



**FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS
CURSO DE MESTRADO**



PERFIL CLÍNICO, EPIDEMIOLÓGICO E DIAGNÓSTICO DA DERMATOFITOSE CANINA E FELINA

GABRIEL UTIDA EGUCHI

Campo Grande – MS
2019

GABRIEL UTIDA EGUCHI

**PERFIL CLÍNICO, EPIDEMIOLÓGICO E DIAGNÓSTICO DA
DERMATOFITOSE CANINA E FELINA**

*Clinical, epidemiological and diagnostic profile of dermatophytosis in dogs
and cats*

GABRIEL UTIDA EGUCHI

Orientadora: VERONICA JORGE BABO-TERRA

Dissertação apresentada ao Programa
de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias
da Universidade Federal de Mato Grosso do
Sul como requisito parcial para obtenção do
título de Mestre em Ciências Veterinárias.

Campo Grande – MS
2019

DEDICATÓRIA

Dedico essa conquista à minha família, principalmente à minha mãe, Lucila, e minha irmã, Viviane, pois nada do que sou hoje teria sido possível se não fosse vocês;

À minha companheira, amiga e confidente, Fernanda, por sempre acreditar mais em mim do que eu;

À minha irmã de vida, Joyce, pela presença nos bons momentos, mas principalmente por sempre ser a primeira a chegar e última a partir nos ruins.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à professora Veronica pela orientação contínua em minha vida profissional, pelo enriquecimento que oferece em todos meus questionamentos e por sempre confiar em meu trabalho;

Às professoras Mariana Palumbo e Cássia Leal, ao professor Carlos Ramos, por toda paciência e contribuição que ofereceram durante esse caminho;

Aos técnicos administrativos e residentes médicos veterinários dos laboratórios de bacteriologia e biologia molecular e setor de clínica médica da FAMEZ/UFMS, por sempre realizarem suas funções com dedicação e destreza;

Às alunas de iniciação científica Bruna Colombo Baptista e Fernanda Soares da Silva, pois sem vocês com certeza esse trabalho não teria sido completado;

À FAMEZ/UFMS, por ceder suas instalações e sua rotina de atendimento;

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, pela bolsa concedida durante o curso;

E finalmente, a todos os cães, gatos e seus tutores por confiarem em nossa atuação profissional.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	10
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	11
3. OBJETIVOS GERAIS	14
4. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	14
5. MATERIAL E MÉTODOS	15
5.1. Amostra	15
5.2. Dados Epidemiológicos	15
5.3. Diagnóstico	15
5.3.1. Amostragem.....	15
5.3.2. Pesquisa Direta.....	16
5.3.3. Cultura Fúngica.....	16
5.3.4. Reação em Cadeia da Polimerase e Polimorfismo por Restrição de Fragmento.....	16
5.4. Estatística	17
6. RESULTADOS E DISCUSSÃO	19
7. CONCLUSÕES.....	31
8. REFERÊNCIAS	32
ANEXO A – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.....	40
ANEXO B – Ficha de Anamnese e Questionário Epidemiológico	41
ANEXO C – Fichas de Aprovações dos Comitês de Ética	43

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Variáveis epidemiológicas e potenciais fatores de risco associados à dermatomicose canina e felina discriminados por teste laboratorial diagnóstico e diagnóstico final positivo.....	19
----------	---	----

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Tipos de lesões associadas à dermatofitose canina e felina % (n/total) ($p>0,05$).....	22
Figura 2	Áreas corporais afetadas associadas à dermatofitose canina e felina [% (n/total)].....	23
Figura 3	Escala visual de prurido associado à dermatofitose canina e felina ($p>0,05$).....	24
Figura 4	Fotodocumentação de gel de agarose a 2% após amplificação por PCR (<i>primers</i> ITS1 e ITS4) seguido de aplicação de enzima de restrição <i>Mval</i> de amostras clínicas de pelos de cães e gatos. 1 e 12 (marcadores de 100 e 50bp respectivamente), 2 e 3 (controle positivo: cultura <i>M.</i> <i>canis</i>), 4 – 11 amostras clínicas.....	28

RESUMO

EGUCHI, G.U. Perfil clínico, epidemiológico e diagnóstico da dermatofitose canina e felina. 2019. 44p. Dissertação de Mestrado – Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS, 2019.

O trabalho teve como propósito identificar os agentes dermatofíticos responsáveis pela doença em cães e gatos na cidade de Campo Grande-MS, caracterizar a apresentação clínica e epidemiologia da doença, concomitantemente à comparação entre técnicas laboratoriais diagnósticas (pesquisa direta em microscopia óptica, cultura fúngica e reação em cadeia da polimerase seguido de polimorfismo por restrição de comprimento). Foram avaliados 100 animais por amostragem de conveniência que apresentassem lesões sugestivas de dermatofitose. Amostras de pelos foram coletadas por avulsão em alíquotas suficientes para semeadura em tubo contendo ágar sabourad dextrose acrescido de ciclohexamida e penicilina, avaliação em microscopia direta após clarificação com solução de hidróxido de potássio a 20% e reação em cadeia da polimerase (*primers* ITS1 e ITS4, rDNA; enzima de restrição *Mval* e sequenciamento). Foi identificada frequência de 62% de dermatofitose, sendo indivíduos adultos (13 a 84 meses de idade) mais acometidos que as outras faixas etárias ($p=0,007$), porém, não houve predileção por sexo. *Microsporum canis* (75%), *M. gypseum* (12,5%) e *Trichophyton mentagrophytes* (12,5%) foram as espécies de dermatófitos isoladas pelo cultivo fúngico. Quanto a apresentação clínica, apesar de muito frequente lesões alopecias (80,64%), não houve diferença em relação às outras observadas (hipotricose, eritema, descamação, crostas, colarete epidérmico e liquenificação). Também houve oscilação quanto ao prurido, não sendo observada diferença de grau entre animais positivos e negativos. Dentre as informações epidemiológicas para identificação de possíveis fatores de risco, nenhuma das variáveis resultaram em diferença significativa (frequência de limpeza do ambiente, tipo de ambiente em que viviam os animais, acesso livre à rua e presença de contactantes animais). Dos testes laboratoriais avaliados, foi observada mínima concordância entre pesquisa direta x cultura fúngica ($\kappa=0,101$). A técnica de PCR-RFLP foi ineficiente para diagnóstico de dermatofitose a partir de amostras clínicas, amplificando material genômico de fungos saprófitas (*Cladosporium* e *Epicoccum*). Conclui-se que a dermatofitose canina e felina é mais frequente em animais entre 13 a 84 meses de idade, sem predileção sexual e com apresentação clínica variável. A técnica laboratorial mais sensível para diagnóstico é a pesquisa direta em microscopia óptica em comparação à cultura fúngica. A PCR-RFLP aplicada a amostras clínicas foi ineficiente para diagnóstico de dermatofitose sob as condições desta pesquisa. Em uma população de animais com lesões sugestivas na cidade de Campo Grande-MS, há prevalência de 62%, sendo o *Microsporum canis* o agente mais frequente.

Palavras-chave: Cultura, fungo, PCR, zoonose

ABSTRACT

The objective of this study was to identify the dermatophytic agents responsible for the disease in dogs and cats in the city of Campo Grande-MS, to characterize the clinical presentation and epidemiology of the disease, concomitantly with the comparison of diagnostic laboratory techniques (direct light microscopy, fungal culture and polymerase chain reaction followed by restriction fragment length polymorphism). 100 animals that presented suggestive lesions of dermatophytosis were evaluated by convenience sampling. Samples of hairs were collected by avulsion in sufficient aliquots for sowing in tubes containing sabourad dextrose agar with cyclohexamide and penicillin, evaluation in direct microscopy after clarification with 20% potassium hydroxide solution and polymerase chain reaction (*primers* ITS1 and ITS4, rDNA; restriction enzyme *Mval* and sequencing). A frequency of 62% of dermatophytosis was identified, with adult individuals (13 to 84 months of age) more affected than the other age groups ($p=0.007$), however, there was no predilection for sex. *Microsporum canis* (75%), *M. gypseum* (12,5%) and *Trichophyton mentagrophytes* (12,5%) were the

dermatophyte species isolated by fungal cultivation. Regarding the clinical presentation, although alopectic lesions were very frequent (80,64%), there was no difference in relation to the others observed (hypotrichosis, erythema, desquamation, crusts, epidermal collarette and lichenification). There was also oscillation in pruritus, with no difference in degree between positive and negative animals. Among the epidemiological information to identify possible risk factors, none of the variables resulted in a significant difference (frequency of cleaning of the environment, type of environment in which animals lived, free access to the street and presence of animal contact). From the laboratory tests evaluated, it was observed a minimum agreement between direct microscopy and fungal culture ($\kappa=0,101$). The PCR-RFLP technique was inefficient to diagnose dermatophytosis from clinical samples, amplifying genomic material from saprophytic fungi (*Cladosporium* and *Epicoccum*). It was concluded that canine and feline dermatophytosis is more frequent in animals between 13 and 84 months of age, with no sexual predilection and with variable clinical presentation. The most sensitive laboratory technique for diagnosis is the direct examination by optical microscopy in comparison to the fungal culture. PCR-RFLP applied to clinical specimens was inefficient for the diagnosis of dermatophytosis in the conditions of this research. In a population of animals with suggestive lesions in the city of Campo Grande-MS, there is a prevalence of 62%, with *Microsporum canis* being the most frequent agent.

Keywords: Culture, fungus, PCR, zoonosis

1. INTRODUÇÃO

Dermatófitos são fungos filamentosos classificados conforme seu local de adaptação: geofílicos (presentes no ambiente, adaptados a solos ricos em matéria orgânica), zoofílicos (adaptados a pele de animais não humanos) e antropofílicos (adaptados a pele e anexos de seres humanos) (WINN-Jr et al., 2008). Apesar dessa categorização, a maioria das espécies tem potencial de colonizar tecidos queratinizados como estrato córneo da pele, unhas, garras e pelos, tanto de animais quanto de humanos (GOMES et al., 2012).

A prevalência da dermatofitose humana e animal varia conforme região geográfica, sendo encontradas frequências de 13 (ARAÚJO et al., 2012) a até 81% (MURMU et al., 2015).

É uma doença de pele comumente atendida na rotina clínica de animais de companhia, e dentre as dermatopatias observadas em atendimentos de cães, o diagnóstico de dermatofitose pode variar entre 1,2% (SOUZA, 2009) a 15,3% (PENA, 2006).

Para diagnóstico laboratorial é possível avaliação microscópica de amostras clínicas (unhas, escamas e pelos), semeadura em meio de cultura e biologia molecular (WEINBERG et al., 2003).

Não há consenso em qual melhor técnica a ser aplicada para que se obtenha um diagnóstico, sendo observadas limitações práticas inerentes a cada uma. A cultura fúngica, por exemplo, está sujeita a resultados com baixa sensibilidade que podem estar associados à heterogeneidade de estruturas fúngicas viáveis nas lesões, assim como por contaminação de amostras por fungos saprófitas (KUPSCH et al., 2016).

Observa-se escassez de informações epidemiológicas regionais, e devido sua importância como zoonose, inconsistência interpretativa de resultados laboratoriais e longo tempo para o diagnóstico definitivo.

Objetivou-se com este estudo caracterizar o perfil clínico e epidemiológico da doença em cães e gatos com lesões sugestivas de dermatofitose na cidade de Campo Grande-MS e comparar técnicas laboratoriais diagnósticas (pesquisa direta em microscopia óptica, cultura fúngica e polimorfismo por restrição de fragmento-PCR).

2. REVISÃO DE LITERATURA

A dermatofitose é uma doença infectocontagiosa de potencial zoonótico que está dentre as dermatopatias mais frequentes na clínica de cães e gatos. Em indivíduos imunocompetentes tende a ser autolimitante com duração de algumas semanas, contudo, em alguns pacientes pode levar meses até cura completa (MORIELLO et al., 2017).

Os sinais clínicos podem incluir alopecia, rarefação pilosa, pápulas, descamação, crostas, eritema, queda de pelos, hiperpigmentação, alterações de aparência/ crescimento de unhas e em casos esporádicos, lesões nodulares (quérion, pseudomicetoma e micetoma). Associado à inespecificidade de apresentação clínica, o prurido também é variável, levando a uma ampla lista de diagnósticos diferenciais, reforçando a importância de informações epidemiológicas e histórico para que se adote uma conduta adequada (MORIELLO et al., 2017).

A infecção ocorre pelo contato direto de indivíduos susceptíveis com os agentes, sejam os presentes na pele e pelos, de outros indivíduos infectados, como os presentes no ambiente ou em fômites (MANCIANTI et al., 2003; MURMU et al., 2015). Por tais características, a persistência ambiental de esporos ou conídios viáveis são causas comuns de ineficiência terapêutica (POLAK et al., 2014).

Não é incomum o isolamento de *Microsporum canis* na dermatofitose humana concomitante ao isolamento obtido de animais coabitantes, sintomáticos ou não (MANCIANTI et al., 2003; CAFARCHIA et al., 2006; PASQUETTI et al., 2017; GNAT et al., 2018).

Em pacientes humanos susceptíveis (indivíduos <5 e >65 anos de idade, gestantes ou imunossuprimidos), há alta morbidade (STULL e STEVENSON, 2015), sendo indivíduos infectados pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV) comumente os pacientes que apresentam a forma generalizada da doença, com desenvolvimento de lesões multifocais e potencialmente de maior gravidade em comparação às típicas áreas circulares, eritematosas e descamativas da dermatofitose humana (CAMBUIM et al., 2011; HAMBRO et al., 2017).

Apesar do bom prognóstico para pacientes humanos que desenvolvem a doença, as lesões frequentemente causam incômodo e podem se prolongar por meses (GNAT et al., 2018), além de terem potencial desfigurativo quando na forma generalizada (HAMBRO et al., 2017) ou nodular (MELO-MONTEIRO et al., 2003).

Apesar das diversas pesquisas encontradas na caracterização epidemiológica da dermatofitose, observa-se acentuada diferença metodológica entre estudos, como por exemplo, os critérios utilizados para definição de indivíduos positivos x negativos. Enquanto alguns autores consideram indivíduos positivos apenas aqueles com resultados de cultura fúngica (CF) positiva (BERALDO et al., 2011; NEVES et al., 2011; ARAÚJO et al., 2012; SHOKRI e KHOSRAVI, 2016), outros também consideram resultados de pesquisa direta em microscopia óptica (PD) como suficientes para diagnóstico laboratorial (BRILHANTE et al., 2000; AQUINO et al., 2007; SEKER e DOGAN, 2011).

No Brasil, em pesquisas envolvendo seres humanos, já foram relatadas frequências de dermatofitose de 13% em Mato Grosso (ARAÚJO et al., 2012), 22% em Goiás (COSTA et al., 1999), 23% no Ceará (BRILHANTE et al., 2000), 26% no Rio Grande do Sul (AQUINO et al., 2007) e 26% em Santa Catarina (SANTOS et al., 1997).

Quanto à dermatofitose animal, é observada mundialmente uma grande variação na prevalência. No Irã, há relato de frequência de 18% entre cães e gatos (SHOKRI e KHOSRAVI, 2016), 21% na Turquia (SEKER e DOGAN, 2011) e 81% na Índia (MURMU et al., 2015). No Brasil, há frequências relatadas que variam de 33% em Minas Gerais (BERALDO et al., 2011) a 62% em Mato Grosso (NEVES et al., 2011).

Para o estado de Mato Grosso do Sul, não foram identificadas pesquisas com caracterização da dermatofitose (humana ou animal). Krakhecke (2003), em trabalho que incluiu pesquisa de dermatófitos em bovinos de propriedades rurais do estado, isolou apenas uma amostra de *M. gypseum* proveniente do solo. Albano et al. (2011) relataram um caso de *Trichophyton* sp. em onça pintada (*Panthera onca*). Lima et al. (2016a) descreveram prevalência de 75% de estruturas fúngicas observadas em amostras laboratoriais de pelos em cães e gatos, contudo, não há discriminação se tais agentes eram apenas de dermatófitos ou de outros fungos que acometem pequenos animais.

Os exames complementares convencionais utilizados para diagnóstico definitivo incluem o exame direto (avaliação em microscopia óptica de pelos, raspados de pele e unhas tratadas com hidróxido de potássio para observação de hifas e conídios) e CF (WEINBERG et al., 2003). Apesar da cultura ser considerada padrão-ouro para diagnóstico de dermatofitose, observa-se que as frequências de

indivíduos negativos em cultura fúngica e positivos na pesquisa direta podem variar de 6,5% (REZAEI-MATEHKOLAEI et al., 2013) a até 38% (MILLER e HODGSON, 1993), o que implica em resultados potencialmente falso-negativos.

A técnica de reação em cadeia da polimerase (PCR) tem sido foco de estudo como uma alternativa para o diagnóstico de dermatofitose, apresentando boa concordância em relação a outras técnicas microbiológicas convencionais (LEAL et al., 2017).

Outra característica que leva à procura de novos testes diagnósticos para a doença é o período longo (até 28 dias) necessário para identificação do dermatófito pelas técnicas habitualmente utilizadas (DABROWSKA et al., 2014). Ainda, o diagnóstico espécie-específico depende de avaliação do laboratorialista quanto às características macro e microscópicas, o que eventualmente pode levar a identificações equivocadas (KUPSCH et al., 2016).

Entende-se que a própria interpretação de resultados laboratoriais positivos para lesões de pele deve ser cautelosa, pois dermatófitos podem estar presentes em até 20% de animais assintomáticos (ILHAN et al., 2016; LIMA et al., 2016b). Há pesquisadores que para casos humanos de *tinea pedis* estimam a avaliação clínica acima dos testes laboratoriais, considerando o diagnóstico clínico como método padrão-ouro (LEVITT et al., 2010). Idealmente, para definição de casos realmente positivos, alguns autores recomendam que haja necessariamente resultados triplamente positivos (PD, CF e apresentação clínica) e indivíduos negativos resultados triplamente negativos (LEVITT et al., 2010), situação que potencialmente inviabiliza a maior parte dos levantamentos epidemiológicos e testes clínicos.

Portanto, considerando a lacuna de informações epidemiológicas regionais da dermatofitose canina e felina, objetivou-se com esse estudo a caracterização da doença na cidade de Campo Grande-MS, assim como a comparação entre testes laboratoriais comumente utilizados para diagnóstico.

3. OBJETIVOS GERAIS

- Caracterizar os aspectos clínicos, laboratoriais e epidemiológicos da dermatofitose em cães e gatos atendidos em um hospital veterinário na cidade de Campo Grande-MS

4. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Identificar o padrão de lesões clínicas associados à dermatofitose canina e felina
- Comparar diferentes testes (PD, CF e polimorfismo de comprimento de fragmento – PCR-RFLP) utilizados para diagnóstico de dermatofitose animal
- Identificar a frequência da dermatofitose canina e felina em animais sintomáticos atendidos em um hospital veterinário na cidade de Campo Grande-MS
- Identificar as espécies de dermatófitos responsáveis pela doença em cães e gatos em Campo Grande-MS
- Identificar os fatores de riscos envolvidos na dermatofitose canina e felina em Campo Grande-MS

5. MATERIAL E MÉTODOS

5.1. AMOSTRA

A amostra foi por conveniência composta por 50 cães e 50 gatos atendidos durante rotina ambulatorial do setor de clínica médica de pequenos animais da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (FAMEZ/UFMS), de 01 de Junho de 2017 a 31 de Setembro de 2018, cujos proprietários concordaram em participar do estudo, após leitura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (Anexo A), impresso em duas cópias (uma mantida pelo pesquisador e outra entregue ao proprietário do animal).

Como critério de inclusão, foram aceitos os pacientes que no momento do atendimento apresentassem lesões sugestivas de dermatofitose (alopecia, hipotricose, eritema, disqueratose, crostas, prurido, etc.). Como critério de exclusão, foram retirados da pesquisa os pacientes que haviam recebido tratamento antifúngico sistêmico ou tópico no mínimo 21 dias prévios ao momento da consulta.

5.2. DADOS EPIDEMIOLÓGICOS

Todas as informações epidemiológicas foram obtidas por meio de questionário (Anexo B) aplicado na forma de entrevista ao proprietário e por meio de exame físico, elaborado especificamente para este estudo e previamente aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UFMS (parecer 2.437.725). Foram seguidas instruções de Chaer et al. (2011) quanto à elaboração e aplicação de questionários para pesquisas científicas, tendo sido realizada uma validação do mesmo em forma de piloto seguida de adequações do mesmo até sua versão final.

Informações de ambiente incluíram: tipo de quintal (grama/terra ou calçado), disponibilidade de acesso à rua, frequência de limpeza do ambiente e presença de coabitantes com sinais clínicos semelhantes.

Inerentes ao paciente, foram anotadas informações quanto à espécie, raça, idade, sexo, vacinação, tipo de alimentação, castração, recidivas, e caracterização e mapeamento corporal das lesões observadas em exame físico visual.

5.3. DIAGNÓSTICO

5.3.1. AMOSTRAGEM

As amostras foram obtidas a partir das lesões sugestivas por avulsão manual de pelos das bordas das lesões e raspado superficial de pele com auxílio de lâmina

de bisturi (nº 24). Previamente à coleta, foi realizada assepsia local com álcool etílico (70%) para redução de contaminação bacteriana. No caso de múltiplas lesões, no mínimo três áreas foram amostradas. Para cada paciente, as amostras foram acondicionadas em tubos de polipropileno estéreis em alíquotas suficiente para encaminhamento (em até 24 horas) para o Laboratório de Bacteriologia (LABAC)/FAMEZ/UFMS para realização de PD e CF e para o Laboratório de Biologia Molecular/FAMEZ/UFMS para exame de PCR-RFLP.

5.3.2. PESQUISA DIRETA

A PD foi realizada com as amostras clínicas, previamente tratadas com hidróxido de potássio (20%) e avaliadas em microscopia óptica (40x) para presença de hifas e conídios.

5.3.3. CULTURA FÚNGICA

Independentemente do resultado em microscopia direta, todas as amostras foram semeadas em tubos contendo ágar sabouraud dextrose acrescido de cicloheximida e penicilina, incubadas aerobicamente em temperatura ambiente (25 a 27°C) e avaliadas para crescimento uma vez por semana, durante 28 dias. Após esse período, as amostras que não promoveram crescimento, foram descartadas. A identificação da espécie do dermatófito foi feita por meio da avaliação macro e microscópica da cultura fúngica (WINN-Jr et al., 2008).

5.3.4. REAÇÃO EM CADEIA DA POLIMERASE E POLIMORFISMO POR RESTRIÇÃO DE FRAGMENTO

Para extração de DNA, foi utilizada técnica *in-house* do Laboratório de Biologia Molecular/FAMEZ/UFMS. As amostras clínicas acondicionadas em tubos de polipropileno de 2 ml receberam 500 µL de dodecil sulfato de sódio (20%) e 10 µL de proteinase K, homogeneizadas em vórtex e incubadas a 56°C durante um período mínimo de 18 horas. Após, foram adicionados 400 µL de clorofórmio ao tubo, seguido de agitação em vórtex até a completa homogeneização. Acrescentou-se 300 µL de solução de precipitação proteica seguido de nova homogeneização. Os tubos foram então centrifugados a 10.000 g durante 10 minutos. Em seguida, toda porção aquosa da solução foi transferida para outro tubo. Foi então adicionado 1 mL de etanol 100% refrigerado, seguido de homogeneização por inversão e centrifugação a 10.000 g por 5 minutos. O sobrenadante foi desprezado e 1 mL de etanol 70% foi adicionado seguido de nova centrifugação a 10.000 g durante 2

minutos. Novamente o sobrenadante foi desprezado e o tubo centrifugado durante mais 1 minuto com retirada do resíduo de etanol final com auxílio de uma micropipeta. O tubo foi deixado em termobloco para secagem do sedimento. Após, foram adicionados 100 µL de água livre de nuclease seguida de homogeneização lenta. O produto final foi levado a incubadora a 65°C por 5 minutos para completa solubilização do sedimento.

A reação de amplificação seguiu método descrito por Leal et al. (2017), utilizando-se os primers ITS1 (5' TCCGTAGGTGAACCTGCGG3') e ITS4 (5' TCCTCCGCTTATTGATATGC3') do rDNA (ITS I, 5,8S e ITS II) de fungos. Os produtos foram avaliados por eletroforese em gel de agarose a 2%.

As amostras com resultados positivos foram então submetidas à técnica de RLFP conforme Jackson et al. (1999) com enzima de restrição Mval, com o produto final avaliado por eletroforese em gel de agarose a 2%.

5.4. ESTATÍSTICA

A frequência de dermatofitose em cães e gatos foi calculada pelo número de indivíduos positivos (PD e/ou CF positivo) dividido pelo número de indivíduos avaliados com seu respectivo intervalo de confiança (95%).

Foram considerados como possíveis fatores de risco a idade, hábitos dos animais e demais variáveis obtidas pelo questionário e ficha de anamnese (Anexo B). Foi empregado o qui-quadrado ou teste exato de Fisher com nível de significância de 5%, seguido de regressão logística, para as variáveis que apresentaram um valor de p menor que 20% ($p < 0,20$) no qui-quadrado ou teste exato de Fisher (HOSMER e LEMESHOW, 2000), com auxílio do software Epi Info®. No modelo final da regressão logística, foram classificadas como fatores de risco as variáveis que apresentaram $p < 0,05$, com respectivos valores de odds ratio (OR) e intervalo de confiança (IC) de 95%.

A sensibilidade e especificidade (SHARMA e SHARMA, 2009) para cada técnica laboratorial avaliada teve como padrão diagnóstico indivíduos com no mínimo PD e/ou CF positiva.

A análise de concordância entre os testes laboratoriais foi realizada por meio do teste de Kappa (κ) com auxílio do software Microsoft Excel®, sendo considerado como interpretação final valores de $\kappa < 0$ como concordância inexistente, $0 < \kappa < 0,2$ como mínima concordância, $0,21 < \kappa < 0,4$ como concordância razoável, $0,41 < \kappa < 0,6$

como concordância moderada, $0,61 < \kappa < 0,8$ como concordância substancial e $0,81 < \kappa < 1$ como concordância plena (LANDIS e KOCH, 1977).

6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dentre os 50 felinos amostrados, 28 eram machos e 22 fêmeas. Dentre os 50 caninos, 20 eram machos e 30 fêmeas, totalizando 100 animais.

Os resultados laboratoriais assim como as variáveis epidemiológicas estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1. Variáveis epidemiológicas e potenciais fatores de risco associados à dermatomicose canina e felina discriminados por teste laboratorial diagnóstico e diagnóstico final positivo.

Variável (<i>p-value</i>)	PD (positivos) % (n=62)	CF (positivos) % (n=8)	PCR* (positivos) % (n=19)	Diagnóstico positivo** % (n=62)
Sexo (0.18)				
Macho	53,23	62,5	63,16	53,23
Fêmea	46,77	37,5	36,84	46,77
Faixa etária (0.007)				
Até 12 meses	38,71	75	52,63	38,71
De 13 a 84 meses	45,16	25	26,32	45,16
Acima de 85 meses	16,13	zero	21,05	16,13
Tamanho médio das lesões (0.07)				
Menor que 1 cm	62,90	62,5	47,37	62,90
De 1 a 3 cm	20,98	Zero	26,32	20,97
Maior que 3 cm	8,06	12,5	21,05	8,06
Confluentes e generalizadas	8,06	25	5,26	8,06
Tempo de evolução das lesões (0.45)				
Menor ou igual a 30 dias	85,48	87,5	78,95	85,48
De 31 a 90 dias	8,07	12,5	5,26	8,06
Maior ou igual a 91 dias	6,45	Zero	15,79	6,45
Recidiva (0,06)				
Sim	6,45	Zero	10,53	6,45
Não	93,55	100	89,47	93,55
Limpeza do ambiente (0.59)				
Mínimo a cada 7 dias	45,16	62,5	52,63	45,16
A cada 15 dias	32,26	37,5	21,05	32,26
A cada 30 dias	8,06	Zero	5,26	8,06
Mais de 30 dias	14,52	Zero	21,05	14,52
Ambiente em que vive o paciente (0.80)				
Externo	25,81	25	36,84	25,81
Interno (dentro da residência)	32,26	37,5	42,11	32,26
Ambos (externo e interno)	41,94	37,5	21,05	41,94
Tipo de quintal (0.18)				
Predominantemente calçado	66,13	75	63,16	66,13
Igualmente distribuído	20,97	25	21,05	20,97
Predominantemente grama e/ou terra	12,9	Zero	15,79	12,9
Presença de coabitantes (cães e/ou gatos) (0,83)				

Sim	80,65	100	68,42	80,65
Não	19,35	Zero	31,58	19,35
Acesso livre à rua (0.51)				
Sim	11,29	zero	5,26	11,29
Não	88,71	100	94,74	88,71

*Os resultados de PCR referem-se à identificação de fungos saprófitas

**Diagnóstico positivo para dermatofitose: teste positivo em PD e/ou CF

A frequência de dermatofitose canina e felina em uma população de animais com sinais clínicos sugestivos na cidade de Campo Grande-MS foi de 62% (IC95%: 51,75-71,52) e está dentro dos intervalos de prevalência já relatados mundialmente, que variam de 5,5 (BOYANOWSKI et al., 2000) a 81% (MURMU et al., 2015). O clima poderia ser um dos elementos responsáveis pela alta variabilidade de frequência observada, mas mesmo locais com clima similar (equatorial com invernos secos) (Köppen-Geiger) (KOTTEK et al., 2006) como Nigéria, MG-Brasil, MT-Brasil e Índia, possuem relatos de frequências bem diversas, variando de 14,28% (NWEZE, 2011), 33% (BERALDO et al., 2011), 62% (NEVES et al., 2011) a 81% (MURMU et al., 2015), respectivamente.

A inconstância na frequência de dermatofitose animal em locais de mesmo clima não se restringe ao equatorial. Estados Unidos da América, Irã, Turquia, e Portugal, em locais de classificação de clima temperado com verão seco (Köppen-Geiger) (KOTTEK et al., 2006), possuem relatos de frequências de 5,5% (BOYANOWSKI et al., 2000), 18% (SHOKRI e KHOSRAVI, 2016), 21% (SEKER e DOGAN, 2011) e 29,4% (DUARTE et al., 2010), respectivamente.

Deve-se levar em conta a diferença metodológica existente entre cada pesquisa envolvendo a epidemiologia da dermatofitose e que potencialmente inviabiliza uma comparação direta entre estudos. Valores de prevalência, por exemplo, podem ser alterados pelo tipo de teste diagnóstico utilizado na pesquisa, podendo impelir interpretações epidemiológicas errôneas.

Neste trabalho, caso considerado apenas CF, 8% das amostras teriam sido positivas comparado aos 62% de positividade em PD. Apesar de já ter sido observada concordância substancial ($\kappa=0,66$) entre avaliação microscópica (PD) e CF (SEKER e DOGAN, 2011), também há resultados que demonstram discrepância acentuada (em até 35,2%) entre sensibilidade e especificidade entre as duas técnicas (LEVITT et al., 2010). Monwar et al. (2017), para o mesmo conjunto de amostras, observaram 27,4% de positividade para dermatofitose em

PD e 23% em CF. Outros autores como Rahman et al. (2018) encontraram 37,5% (PD) e 47,6% (CF) e Kupsch et al. (2016) 32% (PCR-ELISA), 20,3% (PD) e 13,1% (CF).

Dentre as espécies identificadas pelas culturas, seis (75%) eram *M. canis*, uma (12,5%) *M. gypseum* e uma (12,5%) *T. mentagrophytes*. As culturas contaminantes não foram tabeladas como resultados positivos, porém, somaram um total de 29 amostras. A identificação de *M. canis* como principal agente etiológico da dermatofitose animal é observada mundialmente. No Brasil, estado de São Paulo, Palumbo et al. (2010) reportaram *M. canis* em 75% das amostras de cães e gatos, sendo casos de *T. mentagrophytes* menos de 1% do total. Lima et al. (2016b), em MT-Brasil, de 279 animais, identificaram *M. canis* em 96,78% dos casos. Em outro estudo, situado na Índia, *M. canis* representou 60% das amostras seguido do *M. gypseum* (22.5%) e do *T. mentagrophytes* (15.8%) (MURMU et al., 2015).

Quanto ao sexo, não foi identificada diferença significativa em relação à positividade para dermatofitose, informação consistente já observada por outros autores (PALUMBO et al., 2010; NEVES et al., 2011; SEKER e DOGAN, 2011; ILHAN et al., 2016; LIMA et al., 2016b).

Quanto à faixa etária, animais adultos (13 a 84 meses de idade) foram mais acometidos por dermatófitos em relação aos filhotes e idosos ($p=0,007$), assim como já observado por Dieckmann et al. (1998), Neves et al. (2011), Murmu et al. (2015) e Lima et al. (2016b) que relataram maiores frequências de dermatofitose em indivíduos adultos. Contudo, infere-se a existência de predisposição de filhotes para dermatofitose por imaturidade imunológica, sendo comuns os relatos de maiores frequências em animais com menos de 12 meses de idade (ROMANO et al., 1997; BRILHANTE et al., 2003; CAFARCHIA et al., 2006; FARIAS et al., 2011; SEKER e DOGAN, 2011; ILHAN et al., 2016; FRAGA et al., 2017). De forma mais precisa, a maioria dos estudos que descrevem animais com menos de 12 meses de idade como mais susceptíveis incluem apenas felinos (ROMANO et al., 1997; FARIAS et al., 2011; ILHAN et al., 2016; FRAGA et al., 2017), havendo, inclusive, autores que não observaram diferença estatística quanto à faixa etária de cães com dermatofitose mas para gatos, sim (BRILHANTE et al., 2003; CAFARCHIA et al., 2006). Entretanto, afirmar que cães abaixo dos 12 meses de vida não são tão susceptíveis quanto gatos pode ser precipitado, pois são incomuns estudos que

incluam exclusivamente caninos, assim como também já há descrição de maior susceptibilidade de indivíduos filhotes considerando avaliação de ambas as espécies concomitantemente (SEKER e DOGAN, 2011). Farias et al. (2011) ressaltam a importância que esses animais mais jovens podem ter no aspecto zoonótico da dermatofitose, já que são preferidos em campanhas de adoção.

Um fator que pode pleitear a concepção de que as lesões por dermatófitos estejam associadas a outras condições prévias de susceptibilidade individual e não exclusivamente à presença do agente em si, são as semelhanças entre frequências de dermatofitose encontradas em animais assintomáticos e frequências encontradas em animais com sinais clínicos. Shokri e Khosravi (2016) e Murmu et al. (2015), relataram frequências de 18% e 48% de dermatofitose em cães e gatos sintomáticos, valores símeis aos 14,28 e 56,5% encontrados por Nweze (2011) e Iorio et al. (2007) em animais sem qualquer tipo de lesão clínica. Portanto, pode-se pressupor que existam fatores além da presença de dermatófitos para que sinais clínicos se manifestem. De fato, infecções experimentais em felinos por *M. canis* provocaram lesões de forma mais eficiente após escoriações suaves na pele dos indivíduos (SPARKES et al., 1995), sugerindo assim, a necessidade de lesões tegumentares prévias para que dermatófitos consigam se estabelecer.

Quanto à apresentação clínica, alopecia e hipotricose foram as lesões mais frequentes, apesar de não ter sido observada diferença estatística em relação às outras descritas (Figura 1).

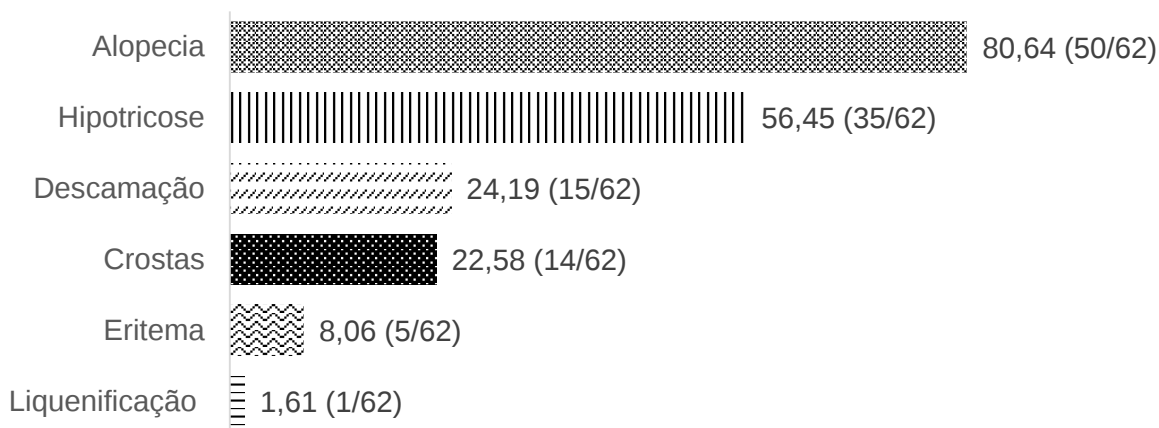


Figura 1. Tipos de lesões associadas à dermatofitose canina e felina % (n/total) ($p>0,05$)

Apesar da variabilidade de sinais clínicos que cães e gatos com dermatofitose podem manifestar (MORIELLO et al., 2017), áreas alopécicas, circulares ou não, permanecem como as principais lesões descritas em literatura

em regiões geográficas distintas (PALUMBO et al., 2010; NEVES et al., 2011; SEKER e DOGAN, 2011; SHOKRI e KHOSRAVI, 2016).

Quanto ao tamanho médio das lesões associadas à dermatofitose, apesar de não ter sido observada diferença estatística, a maioria dos animais apresentaram lesões menores do que 1 cm de diâmetro. Dentre todas as pesquisas epidemiológicas encontradas envolvendo casos suspeitos de dermatofitose animal (PAIXÃO et al., 2001; BRILHANTE et al., 2003; NEVES et al., 2011; SEKER e DOGAN, 2011; MURMU et al., 2015; SHOKRI e KHOSRAVI, 2016), apenas Balda et al. (2004) e Palumbo et al. (2010) mencionaram o padrão lesional quanto à forma e distribuição, todavia, não houve descrições quanto ao tamanho das feridas. Balda et al. (2004) descreveram lesões circulares sendo as mais frequentes em caninos e felinos com dermatofitose enquanto Palumbo et al. (2010) observaram que lesões generalizadas foram mais frequentes em relação às focais e multifocais.

Em relação ao curso da doença, apesar de ter havido maior frequência de lesões com tempo de evolução de até 30 dias (85,48%) (Tabela 1), não houve diferença significativa em comparação a lesões mais antigas. Esse alto percentual de indivíduos com lesões recentes somado à baixa frequência de indivíduos com lesões recidivantes (6,25%), sugerem que a dermatofitose canina e felina, apesar da alta prevalência, possui tratamento eficaz e curativo. Contudo, deve-se levar em consideração a facilidade com a qual tutores no Brasil têm acesso a medicações, e não é incomum atendimentos de cães e gatos, cujos tutores tenham medicado esses animais por tempo prolongado antes de leva-los ao médico veterinário, por indicação de leigos ou mesmo por já conhecerem os medicamentos e terem feito tratamento por si só de casos simples de dermatofitose, e que poderia ser o motivo da baixa taxa de atendimento de animais com recidivas pela doença.

A Figura 2 exhibe as áreas corporais afetadas pela dermatofitose canina e felina em Campo Grande-MS. Apesar da localização das lesões não terem produzido resultados estatisticamente significativos, uma maior frequência foi identificada em região de face/orelhas e tórax/dorso, situação semelhante aos resultados de Palumbo et al. (2010), Neves et al. (2011) e Shokri e Khosravi (2016). Também se observa que quanto mais caudo-distal, são incomuns lesões por dermatófitos (PALUMBO et al., 2010; NEVES et al., 2011; SHOKRI e KHOSRAVI, 2016).

Face e orelhas 67,74 (42/62)

Tórax e dorso 48,39 (30/62)

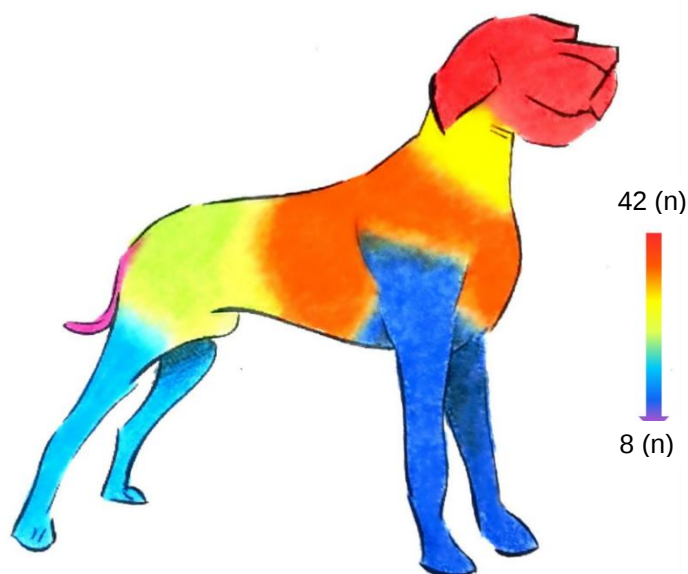
Cervical 41,94 (26/62)

Lombar e abdômen 27,42 (17/62)

Membros pélvicos 24,19 (15/62)

Axilar 17,74 (11/62)

Membros Torácicos 17,74 (11/62)



$p > 0,05$

Figura 2. Áreas corporais afetadas associadas à dermatofitose canina e felina [% (n/total)]

A variação de apresentação de prurido associado à dermatofitose animal, apesar de geralmente relatada em artigos de revisão (GUILLOT, 1999; GOMES et al., 2012; MORIELLO et al., 2017), apenas esporadicamente é quantificada pelos autores. Balda et al. (2004) identificaram 2,63% de cães e gatos com dermatofitose com prurido discreto, 28,95% com prurido moderado e 68,42% com prurido ausente. Palumbo et al. (2010), relataram 13,3% de animais com prurido leve, 25% com prurido intenso, 27,9% com prurido moderado e 33,8% com prurido ausente. Neste trabalho, considerando a categorização da escala visual de prurido (respondido pelo proprietário de cada indivíduo amostrado), não foi observada diferença significativa entre os graus (Figura 3).

A associação do prurido com a dermatofitose ainda é desconhecida, e pode estar associada às variações de resposta imunológica e inflamatória intrínseca aos indivíduos frente a qualquer agente infeccioso (MORIELLO et al., 2017)

Dentre as informações consideradas como possíveis fatores de risco associados à dermatofitose canina e felina (frequência de limpeza do ambiente, ambiente em que vivem os animais, tipo de quintal da residência, acesso livre à rua e coabitantes animais), nenhum deles apresentaram resultados significativos. Não foram encontrados trabalhos que incluíssem fatores ambientais dentre as informações epidemiológicas. Contudo, Fraga et al. (2017), identificaram aproximadamente 3% de felinos com cultura positiva para dermatófitos e que

tinham acesso livre à rua ou contato com outros gatos. Lima et al. (2016b), não observaram diferença estatística entre positividade em cultura fúngica (amostras provenientes de felinos) e contato com humanos e/ou animais. Palumbo et al. (2010) relataram 19,1% de contactantes animais em casos positivos de dermatofitose canina e felina, comparado aos 80,65% deste trabalho.

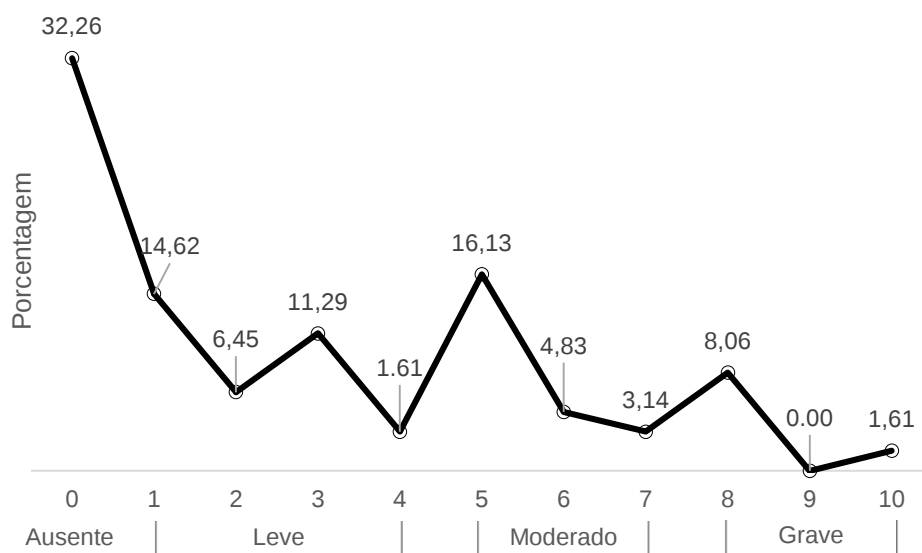


Figura 3. Escala visual de prurido associado à dermatofitose canina e felina ($p>0,05$).

Além da atuação direta de cães e gatos como potenciais reservatórios de dermatófitos para infecção humana, observa-se persistência ambiental de estruturas fúngicas eficientes para provocarem infecções. Mancianti et al. (2003) e Neves et al. (2018) relataram resultados de cultura positiva de amostras ambientais concomitante à presença de cães e gatos positivos para dermatofitose. Também Mancianti e Papini (1996), Bagcigil et al. (2010) e Brondani et al. (2016) isolaram dermatófitos de amostras ambientais de areias de parques públicos, de pet shops e clínicas veterinárias, respectivamente, demonstrando o contato intenso com o qual animais de companhia e seus tutores têm com dermatófitos e a importância da identificação de animais positivos e indicação terapêutica precoce e de manejo corretos para um controle eficiente.

Apenas um tutor de um paciente canino, dentre os 62 de animais positivos para dermatofitose (1,61%), relatou lesões sugestivas de dermatofitose humana (lesão circular, descamativa, eritematosa e pruriginosa). Este dado é similar aos 1,43% referidos por Neves et al. (2011) e os 6,6% por Palumbo et al. (2010), porém, menor em comparação aos 21,5% relatados por Balda et al. (2004). Contudo,

nenhum dos estudos teve acompanhamento médico dos casos humanos para que se confirmassem infecções dermatofíticas.

Observa-se que quando a pesquisa tem como foco o estudo de seres humanos (indivíduos já diagnosticados com dermatofitose), a correlação com cães e gatos positivos é maior. Dentre humanos diagnosticados com *M. canis*, 49% de seus respectivos cães e gatos (sintomáticos ou não) apresentaram cultura positiva para dermatófito (CAFARCHIA et al., 2006). Nos trabalhos de Bier et al. (2013) e Murmu et al. (2015), esses valores foram de 67 e 84,2%, respectivamente. Tais fatores caracterizam animais de companhia como fontes de infecção de dermatófitos para seres humanos.

Quanto ao diagnóstico, Moriello et al. (2017) em revisão extensa sobre a dermatofitose canina e felina, recomendam a associação do conjunto de informações e não somente os resultados laboratoriais em si para classificação de indivíduos doentes.

A determinação de no mínimo um teste laboratorial positivo (CF ou PD) para consideração de casos diagnósticos foi feita após revisão literária, que promoveu a compreensão de que independente de qual método laboratorial, caso positivo, determina a presença do dermatófito. Portanto, não foram observados casos falso-positivos, levando a especificidade de PD e CF a 100%. Quanto à sensibilidade, os valores foram de 100 e 12,9% para PD e CF respectivamente.

O teste de concordância de kappa demonstrou mínima concordância entre PD e CF ($\kappa=0,101$), valor abaixo do já relatado por Seker e Dogan (2011) ($\kappa=0,66$). Leal et al. (2018) e Leal et al. (2017), entre PCR e CF, relataram valores de $\kappa=0,66$ e $\kappa=0,813$, respectivamente.

Também há descrição por outros autores de baixa sensibilidade de cultura fúngica para diagnóstico da dermatofitose (LEVITT et al., 2010; BERGMAN et al., 2013; EMAM e EL-SALAM, 2016; KUPSCH et al., 2016; MONWAR et al., 2017).

Bergman et al. (2013), Kupsch et al. (2016) e Rezaei-Matehkolaei et al. (2013) já descreveram diferenças percentuais entre resultados positivos em PD e negativos em CF em 12, 18,34 e 26,5%, respectivamente. Para PCR positivo e CF negativa, Monwar et al. (2017) e Emam e El-Salam (2016) relataram 4,4 e 45%, respectivamente. Kupsch et al. (2016) acreditam que a heterogeneidade de material fúngico em amostras clínicas e a taxa de crescimento mais acelerada de outros fungos em comparação aos dermatófitos são os principais responsáveis por falhas

no diagnóstico de dermatofitose por CF, como neste estudo, que obteve culturas positivas para outras espécies. De fato, foram observadas diferenças na quantidade de material amostrado, sem, contudo, haver quantificação.

Portanto, considerar cultura fúngica como padrão-ouro pode não ser adequado, pois esta técnica tem potencial para taxas altas de falso-negativos. Kupsch et al. (2016), ao avaliarem diferentes tipos de PCR-ELISA, com apenas 13,1% de resultados positivos em CF comparado aos 39,5% em biologia molecular, consideraram inadequado o cálculo dos índices de sensibilidade e especificidade considerando CF como padrão-ouro. Paugam et al. (2013) para cálculo de índices para qRT-PCR, levaram em consideração como padrão-ouro amostras que obtiveram CF e/ou PD positivas. Ainda, Levitt et al. (2010) consideraram a avaliação clínica como método padrão-ouro para calcular índices de CF e PD. Fatos que demonstram a baixa confiabilidade em CF como técnica diagnóstica exclusiva.

Entretanto, também há descrição de maior frequência de indivíduos positivos em CF (32,2%) em comparação à PD (12%) (CAFARCHIA et al., 2013), mas podem estar associados, por exemplo, à própria metodologia da pesquisa. Rahman et al. (2018) também descreveram frequência de CF maior que PD, porém, foram avaliados três meios de cultura diferentes para cada amostra. Mas para Paugam et al. (2013), resultados satisfatórios em CF estão limitados apenas à qualidade da amostra enviada para avaliação.

Independente de sensibilidade ou especificidade, a cultura fúngica para diagnóstico micológico ainda permanece sem substituto adequado. Técnicas moleculares, além de requererem equipamento laboratorial de custo mais elevado, são amplas na identificação quanto ao reino, contudo, limitado quanto à identificação de espécies fúngicas. Da mesma forma, a pesquisa microscópica direta é ineficaz para identificação de fungos não dermatófitos. Diferentemente, os meios de cultura utilizados para crescimento fúngico permitem o crescimento de uma ampla variedade de agentes micóticos (PAUGAM et al., 2013).

Apesar de não identificadas as espécies, 29% das amostras (distintas aos 8% de culturas positivas para dermatófitos) apresentaram crescimento em CF de outros fungos, e poderiam representar espécies saprófitas. Apesar dessa frequência ser similar ao já observado por Shokri e Khosravi (2016) que identificaram 29,47% (298/1011) de fungos saprófitas, concomitante a 25,22% (255/1011) de dermatófitos, há autores que relatam a presença de espécies

saprofíticas em até 75% (69/92) de amostras de cães e gatos concomitante ao isolamento de dermatófitos em 23% (21/92) dos casos (PAIXÃO et al., 2001).

A aplicação da técnica de PCR-RFLP foi considerada insatisfatória para determinação das espécies de dermatófitos. Assim como observado por Leal et al. (2017), foi identificada intensidade de brilho reduzido das reações em gel de agarose das amostras clínicas em comparação ao controle positivo (micélio provindo de cultura) (Figura 4), e isso provavelmente é consequência da diferença de quantidade de DNA presente em cada uma.

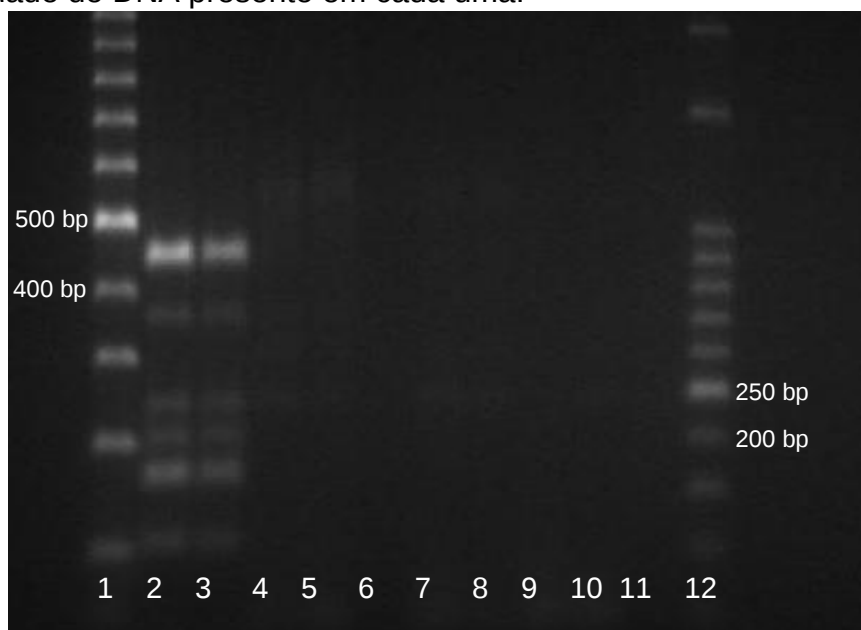


Figura 4. Fotodocumentação de gel de agarose a 2% após amplificação por PCR (*primers* ITS1 e ITS4) seguido de aplicação de enzima de restrição *Mva*I de amostras clínicas de pelos de cães e gatos. 1 e 12 (marcadores de 100 e 50bp respectivamente), 2 e 3 (controle positivo: cultura *M. canis*), 4 – 11 amostras clínicas.

Apesar dos benefícios associados a testes moleculares como identificação mais fidedigna das espécies de dermatófitos e menor tempo para que se tenha o resultado em comparação à CF (BERGMAN et al., 2013; REZAEI-MATEHKOLAEI et al., 2013; LEAL et al., 2018), essas técnicas ainda são consideradas como ferramentas de pesquisas epidemiológicas e não como método para rotina diagnóstica. A presença de DNA do hospedeiro, de organismos contaminantes e fatores inibitórios intrínsecos a toda amostra clínica, dificultam a extração de DNA de maneira eficaz e afetam diretamente a performance dos testes subsequentes (KUPSCH et al., 2016). De fato, a amostragem de alguns animais de pelos curtos e com pouca descamação foi mais difícil em relação a animais de pelos longos e

com descamação presente (dados não comparados), e provavelmente podem ter prejudicado a qualidade final de extração e subsequente aplicação da PCR-RFLP.

Para ladear a ineficiência da RFLP para identificação das espécies de dermatófitos, diferentemente de Leal et al. (2017) que recorreram novamente à CF, todas as amostras com resultados positivos em PCR e com qualidade de material adequado, foram encaminhadas para sequenciamento genômico.

Soma-se às dificuldades encontradas no diagnóstico de dermatofitose por técnica de PCR, a elaboração de *primers* que amplifiquem regiões restritas a espécies dermatofíticas. Isso ficou evidente nesse estudo, após avaliação da identidade molecular dos resultados de amplificações provenientes de amostras clínicas (ferramenta BLAST® - *Basic Local Alignment Search Tool*), com identificação de espécies fúngicas saprófitas, sendo elas o *Cladosporium* sp. [42,1% (8/19)], *Epicoccum nigrum* e *E. sorghinum* [5,26% (1/19) cada]. Os 47,38% (9/19) restantes das amostras positivas em PCR não produziram materiais com qualidade suficiente para sequenciamento.

Diferentemente do gênero *Cladosporium*, a identificação do fungo saprófita *Epicoccum* é incomum e não observada em estudos que utilizaram a cultura fúngica como técnica diagnóstica. Foi encontrado apenas o relato de Meason-Smith et al. (2015) que por meio de sequenciamento de nova geração e dentre 4.477.229 sequências de 10 cães saudáveis, observaram que os gêneros *Alternaria*, *Cladosporium* e *Epicoccum* foram os mais frequentes.

Além do *Cladosporium*, os gêneros *Aspergillus*, *Penicillium* e *Alternaria* são relatos comuns em isolados de amostras de pelos de cães e gatos (SIERRA et al., 2000; FRIAS e KOZUSNY-ANDREANI, 2008; FERREIRO et al., 2014, MCATEE et al., 2017; MEASON-SMITH et al., 2017). Comumente também são identificadas leveduras como *Malassezia* sp., *Candida* sp. e *Rhodotorula* sp. (PRADO et al., 2008; BENTUBO et al., 2010).

A presença de fungos saprófitas pode ser exclusiva ou concomitante a infecções por dermatófitos. Paixão et al. (2001), de cães e gatos com lesões sugestivas de doenças fúngicas, isolaram 22,83% de dermatófitos e 75% de fungos saprófitas, dentre eles: *Alternaria* sp., *Chaetomium* sp., *Rhizopus* sp., *Curvularia* sp., *Candida* sp., *Trichoderma* sp., *Fusarium* sp., *Cladosporium* sp., *Penicillium* sp. e *Aspergillus* sp. Nichita e Marcu (2010), também de amostras de cães e gatos com

lesões, além de 33,66% de dermatófitos, isolaram 73,27% de fungos dentre *Alternaria* sp., *Rhizopus* sp. e *Trichoderma* sp.

Apesar da PCR-RFLP não ter tido sucesso para diagnóstico de dermatofitose neste trabalho, diversos autores descrevem técnicas de biologia molecular aplicadas ao diagnóstico de dermatofitose, como qRT-PCR (*real time*) (BERGMAN et al., 2013; PAUGAM et al., 2013; EMAM e EL-SALAM, 2016), *nested*-PCR (CAFARCHIA et al., 2013), PCR-ELISA (KUPSCH et al., 2016) e mPCR (*multiplex*) (LEAL et al., 2018), todos com resultados indicativos de que há potencial para biologia molecular ser mais acessível e de aplicação na rotina prática.

7. CONCLUSÕES

Conclui-se que a dermatofitose canina e felina é mais frequente em animais entre 13 a 84 meses de idade, sem predileção sexual e com apresentação clínica variável. A técnica laboratorial mais sensível para diagnóstico é a pesquisa direta em microscopia óptica em comparação à cultura fúngica. A PCR-RFLP aplicada a amostras clínicas foi ineficiente para diagnóstico de dermatofitose sob as condições deste trabalho. Em uma população de animais com lesões sugestivas na cidade de Campo Grande-MS, há prevalência de 62%, sendo o *Microsporum canis* o agente mais frequente.

8. REFERÊNCIAS

- ALBANO, A. P. N.; MENDES, J. F.; FELÍCIO, A. P.; COIMBRA, M. A. A.; LEITE, A. T. M.; MINELLO, L. F.; MEIRELES, M. C. A.; NASCENTE, P. S. Microbiota fúngica de felídeos silvestres hígidos encaminhados a centros de triagem no Rio Grande do Sul e Mato Grosso do Sul. **Medvep – Revista Científica de Medicina Veterinária – Pequenos Animais e Animais de Estimação**, v. 9, p. 654-58, 2011.
- AQUINO, V. R.; CONSTANTE, C. C. e BAKOS, L. Frequência das dermatofitoses em exames micológicos em Hospital Geral de Porto Alegre, Brasil. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 82, p. 239-44, 2007.
- ARAÚJO, S. M.; FONTES, C. J. F.; LEITE-JÚNIOR, D. P.; HAHN, R. C. Fungal agents in different anatomical sites in public health services in Cuiabá, state of Mato Grosso, Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 54. p. 5-10, 2012.
- BAGCIGIL, A. F.; IKIZ, S.; ÖZGÜR, N. Y.; ILGAZ, A. Recovery of dermatophytes in pet grooming tools from veterinary clinics and pet grooming salons. **Journal of Small Animal Practice**, v. 51, p. 39-42, 2010.
- 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.
- BENTUBO, H. D. L.; GAMBALE, W. e FISCHMAN, O. Leveduras isoladas do pelame de cães saudáveis que vivem em regime domiciliar. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 62, n. 4, p. 1018-1021, 2010.
- BERALDO, R. M.; GASPAROTO, A. K.; SIQUEIRA, A. M.; DIAS, A. L. T. Dermatophytes in household cats and dogs. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, v. 18, p. 85-91, 2011.
- BERGMAN, A.; HEIMER, D.; KONDORI, N.; ENROTH, H. Fast and specific dermatophyte detection by automated DNA extraction and real-time PCR. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 19, p. 205-211, 2013.
- BIER, D.; FARIAS, M. R.; MURO, M. D.; SONI, L. M. F.; CARVALHO, V. O.; PIMPÃO, C. T. Isolamento de dermatófitos do pelo de cães e gatos pertencentes a proprietários com diagnóstico de dermatofitose. **Archives of Veterinary Science**, v. 18, n. 1, p. 1-8, 2013.
- 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. 2000, p. 143-150, 2000.
- BRAZUNA, J. C. M.; SILVA, E. A.; BRAZUNA, J. M.; DOMINGOS, I. H.; CHAVES, N.; HONER, M. R.; ONSELEN, V. J.; OLIVEIRA, A. L. L. Profile and geographic distribution of reported cases of visceral leishmaniasis in Campo Grande, State of Mato Grosso do Sul, Brazil, from 2002 to 2009. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 45, p. 601-606, 2012.

BRILHANTE, R. S. N.; PAIXÃO, G. C.; SALVINO, L. K.; DIÓGENES, M. J. N.; BANDEIRA, S. P.; ROCHA, M. F. G.; SANTOS, J. B. F.; SIDRIM, J. J. C. Epidemiologia e ecologia das dermatofitoses na cidade de Fortaleza: o *Trichophyton tonsurans* como importante patógeno emergente da *Tinea capitis*. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 33, p. 417-425, 2000.

BRILHANTE, R. S.; CAVALCANTE, C. S.; SOARES-JUNIOR, F. A.; CORDEIRO, R. A.; SIDRIM, J. J.; ROCHA, M. F. High rate of *Microsporum canis* feline and canine dermatophytoses in Northeast Brazil: epidemiological and diagnostic features. **Mycopathologia**, v. 156, n. 4, p. 303-308, 2003.

BRONDANI, L.; BATISTA, L. D. R.; BRONDANI, F. M. M.; RODRIGUES, F. M. Pesquisa de fungos dermatófitos queratinofílicos em amostras de areia de praças públicas do município de Porto Velho-RO. **Revista Científica da Faculdade de Educação e Meio Ambiente**, v. 7, p. 137-150, 2016.

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 hair coat of pet dogs and cats belonging to owners diagnosed with *M. canis tinea corporis*. **European Society of Veterinary Dermatology**, v. 17, p. 327-331, 2006.

CAMBUIM, I. I. F. N.; MACÊDO, D. P. C.; DELGADO, M.; LIMA, K. M.; MENDES, G. P.; SOUZA-MOTTA, C. M.; LIMA, D. M. M.; FERNANDES, M. J.; MAGALHÃES, O. M. C.; QUEIROZ, L. A.; NEVES, R. J. Avaliação clínica micológica de onicomicose em pacientes brasileiros com HIV/ AIDS. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 44, p. 40-42, 2011.

CHAER, G.; DINIZ, R. R. P. e RIBEIRO, E. A. A técnica do questionário na pesquisa educacional. **Evidência**, v. 7, p. 251-266, 2011.

COSTA, T. R.; COSTA, M. R.; SILVA, M. V.; RODRIGUES, A. B.; FERNANDES, O. F. L.; SOARES, A. J.; SILVA, M. R. R. Etiologia e epidemiologia das dermatofitoses em Goiânia, GO, Brasil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 32, p. 367-371, 1999.

DABROWSKA, I.; DWORECKA-KASZAK, B. e BILLOWSKA-DĄBROWSKA, 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, p. 375-378, 2014.

DIECKMANN, A. M.; QUEVEDO, A. C.; RIBEIRO, V. L. S.; CASTRO, M. C. N. Dermatófitos isolados de cães e gatos clinicamente sadios procedentes da cidade de Niterói, RJ, Brasil. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, v. 5, n. 2, p. 93-94, 1998.

DUARTE, A.; CASTRO, I.; FONSECA, I. M. P.; ALMEIDA, V.; CARVALHO, L. M. M.; MEIRELES, J.; FAZENDEIRO, M. I.; TAVARES, L.; VAZ, Y. Survey of infectious

and parasitic diseases in stray cats at the Lisbon Metropolitan Area, Portugal. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, v. 12, p. 441-446, 2010.

EMAM, S. M. e EL-SALAM, O. H. A. Real-time PCR: A rapid and sensitive method for diagnosis of dermatophyte induced onychomycosis – a comparative study. **Alexandria Journal of Medicine**, v. 52, p. 83-90, 2016.

FARIAS, M. R.; 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, n. 2, p. 306-312, 2011.

FERREIRO, L.; ROEHE, C.; DORNELES, A. S.; MACHADO, G.; FRAGA, C. F.; LUPLON, C. G.; BARROSO, G. J.; SANCHES, E. M. C. Isolamento de dermatófitos e fungos saprotróficos do pelame de gatos sem dermatoses na região metropolitana de Porto Alegre – RS, Brasil. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 42, n. 1191, p. 1-8, 2014.

FRAGA, C. F.; SPANAMBERG, A.; FERREIRO, L.; SILVA, G. A.; FRANCHESCHI, N. T.; SILVA, I. T.; VARGAS, R. C. Dermatofitos em gatos sem dermatopatias na região metropolitana de Florianópolis, Brasil. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 45, p. 1-7, 2017.

FRIAS, D. F. R. e KOZUSNY-ANDREANI, D. I. Isolamento e identificação de fungos associados à dermatofitose e dermatomicose em cães. **Medicina Veterinaria y Zootecnia**, v. 3, n. 2, p.58-64, 2008.

GALUPPI, R.; LEVEQUE, J. F. C.; BEGHELLI, V.; BONOLI, C.; MATTIOLI, M.; OSTANELLO, F.; TAMPIERI, M. P.; ACCORSI, P. A. Cortisol levels in cats' hair in presence or absence of *Microsporum canis* infection. **Research in Veterinary Science**, v. 95, p. 1076-1080, 2013.

GNAT, S.; LAGOWSKI, D.; NOWAKIEWICZ, A.; ZIEBA, P. *Tinea corporis* by *Microsporum canis* at a mycological laboratory staff: Unexpected results of epidemiological investigation. **Mycoses**, v. __, p. __, 2018.

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, p. 272-284, 2012.

GUILLOT, J. Le diagnostic biologique des mycoses animales. **Revue française des laboratoires**, fevrier, n. 310, p. 57-64, 1999.

HAMBRO, C. A.; YIN, N. C.; YANG, C.; HUSAIN, S.; SILVERS, D. N.; GROSSMAN, M. E. *Trichophyton rubrum tinea capitis* in an HIV-positive patient with generalized dermatophytosis. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 3, p. 19-21, 2017.

HOSMER, D. W. e LEMESHOW, S. **Applied Logistic Regression**. 2nd ed. New York: John Wiley & Sons, Inc., 2000. 375p.

ILHAN, Z.; KARACAB, M.; EKINA, I. H.; SOLMAZC, H.; AKKANB, H. A.; TUTUNCU, M. Detection of seasonal asymptomatic dermatophytes in Van cats. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 47, p. 225-230, 2016.

IORIO, R.; CAFARCHIA, C.; CAPELLI, G.; FASCIOCCO, D.; OTRANTO, D.; GIANGASPERO, A. Dermatophytoses in cats and humans in central Italy: epidemiological aspects. **Mycoses**, v. 50, p. 491-495, 2007.

IRWIN, K. E.; BEALE, K. M. e FADOK, V. A. Use of modified ciclosporin in the management of feline pemphigus foliaceus: a retrospective analysis. **Veterinary Dermatology**, v. 23, p. 403–e476, 2012.

JACKSON, C. J.; BARTON, R. C. e EVANS, E. G. V. Species identification and strain differentiation of dermatophyte fungi by analysis of ribosomal-DNA intergenic spacer regions. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 37, n. 4, p. 931-936, 1999.

KOTTEK, M.; GRIESER, J.; BECK, C.; RUDOLF B.; RUBEL, F. World Map of the Köppen-Geiger climate classification updated. **Meteorologische Zeitschrift**, v. 15, p. 259-263, 2006.

KRAKHECKE, A.G. Dermatofitos em bovinos: incidência e suscetibilidade *in vitro* a drogas antifúngicas. 2003. **Dissertação (Mestrado em Microbiologia)** – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, São Paulo.

KUPSCH, C.; OHST, T.; PANKEWITZ, F.; NENOFF, P.; UHRLAß, S.; WINTER, I.; GRÄSER, Y. The agony of choice in dermatophyte diagnostics – Performance of different molecular tests and culture in the detection of *T. rubrum* and *T. interdigitale*. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 22, p. 735, 2016.

LANDIS, J. R. e KOCH, G. G. The measurement of observer agreement for categorical data. **Biometrics**, v. 33, p. 159-74. 1977.

LEAL, C. A. S.; KIM, P. C. P.; ALMEIDA, J. C.; MELO, R. P. B.; SANTOS, A. S.; LIMA, D. C. V.; PINHEIRO-Jr J. W.; MOTA, R. A. Padronização de multiplex PCR para detecção de dermatofitos em pelos e crostas de cães e gatos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 38, n. 9, p. 1824-1828, 2018.

LEAL, C. A. S.; KIM, P. C. P.; MOTA, A. R.; LIMA, D. C. V.; GOMES, A. L. V.; JÚNIOR, J. W. P.; SILVA, L. B. G.; MOTA, R. A. PCR-RFLP: Uma alternativa a cultura (padrão Ouro) no diagnóstico de dermatofitos em cães e gatos. **PUBVET**, v. 11, p. 181-186, 2017.

LEVITT, J. O.; LEVITT, B. H.; AKHAVAN, A.; YANOFISKY, H. The sensitivity and specificity of potassium hydroxide smear and fungal culture relative to clinical assessment in the evaluation of *tinea pedis*: a pooled analysis. **Dermatology Research and Practice**, v. 10, p. 1-8, 2010.

LIMA, S. R.; SILVA, W. A.; SILVEIRA, M. M.; NEVES, R. C. S. M.; DUTRA, V.; SOUSA, V. R. F. Isolation of dermatophytes from 50 asymptomatic domestic cats treated at the Federal University of Mato Grosso Veterinary – Hospital in Cuiabá, MT. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 37, p. 2003-2008, 2016b.

LIMA, T.M.; FERREIRA, L.H.B.; LEAL, C.; SOARES, R.L. Microrganismos isolados na pele de cães atendidos no hospital veterinário da UFMS, Campo Grande, Mato Grosso do Sul. **Anais da IX Mostra Científica FAMEZ**, v. 9, p. 19-21, 2016a.

MANCIANTI, F. e PAPINI R. Isolation of keratinophilic fungi from the floors of private veterinary clinics in Italy. **Veterinary Research Communications**, v. 20, p. 161-166, 1996.

MANCIANTI, F.; GIANNELLI, C.; BENDINELLI, M.; POLI, A. Mycological findings in feline immunodeficiency virus-infected cats. **Journal of Medical and Veterinary Mycology**, v. 30, p. 257–259, 1992.

MANCIANTI, F.; NARDONI, S.; CORAZZA, M.; D'ACHILLE, P.; PONTICELLI. Environmental detection of *Microsporum canis* arthrospores in the households of infected cats and dogs. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, v. 5, p. 323-328, 2003.

MCATEE, B. B.; CUMMINGS, K. J.; COOK, A. K.; LIDBURY, J. A.; HESELTINE, J. C.; WILLARD, M. D. Opportunistic invasive cutaneous fungal infections associated with administration of cyclosporine to dogs with immune-mediated disease. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 31, p. 1724-1729, 2017.

MEASON-SMITH, C.; DIESEL, A.; PATTERSON, A. P.; OLDER, C. E.; MANSELL, J. M.; SUCHODOLSKI, J. S.; HOFFMANN, A. R. What is living on your dog's skin? Characterization of the canine cutaneous mycobiota and fungal dysbiosis in canine allergic dermatitis. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 91, p. 1-12, 2015.

MEASON-SMITH, C.; EDWARDS, E. E.; OLDER, C. E.; BRANCO, M.; BRYAN, L. K.; LAWHON, S. D.; SUCHODOLSKI, J. S.; GOMEZ, G.; MANSELL, J.; HOFFMANN, A. R. Panfungal PCR for identification of fungal pathogens in formalin-fixed animal tissues. **Veterinary Pathology**, v. 54, n. 4, p. 640-648, 2017.

MELO-MONTEIRO, C.; MARTINS, C. J.; MONTEIRO, C. S.; PAIVA, M. B. M.; FAGUNDES, R. O. *Kerion Celsi* por *Microsporum gypseum**. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 78, p. 319-21, 2003.

MIGNON, B. e LOSSON, B. Prevalence and characterization of *Microsporum canis* carriage in cats. **Journal of Medical and Veterinary Mycology**, v. 35, p. 249–256, 1997.

MILLER, M. A. e HODGSON, Y. Sensitivity and specificity of potassium hydroxide smears of skin scrapings for the diagnosis of tinea pedis. **Archives of Dermatology**, v. 129, p. 510-511, 1993.

MONWAR, S.; HOSSAIN, M. A.; BOBY, F.; BRGUM, H.; BEGUM, N. Diagnosis of Dermatophytosis by Conventional Methods and Comparative analysis of Sabouraud Dextrose Agar and Dermatophyte Test Medium for Isolation of Dermatophytes. **Mymensingh Medical Journal**, v. 26, p. 293-299, 2017.

MORIELLO, K. A.; COYNER, K.; PATERSON, S.; MIGNON, B. Diagnosis and treatment of dermatophytosis in dogs and cats. **Veterinary Dermatology**, v. 28, p. 266-e68, 2017.

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**, v. 8, p. 1078-1082, 2015.

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**, v. 70, p. 1747-1753, 2018.

NEVES, R. C. S. M.; CRUZ, F. A. C. S.; LIMA, S. R.; DUTRA, M. M. T. 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, p. 1405-1410, 2011.

NICHITA, I. e MARCU, A. The fungal microbiota isolated from cats and dogs. **Scientific Papers Animal Science and Biotechnologies**, v. 43, n. 1, p. 1-4, 2010.

NWEZE, E. I. Dermatophytoses in domesticated animals. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 53, n. 2, p. 95-99, 2011.

PAIXÃO, G. C.; SIDRIM, J. J. C.; CAMPOS, G. M. M.; BRILHANTE, R. S. N.; ROCHA, M. F. G. Dermatophytes and saprobe fungi isolated from dogs and cats in the city of Fortaleza, Brazil. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 2001, n. 5, p. 1-7, 2001.

PALUMBO, M. I. P.; MACHADO, L. H. A.; PAES, A. C. P.; MANGIA, S. H.; MOTTA, R. C. Estudo epidemiológico das dermatofitoses em cães e gatos atendidos no serviço de dermatologia da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da UNESP – Botucatu. **Semina: Ciências Agrárias, Londrina**, v. 31, p. 459-68, 2010.

PASQUETTI, M.; MIN, A.R.M.; SCACCHETTI, S.; DOGLIERO, A.; PEANO, A. Infection by *Microsporum canis* in Paediatric Patients: A Veterinary Perspective. **Veterinary Sciences**, v. 4, p. 1-6, 2017.

PAUGAM, A.; L'OLLIVIER, C.; VIGUIÉ, C.; ANAYA, L.; MARY, C.; PONFILLY, G.; RANQUE, S. Comparison of real-time PCR with conventional methods to detect dermatophytes in samples from patients with suspected dermatophytosis. **Journal of Microbiological Methods**, v. 95, p. 218-222, 2013.

PENA, S. B. Frequência de dermatopatias infecciosas, parasitárias e neoplásicas em cães na região de Garça, São Paulo – Brasil. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, v. 3, n. 7, p. 1-21, 2006.

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.

PRADO, M. R.; BRILHANTE, R. S. N.; CORDEIRO, R. A.; MONTEIRO, A. J.; SIDRIM, J. J. C.; ROCHA, M. F. G. Frequency of yeasts and dermatophytes from healthy and diseased dogs. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 20, p. 197-202, 2008.

PREZIOSI, D. E.; GOLDSCHMIDT, M. H.; GREEK, J. S.; JEFFERS, J. G.; SHANLEY, K. S.; DROBATZ, K.; MAULDIN, E. A. Feline pemphigus foliaceus: a retrospective analysis of 57 cases. **Veterinary Dermatology**, v. 14, p. 313–321, 2003.

RAHMAN, M. A.; CHOWDHURY, O. A.; DEBNATH, M. R.; AHMED, S. M.; DAS, S.; CHOUDHURY, R.; AKTER, R.; ZAMAN, S.; MAHAMUD, F. Comparison among Different Culture Media for the Detection of Dermatophytes. **Mymensingh Medical Journal**, v. 27, p. 626-630, 2018.

REZAEI-MATEHKOLAEI, A.; MAKIMURA, K.; HOOG, S.; SHIDFAR, M. R.; ZAINI, F.; ESHRAGHIAN, M.; NAGHAN, P. A.; MIRHENDI, H. Molecular epidemiology of dermatophytosis in Tehran, Iran, a clinical and microbial survey. **Medical Mycology**, v. 51, p. 203-207, 2013.

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

SANTOS, J. I.; NEGRI, C. M.; WAGNER, D. C.; PHILIPI, R.; NAPPI, B. P.; COELHO, M. P. Some aspects of dermatophytoses seen at University Hospital in Florianópolis, Santa Catarina, Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 39, p. 137-140, 1997.

SEKER, E. e DOGAN, N. Isolation of dermatophytes from dogs and cats with suspected dermatophytosis in Western Turkey. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 98, p. 46–51, 2011.

SHARMA, D.; YADAV, U. B. e SHARMA, P. The concept of sensitivity and specificity in relation to two types of errors and its application in medical research. **Journal of Reliability and Statistical Studies**, v. 2, p. 53-58, 2009.

SHOKRI, H. e KHOSRAV, A. R. An epidemiological study of animals dermatomycoses in Iran. **Journal de Mycologie Médicale**, v. 26, p. 170—177, 2016.

SIERRA, P.; GUILLOT, J.; JACOB, H.; BUSSIÉRAS, S.; CHERMETTE, R. Fungal flora on cutaneous and mucosal surfaces of cats infected with feline immunodeficiency virus or feline leukemia virus. **American Journal of Veterinary Research**, v. 61, p. 158-161, 2000.

SOUZA, T. M. Dermatopatias não-tumorais em cães: bases para o diagnóstico e dados de prevalência em Santa Maria, Rio Grande do Sul (2005-2008). Tese, UFSM, Centro de Ciências Rurais, Santa Maria 2009, 167p.

SPARKES, A. H.; STOKES, C. R. e GRUFFYDD-JONES, T. J. Experimental *Microsporum canis* infection in cats: correlation between immunological and clinical observations. **Journal of Medical and Veterinary Mycology**, v. 33, p. 177-184, 1995.

STULL, J. W. e STEVENSON, K. B. Zoonotic disease risks for immunocompromised and other high-risk clients and staff. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v. 45, p. 377-392, 2015.

WEINBERG, J. M.; KOESTENBLATT, E. K.; TUTRONE, W. D.; TISHLER, H. R.; NAJARIAN, L. Comparison of diagnostic methods in the evaluation of onychomycosis. **Journal of The American Academy of Dermatology**, v. 49, p. 193-7, 2003.

WINN-Jr, W.; ALLEN, S.; JANA, W.; KONEMAN, E.; PROCOP, G.; SCHRECKENBERGER, P.; WOODS, G. Micologia. In: _____. **Koneman, diagnóstico microbiológico: texto e atlas colorido**. 6 ed. Rio de Janeiro: Guanabara, 2008. Cap. 21. p. 1145-1236.

ANEXO A - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Projeto:

Aspectos clínicos, laboratoriais e epidemiológicos da dermatofitose em cães e gatos na cidade de Campo Grande, Mato Grosso do Sul

O(A) sr.(a) está sendo convidado(a) a participar em uma pesquisa. Este estudo está sob responsabilidade pela médico veterinário Gabriel Utida Eguchi, vinculado à Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS). O(A) sr.(a) precisa decidir se quer participar ou não. Não haverá despesas financeiras e nem compensação de qualquer tipo por sua participação. Por favor, não se apresse em tomar a decisão. Leia cuidadosamente o que se segue e pergunte ao responsável pelo estudo qualquer dúvida que tiver.

1. Por que o estudo está sendo feito?

O estudo visa:

- Avaliar a ocorrência de doenças fúngicas de cães e gatos na cidade de Campo Grande, incluindo a coleta de informações que possam ajudar a evitá-las futuramente.

2. Quem participará deste estudo?

- Estão sendo inclusos no estudo todos os cães e gatos e seus respectivos proprietários atendidos no Hospital Veterinário da UFMS e no Centro de Controle de Zoonoses que venham apresentar lesões de pele sugestivas de doença fúngica.

3. O que será solicitado?

- Serão coletadas amostras de pelos e das possíveis lesões que seu animal possa ter, assim como o(a) sr.(a) responderá a um questionário que incluem informações sobre o histórico do seu animal assim como o ambiente em que ele vive.

4. Quem terá acesso às minhas informações e respostas ao questionário?

- Se concordar em participar do estudo, seu nome e identidade serão mantidos em sigilo. Somente os pesquisadores envolvidos e Comitê de Ética terão acesso às suas informações pessoais nesse estudo.

Por fim, **AUTORIZO** a publicação de fotos e/ou vídeos realizados durante a consulta a fim de maior detalhamento dos padrões de lesão encontrados.

Ressalta-se a inexistência de interesse comercial ou promocional dos resultados obtidos neste trabalho.

Lembre-se que durante todo o período do estudo o sr.(a) poderá decidir por não mais participar do mesmo, em qualquer circunstâncias.

Quaisquer dúvidas, entre em contato com o pesquisador responsável: telefone (67)996146869, email: utida.gabriel@gmail.com

Campo Grande.....de.....de

Voluntário

Pesquisador

**ANEXO B – FICHA DE ANAMNESE E QUESTIONÁRIO
EPIDEMIOLÓGICO**
ASPECTOS CLÍNICOS, LABORATORIAIS E EPIDEMIOLÓGICOS DA
DERMATOFITOSE EM CÃES E GATOS NA CIDADE DE CAMPO GRANDE, MATO GROSSO DO
SUL

1) Número de identificação:

PERGUNTAS SOBRE O ANIMAL

3) Nº do prontuário: _____

Espécie:

☐ CANINO

☐ FELINO

Raça (confirmar visualmente): _____

Sexo:

☐ MACHO

☐ FÊMEA

Idade: _____

4) Há quanto tempo as lesões apareceram (caso recidiva, considerar último episódio)?

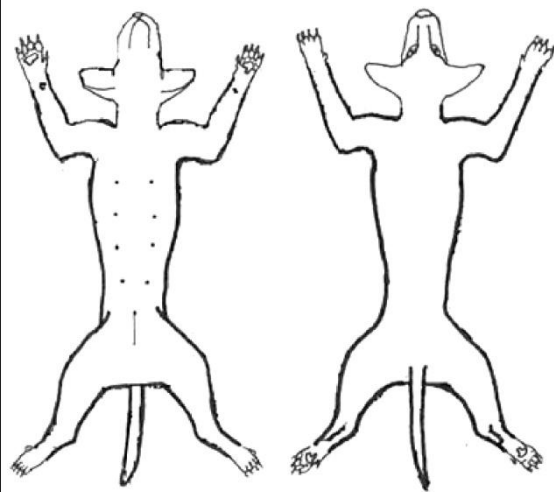
5) Já ocorreram outras vezes?

☐ SIM

☐ NÃO

5.a) Se sim, qual foi o tratamento?

6)



TIPOS DE LESÕES:

☐ ALOPECIA

☐ HIPOTRICOSE

☐ ERITEMA

☐ DESCAMAÇÃO

☐ CROSTAS

☐ COLARETE

EPIDÉRMICO

☐ LIQUENIFICAÇÃO

☐ OUTROS

TAMANHO

MÉDIO:

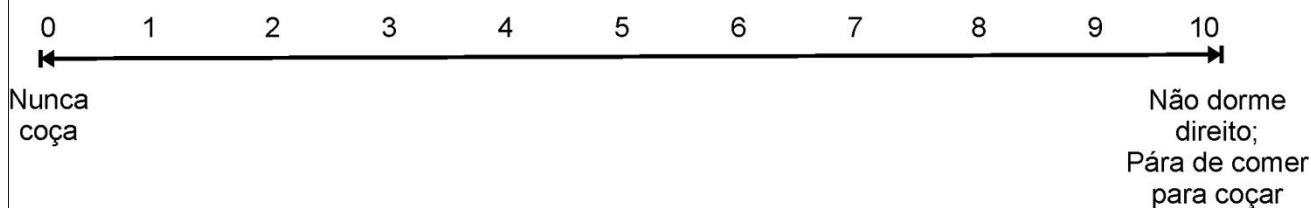
☐ ATÉ 1,0
cm

☐ 1,0 a 3,0
cm

☐ > 3,0 cm

☐ Lesões
generalizadas
e confluentes

ESCALA VISUAL DE COCEIRA



7) O animal é castrado?

- ☐ SIM
☐ NÃO

8) Quando foi feita a última vacina antirrábica?

- ☐ SIM
☐ NÃO

9) Quando foi feita a última vacina múltipla?

- ☐ SIM
☐ NÃO

10) Qual tipo de alimentação é feita?

- ☐ Exclusivamente ração
☐ Exclusivamente comida caseira
☐ Ambas (ração e comida caseira)

11) Em qual ambiente o animal fica?

- ☐ FORA DE CASA
☐ DENTRO DE CASA
☐ OS DOIS (dentro e fora)

12) Qual o tipo de quintal?

- ☐ Completamente calçado
☐ Predominantemente calçado
☐ Igualmente calçado e grama
☐ Predominantemente grama
☐ Completamente grama

13) O animal tem acesso livre à RUA?

- ☐ SIM
☐ NÃO

14) Em relação aos móveis e acessórios como carpete, cortina, móveis estofados, etc., com qual intervalo são lavados?

- ☐ mínimo a cada 7 dias
☐ a cada 15 dias
☐ a cada 30 dias
☐ mais de 30 dias

15) Se o seu animal possui cama, qual o tipo? Com qual frequência ela é lavada?

- | | |
|--|---|
| ☐ CAMA DE PANO | ☐ mínimo a cada 7 dias |
| ☐ CAMA DE ESTOFADO | ☐ a cada 15 dias |
| ☐ CAMA PRÓPRIA PARA GATOS | ☐ a cada 30 dias |
| | ☐ mais de 30 dias |

16) Possui outros animais na casa?

- ☐ SIM
☐ NÃO

16.a) Se sim, possuem algum tipo de lesão de pele?

- ☐ SIM
☐ NÃO

PERGUNTAS SOBRE O PROPRIETÁRIO

17) O proprietário ou algum outro contactante HUMANO possui lesão?

- ☐ SIM
☐ NÃO

17.a) Caso sim, qual tipo?

- ☐ Lesões circulares eritematosas
☐ Lesões circulares descamativas
☐ Outras
☐ Não sabe

17.b) Caso sim, há contato direto com o paciente? (pegar no colo, dormir na mesma cama, sofá, etc.)

- ☐ SIM
☐ NÃO

ANEXO C – APROVAÇÃO DOS COMITÊS DE ÉTICA DE PESQUISA ANIMAL E HUMANA

A dissertação é parte do Projeto de Pesquisa intitulado: “Etiologia, diagnóstico, epidemiologia e tratamento da esporotricose, criptococose e dermatofitose em cães e gatos”.



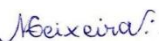
Serviço Público Federal
Ministério da Educação
Fundação Universidade Federal de Mato Grosso do Sul



C E R T I F I C A D O

Certificamos que a proposta intitulada “Etiologia, diagnóstico, epidemiologia e tratamento da esporotricose, criptococose e dermatofitose em cães e gatos”, registrada com o nº 841/2017, sob a responsabilidade de **Verônica Jorge Babo Terra** - que envolve a utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata, para fins de 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 editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovada pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS/CEUA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL/UFMS, na 3ª reunião ordinária do dia 07/04/2017.

FINALIDADE	() Ensino (x) Pesquisa Científica
Vigência da autorização	20/02/2017 a 20/12/2020
Espécie/Linhagem/Raça	<i>Canis lupus familiaris</i> <i>Felis catus</i>
Nº de animais	100 100
Peso/Idade	Qualquer
Sexo	Machos / Fêmeas
Origem	Centro de Controle de Zoonoses/CCZ- PMCG/MS e Residências


Maria Araújo Teixeira
Coordenadora da CEUA/UFMS
Campo Grande, 10 de abril de 2017.

Comissão de Ética no Uso de Animais/CEUA
<http://www.propp.ufms.br/ceua>
ceua.2000@gmail.com
fone (67) 3345-7186

15/07/2018

Plataforma Brasil

Saúde



Gabriel Utida Eguchi - Pesquisador | V3.2

Cadastros

Sua sessão expira em: 38min 56

DETALHAR PROJETO DE PESQUISA



DADOS DA VERSÃO DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Aspectos clínicos, laboratoriais e epidemiológicos da dermatofitose em cães e gatos na cidade de Campo Grande, Mato Grosso do Sul
Pesquisador Responsável: Gabriel Utida Eguchi
Área Temática:
Versão: 3
CAAE: 75865517.0.0000.0021
Submetido em: 18/09/2017
Instituição Proponente: Universidade Federal de Mato Grosso do Sul - UFMS
Situação da Versão do Projeto: Aprovado
Localização atual da Versão do Projeto: Pesquisador Responsável
Patrocinador Principal: Financiamento Próprio



Comprovante de Recepção: PB_COMPROVANTE_RECEPCAO_981042

DOCUMENTOS DO PROJETO DE PESQUISA

- Versão Atual Aprovada (PO) - Versão 3
 - Recurso (PO) - Versão 3
 - Curriculo dos Assistentes
 - Documentos do Projeto
 - Comprovante de Recepção - Submissão
 - Cronograma - Submissão 3
 - Folha de Rosto - Submissão 3
 - Informações Básicas do Projeto - Submissão
 - Outros - Submissão 3
 - Projeto Detalhado / Brochura Investigação
 - Recurso Anexado pelo Pesquisador - Submissão
 - Recurso do Parecer - Submissão 3
 - TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa
 - Apreciação 3 - Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
 - Projeto Completo

Tipo de Documento	Situação	Arquivo	Postagem	Ações
-------------------	----------	---------	----------	-------

LISTA DE APRECIÇÕES DO PROJETO

Apreciação	Pesquisador Responsável	Versão	Submissão	Modificação	Situação	Exclusiva do Centro Coord.	Ações
PO	Gabriel Utida Eguchi	3	04/12/2017	14/12/2017	Aprovado	Não	

HISTÓRICO DE TRÂMITES

Apreciação	Data/Hora	Tipo Trâmite	Versão	Perfil	Origem	Destino	Informações
PO	14/12/2017 09:43:07	Parecer liberado	3	Coordenador	Universidade Federal do Mato Grosso do Sul - UFMS	PESQUISADOR	
PO	13/12/2017 15:01:52	Parecer do colegiado emitido	3	Coordenador	Universidade Federal do Mato Grosso do Sul - UFMS	Universidade Federal do Mato Grosso do Sul - UFMS	
PO	11/12/2017 09:37:40	Parecer do relator emitido	3	Membro do CEP	Universidade Federal do Mato Grosso do Sul - UFMS	Universidade Federal do Mato Grosso do Sul - UFMS	
PO	11/12/2017 09:30:35	Aceitação de Elaboração de Relatoria	3	Membro do CEP	Universidade Federal do Mato Grosso do Sul - UFMS	Universidade Federal do Mato Grosso do Sul - UFMS	
PO	05/12/2017 10:08:34	Confirmação de Indicação de Relatoria	3	Coordenador	Universidade Federal do Mato Grosso do Sul - UFMS	Universidade Federal do Mato Grosso do Sul - UFMS	
PO	05/12/2017 09:39:20	Indicação de Relatoria	3	Secretária	Universidade Federal do Mato Grosso do Sul - UFMS	Universidade Federal do Mato Grosso do Sul - UFMS	
PO	05/12/2017 09:39:02	Aceitação do PP	3	Secretária	Universidade Federal do Mato Grosso do Sul - UFMS	Universidade Federal do Mato Grosso do Sul - UFMS	
PO	04/12/2017 19:14:08	Recurso Submetido Para Avaliação do CEP	3	Pesquisador	PESQUISADOR	Universidade Federal do Mato Grosso do Sul - UFMS	
PO	30/11/2017 11:38:42	Parecer liberado	2	Coordenador	Universidade Federal do Mato Grosso do Sul - UFMS	PESQUISADOR	
PO	30/11/2017 11:38:18	Parecer do Colegiado Editado	2	Coordenador	Universidade Federal do Mato Grosso do Sul - UFMS	Universidade Federal do Mato Grosso do Sul - UFMS	

Ocorrência 1 a 10 de 25 registro(s)