compreendido a minha ausência no Serviço e à Professora, amiga e parceira Robertha Nakamura, pelo apoio e inspiração.

RESUMO

LEVERONE, Andréia Pizarro, *Tratamento da onicomicose causada por Neoscytalidium dimidiatum com laser de neodímio em cristal de ítrio-alumínio-granada (laser Nd:YAG)*. 2016. 115 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Médicas) – Faculdade de Ciências Médicas, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, 2016.

Os tratamentos tópicos e sistêmicos convencionais têm se mostrado ineficazes para o tratamento da onicomicose causada por *Neoscytalidium dimidiatum*. Terapias alternativas a base de luz, usadas para *tinea unguium* podem ser efetivas para outros agentes etiológicos. O objetivo deste estudo foi verificar a efetividade, tolerância e segurança do tratamento da onicomicose dos pés causada por *N. dimidiatum* utilizando como monoterapia o *laser* neodímio em cristais de ítrio-alumínio-granada (Nd:YAG). Foram incluídos pacientes com clínica de onicomicose dos pés e exame micológico direto e cultura positivos para *N. dimidiatum*. O tratamento consistia em quatro sessões de *laser* Nd:YAG 1064 nm com intervalos de seis semanas entre elas. Os pacientes foram acompanhados através de avaliação clínica, exame micológico direto e cultura por um período de 12 meses após o término do tratamento. Os critérios de cura usados na pesquisa se basearam em informações clínico-micológicas, sendo caracterizados como cura total, cura parcial, melhora clínica, falha terapêutica e reciva/recaída. Nenhum paciente obteve cura total ou parcial. Houve melhora clínica temporária em 40% dos pacientes ao final do tratamento com *laser*, que não persistiu durante o acompanhamento. O exame micológico direto permaneceu positivo em 87,5% pacientes ao término do tratamento e em 94,5% aos 12 meses pós-tratamento. *Neoscytalidium dimidiatum* foi isolado em cultura em 56,2% e 66,7% dos pacientes, respectivamente, ao término das aplicações do *laser* e aos 12 meses de acompanhamento. Foram observados eventos adversos além da dor relacionados ao tratamento, sendo um deles considerado grave. O *laser* Nd:YAG não foi considerado efetivo nem totalmente seguro como monoterapia para onicomicose causada por *N. dimidiatum*.

Palavras-chave: Onicomicose, *Neoscytalidium dimidiatum*, *laser*, tratamento, IGO

ABSTRACT

LEVERONE, Andréia Pizarro. Treatment of onychomycosis caused by *Neoscytalidium dimidiatum* with neodymium yttrium-aluminum- crystal laser (Nd: YAG laser). 2016. 115 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Médicas) – Faculdade de Ciências Médicas, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, 2016.

Conventional topical and systemic treatments have been shown to be ineffective for the treatment of onychomycosis caused by *Neoscytalidium dimidiatum*. Alternative light-based therapies used for tinea unguium could be effective for other etiologic agents. The objective of this study was to verify the effectiveness, tolerance and safety of the treatment of toenail onychomycosis caused by *N. dimidiatum* using the neodymium:yttrium-aluminum-garnet (Nd: YAG) as monotherapy. Patients with clinical toenail onychomycosis and direct mycological examination and culture positive for *N. dimidiatum* were included. The treatment consisted of four Nd: YAG 1064 nm laser sessions with six-week intervals between them. The patients were followed up by clinical evaluation, direct mycological examination and culture for a period of 12 months after the end of the treatment. The outcome criteria of cure was based in clinical features and mycology, and were defined as total cure, partial cure, clinical improvement, therapeutic failure and relapse/reinfection. Total or partial cure were not achieved in this study. There was a temporary clinical improvement in 40% of patients at the end of laser treatment, which did not persist during follow-up. Direct microscopy remained positive in 87.5% patients at the end of treatment and 94.5% at 12 months posttreatment. *Neoscytalidium dimidiatum* was isolated in culture in 56.2% and 66.7% of the patients at the end of laser treatment and at 12 months follow up, respectively. In addition to pain, adverse events related to the treatment were noted, one of them was considered severe. The Nd: YAG laser was neither effective nor totally safe as monotherapy for onychomycosis caused by *N. dimidiatum*.

Keywords: Onychomycosis, *Neoscytalidium dimidiatum*, laser, treatment, OSI

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Desenho esquemático das principais formas de invasão ungueal na onicomicose e sua correlação com os subtipos clínicos	21
Figura 2 -	Medida da área e da proximidade da matriz usada para o cálculo da gravidade da onicomicose.....	26
Figura 3 -	<i>Lasers</i> usados em Medicina.....	33
Figura 4 -	Principal tipo clínico de onicomicose por <i>Neoscytalidium dimidiatum</i> presentes nos pacientes tratados com <i>laser</i> Nd:YAG.....	54
Figura 5 -	Onicoscopia de lesão ungueal dermatofítoma-símile e ceratose subungueal nos pacientes tratados com <i>laser</i> Nd:YAG	55
Figura 6 -	Exemplos clínicos da medida de classificação da gravidade da onicomicose	56
Figura 7 -	Exemplos de evolução clínica de pacientes tratados com <i>laser</i> para onicomicose	58
Figura 8 -	Macromorfologia e micromorfologia de <i>Neoscytalidium dimidiatum</i> isolado dos pacientes tratados com <i>laser</i> Nd:YAG para onicomicose dos pés	60
Figura 9 -	Curva de sobrevida de Kaplan-Meier de 36 pacientes com onicomicose tratados com <i>laser</i> Nd:YAG, considerando-se a melhora clínica como desfecho	65
Figura 10 -	Curva de sobrevida para medir a influência da faixa etária no desfecho do tratamento com <i>laser</i> Nd-Yag	66
Figura 11 -	Curvas de sobrevida para medir a influência da duração da onicomicose no desfecho do tratamento com <i>laser</i> Nd:YAG	67
Figura 12 -	Alterações clínicas mais comumente observadas na lâmina ungueal durante o tratamento com <i>laser</i>	69
Figura 13 -	Evolução clínica de lesão necrótica causada pelo <i>laser</i> Nd:YAG em paciente tratado para onicomicoses dos pés	70

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 -	Percentual dos exames micológicos, direto e cultura, nos pacientes que permaneceram no protocolo de <i>laser</i> para onicomicose.....	62
Gráfico 2 -	Percentual dos desfechos atingidos pelos pacientes avaliados durante o tratamento com <i>laser</i> para onicomicose dos pés.....	64
Gráfico 3 -	Intensidade da dor relatada pelo uso do <i>laser</i> Nd:YAG para tratamento da onicomicose dos pés.....	68

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 -	Resumo dos principais trabalhos publicados sobre tratamento da onicomicose com terapia fotodinâmica.....	31
Quadro 2 -	Resumo dos principais trabalhos <i>in vivo</i> sobre onicomicose e <i>laser</i> publicados na literatura científica	39
Quadro 3 -	Resumo dos principais trabalhos publicados na literatura científica sobre onicomicose e <i>laser in vitro</i>	41
Quadro 4 -	Parâmetros usados para o acompanhamento dos pacientes tratados com <i>laser</i> para onicomicose por <i>Neoscytalidium dimidiatum</i>	46
Quadro 5 -	Principais sintomas relatados pelos pacientes durante a aplicação do <i>laser</i> Nd:YAG para onicomicose por <i>Neoscytalidium dimidiatum</i>	55
Quadro 6 -	Principais sintomas relatados pelos pacientes durante a aplicação do <i>laser</i> Nd-YAG para onicomicose por <i>Neoscytalidium dimidiatum</i>	68

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Pacientes eliminados do protocolo de <i>laser</i> para onicomicose ao longo do estudo.....	52
Tabela 2 -	Divisão por faixa etária e sexo dos pacientes tratados com <i>laser</i> para onicomicose dos pés causada por <i>Neoscytalidium dimidiatum</i>	52
Tabela 3 -	Comorbidades apresentadas pelos pacientes tratados com <i>laser</i> para onicomicose dos pés causada por <i>Neoscytalidium dimidiatum</i>	53
Tabela 4 -	Tempo de duração da doença nos pacientes tratados com <i>laser</i> para onicomicose dos pés causada por <i>Neoscytalidium dimidiatum</i>	53
Tabela 5 -	Percentual de comprometimento longitudinal das unhas nos pacientes com onicomicose por <i>Neoscytalidium dimidiatum</i> tratados com <i>laser</i> Nd:YAG	56
Tabela 6 -	Evolução clínica dos pacientes tratados com <i>laser</i> para onicomicose, avaliados pelo percentual longitudinal de unha doente	57
Tabela 7 -	Resultados clínicos avaliados pelo índice de gravidade da onicomicose nos pacientes tratados com <i>laser</i>	59
Tabela 8 -	Resultado do exame micológico direto em 36 pacientes tratados com <i>laser</i> Nd:YAG para onicomicose dos pés causada por <i>N. dimidiatum</i>	61
Tabela 9 -	Resultado da cultura para fungos nos pacientes tratados com <i>laser</i> Nd:YAG para onicomicose dos pés causada por <i>N. dimidiatum</i>	61
Tabela 10 -	Desfecho do tratamento com <i>laser</i> Nd:YAG para onicomicose dos pés por <i>Neoscytalidium dimidiatum</i>	63

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ALA -	Ácido 5-aminolevulínico
CEP -	Comitê de Ética em Pesquisa do HUPE-UERJ
DMSO -	Dimetilsulfóxido
EMD -	Exame micológico direto
EUA -	Estados Unidos da América
FFND -	Fungo filamentoso não-dermatófito
HUPE -	Hospital Universitário Pedro Ernesto
IGO -	Índice de gravidade da onicomicose
KOH -	Hidróxido de potássio
KTP -	Potássio-titânio-fosfato (<i>potassium-titanyl-phosphate</i>)
MAL -	Metilaminolevulinato
<i>N. dimidiatum</i> -	<i>Neoscytalidium dimidiatum</i>
Nd:YAG <i>laser</i> -	Neodímio em cristais de ítrio-alumínio-granada
ODT -	Onicomicose distrófica total
OSDL -	Onicomicose subungueal distal lateral
OSI -	Índice de gravidade da onicomicose
OSP -	Onicomicose subungueal proximal
PAS -	Ácido Periódico de Schiff
PASI -	Psoriasis Area Severity Index
PCR -	Reação em cadeia da polimerase
sp. -	Espécie
<i>T. rubrum</i> -	<i>Trichophyton rubrum</i>
<i>T. mentagrophytes</i> -	<i>Trichophyton mentagrophytes</i>
TCLE -	Termo de consentimento livre e esclarecido
TFD -	Terapia fotodinâmica
TRT -	Tempo de relaxamento térmico
UERJ -	Universidade do Estado do Rio de Janeiro

LISTA DE SÍMBOLOS

nm -	Nanômetro
% -	Porcentagem
® -	Registrado
CO ₂ -	Dióxido de carbono
J -	Joules
°C -	Graus Celsius
cm ² -	Centímetro quadrado
ns -	Nanosegundos
cm -	Centímetro
mseg -	Milisegundos
™ -	<i>Trademark</i>
mL -	Mililitros
mg/mL -	Miligramas por mililitros
L -	Litros
g -	Gramas

SUMÁRIO

	INTRODUÇÃO	16
1	FUNDAMENTOS TEÓRICOS	17
1.1	Onicomicose	17
1.1.1	<u>Agentes etiológicos</u>	17
1.1.2	<u>Fisiopatogenia</u>	18
1.1.3	<u>Classificação clínica</u>	19
1.1.4	<u>Diagnóstico diferencial</u>	21
1.1.5	<u>Diagnóstico laboratorial</u>	22
1.1.5.1	Exame micológico	22
1.1.5.2	Histopatológico da queratina ungueal distal (<i>clipping</i> ungueal)	23
1.1.5.3	Identificação molecular.....	23
1.1.5.4	Citometria de fluxo	23
1.1.6	<u>Métodos semiológicos complementares</u>	24
1.1.6.1	Microscopia confocal	24
1.1.6.2	Dermatoscopia	24
1.2	Índice de gravidade da onicomicose (IGO) ou OSI (<i>Onychomycosis Severity Index</i>)	25
1.3	O fungo	26
1.4	Tratamento	27
1.4.1	<u>Tópico</u>	27
1.4.2	<u>Sistêmico</u>	28
1.4.3	<u>Avulsão da unha</u>	28
1.4.4	<u>Combinado</u>	29
1.4.5	<u>Tratamento da onicomicose por <i>N dimidiatum</i></u>	29
1.4.6	<u>Terapias com luz</u>	30
1.4.6.1	Terapia fotodinâmica (TFD).....	30
1.4.6.2	<i>Laser</i>	32
1.5	Onicomicose e laser	36
1.5.1	<u>Estudo <i>in vivo</i></u>	38

1.5.2	<u>Estudo <i>in vitro</i></u>	38
2	OBJETIVOS	42
2.1	Objetivo geral	42
2.2	Objetivos específicos	42
3	METODOLOGIA	43
3.1	Desenho do estudo	43
3.2	Casuística	43
3.2.1	<u>Pacientes</u>	43
3.2.2	<u>Critérios de inclusão</u>	43
3.2.3	<u>Critérios de exclusão</u>	44
3.3	Métodos	44
3.3.1	<u>Avaliação epidemiológica</u>	44
3.3.2	<u>Exame clínico</u>	45
3.3.3	<u>Acompanhamento</u>	45
3.3.4	<u>Avaliação laboratorial</u>	46
3.3.4.1	Exame micológico	46
3.3.5	<u>Tratamento com <i>laser</i></u>	47
3.3.5.1	Equipamento	47
3.3.5.2	Protocolo de aplicação	47
3.3.6	<u>Avaliação médica global (desfecho)</u>	48
3.3.7	<u>Análise estatística</u>	48
3.4	Emendas ao estudo	49
3.4.1	<u>Emenda 1</u>	49
3.4.2	<u>Emenda 2</u>	50
4	RESULTADOS	51
4.1	Pacientes	51
4.2	Aspectos demográficos	52
4.3	Aspectos clínicos	54
4.4	Evolução	57
4.4.1	<u>Clinica</u>	57
4.4.2	<u>Avaliação laboratorial</u>	59
4.4.2.1	Exame micológico	59
4.5	<u>Avaliação médica global</u>	63

4.5.1	<u>Desfechos</u>	63
4.6	Tolerância e segurança	67
5	DISCUSSÃO	71
	CONCLUSÕES	78
	REFERÊNCIAS	79
	APÊNDICE A – Partial Necrosis of the Hallux in a Patient Treated With Laser for Onychomycosis: Is This Procedure Really Worthwhile? (Artigo publicado)	87
	APÊNDICE B – Laser treatment of onychomycosis due to <i>Neoscytalidium dimidiatum</i> : An open prospective study (Artigo publicado)	88
	ANEXO A - Parecer consubstanciado do Comitê de Ética em Pesquisa do HUPE/UERJ.....	96
	ANEXO B - Termo de consentimento livre e esclarecido <i>N dimidiatum</i>	99
	ANEXO C - Ficha clínica	101
	ANEXO D - Fórmulas químicas e composição dos meios de cultura utilizados no Laboratório de Micologia – HUPE/UERJ.....	107
	ANEXO E - Carta de cessão do equipamento.....	109
	ANEXO F - Aprovação da emenda 1 submetida ao CEP- HUPE	112
	ANEXO G - Aprovação da emenda 2 submetida ao CEP- HUPE	113

INTRODUÇÃO

A onicomicose é uma doença crônica do aparelho ungueal, causada por diferentes grupos de fungos, responsáveis por mais de 50% de todas as doenças ungueais, podendo acometer de 2-8% da população em geral. Pode resultar na distrofia da unha, acarretando dor e desconforto, além de causar impactos físicos e psicológicos negativos, como baixa da autoestima e possibilidade de contaminação de outras unhas ou de outras pessoas.

Constitui problema de saúde importante porque as infecções fúngicas nos tecidos adjacentes podem predispor o indivíduo a infecções bacterianas. A ruptura da barreira cutânea causada pelas fissuras que ocorrem devido à micose nos interdígito e na região plantar pode facilitar a penetração na pele das bactérias presentes na microbiota local, e levar a infecções mais profundas como a erisipela e celulite, sobretudo nos grupos de alto risco como os diabéticos. A infecção bacteriana secundária ocorre tanto nos pacientes imunocompetentes quanto nos imunossuprimidos.

Segundo a literatura médica, os dermatófitos são os agentes responsáveis por cerca de 90% das infecções das unhas dos pés, embora a prevalência das infecções ungueais causadas por fungos filamentosos não dermatófitos (FFND) tenha aumentado nas últimas décadas. Além disso, infecções mistas por dermatófitos e FFND não são raras. *Neoscytalidium dimidiatum* (*N. dimidiatum*) e *Fusarium* sp. são os principais FFND agentes de onicomicoses em nosso meio e não costumam responder às terapias convencionais com eficiência. O tratamento sistêmico e tópico, isolado ou combinado, com ou sem remoção da unha, já foram testados e não resultaram em cura. O tratamento convencional é longo, apresenta risco de eventos adversos e de interações medicamentosas, além de ter custo elevado. Esses são os principais fatores responsáveis pela baixa adesão do paciente à terapia convencional.

Nos últimos anos, terapias à base de luz vêm sendo avaliadas como alternativa ao tratamento da onicomicose causada por dermatófitos, principalmente nos pacientes que não podem fazer uso de medicações sistêmicas.

Pretendemos, nesse estudo, avaliar o uso do *laser* no tratamento da onicomicose dos pés causada por *N. dimidiatum*.

1 FUNDAMENTOS TEÓRICOS

1.1 Onicomicose

A onicomicose corresponde a qualquer infecção do leito ungueal causada por fungos. Os principais agentes etiológicos são os dermatófitos. A prevalência dos FFND é de 10 a 20%, sobretudo nos países de clima temperado (Simonnet et al., 2011). São capazes de invadir a pele sadia ou a queratina danificada, causando onicomicose e, por isso, deixaram de ser considerados meramente contaminantes ou colonizadores secundários (Elinav et al., 2009). Além dos fungos filamentosos, as leveduras do gênero *Candida*, têm seu papel bem estabelecido no processo de infecção (Meireles et al., 2008).

Os fatores que mais contribuem para o acometimento das unhas dos pododáctilos nas onicomicoses dos pés são a infecção plantar ou interdigital crônica, que geralmente constituem a fonte da infecção inicial, hiperidrose, unhas com alteração morfológica, hábito de andar descalço em academias de ginástica, chuveiros e vestiários públicos, e microtraumas frequentes causados pelo uso de calçados fechados (Sigurgeirsson & Baran, 2013). Por serem crônicas e recalcitrantes à terapia convencional, representam uma fonte endógena para o acometimento de outras áreas. Já foi demonstrada a importância do fator genético na transmissão da dermatofitose causada pelo *T. rubrum* (Zaias et al., 1996).

O tratamento das onicomicoses é longo, oneroso e nem sempre eficaz. Quando se considera como avaliação final a cura total, isto é, cura clínica e micológica e ausência de recidiva por pelo menos seis meses (Epstein, 2004), nenhum tratamento para *N. dimidiatum* foi totalmente eficaz. Observa-se melhora temporária da aparência clínica sem cura micológica, além de altos índices de recidivas (Elewski, 1998, Gupta et al., 2003, Cursi et al., 2013).

1.1.1 Agentes etiológicos

Os principais grupos de fungos agentes de onicomicose são os dermatófitos, os FFND e as leveduras.

- Dermatófitos – são fungos queratinofílicos capazes de colonizar e causar lesões clínicas no extrato córneo de homens e animais. Apresentam-se no parasitismo como filamentos hialinos, septados e arthroconídios e classificam-se de acordo com seu habitat em antropofílicos, zoofílicos e geofílicos. Os dermatófitos são divididos em três gêneros, *Trichophyton*, *Microsporum* e *Epidermophyton*. O gênero *Trichophyton* é o mais comumente isolado de material clínico (Lacaz et al., 2002). Os principais dermatófitos agentes de onicomicose são *Trichophyton rubrum* (*T. rubrum*), *Trichophyton mentagrophytes* (*T. mentagrophytes*) e *Epidermophyton floccosum* (*E. floccosum*), sendo os dois primeiros os mais frequentes (Koussidou et al., 2002).

- Fungos filamentosos não-dermatófitos – são encontrados comumente na natureza como sapróbios do solo ou patógenos de plantas (Lacaz, 2002; Araujo et al., 2003b) e podem ser hialinos ou demácios. Embora várias espécies de FFND tenham sido isoladas de unha, apenas algumas são identificadas como agentes de onicomicose. Estes incluem, mais frequentemente no nosso meio, *N. dimidiatum* e *Fusarium* sp, e, com menor frequência, *Aspergillus* sp, *Penicillium* sp, *Acremonium* sp, e *Scopulariopsis brevicaulis*.

- Leveduras – espécies de *Candida*, sobretudo a *Candida albicans*, são as leveduras que mais comumente causam onicomicose, principalmente nas unhas das mãos (Effendy et al., 2005).

1.1.2 Fisiopatogenia

O processo de infecção dos dermatófitos inicia-se com a adesão do arthroconídios (produto de fragmentação da hifa na reprodução assexuada) na superfície do tecido. Posteriormente ocorre a germinação e penetração da hifa no extrato córneo. Nessa etapa, para a manutenção da sua sobrevivência, o fungo utiliza como nutrientes macromoléculas do tecido do hospedeiro. No entanto, devido à seletividade da membrana plasmática, a digestão dos macronutrientes é extracorpórea, através da secreção de uma ampla variedade de enzimas proteolíticas, principalmente as proteases queratinofílicas (Peres et al., 2010).

As queratinases são enzimas secretadas pelo fungo e capazes de degradar a queratina, principal constituinte protéico de pele, pelo e unhas. Estão envolvidas no desencadeamento da resposta imune e são consideradas como um fator de virulência desses microrganismos.

Além das proteínas, os lipídios constituintes do tecido do hospedeiro, também são alvos das enzimas durante a patogênese da dermatofitose, apresentando atividade lipolítica dependendo da espécie fúngica (Muhsin et al., 1997).

Muito pouco se conhece sobre a patogenicidade dos FFND. São escassos os estudos mostrando que fungos do gênero *Neoscytalidium* (antigo *Scytalidium*) e *Fusarium* são capazes de metabolizar a queratina das unhas, mas com menor intensidade quando comparados aos dermatófitos, além de auxiliar na metabolização dos lipídios superficiais para sua sobrevivência no hospedeiro. A produção de enzimas extracelulares com atividade proteolítica como lipases, queratinases e amilases, pode ser importante na patogênese por hidrolisar a queratina encontrada nas unhas e no estrato córneo (Oyeka & Gugnani, 1997).

Na onicomicose, a forma de invasão da unha depende do agente etiológico e da suscetibilidade do hospedeiro; na maioria das vezes, a invasão começa pelo hiponíquio.

O *turnover* celular aumentado é uma tentativa de eliminação transepidérmica do fungo causando escamação do leito ungueal, observada no histopatológico como hiperqueratose, e consequente descolamento da lâmina (onicólise). A onicólise altera a coloração da unha, que em geral se torna amarelada. A invasão pode ocorrer também na superfície dorsal ou no meio da lâmina ungueal e ainda, pela borda proximal da unha, causando lesão subungueal e proximal, sendo esta última uma forma menos comum de invasão (Figura 1).

1.1.3 Classificação clínica

Há diversos tipos clínicos de onicomicose, que variam de acordo com a localização do fungo e com sua forma de penetração na lâmina ungueal.

Desde que Zaias propôs, pela primeira vez, em 1972, a classificação clínica para onicomicose, ela vem sofrendo modificações. A última classificação foi proposta por Hay e Baran em 2011 e classifica os subtipos de onicomicose em:

- Onicomicose subungueal distal e lateral (OSDL) – o local da invasão fúngica é a partir da superfície inferior distal ou lateral da unha, sendo essa a apresentação clínica mais comum.

Clinicamente apresenta-se com onicólise distal/lateral, hiperkeratose subungueal, e cromoníquia branco-amarelada ou acastanhada. A propagação proximal ocorre através das estrias longitudinais. Áreas com onicólise central da unha e dermatofitoma e (ou) estrias amareladas laterais, podem ocorrer.

- Onicomiose superficial (OS) - o fungo atinge a superfície superior da lâmina. Apresenta-se como áreas esbranquiçadas ou acastanhadas (dependendo do agente envolvido) em placa ou como estrias transversais, iniciando-se na dobra proximal da placa ungueal.

- Onicomiose subungueal proximal (OSP) - a invasão começa a partir da superfície inferior da dobra periungueal proximal. Clinicamente, observam-se pequenas placas, estrias transversais ou longitudinais na lâmina ungueal.

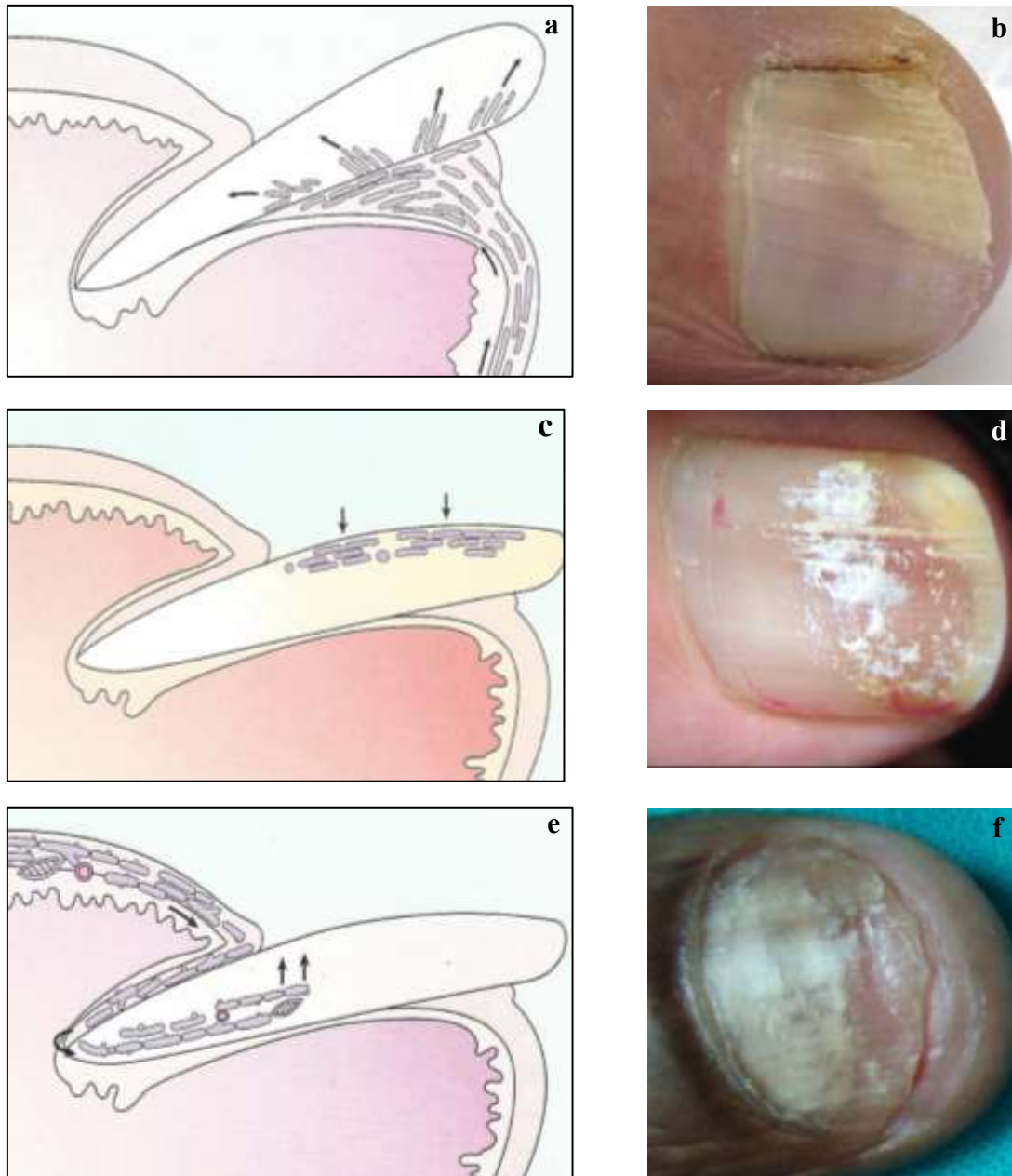
- Endonyx - a invasão fúngica ocorre no meio da lâmina ungueal a partir da extremidade distal da placa. Observam-se manchas esbranquiçadas na superfície (leuconíquia difusa, opaca). Não há invasão do leito e é a apresentação mais rara.

- Onicomiose distrófica total (ODT) - representa, habitualmente, a evolução secundária (ou estágio final) de outras formas não tratadas de onicomiose. Há destruição total da placa ungueal e o leito se torna espessado, normalmente coberto com *debris* celulares.

- Padrão misto – Diferentes padrões de infecção podem ocorrer em uma mesma unha. Há diversas possibilidades de combinações, as mais comuns são OSP e OS ou OSDL.

- Secundária – os fungos podem penetrar na placa ungueal e nos tecidos adjacentes secundariamente a outras doenças. Constituem exemplos a psoríase e onicólise traumática. Geralmente a clínica está associada à própria doença subjacente, como, por exemplo, a hiperkeratose causada por espessamento da lâmina ungueal na psoríase. O diagnóstico dessa unha distrófica é particularmente difícil. Nesses casos, investigações laboratoriais são necessárias para confirmar a presença de fungos (Hay & Baran, 2011). A Figura 1 mostra os principais tipos clínicos de onicomiose e sua correlação com a forma de invasão.

Figura 1 - Desenho esquemático das principais formas de invasão ungueal na onicomicose e sua correlação com os subtipos clínicos.



Legenda: a,b - subungueal distal e lateral; c,d - superficial; e,f - subungueal proximal.

Fonte: a, c, e - Baran et al., 1996; b, f - A autora, 2016; d - acervo pessoal autorizado por Nakamura R, 2016.

1.1.4 Diagnóstico diferencial

Clinicamente, as onicomicoses se assemelham a diversas doenças do aparelho ungueal, sobretudo psoríase, onicólise traumática e líquen plano. Métodos semiológicos como a

dermatoscopia e exames complementares como micológico direto e cultura para fungos e histopatológico são necessários para a elucidação do diagnóstico.

1.1.5 Diagnóstico laboratorial

A associação entre o exame micológico direto e isolamento e identificação do fungo em cultura é considerado o diagnóstico padrão ouro. O exame histopatológico pode afastar ou confirmar a invasão da unha pelo fungo.

1.1.5.1 Exame micológico

- Direto - o material coletado das unhas é colocado sobre uma lâmina, adiciona-se uma gota de solução aquosa de hidróxido de potássio (KOH) de 20-40%, geralmente em dimetilsulfóxido (DMSO), para a clarificação das escamas. Cobre-se essa preparação com lamínula e leva-se microscópio ótico buscando a presença de estruturas fúngicas (Lacaz et al., 2002; Zanardi et al., 2008).

- Isolamento e identificação – o restante do material coletado é semeado nos meios de ágar Sabouraud dextrose e ágar Mycosel®. O Sabouraud é considerado o meio de cultura básico para isolamento dos diferentes grupos de fungos e o Mycosel® é um meio seletivo, contendo ciclo-heximida, componente que inibe o crescimento de determinados fungos sapobios, inclusive o *N. dimidiatum*, sendo útil para o isolamento dos dermatófitos. O material semeado é incubado a 25-28 °C por uma a três semanas para posterior observação. A identificação é realizada através das características macromorfológicas da colônia e posteriormente pelas características micromorfológicas através de microcultivos (Sidrim & Moreira, 1999; Lacaz et al., 2002).

1.1.5.2 Histopatológico da queratina ungueal distal (*clipping* ungueal)

Método minimamente invasivo consiste no exame da lâmina ungueal sem biopsia. O fragmento da unha afetada é obtido através do corte da sua borda livre com um cortador (*clip*) ou alicate de unhas que segue para processamento e avaliação histopatológica através das colorações especiais para fungo (PAS e prata). Não identifica gênero e espécie, apenas se o fungo está invadindo a unha e se é filamentosos ou leveduriforme.

1.1.5.3 Identificação molecular

Consiste na amplificação enzimática de sequências de DNA ou RNA. A identificação molecular do fungo diretamente na placa ungueal (PCR em tempo real) facilita a distinção entre onicomicose e outras doenças ungueais de modo mais rápido, além de fornecer gênero e espécie (Brasch et al., 2011; Petinataud et al., 2016). No entanto, apesar de apresentar boa sensibilidade e especificidade, é uma técnica complementar que ainda não substitui as convencionais e não diferencia o verdadeiro agente etiológico de contaminantes, que muitas vezes fazem parte da flora ungueal normal ou transitória. A realização do exame requer técnicos e equipamentos especializados e não é capaz de diferenciar entre invasão e colonização. É um método promissor e em desenvolvimento, embora ainda precise de aperfeiçoamento. Também é usado como método de identificação precisa do fungo isolado em meios de cultura tradicionais e da sua posição filogenética.

1.1.5.4 Citometria de fluxo

Utiliza o tamanho e a granulosidade das células, bem como o DNA e as proteínas marcadoras para gerar diferentes perfis de fungos invasores da lâmina ungueal. Identifica a espécie e confirma a invasão fúngica, mas requer uma quantidade elevada de células fúngicas para ser eficiente.

1.1.6 Métodos semiológicos complementares

1.1.6.1 Microscopia confocal

Método relativamente simples, que permite o exame da epiderme e derme papilar com resolução próxima a do exame histopatológico, capaz de identificar estruturas microanatômicas e células individuais com alta resolução (Rito & Pineiro-Maceira, 2009). É uma técnica não invasiva que visa a detecção, em tempo real, de hifas na lâmina e provavelmente no leito ungueal, mas que não permite avaliar gênero e espécie, nem viabilidade fúngica. A sensibilidade e especificidade do exame para onicomicose ainda é desconhecido (Turan et al., 2015). Indolor, não causa dano ao tecido, mais rápido e preciso do que o microscópio convencional utilizado em preparações de KOH no diagnóstico de onicomicose (Hongcharu et al., 2000). Precisa de treinamento profissional para a utilização do equipamento e para a observação de estruturas fúngicas através da imagem. Não está disponível em todos os centros de diagnóstico, sua aquisição inicial tem custo elevado, mas pode ser compartilhado por diferentes especialidades e sub-especialidades. Constitui ferramenta semiológica complementar.

1.1.6.2 Dermatoscopia

- Definição – também chamada de microscopia de superfície *in vivo*, microscopia de epiluminescência ou diascopia com óleo de imersão. É um método semiológico não invasivo que auxilia o exame clínico de forma direta e permite ao médico avaliar lesões pigmentares da pele e definir se são ou não de natureza melanocítica. Permite o reconhecimento de estruturas morfológicas que não são observadas a olho nu e acrescenta nova dimensão ao exame clínico. A simplicidade é um dos grandes atrativos da dermatoscopia. O treinamento na interpretação dos achados dermatoscópicos das lesões e sua correlação com os aspectos clínicos e histopatológicos é fundamental para aumentar a eficiência no diagnóstico das lesões cutâneas (Ferreira et al., 2011).

- Dermatoscópico - é um dispositivo de microscopia de epiluminescência com luz polarizada, concebido para observar lesões da pele com clareza elevada e ampliação de 10 a 70 vezes. As imagens podem ser adquiridas anexando o dermatoscópico a uma câmara digital, o que permite ampliação ainda maior, ou podem ser acoplados a equipamentos digitais.

- Onicoscopia (dermatoscopia do aparelho ungueal) - pode ser uma ferramenta útil para elucidar os achados comuns nas doenças ungueais, como a onicomiose, a fim de reforçar a presunção do diagnóstico clínico, além de orientar o prognóstico de diferentes onicopatias. Alguns aspectos dermatoscópicos específicos já foram publicados e tem valor preditivo positivo para onicomiose (Nakamura & Costa, 2012; Piraccini et al., 2013).

1.2 Índice de gravidade da onicomiose (IGO) ou *OSI (Onychomycosis Severity Index)*

IGO foi criado por um consenso de dermatologistas em 2011, baseado no *PASI* (índice que mede a gravidade da área acometida pela psoríase) e conta com um sistema simples e semi-objetivo de reprodução numérica, para classificar a gravidade da onicomiose em leve, moderada e grave e prever o prognóstico. Este novo sistema de classificação pode ser uma ferramenta importante para os ensaios clínicos, pois serviria como um guia para a escolha do tratamento e para prever sua resposta. O IGO foi desenvolvido através da análise de fotografias de unhas doentes (Carney et al., 2011).

Na prática, essa ferramenta fornece uma avaliação rápida e fácil com relação à gravidade da onicomiose, servindo como parâmetro para comparação durante todo o tratamento e no período de acompanhamento. Sua fórmula de cálculo está representada abaixo:

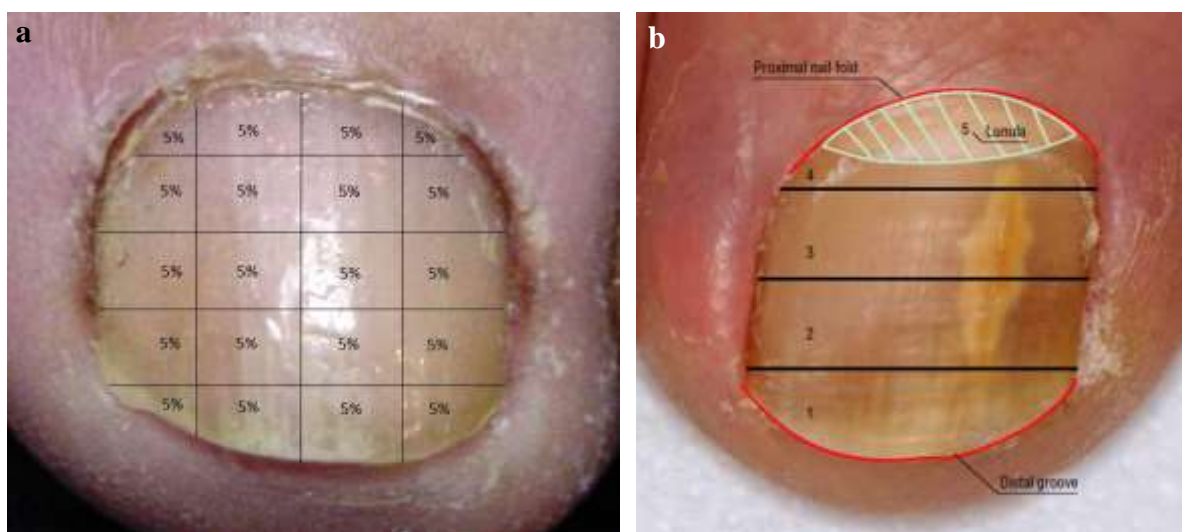
$$\text{IGO (índice de gravidade da onicomiose)} = \text{área} \times \text{proximidade da matriz} + 10$$

O acometimento da área varia de 1 a 5, onde **1** é o valor dado para acometimento de 1-10% da unha, **2** para 11 a 25%, **3** para 26 a 50%, **4** para 51 a 75% e **5** para $\geq 76\%$. Como os autores que desenvolveram o método para medir o IGO não apresentaram uma figura que pudesse servir de guia para esse cálculo (Carney et al., 2011), nosso grupo desenvolveu uma forma mais objetiva para determinar essa área de comprometimento (Figura 2a).

A Figura 2b mostra a variação de 1 a 5 para a variável “proximidade da matriz” usada no cálculo do IGO. Somam-se 10 pontos à fórmula se houver hiperqueratose subungueal (altura

medida entre o leito e a face ventral da lâmina) maior que dois mm e (ou) dermatofitoma, que representa coleção fúngica e se caracteriza clinicamente por manchas ou estriações branco-amareladas. Esses sinais clínicos indicam pior prognóstico.

Figura 2 - Medida da área e da proximidade da matriz usada para o cálculo da gravidade da onicomicose.



Legenda: a - esquema para medida da área acometida; b - medida para determinar a proximidade da matriz
 Fonte: a – idealizado por Engemann C & Bernardes-Engemann AR, 2013; b - Carney et al., 2011.

1.3 O fungo - *Neoscytalidium dimidiatum*

O gênero *Scytalidium* foi descrito em 1933 por Natrass como um fitopatógeno, na sua forma picnidial, *Hendersonula toruloidea*. Somente em 1970 foram relatados os primeiros casos de infecções cutâneas e ungueais em humanos. Esse fungo já foi conhecido como *Natrassia mangiferae*, *Scytalidium lignicola*, *Scytalidium dimidiatum* e *Scytalidium hyalinum* (Crous et al, 2006). Os autores propuseram um novo gênero, *Neoscytalidium*, para acomodar e diferenciar esse fungo de outros da família *Botriosphaeriaceae*. Sua nomenclatura taxonômica vem mudando e isso se deve especialmente aos estudos moleculares e filogenéticos realizados (Madrid et al, 2009). A identificação molecular dos aspectos fenotípicos antes classificados como variedade hialina e demácia em *N. hyalinum* e *N. dimidiatum* foi unificada em um só binômio, *N. dimidiatum*, pois ambos têm a mesma composição molecular, não havendo

variação genética que justifique separá-lo em duas variedades ou duas espécies (Phillips et al, 2013).

1.4 Tratamento

A onicomicose é uma doença crônica e recidivante. Apesar de haver diversos tratamentos disponíveis, cerca de 20% não respondem e até 50% podem recidivar num período de cinco anos se considerarmos os dermatófitos como causa (Scher, 1999). Se levarmos em consideração os FFND este número aumenta significativamente. Seguem, abaixo, os tratamentos que se encontram disponíveis até o momento para as micoses do aparelho ungueal.

1.4.1 Tópico

O tratamento das unhas é feito com esmaltes veiculados em substâncias que permitem sua penetração pela lâmina e atingem o leito ungueal, onde geralmente estão os fungos. A amorolfina a 5% ou o ciclopirox a 8% são os fármacos que se encontram disponíveis nessa apresentação e são usados de uma a três vezes por semana em monoterapia ou como terapia combinada. São eficazes *in vitro* para leveduras, dermatófitos e FFND. O ciclopirox tem ação ainda contra algumas bactérias Gram-positivas e Gram-negativas. Soluções tópicas são usadas em concentrações maiores como o tioconazol a 28% e recentemente o eficonazol a 10% e o tavaborol a 5%, ainda não disponíveis no mercado nacional (Gupta & Baran 2000; Gupta et al, 2000; Gupta et al, 2014; Toledo-Bahena et al., 2014). Estudo *in vivo* com anfotericina B (solução tópica), associado a avulsão química da unha com creme de uréia, mostrou-se eficaz para o tratamento de onicomicose causada por FFND (a maioria *Fusarium* sp.), embora o número de pacientes tenha sido pequeno (Lurati et al, 2011).

1.4.2 Sistêmico

As drogas disponíveis para uso por via oral nas onicomicoses são os derivados azólicos, em especial os triazólicos itraconazol ou fluconazol, além da terbinafina, um alilamínico. O itraconazol é fungistático, inibe a biossíntese do ergosterol da parede do fungo, tem amplo espectro de ação e pode ser administrado de forma contínua na dose de 200 mg/dia ou de maneira intermitente, também chamada de “pulso”, na dose de 400 mg/dia por sete dias de cada mês.

Atualmente a terbinafina é considerada padrão ouro para o tratamento sistêmico da onicomicose causada por dermatófitos. Um estudo de meta-análise mostrou que a dose diária de 250 mg desse medicamento por 3-4 meses resultou em cura micológica em 76%, enquanto que com o itraconazol usado de modo contínuo foi de 59%.

A terbinafina é fungicida, pode ser usada diariamente na dose de 250 mg/dia ou como pulso de 500 mg/dia durante sete dias do mês (Gupta et al., 2004). O esquema intermitente (pulso), tanto na dose de 250 mg/dia durante sete dias a cada mês quanto 500 mg/d durante sete dias a cada dois meses, associado à onicoabrasão foi significativamente efetivo, além de seguro e com menor custo no tratamento da onicomicose por dermatófitos, mostrando que pode ser útil para os pacientes atendidos na rede do SUS como terapia efetiva e econômica (Succi et al., 2013).

O fluconazol, também fungistático, é o menos eficaz contra fungos filamentosos, sejam dermatófitos ou não, e administrado na dose de 150-300 mg/semana. O tempo de tratamento depende do agente etiológico, da extensão da lesão ungueal e do *status* imunológico do hospedeiro, sendo o fluconazol o fármaco que necessita de maior duração, habitualmente até a cura clínica e micológica (Gupta & Shear, 2000).

1.4.3 Avulsão da unha

- Química – utiliza curativos oclusivos com uréia 40% ou 20% associada a ácido salicílico a 10%.
- Mecânica: através da onicoabrasão com aparelhos de baixa rotação e lixa fina.
- Cirúrgica: avulsão parcial ou total da lâmina ungueal

- Física: uso do *laser* de CO₂: destruição da área comprometida

A avulsão química ou mecânica facilita a penetração da droga, reduz o tempo de tratamento e diminui a espessura da placa ungueal. A remoção da lâmina ungueal é imprescindível nos casos onde existe ceratose subungueal importante (>2 mm) e dermatofitoma.

1.4.4 Combinado

Existem diversas possibilidades de combinação entre as modalidades terapêuticas já descritas, como, por exemplo, sistêmico e tópico, tópico e avulsão da unha, sistêmico, tópico e avulsão, entre outros (Shemer, 2012).

Numa revisão sobre o tema, concluiu-se que a terapia combinada é a melhor opção nos pacientes que se mostraram resistentes à monoterapia (Finch & Warshaw, 2007).

Novas combinações têm sido propostas, como a associação de *laser* com medicamento sistêmico ou tópico e TFD com *laser* para remoção da unha (Morais et al., 2013; Xu et al., 2014; Oliveira et al., 2015; Bahtta et al., 2016).

1.4.5 Tratamento da onicomicose por *N. dimidiatum*

O *N. dimidiatum* costuma ser resistente às terapias convencionais e são poucos os relatos de cura. O posaconazol (derivado triazólico) foi usado em pulso 400mg/dia por cinco dias do mês, durante três meses. O paciente ficou curado, mas recidivou após três meses (Dunand et al., 2010). Um outro trabalho relatou o tratamento com voriconazol por 12 semanas, com cura completa (Spriet et al., 2012). Essas drogas apresentam custo mais elevado e efeitos adversos que podem ser significativos, sem eficácia comprovada para este fungo. Corsi et al., 2013, combinaram terbinafina oral e/ou ciclopirox esmalte 8% com onicoabrasão e obtiveram melhora clínica e micológica, sendo que apenas um paciente obteve cura completa após 12 meses de tratamento. Recentemente, a amorolfina esmalte 5% foi usada com resultados

significativos (Bunyaratavej et al., 2016). A utilização da terapia fotodinâmica para tratar a onicomicose por *N. dimidiatum* foi proposta por Aspiroz e col. 2013.

1.4.6 Terapias com luz

1.4.6.1 Terapia fotodinâmica (TFD)

Tem como princípio a administração de uma droga fotossensibilizante e sua ativação subsequente pela luz de comprimento de onda correspondente ao espectro de absorção do agente fotossensibilizador. Na presença de oxigênio este produz espécies reativas de oxigênio tóxicas que inativam as células alvo (fungos e bactérias). Agentes fotossensibilizantes tópicos como o ácido 5-aminolevulínico (ALA) ou seu metiléster (MAL), assim como derivados da hematoporfirina e solução de curcuminóides entre outros, podem ser utilizados, seguidos da aplicação de fontes luminosas como lâmpadas de amplo espectro, de diodo e *lasers* (Watanabe et al., 2008; Torezan *e al.*, 2009; Sotiriou et al., 2010; Smijs & Stan, 2011).

Para realização deste tratamento é necessária a remoção da lâmina ungueal, que pode ser química, física ou cirúrgica. Apfelberg et al. em 1984 utilizaram *laser* de CO₂ para destruir a área comprometida da unha e Borovoy et al., em 1992 para facilitar a penetração do antifúngico tópico. Em 2015, Oliveira et al., utilizaram *laser* de CO₂ seguido de TFD. O quadro abaixo resume os principais estudos da literatura sobre a TFD no tratamento da onicomicose (Quadro1).

Quadro 1- Resumo dos principais trabalhos publicados sobre o tratamento da onicomicose com terapia fotodinâmica.

Ano	Autores	Fungos tratados	N de pacientes	N de sessões	Intervalo entre sessões (dias)	Droga	Tipo de luz	Monoterapia / Combinado	Grupo controle	Desfecho		Acompanhamento (meses)
										Cura clínica	Cura micológica	
2008	Watanabe et al.	NI	2	6 e 7	7	ALA	LED 630 nm	Uréia	Outras unhas	Melhora	Sim	6
2008	Piraccini et al.	<i>Trichophyton rubrum</i>	1	3	15	ALA	LED 630 nm	Uréia	Não	Sim	Sim	24
2010	Sotiriou et al.	<i>Trichophyton rubrum</i>	30	3	15	ALA	570-670 nm	Uréia	Não	37-43%	Parcial	18
2011	Aspiroz et al.	<i>Acremonium sclerotigenum</i>	1	3	15	MAL	LED 630 nm	Monoterapia	Não	Sim	Sim	12
2013	Silva et al.	NI	1	6	7	Derivado hematóporfirina	LED 630 nm	Uréia + Abrasão	Não	Sim	Sim	NI
2013	Aspiroz et al.	<i>N. dimidiatum</i>	1	4	7-15	MAL	LED 635 nm	Uréia + bifonazol 1%	Não	Sim	Sim com recidiva	6
2014	Figueiredo Souza et al.	Dermatófitos, <i>A. niger</i> , <i>Fusarium</i> sp., <i>Candida</i> sp	40	12	15	Azul de metileno 2%	LED 630 nm	Abrasão	40 FCZ + abrasão	80-90%	NI	12
2014	Figueiredo Souza et al.	<i>Trichophyton rubrum</i>	22	2	15	Azul de metileno 2%	LED 630 nm	Abrasão	Não	63% grave 100% moderado	Sim	12
2015	Oliveira et al.	<i>Trichophyton rubrum</i> <i>E. floccosum</i>	7	12	60	MAL	LED	CO ₂ fracionado	Não	Melhora 43%	Sim	12

Legenda: NI = não informado; LED = *light emitting diode*; FCZ = fluconazol; *E. floccosum* = *Epidermophyton floccosum*; nm = nanômetro; *A. niger* = *Aspergillus niger*; ALA = Ácido 5-aminolevulínico; MAL = metilaminolevulinato

Fonte: A autora, 2016.

1.4.6.2 Laser

Definição e histórico

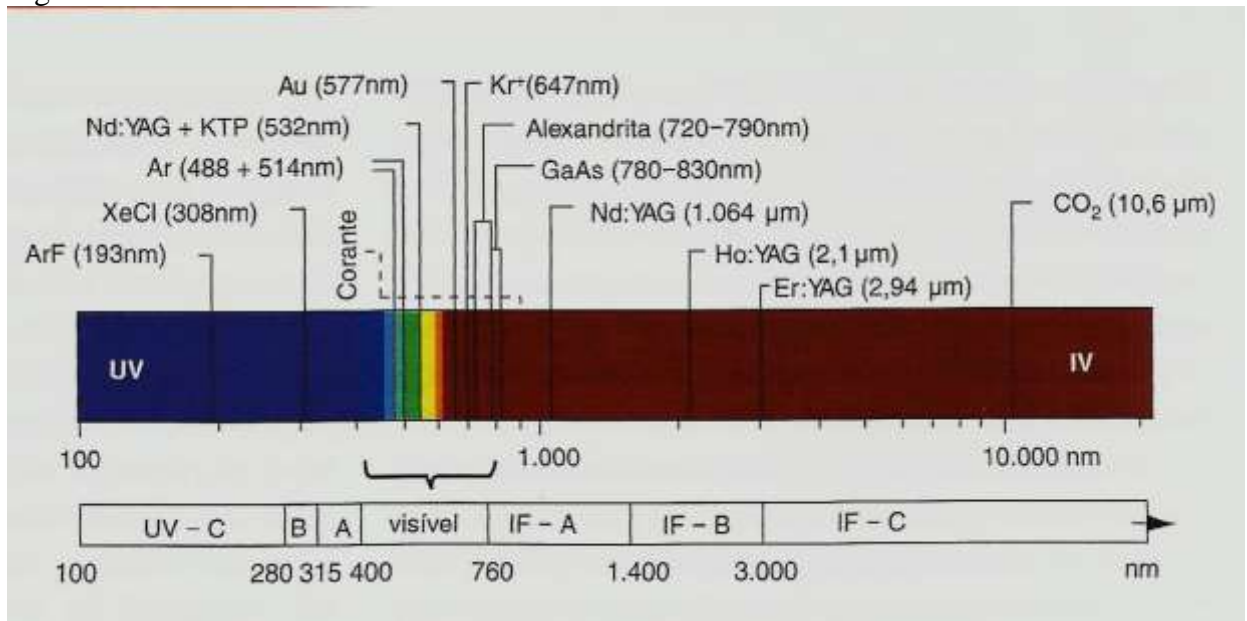
A palavra *laser* é um acrônimo criado por Gordon Gould, que significa *Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation* (amplificação da luz pelo efeito da emissão estimulada da radiação). *Lasers* são fonte de luz em todo o espectro de radiação eletromagnética, com características próprias que as diferem de outras fontes de luz.

O conceito teórico da luz que caminha em ondas de partículas, os fótons, e também o da “emissão estimulada”, se deve a Einstein, que embora não tenha inventado o *laser* forneceu a base para seu desenvolvimento. Em 1954, Townes, juntamente com James Gordon e Herbert Zeiger publicaram artigo que descrevia uma tecnologia chamada *MASER* (*Microwave Amplification by Stimulated Emission of Radiation*), utilizada em radares, que foi a precursora do que atualmente conhecemos como *LASER*. O prêmio Nobel de Física em 1964 foi dividido entre três físicos que aperfeiçoaram a tecnologia. O primeiro *laser* funcional foi inventado por Maiman em 1960 e era um *laser* pulsado de rubi. Com a introdução do conceito de fototermólise seletiva introduzido por Anderson e Parish, em 1983, o *laser* foi aperfeiçoado fazendo com que houvesse maior aplicação na medicina. Os equipamentos ficaram mais compactos e com maior eficiência na geração de energia e são usados tanto para diagnóstico quanto terapêutica (Osório & Torezan, 2009).

Composição

Os equipamentos de *laser* emitem luz no comprimento de onda que vai desde 100 nm até 1,0 mm, abrangendo a radiação ultravioleta, passando pela luz visível e chegando até o espectro do infravermelho (Figura 3).

Figura 3 - Lasers usados em Medicina.



Fonte: Raulin & Karsai, 2011

É formado basicamente por três componentes:

- Meio ativo – componente amplificador, pode ser sólido, líquido ou gasoso e contém átomos ou moléculas cujos elétrons por meio de saltos de níveis de energia, emitem luz - os fótons
- Fonte externa de energia - responsável pela produção de estados excitados. Atua no meio ativo, muitas vezes emitindo fótons sobre ele, tornando um grande número de átomos excitados.
- Cavidade óptica ou ressonador (emissão estimulada) - tem como objetivo fazer com que os fótons que emergem do sistema voltem para ele, produzindo mais emissão estimulada. Ocorre por meio de espelhos refletores, colocados nas extremidades da cavidade, e promovem cada vez mais a reflexão dos fótons de volta à amostra.

Princípios

Laser é fundamentalmente uma radiação **monocromática** (uma cor ou um comprimento de onda), **coerente** (sincronia no tempo e no espaço) e **colimada** (feixes em uma só direção, paralelos). O comprimento de onda é que define a especificação do *laser* a ser utilizado.

Quando o *laser* atinge a pele a luz pode ser absorvida, refletida, transmitida ou dispersada. Para obter efeito clínico é necessário que a luz seja absorvida pelo tecido (Primeira Lei de Fotobiologia de Grotthus-Draper). A luz que é refletida, transmitida ou dispersada não tem nenhum efeito (Raulin & Karsai, 2011).

Teoria da fototermólise seletiva

Introduzida na década de 80, essa teoria revolucionou a cirurgia cutânea a *laser*, cujo princípio é a destruição seletiva e específica de um alvo na pele através do calor, utilizando a luz como fonte de energia, preservando outros componentes teciduais adjacentes (Anderson e Parish, 1983). A escolha do comprimento de onda apropriado, que será absorvido pelo tecido ou cromóforo que se quer atingir é essencial para se conseguir a fototermólise seletiva. Para que não haja dano tecidual adjacente, a energia térmica fornecida à pele deve ser controlada, sendo possível pelo controle do tempo de exposição do tecido à luz, isto é, a duração do pulso (Kalil, 2014).

Parâmetros principais

Modo – o *laser* pode ser contínuo, pulsado ou superpulsado, curto ou longo. A escolha do pulso depende do alvo que se deseja atingir e a forma de destruição tecidual a alcançar. *Q-switched* (Qualidade modificada) é uma forma de aumentar a energia fazendo a luz pulsar dentro de um ressonador. Os pulsos produzidos são rápidos, na ordem de nanosegundos. O resultado é um pulso de *laser* de altíssima energia em tempo extremamente curto.

Fluência – é a energia da luz absorvida, medida em Joules (J)/cm², onde $J = \text{potência} \times \text{tempo}$.

Duração de pulso - período em que a energia liberada fica retida no tecido. Pulso longo significa que a energia é aplicada de forma mais lenta, diminuindo o dano térmico e protegendo o tecido adjacente ao alvo que se pretende atingir. No pulso curto a energia será fornecida de forma mais rápida, provocando maior dano térmico do tecido adjacente. A duração de pulso deve ser menor que o tempo de relaxamento térmico do cromóforo.

Tempo de relaxamento térmico (TRT) – tempo que o tecido leva para atingir a metade do calor gerado pelo *laser*. Cada alvo tem um TRT específico. Os principais cromóforos são hemoglobina, melanina e água. O TRT é dependente de outros fatores como conteúdo da estrutura, da área de exposição e de algumas propriedades térmicas que determinam a rapidez com que o calor se move através do alvo. Quanto mais cromóforos, maior o TRT e quanto maior a área de exposição ao calor, menor o TRT. Haverá confinamento máximo de calor no alvo quando a exposição do *laser* for menor do que o TRT do alvo. Se um objeto é aquecido por mais tempo do que o seu TRT, há tempo para difusão e aquecimento dos tecidos adjacentes, causando efeitos indesejáveis.

Tipos de laser

- a. Sólidos – Neodímio:YAG, KTP, Erbium:YAG, Hólmio:YAG, Túlio:YAG, Alexandrita, Rubi
- b. Gasosos – CO₂, Excimer, Íon Argônio, Hélio-Neônio
- c. Semicondutor – diodo
- d. Corante (*Dye laser*) – rodamina, fluoresceína, cumarina, verde de malaquita, entre outros

Neodímio em cristais de ítrio-alumínio-granada (Nd:YAG, neodymium:yttrium-aluminum-garnet).

Tem como componente amplificador um cristal de ítrio-alumínio-granada. Os íons são excitados por lâmpada de *flash* ou diodos de *laser* e trabalham no espectro próximo do infravermelho. O transporte do feixe de *laser* é feito por fibras ópticas e, em alguns casos, por braço articulado. É um *laser* de pulso longo, comprimento de onda de 1.064 nm e tem como alvo principal a hemoglobina, mas atinge também a melanina. É usado principalmente para tratamento de lesões vasculares.

Complicações

A fonte de luz do *laser* leva ao aquecimento dos tecidos e por isso, dependendo da intensidade, do local e das características individuais do paciente, pode causar, entre outros,

cicatrizes atróficas ou hipertróficas, eritema, edema, bolha, crosta, ulceração, necrose, alterações da pigmentação e infecções bacterianas e virais.

A maior parte dessas complicações decorre de indicação errada ou má técnica por falta de compreensão do funcionamento e manejo do aparelho (Osório & Torezan, 2009). Nos pacientes diabéticos deve-se ter atenção especial com a infecção dos pés, considerada complicação comum, pode acarretar mudanças no estilo e qualidade de vida do paciente. A existência de neuropatia periférica ou doença arterial periférica torna esses pacientes mais propensos às complicações nos pés, como úlceras, celulite, osteomielite e gangrena, podendo levar à hospitalização e até mesmo à amputação (Moutran et al., 2015, Leverone et al., 2015).

1.5 Onicomicose e *laser*

O uso de equipamentos a *laser* foi aprovado pelo órgão regulador americano, *Food and Drug Administration (FDA)* em 2011 para tratamento temporário das onicomicoses crônicas causadas por dermatófitos. Não há padronização de equipamentos, comprimentos de onda, número de sessões nem do intervalo entre elas. Por ser uma modalidade terapêutica nova, sem trabalhos amplos, randomizados e controlados e seguidos por um prazo mais longo não há promessa de cura. Diversos estudos demonstram a eficácia do *laser* no tratamento da onicomicose, a maioria causada por dermatófitos (Landsman et al., 2010, Hochman, 2011, Kimura 2012). No entanto, poucos são randomizados e controlados, alguns resultaram em fracasso do tratamento, portanto, ainda se faz necessário provar em bases científicas sólidas seu real benefício (Elewski, 2000). Já estão disponíveis trabalhos de revisão como os publicados por Ledon et al., 2014, Bahtta et al., 2014, Bristow et al., 2014 e Gupta & Paquet 2015.

O primeiro equipamento a *laser* aprovado pelo *FDA* em 2010 para melhora temporária da onicomicose causada por dermatófitos, foi o *PinPointe FootLaser™ (PinPointe EUA, Inc.)*, um *laser* de Nd-YAG, com comprimento de onda de 1064 nm e pulso curto. Entre 2010 e 2011 outros aparelhos, com características técnicas semelhantes e diferentes comprimentos de onda, foram aprovados nos Estados Unidos da América e na Europa como, por exemplo, *Genesis Plus™ (Cutera, Inc.)*, *Q-Clear™ (Light Age, Inc.)*, *Cool Touch Varia Breeze™ (Synera/Candela.)*, *Joule ClearSense™ (Sciton, Inc.)*, *Dualis™ (Fotona)*, *Noveon™ (Nomir Medical Technologies)*. Vale ressaltar que a aprovação dos equipamentos nem sempre se baseia em ensaios clínicos, mas nas semelhanças entre esses aparelhos com os que foram aprovados

anteriormente (Bergstrom, 2011; Hochman, 2011; Hamzaoui et al., 2011; Gupta & Simpson, 2012; Hees et al., 2012; Estados Unidos da América, 2014).

Seu mecanismo de ação ainda é desconhecido, embora se discutam o efeito fungicida pelo calor gerado pela fototermólise seletiva, a desnaturação de proteínas da queratina necessárias para o desenvolvimento do fungo ou, ainda, por imunomodulação local (Nenoff et al., 2014).

Os estudos do efeito causado pelo *laser* sobre os fungos, tanto *in vitro* quanto *in vivo*, são controversos. Inicialmente sugeriu-se que o efeito térmico seria responsável pela morte do fungo (Kosarev et al, 2010). A absorção da energia pelo fungo com temperatura acima de 55°C provocaria um efeito térmico no micélio com ação fungicida. Embora alguns estudos *in vitro* tenham demonstrado ação fungicida pelo calor, os resultados clínicos *in vivo* não acompanharam essa eficácia, pois a temperatura atingida na unha, suportável para o ser humano, não ultrapassa 50°C, portanto não causa o efeito fungicida esperado. Outros estudos não foram capazes de repetir o efeito fungicida *in vitro* mostrado anteriormente (Carney et al., 2013).

Bornstein et al., 2009, introduziram o conceito da formação de radicais livres e a influência do *laser* nas reações celulares. A energia absorvida pela xantomegnina e melanina poderia ser responsável pela eficácia do *laser*, já que os dois cromóforos são achados nas espécies de *Trichophyton* em grande quantidade (Vural et al., 2008; Zaias et al., 1996; Evans et al., 1998). Nenoff et al., 2014 sugerem que a desnaturação de proteínas da queratina necessárias para o desenvolvimento do fungo ou, ainda, a imunomodulação local podem ser fatores importantes no mecanismo de ação para o sucesso do tratamento.

O primeiro *laser* a ser usado no tratamento da onicomicose foi o de CO₂. É ablativo e seu mecanismo de ação ainda é desconhecido. Contudo, quando associado a medicações tópicas, pode facilitar a penetração da droga na unha, mecanismo conhecido como *drug delivery*. O fracionamento do *laser* foi desenvolvido para aumentar os efeitos ablativos da terapia diminuindo os danos teciduais para evitar os efeitos adversos. Entretanto, esse tipo de tratamento requer um tempo de realização maior devido à aplicação de anestesia tópica sob oclusão na unha infectada e no tecido periungueal (Lim et al., 2014 e Bhatta et al., 2016). Estudo recente mostra a eficácia de aproximadamente 80% na associação do *laser* de CO₂ com medicação tópica, mas inferior se comparada à terapia combinada clássica (71-86%) no tratamento da onicomicose (Bhatta et al., 2016).

1.5.1 Estudos *in vivo*

A maioria dos 19 estudos ou série de casos publicados nas principais revistas científicas utilizaram o *laser Nd-YAG* 1064 nm; diodo e CO₂ foram também usados para o tratamento da onicomicose. O número de pacientes, a fluência, a quantidade de sessões e os intervalos entre elas variaram muito, assim como o desenho do estudo, o que inviabiliza sua comparação. Em poucas publicações os autores incluíram o exame micológico no critério de cura. Este nem sempre incluiu a cura clínica e micológica, muitas vezes sendo considerada apenas a melhora clínica medida de forma subjetiva, apenas por fotografias. O desfecho não foi semelhante nesses estudos. O acompanhamento dos pacientes após o tratamento não foi padrão (Quadro 2). A maioria dos trabalhos foram realizados para tratar dermatófitos e *Candida*. Apenas em um artigo, o tratamento com *laser* foi testado para *N. dimidiatum* (Wanitphakdeedecha et al., 2016).

1.5.2 Estudos *in vitro*

Estudos *in vitro* utilizando o *laser*, principalmente o Nd-Yag 1064 nm, foram realizados com a intenção de verificar se o calor gerado pelos equipamentos seria o responsável pela ação fungicida ou fungistática sobre dermatófitos e outros fungos. Os equipamentos utilizados e parâmetros foram diferentes, assim como a metodologia. Não houve consenso entre os resultados obtidos (Quadro 3). Poucos agentes etiológicos foram testados (*T. rubrum*, *Candida* sp., *N. dimidiatum* e *E. floccosum*).

Quadro 2 - Resumo dos principais trabalhos sobre onicomicose e *laser in vivo* publicados na literatura científica. (Continua)

Data	Autores	Desenho do estudo	Nº pacientes (p) ou unhas (u)	Tipo de laser	Parâmetros do laser				
					Comprimento de onda (nm)	Fluência (J/cm ²)	Tamanho do spot mm ou cm ²	Duração do pulso	Frequência do pulso (Hz)
2009	Harris et al.	Randomizado controlado	14 u	Nd:YAG	1064	40	4	0,3	1
2009	Kosarev.	Não controlado	14 p	Nd:YAG	1064	35-40	4	25 ms	1
2010	Landsman et al.	Randomizado controlado	26 u	Diodo	870 + 930	212-204-424	1,77cm ²	NI	NI
2010	Kosarev & Vižintin.	Não randomizado Não controlado	72 p	Nd:YAG	1064	35-40	4	35 ms	1
2011	Hochman et al.	Não randomizado Não controlado	8p	Nd:YAG	1064	223	2	0,65 ms	NI
2011	Kosarev	Não randomizado Não controlado	162p	Nd:YAG	1064	35-40	4	35 ms	1
2012	Kimura et al.	Não randomizado	13p	Nd:YAG	1064	14	5	0,3 ms	5
2012	Ortiz et al.	Randomizado placebo-controlado	10p	Nd:YAG	1320	NI	5	350 mcs	20
2012	Zhang et al.	Randomizado	33p	Nd:YAG	1064	240-324	3	30 ms	1
2013	Carney et al.	Prospectivo	10p	Nd:YAG	1064	16	5	0,3 ms	2

Quadro 2 - Resumo dos principais trabalhos sobre onicomicose e *laser in vivo* publicados na literatura científica. (Conclusão)

2013	Kalokasidis et al.	Prospectivo	131p	Nd:YAG Q-switched	1064/532	14	2,5	9 bilhões de segundo	5
2013	Noguchi et al.	Série de casos	12p	Nd:YAG	1064	10	6	0,5 ms	2
2014	Lim et al.	Prospectivo	24p	CO ₂	ND	160mJ	150/cm ²	NI	NI
2014	Hollmig et al.	Controlado randomizado	27p	Nd:YAG	1064	5	6	0,3	6
2014	Garcia	Não randomizado Não controlado	120p	Nd:YAG Q-switched	1064	600	3	NI	3
2015	Helou et al.	Série de casos	30p	Nd:YAG	1064	NI	NI	NI	NI
2015	Renner et al.	Prospectivo	24p	Diodo	1064	5,1	4	80 ms	5,6
2016	Wanitphakdeedecha et al.	Não randomizado	35p	Nd:YAG	1064	35-45	4	30-35 ms	1
2016	Karsai et al.	Prospectivo randomizado controlado	20p	Nd:YAG	1064	20	1.5	0.1ms	30
2016	Kim et al.	Randomizado controlado	13p	LPNY	1064	16	5	0.3ms	10

Legenda: NI = não informado; mcs = microssegundos; ms = milissegundos; cm = centímetro; cm² = centímetro quadrado;

Fonte: A autora, 2016.

Quadro 3 - Resumo dos principais trabalhos publicados na literatura científica sobre onicomicose e *laser in vitro*.

Data	Autores	Tipo de <i>laser</i>	Parâmetros do <i>laser</i>				
			Comprimento de onda (nm)	Fluência (J/cm ²)	Tamanho do spot (mm)ou(cm)	Duração do pulso	Frequência do pulso (Hz)
2009	Bornstein et al.	diodo	870 + 930	4074 e 4500	1-4 cm	NI	NI
2008	Vural et al.	Nd:YAG Q-switched	1064 e 532	1-10	2	NI	10
2010	Manevitch et al.	Titânio	800	10^{31} - 10^{33} fótons m ⁻² s ⁻²	NI	NI	76
2012	Hees et al.	Nd:YAG Q-switched	532 e 1064	4-100	2	6 ns a 40 ms	NI
2013	Carney et al.	Nd:YAG	1064	5-50	3-5	0,1-0,3 ms	7-10

Legenda: NI = não informado; ns = nanosegundos; ms = milissegundos; cm = centímetro; cm² = centímetro quadrado.

Fonte: A autora, 2016.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Avaliar uma nova modalidade terapêutica para a onicomicose causada por *Neoscytalidium dimidiatum* utilizando o *laser* como ferramenta.

2.2 Objetivos específicos

- Verificar a efetividade do tratamento da onicomicose dos pés causada por *N. dimidiatum* utilizando como monoterapia o *laser* neodímio em cristal de ítrio-alumínio-granada (*Neodymium:yttrium-aluminum-garnet - Nd:YAG*);
- Observar a tolerância e segurança deste tratamento através dos eventos adversos, sinais e sintomas clínicos.

3 METODOLOGIA

3.1 Desenho do estudo

Este é um estudo aberto, prospectivo, de intervenção antes/depois, não randomizado, não controlado e foi submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa do HUPE, sendo aprovado sob o nº CAAE 15369813.2.0000.5259 (anexo A).

3.2 Casuística

3.2.1 Pacientes

A seleção para o estudo consistia de pacientes diagnosticados com onicomicose dos pés causada pelo fungo *Neoscytalidium dimidiatum* no Laboratório de Micologia do HUPE-UERJ.

3.2.2 Critérios de inclusão

- a. Quadro clínico compatível com onicomicose subungueal em pelo menos um hálux;
- b. Exame micológico direto positivo evidenciando hifas septadas, hialinas ou demácias e (ou) arthroconídios e isolamento e identificação do *N. dimidiatum* na unha alvo;
- c. Pacientes sem uso de medicações e (ou) esmaltes cosméticos tópicos há mais de 15 dias, esmaltes antifúngicos há mais de um mês e antifúngicos sistêmicos há mais de três meses;
- d. Ser capaz de entender e assinar o termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE – anexo B);
- e. Condição de retorno às consultas agendadas.

3.2.3 Crêterios de exclusão

- a. Menores de 18 anos;
- b. Gravidez e aleitamento;
- c. Imunossupressão grave;
- d. Não quiseram ou não puderam participar e (ou) retornar às consultas do protocolo.

3.3 **Métodos**

Para coleta dos dados utilizou-se como instrumento um questionário específico, presente no anexo C.

3.3.1 Avalia o epidemiológica

Todos os pacientes foram submetidos a um questionário, no qual foram coletados os dados demográficos e epidemiológicos, a presença de comorbidades como diabetes melito, doença cardiovascular, degenerativa e infecto-contagiosa ou neoplasia maligna, doença ou medicamento imunossupressor. Perguntava-se ainda se usavam medicamentos ou se tinham algum tipo de alergias (urticária, de contato, dermatite at pica, ou medicamentosa).

Com rela o   onicomicose, o paciente foi questionado sobre o tempo de evolu o, história de trauma local, se realizou algum tipo de tratamento anterior, qual e por quanto tempo, bem como sobre o uso de antifúngico t pico há menos de duas semanas, esmaltes antifúngicos há menos de um mês e antifúngico sistêmico há menos de três meses.

3.3.2 Exame clínico

No exame dermatológico foram examinadas as regiões palmo-plantares e interdigitais dos pacientes buscando a presença de descamação, eritema, vesícula, crosta ou exsudação. Pacientes que apresentavam lesões descamativas na região plantar e (ou) interdigital dos pés, foram tratados com creme de butenafina 1% diariamente, por 45 dias.

A unha alvo foi classificada clinicamente de acordo com a forma de invasão do fungo (Figura 1). As outras unhas dos pés também foram examinadas e todos os dados anotados em ficha clínica padronizada (anexo C). O exame da unha alvo, hálux direito ou esquerdo, tinha como objetivo anotar as alterações clínicas como cor, onicólise, ceratose subungueal, aumento da espessura da lâmina, onicorrexe, onicosquizia e a presença de dermatofitoma-símile.

O percentual longitudinal de comprometimento da unha doente (unha alvo) foi agrupado em <25%, 25-50%, 51-75% e >75% e medido a cada visita.

Índice de gravidade da onicomiose (IGO) foi aplicado para medir a gravidade da doença e, conseqüentemente, seu prognóstico, no início, ao término dos procedimentos a *laser* e nas visitas de acompanhamento, aos nove e 12 meses após o término do tratamento.

Utilizou-se o dermatoscópio de bolso Dermlite II Hybrid da 03 GEN, EUA, aumento de 10x, como recurso semiológico auxiliar.

Foi utilizada a máquina digital Sony® modelo Cyber-shot modelo DSC-H10, sem uso de flash, procurando-se colocar, sempre que possível, o paciente em condições semelhantes de posicionamento e iluminação. A documentação fotográfica foi realizada em todas as visitas para análise das medidas de área, proximidade da matriz e percentual longitudinal de comprometimento.

3.3.3 Acompanhamento

Os pacientes foram acompanhados durante o período dos procedimentos (quatro sessões de *laser* com intervalo de seis semanas entre elas), seguidos de consultas de retorno a cada três meses durante um ano, totalizando 18 meses. Havia um intervalo de tolerância de duas semanas no período dos procedimentos e de quatro semanas nas avaliações de retorno (Quadro 4).

Quadro 4 - Parâmetros usados para o acompanhamento dos pacientes tratados com *laser* para onicomicose por *Neoscytalidium dimidiatum*.

	Seleção	V0	V1	V2	V3	V4	V5	V6	V7	V8
Exame micológico	X				X		X	X	X	X
Avaliação clínica		X		X	X	X	X	X	X	X
Documentação fotográfica		X	X	X	X	X	X	X	X	X
Dermatoscopia			X	X	X	X	X	X	X	X
Aplicação do <i>laser</i>			X	X	X	X				
Índice de gravidade da onicomicose		X				X			X	X
Avaliação médica global						X				X

Legenda: V0= inclusão, V1= 1ª sessão; V2= 2ª sessão; V3= 3ª sessão; V4= 4ª sessão (término do tratamento); V5= controle micológico; V6= 3 meses pós-tratamento; V7= 6 meses pós-tratamento; V8= 9 meses pós-tratamento; V9= 12 meses pós-tratamento.

Fonte: A autora, 2016.

3.3.4 Avaliação laboratorial

3.3.4.1 Exame micológico

Realizado no Laboratório de Micologia, Serviço de Dermatologia, HUPE/UERJ, foi considerado critério para inclusão e, portanto, realizado em todos os pacientes do estudo antes do tratamento. Em seguida era repetido quatro a seis semanas após a 2ª aplicação do *laser* e depois, a cada três meses, até completar um ano de acompanhamento. Consistia em:

- Coleta – o raspado ungueal era feito com o auxílio do esculpador Lecron estéril, sendo o local da coleta escolhido de acordo com o subtipo clínico da onicomicose.

- Exame direto – o material colhido foi clarificado pelo KOH 20% em DMSO (anexo D), sendo considerado positivo quando apresentasse hifas septadas, hialinas ou demácias e (ou) arthroconídios.

- Isolamento e identificação – o material era semeado em meio de ágar Sabouraud dextrose e ágar Mycosel® modificado (anexo D). O fungo isolado foi identificado através das suas características macro e micromorfológicas.

3.3.5 Tratamento com *laser*

3.3.5.1 Equipamento

Foi utilizado um *laser* não ablativo de pulso contínuo, longo e comprimento de onda de 1064 nm (*Nd:YAG* [neodímio em cristal de ítrio-alumínio-granada $Y_3Al_5O_{12}$], modelo *Genesis™*, *Cutera, Inc.*, EUA), fornecido através de locação gratuita ao Serviço de Dermatologia do Hospital Universitário Pedro Ernesto, Universidade do Estado do Rio de Janeiro (HUPE/UERJ), nas datas e horários agendados previamente com a firma responsável pela distribuição oficial do produto no Brasil (anexo E).

3.3.5.2 Protocolo de aplicação

O tratamento foi realizado em todas as unhas comprometidas dos pododáctilos, avançando até cerca de 2,0 mm nas bordas periungueais proximal e lateral, com os seguintes parâmetros, aproximadamente: fluências de 16 J/cm^2 , duração de pulso 0,3 mseg, taxa de repetição de 2-3 Hertz. As unhas afetadas foram submetidas a quatro ciclos de *laser* por sessão. O total de disparos foi em média de 400 para o 1º pododáctilo e 400 para os outros dedos do pé, sendo no máximo 800 disparos por pé (*Cutera, Inc.*, 2013).

O intervalo médio entre as aplicações foi de seis semanas, totalizando quatro sessões por paciente. Para medir a temperatura alcançada na lâmina ungueal durante o tratamento foi utilizado um termômetro digital, marca Kiltherm, modelo KM-300.

Durante o tratamento com *laser*, os pacientes foram questionados sobre possíveis eventos adversos como, por exemplo, calor e intensidade da dor, se leve, moderada ou intensa e sobre a melhora ou piora do quadro ou, ainda, se este permaneceu inalterado. Os parâmetros como taxa de repetição e fluência, assim como a forma intermitente de aplicação foram alterados de acordo com a tolerância do paciente.

3.3.6 Avaliação médica global (desfecho)

Foi realizada ao término das sessões de aplicação do *laser* e doze meses após o término do tratamento, baseando-se nos seguintes critérios:

- a. Cura total - unha sadia (cl clinicamente sem lesão) e exame micológico direto e cultura negativos, segundo critérios de Epstein, 2004.
- b. Cura parcial - melhora clínica (menos de 25% de unha lesada no sentido longitudinal) e exame micológico direto e cultura negativos.
- c. Melhora clínica - melhora clínica em comparação com o exame inicial, porém com mais de 25% de unha lesada e exame micológico direto e (ou) cultura ainda positivo.
- d. Falha terapêutica - exame clínico inalterado ou com piora e exame micológico direto e (ou) cultura positivo.
- e. Recidiva/recaída - após atingir a cura total ou parcial apresenta piora clínica e (ou) exame micológico direto e (ou) cultura positivo.

3.3.7 Análise estatística

Os dados evolutivos do resultado para EMD, cultura, percentual longitudinal de unha doente e IGO nas diferentes fases do trabalho foram analisados em tabelas descritivas.

Foram utilizados os testes Qui-quadrado e exato de Fisher para avaliar a distribuição entre sexo, faixa etária e duração da doença.

A curva de sobrevivência de Kaplan-Meier foi utilizada para avaliar o desfecho do tratamento com *laser* para onicomicose e o teste de log-Rank foi usado para verificar se a influência da faixa etária e do tempo de evolução da onicomicose tinham significância no desfecho do tratamento. O teste *t* de Student foi utilizado para verificar se havia diferença estatística no escore do IGO, ao longo do estudo.

O nível de significância foi considerado como $p < 0,05$ para todos os testes estatísticos. Os programas Excel (Microsoft Office® 2010, Microsoft Corporation, EUA) e R versão 3.2.3 (R Core Team, 2015, Áustria) foram usados nas análises estatísticas.

3.4 Emendas ao estudo

3.4.1 Emenda 1

Motivo

O tratamento da onicomicose com *laser* foi aprovado pelo órgão de regulação dos Estados Unidos da América para os dermatófitos, em especial *T. rubrum*, embora ainda não existam trabalhos randomizados e controlados. A ação do *laser Nd:Yag* sobre os dermatófitos causadores de onicomicose vem sendo estudada nos últimos anos. Foram aventadas diversas hipóteses, mas nenhuma tem comprovação científica até a data da submissão desta emenda. Da mesma forma, ainda não há padrão de tratamento como número de aplicações ou intervalo entre as sessões. A maioria das publicações sugere uma, duas ou três sessões e intervalos que variam de uma a seis semanas. Todos relatam melhora significativa, qualquer que seja a metodologia usada.

Esse estudo visa encontrar uma alternativa terapêutica para um fungo altamente resistente, o *N. dimidiatum*. Para melhorar a qualidade científica deste estudo sentimos a necessidade da inclusão de um grupo para comparação, que respalde nossos resultados. Como o *T. rubrum* e o *T. mentagrophytes* são os dermatófitos habitualmente testados nas publicações sobre tratamento das onicomicoses com *laser*, e os mais comumente isolados de unhas,

solicitamos autorização para incluir esse grupo para comparação no nosso estudo. Esse tratamento poderá trazer benefícios a esse novo grupo a ser incluído.

Aprovação pelo CEP

A emenda foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa do HUPE-UERJ em 06 de novembro de 2013 (anexo F).

3.4.2 Emenda 2

Motivo

O tratamento da onicomicose com tecnologias a *laser* foi aprovado para melhora temporária da onicomicose causada por fungos dermatófitos. No entanto, não há padrão nem quanto ao número de sessões necessárias nem da duração do mesmo ou do intervalo entre elas. Além disso, a liberação pressupõe revisões à essa aprovação, já que não há consenso. Não encontramos na literatura especializada, após ampla pesquisa, tratamento padrão efetivo para a onicomicose causada pelo fungo filamentosso *Neoscytalidium dimidiatum*, havendo apenas casos isolados ou série de casos publicados, com resultados e metodologias diferentes. Pelo exposto acima, não há como criar um grupo controle para este protocolo, motivo pelo qual solicitamos aos membros do CEP-HUPE permissão para a retirada do grupo *Trichophyton* incluído na Emenda 1. Informamos que não haverá prejuízo aos pacientes do grupo *Trichophyton*, já que foram incluídos e tratados. É nosso compromisso publicar esse grupo como série de casos em revista científica ou como apresentação em congresso.

Aprovação pelo CEP

A emenda foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa do HUPE-UERJ em 20 de abril de 2016 (anexo G).

4 RESULTADOS

4.1 Pacientes

No período compreendido entre junho de 2013 e setembro de 2014 (16 meses), o Laboratório de Micologia do HUPE diagnosticou 64 pacientes com onicomicose causada por *Neoscytalidium dimidiatum*. Destes, 36 entraram no estudo por atenderem aos critérios de inclusão/exclusão.

Dos 36 pacientes incluídos, 32 (88,9%) completaram as quatro sessões de tratamento com *laser*. Completaram as visitas de acompanhamento 29 (80%), 24 (66,6%), 23 (63,8%) e 18 (50%) pacientes, respectivamente, três, seis, nove e 12 meses após o término do tratamento.

Nove (25%) pacientes não retornaram às consultas sem justificativa. Destes, dois não completaram as sessões de *laser* e sete não completaram as visitas de acompanhamento, sendo três após o término do *laser*, três após três meses de acompanhamento e um chegou a nove meses pós-tratamento.

Três pacientes não retornaram por motivo de saúde não relacionado ao estudo, um por hipertensão arterial sistêmica, um por dificuldade de locomoção pela idade e um não informou qual.

Foram excluídos pela equipe médica cinco pacientes (13,8%) por falha terapêutica, sendo um com seis meses e quatro aos nove meses de acompanhamento. Foram encaminhados para outro tratamento.

Um paciente foi excluído por evento adverso grave na segunda sessão de *laser*.

A tabela 1 mostra a evolução dos pacientes durante o período de 18 meses do estudo.

Tabela 1- Pacientes eliminados do protocolo de *laser* para onicomicose ao longo do estudo.

Motivo da saída do estudo	N	%
Abandono sem justificativa	9	25,0
Falha terapêutica	5	13,9
Doença não relacionada ao <i>laser</i>	3	8,3
Evento adverso grave	1	2,8
Total	18	50,0

Fonte: A autora, 2016

4.2 Aspectos demográficos

Dos 36 pacientes que entraram no estudo, 26 (72,2%) eram do sexo feminino, 24 (66,6%) de etnia não branca e 100% eram provenientes da região Metropolitana I do Rio de Janeiro.

A média de idade dos pacientes foi de 60,3 anos e a mediana 58,5. A idade mínima foi 42 e máxima de 81 anos. Dezesesseis pacientes (44,4%) tinham mais de 60 anos de idade (Tabela 2).

Tabela 2 – Divisão por faixa etária e sexo dos pacientes tratados com *laser* para onicomicose dos pés causada por *Neoscytalidium dimidiatum*.

Faixa etária (anos)	Feminino N (%)	Masculino N (%)	Total N (%)
41-60	17 (85,0)	3 (15,0)	20 (55,6)
> 60	9 (56,2)	7 (43,8)	16 (44,4)
Total	26 (72,2)	10 (27,8)	36 (100,0)

Fonte: A autora, 2016.

Com relação a existência de comorbidades, a principal foi a doença cardiovascular, presente em 23 (63,8%) pacientes, seguido por dislipidemia em 10 (27,7%) e diabetes melito

em 8 (22,2%). Onze pacientes (30,5%) apresentavam alergia, sendo cinco (13,8%) medicamentosa, quatro (11%) do tipo respiratória e dois (5,5%) de contato (Tabela 3).

Tabela 3 - Comorbidades apresentadas pelos pacientes tratados com *laser* para onicomicose dos pés causada por *Neoscytalidium dimidiatum*.

Comorbidades	Masculino	Feminino	Total
	N (%)	N (%)	N (%)
Doença cardiovascular	7 (19,4)	16 (44,4)	23 (63,9)
Alergias	1 (2,8)	10 (27,8)	11 (30,5)
Dislipidemia	6 (16,7)	6 (16,7)	10 (27,8)
Diabetes melito	4 (11,1)	4 (11,1)	8 (22,2)
Hipotireoidismo	0 (0,0)	3 (8,3)	3 (8,3)
Outras	1 (2,8)	1 (2,8)	2 (5,5)

Fonte: A autora, 2016.

A duração da onicomicose variou entre quatro meses e 20 anos, com média de 8,6 anos (Tabela 4). Dos 36 pacientes, 24 (66,7%) já haviam feito algum tipo de tratamento, sendo treze (54,1%) medicamento tópico, três (12,6%) sistêmico e oito (33,3%) tópico e sistêmico combinados.

Tabela 4 – Tempo de duração da doença nos pacientes tratados com *laser* para onicomicose dos pés causada por *Neoscytalidium dimidiatum*.

Duração (anos)	Total N (%)	Feminino N(%)	Masculino N(%)
≤ 1	4 (11,1)	2 (5,6)	2 (5,6)
2 – 5	12 (33,3)	8 (22,2)	4 (11,1)
6 – 10	9 (25,0)	6 (16,7)	3 (8,3)
> 10	11 (30,6)	10 (27,8)	1 (2,8)
Total	36 (100,0)	26 (72,2)	10 (27,8)

Fonte: A autora, 2016.

4.3 Aspectos clínicos

De acordo com a classificação clínica de onicomicose (Hay & Baran, 2011) todos os pacientes apresentavam a forma distal/lateral (Figura 4). Em 27 (75%) pacientes havia acometimento de outras unhas, cinco deles (14%) tinham todas as unhas dos pés afetadas. Havia lesão palmar concomitante em quatro (11%) pacientes, plantar em 14 (39%) e interdigital em 13 (36%). O tipo de alteração era, na maioria das vezes, descamação.

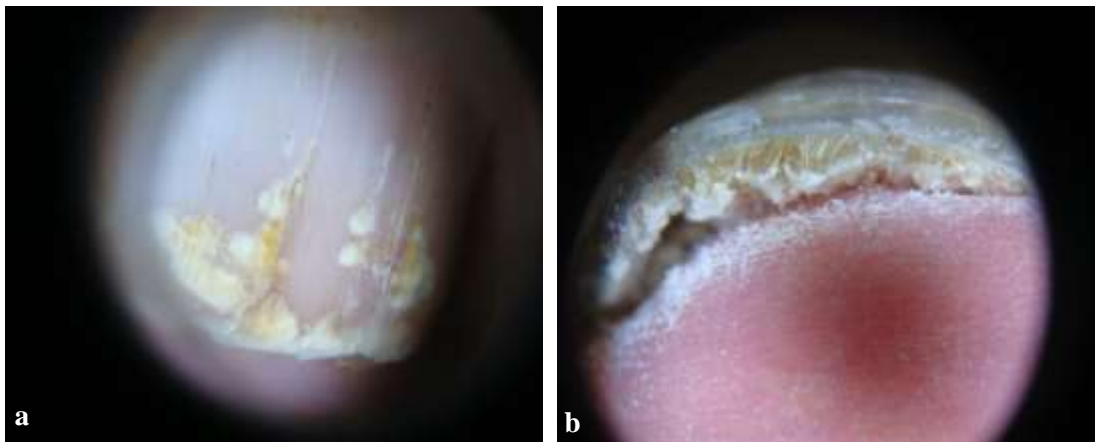
Figura 4 - Principal tipo clínico de onicomicose por *Neoscytalidium dimidiatum* presentes nos pacientes tratados com *laser Nd:YAG*.



Legenda: a,b,c - onicomicose subungueal distal e lateral.
Fonte: A autora, 2016.

A coloração amarelada da unha predominou, sendo observada em 34 (94,4%) pacientes. A cor acastanhada da unha foi observada em 14 (38,8%) pacientes cuja colônia isolada era acastanhada, embora também tenha sido notada em seis (16,6%) pacientes com a apresentação hialina do fungo. Os achados clínicos mais comumente encontrados foram onicólise em 36 (100%) pacientes e ceratose subungueal em 35 (97,2%). Dermatofitoma-símile e ceratose subungueal > 2mm estiveram presentes, respectivamente, em 17 (47%) e 35 (97%) pacientes. A descamação da lâmina ungueal foi observada em 10 (27,7%) pacientes, enquanto a do tecido periungueal esteve presente em 23 (64%) (Quadro 5 e Figura 4, Figura 5).

Figura 5- Onicoscopia de lesão ungueal dermatofitoma-símile e ceratose subungueal nos pacientes tratados com *laser Nd:YAG*.



Legenda: a – lesão dermatofitoma-símile; b - ceratose subungueal
Fonte: A autora, 2016.

Quadro 5 - Modificações clínicas do aparelho ungueal observadas nos 36 pacientes com onicomiose por *Neoscytalidium dimidiatum* tratados com *laser Nd:YAG*.

Modificações clínicas do aparelho ungueal		<i>Neoscytalidium dimidiatum</i> N (%)
Cor	Branca	2 (5,5)
	Amarela	34 (94,4)
	Castanha	20 (55,5)
Lâmina	Onicorrexe	10 (27,7)
	Onicosquizia	0 (0,0)
Interação lâmina/leito	Onicólise	36 (100,0)
	Ceratose subungueal	35 (97,0)
	Dermatofitoma	17 (47,0)

Fonte: A autora, 2016.

O percentual de comprometimento longitudinal da unha alvo apresentado pelos pacientes antes do tratamento, na maioria das vezes, situava-se entre 25 e 75% (Tabela 5).

Tabela 5 - Percentual de comprometimento longitudinal das unhas nos pacientes com onicomicose por *Neoscytalidium dimidiatum* tratados com laser Nd-YAG.

Percentual de comprometimento longitudinal	Pacientes	
	N	%
< 25	2	5,5
25-50	13	36,2
51-75	11	30,5
> 75	10	27,8
Total	36	100,0

Fonte: A autora, 2016.

Considerando-se a classificação de gravidade clínica pelo IGO nos 36 pacientes que iniciaram o estudo, a maioria 24 (67%) tinha a forma grave da doença, dez (28%) foram considerados moderados e dois (5%) leves (Figura 6).

Figura 6 – Exemplos clínicos da medida de classificação da gravidade da onicomicose.



Legenda: a -leve; b, c- moderado; d, e - grave.
Fonte: A autora, 2016.

4.4 Evolução

4.4.1 Clínica

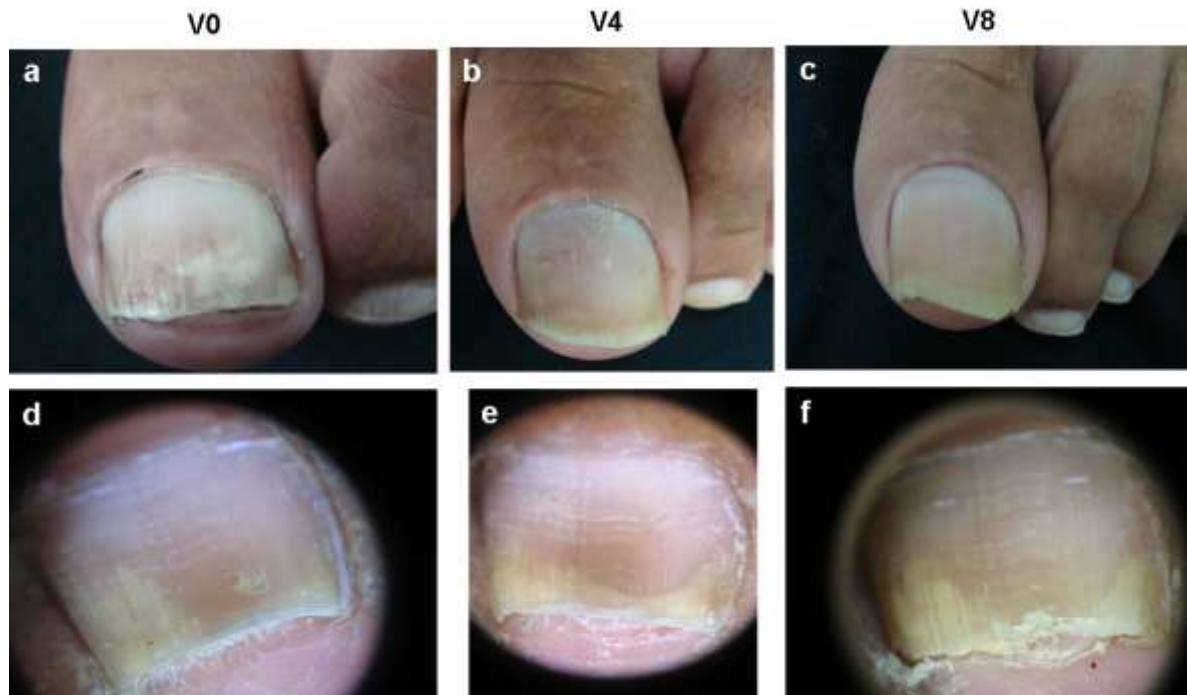
O percentual longitudinal de unha doente dos 32 pacientes que completaram o tratamento ficou igual ou pior em 19 (59,4%) pacientes e 13 (40,6%) melhoraram. A maioria (64,7%) dos 17 pacientes avaliados ao final dos 18 meses de protocolo estavam pior ou igual ao pré-tratamento. (Tabela 6, Figura 7a-f).

Tabela 6 - Evolução clínica dos pacientes tratados com *laser* para onicomicose, avaliados pelo percentual longitudinal de unha doente.

Evolução clínica	V4	V7	V8
	N (%)	N (%)	N (%)
Melhor	13 (40,6)	4 (19,0)	6 (35,3)
Pior	5 (15,6)	5 (23,9)	3 (17,6)
Inalterado	14 (43,8)	12 (57,1)	8 (47,1)
Total	32 (100)	21 (100)	17 (100)

Legenda: V4 - término tratamento; V7 e V8 – respectivamente nove e 12 meses após o término do tratamento
Fonte: A autora, 2016.

Figura 7 – Exemplos de evolução clínica de pacientes tratados com *laser* para onicomicose.



Legenda: V0 - antes do tratamento; V4 - término do tratamento; V8 - 12 meses pós-tratamento; a-c – exemplo de melhora clínica; d-f – exemplo de falha terapêutica (onicoscopia).

Fonte: A autora, 2016.

Em alguns casos houve clareamento das unhas e diminuição da hipercurvatura transversa, que trazia alívio da dor, relatado pelos pacientes.

Quando questionados quanto à melhora clínica, 3/36 (8,3%) pacientes referiram melhora após a primeira sessão de *laser*, 9/32 (28,1%) após a terceira, e 11/32 (34,3%) após a quarta.

Antes do tratamento 67% pacientes apresentavam IGO grave, ao final das quatro sessões de *laser* e do acompanhamento respectivamente, 71,9% e 58,8% mantiveram o IGO grave. Considerando-se a média do escore do IGO, não houve melhora significativa ao término das quatro aplicações de *laser* nem aos 12 meses pós-tratamento (Tabela 7).

Tabela 7 - Resultados clínicos avaliados pelo índice de gravidade da onicomicose nos pacientes tratados com *laser*.

	Índice de gravidade da onicomicose			Escore médio IGO	% longitudinal de unha doente			
	Leve	Moderado	Grave		<25%	25-50%	51-75%	>75%
	N (%)	N (%)	N (%)	N (%)	N (%)	N (%)	N (%)	N (%)
Pré-tratamento N = 36	2 (5.5)	10 (27.8)	24 (66.7)	17.417	2 (5.6)	13 (36.1)	11 (30.6)	10 (27.8)
Término do tratamento N = 32	3 (9.4)	6 (18.7)	23 (71.9)	17.406*	3 (9.4)	15 (46.9)	8 (25.0)	6 (18.8)
12 meses pós-tratamento N = 17	1 (5.9)	6 (35.3)	10 (58.8)	15.882**	2 (11.8)	6 (35.3)	7 (41.2)	2 (11.8)

Legenda: * Comparação entre o término do tratamento e o pré-tratamento ($p=0.616$); ** comparação entre o pré-tratamento e o final do acompanhamento ($p=0.410$).

Fonte: A autora, 2016.

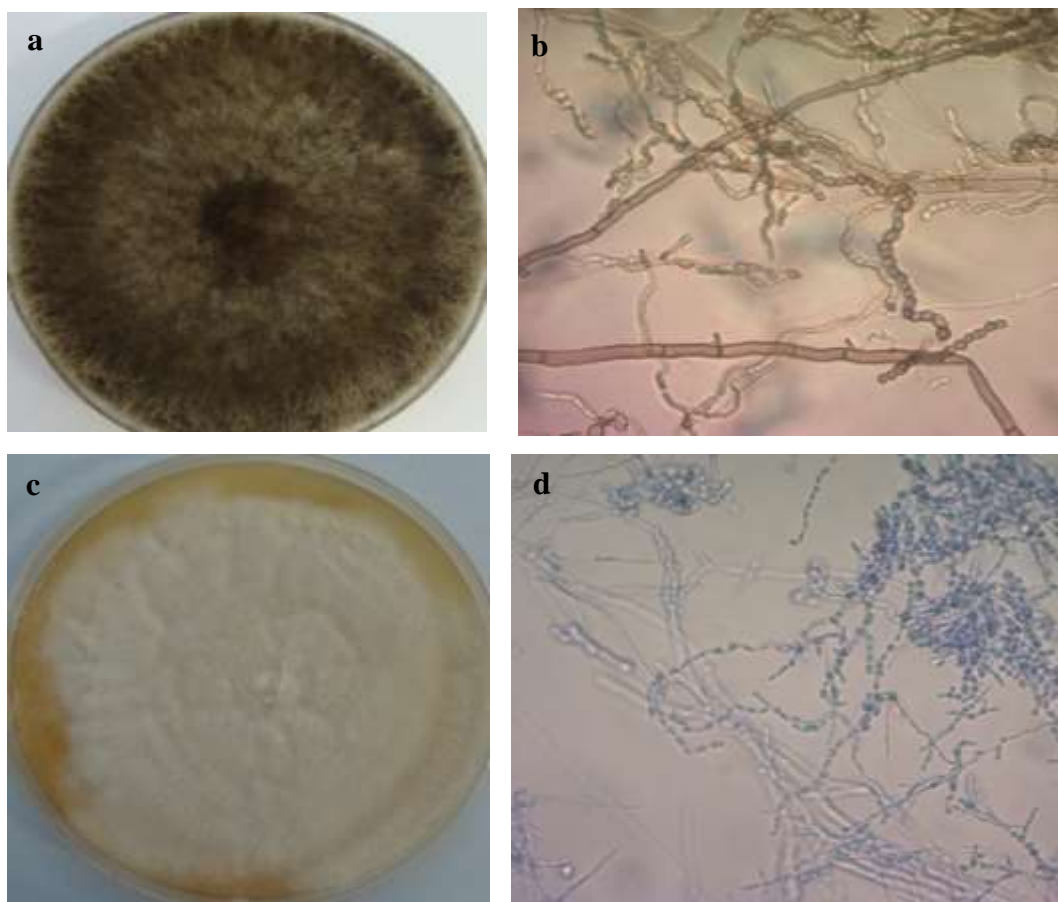
Ainda com relação à avaliação clínica, a dermatoscopia, realizada em todos os pacientes durante os 18 meses de acompanhamento, auxiliou na observação de lesões ungueais pequenas, como estrias longitudinais de dermatofitoma-símile na borda distal da lâmina ungueal, além de corroborar o diagnóstico de onicomicose através do aspecto em ruína (Figura 5b).

4.4.2 Avaliação laboratorial

4.4.2.1 Exame micológico

No exame micológico dos raspados ungueais realizados para inclusão dos pacientes no estudo mostrou que em 34 (94,4%) as hifas eram hialinas e apenas em dois eram demácias (5,5%). Dez (27,7%) amostras continham também artroconídios. Em 21 (58,3%) pacientes o *N.dimidiatum* se apresentava com coloração negra, enquanto em 15 (41,6%) o aspecto fenotípico da colônia era hialino (Figura 9).

Figura 8 - Macromorfologia e micromorfologia de *Neoscytalidium dimidiatum* isolado dos pacientes tratados com *laser Nd-YAG* para onicomicose dos pés.



Legenda: *Neoscytalidium dimidiatum*: a,b - colônia acastanhada; c,d - colônia hialina. b - 400X; d - 100X.
Fonte: A autora, 2016.

Direto

Ao término das quatro aplicações de *laser Nd-YAG* para tratamento da onicomicose dos pés causada pelo *N. dimidiatum*, o exame micológico direto evidenciava hifas em 28 dos 32 pacientes (87,5%). Ao término do protocolo 17 (94,5%) de 18 pacientes ainda apresentavam exame micológico direto positivo nas amostras coletadas da unha alvo. (Tabela 8).

Tabela 8 - Resultado do exame micológico direto em 36 pacientes tratados com *laser Nd:YAG* para onicomicose dos pés causada por *N. dimidiatum*.

Resultado	V0	V3	V5	V6	V7	V8
	N (%)	N (%)	N (%)	N (%)	N (%)	N (%)
Positivo	36 (100)	26 (72)	22 (61)	19 (53)	16 (44)	17 (47)
Negativo	-	6 (17)	5 (14)	4 (11)	5 (14)	1 (3)
Não realizado	-	-	2 (16)	1 (3)	2 (6)	-
Excluído	-	4 (11)	7 (19)	12 (33)	13 (36)	18 (50)
Total	36 (100)	36 (100)	36 (100)	36 (100)	36 (100)	36 (100)

Legenda: V0 – pré-tratamento; V3 – após duas sessões de *laser*; V5, V6, V7 e V8 - três, seis, nove e 12 meses após o término do tratamento, respectivamente.

Fonte: A autora, 2016.

Cultura para fungos

Neoscytalidium dimidiatum foi isolado de 18 (56,2%) dos 32 pacientes que concluíram as quatro sessões de *laser* propostas no estudo. Ao final dos 18 meses do protocolo, 12 (66,7%) dos 18 pacientes ainda tinham cultura positiva (Tabela 9).

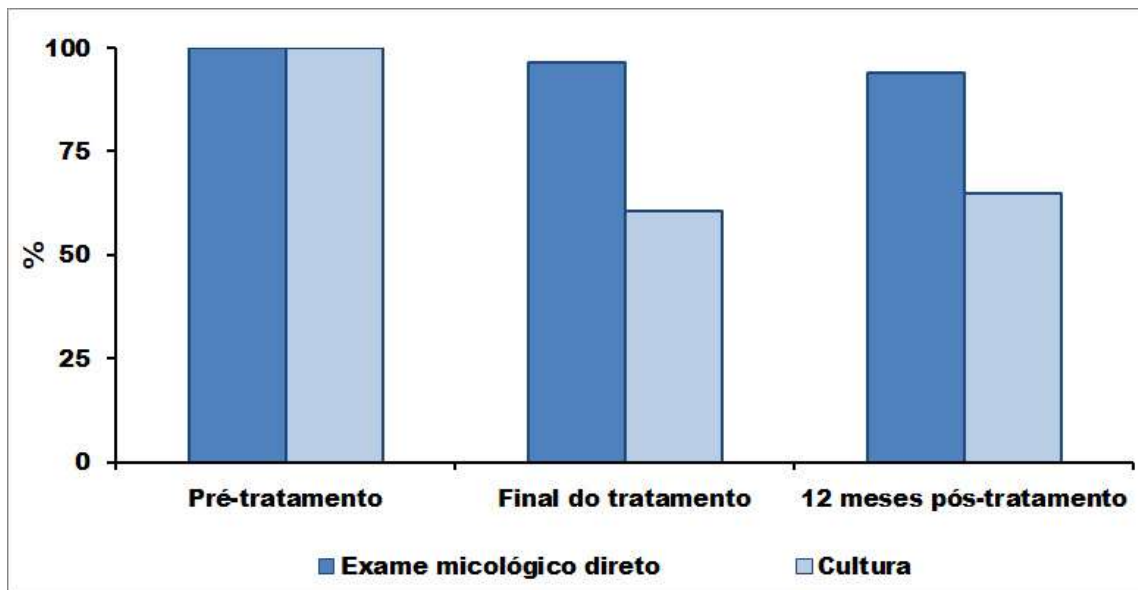
Tabela 9 - Resultado da cultura para fungos nos pacientes tratados com *laser Nd:YAG* para onicomicose dos pés causada por *N. dimidiatum*.

Resultado	V0	V3	V5	V6	V7	V8
	N (%)	N (%)	N (%)	N (%)	N (%)	N (%)
Positivo	36 (100)	18 (50)	11 (31)	8 (22)	8 (22)	12 (33)
Negativo	-	14 (39)	18 (50)	16 (44)	13 (36)	6 (17)
Não realizado	-	-	-	-	2 (6)	-
Excluído	-	4 (11)	7 (19)	12 (33)	13 (36)	18 (50)
Total	36 (100)	36 (100)	36 (100)	36 (100)	36 (100)	36 (100)

Legenda: V0 – pré-tratamento; V3 – após duas sessões de *laser*; V5, V6, V7 e V8 - três, seis, nove e doze meses após o término do tratamento, respectivamente

Fonte: A autora, 2016.

Gráfico 1 - Percentual dos exames micológicos, direto e cultura, nos pacientes que permaneceram no protocolo de *laser* para onicomicose.



Fonte: A autora, 2016.

Em quatro pacientes do estudo verificou-se alternância entre as apresentações fenotípicas acastanhada e hialina do *N. dimidiatum* isolado dos raspados subungueais.

O exame micológico direto foi mais sensível que a cultura. À exceção de um paciente, todos tinham exame micológico direto positivo quando a cultura foi positiva.

A infecção mista com dermatófitos foi encontrada em dois pacientes. Um com *T. rubrum* e outro com *T. mentagrophytes*. No primeiro, o dermatófito foi isolado na inclusão e no acompanhamento/ento, enquanto no outro paciente apenas ao término dos 18 meses. *Fusarium* sp. foi isolado eventualmente em algumas visitas de seis pacientes durante o estudo.

4.5 Avaliação médica global

4.5.1 Desfechos

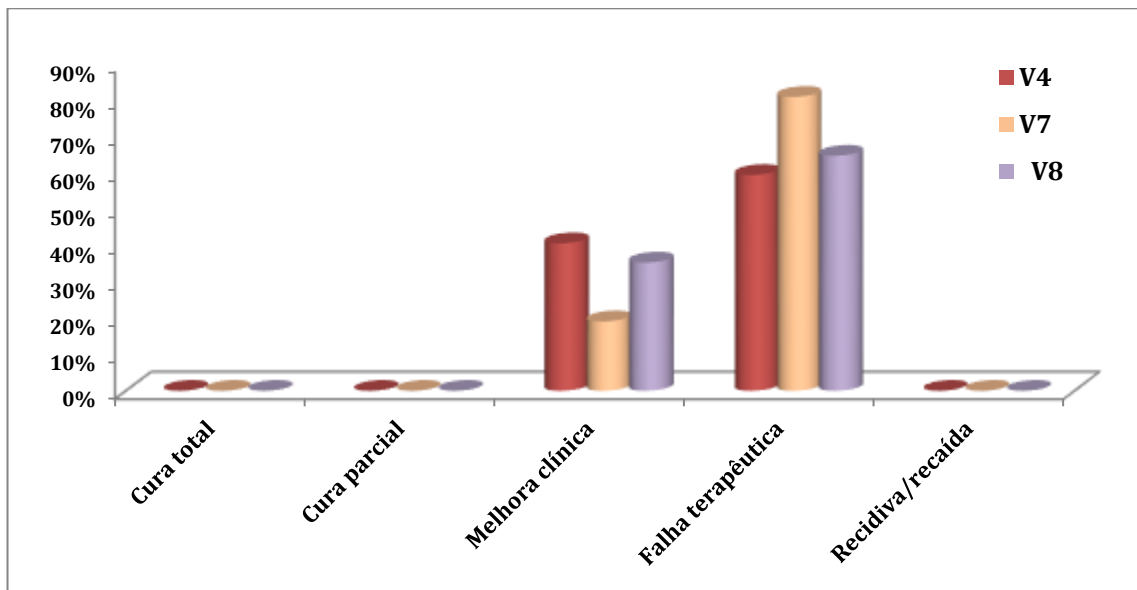
Segundo os critérios de cura clinico-laboratoriais adotados neste trabalho, nenhum paciente obteve cura total ou parcial. Ao término das quatro sessões de *laser*, 13 (40,6%) dos 32 pacientes obtiveram melhora clínica e 19 (59,4%), falha terapêutica. Nove meses após o término do tratamento, 4 (19%) de 21 pacientes apresentaram melhora clínica e em 17 (81%) houve falha terapêutica. Ao final do estudo, com 18 meses, 6 (35,3%) dos 17 pacientes avaliados foram considerados como melhora clínica e 11 (64,7%) como falha terapêutica (Tabela 10, Gráfico 2).

Tabela 10 - Desfecho do tratamento com *laser Nd-YAG* para onicomicose dos pés por *Neoscytalidium dimidiatum*.

Resultado	V4	V7	V8
	N (%)	N (%)	N (%)
Cura total	0 (0,0)	0 (0)	0 (0)
Cura parcial	0 (0,0)	0 (0)	0 (0)
Melhora clinica	13 (36)	4 (11)	6 (17)
Falha terapêutica	19 (53)	17 (47)	11 (30)
Recidiva/recaída	0 (0,0)	0 (0)	0 (0,0)
NR	4 (11)	2 (5)	2 (5)
Excluídos	4 (11)	13 (36)	17 (50)
Total	36 (100)	36 (100)	36 (100)

Fonte: A autora, 2016.

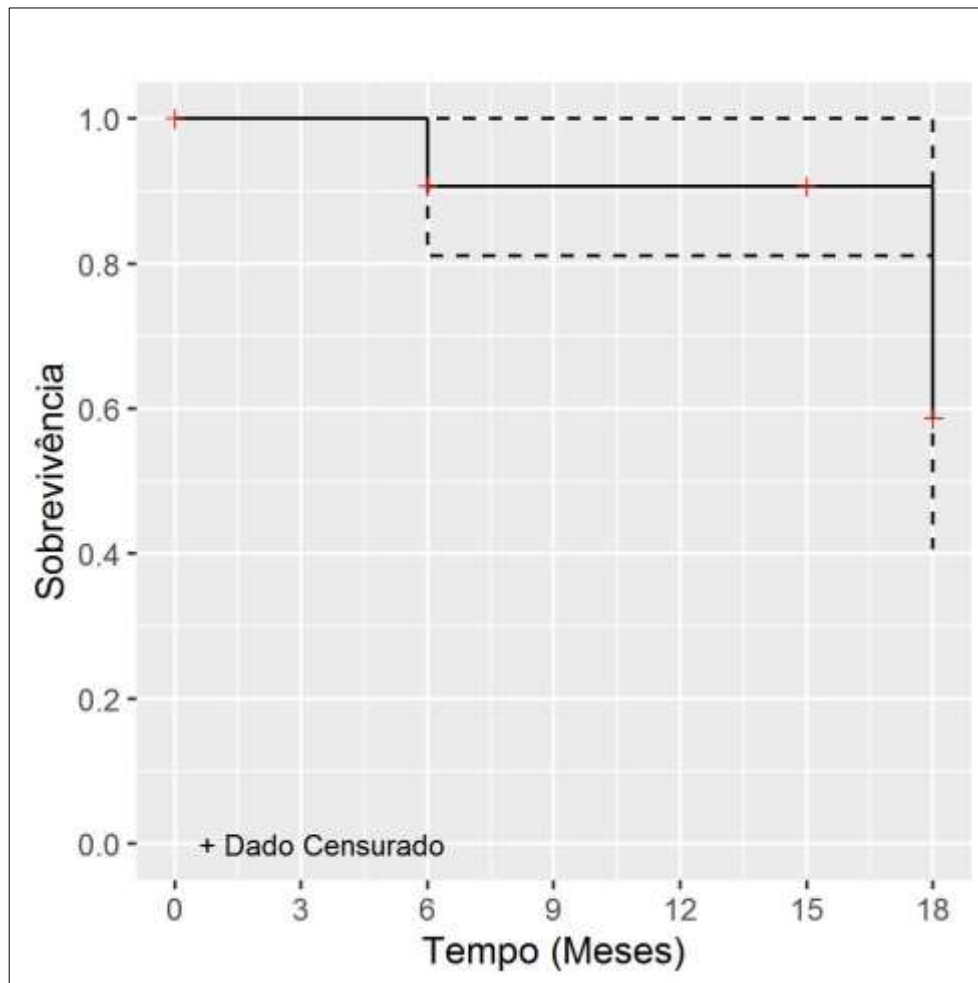
Gráfico 2 – Percentual dos desfechos atingidos pelos pacientes avaliados durante o tratamento com *laser* para onicomicose dos pés .



Fonte: A autora, 2016.

Segue, abaixo, a curva de sobrevivência de Kaplan-Meier, onde o desfecho considerado foi a melhora clínica, já que nenhum paciente obteve cura total ou parcial. Nesse caso, a probabilidade de um paciente nas condições dos estudados, de chegar ao mês 18 sem ter essa melhora clínica, ou seja, sem apresentar o desfecho é de 55%. Portanto, pode-se dizer que aos 18 meses de protocolo a probabilidade de ocorrer melhora clínica é de 45% ($1-0,55$). Pacientes que saíram do estudo por qualquer motivo ao longo desse tempo foram considerados como dados censurados (Figura 9).

Figura 9 – Curva de sobrevida de Kaplan-Meier de 36 pacientes com onicomicose tratados com *laser Nd-YAG*, considerando-se a melhora clínica como desfecho.



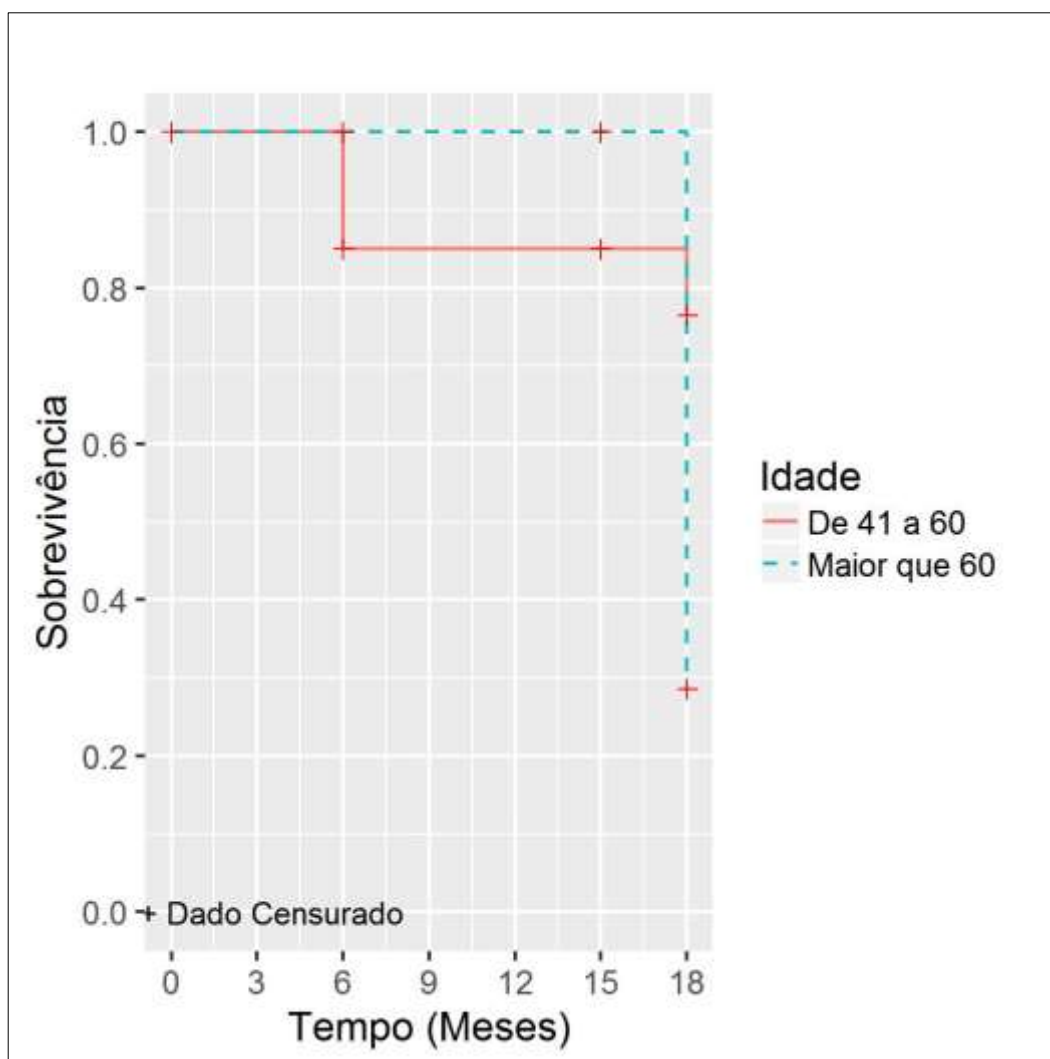
Fonte: A autora, 2016.

Foi construída uma curva de sobrevida por faixa etária, para identificar se as diferenças existentes nas probabilidades de sobrevivência entre as faixas é significativa ou apenas vista como aleatória. Dessa forma, a mesma curva de sobrevida foi dividida em duas de acordo com as faixas de idade de 41 a 60 anos e acima de 60 anos. A estatística qui-quadrado gerada foi de 1,2, gerando assim $p\text{-valor} = 0,266$ ($p\text{-valor} > 0,05$). Neste caso, utilizando-se o teste Log-Rank, ficou evidente que não existem evidências que comprovem uma possível diferença entre as faixas de idade (Figura 10).

A mesma curva de sobrevida foi dividida em quatro de acordo com as faixas de duração da doença de até um ano, de dois a cinco anos, de seis a dez e acima de dez anos. A estatística qui-quadrado gerada foi de 4,8, gerando assim $p\text{-valor} = 0,186$ ($p\text{-valor} > 0,05$). Também neste

caso não existem evidências que comprovem uma possível diferença entre as faixas de duração da doença (Figura 11).

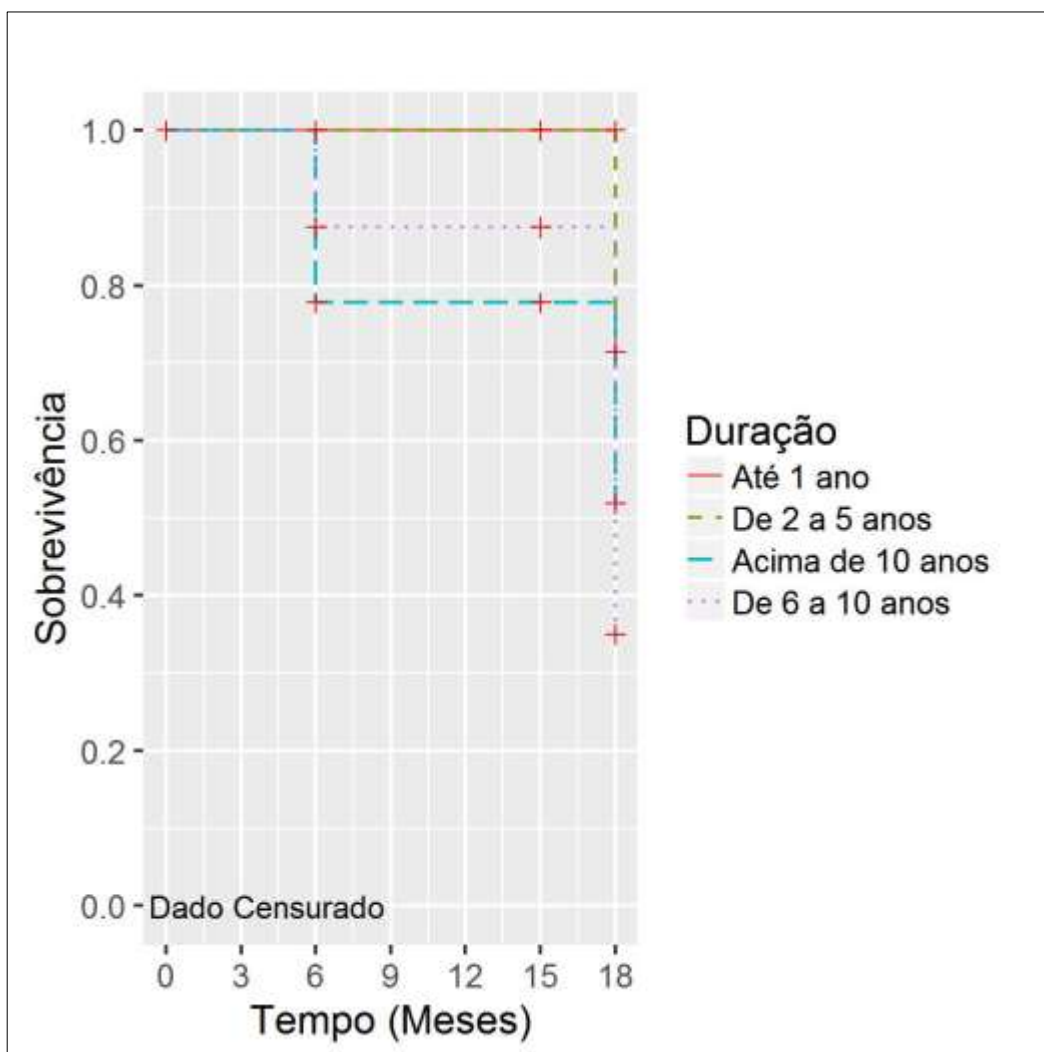
Figura 10 - Curva de sobrevida para medir a influência da faixa etária no desfecho do tratamento com *laser Nd-YAG*.



Legenda: teste de log-Rank ($p=0,266$)

Fonte: A autora, 2016.

Figura 11 - Curvas de sobrevida para medir a influência da duração da onicomiose no desfecho do tratamento com *laser Nd-YAG*.



Legenda: teste de log-Rank ($p=0,186$).

Fonte: A autora, 2016.

4.6 Tolerância e segurança

A queixa mais comum durante a aplicação do *laser Nd-Yag* foi de dor intensa, principalmente nas primeiras sessões. A queixa de calor também diminuiu na última sessão (Quadro 5).

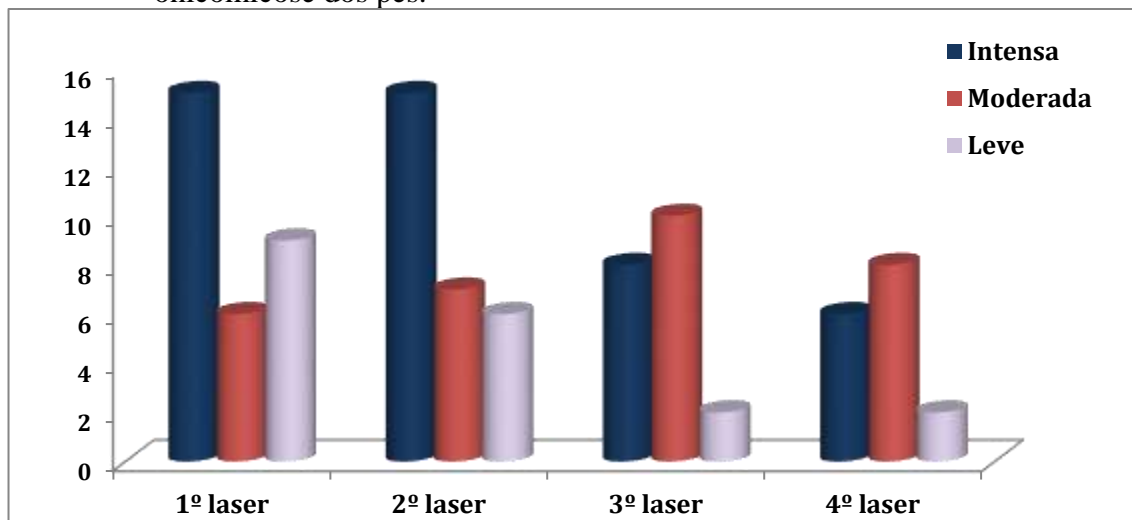
Quadro 6 - Principais sintomas relatados pelos pacientes durante a aplicação do *laser Nd-YAG* para onicomicose por *Neoscytalidium dimidiatum*.

<i>Laser</i> (sessão)	Pacientes N(%)	Calor N(%)	Dor N(%)
1 ^a	36 (100)	29 (80,5)	30 (83,3)
2 ^a	35 (100)	27 (77,1)	28 (80)
3 ^a	32 (100)	17 (53,1)	20 (62,5)
4 ^a	32 (100)	18 (56,2)	16 (50,0)

Fonte: A autora, 2016.

Devido à intolerância a dor e calor, foi necessário diminuir a fluência em três pacientes na primeira e segunda sessões (Gráfico 3).

Gráfico 3 – Intensidade da dor relatada pelo uso do *laser Nd-YAG* para tratamento da onicomicose dos pés.



Fonte: A autora, 2016.

As alterações clínicas mais comumente observadas na lâmina ungueal durante o tratamento com *laser* foram estrias transversais em forma de “onda” (Fig.12a), adelgaçamento da lâmina e descamação na superfície

Cinco pacientes se queixaram de desconforto (fisgadas) após a aplicação do *laser*, que persistiu por aproximadamente uma semana. Três apresentaram onicomadese, destes um relatou bolhas na dobra proximal, que foi seguida de onicomadese (Figura 12b). Houve um caso de escurecimento da lâmina ungueal, que ficou acastanhada (Figura 12c).

Três pacientes apresentaram hematoma subungueal durante o tratamento, sendo uma diabética, que evoluiu bem, com melhora rápida e clareamento da lâmina.

Uma paciente apresentou, na terceira sessão, um branqueamento na parte lateral da lâmina com adelgaçamento sugestivo de lesão cicatricial. Seis semanas após observou-se, nessa região, lesão sugestiva de hematoma. A lesão cicatricial manteve-se até o término do acompanhamento (Figura 12d,e).

Figura 12 - Alterações clínicas observadas na lâmina ungueal durante o tratamento com *laser*.



Legenda: a - aspecto em “onda”; b - onicomadese; c - escurecimento da lâmina; d - aspecto da unha antes do tratamento e e - branqueamento lateral da lâmina com adelgaçamento na mesma paciente.

Fonte: A autora, 2016.

Ocorreu um caso de evento adverso grave relacionado ao tratamento com *laser* causando necrose parcial do hálux após a segunda aplicação. O paciente negou sinais ou sintomas decorrentes do diabetes melito quando foi incluído no estudo. No entanto, quando questionado exaustivamente após o episódio relatou sofrer de parestesia periférica dos membros inferiores há muitos anos, embora isso não o incomodasse. Foi tratado com

antibióticos (ciprofloxacino 500mg 2x/dia por 14 dias, via oral e rifamicina tópica 1x/dia por 45 dias) e acompanhado até a completa resolução do quadro, evoluindo com atrofia central da unha 11 meses após o evento (Figura 13) (Leverone et al, 2015).

Figura 13 – Evolução clínica de lesão necrótica causada pelo *laser Nd-YAG* em paciente tratado para onicomicoses dos pés.



Legenda: (a) uma semana; (b) quatro semanas; (c) nove semanas; (d) 20 semanas; (e) 32 semanas; (f) 36 semanas, cicatriz central sem crescimento de unha nova.

Fonte: Leverone et al., 2015.

5 DISCUSSÃO

A onicomiose causada por *N. dimidiatum* é clinicamente indistinguível da causada por dermatófitos, acomete as regiões palmo-plantares, interdigitais e unhas das mãos e dos pés. Habitualmente, causa doença crônica e recidivante.

Neoscytalidium dimidiatum é um patógeno de planta, encontrado principalmente nas regiões de clima tropical e subtropical (Simonnet et al., 2011). Em algumas áreas geográficas, como na Martinica, substitui os casos de onicomiose causadas por dermatófitos (Belloeuf et al., 2004). Dados de estudo realizado no Rio de Janeiro mostram que de 73 culturas positivas para fungos filamentosos nas unhas dos pés, 23,3% eram dermatófitos e 86,3% FFND (Lavorato, 2016). Nesses locais, geralmente países em desenvolvimento, representa um problema de Saúde Pública, porque afeta sobretudo a população idosa com outras comorbidades como diabetes melito, imunossupressão e doença vascular ou neurológica periférica. Nessa faixa etária, são comuns as interações medicamentosas que podem contraindicar a terapia antifúngica sistêmica. Além disso, a lesão pode se agravar, acometendo regiões mais profundas da pele ou invadindo órgãos internos, como relato de casos descritos em pacientes submetidos a transplante de órgão sólido (Garinet et al., 2015). Além disso, pode ser a porta de entrada para infecções bacterianas, como a erisipela e celulite.

Semelhante aos dados encontrados na literatura para dermatófitos, neste estudo houve predomínio de pacientes idosos, com média de 60,3 anos, e as principais comorbidades foram as diagnosticadas nessa faixa etária, como, por exemplo, doença cardiovascular e dislipidemias. A duração da onicomiose variou de quatro meses a 20 anos, média de 8,6 anos e a maioria já tinha feito algum tipo de tratamento anterior, caracterizando a natureza crônica e recidivante da doença. No entanto, verificamos que a faixa etária e a duração da onicomiose não influenciaram o desfecho terapêutico deste estudo.

Assim como ocorre na *tinea unguium*, a apresentação clínica do tipo distal e lateral da onicomiose foi a mais comum (Baran et al., 1996). Em 75% dos casos havia acometimento de outras unhas além da unha alvo. Lesões cutâneas adjacentes foram observadas em aproximadamente um terço dos pacientes; acredita-se que essas lesões sejam a fonte da infecção ungueal nessa forma clínica, em que a invasão se dá pelo hiponíquio (Zaias, 1972; Hay & Baran, 2011). Da mesma forma, nossos pacientes apresentavam-se com onicolise, ceratose subungueal e cor amarela da lâmina ungueal. Ao contrário do que era de se esperar, as lesões ungueais do tipo dermatofitoma, típicas das onicomioses por dermatófito, estavam

presentes em aproximadamente metade dos nossos pacientes. Denominamos essas lesões dermatofitoma-símile.

Atualmente, a dermatoscopia da unha, também conhecida como onicoscopia, é um recurso semiológico imprescindível para avaliar as doenças ungueais, auxiliando não somente no diagnóstico, mas também na detecção de sinais clínicos importantes, como as lesões dermatofitoma e a ceratose subungueal com aspecto típico em “ruína”, encontrados nas lesões de onicomicose (Nakamura & Costa, 2012; Piraccini et al., 2013). Neste trabalho, a onicoscopia foi uma ferramenta valiosa na análise clínica do comprometimento ungueal, facilitando a classificação da unha pelo IGO. Este vem sendo usado em trabalhos de pesquisa para acompanhamento do desfecho terapêutico para onicomicose, embora tenha sido proposto inicialmente para prognóstico e escolha terapêutica. A grande variação do escore entre as três divisões de gravidade (leve, moderado e grave) prejudica a avaliação estatística por não ser um método objetivo, apesar disso, o uso isolado do escore numérico pode ser valioso. Utilizando a classificação pelo IGO, observamos que a maioria dos nossos pacientes, ao iniciarem o estudo, tinham a forma grave da doença, porém, ao término do tratamento, ocorreu um aumento do número de pacientes considerados como leve e uma diminuição de moderado e grave. Entretanto, esse resultado não se manteve no pós-tratamento. A comparação do escore médio dos pacientes entre o pré-tratamento e o término do tratamento, bem como ao final dos 12 meses de acompanhamento, não mostrou significância estatística, respectivamente $p=0,616$ e $p=0,410$. A maioria dos pacientes apresentava percentual longitudinal de unha doente entre 25% e 75%, sendo que ao término do tratamento e 12 meses após, esse percentual se manteve, ou piorou, mesmo com a saída dos pacientes ao longo do acompanhamento.

Neoscytalidium dimidiatum é um microrganismo geralmente resistente à terapia antifúngica convencional usada no tratamento da *tinea unguium*. Nas principais revisões sobre FFNDs não existe um tratamento considerado padrão ouro para *N. dimidiatum*, nem mesmo a presunção de um tratamento de primeira escolha, como foi sugerido para onicomicose por *Fusarium* sp. ou *Scopulariosis* sp., por exemplo (Gupta et al., 2011). Não há grande interesse no estudo desse agente etiológico nos países desenvolvidos por não ser frequente, exceto na população imigrante. Relatos de casos ou série de casos publicados mostram resultados parciais ou nenhum resultado com tratamentos convencionais, embora haja relatos isolados de cura. Os tratamentos já utilizados compreendem amorolfina 5% e ciclopirox 8%, ambos em esmalte, ou medicamentos sistêmicos como terbinafina, itraconazol, posaconazol e voriconazol. A recidiva é frequente, mesmo nos casos de cura. Recomenda-se associar intervenção mecânica, química ou cirúrgica para aumentar a penetração dos medicamentos

tópicos (Shemer, 2012; Bunyaratavej et al., 2016; Dunand *et al.*, 2010, Krishna et al., 2011; Spriet et al., 2012).

Cursi et al., 2013 só tiveram um caso de cura nos pacientes tratados com terbinafina oral e ciclopirox esmalte 8% ou esmalte isoladamente, que recidivou após seis meses. Em outro artigo uma paciente foi tratada com PDT, usando methyl-aminolevulinato e lâmpada de diodo em quatro sessões. Os autores relatam cura clínica e micológica, mas *N. dimidiatum* voltou a ser isolado seis meses após, o que indica o alto índice de recidiva desse agente etiológico (Aspiroz *et al.*, 2013). A cura completa foi alcançada em 50% de 28 pacientes tratados com amorolfina esmalte 5%, 2x/semana durante 180 dias, aproximadamente (Bunyaratavej et al, 2016). No único trabalho publicado que usa o *laser* para o tratamento da oncomicosose por *N. dimidiatum*, realizado na Tailândia, aproximadamente 66% dos pacientes ficaram curados, percentual considerado superior ao dos dermatófitos no mesmo estudo (Wanitphakdeedecha et al., 2016). Ao contrário desses estudos anteriores, no nosso trabalho nenhum paciente ficou curado e a melhora clínica obtida em 40% de 32 pacientes ao final das quatro sessões de *laser* foi apenas temporária. Possíveis explicações para as divergências entre esses estudos e o nosso pode estar no tipo de população estudada, nas diferenças da virulência do fungo ou, ainda, na utilização de critérios mais rigorosos para avaliação dos desfechos, utilizando metodologias científicas distintas. A comparação molecular e filogenética entre os isolados do Brasil e da Tailândia, bem como o estudo da interação hospedeiro-parasita dos isolados nos dois países poderiam elucidar, em parte, o motivo dessas divergências.

Encontrar alternativas terapêuticas para as oncomicososes tem sido motivo de pesquisas em quase todas as regiões geográficas do mundo, pois os tratamentos são longos e dispendiosos e o paciente precisa retornar várias vezes à consulta, realizar exames micológicos de controle, além de ser motivo de falta frequente ao trabalho. Autores sugerem que a persistência da infecção pode ser causada pelos biofilmes, que protegem os microrganismos de distúrbios físicos e de fatores imunológicos do hospedeiro, funcionando como uma cápsula protetora que aumenta a resistência fúngica. Sugere-se que os biofilmes seriam responsáveis pela natureza recalcitrante da oncomicosose e que a degradação dos mesmos poderia ser uma forma de trata-las (Gupta & Ryder, 2016).

O *laser* também tem sido usado como permeador de medicamentos, conhecido como *drug delivery*. Nesse caso, são *lasers* ablativos que abrem caminho para que os medicamentos penetrem. Existem dúvidas quanto ao real benefício deste tratamento, por quanto tempo esses orifícios ficariam livres para o medicamento penetrar através deles, qual o melhor veículo para que essas substâncias químicas tenham a biodisponibilidade ideal ou, ainda, se a aplicação do

laser ablativo alteraria a farmacodinâmica da droga. O medicamento a ser aplicado deve ser estéril e de procedência confiável, já que seria liberado mais profundamente. A maioria dos estudos usa o *laser* de CO₂, mas outros também têm sido utilizados (Morais et al., 2013, Oliveira et al., 2015; Bhatta et al., 2016). Outra alternativa terapêutica que vem sendo experimentada é a terapia fotodinâmica. Consiste na retirada prévia da lâmina ungueal com posterior aplicação de uma droga fotossensível e uma fonte de luz (Piraccini et al., 2008; Aspiroz et al., 2011; Silva et al., 2013; Figueiredo Souza et al., 2014). Os resultados são variáveis, mas não é uma técnica simples, requer tempo, pode ser dolorida e dispendiosa.

O Nd:YAG *laser* foi escolhido para este trabalho por ter sido o primeiro tipo de *laser* aprovado pelo FDA e também por ser o mais utilizado nos trabalhos científicos (Harris, 2009; Kosarev et al., 2009; Landsman et al., 2010; Carney et al., 2013; Heck et al., 2013; Hollmig et al., 2014; Karsai et al., 2016; Wanitphakdeedecha et al., 2016).

Não há consenso sobre o número ideal de sessões nem o intervalo entre elas. Conseqüentemente, os resultados também são variados. Os estudos de revisão simples ou sistemática sobre a utilização do *laser* para onicomicose causada por dermatófitos, evidenciam a necessidade de se padronizar metodologia científica para que possam ser comparados (Ledon et al., 2014; Bhatta, 2014; Francuzik et al., 2016, Gupta et al., 2016). Os critérios de cura e de avaliação clínica e laboratorial nem sempre são objetivos ou comparáveis. Existem estudos em que a comprovação laboratorial não foi realizada nem para inclusão dos pacientes, em outros não havia controle laboratorial (Harris, 2009; Weiss, 2011; Noguchi et al., 2013). Os que relatam cura, em sua maioria, não acompanharam os pacientes por um período mínimo de 6-12 meses (Ortiz et al., 2012; Kimura, 2012; Kalokasidis et al., 2013; Wanitphakdeedecha et al., 2016). O tratamento de 25 pacientes com *laser* em estudo randomizado e placebo-controlado resultou em 30% de cura micológica e melhora clínica quando comparado ao placebo (Landsman et al., 2010). A comparação do tratamento com *laser* Nd:YAG 1064 e terbinafina creme resultou em melhoracom o primeiro. No entanto, os antifúngicos tópicos em creme não são eficientes para tratar onicomicose, portanto, não é possível valorizar esse grupo controle (El-Tatawy et al., 2015). A combinação da terbinafina oral com o *laser* Nd:YAG teve como desfecho a menor duração do tratamento combinado do que com o *laser* isoladamente, com a vantagem de abranger também a *tinea pedis*, considerada fator para reinfecção (Xu et al., 2014).

Um estudo piloto em que oito pacientes foram tratados com *laser* Nd:YAG, nenhum obteve cura clínica ou micológica, embora tenha sido notada melhora clínica moderada (Carney et al, 2013). Em outra pesquisa, os autores não observaram diferença na melhora

clínica das unhas entre o grupo tratado com *laser* e o não tratado e o pequeno índice de cura micológica não mostrou significância estatística entre os grupos (Hollmig et al., 2014). Comparando com o desfecho obtido nessas pesquisas envolvendo dermatófitos, nossos resultados foram semelhantes, isto é, nenhum paciente obteve cura, total ou parcial, embora tenha sido observada melhora clínica temporária.

Os mecanismos pelos quais os dermatófitos respondem ao tratamento com *laser* ainda são desconhecidos, embora algumas hipóteses tenham sido aventadas como ação direta do calor sobre o fungo, estímulo do sistema imunológico ou desnaturação de enzimas utilizadas pelo fungo. Os estudos realizados *in vitro* que utilizam metodologias diferentes têm resultados controversos, alguns com evidência de que o *laser* inativou as colônias de fungos (Vural et al., 2008), outros demonstrando a falha na resposta antifúngica do feixe de *laser* (Hees et al, 2012; Carney et al., 2013). A temperatura ideal para inativar o fungo é muito elevada e provavelmente não seria tolerada pelo ser humano (Carney et al, 2013).

Embora a maioria dos trabalhos utilize o *laser* Nd:YAG 1064 nm, a mesma unidade de fluência em equipamentos de potências diferentes não entrega a mesma energia no alvo. O acompanhamento clinico-laboratorial a cada 2-3 meses poderia orientar a realização de sessões de reforço do tratamento, caso houvesse recidiva clínica e (ou) micológica.

O EMD e a cultura são ferramentas essenciais para a definição de critérios de cura, pois mostram a permanência do fungo no aparelho ungueal e, conseqüentemente, o motivo das recidivas e da cronicidade da doença. Não é possível avaliar trabalhos que incluam pacientes sem comprovação laboratorial ou que usem métodos que não identifiquem o fungo, como o histopatológico. Exame micológico direto ou histopatológico positivo, evidenciando hifas verdadeiras, não é capaz de diferenciar dermatófito de FFND, embora sejam úteis para excluir ou comprovar a doença. Há, ainda, a possibilidade de infecções mistas. Os pacientes do nosso estudo continuaram positivos, em sua maioria, tanto ao término das aplicações de *laser* como ao final acompanhamento, portanto, com possibilidade real de recidiva.

A cura total, clínica e micológica, é o desfecho terapêutico ideal; entretanto, considerando-se que o FDA aprovou esse tratamento para melhora clínica temporária e não para cura da doença ou como monoterapia, faz-se necessário, até o momento, que outros tratamentos sejam prescritos em combinação com o *laser*. Tratamentos que têm como alvo apenas as unhas geralmente apresentam baixos índices de cura e recidivas altas porque, entre outros motivos, não tratam as lesões cutâneas adjacentes, como plantar e interdigital. Cerca de um terço dos nossos pacientes apresentavam lesões cutâneas adjacentes e o exame micológico

continuava positivo na maioria, comprovando a ineficácia deste *laser* para tratar a onicomicose por *N. dimidiatum*.

Um aspecto positivo do tratamento foi a sensação de melhora estética por parte do paciente, que se deve principalmente ao clareamento da lâmina ungueal com consequente melhora da autoestima, além de aliviar a dor e o desconforto da onicocriptose.

A observação de efeitos colaterais não foi rara, contrariando os relatos da maioria dos trabalhos que afirmam ser o tratamento a *laser* seguro e eficaz (Kim et al., 2016; Kolodchenko & Baetul, 2013; Moon et al., 2014; Hochman, 2011). Pacientes que relataram bolhas nas dobras periungueais entre as sessões de *laser* descreviam quadros clínicos sugestivos de onicomadese na consulta subsequente; houve relatos de sensação de desconforto local por até uma semana após a aplicação do *laser*, além de hematomas subungueais. Em uma das pacientes, representada na Fig. 12d-e, pensamos na possibilidade da luz do *laser* ter causado ou desencadeado líquen plano ungueal, mas não foi possível comprovar, pois a paciente não retornou para exame histopatológico. A descamação em forma de onda foi uma observação clínica comum e parece ser consequência da injúria intermitente e temporária da matriz ungueal no local onde o feixe de luz também foi aplicado, aproximadamente 2,0 mm das bordas periungueais. A sensação de dor e queimação gerada pela energia do *laser* na placa ungueal continua sendo uma das dificuldades do tratamento, que frequentemente tem que ser interrompido para que o paciente possa suportá-lo. Neste trabalho, dor e calor foram queixas frequentes, muitas vezes a aplicação do *laser* teve que ser feita de forma intermitente. Não utilizamos anestésico tópico para evitar que mascarasse a dor e, consequentemente, os efeitos colaterais. O *N. dimidiatum* é um fungo negro e por isso tem maior quantidade de alvo (melanina) para o feixe deste *laser*. Por outro lado, já foi demonstrado, *in vitro*, que esse fungo também precisa de temperaturas mais altas e por tempo mais prolongado do que os dermatófitos para que seja eliminado (Carney et al., 2013).

Dois eventos adversos graves foram descritos na literatura. No primeiro, a paciente era diabética e foi tratada com laser por um podiatra. A paciente desenvolveu bolhas, foi internada e amputada (Moutran *et al.*, 2015). No outro, um de nossos pacientes que negava inicialmente ter qualquer doença, relatou ter neuropatia periférica há anos, evoluiu com onicomadese, foi tratado com antibióticos e anti-inflamatórios em regime ambulatorial e teve, como consequência, uma seqüela cicatricial (Leverone et al., 2015). Sugere-se que uma história médica detalhada seja feita antes de qualquer procedimento a *laser*; pacientes com neuropatia periférica suportam temperaturas mais elevadas sem relatar dor ou calor.

O sucesso clínico dos *lasers* parece depender de alguns fatores como, por exemplo, comprimento de onda, energia, duração de pulso, tempo de exposição, tamanho da ponteira, tipo e cor do tecido alvo. Como não há padronização desses parâmetros, os resultados são controversos.

Até que novos estudos apontem para outra conduta, deve-se pesar custo-benefício deste tratamento, sobretudo porque é uma doença com prevalência alta num país em desenvolvimento. A primeira escolha terapêutica deve seguir o uso de medicamentos tópicos e/ou sistêmicos já disponíveis, de preferência associados à remoção da unha lesada. Até o momento, sugere-se que o *laser* seja reservado para tratar casos clínicos crônicos, resistentes à terapia convencional, ou nas situações em que as contraindicações impeçam o uso de medicamentos sistêmicos.

É possível que nossos resultados negativos tenham sofrido influência da forma como foi desenvolvido o trabalho, uma vez que por ser um estudo piloto e sem previsão de efetividade, optou-se pela monoterapia.

Como continuação deste trabalho e baseado nos estudos já publicados, os autores sugerem como pesquisa para onicomicose causada por *N. dimidiatum*:

1. Realização de ensaio clínico randomizado e controlado comparando pelo menos dois grupos: *laser* Nd:YAG mensal e amorolfina esmalte 5% duas vezes por semana, ambos até a cura total ou parcial. Incluir, se possível, um grupo com terapia combinada, por exemplo *laser* e amorolfina esmalte 5%.
2. Associar remoção química, cirúrgica ou mecânica da unha afetada quando a ceratose subungueal for >2,0 mm e/ou houver lesão de dermatofitoma-símile antes e durante o tratamento, sempre que necessário, para permitir que os medicamentos cheguem ao local doente.
3. Evoluir os pacientes, em bases clínico-laboratoriais, por um período mínimo de seis meses após a cura. Se possível associar método laboratorial que comprove a viabilidade das hifas e/ou conídios encontrados no EMD ou histopatológico.
4. Utilizar métodos de avaliação clínica mais objetivos, de preferência com recursos computadorizados, para a medida de área e de comprometimento longitudinal.

CONCLUSÕES

O *laser* Nd:YAG não foi efetivo como monoterapia para onicomicose causada por *N. dimidiatum*; nenhum paciente obteve cura total ou parcial segundo os critérios de cura clínico-laboratoriais adotados neste estudo. Houve melhora clínica temporária em 40% dos pacientes.

O exame micológico direto permaneceu positivo na maioria dos pacientes ao término do tratamento e em em quase todos os que concluíram os 12 meses pós-tratamento. *Neoscytalidium dimidiatum* foi isolado em cultura em pouco mais da metade dos pacientes ao término das aplicações do *laser* e em dois terços ao final do período de acompanhamento.

O tratamento da onicomicose com *laser* Nd:YAG não foi bem tolerado devido a dor e calor. Alterações na lâmina ungueal, bolhas periungueais e onicomadese foram observados, embora tenham sido reversíveis.

Ocorreu um evento adverso grave relacionado ao tratamento, que evoluiu com cicatriz, mostrando que o tratamento não é totalmente seguro.

REFERÊNCIAS

Anderson RR, Parrish JA. Selective photothermolysis: precise microsurgery by selective absorption of pulsed radiation. *Science* 1983;220: 524–7.

Apfelberg DB, Rothermel E, Widtfeldt A, Maser MR, Lash H. Preliminary report on use of carbon dioxide laser in podiatry. *J Am Podiatry Assoc* 1984;74(10):509-13.

Araújo AJG, Bastos OMP, Souza MAJ, Oliveira JC. Onicomioses por fungos emergentes: análise clínica, diagnóstico laboratorial e revisão. *An Bras Dermatol* 2003b;78:445-55.

Aspiroz C, Fortuño Cebamanos B, Rezusta A, Paz-Cristóbal P, Domínguez-Luzón F, Gené Díaz J, Gilaberte Y. Photodynamic therapy for onychomycosis. case report and review of the literature. *Rev Iberoam Micol* 2011;28(4):191-3.

Aspiroz C, Fortuño-Cebamanos B, Rezusta A, Gilaberte Y. Photodynamic therapy with methyl-aminolevulinate can be useful in the management of *Scytalidium* infections. *Actas Dermosifiliogr* 2013;104:725-727.

Baran R, Dawber RPR, Tosti A, Haneke E. A text atlas of nail disorders: diagnosis and treatment. 1. ed. EUA, Missouri:Ed. Mosby;1996.p.155-9.

Belloeuf L, Boisseau-Garsaud AM, Saint-Cyr I, Desbois N, Hélénon R, Quénéhervé C, Calès-Quist D, Garsaud P. Nail disease due to *Scytalidium* in Martinique (French West Indies). *Ann Dermatol Venereol* 2004;3:245-9.

Bergstrom GK. Onychomycosis: Is There a Role for Lasers? *J Drugs Dermatol* 2011;10:1074-75.

Bhatta AK, Huang X, Keyal U, Zhao JJ. Laser treatment for onychomycosis: a review. *Mycoses* 2014;57(12):734-40.

Bhatta AK, Keyal U, Huang X, Zhao JJ. Fractional carbon-dioxide (CO₂) laser-assisted topical therapy for the treatment of onychomycosis. *J Am Acad Dermatol* 2016;74(5):916-23.

Bornstein E, Hermans W, Gridley S, Manni J. Near-infrared photoinactivation of bacteria and fungi at physiologic temperatures. *Photochem Photobiol* 2009;85(6):1364-74.

Borovoy M, Tracy M. Noninvasive CO₂ laser fenestration improves treatment of onychomycosis. *Clin Laser Mon* 1992;10(8):123-4.

Brasch J, Beck-Jendroschek V, Gläser R. Fast and sensitive detection of *Trichophyton rubrum* in superficial tinea and onychomycosis by use of a direct polymerase chain reaction assay. *Mycoses* 2011;54(5):e313-7.

Bristow IR. The effectiveness of lasers in the treatment of onychomycosis: a systematic review. *J Foot Ankle Res* 2014;27;7:34.

Bunyaratavej S, Leeyaphan C, Rujitharanawong C, Surawan TM, Muanprasat C, Matthapan L. Efficacy of 5% amorolfine nail lacquer in *Neoscytalidium dimidiatum* onychomycosis. *J Dermatolog Treat* 2016;27(4):359-63.

Carney C, Cantrell W, Warner J, Elewski B. Treatment of onychomycosis using a submillisecond 1064-nm neodymium:yttrium-aluminum-garnet laser. *J Am Acad Dermatol* 2013;69(4):578-82.

Carney C, Tosti A, Daniel R, Scher R, Rich P, DeCoster J, Elewski B. New Classification System for Grading the Severity of Onychomycosis. Onychomycosis Severity Index. *Arch Dermatol* 2011; 17:1277-82.

Crous PW, Slippers B, Wingfield MJ, Rheeder J, Marasas WF, Phillips AJ, Alves A, Burgess T, Barber P, Groenewald JZ. Phylogenetic lineages in the Botryosphaeriaceae. *Stud Mycol* 2006; 55: 235-253.

Cursi IB, Freitas LBRC, Neves MLPF, Silva IC, Orofino-Costa R. Onicomicose por *Scytalidium spp.*: estudo clínico-epidemiológico em um hospital universitário do Rio de Janeiro, Brasil. *An Bras Dermatol* 2011;86:689-93.

Cursi IB, Silva RT, Succi IB, Bernardes-Engemann AR, Orofino-Costa R. Onychomycosis due to *Neoscytalidium* treated with oral terbinafine, ciclopirox nail lacquer and nail abrasion: a pilot study of 25 pacientes. *Mycopathol* 2013;175:75-82.

Cutera, Inc. Disponível em: <<http://www.cutera.com/thechnology/genesis-plus/toenail-fungus.php>>. Acesso em: 20 de março de 2013.

Dunand J, Viguie C, Paugam A. Intermittent posaconazole regimen to treat superficial *Scytalidium dimidiatum* infection. *Eur J Dermatol* 2010;20:649-50.

El-Tatawy RA, Abd El-Naby NM, El-Hawary EE, Talaat RA. A comparative clinical and mycological study of Nd-YAG *laser* versus topical terbinafine in the treatment of onychomycosis. *J Dermatolog Treat* 2015;26(5):461-4.

Effendy I, Lecha M, Feuilhade de Chauvin M, Di Chiacchio N, Baran R. Epidemiology and clinical classification of onychomycosis. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2005;19 Suppl 1:8-12.

Elewski BE. Onychomycosis: Pathogenesis, Diagnosis, and Management. *Clin Microbiol Rev* 1998;11(3): 415–429.

Elinav H, Izhar U, Benenson S, Admon D, Hidalgo-Grass C, Polacheck I, Korem M. Invasive *Scytalidium dimidiatum* infection in an immunocompetent adult. *J Clin Microbiol* 2009;47(4):1259-63.

EUA. *Food and Drug Administration*. Disponível em: <http://www.accessdata.fda.gov/cdrh_docs/pdf12/k122493.pdf>. Acesso em: 12 de julho de 2014.

Evans EG. Causative pathogens in onychomycosis and the possibility of treatment resistance: a review. *J Am Acad Dermatol* 1998;38:32–36.

Ferreira CMM, Barcaui C, Maceira JP. *Atlas de Dermatoscopia Aplicação Clínica e Correlação Histopatológica*. Rio de Janeiro:Ed. Dilivros; 2011. p.1-2.

Figueiredo Souza LW, Souza SV, Botelho AC. Randomized controlled trial comparing photodynamic therapy based on methylene blue dye and fluconazole for toenail onychomycosis. *Dermatol Ther* 2014;27(1):43-7.

Finch JJ, Warshaw EM. Toenail onychomycosis: current and future treatment options. *Dermatol Ther* 2007;20(1):31-46.

Francuzik W, Fritz K, Salavastru C. Laser therapies for onychomycosis - critical evaluation of methods and effectiveness. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2016;30(6):936-42.

Galvan Garcia HR. Onychomycosis: 1064-nm Nd:YAG q-switch laser treatment. *J Cosmet Dermatol* 2014;13(3):232-5.

Garinet S, Tourret J, Barete S, Arzouk N, Meyer I, Frances C, Datry A, Mazier D, Barrou B, Fekkar A. Invasive cutaneous *Neoscytalidium* infections in renal transplant recipients: a series of five cases. *BMC Infect Dis*. 2015;19:15:535.

Gupta A, Simpson F. Device-based therapies for onychomycosis treatment. *Skin Therapy Lett* 2012;17:4-9.

Gupta AK, Baran R. Ciclopirox nail lacquer solution 8% in the 21st century. *J Am Acad Dermatol* 2000;43(4 Suppl):S96-102.

Gupta AK, Elewski BE, Sugarman JL, Ieda C, Kawabata H, Kang R, Pillai R, Olin JT, Watanabe S. The efficacy and safety of efinaconazole 10% solution for treatment of mild to moderate onychomycosis: a pooled analysis of two phase 3 randomized trials. *Drugs Dermatol*. 2014;13(7):815-20.

Gupta AK, Fleckman P, Baran R. Ciclopirox nail lacquer topical solution 8% in the treatment of toenail onychomycosis. *J Am Acad Dermatol* 2000;43(4 Suppl):S70-80.

Gupta AK, Drummond-Main C, Cooper EA, Brintnell W, Piraccini BM, Tosti A. Systematic review of nondermatophyte mold onychomycosis: diagnosis, clinical types, epidemiology, and treatment. *J Am Acad Dermatol* 2012;66(3):494-502.

Gupta AK, Paquet. A retrospective chart review of the clinical efficacy of Nd:YAG 1064-nm laser for toenail onychomycosis. *M J Dermatolog Treat* 2015;26(4):376-8.

Gupta AK, Ryder JE, Johnson AM. Cumulative meta-analysis of systemic antifungal agents for the treatment of onychomycosis. *Br J Dermatol* 2004;150(3):537-44.

Gupta AK, Shear NH. A risk-benefit assessment of the newer oral antifungal agents used to treat onychomycosis. *Drug Saf* 2000;22(1):33-52.

Gupta AK, Daigle D, Carviel JL. The role of biofilms in onychomycosis. *J Am Acad Dermatol*. 2016;74(6):1241-6.

Gupta AK, Ryder JE. How to improve cure rates for the management of onychomycosis. *Dermatol Clin* 2003;21(3):499-505.

Gupta AK, Foley KA, Daigle D. Clinical trials of lasers for toenail onychomycosis: The implications of new regulatory guidance. *J Dermatolog Treat* 2016;10:1-7.

Hamzaoui S, Khleifia R, Jaïdane N, Lakhdar ZB. Quantitative analysis of pathological nails using laser-induced breakdown spectroscopy (LIBS) technique. *Lasers Med Sci* 2011; 26:79–83.

Harris DM, McDowell BA, Strisower J. Laser treatment for toenail fungus. *Proc SPIE*. 2009;7161;71610M1-7.

Hay RJ, Baran R. Onychomycosis: a proposed revision of the clinical classification. *J Am Acad Dermatol* 2011;65:1219-27.

Heck R, Rossi C, Kuh I, Bakos L. Tratamento de onicomicose dos haluces por dermatofito com *laser* Nd:YAG 1064 nm. *Surg Cosmet Dermatol* 2013;5: 257–260.

Hees H, Raulin C, Bäuml W. Laser treatment of onychomycosis: an in vitro pilot study. *Dtsch Dermatol Ges* 2012;10:913–7.

Helou J, Maatouk I, Hajjar MA, Moutran R. Evaluation of Nd:YAG laser device efficacy on onychomycosis: a case series of 30 patients. *Mycoses* 2016;59(1):7-11.

Hochman LG. Laser treatment of onychomycosis using a novel 0.65-millisecond pulsed Nd:YAG 1064-nm laser *J Cosmet Laser Ther* 2011;13:2-5.

Hollmig ST, Rahman Z, Henderson MT, Rotatori RM, Gladstone H, Tang JY. Lack of efficacy with 1064-nm neodymium:yttrium-aluminum-garnet laser for the treatment of onychomycosis: a randomized, controlled trial. *J Am Acad Dermatol* 2014;70(5):911-7.

Hongcharu W, Dwyer P, Gonzalez S, Anderson RR. Confirmation of onychomycosis by in vivo confocal microscopy. *J Am Acad Dermatol* 2000;42(2 Pt 1):214-6.

Kalil C. *Lasers e Outras Fontes de Luz em Dermatologia*. Disponível em: <http://books.google.com.br/books?isbn=8535253106>. Acesso em: 12 de março de 2014.

Kalokasidis K, Onder M, Trakatelli MG, Richert B, Fritz K. The Effect of Q-Switched Nd:YAG 1064 nm/532 nm Laser in the Treatment of Onychomycosis In Vivo. *Dermatol Res Pract* 2013;2013:379725.

Karsai S, Jäger M, Oesterhelt A, Weiss C, Schneider SW, Jünger M, Raulin C. Treating onychomycosis with the short-pulsed 1064-nm-Nd:YAG laser: results of a prospective randomized controlled trial. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2016. [Epub ahead of print].

Kim MS, Jung JY, Cho EB, Park EJ, Kim KH, Kim KJ. The effectiveness of 1,064-nm long-pulsed Nd:YAG *laser* in the treatment of severe onychomycosis. *J Cosmet Laser Ther* 2016;18:317-22.

Kimura U, Takeuchi K, Kinoshita A, Takamori K, Hiruma M, Suga Y. Treating

onychomycoses of the toenail: clinical efficacy of the sub-millisecond 1,064 nm Nd: YAG laser using a 5 mm spot diameter. *J Drugs Dermatol* 2012;11(4):496-504.

Kolodchenko YV, Baetul VI. A novel method for the treatment of fungal nail disease with 1064 nm Nd:YAG. *J Laser Health Acad* 2013;1:42-47.

Koussidou T, Devliotou-Panagiotidou D, Karakatsanis G, Minas A, Mourellou O, Samara K. Onychomycosis in Northern Greece during 1994-1998. *Mycoses* 2002;45:29-37.

Kozarev J. Laser treatment of nail fungal infection. 2009; Berlin (Poster)

Kozarev J, Vižintin Z. Novel Laser Therapy in Treatment of Onychomycosis. *J Laser Health Acad* 2010;1:1-8.

Kozarev J. Summary: ClearSteps-Laser onychomycosis treatment: Assessment of efficacy 12 months after treatment and beyond. *J Laser Health Acad* 2011;1:S07.

Krishna G, Ma L, Martinho M, Prasad P, Wahl J, Tavakkol A. Determination of posaconazole levels in toenails of adults with onychomycosis following oral treatment with four regimens of posaconazole for 12 or 24 weeks. *Antimicrob Agents Chemother* 2011;55:4424-4426.

Lacaz CS, Porto E, Martins JEC, Vaccari EMH, Melo NT. Tratado de micologia médica Lacaz, 9. ed. São Paulo: Ed. Servier; 2002, 1104p.

Lavorato, F.G. Diagnóstico laboratorial da onicomiose dos pés causada por dermatófitos e fungos filamentosos não dermatófitos: estudo comparativo entre o exame micológico do raspado subungueal e a análise histopatológica da queratina ungueal distal (clipping ungueal). [dissertação]. Rio de Janeiro: Universidade do Estado do Rio de Janeiro; 2016.

Landsman AS, Robbins AH, Angelini PF, Wu CC, Cook J, Oster M, Bornstein ES. Treatment of mild, moderate, and severe onychomycosis using 870- and 930-nm light exposure. *J Am Podiatr Med Assoc* 2010;100(3):166-77.

Ledon JA, Savas J, Franca K, Chacon A, Nouri K. Laser and light therapy for onychomycosis: a systematic review. *Lasers Med Sci* 2014;29(2):823-9.

Leverone AP, Guimarães DA, Bernardes-Engemann AR, Orofino-Costa R. Partial Necrosis of the Hallux in a Patient Treated With Laser for Onychomycosis: Is This Procedure Really Worthwhile? *Dermatol Surg* 2015;41(7):869-72.

Lim EH, Kim HR, Park YO, Lee Y, Seo YJ, Kim CD, Lee JH, Im M. Toenail onychomycosis treated with a fractional carbon-dioxide laser and topical antifungal cream. *J Am Acad Dermatol* 2014;70(5):918-23.

Lurati M, Baudraz-Rosselet F, Vernez M, Spring P, Bontems O, Fratti M, Monod M. Efficacious treatment of non-dermatophyte mould onychomycosis with topical amphotericin B. *Dermatology* 2011;223(4):289-92.

Madrid H, Ruiz-Cendoya M, Cano J, Stchigel A, Orofino R, Guarro J. Gentyping and in vitro antifungal susceptibility of *Neoscytalidium dimidiatum* isolates from diferente origins. *Int J of Antimicrob Agents* 2009;34:351-354.

- Manevitch Z, Lev D, Hochberg M, Palhan M, Lewis A, Enk CD. Direct antifungal effect of femtosecond laser on *Trichophyton rubrum* onychomycosis. *Photochem Photobiol* 2010;86(2):476-9.
- Meireles TE, Rocha MF, Brillhante RS, Cordeiro Rde A, Sidrim JJ. Successive mycological nail tests for onychomycosis: a strategy to improve diagnosis efficiency. 2008; *Braz J Infect Dis*;12(4):333-7.
- Moon SH, Hur H, Oh YJ, Choi KH, Kim JE, Ko JY, Ro YS. Treatment of onychomycosis with a 1,064-nm long-pulsed Nd:YAG laser. *J Cosmet Laser Ther* 2014;4:165-70.29.
- Morais OO, Costa IM, Gomes CM, Shinzato DH, Ayres GM, Cardoso RM. The use of the Er:YAG 2940nm laser associated with amorolfine lacquer in the treatment of onychomycosis. *An Bras Dermatol* 2013;88(5):847-9.
- Moutran R, Maatouk I, Hérou J. Diabetic neuropathy and Nd-YAG (1064 nm) laser for onychomycosis: be careful. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2015;29:1239-40.
- Muhsin TM, Aubaid AH, al-Duboon AH. Extracellular enzyme activities of dermatophytes and yeast isolates on solid media. *Mycoses* 1997;40:465-9.
- Nakamura RC, Costa MC. Dermatoscopic findings in the most frequent onychopathies: descriptive analysis of 500 cases. *Int J Dermatol* 2012;51:483-96.
- Nenoff P, Grunewald S, Paasch U. Laser therapy of onychomycosis. *J Dtsch Dermatol Ges* 2014;12(1):33-8.
- Noguchi H, Miyata K, Sugita T, Hiruma M, Hiruma M. Treatment of onychomycosis using a 1064nm Nd:YAG laser. *Med Mycol J* 2013;54(4):333-9.
- Oliveira GB, Antonio JR, Antonio CR, Tomé FA. Associação de *laser* de CO₂ fracionado de 10.600 nm com terapia fotodinâmica no tratamento da onicomicose. *An Bras Dermatol* 2015;90(4):468-71.
- Ortiz A, Truong S, Serowka K, Kelly K. A randomized placebo-controlled study of the 1320 nm Nd: YAG laser for improving the appearance of onychomycosis. *Dermatol Surg* 2012; October11-14.
- Osório N, Torezan LAR, *Laser em Dermatologia e Medicina Estética Conceitos Básicos e Aplicações*, 2.ed., São Paulo: Ed. Roca; 2009, 292p.
- Oyecka CA & Gugnani HC. Keratin degradation by *Scytalidium* species and *Fusarium solani*. *Mycoses*. 1988;41(1-2):73-6.
- Peres NT, Maranhão FC, Rossi A, Martinez-Rossi NM. Dermatophytes: host-pathogen interaction and antifungal resistance. *An Bras Dermatol* 2010;8:657-67.
- Petinataud D, Berger S, Ferdynus C, Debourgogne A, Contet-Audonneau N, Machouart M. Optimising the diagnostic strategy for onychomycosis from sample collection to FUNGAL identification evaluation of a diagnostic kit for real-time PCR. *Mycoses* 2016;59(5):304-11.

- Phillips AJL, Alves A, Abdollahzadeh J, Slippers B, Wingfield MJ, Groenewald JZ, Crous PW. The Botryosphaeriaceae: genera and species known from culture. *Stud Mycol* 2013; 76: 51-167.
- Piraccini BM, Balestri R, Starace M, Rech G. Nail digital dermoscopy (onychoscopy) in the diagnosis of onychomycosis. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2013;27:509-13.
- Piraccini BM, Rech G, Tosti A. Photodynamic therapy of onychomycosis caused by *Trichophyton rubrum*. *J Am Acad Dermatol* 2008;59:S75-6.
- R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL. Disponível em: <<https://www.R-project.org/>>. Acesso em: 20 de maio de 2016.
- Raulin, C & Karsai S. Tecnologias *Laser* e LIP em Dermatologia e Medicina Estética. Rio de Janeiro: Ed. Dilivros, 2011; Tradução. p.3-42.
- Renner R, Grüsser K, Sticherling M. 1,064-nm diode laser therapy of onychomycosis: results of a prospective open treatment of 82 toenails. *Dermatology* 2015;230(2):128-34.
- Rito C, Pineiro-Maceira J. Reflectance confocal microscopy in the diagnosis of cutaneous melanoma. *An Bras Dermatol* 2009;84(6):636-42.
- Scher RK. Onychomycosis: therapeutic update. *J Am Acad Dermatol* 1999;40:S21-6.
- Shemer A. Update: Medical treatment of onychomycosis. *Dermatol Ther* 2012; 25:582-93.
- Sidrim JJC, Moreira JLB. Fundamentos clínicos e laboratoriais da micologia médica, 1 ed. Rio de Janeiro: Ed. Guanabara Koogan; 1999, p58-9.
- Sigurgeirsson B, Baran R. The prevalence of onychomycosis in the global population - A literature study. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2013;28:1480-91.
- Silva AP, Kurachi C, Bagnato VS, Inada NM. Fast elimination of onychomycosis by hematoporphyrin derivative-photodynamic therapy. *Photodiagnosis Photodyn Ther* 2013;10(3):328-30.
- Simonnet C, Berger F, Gantier JC. Epidemiology of superficial fungal diseases in French Guiana: a three-year retrospective analysis. *Med Mycol* 2011;49:608-11.
- Smijs TGM, Stan Pavel S, The susceptibility of dermatophytes to photodynamic treatment with special focus on *Trichophyton rubrum*. *Photochem photobiol* 2011;87:2-13.
- Sotiriou E, Ermonti TK, Chaidemenos G, Apalla Z, Ioannides D. Photodynamic therapy for distal and lateral subungual toenail onychomycosis caused by *Trichophyton rubrum*: Preliminary results of a single-center open trial. *Acta Derm Venerol* 2010;90:216-7.
- Souza LW, Souza SV, Botelho AC. Distal and lateral toenail onychomycosis caused by *Trichophyton rubrum*: treatment with photodynamic therapy based on methylene blue dye. *An Bras Dermatol* 2014;89(1):184-6.

Spriet I, Lambrecht C, Lagrou K, Verhamme B. Successful eradication of *Scytalidium dimidiatum*-induced unguinal and cutaneous infection with voriconazole. *Eur J Dermatol* 2012;22:197-199.

Succi IB, Bernardes-Engemann AR, Orofino-Costa R. Intermittent therapy with terbinafine and nail abrasion for dermatophyte toe onychomycosis: a pilot study. *Mycoses* 2013;56(3):327-32.

Toledo-Bahena ME, Bucko A, Ocampo-Candiani J, Herz-Ruelas ME, Jones TM, Jarratt MT, Pollak RA, Zane LT. The efficacy and safety of tavaborole, a novel, boron-based pharmaceutical agent: phase 2 studies conducted for the topical treatment of toenail onychomycosis. *J Drugs Dermatol* 2014;13(9):1124-32.

Torezan L., Niwa ABM, Neto CF. Terapia fotodinâmica em dermatologia: princípios básicos e aplicações. *An Bras Dermatol* 2009;84:445-59.

Turan E, Yurt N, Gurel MS, Erdemir AT. In vivo confocal microscopy in the diagnosis of onychomycosis. *Cutis* 2015;95(4):E9-10.

Vural E, Winfield HL, Shingleton AW, Horn TD, Shafirstein G. The effects of laser irradiation on *Trichophyton rubrum* growth. *Lasers Med Sci* 2008;23(4):349-53.

Wanitphakdeedecha R, Thanomkitti K, Bunyaratavej S, Manuskiatti W. Efficacy and safety of 1064-nm Nd:YAG laser in treatment of onychomycosis. *Dermatolog Treat* 2016;27(1):75-9.

Watanabe D, Chiharu Kawamura C, Masuda Y, Akita Y. Successful treatment of toenail onychomycosis with photodynamic therapy. *Arch Dermatol* 2008;144:58-64.

Watanabe S. The efficacy and safety of efinaconazole 10% solution for treatment of mild to moderate onychomycosis: a pooled analysis of two phase 3 randomized trials. *J Drugs Dermatol* 2014;13:815-20.

Xu Y, Miao X, Zhou B, Luo D. Combined oral terbinafine and long-pulsed 1,064-nm Nd:YAG laser treatment is more effective for onychomycosis than either treatment alone. *Dermatol Surg* 2014;40(11):1201-7.

Zaias N, Glick B, Rebell G. Diagnosing and treating onychomycosis. *J Fam Pract* 1996; 42: 513-8.

Zaias N. Onychomycosis. *Arch Dermatol*. 1972;105(2):263-74.

Zanardi D, Nunes DH, Pacheco AS, Tubone MQ, Filho JJS. Avaliação dos métodos para onicomicoses. *Rio de Janeiro: An Bras Dermatol* 2008; 83:119-24.

Zhang RN, Wang DK, Zhuo FL, Duan XH, Zhang XY, Zhao JY. Long-pulse Nd:YAG 1064-nm laser treatment for onychomycosis. *Chin Med J (Engl)*. 2012;125(18):3288-9.

APÊNDICE A - Partial Necrosis of the Hallux in a Patient Treated With Laser for Onychomycosis: Is This Procedure Really Worthwhile? (Artigo publicado)

You could be reading the full-text of this article now if you...

Become a subscriber Purchase this article

If you have access to this article through your institution, you can view this article in

OvidSP

Dermatologic Surgery:

June 12, 2015 - Volume Publish Ahead of Print - Issue - ppg.

doi: 10.1097/DSS.0000000000000363

Letters and Communications: PDF Only

Partial Necrosis of the Hallux in a Patient Treated With Laser for Onychomycosis: Is This Procedure Really Worthwhile?

Leverone, Andreia Pizarro MD; Guimarães, Davson Aguiar Pharm; Bernardes-Engemann, Andréa Reis PhD; Orofino-Costa, Rosane MD, PhD

CONTENT NOT FOR REUSE

LETTERS AND COMMUNICATIONS

Partial Necrosis of the Hallux in a Patient Treated With Laser for Onychomycosis: Is This Procedure Really Worthwhile?

A 71-year-old black male patient presented at the dermatology clinic complaining of lesions on his hallux that first started approximately 20 years ago and had progressively compromised all of his toenails. He used to play soccer every week, which most likely caused nail trauma. He reported controlled systemic arterial hypertension with enalapril and carvedilol and a prostate cancer treated with radiotherapy 4 years previously. The patient denied any degenerative or vascular disease and diabetes mellitus. On dermatologic examination, brown onychomycosis, onycholysis, thickened nail plates, and subungual keratosis >2 mm were observed in both halluces and in the other toenails, which suggested a poor prognosis (Figure 1). Nail dermatoscopy revealed longitudinal yellow streaks starting from the free edge of the nail plate and going to the nail matrix, melanonychia, and the characteristic "rain spots" of subungual keratosis as already described (Figure 2). Scaling skin lesions could be seen on both plantar surfaces and toe webs. Direct microscopy of both skin and toenails revealed regular, septate, hyaline hyphae. *Neovrysetilium dissolutum* var. *hyalinum* was recovered from the hallux. Treatment with a 1064-nm

rodenticium-tritium-aluminum-garnet laser (Nd:YAG laser, Genesis, Cerra Inc., Brisbane, CA) was started using the following parameters described for this equipment: pulse duration 0.3 milliseconds, fluence 18 joules/cm², and 3 Hz repetition rate. The treatment consisted of 4 cycles of 100 shots each, with a total of 400 shots in each hallux. Six weeks later, he returned for the second treatment session using the same parameters. He reported a mild intensity pain during the first procedure, which disappeared at the end of the session. Basal temperature was measured at 34.8°C reaching 48.8°C and 54°C after 200 and 400 shots, respectively. He returned 2 months after the second procedure presenting with paronychia, nail loss, and an ulceration of the ventral nail bed of the right hallux (Figure 3). Pain of mild intensity was described, which had lasted 1 week after the last procedure. Onychomycosis was reported as having occurred 1 week before this last consultation. After a thorough inquiry, he finally admitted to having had paronychia in the toe for 3 to 4 years but had wanted to mention this symptom because it did not cause him discomfort and therefore he had thought it was not important. Treatment was empirically started with systemic antibiotic, ciprofloxacin 500



Figure 1. Onychomycosis due to *N. dermatitidis* before laser treatment. (A) Onychomycosis, thickening of the nail plate; (B) onycholysis, subungual keratosis.

© 2015 by the American Society for Dermatologic Surgery, Inc. Published by Wolters Kluwer Health | Inc. All rights reserved.
ISSN: 1076-0117 • Dermatol Surg 2015;91:1-4

© 2015 by the American Society for Dermatologic Surgery, Inc. Published by Wolters Kluwer Health | Inc. An international journal of the specialty of dermatologic surgery.

You currently do not have access to this article.

You may need to:

- Register an account.
- Login if you are a registered subscriber.
- Subscribe to this Journal, or
- Purchase access to this article if you are not a current subscriber.
- View this article in Ovid if your institution subscribes to this journal.

Note: If your society membership provides for full-access to this article, you may need to login on your society's web site first.

APÊNDICE B –Laser treatment of onychomycosis due to *Neoscytalidium dimidiatum*: An open prospective study. (Artigo publicado)



Medical Mycology, 2017, 0, 1–7
doi: 10.1093/mmy/mxx028
Advance Access Publication Date: 0 2017
Original Article



Original Article

Laser treatment of onychomycosis due to *Neoscytalidium dimidiatum*: An open prospective study

Andreia Pizarro Leverone¹, Dávson Aguilar Guimarães², Andréa Reis Bernardes-Engemann^{1,2} and Rosane Orofino-Costa^{1,2,*}

¹Dermatology Department, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brazil and ²Medical Mycology Laboratory, Hospital Universitário Pedro Ernesto, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brazil

*To whom correspondence should be addressed. Rosane Orofino-Costa, MD, Av 28 de Setembro, 77 - 2^o andar Vila Isabel, Rio de Janeiro, RJ, Brazil, 20551-030. Tel: +55-21-29588470; E-mail: rosaneorofino@globo.com

Ethical approval: This study was approved in 2013 by the Ethics Committee of the Hospital Universitário Pedro Ernesto, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Brazil, and received the number CAAE 15369813.2.0000.3259.

Received 18 December 2016; Revised 12 January 2017; Accepted 23 March 2017; Editorial Decision 26 January 2017

Abstract

Conventional systemic and topical treatments have proven ineffective for the treatment of onychomycosis caused by *Neoscytalidium dimidiatum*. Our aim was to evaluate the effectiveness and safety of laser monotherapy for the treatment of onychomycosis caused by this pathogen. Patients with clinical onychomycosis of the toenails and positive results both on direct mycological examination and *N. dimidiatum* culture underwent four 1064 nm Nd:YAG laser sessions with 6-week intervals between sessions. Participants were monitored by clinical examination supported by dermoscopy, measurement of diseased nail and the onychomycosis severity index (OSI), and by mycological examination for 12 months after completion of treatment. Treatment outcome was based on clinical and laboratory criteria and was divided in complete or partial cure, clinical improvement, treatment failure and relapse. No patient had complete or partial cure at any time during the study. Clinical improvement was observed in 40.6% of the patients at the end of the laser sessions; however, it did not persist during the follow-up. Treatment failure was observed in 64.7% of the patients at the end of 12 month follow-up period. Direct microscopy and culture results remained positive in most patients. Adverse events, in addition to treatment-related pain, were observed and considered severe in one case. The 1064 nm Nd:YAG laser was not able to cure onychomycosis caused by *N. dimidiatum* but temporarily improved the clinical appearance of the nail; however, adverse events may occur.

Key words: onychomycosis, *Neoscytalidium dimidiatum*, laser, Nd:YAG laser, onychomycosis severity index.

Introduction

The 1064 nm neodymium-doped yttrium aluminum garnet (Nd:YAG) laser was the first type of laser approved by the Food and Drug Administration (FDA) for temporary improving nail appearance of chronic onychomycosis caused by dermatophytes. Afterward, diode, CO₂, and other laser devices came into use for the same purpose. Most studies report that the use of lasers for onychomycosis is safe, effective, and free of significant adverse events, except tolerable pain and heat, and therefore superior to conventional therapy.¹⁻³

The clinical similarity of onychomycosis caused by dermatophytes and by *Neoscytalidium dimidiatum* led our group to investigate if light-based therapies might be an alternative for this emerging pathogen since currently, no treatment is considered the gold standard in the scientific literature.⁴ The fungus *N. dimidiatum*, a soil saprobe and plant pathogen, causes superficial lesions on the nail, palmoplantar, and interdigital regions. Systemic infection cases have been reported. In some cases, previous chronic skin and/or nail lesions existed, which may indicate a potential reservoir of this microorganism in immunosuppressed patients.⁵

This was a study intended to evaluate the effectiveness and safety of using a laser device as monotherapy for the treatment of onychomycosis caused by *N. dimidiatum*.

Methods

This was a prospective, uncontrolled, nonrandomized, open-label study conducted at the Department of Dermatology of the Pedro Ernesto University Hospital (Hospital Universitário Pedro Ernesto [HUPE]), Rio de Janeiro State University (Universidade do Estado do Rio de Janeiro [UERJ]), Brazil, and approved by the Research Ethics Committee of the HUPE/UERJ in 2013. All patients signed the informed consent form after their questions were answered.

The inclusion criteria were as follows: patients with a clinical diagnosis of onychomycosis in at least one hallux and direct microscopy and culture results that were both positive for *N. dimidiatum*; age older than 18 years; and no use of topical antifungal medication for at least one month or systemic medication for at least three months. Pregnant and lactating women and patients with severe noncontrolled systemic disease were excluded.

The most affected hallux was chosen as the target nail for evaluation of all clinical and laboratory parameters of the protocol. Clinical evaluation was performed by observing the nail apparatus with the aid of a handheld dermatoscope and digital photographs. The percentage of longitudinal damage of the nail plate was measured and ranked

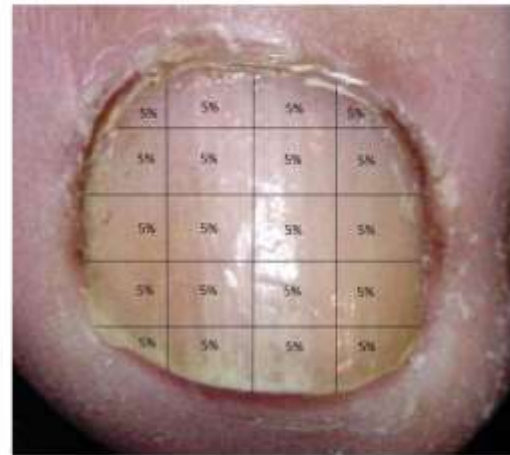


Figure 1. A schematic design of the nail plate splitting intended to estimate the compromised onychomycosis severity index (OSI) area.

as <25%, 25–50%, 51–75%, or >75%, in addition to the previously described onychomycosis severity index (OSI).⁶ This method is generally used to assess the prognosis and to choose the appropriate therapy for onychomycosis, and is calculated by multiplying the score of the nail affected area by the score of the proximity of the disease to the nail matrix. If dermatophytoma (in our case, dermatophytoma-like) and/or subungual keratosis >2.0 mm is present the score is increased in 10 points (OSI = area × matrix proximity + 10). Onychomycosis is considered as mild, moderate, or severe if total OSI is 1–5, 6–15, or 16–35, respectively. Due to the lack of a standard method to measure the area of involvement, our group developed a more objectively guide for this calculation (Fig. 1). Clinical evaluation was performed before and after treatment and at 12 months after its completion. When involvement of the palmoplantar and interdigital regions was noted, the patient was advised to apply 1% butenafine cream q.d. for 6 weeks.

Direct microscopy, clarified with KOH+DMSO, was considered positive when septate, hyaline or dematiaceous hyphae and/or arthroconidia were present on the skin scales of subungual scrapings. Culture was considered positive when *N. dimidiatum* was isolated on Sabouraud dextrose agar (SDA) and identified by its colony with a cotton-like disorganized surface and a micromorphology showing hyaline and/or brownish septate hyphae and dark brown, thick-walled conidia with one or two septa. Mycological examinations were performed before and after treatment and at 12 months post-treatment.

Laser treatment consisted of four sessions with an interval of approximately 6 weeks between sessions. The device used was a 1064 nm Nd:YAG laser (Genesis™, Cutera, Inc., USA) with the following parameters: fluence

of 16 J/cm², 0.3 millisecond pulse duration, spot size of 5 mm, and a 2–3 Hertz repetition rate. Four laser cycles were applied in each session, with an average of 400 passes for the target nail and 400 passes for all other affected nails, resulting in up to 800 passes per foot. The entire nail plate was intermittently treated in a spiral pattern, as previously described.⁷ All affected toenails were treated by advancing approximately 2.0 mm toward the periungual, lateral, and proximal edges. A digital thermometer was used to measure the temperature.

The following healing criteria were considered to measure the outcome of the laser treatment for onychomycosis at the end of the four laser sessions and at 12 months post-treatment:

- Complete cure: clinically healthy nail, direct microscopy and culture both negative;
- Partial cure: less than 25% of the longitudinally nail damaged and direct microscopy and culture both negative;
- Mycological cure: both direct microscopy and culture negative, independent of nail clinical appearance.
- Clinical improvement: improvement compared to the initial examination, but with direct microscopy and/or culture positive.
- Treatment failure: nail identical to or worse than pre-treatment and/or direct microscopy and/or culture positive.
- Recurrence/relapse: after achieving complete or partial cure presents clinical worsening and/or direct microscopy and/or culture positive results.

Microsoft Excel 2010 and R version 3.2.3 were used for statistical analysis and a significance level of $P < .05$ was adopted. The log-rank test was used to evaluate possible significant differences in the distribution of onychomycosis duration and patient age in relation to the therapeutic outcome. Student t test was used to determine statistical differences in the OSI throughout the study.

Results

In the period between June 2013 and September 2014 (16 months), the Mycology Laboratory of HUPE/UERJ diagnosed 64 patients with onychomycosis caused by *N. dimidiatum*. Of these, 36 patients were included in the study because they met the pre-established inclusion/exclusion criteria, including 26 (72.2%) females and 24 (67.7%) individuals of nonwhite ethnicity. The mean age was 60.8 years, ranging from 42 to 81 years. Thirty-two patients (89%) completed the four laser applications established in the protocol, and 17 (47.2%) completed the study. The reasons for protocol drop-out were concomitant diseases not related to

the treatment, treatment failure, and a severe adverse event related to laser use in one patient.

Among the comorbidities of these patients, the most common were heart disease in 23 (63.8%) and dyslipidemia in 10 (27.7%) patients. Four (11%) patients with palmar lesions, 14 (39%) with plantar lesions, and 13 (36%) with lesions in the interdigital region used butenafine cream. In 25 (75%) patients, more than one nail was affected. The mean duration of disease was 8.6 years, ranging from 4 months to 20 years.

All 36 patients presented with the distal/lateral type of onychomycosis. Onycholysis (100%), yellow nail discoloration (94.4%), and subungual keratosis >2.0 mm (97%) were the most common clinical findings.

Of the 36 patients who participated in the protocol 36.2% presented with a longitudinal damage of the nail plate between 25 and 50% and 30.5% between 51 and 75%. The majority of the patients were considered to have a severe OSI (67%) before treatment. According to the mean numerical score of the OSI, no significant improvement was observed at the end of the four laser applications or at the end of follow up ($P > .05$). Table 1 shows the results of treatment progression based on these parameters.

On direct microscopy, dematiaceous hyphae were present in two patients and brownish arthroconidia were noted in 10. The remaining samples showed hyaline fungi structures. Mycological cure, defined as both negative direct microscopy and culture, was achieved by a single patient at treatment end and by another one at 12 months post-treatment. By these time points, both patients did not show any clinical improvement. Direct microscopy was positive in 87.5% and 94.5%, respectively, at the end of laser sessions and at 12 month follow-up. Culture remained positive in 56.2% samples at the end of treatment and in 66.7% at 12 months post-treatment. *Neoscytalidium dimidiatum* phenotype on SDA alternated between hyaline and dematiaceous in the patient's samples during the study period.

Approximately 90% of patients complained of moderate or severe pain during laser application. The measured temperature during application ranged between 40.9°C and 56.5°C, depending on individual tolerance. Reports of erythema, periungual blisters, and discomfort for up to a week between sessions, followed by nail loss, were noted. Nail surface peeling with a wave pattern appearance (Fig. 2a), onychomadesis (Fig. 2b), and hematoma were also observed. Patients reported of pain relief when onychocryptosis was present. We noticed an immediate darkening of the nail, similar to a burn, during the procedure on one patient (Fig. 2c). A persistent nail plaque scar was observed in one patient after laser session (Fig. 2d–e). One patient developed partial necrosis of the hallux and a scar caused by the laser.⁸

Table 1. OSI, OSI score, and percentage of diseased nail from patients treated with laser for onychomycosis.

	OSI			Mean OSI score	% of longitudinal diseased nail			
	Mild no. (%)	Moderate no. (%)	Severe no. (%)		<25% no. (%)	25-50% no. (%)	51-75% no. (%)	>75% no. (%)
Pretreatment N = 36	2 (5.5)	10 (27.8)	24 (66.7)	17.417	2 (5.6)	13 (36.1)	11 (30.6)	10 (27.8)
Treatment end N = 32	3 (9.4)	6 (18.7)	23 (71.9)	17.406*	3 (9.4)	15 (46.9)	8 (25.0)	6 (18.8)
End of 12-month follow-up N = 17	1 (5.9)	6 (35.3)	10 (58.8)	15.882**	2 (11.8)	6 (35.3)	7 (41.2)	2 (11.8)

OSI, onychomycosis severity index.

*End of treatment compared to pretreatment ($P = .6162$).

**End of follow up compared to pretreatment ($P = .4108$).



Figure 2. Adverse events in the nail plaque due to laser treatment: (a) "waves" aspect; (b) onychomadesis; (c) burn during laser procedure; (d) before laser; and (e) scar deformity in the same patient after laser procedure.

According to the clinical and laboratory criteria for cure adopted in this study, no patient had complete or partial cure. At the end of the four laser sessions, 13 (40.6%) of the 32 patients exhibited clinical improvement, and 19 (59.4%) had treatment failure. At the end of the 18 months of the study, six (35.3%) of the 17 patients who continued in the study showed clinical improvement, and 11 (64.7%) had treatment failure (Fig. 3a-f). No statistically significant evidence was found to indicate that age ($p = 0.266$) or the duration ($P = .186$) of onychomycosis affected the therapeutic outcome.

Discussion

Neoscytalidium dimidiatum is one of the nondermatophyte moulds that causes onychomycosis and is commonly found

in tropical countries; in certain areas it replaces dermatophytes.⁹ This microorganism is usually resistant to conventional treatments, leading to a chronic and mainly relapsing disease with financial implications to the public health system in countries in which it is endemic, which are predominantly developing countries.¹⁰ Clinicians and mycologists should be aware of changes in the epidemiology of *N. dimidiatum* due to the recent people immigration from areas where it might be endemic, like north of Africa and Syria. Case reports or series of published cases show partial results or no results with conventional treatments, although isolated reports of cure have been noted. The treatments used include 5% amorolfine and 8% ciclopirox nail lacquers or systemic medications such as terbinafine, itraconazole, posaconazole, and voriconazole.¹¹⁻¹⁴ The association of mechanical, surgical, or chemical intervention is recommended to increase the penetration of topical medicines.

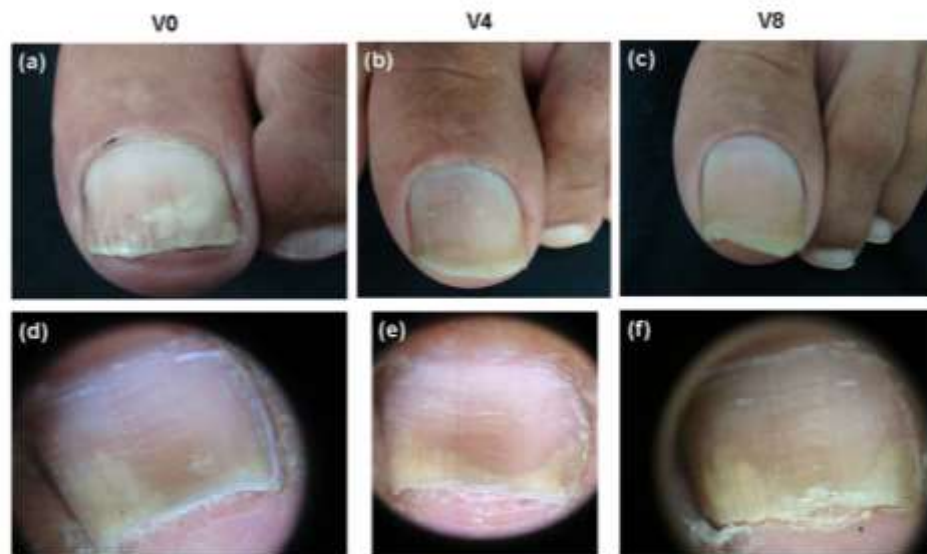


Figure 3. Clinical features of patients treated with laser for onychomycosis. V0 = before treatment; V4 = end of treatment; V8 = 12 month follow-up; (a-c) clinical improvement; (d-f) treatment failure (onychocopy).

Nondermatophyte moulds therapy is normally based on dermatophytosis used drugs or procedures. Considering specifically *N. dimidiatum*, some investigators were not able to cure patients combining treatment with oral terbinafine and 8% ciclopirox nail lacquer or with the latter alone. The only patient to obtain complete cure relapsed after 6 months.⁴ A 50% of complete cure was reported in 28 patients treated with 5% amorolfine nail lacquer, twice a week, for approximately 180 days.¹¹ In another study, a patient was treated with photodynamic therapy (PDT) using methyl aminolevulinate and a light-emitting diode (LED) lamp in four sessions. The patient achieved clinical and mycological cure; however, *N. dimidiatum* was isolated again after a 6-month follow-up, showing once more the high recurrence rate of this etiologic agent.¹⁵ A different study demonstrated that *N. dimidiatum* was more sensitive to treatment with a 1064 nm Nd:YAG laser than *T. mentagrophytes*. The authors achieved a cure rate of 66.7% at 6 months follow up using a different Nd:YAG 1064 nm laser device (Dualis SP, Fotona, Slovenia), in four sessions 1 week apart. Parameters used were 35–40 J of fluence, 1 Hz frequency, pulse duration of 30–35 ms, and a 4-mm spot size. Cure was defined as negative fungal culture (no direct microscopy) and residual subungual hyperkeratosis or onycholysis less than 10%.¹⁶ Unlike these previous studies carried out in different geographic regions, in our work, no patient was cured, and the clinical improvement obtained in 40.6% of the 32 patients at the end of the four laser sessions in 6 months was only temporary and was not maintained throughout the 12 months of follow-up. Possible explana-

tions for the differences between previous researches and ours may include the type of population studied, molecular and phylogenetic differences in *N. dimidiatum* isolates, fungus virulence, and consequently host-parasite interaction, or even the use of more stringent criteria for assessing outcomes along with different scientific methods. Moreover, the choice of using a device for onychomycosis usually is based on the lack of response or contraindications to conventional drugs so that patients commonly present with more severe and chronic nail disease and this was the case with the current study.

Elucidation about laser mechanisms of action for the treatment of onychomycosis is still lacking; *in vitro* and *in vivo* studies have shown conflicting results regarding mechanism of action of laser over fungi. Some of the hypotheses already published are the heat fungicidal action over the fungi, keratin proteins denaturation, the possible laser influence on cellular oxidative reactions, changes in host immune modulation or even the laser energy absorption by xantomegnin and melanin, chromophores of *T. rubrum* and *N. dimidiatum*, respectively.^{17–20} A cutaneous murine model already developed for the study of *N. dimidiatum* skin infections might be relevant in analyzing some of the proposed theories.²¹

Likewise, there is no gold standard for laser treatment, such as the best laser device, the optimal number of treatment sessions, and the interval between them; therefore, clinical trials are still needed. More rigorous and standardized scientific guidelines are desirable to compare the results, like well-defined clinical and mycological outcomes

and the time points when these are measured.^{22–23} Pharmacological trials typically have more defined rules to measure the treatment outcomes and a longer follow up than do device trials which are crucial when expanding studies results. It could be that our study provides a more realistic picture of the treatment efficacy in *N. dimidiatum* onychomycosis since we have more suitably defined time points and outcomes than previous device trials.

In some reports, the OSI has been used to monitor the therapeutic outcome for onychomycosis, although it was originally proposed for prognosis and therapy selection. The large score variation among the three degrees of severity (mild, moderate, and severe) affects the statistical evaluation for the study outcome; however, isolated use of the numeric score can be valuable index. Currently, dermoscopy of the nail apparatus (onychoscopy) is an indispensable semiological resource for evaluation of nail diseases, facilitating not only the diagnosis but also assisting with the detection of important clinical signs. In a published study the authors found the “ruins aspect” of the subungual keratosis only in patients with onychomycosis, a dermoscopic sign also present in our patients.²⁴

Considering that the FDA approved this treatment for temporary clinical improvement and not to cure the disease or as monotherapy, thus far it is necessary that other treatments are prescribed in combination with the laser. Treatments that target only the nails usually have low cure and high relapse rates because, among other reasons, they do not treat the adjacent skin lesions, such as plantar and interdigital lesions, which are the likely fungus reservoir for invading the nail through the hyponychium. Approximately one-third of our patients had adjacent skin lesions, which were likely the source of nail infection. The mycological examination remained positive in most patients, demonstrating the ineffectiveness of this laser to treat onychomycosis caused by *N. dimidiatum*.

A positive aspect of the treatment was the feeling of aesthetic improvement by the patient, which was mainly due to lightening of the nail plate with consequent improvement in self-esteem.

Most published studies claim that laser treatment for onychomycosis is safe and effective, showing not only temporary improvement but also a high percentage of cure of the disease. However, our study, similar to others, failed to reproduce those results.^{20, 25–27} More adverse events were observed in the present research than in most published studies.^{28–30} Onychomadesis seems to be a consequence of the reported blisters on periungual folds. Reports of the feeling of local discomfort for up to one week after laser application were noted. Nail peeling with a wave pattern was a common clinical observation and appears to be a result of intermittent and temporary injury of the nail matrix

at the site where the laser was also applied, approximately 2.0 mm from the periungual edges. The feeling of pain and burning caused by the laser energy in the nail plate is still one of the problems of the treatment, which often has to be interrupted due to patient discomfort. *N. dimidiatum* is a black fungus and therefore has a greater amount of target (melanin) for this laser beam. Furthermore, an *in vitro* study showed that this fungus also requires higher temperatures, for a longer time, than dermatophytes for elimination. That would not be tolerated by the patient.²⁹

Two severe adverse events were reported in the literature. In one study, a diabetic patient developed blisters and was hospitalized and amputated.³¹ In the other study, one of our patients, developed necrosis, and had, as a consequence, a scar sequela.⁶ Patients with peripheral neuropathy withstand higher temperatures without reporting pain or burning.

Treatment of onychomycosis with a laser was not effective or fully safe, with occurrence of mild to severe adverse events. To date, no scientific evidence exists to support the use of a laser as a first choice for single or combined treatment of onychomycosis although it might be an alternative attempt in very special situations.

Acknowledgment

The authors thank the technical staff of the Laboratory of Mycology of HUPEUERJ for help in the collection and processing of the material; Raphael Roma for administrative and informatics work; and Lincoln Thiago Neves for statistical support.

Declaration of interest

The authors report no conflicts of interest. The authors alone are responsible for the content and the writing of the paper.

References

- Landman AS, Robbins AH, Angelini PF et al. Treatment of mild, moderate, and severe onychomycosis using 870- and 930-nm light exposure. *J Am Podiatr Med Assoc.* 2010; **100**: 166–177.
- Kozarev J, Viřtin Z. Novel Laser Therapy in Treatment of Onychomycosis. *LA & HA Journal.* 2010; **1**: 1–8.
- Hees H, Jäger MW, Raulin C. Treatment of onychomycosis using the 1 064 nm Nd:YAG laser: a clinical pilot study. *J Dtsch Dermatol Ges.* 2014; **4**: 322–329.
- Cursi IB, Silva RT, Succi IB et al. Onychomycosis due to *Neoscytalidium* treated with oral terbinafine, ciclopirox nail lacquer and nail abrasion: a pilot study of 25 patients. *Mycopathol.* 2013; **175**: 75–82.
- Garinot S, Tourret J, Barete S et al. Invasive cutaneous *Neoscytalidium* infections in renal transplant recipients: a series of five cases. *BMC Infect Dis.* 2015; **15**: 535.

6. Carney C, Tosti A, Daniel R et al. New Classification System for Grading the Severity of Onychomycosis. Onychomycosis Severity Index. *Arch Dermatol*. 2011; **147**: 1277–82.
7. Cetera, Inc. Available at: <http://www.cetera.com/theology/genesis-plus/toenail-fungus.php> (accessed March 20, 2013).
8. Leverone AP, Guimarães DA, Bernardes-Ergemann AR et al. Partial Necrosis of the Hallux in a Patient Treated With Laser for Onychomycosis: Is This Procedure Really Worthwhile? *Dermatol Surg*. 2015; **41**: 869–872.
9. Belloeuf L, Boisseau-Garsaud AM, Saint-Cyr J et al. Nail disease due to *Scytalidium* in Martinique (French West Indies). *Ann Dermatol Venerol*. 2004; **131**: 245–249.
10. Cuzni IB, Freitas LBRC, Neves MLPF et al. Onychomycosis due to *Scytalidium* spp.: a clinical and epidemiologic study at a University Hospital in Rio de Janeiro, Brazil. *An Bras Dermatol*. 2011; **86**: 689–693.
11. Bunyaratavej S, Leeyaphan C, Rujitharanawong C et al. Efficacy of 5% amoxicillin nail lacquer in *Neoscytalidium dimidiatum* onychomycosis. *J Dermatolog Treat*. 2016; **27**: 359–363.
12. Feuilhade de Chauvin M. Treatment of onychomycosis. *J Mycol Med*. 2014; **24**: 296–302.
13. Dunand J, Vigule C, Paugam A. Intermittent posaconazole regimen to treat superficial *Scytalidium dimidiatum* infection. *Eur J Dermatol*. 2010; **20**: 649–650.
14. Spriet I, Lambrecht C, Lagrou K et al. Successful eradication of *Scytalidium dimidiatum*-induced ungual and cutaneous infection with voriconazole. *Eur J Dermatol*. 2012; **22**: 197–199.
15. Aspiroz C, Fortuño-Cebamanos B, Rezusta A et al. Photodynamic therapy with methyl-aminolevulinate can be useful in the management of *Scytalidium* infections. *Actas Dermosifiliogr*. 2013; **104**: 725–727.
16. Wanitphakdeedecha R, Thanomkitti K, Bunyaratavej S et al. Efficacy and safety of 1064-nm Nd:YAG laser in treatment of onychomycosis. *Dermatolog Treat*. 2016; **27**: 75–79.
17. Bornstein E, Hermans W, Gridley S et al. Near-infrared photoactivation of bacteria and fungi at physiologic temperatures. *Photochem Photobiol*. 2009; **85**: 1364–1374.
18. Manevitch Z, Lev D, Hochberg M et al. Direct antifungal effect of femtosecond laser on *Trichophyton rubrum* onychomycosis. *Photochem Photobiol*. 2010; **86**: 476–479.
19. Hees H, Raulin C, Bäuml W. Laser treatment of onychomycosis: an in vitro pilot study. *Dtsch Dermatol Ges*. 2012; **10**: 913–917.
20. Carney C, Cantrell W, Warner J et al. Treatment of onychomycosis using a submillisecond 1064-nm neodymium:yttrium-aluminum-garnet laser. *J Am Acad Dermatol*. 2013; **69**: 578–582.
21. Silva RT, Guimarães DA, Camargo ZP et al. Cutaneous murine model of infection caused by *Neoscytalidium dimidiatum*: a preliminary study of an emerging human pathogen. *Med Mycol*. 2016; **54**: 890–898.
22. Francuzik W, Fritz K, Salvastru C. Laser therapies for onychomycosis - critical evaluation of methods and effectiveness. *J Eur Acad Dermatol Venerol*. 2016; **30**: 936–942.
23. Gupta AK, Foley KA, Daigle D. Clinical trials of lasers for toenail onychomycosis: The implications of new regulatory guidance. *J Dermatolog Treat*. 2016; **10**: 1–7.
24. Nakamura RC, Costa MC. Dermatoscopic findings in the most frequent onychopathies: descriptive analysis of 500 cases. *Int J Dermatol*. 2012; **51**: 483–496.
25. Hollmig ST, Rahman Z, Henderson MT et al. Lack of efficacy with 1064-nm neodymium:yttrium-aluminum-garnet laser for the treatment of onychomycosis: a randomized, controlled trial. *J Am Acad Dermatol*. 2014; **70**: 911–917.
26. Karsai S, Jäger M, Oesterheld A et al. Treating onychomycosis with the short-pulsed 1064-nm-Nd:YAG laser: results of a prospective randomized controlled trial. *J Eur Acad Dermatol Venerol*. 2017; **31**: 175–180.
27. Kim MS, Jung JY, Cho EB et al. The effectiveness of 1,064-nm long-pulsed Nd:YAG laser in the treatment of severe onychomycosis. *J Cosmet Laser Ther*. 2016; **18**: 317–322.
28. Kolodchenko YV, Baerul VI. A novel method for the treatment of fungal nail disease with 1064 nm Nd:YAG. *J Laser Health Acad*. 2013; **1**: 42–47.
29. Moon SH, Hur H, Oh YJ et al. Treatment of onychomycosis with a 1,064-nm long-pulsed Nd:YAG laser. *J Cosmet Laser Ther*. 2014; **16**: 165–170.
30. Hochman LG. Laser treatment of onychomycosis using a novel 0.65-millisecond pulsed Nd:YAG 1064-nm laser. *J Cosmet Laser Ther*. 2011; **13**: 2–5.
31. Moutran R, Maatouk I, Hélo J. Diabetic neuropathy and Nd:YAG (1064 nm) laser for onychomycosis: be careful. *J Eur Acad Dermatol Venerol*. 2015; **29**: 1239–1240.

ANEXO A – Parecer consubstanciado do Comitê de Ética em Pesquisa do HUPE/UERJ



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Tratamento da onicomicose causada por *Neoscytalidium dimidatum* com Nd:YAG laser

Pesquisador: ROSANE OROFINO COSTA

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 15369813.2.0000.5259

Instituição Proponente: Hospital Universitário Pedro Ernesto/UERJ

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 302.292

Data da Relatoria: 21/05/2013

Apresentação do Projeto:

O tratamento convencional com agentes antifúngicos tópicos e sistêmicos é longo e pode resultar em menor adesão e falhas terapêuticas. As altas taxas de recorrência e o custo elevado do tratamento limitam a terapia convencional. Além disso, a lista de eventos adversos e possíveis interações medicamentosas é longa. São poucas as classes de antifúngicos disponíveis no mercado, a maioria derivados azólicos que nem sempre podem ser utilizados na população idosa que é afetada, com frequência, pela doença. O tratamento, tópico ou sistêmico com antifúngicos, associado a técnicas alternativas vem sendo preconizado pela literatura científica especializada, como, por exemplo, remoção química ou cirúrgica da lâmina ungueal. O laser constitui, portanto, uma alternativa terapêutica a essas associações, podendo ser usado também isoladamente. Foi aprovado pelo Food and Drug Administration (FDA) dos EUA como uma dessas associações para tratar as onicomicoses causadas por dermatófitos, embora ainda não haja um padrão de tratamento nem promessa de cura, por ser uma modalidade terapêutica nova, sem trabalhos amplos, randomizados e controlados.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário: Propor nova modalidade terapêutica para a onicomicose causada por *Neoscytalidium dimidatum* utilizando o laser Nd-YAG. **Objetivo Secundário:** 1. Avaliar a efetividade

Endereço: Avenida 28 de Setembro 77 - Térreo
Bairro: Vila Isabel **CEP:** 20.551-030
UF: RJ **Município:** RIO DE JANEIRO
Telefone: (21)2868-8253 **Fax:** (21)2264-0853 **E-mail:** cep-hupe@uerj.br



Continuação do Parecer: 302.292

do tratamento da onicomicose dos pés causada por *Neoscytalidium dimidiatum* utilizando o laser Nd-YAG;
2. Avaliar a segurança deste tratamento através dos eventos adversos.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos: Não há riscos ao paciente, pois essa é uma tecnologia já utilizada e será aplicada apenas nas unhas acometidas. É possível que não tenha efeito sobre a doença, portanto, o risco maior é a não obtenção da cura. Essa doença ainda não possui um tratamento eficaz.

Benefícios: Cura ou melhora de uma doença que não tem terapêutica padrão. Há casos descritos de doença sistêmica, principalmente nos imunossuprimidos, portanto, a melhora pode diminuir esse risco.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Deverão ser incluídos 40 pacientes de qualquer raça, ambos os sexos e maiores de 18 anos, com onicomicose subungueal nos pododáctilos causada por *Neoscytalidium dimidiatum* (*N. dimidiatum*) variedade *hyalinum* e *dimidiatum*, comprovada através de exame micológico. Os pacientes serão distribuídos em dois grupos de aproximadamente vinte pacientes cada, um com onicomicose causada por *N. dimidiatum* var. *hyalinum* e outro por *N. dimidiatum* var. *dimidiatum*. O tratamento para os dois grupos será o mesmo.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Os termos foram apresentados e estão dentro dos padrões sobre pesquisa

Recomendações:

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

O projeto está apto para a sua execução

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

1. Comunicar toda e qualquer alteração do projeto e termo de consentimento livre e esclarecido. Nestas circunstâncias a inclusão de pacientes deve ser temporariamente interrompida até a resposta do Comitê, após análise das mudanças propostas. 2. Os dados individuais de todas as etapas da pesquisa devem ser mantidos em local seguro por 5 anos para possível auditoria dos órgãos competentes. 3. O Comitê de Ética solicita a V. S^a., que ao término da pesquisa encaminhe

Endereço: Avenida 28 de Setembro 77 - Térreo
Bairro: Vila Isabel CEP: 20.551-030
UF: RJ Município: RIO DE JANEIRO
Telefone: (21)2868-8253 Fax: (21)2264-0853 E-mail: cep-hupe@uerj.br



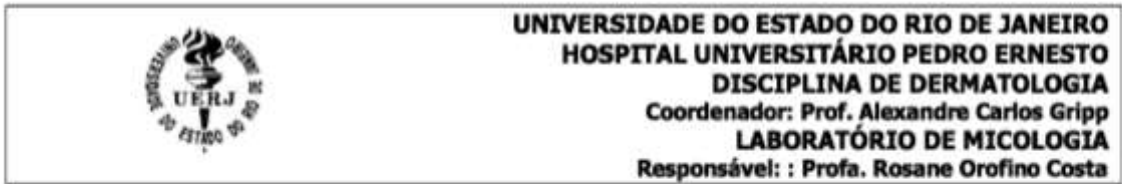
Continuação do Parecer: 302.292

a esta comissão um sumário dos resultados do projeto.

RIO DE JANEIRO, 12 de Junho de 2013

Assinador por:
WILLE OIGMAN
(Coordenador)

Endereço: Avenida 28 de Setembro 77 - Térreo
Bairro: Vila Isabel **CEP:** 20.551-030
UF: RJ **Município:** RIO DE JANEIRO
Telefone: (21)2868-8253 **Fax:** (21)2264-0853 **E-mail:** cep-hupe@uerj.br

ANEXO B – Termo de consentimento livre e esclarecido – *N. dimidiatum***TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**

TÍTULO: Tratamento da onicomicose causada por *Neoscytalidium dimidiatum* com Nd:YAG laser

Pesquisadora: Dra. Andréia Pizarro Leverone

Orientadora: Prof^ª Rosane Orofino Costa e Profa. Andréa Reis Bernardes Engemann

1. PROPOSTA E SITUAÇÃO PROBLEMA:

Você está sendo convidado a participar de um projeto de pesquisa sobre tratamento de micose da unha do pé com aplicação de um tipo de laser, o Nd-Yag.

O fungo causador da sua micose na unha, *Neoscytalidium dimidiatum* não tem um tratamento totalmente eficaz até o momento, sendo considerada uma doença crônica.

Esse equipamento de laser é antigo no mercado e seguro para o tratamento de doenças vasculares e pigmentadas da pele, mas é novo para tratar micoses nas unhas. A cura da sua doença não é garantida. Foi aprovado pelo FDA, órgão que regula alimentos e medicamentos nos Estados Unidos e também por órgão semelhante no Canadá para tratamento da onicomicose por ser seguro, mas sem a garantia da cura.

Você não terá que colher sangue, apenas material que fica embaixo da sua unha para comprovação do seu diagnóstico e acompanhamento do tratamento, que já é uma rotina do ambulatório de Dermatologia.

As aplicações de laser não causam dor, pode haver apenas leve desconforto por aquecimento do local em alguns casos.

Durante o tratamento você não poderá ter suas unhas dos pés pintadas com esmaltes cosméticos, nem poderá usar medicação no local do tratamento sem autorização dos médicos pesquisadores.

2. PROCEDIMENTOS:

Se você concordar em participar deste estudo:

- Você responderá a um questionário padronizado contendo sua identificação, além de informações corretas sobre certas doenças que você tem ou teve. Serão tiradas algumas fotos das suas unhas antes e durante o tratamento para melhor acompanhamento da sua doença. Estas fotos poderão futuramente ser utilizadas para publicação científica ou veiculação no meio acadêmico. Em nenhuma situação sua identidade será revelada.

- Você deverá estar disponível para retornar às consultas no dia e hora agendados por seu médico (10 vezes em 18 meses: 6 vezes mensais e 4 trimestrais). Qualquer problema deverá ser comunicado com antecedência. Se você precisar de consulta extra para seu benefício, poderá retornar fora dos dias agendados também.

- Você poderá desistir a qualquer momento de participar deste trabalho, sem que isso afete o seu acompanhamento no HUPE-UERJ. Entretanto, você deve retornar para justificar o motivo do abandono do seu tratamento e também não receberá mais o tratamento com essa tecnologia.

3. CUSTOS:

As aplicações de laser não terão nenhum ônus para você. As despesas de passagem e alimentação não serão reembolsadas pelo hospital, já que fazem parte da rotina dos tratamentos ambulatoriais do HUPE para micose nas unhas.

4. BENEFÍCIOS:

- Você receberá um tratamento novo, com tecnologia moderna. O objetivo deste trabalho é encontrar um método terapêutico eficaz para tratar a micose na unha causada pelo fungo *Neoscytalidium dimidiatum*.

- Os resultados deste trabalho poderão trazer informações para um tratamento mais eficaz para as micoses das unhas causadas pelo fungo acima.

- Como ocorre em todos os tipos de tratamento, algumas pessoas não respondem a determinados tratamentos, portanto, não há promessa de cura total da sua doença.

5. CONFIDENCIALIDADE DOS DADOS:

- As informações e procedimentos nesta pesquisa respeitarão as normas éticas de privacidade e confidencialidade. Somente nós, pesquisadores e você, teremos acesso às suas informações e seus resultados, com a garantia do sigilo sobre todos os seus dados.

- Os dados deste estudo poderão ser discutidos com outros dermatologistas e os resultados poderão ser publicados, mas nenhuma identificação dos participantes será fornecida.

6. SE VOCÊ TIVER ALGUMA DÚVIDA, O CONTATO DOS PESQUISADORES É:

Hospital Universitário Pedro Ernesto – HUPE/UERJ
 Serviço de Dermatologia
 Av. 28 de Setembro, 77 - Vila Isabel
 Tel: 2868-8478

7. CONSENTIMENTO:

Tendo recebido todos os esclarecimentos necessários e, resguardados os preceitos éticos que regulamentam este termo segundo a resolução CNS 196/96 do Ministério da Saúde, consinto em participar deste estudo.

Rio de Janeiro, ____ de _____ de 20____.

Nome do voluntário (letra de forma)

Assinatura

Dra Andréia Pizarro Leverone
 CRM 5254355-5

Dra Rosane Orofino Costa
 CRM 5228972-5

Data

ANEXO C – Ficha clínica

	UNIVERSIDADE DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO HOSPITAL UNIVERSITÁRIO PEDRO ERNESTO DISCIPLINA DE DERMATOLOGIA Coordenador: Prof. Alexandre Carlos Gripp LABORATÓRIO DE MICOLOGIA Responsável: : Profa. Rosane Orofino Costa
---	---

Tratamento da onicomicose causada por *Neoscytalidium dimidatum* com Nd:YAG laser

Data: ____/____/____
Nome: _____ **Registro:** _____
End: _____ **Tel:** _____
Sexo F M **Cor** B NB **E.Civil** S C D V **D.Nasc:** ____/____/____ **Idade:** ____
Natural _____ **Profissão atual** _____ **Profissão anterior** _____
Doenças: Diabete melito N S Trat regular irregular D.Degenerativa N S Câncer N S
D. Vascular N S D. Imunossupressora N S D. Infecto-contagiosa N S
Obs. _____

Medicamentos N S _____
Alergias N S respiratória urticária contato d.atópica medicamentosa

DOENÇA ATUAL

Tempo de evolução _____ Trauma N S _____
Tratamentos realizados N S qual e tempo: _____

Esmalte cosmético ou antifúngico local há menos de 2 semanas? N S
Esmalte antifúngico há menos de 1 mês? N S Antifúngico oral há menos de 3 meses? N S

EXAME DERMATOLÓGICO

Palmar Prurido Escamação Eritema Vesículas Crostas Exsudação Outros _____

Plantar Prurido Escamação Eritema Vesículas Crostas Exsudação Outros _____

Interdigital Prurido Escamação Eritema Vesículas Crostas Exsudação Outros _____

UNHA ALVO: 1°PDD 1°PDE Branca Amarelada Acastanhada Esverdeada Outra: _____

Onicólise Ceratose subungueal ↑espessura da lâmina ungueal Onicorrexe Onicosquizia
Dermatofitoma Outras: _____

Classificação: distal/lateral leuconíquia superficial leuconíquia subungueal proximal paroníquia

Outras unhas: PDD 2° 3° 4° 5° PDE 2° 3° 4° 5°
QDD 2° 3° 4° 5° QDE 2° 3° 4° 5°

Data: ____/____/____ **EXAME Micológico N°:** _____
DIRETO HHS HDS HHSR HDSR HHSI HDSI artroconídios Fragma. de Hifas
CULTURA *N. dimidiatum* var. *dimidiatum* *N. dimidiatum* var. *hyalinum*

Assinou TCLE N S

Foto N S

DATA: ____/____/____ V0 - Pré-tratamento Foto N S
 Forneceu tópico N S Local: _____ Medicamento _____
 Medida unha saudável: ____ mm Medida longitudinal total da unha: ____ mm
 Percentual longitudinal de unha sadia: <25% 25-50% 50-75% >75% Espessura: ____ mm



Área: 1 2 3 4 5

Área: 1 = 1-10% 2= 11-25% 3=26-50% 4= 51-75% 5= >76%



Proximidade matriz 1 2 3 4 5

Fórmula OSI = Área X Prox. matriz + 10 (dermatofitoma ou espessura > 2 mm)

Leve (1-5) Moderado (6-15) Grave 16-35)

DATA: ____/____/____ V1 - Início Tratamento

Duração pulso 0,3 mseg

1º PDD Fluência ____J/cm² Tx repet 2 3 Hz Nº pulsos _____ Nº ciclos _____

1º PDE Fluência ____J/cm² Tx repet 2 3 Hz Nº pulsos _____ Nº ciclos _____

Outros PDs _____

Eventos adversos: N Calor N S Dor N S : Intensidade (leve Moderada Intensa) Outros _____

Obs. _____

Retorno ____/____/____

DATA: ____/____/____ V2 - 6 semanas (+ ou _ 7 dias) Foto: S N

Relato de eventos adversos _____

Medida unha saudável: ____ mm Medida longitudinal total da unha: ____ mm Espessura: ____ mm

Percentual longitudinal de unha sadia: <25% 25-50% 50-75% >75%

Área: 1 2 3 4 5 Área: 1 = 1-10% 2= 11-25% 3=26-50% 4= 51-75% 5= >76%

Proximidade matriz 1 2 3 4 5

EXAME MICOLÓGICO Nº: _____

NOME _____ DATA ____/____/____

DIRETO Negativo HHS HDS HHSR HHSI HDSR HDSI artroconídios Fragn Hifas

CULTURA Negativa *N. dimidiatum* var. *dimidiatum* *N. dimidiatum* var. *hyalinum*

2º Tratamento - Realizado S N Duração pulso 0,3 mseg

1º PDD Fluência ____ J/cm² Tx repet 2 3 Hz Nº pulsos _____ Nº ciclos _____

1º PDE Fluência ____ J/cm² Tx repet 2 3 Hz Nº pulsos _____ Nº ciclos _____

Outros PDs _____

Eventos adversos: N Calor N S Dor N S : Intensidade (leve Moderada Intensa) Outros _____

Obs. _____

Retorno ____/____/____

DATA: ____/____/____ V3 - 12 semanas (+ ou - 7 dias) Foto: S N

Relato de eventos adversos _____

Medida unha saudável: ____ mm Medida longitudinal total da unha: ____ mm Espessura: ____ mm

Percentual longitudinal de unha sadia: <25% 25-50% 50-75% >75%

Área: 1 2 3 4 5 Área: 1 = 1-10% 2 = 11-25% 3 = 26-50% 4 = 51-75% 5 = >76%

Proximidade matriz 1 2 3 4 5

EXAME MICOLÓGICO Nº: _____

DIRETO Negativo HHS HDS HHSR HHSI HDSR HDSI artroconídios Fragn Hifas

CULTURA Negativa *N. dimidiatum* var. *dimidiatum* *N. dimidiatum* var. *hyalinum*

3º Tratamento - Realizado S N Duração pulso 0,3 mseg

1º PDD Fluência ____ J/cm² Tx repet 2 3 Hz Nº pulsos _____ Nº ciclos _____

1º PDE Fluência ____ J/cm² Tx repet 2 3 Hz Nº pulsos _____ Nº ciclos _____

Outros PDs _____

Eventos adversos: N Calor N S Dor N S : Intensidade (leve Moderada Intensa) Outros _____

Obs. _____

Retorno ____/____/____

NOME _____ DATA ____/____/____

DATA: ____/____/____ V4 - 18 semanas (+ ou _ 7 dias) Foto: S N

Relato de eventos adversos _____

Medida unha saudável: ____ mm Medida longitudinal total da unha: ____ mm Espessura: ____ mm

Percentual longitudinal de unha sadia: <25% 25-50% 50-75% >75%

Área: 1 2 3 4 5 Área: 1 = 1-10% 2 = 11-25% 3 = 26-50% 4 = 51-75% 5 = >76%

Proximidade matriz 1 2 3 4 5

EXAME MICOLÓGICO Nº: _____

DIRETO Negativo HHS HDS HHSR HHSI HDSR HDSI artroconídios Fragn Hifas

CULTURA Negativa *N. dimidiatum* var. *dimidiatum* *N. dimidiatum* var. *hyalinum*

4º Tratamento - Realizado S N Duração pulso 0,3 mseg

1º PDD Fluência ____ J/cm² Tx repet 2 3 Hz Nº pulsos _____ Nº ciclos _____

1º PDE Fluência ____ J/cm² Tx repet 2 3 Hz Nº pulsos _____ Nº ciclos _____

Outros PDs _____

Eventos adversos: N Calor N S Dor N S : Intensidade (leve Moderada Intensa) Outros _____

Obs. _____

Retorno ____/____/____

DATA: ____/____/____ V5 - 24 semanas (+ ou _ 7 dias) Foto: S N

Relato de eventos adversos _____

Medida unha saudável: ____ mm Medida longitudinal total da unha: ____ mm Espessura: ____ mm

Percentual longitudinal de unha sadia: <25% 25-50% 50-75% >75%

Área: 1 2 3 4 5 Área: 1 = 1-10% 2 = 11-25% 3 = 26-50% 4 = 51-75% 5 = >76%

Proximidade matriz 1 2 3 4 5

EXAME MICOLÓGICO Nº: _____

DIRETO Negativo HHS HDS HHSR HHSI HDSR HDSI artroconídios Fragn Hifas

CULTURA Negativa *N. dimidiatum* var. *dimidiatum* *N. dimidiatum* var. *hyalinum*

5º Tratamento - Realizado S N Duração pulso 0,3 mseg

1º PDD Fluência ____J/cm² Tx repet 2 3 Hz Nº pulsos _____ Nº ciclos _____

1º PDE Fluência ____J/cm² Tx repet 2 3 Hz Nº pulsos _____ Nº ciclos _____

Outros PDs _____

Eventos adversos: N Calor N S Dor N S : Intensidade (leve Moderada Intensa) Outros _____

Obs. _____

OSI = área X prox. matriz + 10 (dermatofitoma ou espessura > 2 mm)

Leve (1-5) Moderado (6-15) Grave 16-35)

Avaliação médica global parcial

- Cura total (unha sem lesão + EMD e cultura negativos)
 Cura parcial (≥75% de unha sadia longitudinal + EMD e cultura negativos)
 Melhora clínica (melhora significativa comparado a V0, < 75% de unha sadia, EMD ou cultura +)
 Falha terapêutica (clínica inalterada/piora e (ou) EMD e(ou) cultura positivo)

Retorno ____/____/____

DATA: ____/____/____ V6 - 36 semanas - 3 meses follow up (+ ou - 4 semanas) Foto: S N

Medida unha saudável: ____ mm Medida longitudinal total da unha: ____ mm Espessura: ____ mm

Percentual longitudinal de unha sadia: <25% 25-50% 50-75% >75%

Área: 1 2 3 4 5 Área: 1 = 1-10% 2 = 11-25% 3 = 26-50% 4 = 51-75% 5 = >76%

Proximidade matriz 1 2 3 4 5 Cura clínica S N

EXAME MICOLÓGICO Nº: _____

DIRETO Negativo HHS HDS HHSR HHSI HDSR HDSI artroconídios Fragn Hifas

CULTURA Negativa *N. dimidiatum* var. *dimidiatum* *N. dimidiatum* var. *hyalinum*

Obs. _____

Retorno ____/____/____

DATA: ____/____/____ V7 - 48 semanas - 6 meses follow up (+ ou - 4 semanas) Foto: S N

Medida unha saudável: ____ mm Medida longitudinal total da unha: ____ mm Espessura: ____ mm

Percentual longitudinal de unha sadia: <25% 25-50% 50-75% >75%

Área: 1 2 3 4 5 Área: 1 = 1-10% 2 = 11-25% 3 = 26-50% 4 = 51-75% 5 = >76%

Proximidade matriz 1 2 3 4 5 Cura clínica S N

DATA: ___/___/___ V9 - 50 semanas - 12 meses follow up (+ ou _ 4 semanas) Foto: S N

Medida unha saudável: ___ mm Medida longitudinal total da unha: ___ mm Espessura: ___ mm

Percentual longitudinal de unha sadia: <25% 25-50% 50-75% >75%

Área: 1 2 3 4 5 Área: 1 = 1-10% 2 = 11-25% 3 = 26-50% 4 = 51-75% 5 = >76%

Proximidade matriz 1 2 3 4 5 Cura clínica S N

EXAME MICOLÓGICO Nº: _____

DIRETO Negativo HHS HDS HHSR HHSI HDSR HDSI artroconídios Fragn Hifas

CULTURA Negativa N. dimidiatum var. dimidiatum N. dimidiatum var. hyalinum

Obs. _____

OSI = área X prox. matriz + 10 (dermatofitoma ou espessura > 2 mm)

Leve (1-5) Moderado (6-15) Grave 16-35)

Avaliação médica global

- Cura total (unha sem lesão + EMD e cultura negativos)
- Cura parcial (≥75% de unha sadia longitudinal + EMD e cultura negativos)
- Melhora clínica (melhora significativa comparado a V0, < 75% de unha sadia, EMD ou cultura +)
- Falha terapêutica (clínica inalterada/piora e (ou) EMD e(ou) cultura positivo)
- Recidiva/Recaída (após cura total/parcial apresenta piora clínica e (ou) EMD e(ou) cultura positivo)

ANEXO D - Fórmulas químicas e composição dos meios de cultura utilizados no Laboratório de Micologia – HUPE/UERJ

1) Solução de Hidróxido de potássio a 10% com DMSO:

Hidróxido de potássio – 10g

DMSO em solução aquosa (*) – 100mL

(*) – Solução aquosa de DMSO:

DMSO – 40ml

Água destilada – 60ml

2) Ágar Sabouraud dextrose - DIFCO/BD ®:

Ágar - 15g

Dextrose - 40g

Hidrolisado péptico de tecido animal - 5g

Hidrolisado pancreático de caseína - 5g

Água destilada - 1000mL

pH do meio = 5,6

Modo de fazer: Misturam-se 65 g do pó desidratado em 1L de água destilada. A solução formada é aquecida até a dissolução total dos componentes. Acrescentam-se 125 microlitros (5 mg) de gentamicina (40mg/ml). A solução é envasada em tubos de ensaio de vidro com tampa de rosca, que são então autoclavados a 121°C durante 15 minutos. Os tubos são inclinados em ângulo de 45° e esfriados em temperatura ambiente até solidificarem. Os tubos são mantidos em geladeira a 4°C até o momento do uso.

3) Ágar Mycosel modificado – BBL™ Mycosel™ Agar

Ágar - 15,5g

Dextrose - 10g

Digestão papáica de farinha de soja - 10g

Cloranfenicol - 0,05g/L

Gentamicina (40mg/ml)- 125 µl/L

Cicloheximida - 0,4g

Água destilada - 1000ml

pH do meio = 6,9

Modo de fazer: Misturam-se 36g do pó desidratado, comercialmente pronto com os antibióticos, em 1L de água destilada. A solução formada é aquecida até a dissolução total dos componentes. Acrescentam-se 125 microlitros (5mg) de gentamicina (40 mg/ml). A solução é envasada em tubos de ensaio de vidro com tampa de rosca, que são autoclavados a 121°C durante 15 minutos. Os tubos são inclinados em ângulo de 45° e esfriados em temperatura ambiente até solidificarem. Os tubos são mantidos em geladeira a 4°C até o momento do uso.

ANEXO E – Carta de cessão do equipamento



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Tratamento da onicomicose causada por *Neoscytalidium dimidatum* com Nd:YAG laser: estudo comparativo com *Trichophyton rubrum*

Pesquisador: ROSANE OROFINO COSTA

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 15369813.2.0000.5259

Instituição Proponente: Hospital Universitário Pedro Ernesto/UERJ

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 451.566

Data da Relatoria: 06/11/2013

Apresentação do Projeto:

Avaliação de emenda ao projeto

Objetivo da Pesquisa:

Avaliação de emenda ao projeto

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Avaliação de emenda ao projeto

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Motivação da Emenda: O tratamento da onicomicose com laser foi aprovado pelo órgão de regulação dos EUA para o dermatófito *Trichophyton rubrum*, embora ainda não existam trabalhos randomizados e controlados. A ação do laser Nd:Yag sobre os dermatófitos vem sendo estudada nos últimos anos. Foram aventadas diversas hipóteses, mas nenhuma tem comprovação científica até a data da submissão desta emenda. Da mesma forma, ainda não há padrão de tratamento como número de aplicações ou intervalo entre as sessões. A maioria das publicações sugere 1, 2 ou 3 sessões e intervalos que variam de uma a seis semanas. Todos relatam melhora significativa, qualquer que seja a metodologia usada. Esse estudo visa encontrar uma alternativa terapêutica para um fungo bastante resistente, o *Neoscytalidium dimidatum*. Para melhorar a qualidade científica deste estudo sentimos a necessidade da inclusão de um grupo controle que respalde

Endereço: Avenida 28 de Setembro 77 - Térreo

Bairro: Vila Isabel

CEP: 20.551-030

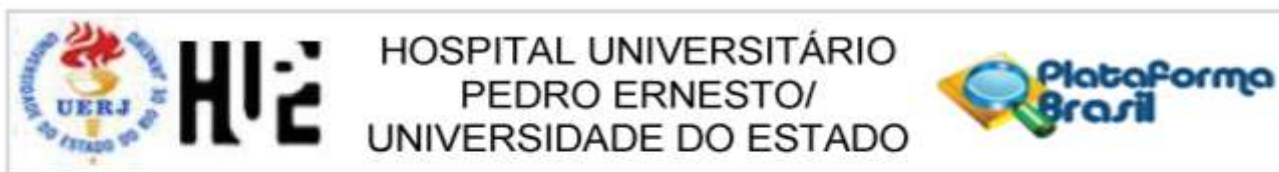
UF: RJ

Município: RIO DE JANEIRO

Telefone: (21)2868-8253

Fax: (21)2264-0853

E-mail: cep-hupe@uerj.br



Continuação do Parecer: 451.566

nossos resultados. Como o *Trichophyton rubrum* é o dermatófito testado nas publicações sobre tratamento das onicomicoses com laser, solicitamos autorização para incluir esse grupo como controle no nosso estudo. Esse tratamento trará benefícios a esse novo grupo a ser incluído. Não há custo para o paciente com esse tratamento. Pedimos, também, que avaliem a modificação do número de sessões de tratamento de seis para quatro aplicações de laser na unha acometida. O motivo é a duração menor do tratamento, que facilita a ida dos pacientes às consultas, além de evitar que o excesso de irradiação pelo laser possa causar onicólise pelo trauma do calor. Após o início do estudo, verificamos que há melhora das unhas afetadas com menor número de aplicações. Com isso, também é possível evitar o desperdício financeiro diminuindo os dias de trabalho que os pacientes perdem e o custo do equipamento. Se forem aceitas as alterações, deverá ser incluído o grupo controle no título do trabalho para “Tratamento da onicomicose causada por *Neoscytalidium dimidatum* com Nd:YAG laser: estudo comparativo com *Trichophyton rubrum*”.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Documentação dentro das boas práticas em pesquisa

Recomendações:

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Após avaliação, a Emenda foi aprovada ao projeto.

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

1. Comunicar toda e qualquer alteração do projeto e termo de consentimento livre e esclarecido. Nestas circunstâncias a inclusão de pacientes deve ser temporariamente interrompida até a resposta do Comitê, após análise das mudanças propostas. 2. Os dados individuais de todas as etapas da pesquisa devem ser mantidos em local seguro por 5 anos para possível auditoria dos órgãos competentes. 3. O Comitê de Ética solicita a V. S^a., que ao término da pesquisa encaminhe a esta comissão um sumário dos resultados do projeto.

Endereço: Avenida 28 de Setembro 77 - Térreo

Bairro: Vila Isabel

CEP: 20.551-030

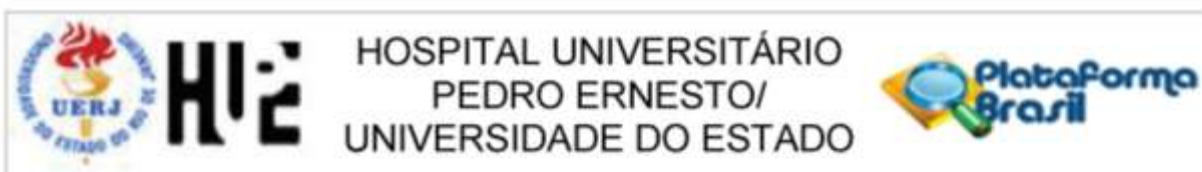
UF: RJ

Município: RIO DE JANEIRO

Telefone: (21)2868-8253

Fax: (21)2264-0853

E-mail: cep-hupe@uerj.br



Continuação do Parecer: 451.566

RIO DE JANEIRO, 08 de Novembro de 2013

Assinador por:
MARIO FRITSCH TOROS NEVES
(Coordenador)

Endereço: Avenida 28 de Setembro 77 - Térreo
Bairro: Vila Isabel **CEP:** 20.551-030
UF: RJ **Município:** RIO DE JANEIRO
Telefone: (21)2868-8253 **Fax:** (21)2264-0853 **E-mail:** cep-hupe@uerj.br

ANEXO F– Aprovação da emenda 1 submetida ao CEP-HUPE



São Paulo, 06 de maio de 2013

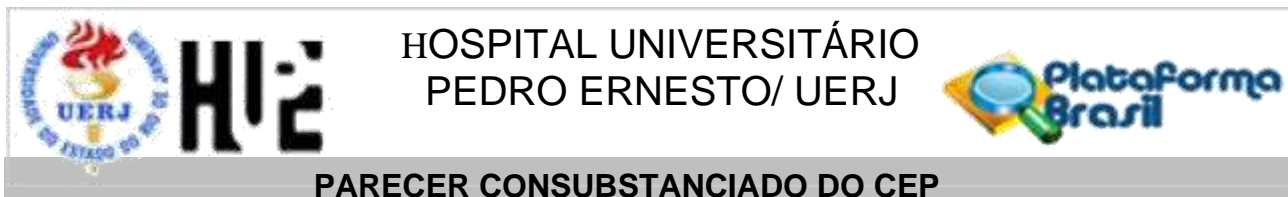
Serviço de Dermatologia do Hospital Universitário Pedro Ernesto – UERJ

Declaramos para os devidos fins, que a MEDSYSTEMS COMERCIO DE IMPORTACAO E EXPORTACAO LTDA, estabelecida em São Paulo, na Rua Cubatão, 929, sala 62, Vila Mariana, sob CNPJ 05.273.422/0001-54, inscrita no Estado de São Paulo sob inscrição no. 149.346.356.110, irá emprestrar o sistema de Laser Xeo da marca americana CUTERA, estabelecida no endereço 3240 Bayshore Boulevard Brisbane, California, 94005 para dissertação de mestrado da Dra. Andréia Pizarro Leverone, sob a orientação da Prof^ª Rosane Orofino Costa, a ser realizado no Serviço de Dermatologia do Hospital Universitário Pedro Ernesto – na Universidade Estadual do Rio de Janeiro- UERJ com o título "*Tratamento da onicomicose causada por Neoscytalidium dimidatum com Nd:YAG laser*", para dissertação de mestrado da Dra. Andréia Pizarro Leverone, sob a orientação da Prof^ª Rosane Orofino Costa, a ser realizado no Serviço de Dermatologia do Hospital Universitário Pedro Ernesto – UERJ em datas pre-definidas.

Ficamos à disposição para qualquer esclarecimento adicional.

MEDSYSTEMS COM IMP E EXP
José Luiz Pinto Lopes
C.N.P. J: 05.273.422/0001-54
11 99604-1743

ANEXO G – Aprovação da emenda 2 submetida ao CEP-HUPE

**DADOS DA EMENDA**

Título da Pesquisa: Tratamento da onicomicose causada por *Neoscytalidium dimidatum* com Nd:YAG *laser*

Pesquisador: ROSANE OROFINO COSTA

Área Temática: Versão: 3

CAAE: 15369813.2.0000.5259

Instituição Proponente: Hospital Universitário Pedro Ernesto/UERJ

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.517.566

Apresentação do Projeto:

Emenda para aprovação de documentação e alteração de informações relativas ao protocolo.

Objetivo da Pesquisa:

Emenda para aprovação de documentação e alteração de informações relativas ao protocolo.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Emenda para aprovação de documentação e alteração de informações relativas ao protocolo.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Justificativa da Emenda: O tratamento da onicomicose com tecnologias a *laser* foi aprovado para melhora temporária da onicomicose causada por fungos dermatófitos. No entanto, não há padrão nem quanto ao número de sessões necessárias nem da duração do mesmo ou do intervalo entre elas. Além disso, a liberação pressupõe revisões à essa aprovação, já que não há consenso. Não encontramos na literatura especializada, após ampla pesquisa, tratamento padrão efetivo para a onicomicose causada pelo fungo filamentosso *Neoscytalidium dimidiatum*, havendo apenas casos

Endereço: Avenida 28 de Setembro 77 – Térreo

Bairro: Vila Isabel

CEP: 20.551-030

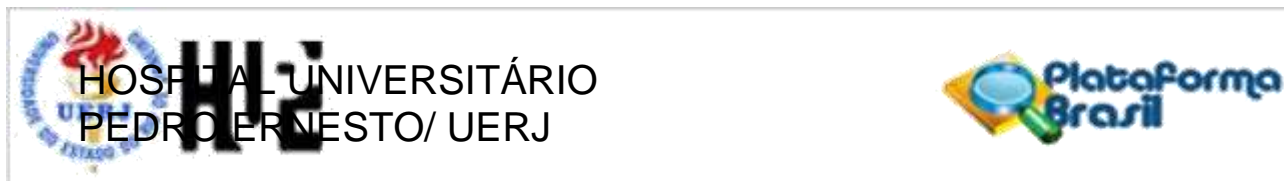
UF: RJ

Município: RIO DE JANEIRO

Telefone: (21)2868-8253

Fax: (21)2264-0853

E-mail: cep-hupe@uerj.br



Continuação do Parecer: 1.517.566

isolados ou série de casos publicados, com resultados e metodologias diferentes. Pelo exposto acima, não há como criar um grupo controle para este protocolo, motivo pelo qual solicitamos aos membros do CEP-HUPE permissão para a retirada do grupo Trichophyton incluído na Emenda 1. Informamos que não haverá prejuízo aos pacientes do grupo Trichophyton, já que foram incluídos e tratados. É nosso compromisso publicar esse grupo como série de casos em revista científica ou como apresentação em congresso.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Em conformidade Todos os documentos de apresentação obrigatória foram enviados a este Comitê, estando dentro das boas práticas e apresentando todas dados necessários para apreciação ética.

Recomendações:

Aprovado

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

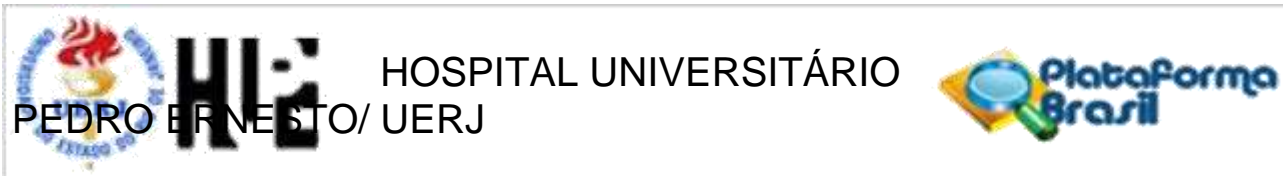
A emenda apresenta todas informações necessárias para avaliação ética. Diante do exposto e à luz da Resolução CNS nº466/2012, a Emenda pode ser enquadrada na categoria – APROVADO

Considerações Finais a critério do CEP:

Tendo em vista a legislação vigente, o CEP recomenda ao Pesquisador: 1. Comunicar toda e qualquer alteração do projeto e termo de consentimento livre e esclarecido. Nestas circunstâncias a inclusão de pacientes deve ser temporariamente interrompida até a resposta do Comitê, após análise das mudanças propostas. 2. Os dados individuais de todas as etapas da pesquisa devem ser mantidos em local seguro por 5 anos para possível auditoria dos órgãos competentes. 3. O Comitê de Ética solicita a V. S^a., que encaminhe relatórios parciais e anuais referentes ao andamento da pesquisa ao término da pesquisa encaminhe a esta comissão um sumário dos resultados do projeto.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_689735_E2.pdf	04/04/2016 10:07:20		Aceito
Projeto Detalhado	Andreia_Leverone_para_CEP_emenda	31/03/2016	ROSANE OROFINO	Aceito



Continuação do Parecer: 1.517.566

/ Brochura Investigador	_2.docx	14:56:17	COSTA	Aceito
Folha de Rosto	Fl rosto emenda.pdf	15/10/2013 11:08:40		Aceito
Outros	cronograma leverone.pdf	07/04/2013 20:12:54		Aceito
Outros	Decl ciencia Leverone.pdf	07/04/2013 20:11:47		Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE Leverone.docx	07/04/2013 20:11:30		Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

RIO DE JANEIRO, 26 de Abril de 2016

Assinado por: DENIZAR VIANNA ARAÚJO
(Coordenador)

Endereço: Avenida 28 de Setembro 77 – Térreo

Bairro: Vila Isabel

CEP: 20.551-030

UF: RJ

Município: RIO DE JANEIRO

Telefone: (21)2868-8253

Fax: (21)2264-0853

E-mail: cep-hupe@uerj.br