



BRENO HENRIQUE ALVES

**DERMATÓFITOS EM CÃES E GATOS E RESISTÊNCIA A
ANTIMICROBIANOS**

**LAVRAS – MG
2023**

BRENO HENRIQUE ALVES

**DERMATÓFITOS EM CÃES E GATOS E RESISTÊNCIA A
ANTIMICROBIANOS**

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Lavras,
como parte das exigências do
Programa de Pós Graduação em
Ciências Veterinárias, área de
concentração em Sanidade Animal e
Saúde Coletiva, para a obtenção do
título de Mestre.

Prof. Dr. Geraldo Márcio da Costa
Orientador

Prof. Dr. Carlos Artur Lopes Leite
Coorientador

**LAVRAS – MG
2023**

**Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca
Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).**

Alves, Breno Henrique.

Dermatófitos em cães e gatos e resistência a antimicrobianos /
Breno Henrique Alves. - 2022.
72 p.

Orientador(a): Geraldo Márcio da Costa.

Coorientador(a): Carlos Artur Lopes Leite.

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de
Lavras, 2022.

Bibliografia.

1. Dermatofitose. 2. Saúde Pública. 3. Resistência. I. da Costa,
Geraldo Márcio. II. Leite, Carlos Artur Lopes. III. Título.

BRENO HENRIQUE ALVES

**DERMATÓFITOS EM CÃES E GATOS E RESISTÊNCIA A
ANTIMICROBIANOS**

**DERMATOPHYTES IN DOGS AND CATS AND
ANTIMICROBIALS RESISTANCE**

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Lavras,
como parte das exigências do
Programa de Pós Graduação em
Ciências Veterinárias, área de
concentração em Sanidade Animal e
Saúde Coletiva, para a obtenção do
título de Mestre.

APROVADO em 30 de novembro de 2022.

Profa. Dra. Ana Paula Peconick UFLA

Prof. Dr. José Antônio Viana UNINCOR

Prof. Dr. Geraldo Márcio da Costa
Orientador

Prof. Dr. Carlos Artur Lopes Leite
Coorientador

**LAVRAS – MG
2023**

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a DEUS, por sempre iluminar o meu caminho, me ajudando a superar todos os desafios, dando-me força para vencer mais essa batalha da minha vida.

Aos meus pais, por seus ensinamentos, apoio, incentivo e amor. Com vocês aprendi valores muito importantes que levarei comigo para sempre. Amo vocês!

Aos meus irmãos Luiz Gustavo e Gabriel, obrigado pelos momentos de amizades, brigas, felicidades e por estarem sempre presentes.

A minha segunda mãe, vó Carminha por sempre ter me apoiado, pelos conselhos, orações e por seu infinito amor.

Agradeço também ao meu anjo protetor vovô Dimar, que sempre esteve ao meu lado, me protegendo e me guiando. Tenho certeza que onde quer que esteja, estará orgulhoso e feliz, comemorando comigo mais uma vitória! Essa conquista é por você.

Ao meu namorado Luís, obrigado pelo companheirismo e por me entender, principalmente em momentos de ausência.

Aos meus amigos por me ajudarem a amenizar os momentos mais angustiantes e estressantes dessa caminhada.

A Universidade Federal de Lavras e ao Programa de Pós Graduação em Ciências Veterinárias pela oportunidade de realização do curso.

A todos os professores do Departamento de Medicina Veterinária da UFLA pelos conhecimentos passados.

Ao meu orientador, Prof. Geraldo Márcio da Costa muito obrigado pela dedicação por todos os seus ensinamentos, conselhos e paciência.

Ao Daniel e a todos do Laboratório de Bacteriologia e do Departamento de Medicina Veterinária da UFLA pelo carinho e auxílio na execução do experimento.

E não podia deixar de agradecer aos animais que sempre me encantaram me alegraram, me emocionaram, fazendo sempre com que eu tenha orgulho da minha profissão.

RESUMO

A dermatofitose é uma infecção fúngica superficial dos tecidos queratinizados como pelos, unhas e o estrato córneo da epiderme. Nos cães e gatos, é comumente causada por dermatófitos dos gêneros *Microsporum*, *Nannizzia* e *Trichophyton*. Sua prevalência em pequenos animais ainda é desconhecida, mas estima-se que a mesma acometa cerca de 4-15 % dos caninos e até 20% dos felinos. Além da relevância da dermatofitose na saúde animal, trata-se de uma antropozoonose, que afeta cerca de 40% da população humana e, atualmente, representa um grande problema de saúde pública, pois está amplamente difundida pelos centros urbanos. Tendo em vista sua fácil disseminação, locais com aglomeração de animais são potencialmente contaminados. Assim sendo, os abrigos de animais tornam o controle dessa doença um desafio. Neste estudo foram analisados 150 animais assintomáticos do Abrigo Municipal de Varginha-MG, onde 7,3% foram positivos pra dermatófitos. Desses 4% eram caninos e 14% felinos. *Microsporum canis* foi a única espécie de dermatófito isolada no presente estudo. Os isolados obtidos das populações estudadas, bem como isolados pertencentes ao Banco de Microrganismos do DMV/UFLA totalizando 28 isolados, foram submetidos a testes de suscetibilidade a antifúngicos por meio da técnica de difusão em discos. Foram avaliadas quatro drogas distintas: ketoconazol; itraconazol; clotrimazol e fluconazol. Observou-se que o ketoconazol foi o fármaco mais eficiente para inibir crescimento dos isolados, demonstrando ação antimicrobiana contra 53,57% das amostras avaliada, seguido pelo clotrimazol 39,28% dos isolados suscetíveis. Já itraconazol e o fluconazol apresentaram baixa ação antimicótica contra os isolados testados, com 85,71% das amostras resistentes ao itraconazol e 96,43% ao fluconazol. No estudo apontou a existência de portadores assintomáticos em animais de abrigo, demonstrando que estes podem ser reservatórios importantes para dermatófitos de importância na saúde coletiva e um alto índice de resistência dos isolados frente aos fármacos avaliados, o que pode estar associado ao uso indevido de antifúngicos. Faz necessário uma vigilância e investigações mais aprofundadas em relação aos dermatófitos resistentes, pois os mesmos são uma ameaça a saúde coletiva, considerando a importância zoonótica dos mesmos e os níveis elevados de resistência apontados pelo presente estudo.

Palavras-chave: Dermatofitose. Zoonose. Saúde Pública. Resistência. Abrigos coletivos.

ABSTRACT

Dermatophytosis is a superficial fungal infection of keratinized tissues such as hair, nails and the stratum corneum of the epidermis. In dogs and cats, it is commonly caused by dermatophytes of the genera *Microsporum*, *Nannizzia* and *Trichophyton*. Its prevalence in small animals is still unknown, but it is estimated that it affects about 4-15% of canines and up to 20% of felines. In addition to the relevance of dermatophytosis in animal health, it is an anthroozoonosis, which affects about 40% of the human population, and currently is a public health major problem, since it is widely disseminated in urban centers. In view of their easy dissemination, sites with agglomeration of animals are potentially contaminated. Therefore, animal shelters turn the control of this disease a challenge. In this study, 150 asymptomatic animals from the Municipal Shelter of Varginha- MG were analyzed, where 7.3% were positive for dermatophytes. Among those, 4% were canines and 14% felines. *Microsporum canis* was the only species of dermatophyte isolated in the present study. The isolates obtained from the studied populations, as well as isolates belonging to the Database of Microorganisms of the DMV/UFLA totaling 28 isolates, were submitted to susceptibility tests to antifungals by means of the diffusion technique in discs. Four distinct drugs were evaluated: ketoconazole; itraconazole; clotrimazole and fluconazole. It was observed that ketoconazole was the most efficient drug to inhibit growth of isolates, demonstrating antimicrobial action against 53.57% of the samples evaluated, followed by clotrimazole 39.28% of susceptible isolates. Itraconazole and fluconazole showed low antimycotic action against the tested isolates, with 85.71% of the samples resistant to itraconazole and 96.43% to fluconazole. The study pointed out the existence of asymptomatic carriers in shelter animals, demonstrating that these may be important reservoirs for dermatophytes of importance in public health and a high index of resistance of the isolates to the drugs evaluated, which may be associated with the misuse of antifungal agents. It is necessary to surveillance and further investigations in relation to resistant dermatophytes, as they are a threat to collective health, considering their zoonotic importance and the high levels of resistance pointed out by the present study.

Keywords: Dermatophytosis. Zoonosis. Public Health. Resistance. Collective Shelters.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Aspecto clínico e tipos de tinea em humanos.....	18
Figura 2 – Aspectos macroscópicos das culturas de dermatófitos. Em A e B observa-se culturas de <i>Microsporum canis</i> , C e D culturas de <i>Nannizzia gypseum</i> , E e F culturas de <i>Trichophyton mentagrophytes</i>	21
Figura 3 – Caracterização das macroconídeas dos dermatófitos.	22
Figura 4 – Macroconídeas de <i>Microsporum canis</i> , isolados do grupo C1.	39
Figura 5 – Macroconídeas de <i>Microsporum canis</i> , isolados do grupo F1.....	40
Figura 6 – A: Cultura de <i>Candida tropicalis</i> ATCC735, em meio BDA. B: Cultura <i>Candida albicans</i> ATCC 18804, em meio BDA. C: Antifungigrama de <i>Candida tropicalis</i> . D: Antifungigrama de <i>Candida albicans</i>	41
Figura 7 – Placas de antifungigrama demonstrando a resistência dos isolados de <i>Microsporum canis</i> , frente aos antifúngicos testados.	43
Figura 8 – Placas de antifungigrama demonstrando a resistência do dermatófito <i>Trichophyton mentagrophytes</i> , frente aos antifúngicos testados.	45
Figura 9 – Placas de antifungigrama demonstrando a resistência do dermatófito <i>Nannizzia gypseum</i> , frente aos antifúngicos testados.....	46

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Características morfológicas dos principais dermatófitos isolados de cães e gatos.....	35
Tabela 2 – Resultados dos testes de suscetibilidade dos dermatófitos isolados aos antimicóticos.....	42

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Comparação dos antifúngicos e seus respectivos halos de inibição.	37
Quadro 2 – Resultados dos antifungigramas dos isolados de <i>Microsporium canis</i>	43
Quadro 3 – Resultado do antifungigrama dos isolados <i>Trichophyton mentagrophytes</i>	44
Quadro 4 – Resultado do antifungigrama dos isolados <i>Nannizzia gypseum</i>	45

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	13
2.1 Aspectos etiológicos e epidemiológicos	13
2.2 Sinais clínicos nos animais	16
2.3 Sinais clínicos em seres humanos	17
2.4 Diagnóstico	19
2.5 Tratamento	24
2.6 Resistência de dermatófitos aos agentes antimicóticos	25
2.7 Importância Zoonótica dos Dermatófitos	28
2.8 Controle e prevenção das dermatofitoses	29
3 OBJETIVOS	32
3.1 Objetivo geral	32
3.2 Objetivos específicos	32
4 METODOLOGIA	33
4.1 Local de Realização do Estudo	33
4.2 Triagem com a Fluorescência de Wood	33
4.3 Coleta de amostras	34
4.4 Diagnóstico laboratorial da dermatofitose	34
4.5 Tricograma	34
4.6 Cultura	35
4.7 Exame parasitológico dos animais	36
4.8 Testes de suscetibilidade aos antimicrobianos	36
4.8.1 Drogas antifúngicas	36
4.8.2 Preparação do Inóculo	36
4.8.3 Inoculação placas de testes	36
4.8.4 Aplicação dos discos de antifungigrama	37
4.8.5 Interpretação dos resultados	37
4.8.6 Controle de qualidade	38
4.8.7 Análises estatísticas dos resultados	38
4.9 Banco de Dermatófitos do DMV/FZMV/UFLA.	38

5 RESULTADOS	39
6 DISCUSSÃO	47
7 CONCLUSÕES	55
REFERÊNCIAS	56
ANEXO A – Autorização da Comissão de Ética no Uso de Animais da UFLA	70
ANEXO B – Formulário para coleta de dados	71

1 INTRODUÇÃO

No mundo, existem mais de 250.000 espécies de fungos, no entanto, menos de 150 são patogênicas para os seres humanos e animais. Dentro desse grande grupo que é o reino Fungi, encontram-se os dermatófitos que são responsáveis por causar uma importante antropozoonose altamente negligenciada. Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), aproximadamente 25% da população mundial é afetada por dermatófitos, o que evidencia sua relevância na saúde pública.

A dermatofitose em caninos e felinos, historicamente tem sido atribuída a dermatófitos dos gêneros *Microsporum* e *Trichophyton*. No entanto, com base em estudos filogenéticos a taxonomia dos dermatófitos foi revisada, tendo sido inclusos no gênero *Nannizzia* espécies antes pertencentes ao gênero *Microsporum*. Em um contexto geral, a dermatofitose animal é classificada como uma infecção fúngica superficial que afeta os tecidos queratinizados como pelos, unhas e o estrato córneo da epiderme. Acomete pacientes de qualquer idade, no entanto os filhotes, idosos e animais debilitados são mais propensos.

Nos últimos anos, a relação entre os seres humanos e os animais passaram por grandes mudanças. Os animais deixaram de ter funções como proteger a casa, caçar ratos etc. e passaram a ser membros da família, ou seja, se aproximaram mais dos seus tutores e passaram a compartilhar mais tempo juntos. Tal fato propiciou uma maior chance de transmissão de doenças zoonóticas. Entre as antropozoonoses relacionadas a animais de companhia, destacam-se as dermatofitoses, tendo em vista que os principais fungos causadores da enfermidade nos cães e gatos podem acometer os seres humanos. Salienta-se o fato de que estes animais podem ser portadores assintomáticos, constituindo, assim, em reservatórios-chaves para controle e prevenção da doença dentro de uma perspectiva de saúde única.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Aspectos etiológicos e epidemiológicos

A dermatofitose é uma infecção ocasionada por fungos dermatófitos, amplamente difundidos pelo mundo, que afetam os tecidos queratinizados como estrato córneo da pele, unhas e pelos (CAFARCHIA et al., 2006; VIANI, 2015). Trata-se de uma importante antropozoonose que afeta cerca de 40% da população humana (OLIVEIRA et al., 2015; VIANI, 2015).

No mundo, existem diversas espécies de fungos filamentosos queratinofílicos causadores de dermatofitose. Eles são classificados em quatro gêneros, *Microsporum* spp., *Trichophyton* spp., *Nannizzia* spp. e *Epidermophyton* spp. (SILVA et al., 2017, DE HOOG et al., 2017). Em pequenos animais, os três primeiros gêneros são os principais causadores de infecção (BALDA et al., 2007; MORIELLO et al., 2017, DE HOOG et al., 2017), principalmente pelas espécies *Microsporum canis*, *Nannizzia gypseum* (antigo *Microsporum gypseum*) e *Trichophyton mentagrophytes* (MORIELLO et al., 2017; DE HOOG et al., 2017; ROSSI & ZANETTE, 2018). A relevância zoonótica do *Epidermophyton* spp. é menor, se comparada aos demais agentes citados anteriormente. Entretanto, Terreni et al. (1985) relataram um caso onde foi isolado o dermatófito *Epidermophyton floccosum*, em lesões de um cão. Devido ao fato de o animal ser portador de hiperadrenocorticism, a infecção foi sugerida como oportunista.

Os dermatófitos podem ser classificados de acordo com o seu habitat natural em antropofílicos, como *E. floccosum* que está intimamente relacionado com infecções em humanos; geofílicos, como *N. gypseum* que habita o solo; e os zoofílicos, como *M. canis* e *T. mentagrophytes* encontrados em animais, mas que podem infectar humanos. *M. canis* é a espécie envolvida na maioria dos casos em cães, gatos e seres humanos (VIANI, 2015; MORIELLO et al., 2017).

Os dermatófitos têm predileção por regiões de clima tropical, principalmente em locais de clima quente úmido, sendo o período de maior incidência entre o outono e o inverno (MACIEL & VIANA, 2005; VIANI, 2015). Devido à sua distribuição cosmopolita e sua característica zoofílica, *M. canis* é comumente encontrado na pelagem de caninos e felinos assintomáticos. Desse

modo é uma patologia infecciosa de difícil controle e erradicação (VIANI, 2015; MORIELLO et al., 2017; ROSSI E ZANETTE, 2018; ANDRADE e ROSSI, 2019).

Por ser uma enfermidade altamente infecciosa, sua propagação pode se dar por contato direto com animais e ou humanos infectados ou indireto por meio do contato com esporos fúngicos, pelos infectados, ambiente e fômites contaminados (PERES et al., 2010; NWEZE, 2011; NEVES et al., 2018).

A maioria dos estudos relata que a dermatofitose acomete em geral animais mais jovens (até doze meses), no entanto a enfermidade pode acometer animais mais velhos. Nestes, a doença generalizada está associada principalmente a condições imunodepressoras pré-existentes. No entanto, em felinos o fato de os mesmos serem somente reagentes para Imunodeficiência Felina (FIV) ou Leucemia Felina (FeLV), não aumenta os riscos de os mesmos desenvolverem a enfermidade (MORIELLO et al., 2017). Em relação a predisposição sexual os machos felinos são mais acometidos em relação às fêmeas, no entanto, faltam estudos que comprovem realmente a predisposição sexual para tal patologia (BALDA et al., 2004; MORIELLO et al., 2017).

Quanto à predisposição racial sabe-se que os felinos da raça Persa são os mais propensos conforme diversos estudos (BALDA et al. 2004; NEVES et al, 2011; MORIELLO et al., 2017). Quanto aos cães, a raça mais descrita é o Yorkshire Terrier (CERUNDOLO, 2004; CAFARCHIA et al, 2004; ROSSI e ZANETTE, 2018; CARDOSO et al., 2018). Segundo Moriello et al. (2017), não é possível inferir totalmente uma predisposição racial para a dermatofitose, tendo em vista que não é uma doença de notificação compulsória, não é fatal e muitos casos podem evoluir para a auto cura. Assim sendo, fica difícil estabelecer a real predisposição racial, pois a doença sofre influência de vários fatores.

Tendo em vista o fato de que a dermatofitose é de fácil disseminação, locais com grande aglomeração de animais são potencialmente contaminados. Desta forma, os abrigos de animais são locais onde o controle dessa doença torna-se um desafio (MORIELLO e NEWBURY, 2006). Além da facilidade de transmissão, os abrigos de animais oferecem ambiente propício para a manutenção dos agentes. Esses locais geralmente são úmidos devido à necessidade de higienização frequente, cujo objetivo é reduzir a transmissão de outras doenças. Outro ponto questionável é que devido à alta densidade populacional, os animais ficam aglomerados em baias e gaiolas pequenas,

propiciando aumento da temperatura da pele. A junção desses dois fatores, mais a associação de estresse desencadeia o comprometimento da imunidade do paciente, contribuindo para a instalação da dermatofitose (MORIELLO e NEWBURY, 2006; MORROW, 2016; DE TAR, DUBROVOSKY, SCARLET, 2019). Outro fator importante a ser considerado em abrigos de animais é que todos os colaboradores são expostos de maneira contínua e ficam sujeitos a contrair a infecção. Tal risco se estende também aos visitantes e pessoas interessadas em adotar animais (MORIELLO e NEWBURY, 2006).

Segundo Polak et al. (2014), de uma população de 696 felinos de um santuário, onde os mesmos viviam sob condições de maus tratos. De 76 felinos que foram submetidos à cultura fúngica, 69 (91%) tiveram resultados positivos para *Microsporum canis*.

Nitta et al. (2016) analisaram amostras do pelame de gatos oriundos de gatis comerciais da região metropolitana de São Paulo – Brasil. Neste estudo, foram coletadas e submetidas ao cultivo 61 amostras de pelo de gatos da raça Persa clinicamente saudáveis, tendo sido isolado *Microsporum canis* como o único dermatófito em 51 dos animais (83,6%). Por outro lado, um outro estudo realizado em um abrigo de animais no noroeste dos Estados Unidos apontou baixa prevalência de portadores, sendo que dos 11.214 gatos admitidos no abrigo somente 202 (1,8%) foram diagnosticados com dermatófitos (DE TAR, DUBROVOSKY, SCARLET, 2019).

Em relação à prevalência de dermatófitos em cães, os dados são muito variáveis. Segundo Moriello (2019), a real prevalência de dermatófitos em pequenos animais ainda é desconhecida devida à falta de estudos consistentes.

Segundo o estudo canadense de Scott e Paradis (1990), 0,71% dos cães foram positivos para dermatofitos. Em outro estudo realizado em Barcelona, evidenciou-se que 14,3% das amostras positivas para dermatófitos eram oriundas de caninos (CABAÑES et al., 1997).

Em um estudo realizado por Cafarchia et al. (2004), foram avaliados 424 animais dentre caninos e felinos que apresentavam lesões alopecias escamativas. Dos animais avaliados, 99 apresentaram culturas positivas para dermatófitos e, destes 20,5% eram caninos. Já em um trabalho realizado em Calcutá, 362 casos suspeitos de dermatofitose entre cães, gatos e humanos

foram avaliados, tendo sido verificado que 37,8% dos cães foram positivos ao cultivo (MURMU et al. 2015).

De acordo com os estudos citados anteriormente os animais de abrigos são suscetíveis a infecção por dermatófitos e são constante fonte de infecção zoonótica. Desse modo, métodos adequados de identificação dos animais infectados, tratamento, controle e prevenção devem ser adotados antes que a doença saia do controle (MORROW, 2016; DE TAR, DUBROVOSKY, SCARLET, 2019).

Segundo Gambale et al. (1993) e Farias et al. (2011) locais com alta densidade populacional como os abrigos de animais, centro de controle de zoonoses, ONGs, dentre outros, propiciam fatores de riscos potenciais para a propagação da dermatofitose. Dentre eles, podemos destacar a promiscuidade às quais esses animais vivem, muitas das vezes possuindo atividades de reprodução livre, convivência em grandes grupos, estresse, alimentação inadequada, habituais erros de manejo e higienização irregular de instalações, promovendo uma contaminação ambiental, importantíssima para disseminação da patologia. (DEBOER e MORIELLO, 1994a; NEWBURY e MORIELLO, 2014).

2.2 Sinais clínicos nos animais

A dermatofitose na maior parte das vezes se limita às camadas superficiais da pele. Desta maneira, a gravidade da patologia está associada à espécie de dermatófito envolvida, bem como com a imunidade do hospedeiro (DEGREEF, 2008; VERMOUT et al., 2008; VIANI, 2015). A espécie fúngica relacionada à infecção, está intimamente ligada à sua capacidade de causar doença e com a sua adaptação, desta maneira é decisiva para a gravidade do quadro clínico decorrente à infecção (SIDRIM et al., 2004; ZAITZ, 2010).

Os sinais clínicos iniciam-se de sete a dez dias pós infecção e são oriundos da inflamação e danos causados no folículo piloso (MORIELLO, 2004; MILLER et al., 2013). As lesões são geralmente encontradas na face, região periocular, perilabial, orelhas, pescoço, plano nasal e extremidades (CARLOTTI e BENSIGNOR, 2002; ANDRADE e ROSSI, 2019). Assim sendo, a sintomatologia mais comum encontrada nesta patologia são lesões alopecias circulares focais ou difusa, com crescimento centrifugo, perda de queratina,

crostas, pústulas, pápulas foliculares. O prurido não é um sinal clínico comum, geralmente quando é relatado o mesmo está associado a piodermites secundárias, ectoparasitas e ou reações de hipersensibilidade (MACHADO et al., 2011; VIANI, 2015, ANDRADE e ROSSI, 2019). Segundo Moriello (2014), o prurido e as lesões alopécicas circulares não são encontrados em todos os pacientes.

Os felinos apresentam um padrão pleomórfico de lesões, variando de dermatite miliar, com ou sem alopecia e descamação e hiperpigmentação cutânea, sendo comumente observado crostas e desqueratinização. Devido ao ato de se higienizarem através de lambedura, tem sido observado nesta espécie sinais de anorexia, vômitos e constipação (BUDGIN, 2011; WALLER et al., 2014; VIANI, 2015).

O quérion ou dermatofitose nodular é uma forma incomum de dermatofitose, sendo mais observada em cães adultos e se caracteriza como nódulo edematoso, circunscrito e geralmente alopécico, pruriginoso, exudativo e extremamente doloroso (FERREIRA et al., 2006; CORNEGLIANI et al., 2009; SILVA et al., 2017). Estas lesões podem se apresentar como nódulos únicos ou abundantes e geralmente são localizados na região de cabeça, pescoço e extremidades distais dos membros (REIS-GOMES et al., 2012).

Diversos estudos têm demonstrado a presença de dermatófitos no pelame de animais assintomáticos. No estudo de Romano et al. (1997), foram analisadas 173 amostras, onde 88 (50,9%) foram positivas para dermatófitos, sendo que 82 (47,4%) dos isolados foram identificados como *Microsporum canis*. Em outro estudo realizado nos Estados Unidos da América, foram avaliados 200 animais e, desses 11 (5,5%) foram positivos para dermatofitose e em 10 (5,0%) o agente causador foi *Microsporum canis* (BOYANOWSKI et al., 2000).

2.3 Sinais clínicos em seres humanos

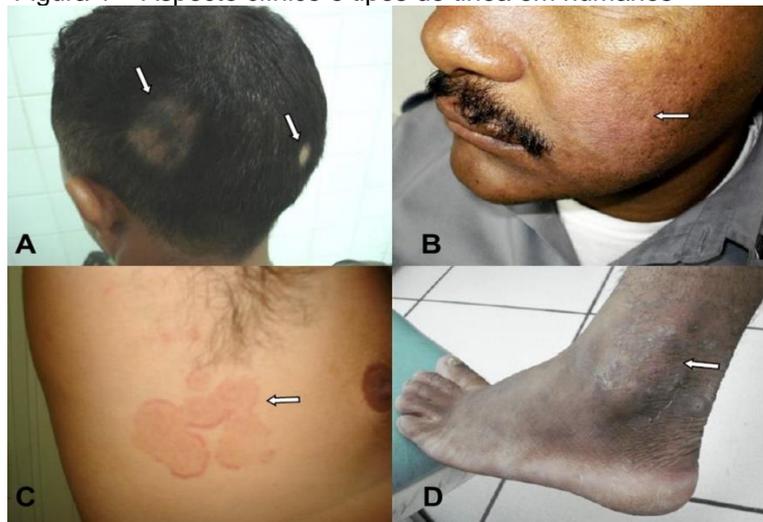
As infecções por dermatófitos em seres humanos são nomeadas “tinea” e recebem classificação de acordo com a área afetada. Habitualmente, os dermatófitos afetam a cabeça (*tinea capitis*) (Figura 1A), a face (*tinea faciei*) (Figura 1B) e a pele glabra de antebraço, mãos e abdômen (*tinea corporis*) (Figura 1C e Figura 1D). Estas áreas são geralmente as que são expostas a

maior contato com animais (BIER et al., 2013; MILLER et al., 2013; SILVA et al., 2017).

Os casos de *tinea corporis* ou *tinea capitis* estão geralmente relacionados com a infecção pelo *Microsporum canis*. Cafarchia et al. (2006) relataram que a infecção pode ocorrer devido ao contato direto com animais portadores da doença, sejam eles sintomáticos ou não ou através do ambiente contaminado.

De modo geral, as infecções em seres humanos se apresentam como lesões superficiais da pele com forma anular, com crescimento de forma centrífuga, eritematosas, geralmente muito pruriginosa e em alguns casos podem evoluir para lesões de tecido subcutâneo, sendo assim denominada dermatofitose severa (CHERMETTE et al., 2008; DEGREEF, 2008; PERES, et al., 2010; BEBER e BREUNIG, 2012).

Figura 1 – Aspecto clínico e tipos de tinea em humanos



Fonte: Júnior (2010).

A dermatofitose profunda em seres humanos é rara e, na maioria dos casos, está correlacionada com quadro de imunossupressão do paciente. (ROUZAUD et al., 2015; KIM et al., 2016; ANDRADE e ROSSI, 2019). As lesões possuem características de nódulos, pápulas e placas infiltradas na derme, com presença de prurido, exudação e dor (ANDRADE e ROSSI, 2019). Desse modo, esse padrão lesional se assemelha ao quérion ou pseudomicetoma encontrados em animais. Esta é considerada uma das formas mais graves de dermatofitose, podendo disseminar-se para linfonodos, cérebro e fígado evoluindo, em alguns indivíduos, para o óbito (ROUZAUD et al., 2015; KIM et al., 2016).

2.4 Diagnóstico

Atualmente, muitos médicos veterinários têm realizado o diagnóstico de dermatofitose apenas com base nos aspectos clínicos, o que tem levado a diagnósticos exagerados e equivocados da patologia. Segundo Moriello et al. (2017), para o diagnóstico da dermatofitose, deve-se realizar avaliação do histórico do animal, queixa do tutor e uma anamnese detalhada, a fim de se coletarem informações importantes para um diagnóstico assertivo. Os exames complementares são de extrema importância pois são eles que determinarão qual a espécie fúngica está envolvida, possibilitando o direcionamento e a adequação do tratamento para os animais acometidos.

Em relação aos exames complementares, podem ser utilizados a fluorescência de Wood (lâmpada de Wood), exame direto dos pelos ou tricograma, cultura fúngica, biópsia e técnicas moleculares como a PCR (MORRIELLO, 2014). A lâmpada de Wood deve ser usada para triagem, pois somente *Microsporum canis* é capaz de florescer, devido à produção de metabólitos do triptofano. Um aspecto a ser salientado é que, neste teste, falsos positivos também podem ocorrer devido a presença de substâncias nos pelos como álcool, xampus, éter, etc (REIS-GOMES et al, 2012; MORIELLO et al., 2017).

Para uso da lâmpada de Wood, algumas particularidades devem ser observadas: esta deve ser aquecida por pelo menos 5 minutos antes do exame e a mesma deve ser utilizada em ambiente escuro. Desse modo, evitam-se os riscos de resultados falso-positivos e falso-negativos (MORIELLO, 2014).

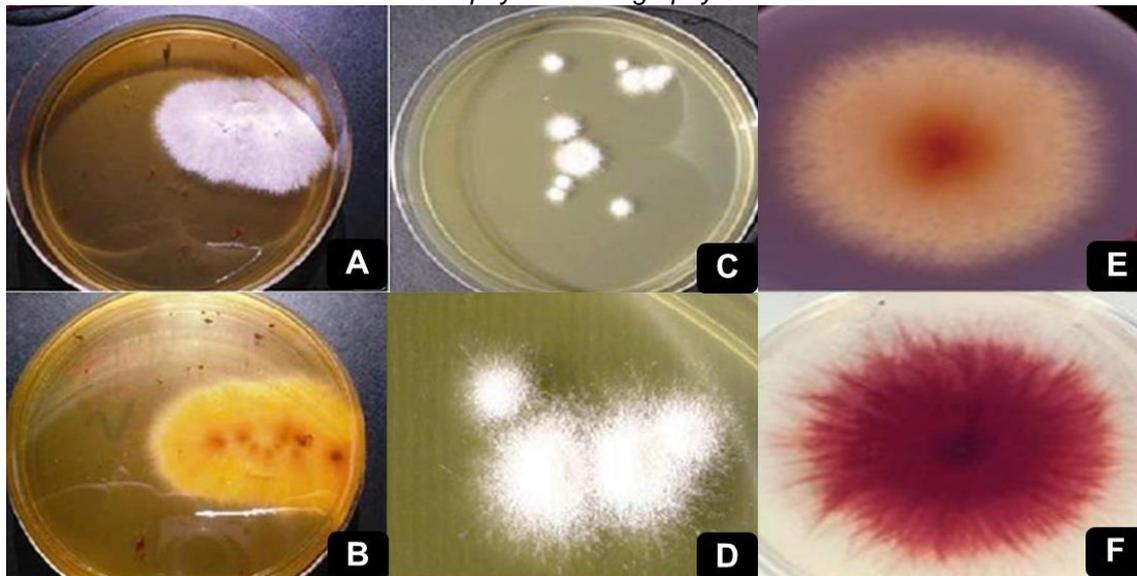
O exame direto dos pelos ou tricograma é uma forma rápida e barata de diagnóstico, comumente utilizado na medicina veterinária. Tal procedimento baseia-se no recolhimento de amostras do pelame seguido de avaliação microscópicas (SCOTT et al., 2001). Ainda de acordo com os mesmos autores, esse método fornece informações sobre a haste pilosa desde sua raiz até sua extremidade distal e podem ser observados hifas e ou artroconídeos nas hastes pilosas na presença de fungos dermatofíticos. Segundo Reis-Gomes et al. (2012), a experiência do profissional pode interferir no resultado, ou seja, profissionais inexperientes podem aumentar as chances de resultados errados.

Atualmente, a cultura fúngica tem sido apontada como um dos métodos mais fidedignos para diagnóstico da dermatofitose, sendo esta realizada em Ágar Sabouraud Dextrose, acrescido do vermelho fenol, que se trata de um indicador de pH (ROEHE, 2014). Outro meio que tem sido muito utilizado é o Dermatophyte Test Medium (DTM). Este meio foi usado inicialmente por médicos no Vietnã com o intuito de isolar fungos dermatofíticos em soldados. Desde então o mesmo ganhou amplo espaço na micologia médica e teve sua extensão para uso na medicina veterinária (TAPLIN et al., 1970). A formulação do DTM, pode sofrer pequenas alterações de acordo com cada fabricante. Mas basicamente todos contêm nutrientes para promover crescimento de dermatófitos, antibióticos (gentamicina, cloranfenicol) para impedir crescimento bacteriano e o vermelho fenol que consiste em um indicador de alteração de pH (GUILLOT et al., 2001). De acordo com Taplin et al. (1970), com a utilização do DTM, é possível identificar com precisão 97% dos casos dermatofitoses. Para a realização de tal exame deve-se preconizar a coleta de pelos da margem das lesões ou em casos de pacientes assintomáticos os mesmos devem ser escovados e posteriormente a escova deve ser pressionada sobre o meio (GONDIM e ARAÚJO, 2020).

Dentro de quatro a sete dias pós a semeadura, os dermatófitos começam a crescer e geralmente as culturas positivas apresentam uma coloração esbranquiçada com textura semelhante ao floco de algodão. Caso não ocorra crescimento dentro de vinte e um dias, pode se afirmar que a cultura é negativa. Para identificação da espécie fúngica, é preciso que as culturas sejam avaliadas macroscopicamente e microscopicamente (GOMES, 2004; COSTA, 2010; ROEHE, 2014).

Na análise macroscópica deve-se observar se houve mudança na coloração do meio, o mesmo geralmente muda para cor vermelha (MORIELLO, 2001). A morfologia colonial deve ser observada. De acordo com Gomes et al. (2012), *Microsporum canis* produz uma colônia de coloração branca a amarelada, com aspecto aveludado (Figura 2A e 2B). Já *Nannizzia gypseum* tem aspecto pulverulento a aveludado e sua cor pode variar de creme a canela (Figura 2C e 2D). As colônias de *Trichophyton mentagrophytes* possuem o mesmo aspecto de cultura do *Nannizzia gypseum*, porém a coloração da colônia varia de amarelo a canela (Figura 2E e 2F).

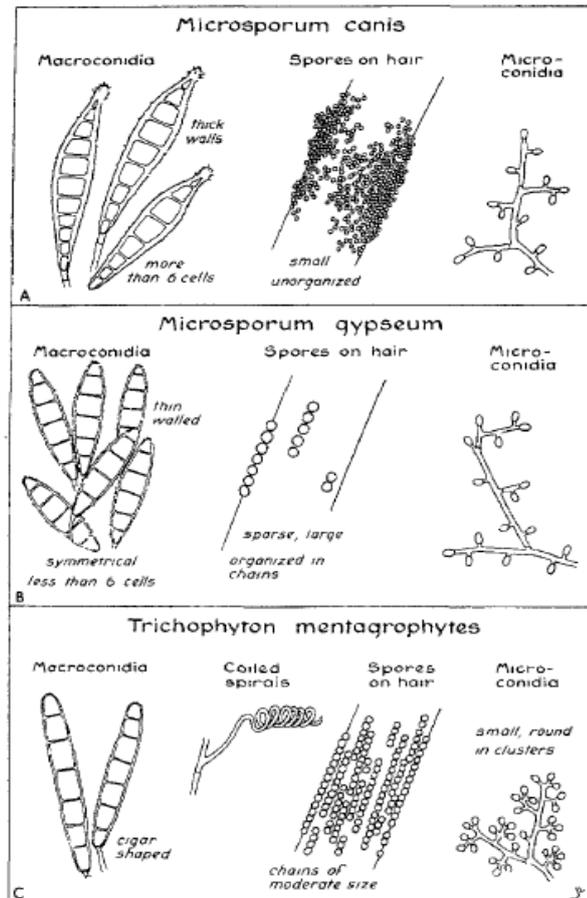
Figura 2 – Aspectos macroscópicos das culturas de dermatófitos. Em A e B observam-se culturas de *Microsporum canis*, C e D culturas de *Nannizzia gypseum*, E e F culturas de *Trichophyton mentagrophytes*.



Fonte: Mihali et al. (2012); Mycology Online - The University of Adelaide (2016).

A análise microscópica é feita a partir da retirada de um fragmento da colônia ou pressionando-se levemente uma fita adesiva de celofane transparente sobre a mesma. Então a fita deve ser colada com a parte adesiva para baixo, sobre uma gota de corante azul de algodão de lactofenol, sendo analisada em microscópio, sob a objetiva de 100X (MORIELLO e DEBOER, 2015). Segundo Gomes et al. (2012), na análise microscópica, serão visualizadas estruturas como de ornamentação, caracterizadas pelas hifas e também estruturas de reprodução, os microconídeos e macroconídeos. Os macroconídeos do *Microsporum canis* possuem forma fusiforme, ou formato de “canao”, de aspecto rugoso, parede grossa podem ter até 15 septos. Já *Nannizzia gypseum* apresenta forma de barco a remo, também com aspecto rugoso, porém suas paredes são finas e possuem até seis septos. *Trichophyton mentagrophytes* possui formato de charuto, com até sete septos, sua parede é fina e de aspecto liso (Figura 3). Após a análise dos aspectos macroscópicos e microscópicos a espécie fúngica será determinada (MORIELLO, 2001; QUINN et al. 2005; MORIELLO e DEBOER, 2015).

Figura 3 – Caracterização das macroconídeas dos dermatofitos.



Fonte: Adaptado de Moriello (2001).

Além do azul de algodão lactofenol, outras colorações podem ser utilizadas como o nanquim e Giemsa. Em casos onde se tenha um microscópio de fluorescência, o reagente calcoflúor branco pode ser utilizado, pois o mesmo confere fluorescência para as estruturas fúngicas, facilitando o diagnóstico (CHENGAPPA e POHLMAN, 2016). Em um trabalho de Borba (2010), o mesmo não encontrou diferenças estatísticas utilizando três colorações diferentes para visualização de dermatófitos. Desse modo, o azul de algodão lactofenol continua sendo o corante mais utilizado para visualização dos dermatófitos.

Os resultados da cultura fúngica demoram para ser liberados, devido ao tempo necessário para crescimento dos mesmos. Na tentativa de acelerar o diagnóstico, a reação em cadeia da polimerase (PCR) começou a ser avaliada. A utilização da PCR, para identificação de fungos dermatofitos já foi muito relatada na literatura humana, porém estudo com animais ainda são escassos (MORIELLO et al., 2017).

Nardoni et al. (2007) testaram um protocolo simples de PCR, em tecidos embebidos, oriundos de casos diagnosticados como pseudomicetoma dermatofítico. Todas as amostras testadas pela técnica de PCR foram comparadas com a cultura e houve concordância em 100% dos casos. No estudo de Cafarchia et al. (2013), 187 amostras do pelame de cães e gatos foram analisadas, verificando-se que 59 (32,2%) das amostras foram positivas na cultura fúngica. No teste de PCR em uma etapa 49 (26,8%) das amostras foram positivas para dermatofitos e na Nested-PCR, 63 (34,4%) das amostras tiveram resultados positivos.

Em outro trabalho realizado por Dabrowska et al. (2014), 15 amostras de pelos de cães e gatos com diagnóstico de dermatofitose foram testados por meio da PCR. Foram analisados 7 caninos e 8 felinos e todos tiveram resultados positivos na técnica de PCR.

Um resultado positivo obtido por meio de PCR é muito útil, porém não indica necessariamente infecção ativa. Muitas das vezes podem ser organismos fúngicos inviáveis oriundos de infecção tratada anteriormente ou contaminação por fômites. Desse modo faz-se necessário uma associação de testes complementares, a fim de realizar um diagnóstico assertivo (MORIELLO et al., 2017).

A maioria dos casos de dermatofitose pode ser diagnosticada sem a necessidade de exames histopatológicos. Assim sendo, esse exame é solicitado em casos mais graves onde o animal apresenta feridas que não cicatrizam como quérion, pseudomicetoma e micetoma, lesões faciais com suspeita de pênfigo e em casos de lesões cutâneas incomuns (MORIELLO, 2001; PETERS et al., 2007; KANO et al., 2009).

Em casos onde solicita-se a biopsia cutânea deve-se atentar que não é possível identificar a espécie envolvida e que na maioria das vezes a coloração com hematoxilina e eosina pode não ser suficiente. Desse modo colorações alternativas como Ácido Periódico de Schiff (PAS) ou o Grocott Metenamina Prata (GMS) podem ser necessárias (MORIELLO et al., 2017).

2.5 Tratamento

Na dermatofitose, por se tratar de uma enfermidade extremamente contagiosa e zoonótica, faz-se necessário um diagnóstico rápido e preciso, para que as medidas terapêuticas e de controle e prevenção sejam adotadas. Assim sendo, o tratamento é recomendado em todos os casos confirmados, sendo eles sintomáticos ou não. Desse modo, consegue-se reduzir a disseminação da dermatofitose entre os animais e humanos (OLIVEIRA et al., 2015; MORIELLO et al., 2017; ROSSI e ZANETTE, 2018).

Segundo Moriello et al. (2017), o tratamento da dermatofitose é multimodal, envolvendo terapia tópica, sistêmica e desinfecção ambiental. Os antifúngicos mais utilizados são o itraconazol, o cetoconazol, a griseofulvina e a terbinafina (MILLER et al., 2013; MORIELLO, 2014; MORIELLO et al., 2017, ROSSI E ZANETTE, 2018). Alguns estudos têm demonstrado uma boa ação do lufenuron no tratamento das dermatofitoses (MANCIANTI et al., 2009; RAMADINHA et al., 2010). Contrariando os estudos anteriores, Moriello et al. (2017) relataram que este fármaco não demonstrou eficácia *in vitro* e que o mesmo não previne ou altera o curso da doença. Assim sendo, estudos complementares se fazem necessários para que seja realmente estabelecido a real eficiência do mesmo.

A terapia sistêmica tem efeitos apenas sobre os esporos fúngicos encontrados nos folículos pilosos, desse modo o uso da terapia tópica é muito importante pois, é a mesma que vai eliminar os esporos que estão presentes nos pelos do paciente (MORIELLO, 2014). Desse modo, o gliconato de clorexidina nas concentrações de 2 a 3%, utilizado como xampu, foi comprovado como potente antisséptico contra fungos e demais micro-organismos associados a dermatopatias infecciosas (BALDA e SANTANA, 2020).

De acordo com Miller et al. (2013), o tratamento só pode ser suspenso após a segunda cultura negativa. Na impossibilidade de realização das culturas, recomenda-se que o tratamento seja realizado por até duas semanas pós cura clínica. Porém, os preços onerosos das medicações, dificuldade de medicar felinos e os efeitos adversos da medicação são elementos que dificultam o tratamento dos animais afetados pela dermatofitose (RAMADINHA et al., 2010).

2.6 Resistência de dermatófitos aos agentes antimicóticos

A resistência dos dermatófitos aos agentes antifúngicos é um problema atual. Na medicina humana, tal fenômeno já vem sendo monitorado e relatado a bastante tempo, porém na medicina veterinária, pouco se sabe sobre a resistência dos dermatófitos a terapias antifúngicas (COELHO et al., 2020), sobretudo em isolados brasileiros.

Em um recente estudo feito por Fattahi et al. (2020), foi relatado caso de dermatofitose ocasionada por uma cepa resistente de *Trichophyton mentagrophytes* em uma família iraniana. Estes autores relatam que a disseminação de dermatófitos resistentes pode se tornar um problema de saúde pública global. Endossando esta tese, Singh et al. (2019) relataram a identificação na Índia, de uma cepa de *Trichophyton* sp. altamente resistente *in vitro* que estaria causando surtos contínuos de dermatofitose humana no país.

Hsiao et al. (2018) descreveram um caso de dermatofitose resistente em um felino da raça Persa causada por *Microsporum canis* e foi tratado por três meses com solução tópica de terbinafina. O mesmo não apresentou melhora, sendo então avaliada a concentração inibitória mínima (CIM), onde observou-se que o animal era resistente à terbinafina e sensível ao itraconazol. Após seis semanas de tratamento o animal já apresentava cultura negativa e um ano após o estudo, o animal continuava saudável.

A resistência clínica de microrganismos tem sido estabelecida como a capacidade de persistência e evolução de uma determinada infecção, mesmo sob terapia antimicrobiana adequada (MARTINEZ-ROSSI, PERES, ROSSI, 2008). *In vivo*, a resistência pode ser associada ao uso impróprio de antifúngicos bem como a dosagens inadequadas que, dessa forma, propiciam o crescimento de cepas resistentes, ocasionando infecções de difícil controle. *In vitro*, a resistência intrínseca possibilita que todos os membros de determinada espécie sejam tolerantes a determinado fármaco. Neste contexto, a resistência surgiu através do processo evolutivo das espécies. Levando em conta a baixa ocorrência de mutações gênicas, a pressão seletiva devido ao uso contínuo de antifúngicos também seleciona cepas resistentes (HAYES, WOLF, 1990; MARTINEZ-ROSSI, PERES, ROSSI, 2008).

Sabe-se que os fungos conseguem se adaptar às condições adversas ambientais. Para tal, os mesmos lançam mão de mecanismos de resistência que envolvem respostas celulares, principalmente resposta ao estresse, interação com moléculas sinalizadoras e resistência a fármacos (MARTINEZ-ROSSI et al., 2018; KHURANA et al., 2019).

A adaptação ao estresse é um mecanismo envolvido na resistência. Após exposição ao fármaco alterações como instabilidade de parede celular, produção de espécies reativas de oxigênio e alterações de osmolaridade são estímulos que ativam as vias de sinalização do glicerol de alta osmolaridade, via da calcineurina, via de integridade da parede celular, objetivando reduzir os efeitos de estresse induzido pelos fármacos (ROBBINS et al., 2017; MARTINEZ-ROSSI et al., 2018; COELHO et al., 2020).

Ainda de acordo com os autores citados anteriormente, as vias de sinalização envolvidas na tolerância a antifúngicos são controladas por resposta ao estresse modulada pela chaperona molecular Hsp90, um regulador celular que controla a ativação das principais vias de resposta ao estresse. Dentre os fungos patogênicos, os principais mecanismos implícitos na resposta ao estresse de drogas, foram elucidados, porém quando falamos de dermatófitos eles ainda são pouco compreendidos (MARTINEZ-ROSSI et al., 2018).

As bombas de efluxo de drogas, são proteínas de membranas presentes em todos os organismos vivos (MARTINEZ-ROSSI, PERES, ROSSI, 2008). Elas possuem capacidade de se ligar a diferentes substâncias, inclusive aos fármacos antifúngicos, tendo potencial de eliminá-las das células. Os transportadores de efluxo retrata um dos principais motivos de fracasso do tratamento, pois ela atua como mecanismo de proteção celular, contra efeitos citotóxicos dos medicamentos. Desse modo, a atividade dessa bomba molecular aumenta de forma gradual e não específica a resistência ao fármaco, reduzindo assim o efeito esperado in vivo (CERVELATTI et al., 2006; EL-AWADY et al., 2016; MARTINEZ-ROSSI et al., 2018).

Além dos mecanismos de resistência já mencionados, fatores como estrutura fúngica e organização celular, podem influenciar na resistência às drogas antifúngicas. Neste contexto, podemos citar os biofilmes, que são populações de células com alta complexidade estrutural inclusas em uma matriz extracelular, sendo considerados as formas mais prevalentes de crescimento

microbiano. Desse modo, são responsáveis por uma gama de infecções em humanos e foram relacionados ao aumento da resistência a antifúngicos (BURKHART, BURKHART, GUPTA, 2002; MARTINEZ-ROSSI et al., 2018).

Assim sendo, Costa-Orlandi et al. (2014) relataram que os dermatófitos podem formar biofilmes *in vitro*. Em concordância, Brilhante et al. (2017) também demonstraram a formação de biofilmes em fragmentos de unhas humanas em um estudo realizado *in vitro*. Desse modo tem sido proposto que os biofilmes podem predispor a uma infecção persistente e estão intimamente ligados aos casos de onicomicoses resistentes a terapia antifúngica. (BURKHART, BURKHART, GUPTA, 2002; GUPTA, DAIGLE, CARVIEL, 2016).

A resistência a antifúngicos pode ser monitorada por diferentes metodologias, geralmente adaptadas dos testes utilizados para bactérias. As técnicas disponíveis baseiam-se no teste de difusão em discos, na diluição em ágar, difusão em ágar e diluição em caldo (JESSUP et al., 2000; NCCLS, 2002; ESPINEL-INGROF, 2007).

Os testes de diluição em ágar ou em caldo permitem avaliar a concentração inibitória mínima (CMI) do medicamento capaz de inibir o crescimento fúngico. Estes testes são os mais efetivos na avaliação de resistência fúngica, porém são onerosos e pouco utilizados (NCCLS, 2002). Já o teste de difusão em disco é um método simples, barato, de fácil execução e fornece resultados quantitativos, de acordo com o halo de difusão formado e resultado qualitativo informando se é sensível ou resistente (ESPINEL-INGROF, 2007).

No que se refere a estudos prévios, focando a suscetibilidade de dermatófitos a antimicóticos, diferentes pesquisadores relataram perfil de suscetibilidade variável. Pakshir et al. (2009), cujo objetivo era avaliar a ação antifúngica do cetoconazol, griseofulvina, miconazol, terbinafina, clotrimazol e fluconazol em dermatofitos, verificaram 97,5% de resistência para o fármaco fluconazol. Já em relação ao demais fármacos testados todos demonstram boa sensibilidade, mas clotrimazol e a terbinafina tiveram o melhor desempenho em inibir o crescimento fúngico. Noutro estudo realizado por Abdelfattah, Torky e Khalil (2019), avaliou-se a eficácia do fluconazol, ketoconazol, clotrimazol e itraconazol, por meio de disco de difusão. Neste estudo, também se verificou resistência ao fluconazol em todos os isolados de *M. canis* e *N. gypseum*, mas .

suscetibilidade dos isolados aos demais fármacos avaliados. Diferentes métodos têm sido utilizados para se avaliar a suscetibilidade *in vitro* dos dermatófitos aos agentes antimicóticos, principalmente os testes de difusão em discos e o teste de concentração inibitória mínima (CIM). No estudo de Alim, Halim e Habib (2017), no qual as duas técnicas foram comparadas para avaliar a suscetibilidade de dermatófitos aos antifúngicos, itraconazol demonstrou ter 80% de ação antimicótica contra os isolados testados e o fluconazol 90%, havendo concordância entre os dois métodos avaliados.

2.7 Importância Zoonótica dos Dermatófitos

Os dermatófitos estão amplamente distribuídos pelo mundo. Estima-se que cerca de 10% a 15% da população mundial será infectada por eles, ao menos uma vez na vida, o que salienta relevância da dermatofitose para a saúde pública (PERES et al., 2010; PIRES et al., 2014).

Diversos estudos comprovam o alto potencial zoonótico dos fungos dermatófitos, tendo sido observado alta associação da doença nos seres humanos e a presença da mesma nos animais domésticos. Tal fato é notório, pois as principais espécies de dermatófitos isolados em seres humanos, *Microsporum canis*, *Nannizzia gypseum* e *Trichophyton mentagrophytes* são também as principais espécies causadoras da dermatofitose em pequenos animais. Sabe-se que tanto os animais sintomáticos, quanto os assintomáticos são capazes de transmitir a doença para os seres humanos e outros animais contactantes. Contudo, estes tem sido peça chave para manutenção da doença, pois a falta de informação, o fato de não apresentarem nenhuma lesão e o contato estreito com os tutores aumentam os riscos de contágio (BIER et al., 2013; CAFARCHIA et al., 2006; PINHEIRO et al., 1997).

De acordo com Peres et al. (2010) e Miller et al. (2013), cerca de 50% das pessoas que entram em contato com animais infectados, sendo estes sintomáticos ou não, desenvolvem a doença. Segundo estes mesmos autores, em torno de 15% a 30% dos casos de dermatofitoses em humanos são oriundos de exposição/contato com animais infectados.

Em um estudo realizado por Cafarchia et al. (2006), foi avaliado o pelame de animais assintomáticos, de proprietários com diagnóstico ou não de

dermatofitose. *Microsporum canis* foi isolado em 36,4% dos cães cujo tutores já tinha diagnóstico de dermatofitose. O agente não foi isolado entre os animais cujos tutores não tinham diagnóstico da enfermidade. Já nos felinos, *M. canis* foi isolado em 53,6% dos animais cujos tutores tinham diagnóstico prévio e em 14,6% dos felinos, cujos tutores não apresentavam a doença.

Em outro estudo realizado na Turquia por Alpın e Özgür (2007), foram avaliados 100 felinos sem sinais clínicos de dermatofitose e destes 11 (11%) foram identificados como portadores de *Microsporum canis*.

No estudo de Atorzi et al. (2011), durante um período de 20 anos (1990 - 2009), foram observados 46 casos de *tinea faciei* em crianças causadas por *M. canis*. O estudo mostrou que em 42 (91,30%) dos casos, as crianças mantinham contato direto com cães e gatos, os quais eram portadores assintomáticos dos dermatófitos.

No Brasil, em um trabalho realizado por Bier et al 2013, foram recrutados pacientes humanos diagnosticados por método clínico e laboratorial com dermatofitose e seus respectivos animais foram analisados. Nesse estudo, dos 54 animais avaliados 67% foram positivos para dermatófitos, sendo 16 cães (49%) e 20 felinos (95%). Entre os felinos estudados, tanto os sintomáticos quanto os assintomáticos transmitiram a doença. Em relação aos cães, os assintomáticos foram os principais propagadores da dermatofitose aos seus tutores.

Desse modo, considerando a elevada ocorrência de dermatofitose, pode-se afirmar que os cães e gatos são reservatórios importantíssimos na disseminação da doença, pois os mesmos podem ser portadores assintomáticos desses fungos. Deste modo, é de suma importância a adoção de medidas higiênico-sanitárias e de estudos epidemiológicos que comprovem a real situação desta zoonose (PERES et al., 2010; BIER et al., 2013; MILLER et al., 2013; SILVA et al., 2017; ROSSI e ZANETTE, 2018; ANDRADE et al., 2019).

2.8 Controle e prevenção das dermatofitoses

Por se tratar de uma patologia zoonótica, é importante a adoção de medidas de controle e prevenção, sobretudo nos animais de companhia. Assim sendo, é necessário que o diagnóstico seja feito de forma rápida e precisa, pois,

assim pode-se estabelecer tratamento adequado, diminuindo a transmissão para humanos e outros animais (MORIELLO et al., 2017).

A contaminação ambiental é uma importante forma de infecção para seres humanos e animais. Sabe-se que os esporos fúngicos podem permanecer viáveis em ambiente por até dezoito meses, o que requer desinfecção criteriosa dos ambientes contaminados (MADRID e MATTEI, 2012; MILLER et. al., 2013).

Os fômites contaminados também constituem vias de infecção, desse modo, os objetos com os quais os animais tem contato (gaiolas, toalhas, camas, escovas, etc.) precisam ser higienizados de forma rigorosa com vapor quente, e ou hipoclorito de sódio diluído em água (proporção 1:10), amônia quaternária a 0,3%, alvejante doméstico (proporção de 1:10 a 1:100) ou clorexidina (MORIELLO e DEBOER, 2015; ROSSI & ZANETTE, 2018; GONDIM e ARAÚJO, 2020).

Em locais com aglomerações de animais como canis, gatis, abrigos, hotéis, hospitais, pet shops entre outros, o controle e a prevenção da dermatofitose requer atenção especial. Não se recomenda a inserção de novos animais, principalmente os filhotes, pois os mesmos possuem sistema imunológico imaturo. Adicionalmente, recomenda-se que a reprodução seja cessada até que se tenha cura dos animais doentes e o controle da afecção (MORIELLO e DEBOER, 2015; NEVES et al., 2018; PATEL & FORSYTHE, 2010).

Outro ponto importante são os animais semi-domiciliados que possuem livre acesso às ruas. Os mesmos podem frequentar locais contaminados, bem como ter contanto com animais infectados. Dessa forma, os mesmos, quando retornam para casa podem expor outros animais e mesmo o tutor ao risco de infecções por diversos agentes zoonóticos, incluído os dermatofitos (ROSA JUNIOR et al., 2012; BIER et al., 2013).

Tendo em vista o exposto, os programas de controle populacional de cães e gatos, por meio da esterilização cirúrgica dos mesmos, são benéficos na prevenção da dermatofitose e de outras doenças infecto-parasitárias de importância na saúde animal e humana. Vale ressaltar também que, além da castração, a orientação de tutores sobre bem-estar animal e guarda responsável são de suma relevância, pois auxiliam na prevenção e no controle da propagação de enfermidades zoonóticas, propiciando saúde à toda população (AMAKU et

al., 2009; BARBIERI et al., 2017; LUI et al., 2011; ROSA JUNIOR et al., 2012; TUCCI et al., 2011).

Atualmente, encontram-se disponíveis vacinas contra *Microsporium canis* no mercado, embora os estudos sobre este recurso de prevenção e controle apontem resultados dúbios. Em estudo com felinos, DeBoer e Moriello (1994b) testaram uma vacina inativada contra *Microsporium canis* em felinos jovens, mas esta não foi capaz de gerar imunidade protetora contra o agente. Outra vacina de parede celular de *Microsporium canis* foi testada em filhotes de gatos sem infecção prévia por dermatofitos. Os animais vacinados desenvolveram anticorpos IgM e IgG, contra *M. canis*, quando comparado ao grupo controle, porém a vacina não foi capaz de impedir infecção em desafio pós vacinal (DEBOER, et al, 2002).

Wawrzkievicz et al. (2000) obtiveram sucesso com a aplicação de uma vacina inativada em felinos, utilizando-se doses mais elevadas. Os animais submetidos a esse estudo não desenvolveram doença após o desafio. Em outro estudo com cães realizado por Mihaylov et al. (2008), foi utilizada uma vacina viva de *Microsporium canis*, em duas doses e depois de 36 dias foram desafiados experimentalmente. Os animais vacinados não desenvolveram doença clínica, os mesmos tiveram apenas lesões descamativas.

Morriello et al. (2017) e Balda e Santana (2020) realizaram inúmeros estudos visando avaliar a segurança e eficácia das vacinas como tratamento e como adjuvante terapêutico da dermatofitose. Nestes estudos, concluiu-se que a vacina não previne a infecção por dermatófitos e que a mesma induz uma imunidade humoral e sabe-se que a melhora clínica da patologia está relacionada com imunidade celular. Desse modo a vacina auxilia na melhora clínica do paciente, porém não impende que o animal seja fonte de contaminação. Desse modo a avaliação dos resultados acerca da efetividade das vacinas contra dermatofitoses, seja para fins terapêuticos ou preventivos requer bastante critério.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Determinar a epidemiologia da dermatofitose na população canina e felina do Canil Municipal de Varginha-MG.

3.2 Objetivos específicos

- a) Avaliar a prevalência da dermatofitose nas populações canina e felina do Canil Municipal de Varginha, determinando a prevalência de animais sintomáticos e assintomáticos.
- b) Identificar as espécies de dermatófitos afetando as populações canina e felina do Canil Municipal de Varginha- MG;
- c) Avaliar a resistência dos dermatófitos isolados de caninos e felinos do Canil Municipal de Varginha- MG, aos antimicrobianos utilizados no tratamento das dermatofitoses em animais de companhia.

4 METODOLOGIA

O estudo foi conduzido após aprovação da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal de Lavras (UFLA), sob o protocolo de número 038/2021, conforme Anexo A.

4.1 Local de Realização do Estudo

O presente trabalho foi realizado no Canil Municipal de Varginha- MG, localizado na cidade de Varginha (Lat. 21°32'15.4"S Long. 45°24'28.0"W), Minas Gerais, que possui uma população canina estimada em 230 caninos e 100 felinos.

Inicialmente, foi avaliada a prevalência de lesões sugestivas de dermatofitose entre os animais, fazendo-se o compilamento dos dados epidemiológicos mais relevantes, tais como a idade aproximada, raça e sexo, bem como o registro de dados clínicos dos mesmos em formulário desenvolvido para este fim e o registro de imagens (Anexo B).

Após triagem visual inicial foram escolhidos para o estudo 150 caninos e 100 felinos, sendo eles divididos em quatro grupos: C1: com 100 caninos sem lesões sugestivas de dermatofitose (assintomáticos); C2: 50 caninos com lesões sugestivas de dermatofitose (sintomáticos); F1: com 50 felinos sem lesões sugestivas de dermatofitose (assintomáticos); F2: 50 felinos com lesões sugestivas de dermatofitose (sintomáticos).

4.2 Triagem com a Fluorescência de Wood

Ambos os grupos de estudos foram avaliados por meio da lâmpada de Wood. Para realização deste teste, adotou-se a metodologia descrita por Miller et al. (2013), segundo a qual este exame seja feito em sala escura e que a lâmpada seja ligada e aquecida por 10 minutos antes de ser utilizada. Após o aquecimento a luz deve ser incidida sobre o animal por aproximadamente 3 a 5 minutos, pois algumas cepas são mais lentas em emitir fluorescência.

Ainda segundo os mesmos autores, deve ser avaliado a fluorescência nas hastes pilosas. Animais positivos ao teste serão amostrados, preferencialmente

nos sítios de maior fluorescência para realização de exames diretos e de cultura fúngica.

4.3 Coleta de amostras

Para animais assintomáticos utilizou-se o método de Mackenzie, descrito por Miller et al. (2013). Tal método consiste em friccionar uma escova estéril no sentido a favor e contra do pelame do animal, dando preferência para as seguintes áreas: cauda, membros, dorso, região pré-auricular e face. Os pelos obtidos através dessa fricção foram submetidos à triagem com lâmpada de Wood e acondicionados em potes estéreis e enviados ao laboratório para tricograma e cultura.

Os animais do grupo sintomáticos foram submetidos a triagem com Lâmpada de Wood, seguindo-se a coleta de amostras por meio de raspado cutâneo superficial das áreas acometidas. Em seguida foi realizado raspado de pele profundo, pois além da identificação de dermatófitos foi realizado um diagnóstico diferencial para ácaros causadores de sarna. Os pelos e crostas obtidos foram acondicionados em potes estéreis e enviados ao laboratório para tricograma e cultura e exame parasitológico para sarnas.

4.4 Diagnóstico laboratorial da dermatofitose

Os exames laboratoriais foram realizados no Laboratório de Bacteriologia e Laboratório de Parasitologia do Setor de Medicina Veterinária Preventiva da DMV/FZMV/UFLA.

4.5 Tricograma

Para realização do tricograma os pelos foram distribuídos sobre lâminas de microscopia na mesma orientação e podem ser fixados com uma gota de óleo mineral ou com auxílio de uma lamínula (MILLER et al., 2013). Feito isso foi analisado em microscópio, a fim de se verificar pelos tonsurados com alterações corticomedulares e presença de artroconídios endotrix e ectotrix (NEUBER e NUTTAL, 2017). Para auxiliar na visualização das alterações pilosas, pode se

realizar tratamento prévio da pelagem com KOH a 20%. Nesse estudo a pelagem foi avaliada a seco.

4.6 Cultura

Para o cultivo, utilizou-se o meio Dermatophyte Test Medium (DTM). A semeadura foi feita de duas formas. Nas amostras oriundas de animais assintomáticos, os pelos foram retirados das escovas com auxílio de uma pinça e depositados cuidadosamente no meio. Já nos casos onde os pelos foram arrancados, colocou-se uma pequena amostra de pelos no meio e pressionou-os levemente, lembrando que os pelos não devem ultrapassar os limites da borda da placa de Petri. Caso isso aconteça, é recomendado cortar o excesso de pelo.

Após semeadura, a cultura ficou em estufa com temperatura entre 27-30°C, por até 3 semanas. Após esse período as culturas foram analisadas quanto às características macroscópicas e microscópicas das amostras com crescimento sugestivo de dermatofitos para a identificação precisa dos isolados.

Quanto à caracterização dos isolados a mesma foi feita de forma macroscópica e microscópica, seguindo-se a metodologia descrita por Gomes et al. (2012) (Tabela 1). A avaliação macroscópica observou a mudança de coloração do meio de cultura, aspectos e coloração das colônias. Microscopicamente, foi avaliada a presença de microconídeos e macroconídeos de acordo com sua forma, estrutura de parede e quantidade de septos (Tabela 1), em esfregaços corados pela técnica do azul de lactofenol.

Tabela 1 – Características morfológicas dos principais dermatófitos isolados de cães e gatos

Espécie	Aspecto Macroscópico			Aspecto Microscópico				
	Verso		Reverso	Macroconídios			Microconídios	
	Aspecto	Cor	Cor	N	Forma	Septos	Parede	
<i>M. canis</i> *	A	B/AM	AL	+++	Fusiforme	7-14	E	+
<i>M. gypseum</i> **	P/A	C/CN	AC	+++	Canoa	1-6	F	+
<i>T. mentagrophytes</i> *	P/A	B/C	AM/CN	0-+	Clava	1-6	F	+++

N: Número; P: Pulvulento; A: Aveludado; B: Branco; C: Creme; AM: Amarelado; CN: Canelada AC: Acastanhado; AL: Alaranjado; E: Espessa; F: Fina; +: Raros; +++: Abundantes; * Zoofilicos; ** Geofílico.

Fonte: Adaptado de Gomes et al., 2012.

4.7 Exame parasitológico dos animais

Para os animais que apresentaram sintomas sugestivos de dermatofitose, foi realizado além dos testes específicos, um raspado de pele profundo, no intuito de excluir a presença de ácaros causadores de sarnas.

Para realização do raspado escolheu-se os locais no qual o animal apresentava as lesões. Foi adicionado um pouco de óleo mineral em uma lâmina de vidro e em seguida com auxílio de uma lâmina de bisturi foi realizado o raspado profundamente do local afetado até se obter sangramento capilar. Tendo em vista que alguns ácaros podem parasitar os folículos pilosos, durante o raspado é necessário comprimir a pele. O material coletado deve ser distribuído sobre a lâmina de vidro e avaliado em microscópio o mais rápido possível. (MILLER et al., 2013; NEUBER e NUTTAL, 2017).

4.8 Testes de suscetibilidade aos antimicrobianos

4.8.1 Drogas antifúngicas

A técnica empregada para avaliar a susceptibilidade a antifúngicos foi a de disco de difusão, seguindo-se as recomendações do fabricante dos antifúngicos. Os antifúngicos utilizados foram: Clotrimazol 50 mcg, Fluconazol 25 mcg, Itraconazol 10 mcg e Ketoconazol 50 mcg todos da fabricante Cecon¹.

4.8.2 Preparação do Inóculo

Os dermatófitos foram cultivados em meio DTM, a 30°C ($\pm 2^\circ\text{C}$) por 7 dias. O inóculo foi preparado a partir de colônias de dermatófitos e adicionados a 2 ml de solução salina estéril. A turbidez foi ajustada visualmente com tubo de 0,5 da escala de Mac Farland. Com isso obteve-se uma suspensão 10^6 UFC por ml.

4.8.3 Inoculação placas de testes

Após a preparação dos inóculos, os mesmos foram semeados em placas de Petri 150mm x 6mm contendo meio Mueller-Hinton (MHA). A semeadura foi

realizada por meio de esfregaço, utilizando-se um swab estéril. O swab foi mergulhado no inóculo e girado várias vezes e posteriormente pressionado firmemente contra a parede interna do tubo para evitar conteúdo excessivo.

O swab foi deslizado por toda a extensão da placa de MHA, assegurando uma distribuição uniforme do inóculo. Posteriormente, a placa com inóculo foi deixada em repouso por 15 minutos.

4.8.4 Aplicação dos discos de antifungigrama.

Quinze minutos após a semeadura e absorção completa dos inóculos, os discos de antifúngicos foram colocados em pontos equidistantes e pressionados levemente contra o meio, utilizando-se uma pinça esterilizada. As placas foram deixadas em temperatura ambiente por 30 minutos para a pré-difusão. Em seguida as mesmas foram invertidas e incubadas em estufa à temperatura de 30°C por 72 horas.

4.8.5 Interpretação dos resultados

Depois de 72 horas de incubação das placas, os halos de inibição oriundos em cada placa foram lidos com auxílio de um paquímetro e comparados com os dados estabelecidos pela fabricante dos antifúngicos (Cecon). Os dados para comparação dos halos de inibição estão descritos no quadro 1.

Quadro 1 – Comparação dos antifúngicos e seus respectivos halos de inibição.

ANTIFÚNGICOS	CONCENTRAÇÃO DISCO	DIAMETRO DOS HALOS DE INIBIÇÃO (mm)	INTERPRETAÇÃO
Clotrimazol	50 mcg	> 20 20 - 10 < 10	Sensível Intermediário Resistente
Fluconazol	25 mcg	≥ 19 18 - 15 ≤ 14	Sensível Intermediário Resistente
Itraconazol	10 mcg	≥ 20 19 - 12 ≤ 11	Sensível Intermediário Resistente
Ketoconazol	50 mcg	> 20 20 - 10 < 10	Sensível Intermediário Resistente

Fonte: Adaptado de Cecon (2019).

4.8.6 Controle de qualidade

Para garantir o controle de qualidade dos ensaios de suscetibilidade aos antifúngicos, foram utilizados como controle as cepas de referência de *Candida tropicalis* ATCC 735 e *Candida albicans* ATCC 18804, conforme preconizado pelo fornecedor dos antifúngicos (Cecon®). Os resultados foram interpretados de acordo com o quadro 1.

4.8.7 Análises estatísticas dos resultados

A participação das diferentes espécies de dermatófitos isoladas a partir das amostras obtidas de animais sintomáticos e amostras de animais assintomáticos, bem como a ocorrência da infecção em função dos parâmetros de idade, raça e sexo foram comparadas por meio da Odds Ratio (OR) e do teste do Qui-quadrado, utilizando o Programa Epi-Info (CDC–WHO, versão 6.04b,1997).

No que se refere à avaliação da resistência aos antimicrobianos, foram obtidos os índices percentuais de resistência para cada antimicrobiano, considerando toda a população obtida e para as diferentes espécies isoladas.

4.9 Banco de Dermatófitos do DMV/FZMV/UFLA.

Caso o número de dermatofitos isolados dos animais do Abrigo não seja suficiente para os testes de susceptibilidade aos antifúngicos, serão utilizados isolados do banco de dermatófitos do Laboratório de Bacteriologia e Laboratório de Parasitologia do Setor de Medicina Veterinária Preventiva da DMV/FZMV/UFLA.

Esses isolados são oriundos de atendimentos clínicos de animais atendidos no Hospital Veterinário da Universidade Federal de Lavras, localizado na cidade de Lavras – MG, na região do Sul de Minas Gerais. Os isolados possuem identificação somente da espécie de dermatófito isolada.

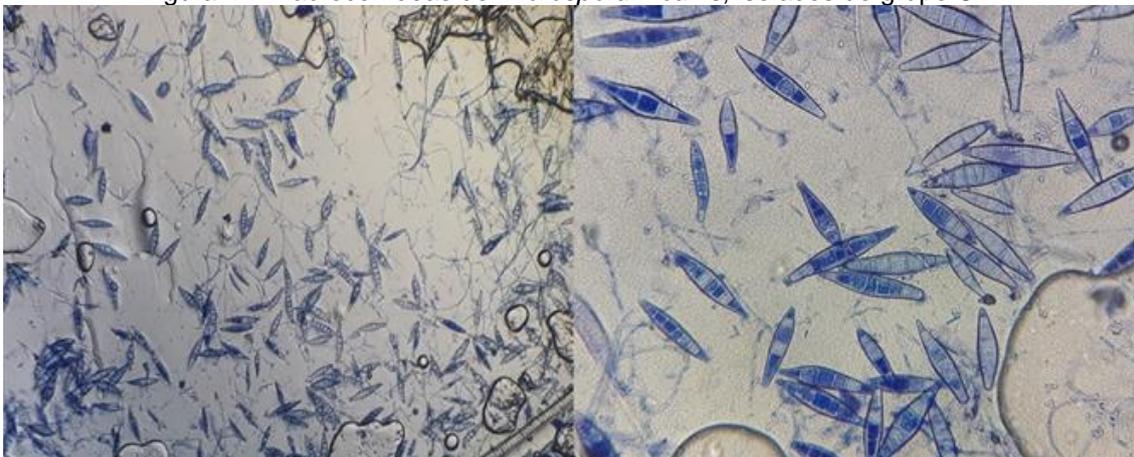
5 RESULTADOS

Na avaliação dos animais assintomáticos (Grupos C1 e F1), foram analisadas no total 150 amostras, sendo 100 amostras de caninos e 50 amostras de felinos. Em relação ao grupo C1 (caninos assintomáticos) todos os animais eram sem raça definida (SRD). Quanto ao gênero 78 eram fêmeas e 22 eram machos. A pelagem predominante foi a de característica curta observada em 83 animais, seguida da pelagem média 13 animais e por último a pelagem longa 4 cães.

Referente aos exames complementares realizados no respectivo grupo (C1), após a coleta dos pelos utilizando-se a técnica de Mackenzie, as escovas foram submetidas a lâmpada de Wood, onde obteve-se fluorescência em 1(1%) amostra, tendo sido o restante das amostras negativas 99 (99%). No tricograma 5 (5%) das amostras foram positivas e 95 (95%) foram negativas. Já na cultura fúngica 4 (4%) amostras foram positivas para dermatófitos e 96 (96%) negativas. Das 5 amostras positivas no tricograma, quatro foram positivas na cultura fúngica e uma amostras teve crescimento de contaminante ambiental.

Quanto à espécie isolada todas as amostras (100%) desse respectivo grupo foram positivas para *Microsporum canis* (Figura 4). Quanto às características dos portadores de dermatófitos isolados no grupo C1, 2 (50%) eram machos e 2 (50%) fêmeas. Em relação à pelagem 2 (50%) dos cães possuíam pelagem longa e 1 (25%) pelagem média, 1 (25%) pelame curto.

Figura 4 – Macroconídeas de *Microsporum canis*, isolados do grupo C1.



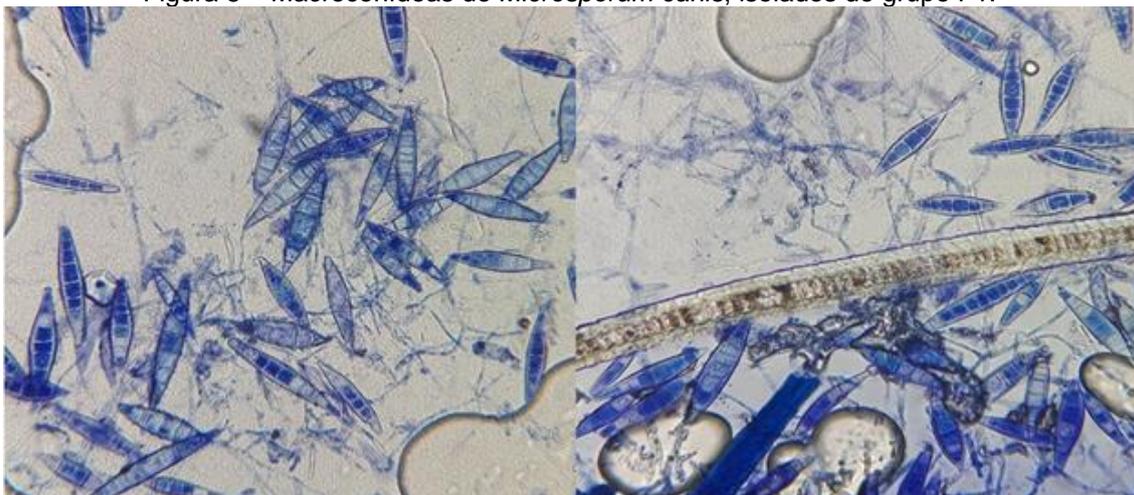
Fonte: Arquivo pessoal (2022).

Quanto ao grupo F1 (felinos assintomáticos), todos 50 animais não possuíam padrão racial definido. No que concerne ao gênero 26 felinos eram fêmeas e 24 machos. Ao analisar as características do pelame 44 animais possuíam pelo curto, cinco de pelame médio e um de pelame longo.

As amostras do grupo F1 foram analisadas seguindo o mesmo padrão do grupo C1. Ao avaliar as amostras sobre a lâmpada de Wood 1 (2%) emitiram fluorescência e 49 (98%) foram negativas a esse teste. Na pesquisa direta de fungos (tricograma) 50 (100%) das amostras foram negativas. Na cultura fúngica 7 (14%) dos animais foram positivos e 43 (86%) dos felinos negativos.

Em relação à espécie isolada, todas 7 (100%) foram positivas para *Microsporium canis* (Figura 5). No que concerne ao perfil dos portadores de dermatofitose do grupo 3 (42,8%) eram fêmeas e 4 (57,1%) machos. Quanto à pelagem, 6 (85,7%) dos animais possuíam pelame curto e 1(14,3%) tinha pelos longos.

Figura 5 – Macroconídeas de *Microsporium canis*, isolados do grupo F1.



Fonte: Arquivo pessoal (2022).

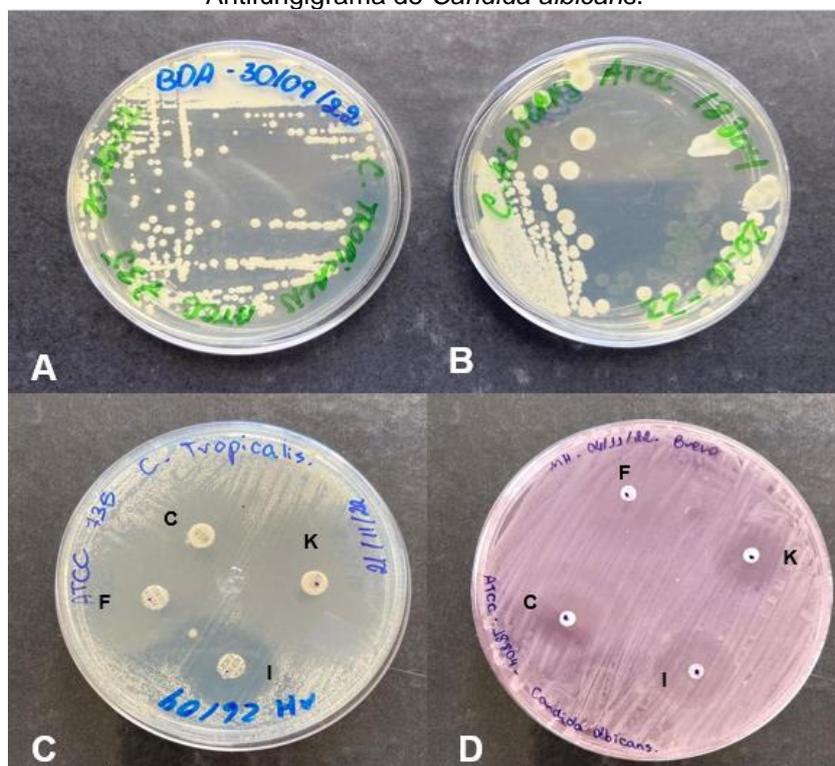
No que diz respeito aos grupos C2 (caninos sintomáticos) e F2 (felinos sintomáticos), não foi possível avaliar esses grupos, pois no momento das análises, o canil municipal de Varginha, não possuía animais suficientes com lesões sugestivas de dermatofitose. Tal fato, impossibilitou a avaliação da epidemiologia da doença em animais sintomáticos.

Neste estudo pretendia-se avaliar a ocorrência da infecção (portadores sintomáticos e assintomáticos) por dermatofitos em função da idade, raça, gênero, tipo de pelame. Embora haja inferências para tal, o número amostral foi pequeno, não permitindo fazer conjecturas sobre esses parâmetros.

Frente ao baixo número de isolados de dermatófitos nos animais do Canil Municipal de Varginha-MG, foi necessário utilizar 17 amostras de isolados clínicos de dermatófitos que fazem parte do Banco de microrganismos do Laboratório de Bacteriologia e Laboratório de Parasitologia do Setor de Medicina Veterinária Preventiva da FZMV/DMV/UFLA. Desse modo foi avaliado a resistência de 28 dermatófitos, sendo eles dezenove *Microsporium canis*, três *Nannizzia gypseum* e seis *Trichophyton mentagrophytes*.

Antes da realização dos testes de susceptibilidade, as cepas de referência utilizadas como controle de qualidade foram testadas para se validar os resultados dos ensaios. As amostras selecionadas foram *Candida tropicalis* ATCC 735 e *Candida albicans* ATCC 18804 (Figura 6A e 6B). No que tange a ATCC 735, a mesma foi sensível ao clotrimazol, fluconazol e ketoconazol, já ao itraconazol teve suscetibilidade intermediária. A ATCC 18804 foi resistente ao fluconazol e sensível ao demais antifúngicos testados (Figura 6C e 6D).

Figura 6 – A: Cultura de *Candida tropicalis* ATCC735, em meio BDA. B: Cultura *Candida albicans* ATCC 18804, em meio BDA. C: Antifungigrama de *Candida tropicalis*. D: Antifungigrama de *Candida albicans*.



Legenda: **C** - Clotrimazol; **F** – Fluconazol; **I** – Itraconazol; **K**- Ketoconazol.
Fonte: Arquivo Pessoal (2022).

Os testes de antifungograma dos 28 isolados de dermatófitos foram realizados e após 72 horas foram avaliados os resultados (Tabela 2). Das 28 amostras expostas ao fármaco clotrimazol 11 (39,28%) foram sensíveis, 13 (46,43%) intermediárias e 4 (14,28%) resistentes. Já ao itraconazol, três (10,71%) foram sensíveis, um isolado (3,57%) intermediária e 24 (85,71%) demonstraram resistência ao fármaco. Analisando o antifúngico fluconazol, nenhuma (0%) amostra apresentou sensibilidade, uma (3,57%) apresentou suscetibilidade intermediária e 27 (96,43%) amostras foram resistentes. No que concerne aos testes realizados com o ketoconazol, 15 (53,57%) das amostras demonstraram sensibilidade ao fármaco, 11 (39,28%) tiveram susceptibilidade intermediária e 2 (7,14%) apresentaram resistência ao antifúngico.

Tabela 2 – Resultados dos testes de suscetibilidade dos dermatófitos isolados aos antimicóticos

Resultados	Drogas Antifúngicas			
	Clotrimazol 50 mcg	Itraconazol 10 mcg	Fluconazol 25 mcg	Ketoconazol 50 mcg
Sensível	11(39,28%)	3(10,71%)	0(0%)	15(53,57%)
Intermediário	13(46,43%)	1(3,57%)	1(3,57%)	11(39,28%)
Resistente	4(14,28%)	24(85,71%)	27(96,43%)	2(7,14%)

Fonte: Arquivo Pessoal (2022).

As amostras também foram avaliadas de acordo com a espécie. Das 19 amostras de *M. canis* (Quadro 02) quando expostas ao clotrimazol, 7 (36,48%) demonstraram ser sensíveis, 10 (52,63%) foram intermediárias e 2 (10,52%) resistentes ao fármaco. Quanto ao itraconazol e fluconazol todas as 19 (100%) amostras foram resistentes aos dois antifúngicos avaliados. Em relação ao ketoconazol, 10 (52,63%) das amostras foram sensíveis, oito (42,10%) apresentaram sensibilidade intermediária e uma (5,26%) amostra foi resistente ao antifúngico.

Quadro 2 – Resultados dos antifungogramas dos isolados de *Microsporium canis*.

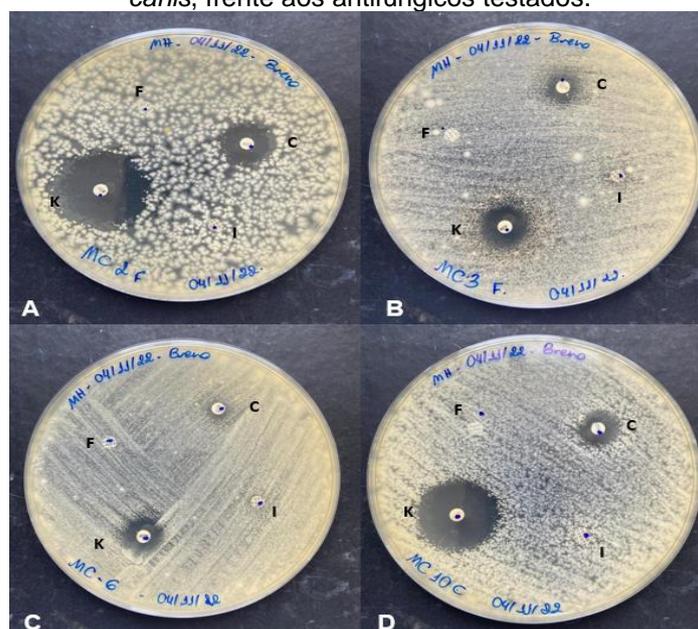
ANTIFUNGIGRAMA AMOSTRAS <i>Microsporium canis</i>																			
ANTIFÚNGICO	MC 01	MC 02	MC 03	MC 04	MC 05	MC 06	MC 07	MC 08	MC 09	MC 10	MC 11	MC 12	MC 13	MC 14	MC 15	MC 16	MC 17	MC 18	MC 19
Clotrimazol 50 mcg	S	S	I	I	S	R	R	S	S	I	I	S	I	S	I	I	I	I	I
Itraconazol 10 mcg	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
Fluconazol 25 mcg	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
Ketoconazol 50 mcg	S	S	I	I	S	I	I	S	S	S	S	S	I	S	R	S	I	I	I

Legenda: S – Sensível; I – Intermediário; R – Resistente

Fonte: Arquivo Pessoal (2022).

Conforme demonstrado no quadro 02, todos os isolados de *M. canis* demonstraram resistência simultânea aos fármacos itraconazol e fluconazol (Figura 7A, 7 B, 7C, 7D). Tendo em vista que na atualidade o itraconazol e o fluconazol são as primeiras escolhas para tratamento da dermatofitose em cães e gatos, tal resultado demonstra a importância da realização do antifungograma antes da prescrição de fármacos, pois assim o clínico terá uma conduta mais assertiva. Um outro ponto a ser destacado é que os isolados MC06, MC07 e MC15 demonstraram um padrão de resistência tripla. Onde MC06 e MC07 foram resistentes ao clotrimazol, itraconazol e fluconazol (Figura7C) e o MC15, foi resistente ao itraconazol, fluconazol e ketoconazol.

Figura 7 – Placas de antifungograma demonstrando a resistência dos isolados de *Microsporium canis*, frente aos antifúngicos testados.



Legenda: **C** - Clotrimazol; **F** – Fluconazol; **I** – Itraconazol; **K**- Ketoconazol.
 Fonte: Arquivo Pessoal (2022).

No que concerne aos seis isolados de *Trichophyton mentagrophytes* (Quadro 03), quando as mesmas foram expostas ao fármaco clotrimazol verificou-se que um isolado (16,66%) era sensível, três (50%) eram intermediários e dois (33,33%) resistentes. A susceptibilidade do *T. mentagrophytes* se comportou de maneira semelhante em relação ao itraconazol e ao fluconazol, sendo que nenhuma (0%) cepa foi sensível a ambos os fármacos, uma (16,66%) apresentou suscetibilidade intermediária e cinco (83,33%) dos isolados demonstraram resistência aos fármacos testados.

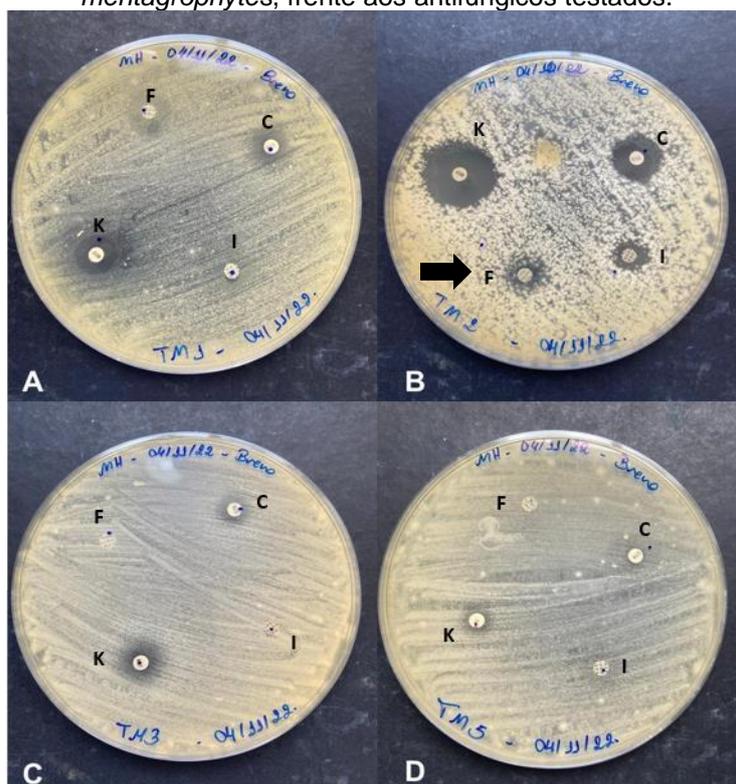
Quadro 3 – Resultado do antifungigrama dos isolados *Trichophyton mentagrophytes*.

ANTIFUNGIGRAMA AMOSTRAS <i>Trichophyton mentagrophytes</i>						
ANTIFÚNGICO	TM 01	TM 02	TM 03	TM 04	TM 05	TM 06
Clotrimazol 50 mcg	I	S	I	I	R	R
Itraconazol 10 mcg	R	I	R	R	R	R
Fluconazol 25 mcg	R	I	R	R	R	R
Ketoconazol 50 mcg	I	S	I	S	R	I
Legenda: S – Sensível; I – Intermediário; R – Resistente						

Fonte: Arquivo Pessoal (2022).

Os isolados de *T. mentagrophytes* demonstraram um padrão de susceptibilidade voltado para características intermediárias e a maioria resistente. Verificou-se que as amostras TM 01 e TM 03 (Figura 8A e 8C) eram resistentes a itraconazol e ao fluconazol e tinham características de suscetibilidade intermediária quando expostas ao clotrimazol e ao ketoconazol. O isolado TM 02 foi o único ao qual apresentou algum resultado de suscetibilidade ao fármaco fluconazol nesse estudo (Figura 8B). O mesmo teve propriedades intermediárias nesse isolado (Figura 8B - seta preta), assim como ao antifúngico itraconazol. Em relação ao clotrimazol e ao ketoconazol, os mesmos foram efetivos contra esta mesma cepa de *T. mentagrophytes*. Para o isolado TM 05 (Figura 8D), observou-se resistência para todos os antifúngicos testados.

Figura 8 – Placas de antifungigrama demonstrando a resistência do dermatófito *Trichophyton mentagrophytes*, frente aos antifúngicos testados.



Legenda: **C** - Clotrimazol; **F** – Fluconazol; **I** – Itraconazol; **K**- Ketoconazol.
Fonte: Arquivo Pessoal (2022).

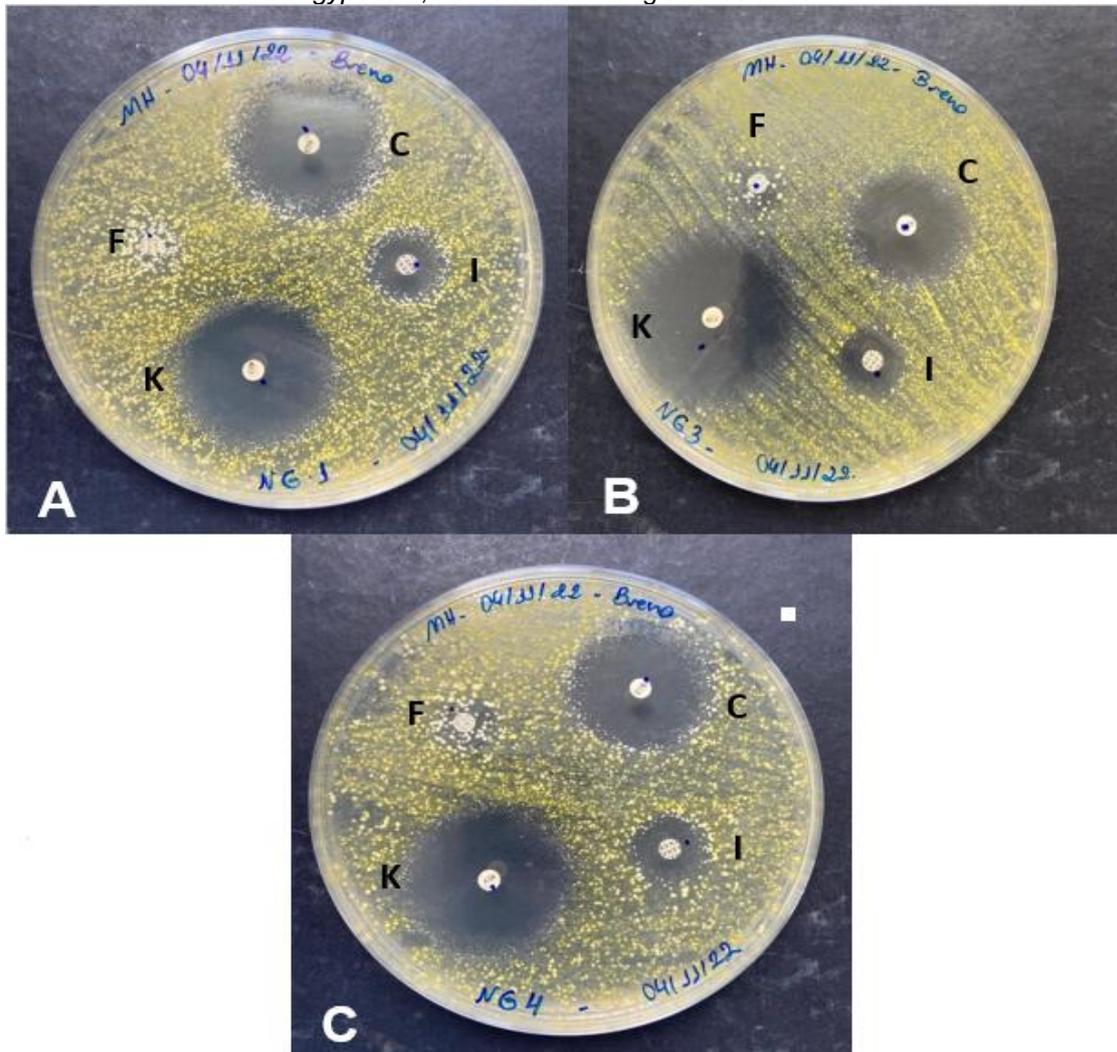
Em relação às amostras de *Nannizzia gypseum*, inicialmente eram 4 isolados (Quadro 04), no entanto durante a realização dos testes o isolado NG 02 não apresentou crescimento adequado, não tendo sido possível avaliar a suscetibilidade do mesmo. As três (100%) amostras testadas foram sensíveis à exposição do clotrimazol, itraconazol e ketoconazol. No entanto todos os três (100%) isolados foram resistentes ao fluconazol (Figura 9).

Quadro 4 – Resultado do antifungigrama dos isolados *Nannizzia gypseum*.

ANTIFUNGIGRAMA AMOSTRAS <i>Nannizzia gypseum</i>				
ANTIFÚNGICO	NG 01	NG 02	NG 03	NG 04
Clotrimazol 50 mcg	S	TI	S	S
Itraconazol 10 mcg	S	TI	S	S
Fluconazol 25 mcg	R	TI	R	R
Ketoconazol 50 mcg	S	TI	S	S
Legenda: S – Sensível; I – Intermediário; R – Resistente; TI – Teste Inválido				

Fonte: Arquivo Pessoal (2022).

Figura 9 – Placas de antifungograma demonstrando a resistência do dermatófito *Nannizzia gypseum*, frente aos antifúngicos testados.



Legenda: **C** - Clotrimazol; **F** - Fluconazol; **I** - Itraconazol; **K** - Ketoconazol.
Fonte: Arquivo Pessoal (2022).

6 DISCUSSÃO

A dermatofitose é uma enfermidade infectocontagiosa de fácil disseminação. Locais com grandes aglomerações, como os abrigos coletivos de animais, são possivelmente contaminados. Fatores como alta densidade populacional, ambientes úmidos devido a higienizações constante e animais vivendo em situações estressantes, favorecem a disseminação e manutenção da doença (MORIELLO e NEWBURY, 2006; DE TAR, DUBROVOSKY, SCARLET, 2019). Frente a isso o local escolhido para realização do presente estudo foi o Abrigo Municipal da Cidade de Varginha-MG.

Dos 150 animais (caninos e felinos) assintomáticos avaliados nesse estudo 11 (7,3%) foram positivos para dermatofitose. Desses 4 (4%) eram caninos e 7 (14%) de felinos. No estudo de Moriello, Kunkle e Deboer (1994), avaliando-se a prevalência de dermatófitos no pelame de duzentos gatos aparentemente saudáveis em abrigos dos Estados Unidos, foram encontrados 35 (17,5%) animais positivos para dermatófitos, resultado esse que se aproxima do obtido no presente trabalho. Em um segundo estudo realizado por Boyanowski et al. (2000) a prevalência de gatos com dermatofitose foi de 5,5% (11/200 gatos). Em um trabalho recente no Oregon, a prevalência de felinos com dermatofitose foi de 1,8% (202/11.214 gatos) (DE TAR; DUBROVSKY; SCARLETT, 2019). Segundo Gordon, Idle e De Tar (2020), a prevalência de dermatofitose clínica em animais de um abrigo no Canadá foi respectivamente de 0,48% em felinos e 0,11% em caninos. Esse último estudo foi o único encontrado na literatura envolvendo cães de abrigos.

Os objetivos desse estudo eram avaliar a prevalência de dermatofitose clínica (morbidade clínica), espécies de dermatófitos envolvidos e seus perfis de suscetibilidade aos antimicóticos em animais do abrigo. No entanto, não foi possível avaliar a morbidade clínica e nem as espécies e perfis de resistência nestes casos, pois não haviam animais sintomáticos suficientes no local para tal análise. Apenas cinco animais do abrigo de cães apresentavam manifestações sugestivas da enfermidade, mas resultaram negativos no exame direto e na cultura. No caso dos felinos, nenhum animal apresentava quadro sugestivo da enfermidade. Tais resultados são semelhantes aos obtidos por Gordon, Idle e De Tar (2020) onde os mesmos analisaram 80.741 animais de um abrigo no

Canadá com lesões sugestivas de dermatofitos e obtiveram 244 (0,48%) de felinos e 25 (0,11%) caninos com diagnóstico de dermatofitose. No estudo de Verbrugge, Moriello e Newburry, (2006) 5.644 felinos de um abrigo foram acompanhados por meio de cultura para dermatofitos. Desses 381 (6,75%) felinos apresentavam lesões sugestivas de dermatofitose. Assim sendo esse estudo discorda dos resultados encontrados. Ainda discordando desse estudo Polak et al. (2014), ao avaliarem 696 gatos que viviam sob condições de maus-tratos em um abrigo, 76 felinos apresentavam lesões sugestivas de dermatofitose. Desse 69 (91%) foram positivos a cultura fúngica para *M. canis*.

Microsporium canis foi a única espécie de dermatófito isolada no presente estudo, tanto em caninos quanto em felinos. Nossos resultados são corroborados por diferentes estudos que também relacionaram este agente como o mais frequente na etiologia dos casos de dermatofitoses em caninos e felinos (BOYANOWSKI et al. 2000, BALDA et al. 2004, PALUMBO et al. 2010, BIN et al.2010, NEVES et al. 2011, BIER et al. 2013, POLAK et al. 2014, NITTA et al. 2016, MORIELLO et al. 2017, CARDOSO et al. 2018, GORDON; IDLE;DE TAR, 2020).

Com relação ao gênero dos cães, 2 (50%) eram machos e 2 (50%) fêmeas, já os felinos, 4 (57,1%) machos e 3 (42,8%) fêmeas. No estudo de Moriello, Kunkle e Deboer (1994), foram analisados 200 felinos de diferentes abrigos dos Estados Unidos. Desses 98 (49%) eram machos e 102 (51%) eram fêmeas. Assim sendo, nesse estudo o quesito gênero não apresentou diferenças estatísticas ($P < 0,05$). Já no trabalho de Balda et al. (2004), foram analisados 76 animais com dermatofitose, sendo 40 cães e 36 felinos. Dos cães 19 (47,5%) eram machos e 21 (52,5%) fêmeas. Já, os felinos 22 (61,1%) eram machos e 14 (38,9%) fêmeas, não apresentando, também, diferenças estatísticas significativas. Cardoso et al. (2018), também avaliaram o gênero em seu estudo e, dos 7 caninos analisados 4 (57%) eram machos e 3 (43%) fêmeas. Quanto aos cinco felinos envolvidos na pesquisa, 2 (40%) machos e 3 (60%) fêmeas, não demonstrando predisposição sexual em cães e gatos com dermatofitose. Corroborando com os resultados encontrados ainda podemos citar os estudos de Neves et al. (2011), Bin et al.(2010), Palumbo et al. (2010).

Na avaliação da pelagem dos caninos 2 (50%) possuíam pelagem curta, 1 (25%) pelagem média e 1 (25%) pelagem longa. Já os felinos, 6 (85,7%)

pelagem curta e 1 (14,3%) pelagem longa. Tal resultado discorda de Balda et al. (2004), onde a espécie canina, 21 (52,5%) dos animais possuíam pelame longo e 19 (47,5%) eram de pelo curto. Corrobora quando analisada a espécie felina, onde os autores encontraram 19 (52,7%) dos felinos eram de pelame curto e 17(47,3%) de pelo longo. O trabalho de Moriello, Kunkle e Deboer (1994), demonstrou que 165 (82,5%) felinos de pelame curto e 35 (17,5%) de pelame médio a longo concordando com o resultado encontrado nesse trabalho.

No que concerne à raça, no estudo de Balda et al. (2004), dos gatos, 20(55,5%) não possuíam raça definida, 16(44,55) tinham padrão racial definido. Desses, 15(93,7%) eram da raça Persa e 1(6,3%) da raça Siamês. Quanto aos cães 10(25%) eram sem padrão racial definido e 30(75%) eram de raças definidas. Dentre esses, a maior incidência foi na raça Yorkshire 7 (23,3%). Contrariando o estudo de Balda et al. (2004), Cardoso et al. (2018), demonstrou prevalência maior em felinos sem padrão racial definido, tal fato também foi demonstrado por Palumbo et al. (2010). Nesse estudo todos os caninos e felinos analisados, não possuíam padrão racial definido.

Neste trabalho, foi avaliada a sensibilidade dos dermatófitos isolados a quatro antifúngicos, sendo eles o clotrimazol, o itraconazol, o fluconazol e o ketoconazol. Nos testes realizados com o clotrimazol 11 (39,28%) das amostras foram sensíveis, 13 (46,43%) intermediárias e 4 (14,28%) resistentes. No trabalho Khadka et al. (2017), verificou-se que 87,5% dos dermatofitos eram sensíveis ao clotrimazol. Já, quando comparado às amostras resistentes, os resultados foram semelhantes ao presente estudo. O autor obteve 12,5% das amostras resistentes. Em um trabalho realizado por Begum e Kumar (2021), ao longo de três anos, no norte da Índia, 157 amostras de dermatofitos da espécie *Trichophyton mentagrophytes* e *Microspororum canis* foram submetidas a testes de suscetibilidade aos antifúngicos. Como resultado, observou-se que o fármaco clotrimazol conferiu inibição contra os isolados

O antifúngico itraconazol apresentou baixa ação antimicrobiana, com 24 (85,71%) dos isolados resistentes, 1 (3,57%) intermediária e 3 (10,71%) sensíveis. Nossos resultados divergem daqueles obtidos por Abdelfattah, Torky e Khalil (2019), onde foram analisadas a resistência de 14 amostras de dermatófitos (*M. canis*, *N. gypseum*, *T. mentagrophytes*, *T. rubrum*) e todas foram sensíveis ao itraconazol. Outro estudo realizado por Karaca e Koç (2004)

demonstrou, por meio de testes de MIC e de difusão em discos, que este mesmo antimicótico foi efetivo contra os isolados testados, tendo gerado halos de inibição maior que as demais drogas testadas.

O agente antifúngico fluconazol, não demonstrou nenhuma efetividade nos testes *in vitro* contra os isolados testados neste estudo. Das 28 amostras avaliadas, 27 (96,43%) apresentaram resistência ao fármaco testado, somente 1 isolado (3,57%) demonstrou característica intermediária. Nossos resultados foram corroborados pelo estudo de Pakshir et al. (2009), no qual 40 amostras de diferentes espécies de dermatófitos, incluindo as avaliadas neste estudo, foram submetidas ao antifungigrama, tendo observado que 97,5% das cepas foram resistentes. Em outro estudo de Abdelfattah, Torky e Khalil (2019), todos os dermatófitos testados demonstraram resistência ao fluconazol.

Nossos resultados quanto ao fluconazol foram também corroborados por Singh, Zaman e Gupta (2007) que observaram o fluconazol com baixa ação antimicótica nos ensaios de MIC e nenhuma zona de inibição nos testes de difusão. No estudo realizado por Begum e Kumar (2021), o fluconazol também demonstrou baixa ação.

No presente estudo, o fármaco ketoconazol apresentou a maior ação antimicótica em relação aos demais fármacos testados, com 15 (53,57%) das cepas avaliadas suscetíveis, 11 (39,28%) com suscetibilidade intermediária e somente 2 (7,14%) cepas resistentes. Em um estudo realizado por Abdelfattah, Torky e Khalil (2019), todos os dermatófitos testados demonstraram sensibilidade ao ketoconazol. Já no estudo de Afshari, Shams-Ghahfarokhi e Razzaghi-Abyaneh (2016), o ketoconazol, também demonstrou boa efetividade contra os dermatófitos testados, tanto no método de MIC, quanto nos discos de difusão. Pakshir et al. (2009) também obtiveram resultados satisfatórios com o ketoconazol. Em seu estudo, das 40 amostras avaliadas 31 (77,5%) eram sensíveis ao fármaco, 4 (10%) tinham características intermediárias, e 5 (12,5%) eram resistentes.

Os índices de resistência também foram avaliados em função das espécies de dermatófitos. No que concerne ao *Microsporum canis*, podemos inferir que o fármaco que demonstrou maior sensibilidade foi o ketoconazol, onde 10 (52,63%), seguido do clotrimazol 7 (36,84%) foram os mais efetivos. O itraconazol e o fluconazol não apresentaram ação antimicótica nessa espécie.

Nos testes *in vitro*, as 19 (100%) cepas avaliadas foram resistentes a ambos os fármacos. Nos estudos de Pakshir et al. (2009) e Begum e Kumar (2021), o clotrimazol e ketoconazol tiveram ação antimicótica satisfatória contra *M. canis*, apresentando os maiores halos de inibição. No que diz respeito ao fluconazol, os autores citados anteriormente, também verificaram maiores taxas de resistência com o uso desse fármaco. De acordo com o estudo de Alim, Halim e Habib, (2017) onde foi realizado uma comparação entre MIC e os testes de difusão em discos para avaliar a suscetibilidade de dermatófitos aos antifúngicos, o fluconazol demonstrou não ser efetivo contra 45 (90%) das amostras avaliadas. Assim como o fluconazol, oitraconazol demonstrou ser inefetivo contra 40 (80%) dos isolados avaliados.

Nos testes de suscetibilidade realizados para os seis isolados de *Trichophyton mentagrophytes*, também foi observado maior suscetibilidade dos mesmos ao fármaco ketoconazol, 2 (33,33%). Os isolados demonstraram resistência ao clotrimazol 2 (33,33%), fluconazol 5 (83,33%) e itraconazol 5 (83,33%). No estudo Khatri et al. (2017), foram avaliadas 75 amostras de dermatófitos provenientes do Rajastão que foram submetidas ao antifungograma. Dentre os isolados, 31 eram pertencentes à espécie *Trichophyton mentagrophytes*, sendo 25 (80,64%) resistentes ao fluconazol, 7 (22,58%) ao clotrimazol, assemelhando assim com os resultados do presente estudo.

Destoando dos nossos resultados, Kadnur et al. (2022) submeteram a testes de antifungograma 27 isolados de *T. mentagrophytes*, tendo sido observada boa sensibilidade ao clotrimazol, com 88% das amostras susceptíveis. Já o fluconazol apresentou baixa eficiência antimicrobiana, com índice de resistência de 92%, corroborando os resultados deste trabalho. Segundo Afshari, Shams-Ghahfarokhi e Razzaghi-Abyaneh (2016), tanto no ensaio de discos de difusão quanto no MIC, o ketoconazol demonstrou ser o fármaco com maior ação antimicótica contra *T. mentagrophytes*. Já no estudo de Shalaby, El-din e El-Hamd (2016), entre 18 cepas de *T. mentagrophytes* testadas, 17 (97,4%) foram sensíveis ao clotrimazol e 18 (100%) resistentes ao fluconazol.

Quanto aos três isolados de *Nannizzia gypseum*, todos apresentaram sensibilidade aos antifúngicos clotrimazol, itraconazol e ketoconazol, mas resistentes ao fluconazol. Sendo assim, a espécie com resultado mais promissor.

No estudo de Shalaby, El-din e El-Hamd (2016), foram isoladas espécies de dermatófitos de humanos no Hospital Universitário de Sohag no Egito. Tal estudo avaliou 101 pacientes com dermatofitos e destes, 23 eram pertencentes a espécie *N. gypseum*. Nos testes de sensibilidade 22 (95,6%) das amostras eram sensíveis ao clotrimazol e todas as 23 (100%) das amostras resistentes ao fluconazol, corroborando, assim, com os resultados do presente estudo. Em outro estudo no Rajastão, cinco isolados eram *N. gypseum* e quando submetidos aos testes de sensibilidades, 2 (40%) eram resistentes ao fluconazol, e 3 (60%) tiveram suscetibilidade intermediária ao itraconazol (KHATRI et al. 2017).

Por se tratar de um dos fármacos mais utilizados para tratamento da dermatofitos em humanos e animais, esperava-se que nesse estudo o ketoconazol demonstrasse padrões mais elevados de resistência em relação aos demais fármacos avaliados. No entanto, observou-se que este fármaco foi o mais eficiente em relação aos demais, embora com uma baixa sensibilidade no geral, com apenas 53,57% das amostras avaliadas sensíveis. Brilhante et al. (2005), também obteve bons resultados usando o ketoconazol. O mesmo afirma que a CIM capaz de inibir os isolados testados variaram entre 0,125 mcg a 2 mcg. Em um estudo realizado por Fernandes-Torrez et al. (2001), foram avaliadas a suscetibilidade de 24 espécies de dermatófitos, contra 10 antifúngicos. No que concerne às amostras de *M. canis*, *N. gypseum* e *T. mentagrophytes*, todas demonstraram sensibilidade ao ketoconazol. Também no estudo realizado por Afshari, Shams-Ghahfarokhi e Razzaghi-Abyaneh (2016), onde foi feito um comparativo de MIC e testes de difusão em discos, o ketoconazol demonstrou ser o fármaco com maior ação antimicótica. Além dos estudos já mencionados outros trabalhos avaliando a sensibilidade do ketoconazol aos dermatofitos corroboram com os nossos resultados (WILDFEUER et al. 2009, PAKSHIR et al. 2009, ARAÚJO et al. 2009, ABDELFAH; TORKY; KHALIL 2019, BEGUM; KUMAR 2021).

No entanto, em discordância aos nossos resultados, Maia et al. (2001), em seus ensaios na cidade de São Paulo (Brasil), encontraram 24 (80%) dos isolados resistentes ao ketoconazol (CIM 32 mcg/ml). No estudo de Itoi et al. (2012), também se demonstrou que os dermatofitos isolados em animais apresentaram pouca sensibilidade ou ketoconazol, com MIC em torno de 16

mcg/ml. No estudo de Aktas et al. (2014) foram analisados 66 isolados de dermatofitos humanos e os mesmos testados quanto à sua sensibilidade a cinco antifúngicos. Dos 66 isolados, 33 (50%) tiveram padrão de resistência ao ketoconazol apresentando MIC de 32 mcg/ml. Segundo o estudo de Aneke et al. (2021), foram analisados a suscetibilidade antifúngica e a virulência de *M. canis* de humanos e animais. Os isolados demonstraram sensibilidade intermediária ao ketoconazol quando comparado as outras drogas utilizadas nesse estudo.

Itraconazol e o fluconazol apresentaram baixa ação antimicótica contra os isolados testados. Os mesmos demonstraram resistência ao itraconazol 24 (85,71%) das amostras e ao fluconazol em 27 (96,43%). No estudo de Maurya et al. (2019), dos isolados avaliados, 82,66% eram resistentes ao fluconazol e 66,66% resistentes ao itraconazol, resultados que se assemelham aos obtidos no presente estudo. No estudo de Amim et al. (2017), foram isolados dermatofitos de crianças portadoras de *tinea capitis*. Dos 70 isolados, 58 (82,85%) foram resistentes ao fluconazol. Recentemente Fattahi et al. (2020), relataram 4 casos humanos de dermatofitose generalizada causada por *T. mentagrophytes* multirresistentes no Irã. Estas cepas possuíam mutações pontuais no gene da esqualeno epoxidase e após a realização de MIC foi demonstrado que esse isolado era resistente ao itraconazol, fluconazol e também à terbinafina. Já no estudo de Singh et al. (2019), foram avaliados dermatofitos resistentes em um surto ocorrido na Índia. Neste estudo, os pesquisadores encontraram 39,5% de resistência ao fluconazol. Também no trabalho de Alim, Halim e Habib (2017), o itraconazol demonstrou ter 80% de ação antimicótica contra os isolados avaliados e o fluconazol 90%, endossando os resultados do presente trabalho.

De forma geral, este estudo apontou um alto índice de resistência dos isolados frente aos fármacos avaliados. O desenvolvimento de cepas resistentes pode ser atribuído principalmente ao uso indevido de antifúngicos. Os compostos azólicos são os mais utilizados no tratamento de infecções fúngicas na atualidade (MARTINEZ-ROSSI; PERES; ROSSI, 2009) e sua exposição excessiva tem sido relatada como o principal fator para o desenvolvimento de dermatofitose resistente aos azóis (DROGA; SHAW; RUDRAMURTHY, 2019). Outro ponto a ser lembrado é que os compostos azólicos atuam inibindo a síntese de ergosterol, no entanto segundo Yu et al. (2007), há relatos de

superexpressão de vários genes envolvidos na síntese do ergosterol frente a resposta aos azóis. Tal fato pode ser mais um responsável pelo desenvolvimento e manutenção da resistência a esta classe de antifúngicos.

Além do potencial zoonótico dos dermatófitos de caninos e felinos, outro ponto que deve ser destacado é que os índices de resistência entre os dermatófitos vem crescendo exponencialmente nos últimos anos, conforme apontaram os diversos estudos supracitados, corroborados pelos resultados do presente estudo. Inúmeros casos já foram relatados como o de Amim et al. (2017), que demonstraram a resistência de dermatófitos causadores de *tinea capitis* em crianças no Egito. Na Índia, Singh et al. (2019) avaliaram um surto contínuo de dermatofitose em humanos causado por cepas resistentes a terbinafina, griseofulvina e fluconazol. Hiruma et al. (2021), no seu estudo com pacientes japoneses, encontraram todas cinco cepas avaliadas resistentes à terbinafina (MIC \geq 32 mg/l). Fattahi et al. (2020), relataram casos humanos de dermatofitose generalizada causada por *T. mentagrophytes* multirresistente no Irã, com os isolados resistentes ao itraconazol, fluconazol e também à terbinafina. Além dos estudos citados, outros encontrados na literatura demonstraram esse importante padrão de resistência aos antifúngicos (LANA et al. 2018, SÜß et al. 2019, EBERT et al. 2020, DAS et al. 2020). Tais estudos desmontaram que a dermatofitose vem se tornando um problema alarmante e de grande importância na saúde pública.

Dessa maneira, fazem-se necessários estudos epidemiológicos periódicos para prevalência da dermatofitose entre os animais de companhia e seres humanos, salientando-se, também, a necessidade de monitoramento do perfil de suscetibilidade dos agentes envolvidos nesta enfermidade aos antimicrobianos utilizados para o tratamento dos casos em seres humanos e nos animais. Vale ressaltar também que medidas socioeducativas e higiênicas sanitárias devem ser adotadas para prevenir e evitar disseminação da doença entre os animais e também entre os seres humanos, permitindo, assim, promoção da saúde única.

7 CONCLUSÕES

No presente estudo constatou-se uma baixa prevalência de dermatófitos em caninos e felinos assintomáticos do Abrigo Municipal de Varginha-MG. No entanto não foi possível fazer inferências em relação a parâmetros de idade, raça, gênero, comprimento de pelame, pois, a quantidade de isolados foi baixa, não permitindo fazer afirmações fidedignas. No que condiz a avaliação dos animais sintomáticos, a mesma não foi possibilitada neste estudo, devido à quantidade insuficiente de animais sintomáticos no local.

O único dermatófito isolado nesse estudo foi *Microsporium canis*, assim como em inúmeros outros trabalhos listados na literatura. Os testes de suscetibilidade apontaram altos índices de resistência dos isolados frente aos fármacos avaliados onde, o ketoconazol demonstrou ser o fármaco mais eficiente na população estudada. Já o fluconazol e o itraconazol, foram os menos eficientes.

REFERÊNCIAS

- ABDELFATTAH, A.M.; TORKY, H.A.; KHALIL, S.A. Susceptibility of fungi infect animals to antimycotics in Alexandria city. **Alexandria Journal of Veterinary Sciences**, v. 63, n. 2, p. 104-112, 2019.
- AFSHARI, M.A.; SHAMS-GHAHFAROKHI, M.; RAZZAGHI-ABYANEH, M. Antifungal susceptibility and virulence factors of clinically isolated dermatophytes in Tehran, Iran. **Iranian Journal of Microbiology**, v. 8, n. , p. 36-46, 2016.
- AKTAS, A.E.; YIGIT, N.; AKTAS, A.; GOZUBUYUK, S.G. Investigation of *In Vitro* activity of five antifungal drugs against dermatophytes species isolated from clinical samples using the e-test method. **The Eurasian Journal of Medicine**, v.46, p. 26-31, 2014.
- ALIM, M.A.E.; HALIM, R.M.A.; HABIB, S.A. Comparison of broth micro dilution and disk diffusion methods for susceptibility testing of dermatophytes. **The Egyptian Journal of Hospital Medicine**, v. 69, n.2, p. 1923-1930, 2017.
- ALPUN, G.; OZGUR, N.Y. Mycological examination of *Microsporum canis* infection in suspected dermatophytosis of owned and ownerless cats and its asymptomatic carriage. **Journal of animal and Veterinary Advances**, v.8, p.803-806, 2009.
- AMAKU, M.; DIAS, R.A.; FERREIRA, F. Dinâmica populacional canina: potenciais efeitos de campanhas de esterilização. **Revista Panamericana de Salud Pública**, v. 25, p. 300-304, 2009.
- AMIN, M. E.; AZAB, M. M.; HANORA, A. M.; ABDALLA, S. Antifungal activity of silver nanoparticles on fluconazole resistant dermatophytes identified by (GACA)₄ and isolated from primary school children suffering from Tinea Capitis in Ismailia – Egypt. **Cellular and Molecular Biology**, v.63, n.11, p. 63–67, 2017.
- ANDRADE, V.; ROSSI, A.M. Dermatofitose em animais de companhia e sua importância para a Saúde Pública – Revisão de Literatura. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal.**, v.13, n.1, p.142-155, 2019.
- ANEKE, C.I.; RHIMI, W.; HUBKA, V.; OTRANTO, D.; CAFARCHIA, C. Virulence and antifungal susceptibility of *Microsporum canis* strains from animals and humans. **Antibiotics**, v.10, 2021.
- ARAÚJO, C.R.; MIRANDA, K.C.; FERNANDES, O.F.L.; SOARES, A.J.; SILVA, M.R.R. *In vitro* susceptibility testing of dermatophytes isolated in Goiania, Brazil, against five antifungal agents by broth microdilution method.

Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo, v. 51, p.9-12, 2009.

ATZORI, L.; ASTE, N.; ASTE, N.; PAU, M. Tinea faciei due to *Microsporium canis* in children: A survey of 46 cases in the district of Cagliari (Italy).

Pediatric Dermatology, v. 29, p. 409-413, 2012.

BALDA, A.C.; LARSSON, C.E.; OTSUKA, M.; GAMBALE, W. Estudo retrospectivo de casuística das dermatofitoses em cães e gatos atendidos no Serviço de Dermatologia da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 32 p. 133-140, 2004.

BALDA, A.C.; OTSUKA, M.; LARSSON, C.E. Ensaio clínico da griseofulvina e da terbinafina na terapia das dermatofitoses em cães e gatos. **Ciência Rural**, v. 37, n. 3, p. 750-754, 2007.

BALDA, A.C.; SANTANA, A.E. Dermatofitose. In: LARSSON, C.E; LUCAS, R. **Tratado de medicina externa: dermatologia veterinária**. 2.ed. São Paulo: Editora Interbook, 2020. 253p.

BARBIERI, L.S.; TAVARES, M.H.B.; OLIVEIRA, T.S.; MOURA, R.T.D. Levantamento de zoonoses em comunidades carentes circunvizinhas à Universidade Federal Rural De Pernambuco, Recife, PE. **Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia do CRMV-SP**, v. 15, n. 1, p. 72-72, 2017.

BEBER, M.C.; BREUNIG, J.A. Prurido em região frontal da cabeça. **Revista de Epidemiologia e Controle de Infecção**, v. 2, n. 1, p. 24-25. 2012

BEGUM, J.; KUMAR, R. Prevalence of dermatophytosis in animals and antifungal susceptibility testing of isolated *Trichophyton* and *Microsporium* species. **Tropical Animal Health and Production**, v. 53, 2021.

BIER, D; FARIAS, M.R.; MURO, M.D.; SONI, L.M.F.; CARVALHO, V.O.; PIMPÃO, C.T. Isolamento de dermatófitos de pelo de cães e gatos pertencentes a proprietários com diagnóstico de dermatofitose. **Archives of Veterinary Science**, v.18, n.1, p.1-8, 2013.

BIN, L.L.C.; GOMES, J.; BRÁZ, S.A.; GIUFFRIDA, R. Comparação de métodos diagnósticos para dermatofitose em animais de companhia. **Colloquium Agrariae**, v. 6, n.2, p. 46-51, 2010.

BORBA, L.A. **Coloração de esporos em pelos na dermatofitose e comparação de técnicas de diagnóstico**. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) Universidade Federal do Paraná, Curitiba. 2010.

BOYANOWSKI, K.J.; IHRKE, P.J.; MORIELLO, K.A.; KASS, P.H. Isolation of fungal flora from the hair coats of shelter cats in the Pacific coastal USA. **Veterinary Dermatology**, v.11, p.143-150, 2000.

BRILHANTE, R. S. N.; CORREIA, E. E. M.; GUEDES, G. M. M.; PEREIRA, V. S.; OLIVEIRA, J. S.; BANDEIRA, S. P. et al. Quantitative and structural analyses of the *in vitro* and *ex vivo* biofilm-forming ability of dermatophytes. **Journal of Medical Microbiology**, v.66, p.1045-1052, 2017.

BRILHANTE, R.S.N.; CORDEIRO, R.A; MEDRANO, D.J.A.; MONTEIRO, A.J.; SIDRIM, J.J.C; ROCHA, M.F.G. Antifungal susceptibility and genotypical pattern of *Microsporum canis* strains. **Canadian Journal of Microbiology**, v.51, n.6, p. 507-510, 2005.

BROW, G.D.; DENNING, D.W.; GOW, N.A.R.; LEVITZ, S.M.; NETEA, M.G.; WHITW, T.C. Hidden killers: Human fungal infections. **Science Translational Medicine**, v. 10, 2012.

BUDGIN, J.B. Feline dermatophytosis: an update on diagnosis and treatment. **Full circle fórum**. v.1, n.7, 2011.

BURKHART, C.N.; BURKHART, C.G.; GUPTA, A.K. Dermatophytoma: recalcitrance to treatment because of existence of fungal biofilm. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 47, p.629–631, 2002.

CABAÑES, F.J.; ABARCA, M.L.; BRAGULAT, M.R. Dermatophytes isolated from domestic animals in Barcelona, Spain. **Mycopathologia**, vol. 137, pag.107-113, 1997.

CAFARCHIA, C.; GASSER, R.B.; FIGUEREDO, L.A, WEIGL, S.; DANESI, P.; CAPELLI, G.; OTRANTO, D. An improved molecular diagnostic assay for canine and feline dermatophytosis. **Medical Mycology**, v.51, p. 136-143, 2013.

CAFARCHIA, C.; ROMITO, D.; CAPELLI, G.; GUILLOT, J.; OTRANTO, D. Isolation of *Microsporum canis* from the coat of pet dogs and cats belonging to owners diagnosed with *M. canis* tinea corporis. **Veterinary Dermatology**, Oxford, v. 17, n. 5, p. 327-331, 2006.

CAFARCHIA, C.; ROMITO, D.; SASANELLI, M.; LIA, R.; CAPELLI, G.; OTRANTO, D. The epidemiology of canine and feline dermatophytoses in southern Italy. **Mycoses**, vol.47, pag. 508-513, 2004.

CARDOSO, M.C.; MUNHOZ, R.E.; MOLON, I.L.; LEMOS, M.C. Estudo retrospectivo da casuística de dermatofitose em cães e gatos na Serra Gaúcha – RS. **Medvep Dermato - Revista de Educação Continuada em Dermatologia e Alergologia Veterinária**, v.5, p.16-20, 2018.

CARLOTTI D.N. & BENSIGNOR E. Dermatophytosis due to *Microsporum persicolor* (13 cases) or *Microsporum gypseum* (20 cases) in dogs. **Veterinary Dermatology**. v.10. p. 17-27, 2002.

CERUNDOLO, R. Generalized *Microsporum canis* dermatophytosis in six Yorkshire terrier dogs. **Veterinary Dermatology**, v. 15, p. 181-187, 2004.

CERVELATTI, E.P.; FACHIN, A.L.; FERREIRA-NOZOWA, M.S.; MARTINEZ-ROSSI, N.M. Molecular cloning and characterization of a novel ABC transporter gene in the human pathogen *Trichophyton rubrum*. **Medical Mycology**, v.44, p. 141-147, 2006.

CHENGAPPA, M.M.; POHLMAN, L.M. Dermatofitos. In: MCVEY, D.S.; KENNEDY, M.; CHENGAPPA, M.M. **Microbiologia Veterinária**. 3ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2016, 482p.

CHERMETTE, R.; FERREIRO, L.; GUILLOT, J. Dermatophytoses in animals. **Mycopathologia**, v. 166, n. 5-6, p. 385-405, 2008.

COELHO, J.L.G.; SARAIVA, E.M.S.; MENDES, R.C.; SANTANA, W.J. Dermatofito: resistência a antifúngicos. **Brazilian Journal of Development**, v.6, n.10, p.74675-74686, 2020.

CORNEGLIANI L., PERSICO P. & COLOMBO S. Canine nodular dermatophytosis (kerion): 23 cases. **Veterinary Dermatology**. v.20 p. 185-190, 2009.

COSTA, F. V. A. **Determinação da variabilidade genotípica entre isolados de *Microsporum canis***. Tese (Doutorado em Veterinária) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre. 2010.

COSTA-ORLANDO, C.B.; SARDI, J.C.O.; SANTOS, C.T.; FUSCO-ALMEIDA, A.M.; MENDES-GIANNINI, M.J.S. In vitro characterization of *Trichophyton rubrum* and *T. mentagrophytes* biofilms. **Biofouling - The Journal of Bioadhesion and Biofilm Research**, v.30, p.719-727, 2014.

DABROWSKA, I.; DWORECKA-KASZAK, B.; BRILLOWSKA-DABROWSKA, A. The use of a one-step PCR method for the identification of *Microsporum canis* and *Trichophyton mentagrophytes* infection of pets. **Acta Biochimica Polonica**, v.61, n. 2, p. 375– 378. 2014.

DAS, S.; DATT, S.; DAR, S.; BHATTACHARYA, S.; PANDHI, D. Assessment of in vitro antifungal susceptibility pattern of dermatophytes isolated from patients with onychomycosis attending a tertiary care hospital of East Delhi. **Indian Journal of Dermatology, Venereology and Leprology**, v.86, ed.3, p. 301-304, 2020.

DE HOOG, G.S.; DUKIK, K.; MONOD, M.; PACKEU, A.; STUBBE, D.; HENDRICKX, M.; KUPSCH, C.; STIELOW, B.; FREEKE, J.; GOKER, M.; REZAEI-MATEHKOLAEI, A.; MIRHENDI.; GRASER, Y. Toward a novel multilocus phylogenetic taxonomy for the dermatophytes. **Mycopathologia**, vol. 182, pag. 5-31, 2017.

DE TAR, L.G; DUBROVSKY, V.; SCARLETT, J.M. Descriptive epidemiology and test characteristics of cats diagnosed with *Microsporium canis* dermatophytosis in a Northwestern US animal shelter. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, v.21, 2019.

DEBOER, D.J.; MORIELLO, K.A. Development of an experimental model of *Microsporium canis* infection in cats. *Veterinary Microbiology*, v. 42, n. 4, pag. 289-295, 1994a.

DEBOER, D.J.; MORIELLO, K.A. The immune response to *Microsporium canis* induced by a fungal cell wall vaccine. **Veterinary Dermatology**, v.5, p.47-55, 1994b.

DEBOER, D.J.; MORIELLO, K.A.; BLUM, J.L.; VOLK, L.M.; BREDAHL, L.K. Safety and immunologic effects after inoculation of inactivated and combined live-inactivated dermatophytosis vaccines in cats. **American Journal of Veterinary Research**, v.63, ed.11, p.1532-1537, 2002.

DEGREEF H. Clinical Forms of Dermatophytosis (Ringworm Infection). **Mycopathologia**. v. 166, 2008.

DOGRA, S.; SHAW, D.; RUDRAMURTHY, S.M. Antifungal drug susceptibility testing of dermatophytes: Laboratory findings to clinical implications. **Indian Dermatology Online Journal**, v. 10, p. 225-233, 2019.

EBERT, A. et al. Alarming India-wide phenomenon of antifungal resistance in dermatophytes: A multicentre study. **Mycoses**, v. 63, p. 717– 728, 2020.

EL-AWADY, R.; SALEH, E.; HASHIM, A.; SOLIMAN, N.; DALLAH, A.; ELRASHEED, A.; ELAKRAA, G. The role of eukaryotic and prokaryotic ABC transporter family in failure of chemotherapy. **Frontiers in Microbiology**, v.7, 2017.

ESPINEL-INGROFF, A. Standardized disk diffusion method for yeasts. **Clinical Microbiology Newsletter**, v. 29, p.97-100, 2007.

FARIAS, M.R.F.; CONDAS, L.A.Z.; RAMALHO, F.; BIER, D.; MURO, M.D.; PIMPÃO, C.T. Avaliação do estado de carreador assintomático de fungos dermatofíticos em felinos (*Felis Catus*– linnaeus, 1793) destinados à doação em centros de controle de zoonoses e sociedades protetoras de animais. **Veterinária e Zootecnia**, v.18, pag. 306-312, 2011.

FATTAHI, A.; SHIRVANI, F.; AYATOLLAHI, A.; REZAEI-MATEHKOLAEI, A.; BADALI, H.; LOTFALI, E.; GHASEMI, R.; POURPAK, Z.; FIROOZ, A. Multidrug-resistant Trichophyton mentagrophytes genotype VIII in an Iranian family with generalized dermatophytosis: report of four cases and review of literature. **International Journal of Dermatology**, v.60, p.686-692, 2021.

FERNANDEZ-TORRES, B.; CARRILLO, A.J.; MARTIN, E.; DEL PALÁCIO, A.; MOORE, M.K.; VALDERDE, A.; SERRANO, M.; GUARRO, J. *In vitro*

activities of 10 antifungal drugs against 508 dermatophytes strains. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v.45, n.9, p. 2524–2528, 2001.

FERREIRA, R.R.; MACHADO, M.L.S.; SPANAMBERG, A.; FERREIRO, L. Querion causado por *Microsporum gypseum* em um cão. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.34 n.2. p. 179-182, 2006.

GAMBALE, W.; LARSSON C.E.; MORITAMI, M.M.; CORRÊA, B.; PAULA, C.R. Dermatophytes and other fungi of the haircoat of cats without dematophytosis in the city of Sao Paulo, Brazil. **Feline Practice**, v. 21, pag. 29-33, 1993.

GOMES, A. R.; MADRID, I. M.; MATOS, C. B.; TELLES, A. J.; WALLER, S. B.; NOBRE, M. O.; MEIRELES, M. C. A. Dermatopatias fúngicas: aspectos clínicos, diagnósticos e terapêuticos. **Acta Veterinaria Brasilica**, v.6, n.4, p. 272-284, 2012.

GOMES, J.M.F. **Caracterização dos dermatófitos e leveduras isolados de lesões sugestivas de dermatomicoses em cães**. Dissertação (Mestrado em medicina veterinária) - Universidade Estadual do Ceara, Fortaleza, 2004.

GONDIM, A.L.C.L.; ARAÚJO, A.K.L. Aspectos clínicos, diagnósticos e terapêuticos da dermatofitose em cães e gatos e sua importância como zoonose. **Revista Brasileira de Educação e Saúde**, v. 10, n.1, p. 86-94, jan-mar, 2020.

GORDON, E.; IDLE, A.; DE TAR, L. Descriptive epidemiology of companion animal dermatophytosis in a Canadian Pacific Northwest animal shelter system. **The Canadian Veterinary Journal**, v.61, p. 763-770, 2020.

GUILLOT, J.; LATIÉ, L.; DEVILLE, M.; HALOS, L.; CHERMETTE, R. Evaluation of the dermatophyte test medium RapidVet-D. **Veterinary Dermatology**. v.12. pag.123-127, 2001.

GUPTA, A.K.; DAIGLE, D.; CARVIEL, J.L. The role of biofilms in onychomycosis. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v.74, p.1241-1246, 2016.

HAYES, J. D.; WOLF, C.R. Molecular mechanisms of drug resistance. **Biochemical Journal**, v. 272, p.281-295, 1990.

HIRUMA, J.; NOGUCHI, H.; HASE, M.; TOKUHISA, Y.; SHIMIZU, T.; OGAWA, T.; HIRUMA, M.; HARADA, K.; KANO, R. Epidemiological study of terbinafine-resistant dermatophytes isolated from Japanese patients. **The Journal of. Dermatology**, v. 48, p. 564-567, 2021.

HSIAO, Y.H.; CHEN, C.; HAN, H. S.; KANO, R. The first report of terbinafine resistance *Microsporum canis* from a cat. **Journal of Veterinary Medical Science**, p.898–900, 2018.

ITOI, S.; KANO, R.; HASEGAWA, A.; KAMATA, H. In Vitro Activities of Antifungal Agents against Clinical Isolates of Dermatophytes from Animals. **Journal of Veterinary Medical Science**, v. 74, p. 1067-1069, 2012.

JESSUP, C. J.; WARNER, J.; ISHAM, N.; HASAN, I.; GHANNOUM, M.A. Antifungal Susceptibility Testing of Dermatophytes: Establishing a Medium for Inducing Conidial Growth and Evaluation of Susceptibility of Clinical Isolates. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 38, n.1, p.341-344, 2000.

JÚNIOR, D.P.L. **Dermatomicoses ocupacionais: determinação dos agentes etiológicos e avaliação dos fatores de risco em militares da cidade de Cuiabá/MT – Brasil**. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) - Universidade Federal do Mato Grosso, Cuiabá, 2010.

KADNUR, M.; JARTARKAR, S.R.; NARAYANASWAMY, G.; KUMAR, A.S.M.; ARORA, S.; BALAKRISHNAN, T. A clinico-mycological study of dermatophytoses and their in-vitro sensitivity to antifungal drugs. **Indian Journal of Dermatopathology and Diagnostic Dermatology**, v. 9, p. 54-58, 2022.

KANO, R.; EDAMURA, K.; YUMIKURA, H.; MARUYAMA, H.; ASANO, K.; TANAKA, S.; HASEGAWA, A. Confirmed case of feline mycetoma due to *Microsporum canis*. **Mycoses**, v.52, p.80– 83. 2009.

KARACA, N.; KOÇ, A.N. In vitro susceptibility testing of dermatophytes: comparison of disk diffusion and reference broth dilution methods, **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, v.48, p. 259-264, 2004.

KHADKA, S.; SHERCHAND, J.B; POKHREL, B.M.; DHITAL, S.; MANJHI, R.; RIJAL, B. Antifungal susceptibility testing of dermatophytes by agar based disk diffusion assay in Tertiary Care Hospital, Nepal. **Microbiology Research Journal International**, v.19, n. 2, p.1-5, 2017.

KHATRI, P.K.; KACHHAWA, D.; MAURYA, V.; MEENA, S.; BORA, A.; RATHORE, L.; SEERVI, K.L.; KHULLAR, S. Antifungal resistance pattern among dermatophytes in western Rajasthan. **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**, v. 6, n.7. p. 499-509, 2017.

KHURANA, A.; SARDANA, K.; CHOWDHARY, A. Antifungal resistance in dermatophytes: Recent trends and therapeutic implications. **Fungal Genetics and Biology**, v.132, 2019.

KIM, S.; JO, I.H; KANG, J.; JOO, S.Y.; CHOI, J. Dermatophyte abscesses caused by *Trichophyton rubrum* in a patient without pre-existing superficial dermatophytosis: a case report. **BMC Infectious Diseases**, v. 16, n. 1, pag. 298, 2016.

LANA, A. J. D.; PIPPI, B.; CARVALHO, A.R.; MORAES, R.C.; KAISER, S.; ORTEGA, G.G.; FUENTEFRIA, A.M.; SILVEIRA, G.P. *In Vitro* additive effect on griseofulvin and terbinafine combinations against multidrug-resistant

dermatophytes. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences** v. 54, n. 2, 2018.

LUI, J.F.; TONIOLLO, G.H.; SAVI, P.A.P.; VOORWALD, F.A.; SILVA, M.A.M.; TOSTA, P.A. Esterilização cirúrgica de caninos e felinos em Jaboticabal: interação entre o benefício social e a pesquisa científica. **Revista Ciência em Extensão**, v.7, n.2, p. 29-40, 2011.

MACHADO, R.C.S.N.; CRUZ, F.A.C.S.; LIMA, S.R.; TORRES, M.M.; DUTRA, V.; SOUSA, V.R.F. Retrospectiva das dermatofitoses em cães e gatos atendidos no Hospital Veterinário da Universidade Federal de Mato Grosso, nos anos de 2006 a 2008. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.41, n.8, p.1405-1410, 2011.

MACIEL, A.S.; VIANA, J.A. Dermatofitose em cães e gatos - primeira parte. **Revista Clínica Veterinária**, v.56, p.48-56, 2005.

MADRID, I. M.; MATTEI, A. S. Dermatofitose. **Manual de Zoonoses - Programa de Zoonoses Região Sul**, 1ª ed., v.2, p. 37, 2011.

MAIA, M.L.S.; DOS SANTOS, J.I.; VIANI, F.C.; LARSSON, C.E.; PAULA, C.R.; GAMBALE, W. Phenotypic characterization of *Microsporum canis* – Isolated from cats and dogs. **Mycoses**, v.44, p. 480–486, 2001.

MARTINEZ-ROSSI, N.M.; BITENCOURT, T.A.; PERES, N.T.A.; LANG, E.A.S; GOMES, E.V.; QUARESEMIN, N.R.; MARTINS, M.P.; LOPES, L.; ROSSI, A. Dermatophyte resistance to antifungal drugs: mechanisms and prospectus. **Frontiers in Microbiology**, v.9, 2018.

MARTINEZ-ROSSI, N.M.; PERES, N.T.A.; ROSSI, A. Antifungal resistance mechanisms in dermatophytes. **Mycopathologia**, v.166, 2008.

MAURYA, V.K.; KACHHWAHA, D.; BORA, A.; KHATRI, P.K.; RATHORE, L. Determination of antifungal minimum inhibitory concentration and its clinical correlation among treatment failure cases of dermatophytosis. **Journal of Family Medicine and Primary Care**, v.8, p.2577-2581, 2019.

MIHALI, C.V.; BURUIANA, A.; & TURCUS, V.; COVACI, A.; ARDELEAN, A. Comparative studies of morphology and ultrastructure in two common species of dermatophytes: *Microsporum canis* and *Microsporum gypseum*. **Annals of the Romanian Society for Cell Biology**, ed. 1, vol. 17. 2012.

MIHAYLOV, G.; PETROV, V.; ZHELEV, G. Comparative investigation on several protocols for treatment of dermatophytosis in pets. **Trakia Journal of Sciences**, v.6, p.102– 105, 2008.

MILLER, W.H.; GIFFIN, C.E.; CAMPBELL, K.L. **Miller & Kirk's Small animal dermatology**. 7.ed. St. Louis: Elsevier, 938p, 2013.

MORIELLO, K. A. Feline dermatophytosis: Aspects pertinent to disease management in single and multiple cat situations. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, v.16, n.5, p.419-431, 2014.

MORIELLO, K. A. Treatment of dermatophytosis in dogs and cats: review of published studies. **Veterinary Dermatology**, v. 15, p. 99-107, 2004.

MORIELLO, K. Dermatophytosis in cats and dogs: a practical guide to diagnosis and treatment. **In Practice**, vol.41, pag.138-147, 2019.

MORIELLO, K.; KUNKLE, G.; DEBOER, D. Isolation of dermatophytes from the haircoats of stray cats from selected animal shelters in two different geographic regions in the United States, **Veterinary Dermatology**, v. 5, n. 2, p. 57-62, 1994.

MORIELLO, K.A. Diagnostic techniques for dermatophytosis. **Clinical Techniques in Small Animal Practice**, v.16, p. 219-224, 2001.

MORIELLO, K.A.; COYNER, K.; PATERSON, S.; MIGNON, B. Diagnosis and treatment of dermatophytosis in dogs and cats. Clinical Consensus Guidelines of the World Association for Veterinary Dermatology. **Veterinary Dermatology**, v. 28, n. 3, p. 266-268, 2017.

MORIELLO, K.A.; DEBOER, D. Dermatofitose. In: GREENE, C. E. **Doenças Infecciosas em Cães e Gatos**. 4ª ed. Grupo Gen - Editora Roca, 2015, 1404p.

MORIELLO, K.A.; DEBOER, D.J. Infecções fúngicas cutâneas. In: GREENE, C.E. **Doenças infecciosas em cães e gatos**. 4.ed. Rio de Janeiro: Editora Roca, 2015. 1294p.

MORIELLO, K.A.; NEWBURY, S. Recommendations for the management and treatment of dermatophytosis in animal shelters. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v. 36, p. 89-114, 2006.

MORROW, L.D. Management of feline dermatophytosis in the rescue shelter environment. **Companion animal**, v.21, n.11, 2016.

MURMU, S.; DEBNATH, C.; PRAMANIK, A.K; MITRA, T.; JANA, S.; DEY, S.; BANERJEE, S.; BATABYAL, K. Detection and characterization of zoonotic dermatophytes from dogs and cats in and around Kolkata. **Veterinary World**, vol.8, pag.1078-1082, 2015.

NARDONI S, FRANCESCHI A, MANCIANTI F. Identification of *Microsporum canis* from dermatophytic pseudomycetoma in paraffin-embedded veterinary specimens using a common PCR protocol. **Mycoses**, v.50, p.215 - 217, 2007.

NCCLS. Método de Referência para Testes de Diluição em Caldo para a Determinação da Sensibilidade a Terapia Antifúngica das Leveduras; Norma Aprovada—Segunda Edição. Norma M27-A2 do NCCLS (ISBN 1-

56238-469-4). NCCLS, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898 Estados Unidos, 2002.

NEUBER, A.; NUTTALL, T. **Diagnostic techniques in veterinary dermatology**. p.81-104, 2017.

NEVES, J.J.A.; PAULINO, A.O.; VIEIRA, R.G.; NISHIDA, E.K.; COUTINHO, S.D.A. The presence of dermatophytes in infected pets and their household environment. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 70, n. 6, p. 1747-1753, 2018.

NEVES, R.C.S.M.; CRUZ, F.A.C.S.; LIMA, S.R.; TORRES, M.M.; DUTRA, V.; SOUZA, V.R.F. Retrospectiva das dermatofitoses em cães e gatos atendidos no Hospital Veterinário da Universidade Federal de Mato Grosso, nos anos de 2006 a 2008. **Ciência Rural**, v. 41, n. 8, p. 1405- 1410, 2011.

NEWBURY, S.; MORIELLO, K.A. Feline dermatophytosis: Steps for investigation of a suspected shelter outbreak. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, v. 16, n.5, pag. 407-418, 2014.

NITTA, C. Y.; DANIEL, A.G.T.; TABORDA, C.P.; SANTANA, A.E.; LARSSON, C.E. Isolation of dermatophytes from the hair coat of healthy persian cats without skin lesions from commercial catteries located in São Paulo metropolitan area, Brazil. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 44 p. 1-7, 2016.

NWEZE, E.I. Dermatophytoses in domesticated animals. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 53, n. 2, p. 94-99, 2011.

OLIVEIRA, L.M.B.; PINHEIRO, A.Q.; MACEDO, I.T.; SILVA, I.N.G.; MOREIRA, O.C.; SILVA, B.W.L.; ALENCAR, E.C.; LEITE, J.J.G. Dermatofitose canina causada pelo fungo antropofílico *Trichophyton tonsurans* - Relato de caso. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal**, v. 9, n. 1, p. 91-98, 2015.

PAKSHIR, K.; BAHAEINIE, L.; REZAEI, Z.; SODAIFI, M.; ZOMORODIAM, K. In vitro activity of six antifungal drugs against clinically important dermatophytes. **Jundishapur Journal of Microbiology**, v. 2, n.4, p. 158-163, 2009.

PALUMBO, M.I.P.; MACHADO, L.H.A.; PAES, A.C.; MANGIA, S.H.; MOTTA, R.G. Estudo epidemiológico das dermatofitoses em cães e gatos atendidos no serviço de dermatologia da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da UNESP – Botucatu. **Ciências Agrárias**, v. 31, n. 2, p. 459-468, 2010.

PATEL, A.; FORSYTHE, P. **Dermatologia em Pequenos Animais**. 1ª ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2010, 379p.

PERES, N.T.A.; ROSSI, A.; MARANHÃO, F.C.A.; MARTINEZ-ROSSI, N.M. Dermatofitos: interação patógeno-hospedeiro e resistência a antifúngicos. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 85, n. 5, p. 657-667, 2010.

PETERS, J.; SCOTT, D.W.; ERB, H.N.; MILLER, W.H.JR. Comparative analysis of canine dermatophytosis and superficial pemphigus for the prevalence of dermatophytes and acantholytic keratinocytes: a histopathological and clinical retrospective study. **Veterinary Dermatology**, v.18: p.234-240. 2007.

PINHEIRO, A.Q.; MOREIRA, J.L.B.; SIDRIM, J.J.C. Dermatofitoses no meio urbano e a coexistência do homem com cães e gatos. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 30, n. 4, p. 287-294, 1997.

PIRES, C.A.A.; LOBATO, A.M.; CARNEIRO, F.R.O.; CRUZ, N.F.S.; SOUSA, P.O.; MENDES, A.M.D. Clinical, epidemiological, and therapeutic profile of dermatophytosis. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 89, n. 2, p. 259-264, 2014.

POLAK, K.C; LEVY, J.K.; CRAWFORD, P.C.; LEUTENEGGER, C.M.; MORIELLO, K.A. Infectious diseases in large-scale cat hoarding investigations. **The Veterinary Journal**, v. 201, p. 189-195, 2014.

QUINN, P. J.; MARKEY, B.K.; CARTER, M.E.; DONNELLY, W.J.C.; LEONARD, F.C.; MAGUIRE, D. **Microbiologia veterinária e doenças infecciosas**. Porto Alegre: Editora Artmed, 2005.

RAMADINHA, R.R.; REIS, R.K.; CAMPOS, S.G.; RIBEIRO, S.S.; PEIXOTO, P.V. Lufenuron no tratamento da dermatofitose em cães e gatos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.30, n.2, p.132-138, 2010.

REIS-GOMES, A.; MADRID, I.M.; MATOS, C.B.; TELLES, A.J.; WALTER, S.B; NOBRE, M.O; MEIRELES, M.C.A. Dermatopatias fúngicas: aspectos clínicos, diagnósticos e terapêuticos. **Acta Veterinaria Brasilica**, v. 6, n. 4, p. 272-284, 2012.

ROBBINS, N.; CAPLAN, T.; COWEN, L.E. Molecular evolution of antifungal drug resistance. **Annual Review of Microbiology**. p.53-75, 2017.

ROEHE, C. Gatos portadores de dermatofitos na região sul metropolitana de Porto Alegre - RS, Brasil - f. Dissertação (Mestrado em medicina veterinária) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2014.

ROMANO, C.; VALENTI, L.; BARBARA, R. Dermatophytes isolated from asymptomatic stray cats. **Mycoses**, v.40, p. 471-472, 1997.

ROSA JUNIOR, A.D.; ARAÚJO, M.D.; AÑAÑA, D.C.; BATISTA, M.; ACOSTA, G.S.; GUTERRES, K.A.; ATHAIDE, C.; STELMAKE, L.L.; CLEFF, M.B. Medicina veterinária na promoção da saúde humana e animal: ações

em comunidades carentes como estratégias de enfrentamento da desigualdade social. **Revista Ciência em Extensão**, v. 8, n. 3, p. 278-283, 2012.

ROSSI, C.N.; ZANETTE, M.F. Dermatofitose em cães. In: COSTA, M.T.; DAGNONE, A.S. **Doenças Infecciosas na Rotina de Cães e Gatos no Brasil**. 1ª ed. Curitiba: Medvep, 2018, 303p.

ROUZAUD, C.; HAY, R.; CHOSIDOW, O.; DUPIN, N.; PUEL, A.; LORTHOLARY, O.; LANTERNIER, F. Severe dermatophytosis and acquired or innate immunodeficiency: a review. **Journal of Fungi**, v. 2, n. 1, pag. 4, 2015.

SCOTT, D. W., MILLER, W. H., & GRIFFIN, C. E. Muller & Kirk's – **Small Animal Dermatology**. 6.ed. California: Saunders, 2001.

SCOTT, D.W.; PARADIS, M. A survey of canine and feline skin disorders seen in a university practice: Small Animal Clinic, University of Montréal, Saint-Hyacinthe, Québec (1987–1988). **Can Vet J**, vol. 31, 1990.

SHALABY, M.F.; EL-DIN, A.N.; EL-HAMD, M.A. Isolation, identification, and in vitro antifungal susceptibility testing of dermatophytes from clinical samples at sohag university hospital in Egypt. **Electron Physician**, v. 8, n.6, p. 2557-2567, 2016.

SIDRIM, J.J.C.; MEIRELES, T.E.F.; OLIVEIRA, L.M.P.; DIÓGENES, M.J.N. Aspectos clinicolaboratoriais das dermatofitoses. In: SIDRIM, J.J.C.; ROCHA, M.F.G. **Micologia médica à luz de autores contemporâneos**. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan, 2004.

SILVA, S.F.; TEIXEIRA, C.; MACHADO, S.; MARQUES, L. Kérion celsi: uma complicação rara da Tinea capitis. **Nascer e Crescer**, v. 26, n. 2, p. 126- 128, 2017.

SINGH, A.; MASIH, A.; MONROY-NIETO, J.; SINGH, P.K.; BOWERS, J.; TRAVIS, J.; KHURANA, A.; ENGELTHALER, D.M.; MEIS, J.F.; CHOWDHARY, A. A unique multidrug-resistant clonal *Trichophyton* population distinct from *Trichophyton mentagrophytes/Trichophyton interdigitale* complex causing an ongoing alarming dermatophytosis outbreak in India: Genomic insights and resistance profile. **Fungal Genetics and Biology**, v.133, 2019.

SINGH, A.; MASIH, A.; MONROY-NIETO, J.; SINGH, P.K.; BOWERS, J.; TRAVIS, J.; KHURANA, A.; ENGELTHALER, D.M.; MEIS, J.F.; CHOWDHARY, A. A unique multidrug-resistant clonal *Trichophyton* population distinct from *Trichophyton mentagrophytes/Trichophyton interdigitale* complex causing an ongoing alarming dermatophytosis outbreak in India: Genomic insights and resistance profile. **Fungal Genetics and Biology**, v.133, 2019.

SINGH, J.; ZAMAN, M.; GUPTA, A.K. Evaluation of microdilution and disk diffusion methods for antifungal susceptibility testing of dermatophytes, **Medical Mycology**, v. 45, p. 595-602, 2007.

SÜß, A.; UHRLAß, S.; LUDES, A.; VERMA, S.B.; MONOD, M.; KRUGER, C.; NENOFF, P. Extensive tinea corporis due to a terbinafine-resistant *Trichophyton mentagrophytes* isolate of the Indian genotype in a young infant from Bahrain in Germany. **Der Hautarzt**, v. 70, p. 888-896, 2019.

TAPLIN, D.; ALLEN, A.M.; MERTZ, P.M. Experience with a new indicator medium for the isolation of dermatophyte fungi. In: **Proceedings of the International Symposium on Mycoses**.. Washington, DC: Pan American Health Organization. N. 205, pag. 55–58, 1970.

TERRENI, A.A; GREGG, W.B.JR; MORRIS, P.R; DISALVO, A.F. Epidermophyton floccosum infection in a dog from the United States. **Sabouraudia: Journal of Medical and Veterinary Mycology**. n 23, p. 141-142, 1985.

TUCCI, L.C.T.; LUI, J.F.; TOSTA, P.A.; SILVA, M.A.M.; CATUNDI, P.B.; CARDILLI, D.J.; MEDEIROS, R.M.; AMARO, D.; TONIOLLO, G.H. Esterilização canina e felina, diagnóstico de erlichiose e leptospirose em cães errantes no município de Jaboticabal (SP) de janeiro a agosto de 2011. In: Congresso de Extensão Universitária. Universidade Estadual Paulista (UNESP), 2011. p. 40.

VERBRUGGE, M.; MORIELLO, K.; NEWBURY, S. Correlation of skin lesions and dermatophyte culture status in cats at the time of admission to a Shelter (Abstract). **Veterinary Dermatology**, v.17, 2006.

VERMOUT S., TABART J., BALDO A., MATHY A., LOSSON B. & MINGNON B. Pathogenesis of dermatophytosis. **Mycopathologia**. Nov-Dez 2008.

VIANI, F.C. Dermatofitos. In: JERICÓ, M. M.; NETO, J.P.A.; KOGIKA, M.M. **Tratado de Medicina Interna de Cães e Gatos**. 1ª ed. Rio de Janeiro: Grupo Gen - Editora Roca, 2015, 2464p.

WALLER, S.B.; GOMES, A.R.; CABANA, A.L.; FARIA, R.O.; MEIRELES, M.C.A. MELLO, J.R.B. Microsporose canina e humana – um relato de caso zoonótico. **Science and Animal Health**, v.2, n.2, p. 137-146, 2014.

WAWRZKIEWICZ, K.; SADZIKOWSKI, Z.; ZIÓLKOWSKA, G.; WAWRZKIEWICZ, J. Inactivated vaccine against *Microsporum canis* infection in cats. **Medycyna Weterynaryjna**, v.56, n.4, p.245– 250, 2000.

WILDFEUER, A.; SEIDL, H.P.; PAULE, I; HABERREITER, A. *In vitro* evaluation of voriconazole against clinical isolates of yeasts, moulds

and dermatophytes in comparison with itraconazole, ketoconazole, amphotericin B and griseofulvin. **Mycoses**, v.41, p. 309-319, 1998.

YU, L.; ZHANG, W.; WANG, L.; YANG, J.; LIU, T.; PENG, J.; LENG, W.; CHEN, L.; LI, R.; JIN, Q. Transcriptional profiles of the response to ketoconazole and amphotericin B in *Trichophyton rubrum*. **Antimicrobial Agents & Chemotherapy**, v. 51, n. 1, p. 144-153, 2007.

ZAIZ, C. Dermatofitoses. In: ZAIZ, C.; CAMPBELL, I.; MARQUES, S.A.; RUIZ, L.R.B.; FRAMIL, V.M.S. **Compêndio de micologia médica**. 2.ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan, 2010. cap. 15, p. 157-167. 460p.

ANEXO A – Autorização da Comissão de Ética no Uso de Animais da UFLA

UNIVERSIDADE FEDERAL DE LAVRAS PRÓ-REITORIA DE PESQUISA

COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

Cx.P.3037 - Lavras – MG – 37200-000 – (35) 3829-5182 cba@nintec.ufla.br

CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "Dermatófitos em cães e gatos de um abrigo Municipal: epidemiologia e resistência a antimicrobianos", protocolo nº 038/21, sob a responsabilidade de Geraldo Márcio da Costa, Breno Henrique Alves e Carlos Artur Lopes Leite, que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto homem), para fins de ensino e/ou pesquisa científica, encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas edificadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), do Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação (MCTI), e foi aprovada pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) da Pró-Reitoria de Pesquisa/UFLA, em 30/11/2021.

Vigência da autorização: de 06/12/2021 a 30/04/2022

Finalidade: () Ensino (x) Pesquisa Científica

Espécie/linhagem/raça: Cão/SRD e Raças Puras e Gato/ SRD e Raças Puras

Número de animais aprovados: Cão: 150; Gato: 100

Peso/Idade: -

Sexo: macho e fêmea

Origem dos animais (documento apresentado pelo pesquisador responsável e arquivado pela CEUA): Abrigo Municipal de Varginha, localizado na Rua Sebastião Guimarães Caldas, SN, Bairro Sagrado Coração, Varginha, MG,38004-816 - Responsável: Dr^a Marisley Camillo de Barros Neves, CRMV MG5957.

Rafael Neodini Remedio

Prof. Rafael Neodini Remedio

Presidente da Comissão de Ética no Uso de Animais CEUA

Universidade Federal de Lavras
Pró-Reitoria de Pesquisa /Comissões Permanentes
Campus Universitário -
Caixa Postal 3037 / CEP 37200 000 – Lavras, MG - Brasil
Tel.: +55 (35) 3829 5182
cba@nintec.ufla.br - www.prp.ufla.br

ANEXO B – Formulário para coleta de dados



UNIVERSIDADE FEDERAL DE LAVRAS - UFLA
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

FORMULÁRIO DE REGISTRO DE DADOS

PROJETO DE MESTRADO: DERMATÓFITOS EM CÃES E GATOS DE UM ABRIGO MUNICIPAL:
 EPIDEMIOLOGIA E RESISTÊNCIA A ANTIMICROBIANOS

DISCENTE: BRENO HENRIQUE ALVES

ORIENTADOR: GERALDO MÁRCIO DA COSTA

REGISTRO DE ANIMAIS

NÚMERO DO ANIMAL:		
ESPÉCIE:	<input type="checkbox"/> CANINO	<input type="checkbox"/> FELINO
RAÇA		
PELAGEM	<input type="checkbox"/> CURTA	<input type="checkbox"/> MÉDIA <input type="checkbox"/> LONGA
SEXO	<input type="checkbox"/> MACHO	<input type="checkbox"/> FÊMEA
CASTRADO	<input type="checkbox"/> SIM	<input type="checkbox"/> NÃO

CARACTERÍSTICAS	<input type="checkbox"/> ASSINTOMÁTICO	<input type="checkbox"/> SINTOMÁTICO
LESÕES :	<input type="checkbox"/> LOCALIZADAS	OBS:
	<input type="checkbox"/> DISSEMINADAS	
	<input type="checkbox"/> GENERALIZADAS	
PRURIDO	<input type="checkbox"/> SIM	<input type="checkbox"/> NÃO <input type="checkbox"/> NÃO SABE INFORMAR
PADRÃO LESIONAL	<input type="checkbox"/> ALOPECIA <input type="checkbox"/> HIPOTRICOSE	
	<input type="checkbox"/> CIRCULAR	
	<input type="checkbox"/> FORMAS VARIADAS	
	<input type="checkbox"/> DISQUERATINIZAÇÃO	
	<input type="checkbox"/> UNTUOSIDADE DA PELE E PELAME	
	<input type="checkbox"/> ERITEMA <input type="checkbox"/> CROSTAS	
<input type="checkbox"/> OUTRAS LESÕES		



UNIVERSIDADE FEDERAL DE LAVRAS - UFLA
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

EXAMES:			
<input type="checkbox"/> LÂMPADA DE WOOD <input type="checkbox"/> POSITIVO <input type="checkbox"/> NEGATIVO	<input type="checkbox"/> ERPC	<input type="checkbox"/> TRICOGRAMA	<input type="checkbox"/> CULTURA FÚNGICA
OBS EXAMES:			
AMOSTRAS:			
LOCAL:			
TÉCNICA :	<input type="checkbox"/> ARRANCAMENTO	<input type="checkbox"/> MACKENZIE	
OBSERVAÇÕES GERAIS:			

LAVRAS, _____ DE _____ DE 2021.