

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

**SUSCETIBILIDADE DE *TRICHOPHYTON RUBRUM* E
TRICHOPHYTON MENTAGROPHYTES FRENTE A
AGENTES ANTIFÚNGICOS**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Mari Gleí Hernandez Liscano

Santa Maria, RS, Brasil

2015

**SUSCETIBILIDADE DE *TRICHOPHYTON RUBRUM* E
TRICHOPHYTON MENTAGROPHYTES FRENTE A AGENTES
ANTIFÚNGICOS**

Mari Gleí Hernandez Liscano

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Área de Concentração em Análises Clínicas e Toxicológicas, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciências Farmacêuticas.**

Orientador: Prof. Dr. Sydney Hartz Alves

Santa Maria, RS, Brasil

2015

Ficha catalográfica elaborada através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Central da UFSM, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Liscano, Mari Gleí Hernandez
Suscetibilidade de *Trichophyton rubrum* e *Trichophyton mentagrophytes* frente a agentes antifúngicos / Mari Gleí Hernandez Liscano.-2015.
70 f.; 30cm

Orientador: Sydney Hartz Alves
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Maria, Centro de Ciências da Saúde, Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, RS, 2015

1. Dermatofitos 2. Antifúngicos 3. Suscetibilidade I. Hartz Alves, Sydney II. Título.

© 2015

Todos os direitos autorais reservados a Mari Gleí Hernandez Liscano. A reprodução de partes ou do todo deste trabalho só poderá ser feita mediante a citação da fonte.

E-mail: mari.liscano@ufsm.br

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

A Comissão Examinadora, abaixo assinada,
aprova a Dissertação de Mestrado

**SUSCETIBILIDADE DE *TRICHOPHYTON RUBRUM* E
TRICHOPHYTON MENTAGROPHYTES FRENTE A AGENTES
ANTIFÚNGICOS**

elaborada por
Mari Gleí Hernandez Liscano

como requisito parcial para obtenção do grau de
Mestre em Ciências Farmacêuticas

COMISSÃO EXAMINADORA:

Sydney Hartz Alves, PhD. (UFSM)
(Presidente/Orientador)

Daniele Carvalho de Oliveira, Dr^a. (URI)

Érico Silva de Loreto, PhD. (UFSM)

Santa Maria, 29 de maio de 2015.

Aos meus filhos Rodrigo e Daniele, e a meus pais Carmem e Gastão por
todo o amor e dedicação.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por iluminar o meu caminho e permitir que eu realizasse mais uma conquista.

Aos meus filhos pela paciência e compreensão.

Aos meus colegas do setor de Microbiologia e Micologia do Laboratório Central de Análises Clínicas do Hospital Universitário de Santa Maria.

Ao meu professor e orientador Sydney Hartz Alves pela oportunidade de realizar este trabalho.

Ao meu chefe Elehu Oliveira por ter me concedido a liberação parcial, possibilitando assim que eu tivesse mais tempo para me dedicar às pesquisas.

Às colegas de pós-graduação, Tarciele e Franciele, pela ajuda imprescindível na realização das pesquisas de bancada e elaboração das aulas da disciplina de docência orientada. À Talita, estudante de farmácia, que colaborou na compilação dos dados e também foi minha orientada na disciplina de iniciação científica.

Às minhas colegas e amigas da pós-graduação Melise e Roberta por toda ajuda imprescindível que me deram na hora em que mais precisei. Roberta foi o meu anjo sem asas dando todo o apoio e colaboração para que eu concluísse esta dissertação a tempo, nunca esquecerei este gesto.

Ao Hospital Universitário de Santa Maria, à Universidade Federal de Santa Maria e ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, que possibilitaram a realização deste trabalho.

Agradeço a todos que de alguma forma colaboraram comigo para que este trabalho fosse realizado.

Muito obrigada!

“Talvez não tenha conseguido fazer o melhor, mas lutei para que o melhor fosse feito. Não sou o que deveria ser, mas Graças a Deus, não sou o que era antes”.

(Martin Luther King)

RESUMO

Dissertação de Mestrado
Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas
Universidade Federal de Santa Maria

SUSCETIBILIDADE DE *TRICHOPHYTON RUBRUM* E *TRICHOPHYTON MENTAGROPHYTES* FRENTE A AGENTES ANTIFÚNGICOS

AUTORA: MARI GLEI HERNANDEZ LISCANO
ORIENTADOR: PROF. DR. SYDNEY HARTZ ALVES
Local e Data da Defesa: Santa Maria, 29 de maio de 2015.

Dermatófitos são um grupo de fungos com capacidade de invadir tecidos queratinizados e causar infecções denominadas dermatofitoses. São frequentes em todo o mundo, e não se conhece a incidência real por não ser de notificação obrigatória. As espécies *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Microsporum canis*, *Trichophyton tonsurans* e *Epidermophyton floccosum* são frequentemente relatadas como as causadoras de infecções em humanos. Estudos demonstram que pacientes imunocompetentes são acometidos por dermatófitos em uma taxa 40%, sendo que, aqueles pacientes com o sistema imune debilitado, aumentam a ocorrência destes dermatófitos, assim como a gravidade das lesões. Inserindo neste contexto, o presente estudo objetivou a avaliar o perfil de suscetibilidade dos antifúngicos frente a duas espécies de dermatófitos mais frequentes, *T. rubrum* e *T. mentagrophytes*, encontradas nas amostras clínicas dos pacientes atendidos no HUSM, essas culturas encontravam-se armazenadas em uma micoteca, as quais foram realizadas *in vitro*, através da técnica de microdiluição em caldo, conforme as recomendações do documento M38-A2 do *Clinical Laboratory Standarts*. A análise do perfil de suscetibilidade dos antifúngicos foi realizada a partir das espécies de *T. rubrum* (n=30) e *T. mentagrophytes* (n=30) das lesões ungueais, que foram as lesões de maior ocorrência em estudos anteriores realizados por Lopes, J. O. et al. (1999). As concentrações inibitórias mínimas (CIMs) mais baixas foram verificadas frente a terbinafina (0,03 – 0,5 µg/mL) e itraconazol (0,03 – 0,5 µg/mL). Contrariamente, as CIMs mais elevadas foram frente ao fluconazol (1 – 32 µg/mL) e griseofulvina (0,25 – 4,0 µg/mL). Isolados resistentes foram detectados frente ao fluconazol (15/25%) e a griseofulvina (17/28,3%). A resistência cruzada entre azólicos não foi detectada, todavia, a multirresistência frente ao fluconazol e griseofulvina foi detectada em seis isolados [*T. rubrum* (n= 5) e *T. mentagrophytes* (n=1)], representando 10% dos isolados estudados. De modo geral, o perfil de suscetibilidade demonstrou elevada sensibilidade frente aos antifúngicos, sendo detectado apenas isolados resistentes frente ao fluconazol e a griseofulvina em pequenas porcentagens. Ainda, foram detectados multirresistência frente ao fluconazol e griseofulvina em seis isolados.

Palavras-chave: Dermatófitos. Perfil de suscetibilidade. Antifúngicos.

ABSTRACT

Master Course Dissertation
Posgraduate Program in Pharmaceutical Sciences
Federal University of Santa Maria

SUSCEPTIBILITY OF TRICHOPHYTON RUBRUM AND TRICHOPHYTON MENTAGROPHYTES FRONT OF ANTIFUNGAL AGENTS

AUTHOR: MARI GLEI HERNANDEZ LISCANO

ADVISER: SYDNEY HARTZ ALVES

Defense Place and Date: Santa Maria, May 29th, 2015.

Dermatophytes are a group of fungi with the capacity to invade keratinized tissues and cause infections called dermatophytosis. They are common worldwide, and does not know the true incidence because it is not notifiable. The species *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Microsporum canis*, *Trichophyton tonsurans*, and *Epidermophyton floccosum* are often reported as the cause of infections in humans. Studies show that immunocompetent patients are affected by dermatophytes in a 40% rate, and that those patients with a weakened immune system, increase the occurrence of these dermatophytes, as well as the severity of the lesions. Entering this context, the present study aimed to evaluate the susceptibility profile of antifungal front of two species most common dermatophytes, *T. rubrum* and *T. mentagrophytes*, found in clinical samples from patients treated at HUSM, these cultures were stored-in one mycology collection, which were performed in vitro by broth microdilution technique as per the recommendations of the document M38-A2 of *Clinical Laboratory Standarts*. The analysis of the antifungal susceptibility profile was made from the species *T. rubrum* (n = 30) and *T. mentagrophytes* (n = 30) of the nail lesions, which were the most frequent injuries in previous studies by Lopes, O.J. et al. (1999). The minimum inhibitory concentrations (MICs) were recorded lower front terbinafine (from 0.03 to 0.5 µg / mL) and itraconazole (0.03 to 0.5 µg / mL). Conversely, the higher MICs to fluconazole were forward (1-32 µg / mL) and griseofulvin (0.25 to 4.0 µg / mL). Resistant isolates were detected against fluconazole (15/25%) and griseofulvin (17 / 28.3%). Cross-resistance between azole was not detected, however, the front multidrug resistance to fluconazole and griseofulvin was detected in six isolates [*T. rubrum* (n = 5) and *T. mentagrophytes* (n = 1)], representing 10% of the isolates. In general, the susceptibility profile showed high sensitivity to antifungal front, being detected only against fluconazole resistant isolates and griseofulvin in small percentages. Still, multidrug resistance was detected against the fluconazole and griseofulvin in six isolated.

Keywords: Dermatophytes. Susceptibility profile. Antifungals.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Onicomicose subungueal distal-lateral	33
Figura 2 – Onicomicose branca superficial	33
Figura 3 – Onicomicose subungueal proximal	33
Figura 4 – Onicomicose distrófica	33

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Distribuição dos dermatófitos de acordo com o habitat de sua preferência.20

LISTA DE TABELAS

Capítulo 1

Tabela 1 – Suscetibilidade de <i>T. mentagrophytes</i> (n=30) frente a agentes antifúngicos.	56
Tabela 2 – Suscetibilidade de <i>T. rubrum</i> (n=30) frente a agentes antifúngicos.	56
Tabela 3 – Número e percentual de isolados resistentes de <i>T. rubrum</i> e <i>T. mentagrophytes</i> frente a agentes antifúngicos.	56
Tabela 4 – Percentual de resistência cruzada e multirresistência de <i>T. rubrum</i> e <i>T. mentagrophytes</i> frente a agentes antifúngicos.	56

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

°C	Graus <i>Celsius</i>
AIDS/SIDA	Síndrome da Imunodeficiência Adquirida
ASD	Ágar Sabouraud dextrose
CIM	Concentração Inibitória Mínima
CLSI	<i>Clinical and Laboratory Standards Institute</i>
DNA	Ácido de desoxirribonucleico
DTM	Dermatophyte Test Medium
h	Horas
HIV	Vírus da imunodeficiência humana
HUSM	Hospital Universitário de Santa Maria
LAC	Laboratório de Análises Clínicas
LAPEMI	Laboratório de Pesquisas Micológicas
LES	Lúpus eritematoso sistêmico
MALDI-TOFF	Matriz assistida por desadsorção a laser, ionização em tempo corrido
MS	Espectometria de massa
OBS	Onicomicose branca superficial
ODT	Onicomicose distrófica total
OE	Onicomicose endotrix
OSDL	Onicomicose subungueal distal-lateral
OSP	Onicomicose subungueal proximal
PCR	Reação em Cadeia da Polimerase
POP	Procedimento Operacional Padrão
QS	Sensor de Qualidade
RS	Rio Grande do Sul
UFSM	Universidade Federal de Santa Maria

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	15
2 JUSTIFICATIVA	17
3 OBJETIVOS	18
3.1 Objetivo geral	18
3.2 Objetivos específicos	18
4 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	19
4.1 Dermatófitos	19
4.1.1 Principais características dos gêneros.....	22
4.1.1.1 Gênero <i>Epidermophyton</i>	23
4.1.1.2 Gênero <i>Microsporum</i>	23
4.1.1.3 Gênero <i>Trichophyton</i>	24
4.1.2 Distribuição geográfica.....	25
4.2 Dermatofitoses	26
4.2.1 Formas clínicas	27
4.2.1.1 <i>Tinea barbae</i>	27
4.2.1.2 <i>Tinea capitis</i>	28
4.2.1.3 <i>Tinea corporis</i>	29
4.2.1.4 <i>Tinea cruris</i>	30
4.2.1.5 <i>Tinea manum</i>	31
4.2.1.6 <i>Tinea pedis</i>	31
4.2.1.7 <i>Tinea unguium</i>	32
4.2.2 Epidemiologia das dermatofitoses.....	33
4.2.3 Diagnóstico das dermatofitoses	36
4.2.3 Tratamento das dermatofitoses	37
4.2.3.1 Antifúngicos	39
4.2.3.1.1 Griseofulvina	39
4.2.3.1.2 Ciclopirox olamina	40
4.2.3.1.3 Azóis.....	40
4.2.3.1.4 Alilaminas.....	41
4.3 Avaliação da suscetibilidade dos dermatófitos aos antifúngicos	41
4.4 Falhas terapêuticas	43
5 RESULTADOS	46
5.1 Capítulo 1	46
Suscetibilidade de <i>T. rubrum</i> e <i>T. mentagrophytes</i> a agentes antifúngicos	46

Resumo	46
Abstract	47
Introdução	47
Material e métodos	48
Resultados	50
Discussão	52
Referências	57
6 DISCUSSÃO GERAL	61
7 CONCLUSÃO	62
REFERÊNCIAS	63

1 INTRODUÇÃO

Os fungos são seres unicelulares ou pluricelulares, decompositores de substâncias orgânicas, que estão amplamente distribuídos na natureza e podem ser utilizados de várias maneiras pelo homem e também viver no organismo humano como saprófitos ou parasitas, causando infecções em homens e também em animais (DIOGO et al., 2009). No parasitismo são chamadas de micoses que podem ser superficiais, subcutâneas e sistêmicas ou profundas. As formas superficiais incluem aquelas que acometem estruturas como a pele, os pelos e as unhas (SANCHES-SALDAÑA et al., 2009; ROQUE, 2013).

A história da micologia médica teve início com o estudo dos dermatófitos por Robert Remak, em 1837, quando elucidou a etiologia do *Favus*. Em 1839, Johann Schönlein reconheceu a origem micótica destas infecções. Mais tarde, 1842, David Gruby redescobre o agente etiológico do *Favus*, e cria o gênero *Microsporum* reafirmando a etiologia fúngica de todas as tinhas. Malmsten em 1845 criou o gênero *Trichophyton* com a descoberta da espécie *Trichophyton tonsurans*; Charles Robin em 1947 identificou a espécie *Trichophyton mentagrophytes*; Baun e Meissner descobriram a onicomiose causada por dermatófitos em 1860 (WEITZMAN & SUMMERBELL, 1995; GRÄSER et al., 2008; SÁNCHEZ-SALDAÑA et al., 2009; NEGRONI, 2010).

No ano de 1910, Raymond Jacques Andrien Sabouraud, publicou um tratado de micologia médica que classificou os dermatófitos em quatro gêneros, marcando a história da micologia médica. Em 1934, fundamentando-se nos trabalhos de Sabouraud, Chester Emmons estabeleceu a atual classificação dos dermatófitos, baseando-se nas características morfológicas dos conídios (WEITZMAN & SUMMERBELL, 1995), sendo que nas primeiras décadas do século XX várias espécies de dermatófitos foram identificadas, como *T. violaceum*, *T. verrucosum*, *Microsporum canis*, *Microsporum gypseum*, *Epidermophyton floccosum* e *Trichophyton rubrum* (TAÜBER; MÜLLER-GOYMANN, 2014). Algumas espécies têm distribuição geográfica definida pelos grupos étnicos que ali vivem; alterações nas condições de vestuário, nutrição, exposição a fármacos e estado imunológico são outros fatores determinantes das dermatofitoses e seus agentes etiológicos (VENA et al., 2012; PIRES et al., 2014).

Os medicamentos antifúngicos tópicos utilizados no tratamento de micoses superficiais no século XIX, constituíam-se de alguns sais inorgânicos, como permanganato de

potássio, arsenato de chumbo, cloreto de mercúrio e iodeto de potássio. No início do século XX, foram introduzidos na prática clínica acriflavin, violeta genciana, ácidos benzóico, acetilsalicílico, undecanóico e undecylenic, sendo os primeiros medicamentos antifúngicos orgânicos de uso tópico. A busca de novos antifúngicos foi influenciada pela descoberta da penicilina e sua utilização clínica nos anos 1940, época em que a idéia de quimioterapia sintética começou a surgir (VALDÉS, 2005; MARTINÉZ-ROSSI et al., 2008). Em 1958, o tratamento utilizado com antifúngicos para os dermatófitos foi revolucionado por Gentles, com o uso da griseofulvina (WEITZMAN & SUMMERBELL, 1995; SÁNCHEZ-SALDAÑA, 2009; NEGRONI, 2010).

Os antifúngicos sistêmicos para o tratamento de micoses eram raros até o advento da quimioterapia moderna. Embora os números de drogas antifúngicas fossem poucos, as infecções fúngicas eram facilmente tratadas antes de 1980, por elas serem na maioria das vezes limitadas a micoses superficiais (VALDÉS, 2005; MARTINÉZ-ROSSI et al., 2008).

Atualmente, embora exista uma variabilidade maior de opções de antifúngicos, tanto tópicos quanto sistêmicos, o arsenal terapêutico ainda é bastante restrito, e é clara a necessidade de novos antifúngicos mais eficazes e menos tóxicos. Os principais grupos de antifúngicos utilizados para o tratamento de micoses superficiais e cutâneas são os imidazóis (cetoconazol, isoconazol), triazóis (fluconazol e itraconazol), alilamina (terbinafina), griseofulvina e ciclopiroxolamina (ALMEIDA et al., 2009).

A terapêutica das dermatofitoses, seja tópica ou oral, ainda requer atenção, pois costumam ter um longo período de tratamento, além do custo elevado, podendo contribuir para elevadas taxas de recidivas das dermatofitoses. Recentemente, com a padronização dos testes de suscetibilidade para fungos filamentosos, a possibilidade de avaliação da suscetibilidade dos dermatófitos passou a ser uma realidade e a resistência pode ser considerada como outra causa das recidivas (PIRES et al., 2014).

2 JUSTIFICATIVA

Mesmo se tratando de uma infecção facilmente tratada na maioria dos casos, quando acomete pacientes imunocomprometidos essas dermatofitoses são mais graves e por isso, merecem uma maior atenção por parte dos órgãos de saúde pública.

Este estudo, teve o intuito de obter o conhecimento do perfil de suscetibilidade frente aos antifúngicos. Com o perfil de suscetibilidade juntamente com a possível resistência a antifúngicos dos dermatófitos, comprovaremos a necessidade da realização desses testes com antifúngicos na rotina laboratorial, que possibilitará o uso racional das drogas antifúngicas, que é fundamental para a redução das recidivas dessas infecções, controle da disseminação das dermatofitoses e controle da resistência para que não sejam difundidas.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Avaliar o perfil de suscetibilidade de sete antifúngicos, comumente usados para tratar infecções fúngicas, contra as duas espécies de dermatófitos com maior número de isolamentos, *T. rubrum* e de *T. mentagrophytes*, de amostras de onicomicoses armazenadas no departamento de Microbiologia e Parasitologia da UFSM.

3.2 Objetivos específicos

- Avaliar o perfil de suscetibilidade das principais espécies frente aos antifúngicos: cetoconazol, fluconazol, isoconazol, itraconazol, terbinafina, griseofulvina e ciclopirox olamina;
- Verificar a existência ou não de resistência frente aos antifúngicos.

4 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

4.1 Dermatófitos

Os dermatófitos são um grupo de fungos patogênicos altamente especializados, não oportunistas, que são filamentosos, hialinos, septados, algumas vezes artroconidiados, e são capazes de digerir e obter nutrientes da queratina que é uma proteína de elevado peso molecular, relativamente insolúvel, composta de aminoácidos e ligações peptídicas que estão presentes na pele, cabelo e unhas, podendo ser queratinofílicos e queratinolíticos (MONOD, 2008). São produtores de enzimas proteolíticas que catalisam a quebra de ligações peptídicas das proteínas (MONOD, 2008; DI CHIACCHIO et al., 2014) e que em vida parasitária são capazes de produzir infecções, tanto em humanos como animais, denominadas dermatofitoses (AQUINO et al., 2007; MEGAGNIN et al., 2011).

Muitos dermatófitos vivem em saprofitismo com o homem ou animais sem causar doença, permanecendo restritos ao estrato córneo da pele e seus apêndices, todavia se o hospedeiro apresentar traumas ou imunidade comprometida o agente poderá determinar infecções chamadas vulgarmente por *tinea* no latim ou *tinha* na língua portuguesa. Estas infecções podem vir a afetar também a derme e o tecido subcutâneo (tecido não queratinizado) causando granulomas ou pseudomicetomas, o que ocorre com frequência em pacientes com ou sem distúrbios imunológicos (JARABRÁN et al., 2014).

A infecção também ocorre quando o fungo, pelo contato direto, acometer novo hospedeiro, é comum a situação em que esteja colonizando um indivíduo (colonizado sem doença) e ao acometer outro, este não tenha agentes inibidores da queratinase, o que resultará em doença. Esta situação pode ocorrer entre animais e o homem ou entre os humanos; é comum que uma colonização em adultos resulte em infecção em crianças, sobretudo no couro cabeludo. Estima-se que 30 a 70% dos adultos sejam portadores assintomáticos desses patógenos (PERES et al., 2010; JARABRÁN et al., 2014).

A reprodução sexuada dos dermatófitos determina seu estágio conhecido como teleomórfico e estão classificados no gênero *Arthroderma*; por outro lado, com base na reprodução assexuada (estágio anamórfico) os dermatófitos estão classificados em três gêneros: *Trichophyton*, *Microsporum*, e *Epidermophyton*, com base nas características fenotípicas e genotípicas. Estão bem estabelecidas 40 espécies dos gêneros anamórficos: 22

espécies de *Trichophyton*, 16 de *Microsporum*, e duas de *Epidermophyton* (ALY, 1994), destas 27 são patogênicas para o homem (BUDAK et al., 2012) e 15 ocorrem no Brasil, sendo que as principais são: *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton mentagrophytes*, *E. floccosum*, *Microsporum canis*, *Microsporum gypseum* e *Trichophyton tonsurans* (AQUINO et al., 2007; SCHOELER et al., 2010). No estado do Rio Grande do Sul sete espécies são comuns (AQUINO et al., 2007).

A distribuição geográfica dos dermatófitos é bastante variável; enquanto alguns são cosmopolitas, a distribuição de outros depende de alguns fatores que promovem as variações no espectro destes fungos de região para região (BRILHANTE, 2000).

Com base no habitat preferencial os dermatófitos, conforme a Tabela 1, foram divididos, em três grupos por Ajello em 1978: a) Geofílico, compreendem as espécies que habitam o solo, nutrindo-se de queratina existente no local, humana ou animal, ou em decomposição e ocasionalmente podem se tornar patogênicos e infectar homens e animais produzindo reações inflamatórias intensas; b) Zoofílicos, compreendem os dermatófitos que tem preferência pelos animais como hospedeiros, também podem infectar humanos e são responsáveis aproximadamente por 30% das dermatofitoses humanas as quais caracterizam-se por reações inflamatórias intensas; c) Antropofílico, são aqueles que tem no homem seu habitat natural; contudo podem ser patogênicos e transmitidos por contato direto ou indireto. São responsáveis por 70% das dermatofitoses humanas, caracterizadas por infecção crônica e de progressão lenta, sugerindo que o fungo se adaptou ao hospedeiro humano (ALY, 1994; BRILHANTE, 2000; FERNANDO-TORRES et al., 2005; SÁNCHEZ-SALDAÑA et al., 2009; PERES et al., 2010; DI CHIAICCHIO et al., 2014).

Antropofílicos	Zoofílicos	Geofílicos
<i>T. rubrum</i>	<i>M. canis</i>	<i>M. gypseum</i>
<i>T. mentagrophytes var interdigitale</i>	<i>T. mentagrophytes var mentagrophytes</i>	<i>M. nanum</i>
<i>E. floccosum</i>	<i>T. verrucosum</i>	<i>T. terrestre</i>
<i>T. tonsurans</i>	<i>M. equinum</i>	<i>T. ajelloi</i>
<i>T. concentricum</i>	<i>T. equinum</i>	<i>M. fulvum</i>
<i>T. violaceum</i>	<i>M. gallinae</i>	
<i>T. schoenleinii</i>		
<i>M. ferrugineum</i>		
<i>T. saudonense</i>		
<i>T. megninii</i>		
<i>M. audouinii</i>		

Quadro 1 – Distribuição dos dermatófitos de acordo com o habitat de sua preferência.

Fonte: Adaptado de Aly (1994); Rubio (1999); Sánchez-Saldaña et al., (2009).

Como já foi citado, os dermatófitos são saprófitos do solo que adquiriram a capacidade de digerir os restos de queratina no solo, tornando-se assim fungos queratinofílicos. Alguns desses organismos evoluíram filogeneticamente de modo gradual para parasitar tecidos queratinizados de animais que vivem em estreita proximidade com o solo, tais como *M. nanum* em suínos e *T. quickeanum* em camundongos, e perderam sua capacidade de sobreviver no solo (ALY, 1994).

A evolução dos dermatófitos é impulsionado por sua ecologia, reprodução, adaptação ao hospedeiro e patogenicidade. Há uma teoria que os dermatófitos antropofílicos evoluíram dos zoofílicos e de acordo com este ponto de vista, alguns dermatófitos zoofílicos ao se adaptarem à queratina humana perderam sua capacidade de digerir a queratina animal (ALY, 1994; CAFARCHIA et al., 2013).

Alguns dermatófitos não perderam a sua especificidade de hospedeiro e mantiveram afinidade com a queratina dos animais e dos seres humanos, como *M. canis* e *T. mentagrophytes* (ALY, 1994). Assim, quando fungos zoofílicos infectam os seres humanos, provocam uma resposta inflamatória mais grave do que em animais. A produção de protease está envolvida na resposta inflamatória à infecção, e acredita-se que alguns dermatófitos se especializam para um determinado hospedeiro (CHEN et al., 2010). Um exemplo é o *T. mentagrophytes var. mentagrophytes* que produz algumas proteases quando cresce em presença de queratina de animais, mas sintetiza ambas as enzimas mais ativas, e produz uma grande variedade de outras proteases, quando crescem em queratina de humanos ou de cobaias (ALY, 1994).

Os fungos geofílicos se caracterizam pela abundante produção de conídios. No processo de evolução a partir de geofílicos saprófitos para zoofílicos e para antropofílicos, a produção de conídios é gradualmente diminuída (ALY, 1994).

Os dermatófitos antropofílicos, como *M. audouinii*, *T. rubrum*, *T. schoenleinii* e *T. violaceum*, produzem poucos conídios em cultura. Embora o *E. floccosum*, antropofílico, produz muitos conídios no primeiro isolamento, mas essa capacidade é reduzida pelos repetidos subcultivos (ALY, 1994).

Estes fungos altamente evoluídos, com especificidade por hospedeiros, reproduzem-se assexuadamente gerando seus propágulos que são os chamados artroconídios, os quais são resultado da desarticulação de fragmentos de hifas. Esses propágulos podem sobreviver nos ambientes por longos períodos (ALY, 1994). Este fato tem repercussões no tratamento, onde o reconhecimento clínico do microecossistema parasitado pode ser definidor de tratamentos mais longos ou não (ALY, 1994).

Acredita-se que quanto mais distanciado filogeneticamente está o dermatófito da espécie por ele parasitada, maior será a resposta inflamatória e mais fácil a cura (ALY, 1994; CAFARCHIA et al., 2013).

Na população de idosos destaca-se o aumento de onicomicose podais, este fato pode ser decorrente ao enfraquecimento do sistema imunológico, alterações circulatórias, sedentarismo e incapacidade de manter bons cuidados com os pés, reduzida taxa de crescimento da lâmina ungueal e o aumento da possibilidade de trauma (VASCONCELLOS et al., 2013).

4.1.1 Principais características dos gêneros

A identificação das espécies de dermatófitos é realizada com base na classificação descrita por Emmons, fundamentada na observação ao microscópio das estruturas fúngicas assim como na morfologia das colônias crescidas nos meios de cultura como o ágar Sabouraud dextrose (ASD). A adição de 1% de extrato de levedura ao meio ASD ou a utilização de outros meios como ágar fubá dextrose, ágar batata podem ser necessários para estimular a esporulação. Para certas espécies, a utilização de testes adicionais (nutricionais e fisiológicos) poderá ser necessária para uma correta identificação (WEITZMAN & SUMMERBELL, 1995; SANTOS, 2002; CAFARCHIA et al., 2013).

Os aspectos macroscópicos das culturas de dermatófitos são também uteis na sua identificação presuntiva, onde destacam-se características como: presença de pigmentação do micélio aéreo ou do reverso, a textura da superfície, a topografia das margens das colônias, assim como a taxa de crescimento do fungo, as quais deverão ser cuidadosamente examinadas (WEITZMAN & SUMMERBELL, 1995).

Com relação as características microscópicas, são importantes aspectos como: o tipo de conídios produzidos, sua cor, morfologia, tamanho, disposição em relação as hifas, textura, entre outros (GRÄSER et al., 2008).

A maioria das espécies de dermatófitos produz dois tipos de conídios: grandes conídios chamados de macroconídios os quais são pluricelulares e pequenos conídios unicelulares chamados microconídios. A presença ou ausência destes dois tipos de conídios e o tipo de parede (rugosa ou lisa) são importantes para a identificação das espécies de dermatófitos (WEITZMAN & SUMMERBELL, 1995).

4.1.1.1 Gênero *Epidermophyton*

É um gênero que conta com duas espécies: *E. stockdaliae*, espécie exclusivamente geofílica e o *E. floccosum*, antropofílico, sendo a única de interesse clínico (WEITZMAN; SUMMERBELL, 1995).

E. floccosum é um patógeno exclusivamente de pele glabra, secundariamente acomete unhas e é incapaz de parasitar pelos. Os membros do gênero *Epidermophyton* diferem macroscopicamente dos gêneros *Trichophyton* e *Microsporum* por evidenciarem colônias com a superfície aveludada, plana ou levantada e dobrada no centro, normalmente com uma cor verde-oliva ou amarelo-acastanhado. O reverso das colônias pode ir de acastanhado a alaranjado. Em colônias mais velhas podem surgir pequenos tufo de micélio branco, que correspondem a áreas de pleomorfismo precoce e colônias gigantes (WEITZMAN & SUMMERBELL, 1995; SÁNCHEZ-SALDAÑA et al., 2009).

Os aspectos microscópicos deste gênero incluem a ausência de microconídios e a presença de numerosos macroconídios multisseptados, multicelulares, claviformes, de parede lisa e arredondados na extremidade, e dispostos em verticilo; é comum a presença de clamidoconídios nestas culturas. Apresenta hifas hialinas, septadas e ramificadas (WEITZMAN & SUMMERBELL, 1995; SÁNCHEZ-SALDAÑA et al., 2009).

4.1.1.2 Gênero *Microsporum*

O gênero *Microsporum* inclui espécies envolvidas em processos infecciosos do homem e animais na dependência das características geográficas e do hospedeiro. Este, caracteriza-se por parasitar a pele glabra, os pelos e raramente as unhas; os pelos são parasitados na forma *ectothrix* de maneira que se encontram filamentos no interior e esporos no exterior (WEITZMAN & SUMMERBELL, 1995; SÁNCHEZ-SALDAÑA et al., 2009).

Os membros do gênero *Microsporum*, macroscopicamente exibem colônias que podem ser similares às apresentadas pelos isolados do gênero *Trichophyton*, de aspecto algodonosa ou pulverulenta, com coloração esbranquiçada, acinzentada, amarelada e ocasionalmente cor-de-rosa. A pigmentação no verso da colônia varia muito de acordo com as espécies (WEITZMAN & SUMMERBELL, 1995; SÁNCHEZ-SALDAÑA et al., 2009).

Microscopicamente os membros deste gênero apresentam micro e macroconídios, sendo que os numerosos macroconídios multicelulares apresentam paredes espessas e rugosas, e são a principal característica na identificação dos isolados deste grupo. Os macroconídios apresentam várias morfologias, de ovoide a cilindro-fusiforme e, dependendo das espécies, possuem de um a 15 septos (multisseptados). Os microconídios são unicelulares e claviformes ou piriformes e ligados diretamente ou por meio de um esterigma às paredes das hifas. Pode ainda ser observada a presença de micélio em raquete, de corpos nodulares e de clamidósporos (WEITZMAN & SUMMERBELL, 1995; SÁNCHEZ-SALDAÑA et al., 2009).

4.1.1.3 Gênero *Trichophyton*

É o mais frequentemente envolvido nas dermatofitoses, acometendo tanto a pele glabra como cabelos e unhas. O parasitismo dos pelos é *endothrix* e nas formas inflamatórias e supurativas (kerion) é *endo-ectothrix*. São produtores de tricofitina, um antígeno responsável pelas reações inflamatórias. As espécies deste gênero apresentam a superfície das colônias com aspectos variados onde as colônias podem ser aveludadas, pulverulentas, granuladas, lisas ou serosas com coloração geralmente branca, amarelada ou mais raramente cor-de-rosa a roxa. A pigmentação no verso da colônia varia também de acordo com as espécies (SÁNCHEZ-SALDAÑA et al., 2009).

Na microscopia, de um modo geral, as espécies mais frequentemente encontradas produzem numerosos microconídios e mais raramente macroconídios. A dimensão, a forma (desde piriforme, claviforme, esférica a alongada) e a disposição dos microconídios nas hifas (isolados ao longo das paredes das hifas ou agrupados em cachos) auxilia bastante na identificação fenotípica das espécies. Quando presentes, os macroconídios possuem paredes finas e lisas e formas variadas desde alongada, forma de lápis, claviforme e fusiforme a cilindro-fusiforme; apesar destas variações todo o gênero *Trichophyton* apresenta macroconídios, de tal forma que não auxiliam na identificação das espécies.

As colônias podem apresentar hifas em espirais, hifas em raquete ou sem qualquer característica. Alguns testes fisiológicos como a produção de urease e o ataque ao pelo são também utilizados para a identificação dos isolados ao nível de espécie (WEITZMAN & SUMMERBELL, 1995; SÁNCHEZ-SALDAÑA et al., 2009).

4.1.2 Distribuição geográfica

A ocorrência das infecções micóticas cutâneas é considerada uma das mais prevalentes no mundo. Acredita-se que, em média, 10-15% da população humana pode ser acometido no decorrer da sua vida por esses micro-organismos (MAGAGNIN et al., 2011). As infecções por dermatófitos afetam aproximadamente 40% da população mundial e são responsáveis por 30% de todas as infecções micóticas cutâneas. Além disto, é o tipo mais frequente nas onicomicose, sendo responsáveis por 18% a 40% destas e, cerca de 90% das onicopatias por dermatófitos são causados pelas espécies *Trichophyton rubrum* e *Trichophyton mentagrophytes* (ZIMMERMAM-FRANCO et al., 2013).

Os dermatófitos são cosmopolitas, mas manifestam variações regionais muito marcantes no que diz respeito as espécies e à frequência. Fatores populacionais como sexo, idade, imunidade, hábitos (sociais, culturais, religiosos e econômicos), populações fechadas, migrações, e fatores temporais (sazonalidade) causam grande influência no tipo de agente infectante (KALINOWSKA, 2012; PIRES et al., 2014).

Ao se estudar a prevalência das diferentes espécies de dermatófitos em distintas áreas geográficas, a distribuição de dermatofitoses clínica deve ser levada em consideração. A microbiota fúngica mundial sofre, periodicamente, alterações em sua composição quantitativa e qualitativa, em função de fatores ambientais, como o desenvolvimento urbano, a industrialização, a localização geográfica e condições climáticas, tais como temperatura e tempo de exposição à radiação ultravioleta (ARAÚJO et al., 2003).

Dentre os dermatófitos, *T. rubrum* é o agente mais comum, não só no Brasil, mas também em todo o mundo, sendo causador de *Tinea pedis*, onicomicoses, *Tinea cruris* e *Tinea corporis* (HAVLICKOVA, 2008).

Outras espécies de distribuição mundial são: *E. floccosum*, *M. gypseum*, *T. mentagrophytes* var. *interdigitale*, *T. tonsurans* e *T. violaceum* (HAVLICKOVA, 2008).

Espécies com distribuição geográfica mais restrita incluem: *M. ferrungineum*, comum na África, Índia, leste da Europa, Ásia e América do Sul; *T. concentricum* que é comum nas Ilhas do Pacífico, Extremo Oriente, Índia, e em todo o Continente Americano; *T. gourvilii* é comum na África central e ocidental; *T. megninii* é frequente em Portugal e Sardenha; *T. schoenleinii* é comum na Europa Mediterrânea, Oriente Médio, África do Sul tendo frequência esporádica nos Estados Unidos; *T. soudanense* que é mais isolado na África Central e Ocidental (HAVLICKOVA et al., 2008).

O Brasil, com sua área geográfica extensa, apresenta condições geoclimáticas e sociais extremamente diferenciadas as quais afetam a distribuição dos dermatófitos. Na região Norte, por ser uma região quente e úmida e na região Nordeste pelo calor, prevalece as espécies *T. tonsurans*, *T. rubrum* e *M. canis*. Nas regiões Sul e Sudeste a incidência maior é de *T. rubrum*, *M. canis* e *T. mentagrophytes*. No estado de São Paulo foi realizado um estudo em crianças e diagnosticaram o *M. canis*, *T. tonsurans*, *T. mentagrophytes*, *M. gypseum* e *T. rubrum* os mais prevalentes nesta ordem (PERES et al., 2010; PIRES et al., 2014).

4.2 Dermatofitoses

As dermatofitoses ou tinhas são micoses superficiais causadas pelos fungos dermatófitos, constituindo uma das infecções mais comuns no mundo. Nos últimos anos a literatura científica tem relatado uma crescente incidência destas infecções (BRILHANTE, 2000; BUDAK et al., 2013; AKTAS et al., 2014).

Os arthroconídios, forma infectante dos fungos dermatófitos, é uma célula muito resistente as condições ambientais, podendo sobreviver durante longo período no tempo. Ao entrar em contato com o homem ou mamíferos, os arthroconídios se aderem ao extrato córneo e desenvolvem hifas que vão penetrando e invadindo as células queratinizadas causando lesões cutâneas de contornos arredondados localizadas em qualquer parte do tegumento cutâneo (AIJABRE et al., 1993; MARTINEZ-ROSSI et al., 2008).

A queratina é o substrato que os dermatófitos necessitam para obter os nutrientes necessários para seu desenvolvimento. Os dermatófitos metabolizam e digerem esta proteína graças a produção de lipases, endopeptidases, glucosidases, nucleases, queratinases, colagenases e elastases. Estas enzimas, além de favorecer a penetração e o desenvolvimento do micélio no tecido queratinizado, provocam uma resposta inflamatória que ocorre em função da sensibilização da derme (MARTINEZ-ROSSI et al., 2008; BUDAK et al., 2013).

A descamação e o prurido são manifestações clínicas frequentes as quais podem evoluir para formação de áreas de extensa inflamação, dependendo da resposta imunológica do paciente, do sítio infeccioso e do *habitat* natural do fungo. Algumas glicoproteínas inerentes ao fungo são capazes de inibir a imunidade mediada por células contribuindo para que as lesões se tornem crônicas (BLAKE et al., 1991).

Alguns estudos têm demonstrado que outros componentes como a progesterona e alguns ácidos graxos insaturados inibem o desenvolvimento de dermatófitos nos tecidos. Também tem sido demonstrado que as dermatofitoses poder ter um componente genético predisponente (PIÉRARD et al., 1996; ZAÍAS et al., 1996).

As dermatofitoses podem ser adquiridas por contato direto com objetos contaminados e através do contato com animais e contato entre humanos. As manifestações clínicas de cada forma clínica são normalmente identificadas de acordo com os tecidos afetados, mas uma determinada forma clínica pode ser causada por diferentes espécies, e uma espécie pode causar mais de uma forma clínica da doença (KALINOWSKA, 2012; HAWKINS; SMIDT, 2014; PIRES et al., 2014).

4.2.1 Formas clínicas

As dermatofitoses apresentam diferentes manifestações clínicas. Os diversos tipos de dermatofitoses são classificadas de acordo com o local da infecção, utilizando-se a palavra *tinea* seguida pelo termo em latim do local do corpo afetado. Assim a chamada *Tinea corporis* ou tinha do corpo inclui as manifestações de dermatofitoses fora do couro cabeludo. Um indivíduo pode estar infectado por uma ou várias espécies em várias áreas anatômicas correspondendo cada foco infeccioso a um inóculo local (WEITZMAN & SUMMERBELL, 1995; MINELLE; NEME, 2004; KALINOWSKA, 2012; HAWKINS; SMIDT, 2014; PIRES et al. 2014).

4.2.1.1 *Tinea barbae*

É a forma clínica que ocorre na região da barba, do pescoço e da zona do bigode, envolvendo a pele e os cabelos grossos da barba e bigode, razão pela qual é restrita a homens adultos. Como a causa mais comum é o dermatófito zoofílico, os trabalhadores agrícolas são os mais frequentemente afetados. Os agentes causadores mais comuns são: *T. verrucosum*, *T. mentagrophytes var. mentagrophytes*. A tinha da barba pode causar descamação, pústulas foliculares, e eritema. O diagnóstico diferencial inclui foliculite bacteriana, dermatite perioral,

pseudo-foliculitis da barba, dermatite de contato, e herpes simples. Um dado que auxilia no diagnóstico, é se a depilação for indolor é *Tinea barbae*, se dolorosa é infecção bacteriana (WEITZMAN & SUMMERBEL, 1995; HAINER, 2003; NENOFF et al., 2014).

4.2.1.2 *Tinea capitis*

Tinea capitis é a dermatofitose mais comum em crianças, sendo uma infecção que envolve o couro cabeludo, o cabelo, as sobrancelhas e os cílios também podem ser infectados. Geralmente é causada por membros dos gêneros *Microsporum* e *Trichophyton*. A transmissão ocorre por falta de higiene, sobretudo em ambientes superlotados, e podem envolver objetos como chapéus contaminados, pentes, escovas, fronhas e outros objetos de uso pessoal quando compartilhados (PIRES et al., 2014). Depois do pelo sofrer a invasão, o mesmo pode abrigar conídios viáveis por mais de um ano, constituindo-se em fonte permanente de infecção (HAINER, 2003; MINELLE & NEME, 2004; NENOFF, 2014).

Clinicamente, a *Tinea capitis* pode variar entre subclínica, leve, leve com eritema e algumas áreas de descamação irregular ou bem demarcada, reação altamente inflamatória com foliculite, assim as tinhas da cabeça podem ser divididas em inflamatória e as não inflamatórias (MINELLI & NEME, 2004).

Entre as infecções inflamatórias destacam-se o kérion e o favo. A formação do kérion pode ser acompanhada de extensas áreas de cicatrizes e alopecia, por vezes manifestando febre, mal-estar e linfadenopatia regional. Tanto a superfície da pele quanto os cabelos estão envolvidos. As lesões apresentam numerosas pústulas foliculares e abscessos, e o aumento destas lesões podem formar “kérion de Celso”, que é a presença de placas descamativas e inflamatórias aderidas ao pelo, as quais se associam o eritema, edema, formação de crosta e abscessos. Esta lesão é dolorosa e o paciente apresenta febre, adenopatias retroauriculares e latero cervical. Os principais agentes desta infecção são o *T. mentagrophytes* e o *T. verrucosum*. Também podem estar envolvidas espécies *T. tonsurans*, *T. violaceum*, e *T. schoenleinii*, *Microsporum canis* (PEIXOTO et al., 2012; SILVA et al., 2012).

Outro tipo de *Tinea capitis* bastante inflamatória é o subtipo *Tinea favosa* ou, simplesmente, favo. Trata-se de uma forma clínica muito severa e crônica caracterizada pela presença de crostas amareladas no couro cabeludo ou na pele glabra, as quais são compostas de uma massa densa de micélio. Estas lesões são formadas por um aglomerado de hifas ao

redor da base do folículo capilar gerando foliculites e, mais tarde, podem dar lugar a uma alopecia cicatricial. O principal agente causador é o *T. schoenleinii* e em menor grau o *M. gypseum* (HAINER, 2003; PATEL, 2009; DIEGO, 2011; ANANE; CHTOUROU, 2013).

Entre as não inflamatórias estão aquelas chamadas de tinhas tricofícias e são causadas por agentes antropofílicos. Caracterizam-se por apresentar lesões não inflamatórias que se manifestam como uma placa eritematosa de bordas descamativas e bem delimitadas. Os fios de cabelo parecem fragmentados em seu interior e apresentam pontos negros. Esta infecção é geralmente causada por *T. tonsurans* e *T. violaceum*. As tinhas microspóricas se caracterizam por apresentar uma placa escamosa, esbranquiçada de grande diâmetro onde se encontra pelos parasitados. Os agentes causadores são *M. canis* e *M. audouinii* (WEITZMAN & SUMMERBEL, 1995).

As relações entre os pelos e o tipo de parasitismo causado pelos dermatófitos é descrita como *ectotrix* quando se observa uma bainha de arthroconídios externa a haste do cabelo; chama-se de *endothrix* quando se observam arthroconídio no interior da haste do cabelo; em ambos os casos, a infecção começa com a penetração e crescimento do microorganismo no cabelo. Atualmente, a principal causa de *Tinea capitis* na maioria dos países da América do Sul, Norte e Central é o *T. tonsurans* (*endothrix*) em substituição ao *M. audouinii* (*ectotrix*) (WEITZMAN & SUMMERBEL, 1995; HAINER, 2003; NENOFF et al., 2014).

4.2.1.3 *Tinea corporis*

Esta dermatofitose é caracterizada por lesões localizadas em áreas de pele glabra do corpo, geralmente, tronco, ombros, extremidades como a face (excetuando a área da barba). Afeta tanto crianças como os adultos. Os agentes causadores, *T. rubrum* e *T. mentagrophytes*, são de distribuição mundial. As lesões típicas aparecem como únicas ou múltiplas, escamosas com tendência a cura central, e com bordos ativos, chamados “herpes circinado” ou “*Tinea circinada*”. As manifestações clínicas são muito variáveis, requerendo diagnóstico diferencial com outras dermatoses, como dermatite e psoríase. Clinicamente a *Tinea corporis* pode ser classificada em três tipos: a) Inflamatórias: quando as lesões são pouco eritematosas e são geralmente causadas por *Microsporum* spp.; b) Inflamatórias agudas: quando as lesões forem muito inflamatórias e eritematosas, compostas por pústulas e vesículas; geralmente são causadas por *Trichophyton* spp.; c) Severas: quando ocorrer em pacientes com alterações no

sistema imunológico, onde as lesões podem ser generalizadas (WEITZMAN & SUMMERBEL, 1995; HAINER, 2003).

As dermatofitoses envolvendo o folículo piloso podem invadir a camada dérmica da pele gerando processos muito inflamatórios denominadas de “granuloma de Majocchi” ou “granuloma perifolicular”. A progressão destas lesões pode ser favorecida pelo uso de corticóides tópicos ou sistêmicos. Geralmente localiza-se nas pernas, especialmente em mulheres jovens que raspam os pelos com lâminas, mas pode ocorrer em qualquer local do corpo. O principal agente causador é o *T. rubrum* (WEITZMAN & SUMMERBEL, 1995; BONIFAZ et al., 2008; BRESSAM et al., 2010; KURIAN; HABER, 2011).

Outra forma de apresentação da *Tinea corporis* é chamada de “*Tinea imbricata*” ou “Tokelau”. É uma dermatofitose crônica da pele, com uma manifestação clínica particular, onde as lesões se caracterizam por apresentar círculos ou anéis concêntricos de descamação e são causadas por *T. concentricum*. É uma micose geograficamente restrita, raramente observada em países mais desenvolvidos. É uma infecção típica dos indígenas brasileiros. Na maioria dos casos, a *Tinea imbricata* é diagnosticada por exame clínico, mas o padrão ouro para o diagnóstico é a cultura de fungos (SATTER, 2010). O diagnóstico diferencial inclui eczema numular, pitiríase rósea, doença de Lyme, pitiríase versicolor, dermatite de contato, granuloma anular, e psoríase (WEITZMAN & SUMMERBEL, 1995; HAINER, 2003; HAWKINS et al., 2014; NENOFF et al., 2014).

O uso de esteroides tópicos podem alterar a aparência clínica da *Tinea corporis* dificultando assim a sua identificação (POLILLI et al., 2011; HAWKINS; SMIDT, 2014).

4.2.1.4 *Tinea cruris*

Tinea cruris, também chamada de “Jock coceira”, é uma infecção que afeta a região da virilha, perianal e perineal, e, ocasionalmente, parte superior das coxas; no homem, o saco escrotal tende a ser poupado. É mais comum em homens do que em mulheres e está frequentemente associada a *Tinea pedis*, por isto, os pés devem ser sempre avaliados como uma fonte de infecção. As lesões são eritematosas de cor vermelha-marrom e cobertas com escamas finas, secas, são geralmente bilaterais com simetria variável, estendendo-se abaixo dos lados da parte interna da coxa e exibindo borda ativa, com a margem evidenciando

pequenas vesículas. *T. rubrum* e *E. floccosum* são os agentes etiológicos mais frequentes (HAINER, 2003).

Costuma ocorrer quando a temperatura ambiente e umidade são elevadas, e a oclusão da área por roupas úmidas ou apertada proporciona um ambiente ideal para a infecção. Os pacientes com esta dermatofitose frequentemente queixam-se de ardor e prurido. A educação do paciente para evitar a exposição prolongada à umidade e manter a área seca afetada é importante na prevenção (WEITZMAN & SUMMERBEL, 1995; HAINER, 2003; NENOFF et al., 2014).

4.2.1.5 *Tinea manum*

É uma infecção frequentemente unilateral, difusa da zona interdigital e da palma da mão. A superfície palmar apresenta-se difusamente seca e hiperqueratótica. Quando as unhas estão envolvidas, vesículas e poucas crostas podem estar presentes, e se assemelha a eczema desidrótico. Ocorre frequentemente em pacientes com *Tinea pedis*, tendo como causa o mesmo agente. Os agentes mais comuns são o *T. rubrum*, *T. mentagrophytes* e *E. floccosum*. O diagnóstico diferencial inclui dermatite de contato, psoríase e formação de calos. As recidivas podem ser frequentes se as eventuais onicomicose ou *Tinea pedis* não forem também resolvidos (WEITZMAN & SUMMERBEL, 1995; HAINER, 2003; NENOFF et al., 2014).

4.2.1.6 *Tinea pedis*

Tinea pedis é a forma clínica mais comum das infecções causadas pelos dermatófitos. Também chamada de “pé de atleta” devido a sua alta frequência entre os atletas, provavelmente devido ao uso frequente de sapatos fechados. O principal agente causador é o *T. rubrum*. Clinicamente são reconhecidas quatro formas: a) Inflamatória: caracteriza-se pela presença de lesões vesiculares, pústulas e bolhas geralmente na região dorsal do pé e acompanhada de prurido e dor; b) Interdigital: é a forma de *Tinea pedis* mais comum. É caracterizada por lesões eritematosas com fissuras, maceração e descamação nos espaços

interdigitais no quarto e quinto dedo dos pés. c) tipo em Mocassin: esta forma tem um padrão de distribuição, onde a pele se torna eritematosa e descamativa em toda a região plantar, com hiperqueratose e eritema da planta e áreas laterais dos pés. Esta infecção costuma ser crônica e recorrente, sendo geralmente causada por *T. rubrum*; d) Ulcerativa: também ocorre no espaço interdigital com erosões graves e úlceras (WEITZMAN & SUMMERBEL, 1995; HAINER, 2003).

O diagnóstico diferencial da *Tinea pedis* inclui dermatite de contato, eczema e psoríase pustulosa. A celulite estreptocócica (erisipela) é uma complicação potencial de todas as três formas de *Tinea pedis* (WEITZMAN & SUMMERBEL, 1995; RIPPON et al., 1988; HAINER, 2003; WEEKS et al., 2003; NENOFF et al., 2014; HAWKINS et al., 2014).

4.2.1.7 *Tinea unguium*

Tinea unguium refere-se à infecção das unhas por dermatófitos, em quanto o termo “onicomicose” refere-se a qualquer infecção fúngica das unhas. As onicomicoses são responsáveis por mais de 50% de todas as desordens das unhas e mais de 90% destas são causadas por dermatófitos antropofílicos, sendo o *T. rubrum* e o *T. mentagrophytes* os principais agentes. Os fungos não-dermatófitos e as leveduras são menos comuns. Os dermatófitos podem afetar qualquer porção da unha, isto é, a placa da unha, o leito ungueal, e a matriz ungueal (GHANNOUNM et al., 2004; SHERMER et al., 2012; NENOFF et al., 2014; TAUBER et al., 2014). As onicomicoses podem ser classificadas em cinco formas clínicas: a) Onicomicose subungueal distal-lateral (OSDL) esta forma clínica é a mais comum. A infecção começa na borda livre da unha, iniciando-se por descolamento da lâmina superficial (Figura 1); b) Onicomicose branca superficial (OBS) afeta principalmente a terceira e quarta unha dos pés. A infecção inicia na superfície dorsal da placa da unha (Figura 2); c) Onicomicose subungueal proximal (OSP) inicia-se pela parte proximal (lúnula). Esta forma clínica é bastante rara. É observada com maior frequência em indivíduos imunocomprometidos, como aqueles com AIDS/SIDA, recebendo a denominação de “onicomicosis branca subungueal proximal”. Afeta principalmente a primeira unha do pé (Figura 3); d) Onicomicose *endotrix* (OE) esta forma clínica está associada a infecção do couro cabeludo causada por *T. tonsurans* e *T. violaceum*. A infecção começa pela zona superficial da unha e invade a placa ungueal; e) Onicomicose distrófica total (ODT) é a forma

mais severa, a unha é afetada em sua totalidade (Figura 4) (ARAÚJO et al., 2003; WESTERBERG; VOYACK, 2013).



Figura 1 – Onicomicose subungueal distal-lateral

Fonte: Costa (2013).



Figura 2 – Onicomicose branca superficial

Fonte: Costa (2013).



Figura 3 – Onicomicose subungueal proximal

Fonte: Costa (2013).



Figura 4 – Onicomicose distrófica

Fonte: Costa (2013).

4.2.2 Epidemiologia das dermatofitoses

Os dermatófitos constituem o grupo dos fungos mais isolados em laboratórios de micologia e ainda assim, temos poucos dados na literatura. Estudos epidemiológicos indicam que as dermatofitoses estão entre as doenças mais comuns do mundo, sendo que são consideradas o segundo distúrbio de pele em população adulta, acometendo também crianças menores de 12 anos (GUPTA, 1997; PIRES et al., 2014).

T. rubrum é a causa mais comum de *Tinea pedis*, *Tinea unguium*, *Tinea cruris* e *Tinea corporis* em escala mundial. Embora a incidência de *Tinea capitis* esteja em declínio em nações desenvolvidas, *Tinea pedis* e onicomicoses estão se tornando um problema epidemiológico e econômico (SEEBACHER et al., 2008).

A comparação do espectro de dermatófitos em diferentes países do mundo, mostra que a sua composição depende da situação epidemiológica das dermatomicoses no respectivo país (GUPTA, 1997).

As características epidemiológicas para cada tipo de dermatofitose são diferentes. *Tinea capitis* afeta principalmente as crianças entre três a sete anos, e podem ocorrer surtos em áreas urbanas e nas escolas, enquanto que em outros tipos de micose os surtos são raros (GUPTA, 1997; HAWKINS; SMIDT, 2014).

Tinea corporis afeta tanto crianças como adultos e tem prevalência em pessoas que vivem em climas quentes e úmidos. Os fatores que contribuem para a ocorrência desta infecção é o contato com animais de estimação (cães e gatos), gado ou cavalos, condições insalubres, uso de academias de ginásticas, certas profissões (agricultores e jardineiros) e indivíduos com diabetes *mellitus* ou infectados com HIV (GUPTA, 1997).

Tinea unguium afeta de 15-20% dos indivíduos com idade entre 40 e 50 anos alcançando maior incidência nos indivíduos com mais de 70 anos, chegando a 48%. Nas crianças está infecção é menos frequente, com prevalência global de 0 a 2,6% (GUPTA, 1997; VASCONCELLOS et al., 2013).

Em nível de saúde pública, conhecer a epidemiologia das dermatofitoses é importante para poder controlar as infecções, mas pelo fato, das dermatofitoses não serem de notificação obrigatória, fica difícil de se saber as reais taxas de incidência e prevalência (SEEBACHER et al., 2008).

O espectro das dermatofitoses tem mudado muito no último século. *E. floccosum* e *M. audouinii*, eram os patógenos mais comuns nas dermatofitoses, o *T. rubrum* era de baixa incidência e aumentou gradativamente sendo hoje o agente mais comum nas dermatofitoses em âmbito mundial. Este aumento se deve ao número de pacientes com onicomicose e *Tinea pedis* (SEEBACHER et al., 2008).

Na Alemanha, no ano de 1960 ocorreu uma mudança importante em relação às espécies de dermatófitos, no qual *T. schoenleinii* e *M. audouinii* foram erradicados devido ao uso de antifúngicos. A partir disto, surgiram novas espécies, como o *T. rubrum* e o *M. canis*, os quais são os agentes prevalentes nas dermatofitoses, sendo o *T. rubrum* o maior

responsável pelas *Tinea unguium* e *Tinea pedis*, e o *M. canis* por *Tinea capitis* em crianças (SEEBACHER et al., 2008).

Na Europa Central, os fatos são semelhantes aos da Alemanha. Houve um declínio rápido dos dermatófitos zoofílicos, como o *T. verrucosum* e *T. mentagrophytes* var. *granuloso*, aumentando assim, os dermatófitos antropofílicos, como o *T. rubrum*. (SEEBACHER et al., 2008). Na Grécia, o *T. rubrum* é o agente causador de *Tinea pedis*, *Tinea corporis*, onicomicoses e *Tinea cruris*. Na Itália, o *M. canis* (*Tinea corporis*) é o agente prevalente, seguido por *T. rubrum* (SEEBACHER et al., 2008).

Nos Estados Unidos os agentes mais predominantes são o *T. rubrum* e o *T. tonsurans*. O *T. tonsurans* tem aumentado gradativamente causando *Tinea capitis*. No México o *T. rubrum* é o agente que predomina, seguido por *T. mentagrophytes* e *T. tonsurans*. Em Porto Rico também é o *T. rubrum* seguido por *E. floccosum* (SEEBACHER et al., 2008).

No Brasil, com sua área geográfica extensa, apresenta condições geoclimáticas e sociais extremamente diferenciadas as quais afetam a distribuição dos dermatófitos. Em um estudo realizado em São Paulo por Di Chiacchio et al. (2014) relataram o predomínio de seis espécies de dermatófitos. Entre estas, encontraram o *T. rubrum* como a espécie prevalente, seguido por *T. mentagrophytes*, *M. gypseum*, *T. tonsuras*, *E. floccosum* e *M. canis*, sendo a forma clínica de maior incidência a *Tinea unguium* seguida pela *Tinea pedis*, *Tinea corporis* e *Tinea capitis* (DI CHIACCHIO et al., 2014).

Um estudo realizado em Porto Alegre, Rio Grande do Sul, por Aquino e colaboradores em 2007, avaliaram a frequência de dermatofitoses, também constataram o *T. rubrum* o dermatófito mais frequente, seguido do *T. mentagrophytes* (AQUINO et al., 2007). Assim como, estudo realizado em Santa Catarina, onde foi detectado a prevalência de *T. rubrum* (58,6%), *T. mentagrophytes* (25,3%), *E. floccosum* (7,2%), *M. canis* (4,8%), *T. tonsurans* (1,6%), *T. violaceum* (1,6%) e *M. gypseum* (0,8%) (SANTOS et al., 1997).

Já na cidade de Fortaleza, uma pesquisa realizada por Brilhante et al. (2000), constataram a prevalência de *T. rubrum* (49,6%), porém, seguida por *T. tonsurans* (34,4%), *M. canis* (7%) e *T. mentagrophytes* (6,2%). Correlacionando as espécies isoladas com os respectivos sítios anatômicos, *T. rubrum* foi o principal envolvido em lesões do corpo e unhas, *T. tonsurans* nas lesões do couro cabeludo (BRILHANTE et al., 2000).

Em uma pesquisa realizada em nossa instituição (HUSM) por Lopes et al. (1994), avaliaram o perfil das dermatofitoses entre 1988 a 1992, demonstraram importante variação no espectro dos dermatófitos, identificaram oito espécies responsáveis pelas dermatofitoses, o *T. rubrum*, *T. mentagrophytes*, *M. canis* e *E. floccosum* como os mais isolados na rotina

micológica; *M. gypseum* e *T. verrucosum*, menos frequente; *M. nanum*, isolado ocasionalmente e *T. tonsurans*, dermatófito endêmico em outras regiões do Brasil (LOPES et al., 1989).

4.2.3 Diagnóstico das dermatofitoses

O diagnóstico das dermatofitoses é baseado na suspeita clínica associada à coleta do material parasitado para exames, que é realizado através de exame direto e cultura. Este material deve ser coletado antes de qualquer tratamento e após a desinfecção da zona afetada com álcool 70° C de forma adequada, ou seja, das bordas das lesões circinadas, dos espaços interdigitais, de fragmentos de unhas, ou melhor, da massa que se coleta sob a tábua da unha, de pelos e cabelos. Para o exame direto o material é colocado entre lâmina e lamínula, com KOH 10-40% de acordo com a natureza do material, e levemente aquecido numa chama para sua clarificação. As estruturas fúngicas serão avaliadas quanto à morfologia e coloração e, à presença de hifas longas, hialinas, septadas, ramificadas nos indica que o parasitismo do material é por dermatófitos (WEITZMAN & SUMMERBELL, 1995; BRILHANTE et al., 2000; SANTOS et al., 2002; HAINER, 2003; PIRES et al., 2014).

O exame micológico inclui também o cultivo do material coletado, o qual vai auxiliar na identificação da espécie do fungo. O material biológico coletado deve ser semeado em meios de cultura e incubado em estufa de 25 a 30°C, até que se obtenha crescimento suficiente para identificação. O meio mais utilizados é o ágar Sabouraud acrescido de cloranfenicol e ciclohexemide (ágar *Mycosel*) que inibe o crescimento de fungos contaminantes e o ágar Sabouraud dextrose com a adição de cloranfenicol e gentamicina para inibir o crescimento de bactérias. Outro meio de isolamento é o *Dermatophyte Test Medium* (DTM) (SANTOS et al., 2002). O crescimento dos dermatófitos é lento requerendo no mínimo uma semana de incubação. Após crescimento da cultura suficiente para identificação, esta será realizada através do exame macroscópico, avaliando a velocidade de crescimento, a textura, a forma, a cor das colônias e também a presença de pigmentos no meio. Devido à grande variabilidade fenotípica dos dermatófitos, só é possível chegar ao final da identificação através das características microscópicas seguindo o padrão de identificação proposto por EMMONS (1934) e quando necessário a realização de provas enzimáticas, como a da urease, e testes nutricionais. (SANTOS et al., 2002).

Entre os outros tipos de meios de cultura que podem ser empregados para favorecer a esporulação dos cultivos destacam-se: a) Ágar batata (*potato dextrose Agar*); b) Ágar aveia (*oatmeal Agar*); c) Agar fubá (*cornmeal Agar*) (CLSI, 2008).

Os métodos de referência tanto para leveduras como para fungos filamentosos são métodos poucos práticos, complexos, trabalhosos para serem utilizados em uma rotina de laboratório clínico. Para superar esta dificuldade tem sido desenvolvido métodos mais simples e fáceis de executar.

A técnica de PCR é realizada com kit comerciais (*Biotype Diagnostic*), sendo o kit composto por todos os reagentes necessários para executar duas PCR multiplex separados. O *primer mix 1* contém pares de *primers* específicos de PCR para *E. floccosum*, *M. canis*, *Microsporium gypseum*, *Trichosporon cutaneum*, *S. brevicaulis*, *Aspergillus spp.*, *Candida spp.* e um independente, controles internos de amplificação (QS, sensor de qualidade). *Primer mix 2*, contém fontes de pares de iniciadores de PCR específicos para a amplificação de *T. rubrum*, *T. interdigitale*, *Trichophyton spp.* e QS. O tamanho do amplicon calculado de QS é 1231 bp (MEHLIG et al., 2013). A citometria de fluxo diferencia os fungos também com base molecular, nas quais estas técnicas baseiam-se na detecção do DNA do dermatófito e por consequência na sua identificação. A imunquímica utiliza anticorpos contra certos fungos para a identificação (LOPES et al., 1999).

Matrix Assisted Laser Desorption Ionização Time-de-Fligt Espectometria de Massa (MALDI-TOFF MS) é um método rápido para a identificação das espécies de dermatófitos isolados em cultura (NENOFF et al., 2012).

Apesar de todos estes avanços e da intensa pesquisa realizada neste campo de diagnóstico baseado na detecção e identificação de DNA fúngico, ainda não é possível considera como uma metodologia recomendada para a utilização em uma rotina laboratorial para o diagnóstico das dermatofitoses, pois até o momento não existe uma padronização para os diferentes ensaios genéticos, além do alto custo dos reagentes utilizados e da infraestrutura necessária para a realização destes testes e o treinamento do pessoal de laboratório (SANTOS et al., 2002).

4.2.3 Tratamento das dermatofitoses

O tratamento convencional das micoses é realizado através de medicamentos tópicos, sistêmicos ou os dois em associação. As decisões a respeito da dose e tempo de tratamento

depende da localização, extensão e severidade das lesões, idade do paciente e a espécie do dermatófito envolvido na infecção (GUPTA et al., 2003), além do espectro de atividade e a farmacocinética do antifúngico. Custos de interações indesejáveis entre fármacos devem também ser considerados (BELLMANN, 2007).

Durante muito tempo não se dispunha de antifúngicos para tratamento das micoses. O primeiro medicamento de uso sistêmico utilizado no tratamento das mesmas foi o iodeto de potássio em solução saturada, no início do século passado. Em 1958, Williams mostrou a cura de infecção dermatofítica com a administração oral de griseofulvina em criança com tinha no couro cabeludo. Na mesma década, foram introduzidas a anfotericina B e a nistatina. Depois, surgiram os imidazólicos orais de amplo espectro e a ciclopiroxolamina, para uso tópico. Finalmente, foram desenvolvidas outras drogas, como derivados triazólicos orais de amplo espectro, alilaminas orais e para uso tópico e, mais recentemente, os derivados morfolínicos. Ainda hoje, o arsenal terapêutico para as micoses é pequeno, se comparado aos antibióticos (ROQUE, 2013).

No Brasil, os antifúngicos disponíveis para tratamento oral das dermatofitoses incluem os triazólicos como itraconazol e fluconazol, as alilaminas como a terbinafina, bem como antifúngicos de outras classes como a tradicional griseofulvina. Os antifúngicos de uso oral podem também ser combinados com antimicóticos de uso tópico como haloprogrina, tiocarbamatos (tolnaftato), hidroxipiridonas (ciclopirox) e imidazólicos como o miconazol, clotrimazol, oxiconazol, econazol, entre outros (GUPTA; COOPER, 2008).

Os antifúngicos de ação tópica são aplicados diretamente na lesão, e podem ser em forma de géis, cremes, soluções, pós, lacas para as unhas e unguentos. São usados geralmente como terapia profilática em lesões superficiais e localizadas ou na pediatria (GUPTA, 2003; WEINSTEIN et al., 2002). Há vários estudos clínicos indicando que a terapêutica tópica, muitas vezes falha como nas formas clínicas de *Tinea unguium*, *Tinea capitis* e *Tinea pedis* (GUPTA; COOPER, 2008).

Os antifúngicos orais de ação sistêmica são geralmente prescritos para *Tinea capitis*, *Tinea unguium*, formas crônicas da *Tinea cruris* e infecções resistentes aos tratamentos tópicos ou com extenso envolvimento e nas dermatofitoses severas ou disseminadas em pacientes imunodeprimidos. Nestes casos, recomenda-se o uso de terapia combinada com agentes tópicos (RUBIO et al., 1999; ELEWSKI et al., 2000; HAINER et al., 2003; MILLIKAN, 2010).

4.2.3.1 Antifúngicos

O tratamento realizado para as dermatofitoses é feito de acordo com a lesão e sua extensão, mas o significativo crescimento da população de pacientes imunocomprometidos e a emergência de resistência a fármacos existentes aumentou a necessidade de pesquisas de novos alvos e na melhoria dos antifúngicos existentes (VALDÉS, 2005; MARTINEZ-ROSSI et al., 2008).

Existem atualmente, um número razoável de agentes antifúngicos no mercado farmacêutico. Alguns são derivados dos antifúngicos com suas potências e farmacocinética melhoradas e também menos tóxicos. No entanto, seus alvos celulares são limitados devido a semelhança existente entre fungos e hospedeiros, ou seja, ambos são organismos eucarióticos (MARTINEZ-ROSSI et al., 2008). Com exceção de alguns antifúngicos como a griseofulvina, flucitosina, caspofungina e ciclopiroxolamine, os antifúngicos de uso comum tem como alvo a via de biossíntese do ergosterol. O ergosterol é um análogo de colesterol, é o principal esterol da membrana plasmática fúngica e contribui para uma variedade de funções celulares, tais como a fluidez e integridade (VALDÉS, 2005; MARTINEZ-ROSSI et al., 2008).

4.2.3.1.1 Griseofulvina

A griseofulvina é um antibiótico natural, que foi isolado a partir do *Penicillium griseofulvum* em 1939. Este foi o primeiro antifúngico oral utilizado no tratamento das dermatofitoses. É desprovido de atividade antibacteriana e tem potencial anti-inflamatório. É um fármaco de ação sistêmica e de primeira escolha. Seu mecanismo de ação consiste em interferir na formação do fuso mitótico inibindo o processo de multiplicação dos fungos, tem ação fungistática (GOMES, 2004; CARRILLO-MUÑOZ et al., 2010). Os principais efeitos adversos da griseofulvina são desconforto gástrico, eritema multiforme, foto-sensibilidade, urticária, tontura, fadiga, cefaleia, neurite periférica, letargia, confusão, granulocitopenia, leucopenia e exacerbação do lúpus eritematoso sistêmico (LES) (GOMES, 2004; CARRILLO-MUÑOZ et al., 2010).

A griseofulvina é depositada nas células precursoras de queratina e, sendo assim, os cabelos e unhas em crescimento recente são os primeiros tecidos livres do parasitismo fungico (BARAN, 2000). Apresenta atividade fungistática seletiva para espécies dos fungos dos gêneros *Trichophyton*, *Microsporum* e *Epidermophyton* (GOMES, 2004; SHEMER, 2012).

4.2.3.1.2 Ciclopirox olamina

A Ciclopirox olamina pertence à família das hidroxipiridonas. É um antifúngico sintético de amplo espectro com boa capacidade de penetração na epiderme. Este, age causando depleção de alguns substratos como amino ácidos, íons essenciais como potássio e fósforo, inibindo a síntese proteica. Está indicado para o tratamento das dermatofitoses da pele e unhas, pitiriasis versicolor e candidíase vaginal (GUPTA et al., 2004; CARRILLO-MUÑOZ et al., 2010).

4.2.3.1.3 Azóis

Os antifúngicos do grupo dos azólicos apresentam estrutura química semelhante e compõe um grupo de compostos sintéticos formados por anéis heteropentacíclicos com átomos de nitrogênio unidos e com átomos de hidrogênio para ligação de outros anéis aromáticos. São compostos sintéticos de amplo espectro de atividade antifúngica. Agem interferindo na biossíntese do ergosterol, ao impedir a demetilação do precursor lanosterol, componente principal da membrana celular do fungo. Como consequência inibem o crescimento do fungo (VALDES, 2005; CARRILLO-MUÑOZ et al., 2010).

Os azólicos podem ser imidazólicos ou triazólicos. Os representantes dos derivados imidazólicos são: clotrimazol, cetoconazol, miconazol, sertaconazol e isoconazol; os representantes dos triazólicos são: o itraconazol, fluconazol, voriconazol, posaconazol e ravuconazol (CARRILLO-MUÑOZ et al., 2010). Os possíveis efeitos adversos são: diarreia, náusea, cefaleia, hipersensibilidade, toxicidade hepática, *rash* cutâneo, dor abdominal, dispepsia, flatulência, rinite e sinusite. Os azólicos apresentam interações medicamentosas com a sinvastatina, midazolam, cisaprida e lovastatina (ELEWSKI, 1998).

4.2.3.1.4 Alilaminas

São compostos altamente lipofílicos e, por isso, alcançam concentrações terapêuticas em tecidos adiposos, unhas dos pés. É a melhor indicação para o tratamento das dermatomicoses (ELEWSKI, 1998). São compostos de baixa toxicidade por terem uma ligação fraca com as proteínas (GUPTA et al., 1994).

O mecanismo de ação destes compostos consiste em inibir a atividade da enzima esqualenoepoxidase e assim impedindo a síntese do ergosterol. Desempenham uma atividade fungicida ou fungistática na dependência da espécie fúngica envolvida (CARRILLO-MUÑOZ et al., 2010).

A terbinafina é um representante desta classe, foi desenvolvida em 1981 e se destacou por sua boa atividade *in vitro* frente aos dermatófitos (HAZEN, 1998). É considerado o antifúngico ideal para o tratamento das dermatofitoses, especialmente a *Tinea unguium* e *Tinea capitis* (DARKES et al., 2003). Devido sua natureza altamente lipofílica, penetra e se distribui em todos os tecidos, principalmente nas unhas (GUPTA et al., 1994).

Tem como efeitos adversos principais: dispepsia, náuseas, dor abdominal, diarreia, hepatotoxicidade, hipersensibilidade, exantema e eritema multiforme. Esta medicação é contraindicada em pacientes com hepatopatia prévia, aguda ou crônica. Pode ser utilizada em esquema de pulso-terapia (GUPTA, 2004).

A naftifina é outro antifúngico desta classe, é de ação tópica e apresenta boa atividade fungistática e fungicida *in vitro* frente aos dermatófitos (GUPTA et al., 1994).

4.3 Avaliação da suscetibilidade dos dermatófitos aos antifúngicos

Os métodos para a determinação da sensibilidade *in vitro* dos fungos patógenos aos antifúngicos é muito recente, quando comparado aos das bactérias, e ocorreu devido ao crescente número de infecções por fungos oportunistas registrados nos últimos tempos. A iniciativa para a padronização de métodos *in vitro* reprodutíveis que serviriam de guia para a instauração e seguimento do tratamento antifúngico se deve ao *National Committee for Clinical Laboratory Standards* (NCCLS), hoje, *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI) dos Estados Unidos. O objetivo principal consiste em padronizar os principais

parâmetros metodológicos dos ensaios *in vitro* como a temperatura, tempo de incubação, concentração do inóculo, ponto de leitura e o meio de cultivo (CLSI, 2008).

Em 1998, foi publicado o primeiro documento (M38-P) (NCCLS, 1998) que descreveu o método de referência para determinar a sensibilidade *in vitro* dos fungos filamentosos aos antifúngicos. Em 2002, foi publicado um novo documento baseado em estudos feitos para corrigir deficiências do anterior, que era a falta de correlação clínica com os resultados *in vivo*, este documento é o M38-A (NCCLS, 2002). Este documento recomenda métodos de microdiluições e macrodiluições para *Rhizopus spp.*, *Aspergillus spp.*, *Fusarium spp.*, *Sporothrix schenckii* y *Pseudallescheria boydii*, e não incluía os dermatófitos. Nele não constava ponto de corte para os antifúngicos. Para tanto, técnicas de avaliação da suscetibilidade faziam-se necessárias. Somente no ano 2008, o CLSI publicou um documento nomeado M38-A2 (CLSI, 2008), que inclui a técnica padronizada para se avaliar com segurança a suscetibilidade de fungos dermatófitos frente a alguns antifúngicos, no qual consta os parâmetros metodológicos para os dermatófitos de maior incidência, *T. rubrum* e *T. mentagrophytes* (CLSI, 2008).

A avaliação do perfil de sensibilidade de uma espécie de fungos dermatófitos a um agente antifúngico particular, permite ao médico selecionar medicamentos adequados, prevenindo falhas e terapias ineficazes. Além disso, a resistência gerada pelos fungos a antifúngicos podem ser uma das diversas causas envolvidas na falha terapêutica, mas não a única no tratamento de dermatofitose (JARABRÁN et al., 2014).

As dermatofitoses geralmente respondem bem à terapia antifúngica tópica, exceto certas formas de onicomicose e infecção com características atípicas, às vezes graves e generalizadas, exigindo o uso de tratamentos sistêmicos específicos. A seleção de um antifúngico deve seguir vários critérios, entre eles o mecanismo de ação desenvolvido contra o agente etiológico, uma vez que não são todos igualmente ativo contra fungos (CARRILLO-MUÑOZ et al., 2013).

Apesar da *Tinea unguium* e *Tinea pedis* serem conhecidas há muito tempo e também há muito tempo serem tratadas, o sucesso de tais tratamentos tem sido desapontador, pois os antimicóticos tópicos falharam na maioria dos tratamentos. O advento dos triazólicos de uso oral e da terbinafina permitiu atingir melhores percentuais de cura porque estes agentes se impregnam nas tábuas da unha onde permanecem por bastante tempo, protegendo as unhas do fungo agressor, mesmo assim estas terapêuticas estão longe de alcançar as taxas de cura esperada. O longo tempo de tratamento requerido, os elevados custo, a inadaptação dos pacientes às doses preconizadas são fatores que contribuem para as falhas terapêuticas. Por

outro lado, em analogia ao que ocorre com bactérias e outros fungos, a prolongada exposição há sub-doses de algum antimicrobiano pode determinar a emergência do fenômeno da resistência. Deste modo o quadro do insucesso terapêutico das dermatofitoses pode ser devido a 3 causas básicas: a) medicamento que não atinge o sítio da infecção; b) dose inadequada; c) emergência da resistência (JONES et al., 1990).

O Etest® é uma técnica fácil de realizar com um alto grau de reprodutibilidade e uma boa concordância com o método de microdiluição do CLSI. Este método baseia-se no estabelecimento de um gradiente de concentração estável de um agente antimicrobiano depois da difusão a partir de uma tira de plástico num meio de ágar. Quando uma tira de Etest® é colocada sobre uma placa de ágar que tenha sido inoculada com um micro-organismo de teste e incubada durante 24 a 48 horas (h), a formação de uma elipse de inibição do crescimento ocorre, e a intersecção da elipse com a escala numérica da tira fornece uma indicação da concentração inibitória mínima (CIM). Esta técnica pode ser utilizada para testar os fungos filamentosos, no entanto, não é aprovado pelo CLSI (CLSI, 2008).

4.4 Falhas terapêuticas

Há relatos de que algumas estirpes de fungos são resistentes a certos agentes antimicóticos resultando em falhas terapêuticas. Ao contrário dos testes de agentes antibacterianos, as atividades destes fármacos contra cepas de fungos não são testadas rotineiramente (MUKHERJEE et al., 2003).

Mukherjee et al. 2003, fizeram o primeiro relato confirmado de resistência a terbinafina em dermatófitos. A terapia oral com terbinafina foi utilizada por um paciente com seis isolados clínicos de onicomicose e falhou. Estes pesquisadores determinaram através de ensaios que as seis estirpes possuíam CIM >128 µg/ml, enquanto as estirpes de referência sensíveis eram de 0,002 µg/ml. A cepa inicial, antes do início da terapia já apresentava resistência, sugerindo que é um caso de resistência primária à terbinafina. Estes isolados resistentes à terbinafina apresentaram resistência cruzada para vários outros inibidores de esqualeno epoxidase conhecidos, naftifina, butenafina, tolnaftato, e tolclato, sugerindo um mecanismo específico de alvo de resistência. No entanto, exibiu suscetibilidade normal para outros antimicóticos disponíveis como o itraconazol, fluconazol e griseofulvina (MUKHERJEE et al., 2003).

Em um estudo de susceptibilidade a antifúngicos de 36 isolados clínicos pelo método *Etest* para os antifúngicos itraconazol, cetoconazol e fluconazol, feito por Méndez-Tovar et al. (2007), sete demonstraram resistência a um ou mais compostos azólicos, sendo três de *T. rubrum*; Destes três isolados, dois apresentaram resistência à fluconazol e um demonstrou resistência a três azoles (cetoconazol, itraconazol e fluconazol; três amostras de *T. mentagrophytes* foram resistentes unicamente à fluconazol e um de *T. tonsurans* resistente a fluconazol (MÉNDEZ-TOVAR et al., 2007). Barros e Hamdan (2005) estudaram a sensibilidade do *T. mentagrophytes* isolados de onicomicoses e encontraram baixa sensibilidade ao fluconazol, sendo que detectaram que a melhor alternativa para o tratamento é a terbinafina e o itraconazol (BARROS; HAMDAN, 2005). Em um outro estudo, realizado por Santos e Hamdan (2006) reforça que o fluconazol tem menor atividade entre os azóis para o *T. mentagrophytes* e o *T. rubrum* (SANTOS et al., 2006).

Outro estudo relatou que as espécies de dermatófitos apresentaram padrões semelhantes de susceptibilidade para cada agente antifúngico testado. Valores de CIM elevados foram encontrados para alguns isolados. Sete (11,6%) cepas dermatófitos (cinco *T. rubrum* e dois *M. canis*) tinham CIM de fluconazol de 32 µg/ml, cinco (8,3%) cepas (quatro *T. rubrum* e um *M. canis*) tiveram CIM de cetoconazol de 4 µg/ml e um isolado de *M. canis* possuía CIM de 8 µg/ml para a griseofulvina. No entanto a maioria dos isolados apresentam baixos valores de CIM, sendo que 33,3%, 31,6% e 15% dos isolados tinham CIM de 0,03 µg/ml para o itraconazol, cetoconazol e terbinafina, respectivamente (ARAÚJO et al., 2009).

Hryniewicz-Gwózdź et al. (2013), indicaram a capacidade de *T. rubrum* para desenvolver resistência aos azoles após exposição prolongada a estas drogas. A resistência de *T. rubrum* frente aos azóis desempenha um papel importante em terapia de falhas e, conseqüentemente, contribui para a persistência e cronicidade das infecções (HRYNCEWICZ-GWÓZDZ et al., 2013).

Outra pesquisa, a qual objetivou avaliar a emergência *in vitro* que ocorre naturalmente nas cepas mutantes de *T. rubrum* resistentes à terbinafina, itraconazol, amorolfina e ciclopirox e a evolução da resistência a estes antifúngicos após exposição a concentrações sub-inibitórias. A análise da frequência espontânea de mutantes de *T. rubrum* resistente a medicamentos mostraram que a maior incidência de mutantes é obtida com itraconazol. Este resultado pode ser explicado pelo fato de que as drogas fungistáticas, tais como triazóis, têm o potencial de deixar sobreviventes fúngicos mais do que as drogas fungicidas terbinafina, amorolfina e ciclopirox, e esta população efetiva pode contribuir para uma maior probabilidade de resistência do agente patogênico. Uma variedade de mecanismos

bioquímicos e moleculares tem sido mostrada, as quais contribuem para a resistência aos medicamentos em eucariotas (GHELARDI et al., 2014).

A resistência de dermatófitos a agentes antifúngicos envolvem a participação de enzima alvo modificada e sob expressão de cassete de ligação de ATP transportadores e proteínas relacionadas ao estresse. Em *T. rubrum*, dois transportadores ABC, TruMDR1 e TruMDR2, foram identificados como responsável pela resistência a várias drogas antifúngicas testadas, como itraconazol e terbinafina. No entanto, foi observado que após três passagens em meio não seletivo, 28% dos mutantes resistentes itraconazol restaura a susceptibilidade sugerindo que outros mecanismos podem estar envolvidos no desenvolvimento da resistência em *T. rubrum* a itraconazol (GHELARDI et al., 2014).

Resistência espontânea para terbinafina ocorreu com uma frequência baixa, de acordo com dados prévios relatados por Osborne e colaboradores (2003), tal como já sugerido, esta baixa frequência de isolamento parece ser compatível com a resistência baseada na substituição de um único nucleotídeo não silencioso no gene que codifica epoxidase de esqualeno. Três resultados do presente estudo suportam esta hipótese ainda: (i) o elevado nível de resistência à TRB exibido por mutantes TRB; (ii) a observação de que os mutantes resistentes TRB não exibem aumento da resistência à itraconazol e amorolfilina, os quais inibem a atividade de várias enzimas na via de biossíntese do ergosterol e (iii) a susceptibilidade restaurada para terbinafina observada em 45% dos mutantes resistentes quando se deixou de expor a terbinafina (GHELARDI et al., 2014).

5 RESULTADOS

5.1 Capítulo 1

Suscetibilidade de *T. rubrum* e *T. mentagrophytes* a agentes antifúngicos

Mari Gleí Hernandez Liscano^{1,3}; Sydney Hartz Alves^{2,3}

¹Hospital Universitário de Santa Maria. Universidade Federal de Santa Maria (UFSM). Santa Maria, RS, Brasil;

²Departamento de Microbiologia e Parasitologia. UFSM. Santa Maria, RS, Brasil

³Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas. UFSM. Santa Maria, RS, Brasil

Resumo

Testes de suscetibilidade *in vitro* de *T. rubrum* (n=30) e *T. mentagrophytes* (n=30) frente aos antifúngicos cetoconazol, fluconazol, isoconazol, itraconazol, terbinafina, griseofulvina e ciclopirox foram realizados através da técnica de microdiluição em caldo, conforme as recomendações do documento M38-A2 (CLSI, 2008). As concentrações inibitórias mínimas (CIMs) mais baixas foram verificadas frente à terbinafina (0,03 – 0,5 µg/mL) e itraconazol (0,03 – 0,5 µg/mL). Contrariamente, as CIMs mais elevadas foram frente ao fluconazol (1 – 32 µg/mL) e griseofulvina (0,25 – 4,0 µg/mL). Isolados resistentes foram detectados frente ao fluconazol (15/ 25%) e a griseofulvina (17/ 28,3%). A resistência cruzada entre azólicos não foi detectada, todavia, a multirresistência frente ao fluconazol e griseofulvina foi detectada em 6 isolados [*T. rubrum* (n= 5) e *T. mentagrophytes* (n=1)] representando 10% dos isolados estudados.

Palavras-chave: dermatófitos, suscetibilidade, antifúngicos, resistência

Autor correspondente: S.H. Alves. Rua Andradas 1985/201. Santa Maria, RS. (55)3220-8906; 3222-1024. E-mail: sydneyalves.ufsm@gmail.com

Abstract

In vitro susceptibilities tests were carried out with *T. rubrum* (n=30) and *T. mentagrophytes* (n=30) against ketoconazole, fluconazole, isoconazole, itraconazole, terbinafine, griseofulvin and ciclopirox through microdilution technique as proposed by M38-A2 document (CLSI, 2008). The lowest minimum inhibitory concentrations (MICs) were showed by terbinafine (0,03 – 0,5 µg/mL) and itraconazole (0,03 – 0,5 µg/mL). In contrast the highest MICs were showed in the tests with fluconazole (1 – 32 µg/mL) and griseofulvin (0,25 – 4,0 µg/mL). Fluconazole-resistant strains (15/25%) and griseofulvin-resistant strains (17/28,3%) were detected. The cross-resistance among azole antifungal agents was not observed but multiresistant strains including fluconazole and griseofulvin were 6 [*T. rubrum* (n=5) and *T. mentagrophytes* (n=1)] performing 10% of the strains.

Keywords: dermatophytes, susceptibility, antifungal agents, resistance

Introdução

Epidemiologicamente os agentes das dermatofitoses caracterizam-se por distribuição geográfica heterogênea e variação temporal da prevalência dentro de uma mesma região. Ademais, excetuando-se as formas fávicas e a *Tinea imbricata* que são causadas por uma só espécie (*T. schoenleinii* e *T. concentricum*, respectivamente), as demais formas clínicas podem ser causadas por várias espécies de dermatófitos, o que favorece as variações interespecíficas e intraespecíficas. (Lopes et al 1999; Aquino 2007; Pires et al. 2014). O Brasil, devido a sua grande extensão territorial, manifesta variações epidemiológicas quanto as espécies de dermatófitos mais isoladas: *T. rubrum* é prevalente em todo país, entretanto, *T. tonsurans* e *T. violaceum* são frequentes no Sudeste e raros no Sul; e assim, há variações geográficas entre as várias espécies. (Lopes et al 1999; Aquino 2007; Pires et al. 2014).

As manifestações clínicas sofrem, ainda, o impacto da virulência pois as espécies geofílicas e zoofílicas determinam lesões mais inflamatórias e exacerbadas do que as lesões causadas pela maioria dos antropofílicos (Carrillo-Muñoz et al. 2013).

Os tratamentos das dermatofitoses repousam sobre azólicos, alilaminas, griseofulvina ou ciclopirox olamina, podendo ser sistêmico ou tópico na dependência da forma clínica da doença e/ou da extensão das lesões. A *Tinea unguium* é a forma clínica cujo tratamento é mais difícil, requerendo a prescrição de antifúngicos sistêmicos e tópicos durante um período que pode atingir doze meses. A *Tinea unguium* é uma das formas clínicas mais diagnosticadas, todavia, as falhas terapêuticas atingem 35-38 % (Moosavi et al. 2001; Hay 2005), constituindo-se num grande desafio aos clínicos. As formas recorrentes podem estar relacionadas com a interrupção precoce do tratamento, efeitos adversos dos antifúngico, dificuldade de o fármaco atingir o sítio infeccioso, interações medicamentosas e emergência da resistência aos antifúngicos (Jones et al. 1990).

A padronização de uma técnica para a avaliação da suscetibilidade *in vitro* de dermatófitos em 2008 (documento M38-A2; CLSI 2008) veio contribuir para a elucidação da resistência como uma das causas das falhas terapêuticas nos tratamentos das dermatofitoses. Neste contexto, o presente estudo foi objetivado a avaliar a suscetibilidade de *T. rubrum* e de *T. mentagrophytes* var. *interdigitale* isolados de casos de unha das unhas frente a agentes antifúngicos de uso tópico e sistêmicos.

Material e métodos

Micro-organismos: 60 isolados de dermatófitos identificados como *T. rubrum* (n=30) e *T. mentagrophytes* var. *interdigitale* (n=30).

Isolamento e identificação: o isolamento ocorreu em ágar *Mycobiotic* (Difco) a partir de casos de dermatofitoses ungueais diagnosticadas no laboratório de Micologia Clínica do

Hospital Universitário de Santa Maria entre 2011 e 2014. A identificação fundamentou-se nas características macro e microscópicas dos cultivos e teste da uréase (Larone 1995).

Testes de suscetibilidade: foram realizados de acordo com a técnica de microdiluição em caldo conforme documento M38-A2 do CLSI (CLSI, 2008).

- a) Agentes antifúngicos: cetoconazol, fluconazol, isoconazol, itraconazol, terbinafina, griseofulvina e ciclopirox adquiridos na forma de pós puros.
- b) Soluções para os testes de suscetibilidade: excetuando-se o fluconazol que foi solubilizado em água, os demais antifúngicos foram solubilizados em DMSO obtendo-se a concentração de 1600 µg/mL. A seguir, foram realizadas diluições seriadas no caldo RPMI 1640 (com L-glutamina, isento de NaHCO₃ e tamponado com MOPS a pH=7,0) até obtenção da concentração de 128 µg/mL em DMSO 1%. Diluições em caldo RPMI 1640 foram realizadas para se obter concentrações intermediárias que eram depositadas em placas de poliestireno estéreis e com tampa, as quais eram congeladas em freezer. No dia da realização dos testes, após o descongelamento das placas, cada poço recebia o volume do inóculo padronizado, resultando nas seguintes faixas de concentração: terbinafina (0,03 – 32 µg/mL), griseofulvina (0,03 – 32 µg/mL), ciclopirox olamina (0,06-32 µg/mL), cetoconazol (0,03-16 µg/mL), isoconazol (0,03-16 µg/mL), itraconazol (0,03- 16 µg/mL) e fluconazol (0,06 – 64 µg/mL). Os inóculos foram preparados de acordo com as indicações do documento M38-A2 do CLSI 2008. As placas foram incubadas a 35°C durante 4 dias (96 hs) em atmosfera de aerobiose.
- c) Determinação das concentrações inibitórias mínimas (CIM). Considerou-se CIM a menor concentração de antifúngico capaz de inibir 80% do crescimento fúngico, quando comparado ao controle de crescimento do inóculo isento de antifúngicos.

- d) Interpretação das CIMs. O documento M38-A2 do CLSI não estabelece *breakpoints* definidores de sensibilidade ou resistência. No entanto, com base em vários autores sugere CIMs que apontam para a não-sensibilidade *in vitro*: itraconazol (> 8 µg/mL), ciclopirox olamina (> 1 µg/mL), griseofulvina (> 1 µg/mL), terbinafina (> 1 µg/mL), cetoconazol (> 8 µg/mL), isoconazol (> 8 µg/mL) e fluconazol (> 16 µg/mL).
- e) Controle de qualidade: os ensaios incluíram testes com *Candida parapsilosis* ATCC 22019 e *C. krusei* ATCC 6258 com leitura após 48 hs de incubação e os resultados comparados as CIMs indicadas no documento M38-A2.

Avaliação estatística: as comparações da suscetibilidade entre *T. rubrum* e *T. mentagrophytes* frente a cada agente antifúngico foi avaliada mediante a aplicação do teste do Qui-quadrado, onde considerou-se com significativa as diferenças onde $p < 0,05$.

Resultados

As tabelas 1 e 2 apresentam os resultados dos testes de suscetibilidade. A avaliação da suscetibilidade de *T. rubrum* frente aos azólicos evidenciou, com base nas médias geométricas, que esta espécie foi mais sensível frente ao itraconazol (MG=0,0908 µg/mL) seguida do isoconazol (MG= 0,52 µg/mL) e finalmente ao fluconazol (4,28 µg/mL). Para *T. mentagrophytes*, a suscetibilidade seguiu o mesmo perfil, todavia com médias geométricas mais elevadas para o itraconazol (MG= 0,249 µg/mL) o que corresponde a CIMs 2,7 vezes mais elevadas do que as observadas para *T. rubrum* ($p < 0,05$); a mesma elevação das CIMs foi observada com o cetoconazol (MG= 0,455 µg/mL) correspondendo a 1,3 vezes maiores do que para *T. rubrum*, embora sem significância estatística ($p > 0,05$). Para o fluconazol, os valores de CIMs não evidenciaram diferenças estatisticamente significativas entre as duas espécies ($p < 0,05$). Frente ao isoconazol, *T. rubrum* requereu CIMs mais elevadas do que *T. mentagrophytes* embora sem significância estatística ($p > 0,05$). Em relação a detecção de

isolados resistentes ao fluconazol (CIM ≥ 16 $\mu\text{g/mL}$), foram 9 de *T. rubrum* e 6 isolados de *T. mentagrophytes* totalizando 15 isolados (Tabela 3). Aos demais azólicos, nenhum isolado pode ser considerado como resistente.

Frente a terbinafina verificou-se as menores médias geométricas de CIMs, destacando-se como o antifúngico mais ativo entre os aqui testados. Variações nas faixas de suscetibilidade, CIM50 e CIM90 foram observadas entre as duas espécies, entretanto as diferenças entre as duas espécies estudadas não foram consideradas significantes ($p > 0,05$).

A suscetibilidade de *T. rubrum* e de *T. mentagrophytes* à griseofulvina apontou menor sensibilidade de *T. rubrum* ($p < 0,05$). Apesar destas diferenças, isolados resistentes foram detectados nas duas espécies: 7 isolados de *T. mentagrophytes* e 10 de *T. rubrum*, somando 17 isolados resistentes a este antimicótico.

Não foram detectadas diferenças significativas ($p > 0,05$) nas variações de suscetibilidade entre *T. rubrum* e *T. mentagrophytes* frente ao ciclopirox.

A resistência detectada ao fluconazol não se manifestou cruzadamente entre os demais azólicos (Tabela 3). Por outro lado, cabe destacar que dos 9 isolados de *T. rubrum* considerados resistentes, 6 manifestaram CIMs mais elevadas ao cetoconazol (CIM $>$ CIMmodal = 0,5 $\mu\text{g/mL}$), e 4 isolados evidenciaram CIMs superiores a CIM modal de 0,125 $\mu\text{g/mL}$ para o itraconazol. Dos 6 isolados de *T. mentagrophytes* julgados resistentes ao fluconazol, 4 evidenciaram CIMs superiores a CIM modal de 1,0 $\mu\text{g/mL}$ do cetoconazol.

Considerando que a griseofulvina é o único representante de sua classe, o conceito de resistência cruzada não pode ser aplicado; todavia a multirresistência entre griseofulvina e fluconazol foi detectada. Dos 10 isolados de *T. rubrum* resistentes a griseofulvina, 5 eram também fluconazol-resistentes e os demais evidenciaram CIMs acima das CIMs modais para o cetoconazol e itraconazol. Na espécie *T. mentagrophytes*, dos 7 isolados griseofulvina-resistentes, somente um evidenciou também resistência ao fluconazol.

Finalmente, cabe destacar que dos 60 isolados de dermatófitos avaliados a resistência ao fluconazol manifestou-se em 25% dos isolados e a resistência a griseofulvina atingiu 28,3 % dos isolados; em 10% dos isolados detectou-se o fenômeno da multirresistência.

Discussão

As onicomicoses constituem-se numa condição que afeta 3% da população mundial e os dermatófitos são os principais agentes (Zalacain et al. 2011). Apesar do desenvolvimento da antifungoterapia um número significativo de pacientes com onicomicoses não respondem satisfatoriamente aos tratamentos, onde as recidivas atingem 36% (Hay 2005; Zalacain et al. 2011, Ko et al. 2011). Estas frequentes falhas terapêuticas repousam sobre causas como: a) falta de adesão ao tratamento; b) dificuldades na absorção do fármaco; c) degradação do fármaco por enzimas microssomais; d) interações medicamentosas; e) incapacidade do fármaco em atingir plenamente o sítio infeccioso; f) desenvolvimento de resistência aos agentes antifúngicos (Jones et al. 1990).

No contexto das falhas terapêuticas causadas pela resistência é que os testes de suscetibilidade adquirem importância, pois, fornecerão aos clínicos, subsídios para otimizar os tratamentos; no entanto, os testes de suscetibilidade dos dermatófitos aos antifúngicos ainda são trabalhosos e de difícil interpretação, requerendo refinamentos.

A hipótese de que a resistência aos antifúngicos fosse uma das causas do insucesso terapêutico nas dermatofitoses não é nova, pois Lenhart em 1969, utilizando técnica não padronizada, relatou a resistência de *T. rubrum* a griseofulvina. A disponibilidade de técnicas padronizadas para avaliação da suscetibilidade de fungos filamentosos só ocorreu em 2002 e, para os dermatófitos, somente em 2008 (CLSI, 2008), fato que nos induz a aceitar com cautela os achados relatados anteriores a estas datas. Mesmo assim, cabe ressaltar que foi em 2003 que Muhherjee et al relatou o primeiro caso de resistência de dermatófitos (*T. rubrum*) a

terbinafina. O documento M38-A2 (CLSI, 2008) que normatiza as condições para avaliação da suscetibilidade aos antifúngicos não definiu *breakpoints* para, com clareza, permitir a classificação de isolados como sensíveis ou resistentes. Estas considerações são importantes para que a discussão, a seguir, não seja tomada com o rigor que algumas técnicas permitem.

Com base nas CIM90, nossos resultados de suscetibilidade ao cetoconazol estão de acordo com os reportados por Fernandez-Torres et al (2003) e Perea et al (2001), mas indicaram redução da sensibilidade se comparados ao estudo de Siqueira et al. (2008) realizado no Brasil.

As mais elevadas CIMs de todo estudo foram detectadas nos testes com o fluconazol onde as CIM90 foram de 16 µg/mL para *T. mentagrophytes* e de 32 µg/mL para *T. rubrum*. O achado de CIMs elevadas ao fluconazol é um relato frequente entre diversos autores (Zalacain et al. 2011; Hryniewicz-Gwozdz et al. 2013; Siqueira et al. 2008; Araújo et al. 2009). Com base no estudo de Ghannoum et al. (2006) o documento M38-A2 refere que CIMs \geq 16 µg/mL para o fluconazol são consideradas elevadas. Assim, aqui relatamos 15 (25%) isolados como resistentes ao fluconazol.

O isoconazol é um antifúngico azólico de uso tópico com amplo espectro de ação, envolvendo dermatófitos, fungos leveduriformes como *Malassezia* spp e *Candida* spp, bactérias gram positivas como o *Corynebacterium minutissimum* e *Trichomonas vaginalis*, o que o elege como terapêutica tópica em várias situações de infecções concorrentes, sobretudo em pacientes diabéticos. Tem atividade fungistática e fungicida sobre dermatófitos e há preparações comerciais associadas com corticosteroídes (Veraldi 2013). Os testes de suscetibilidade indicam que CIMs variáveis entre 0,025 a 0,4 µg/mL. (Veraldi 2013). A suscetibilidade dos dermatófitos aqui avaliados está de acordo com os observados por outros autores (OYEKA & GUGNANI, 1990), não manifestando resistência cruzada com o fluconazol.

O perfil de suscetibilidade ao itraconazol foi caracterizado pelas baixas CIMs e a menor médias geométrica das CIMs entre os azólicos. Similarmente ao referido ao fluconazol, o documento M38-A2 sugere que CIMs > 8,0 µg/mL são indicadoras de resistência; todavia, todos os 60 isolados avaliados foram inibidos com CIMs < 1,0 µg/mL, o que está de acordo com vários autores (Zalacain et al. 2011; Barros et al. 2007; Nweze et al. 2007; Fernandez-Torres et al. 2001). Apesar deste marcado perfil de sensibilidade outros autores também já relataram CIMs mais elevadas (Mota et al. 2009; Araújo et al. 2009). Recentemente Hryniewicz-Gwozdz et al (2013) relataram que a exposição continuada de *T. rubrum* a crescente concentrações de itraconazol ou de fluconazol evidenciaram aumento das CIMs, fato que veio comprovar com a emergência da resistência de dermatófitos e a resistência cruzada.

A terbinafina é um antifúngico da classe das alilaminas com potente ação sobre dermatófitos; no presente estudo todos os isolados foram inibidos pelas mais baixas CIMs observadas (tabelas 1 e 2). Estes resultados estão de acordo com a maioria dos estudos os quais também indicam marcada sensibilidade dos dermatófitos a este antifúngico (Nweze 2007; Barros 2008; Araújo et al.; 2009; Mota et al. 2009). Contrariamente a esta marcada atividade da terbinafina, Mukherjee et al (2003) relataram um caso de *T. rubrum* primariamente resistente a terbinafina (CIM= 4,0 µg/mL) e a continuada exposição deste isolado a terbinafina resultou em aumento da CIM. Osborne et al (2003) relataram que a resistência primária a terbinafina é um fenômeno raro e que a resistência secundária é também de difícil ocorrência; tais comprovações vieram consolidar o uso clínico da terbinafina, sobretudo nos casos de dermatofitoses ungueais.

A Tabela 3 demonstra que 28,3% dos isolados estudados foram resistentes a griseofulvina com base na CIM $\leq 1,0$ µg/mL como balizador, conforme sugerido pelo documento M38-A2 (2008). Disponível comercialmente desde 1958 este derivado

benzofurano foi o primeiro agente antifúngico com ação sistêmica e um dos primeiros antifúngicos recomendados ao tratamento das tinhas (Odds et al. 2003). O aumento das CIMs devido a exposição a griseofulvina foi bem documentado por Fachin et al. (2006) fato que também embasa a afirmação de que a resistência secundária a este antimicótico é um fenômeno que deve ser considerado na clínica. Nossos achados estão de acordo com Perea et al. 2001; Ghannoum et al. 2006; Araújo et al. 2009; Mota et al. 2009.

O ciclopirox é um derivado da hidroxipiridona que tem seu mecanismo de ação envolvendo alterações na membrana e quelação do ferro, comprometendo o crescimento fúngico (Hall et al. 2012). Segundo Hall et al. o potencial do ciclopirox para desenvolver resistência é, ainda, desconhecido (Hall et al. 2012). Nossos resultados, com base na CIM ≤ 1 $\mu\text{g/mL}$ como parâmetro sugestivo de sensibilidade (M38-A2; Ghannoum JCM 2004) indicam que todos os dermatófitos avaliados foram inibidos por baixas concentrações do ciclopirox o que está de acordo com estudos realizados por Fernandez-Torres et al. 2001, Zalacain et al. 2011 e Favre et al. 2003.

A rigor, a resistência cruzada entre azólicos, não pôde ser confirmada no presente estudo. Outrossim, dos 15 isolados resistentes ao fluconazol, 9 evidenciaram CIMs de cetoconazol maiores do que a CIM modal, o que pode sugerir tendência à redução da sensibilidade destes isolados.

Quando a resistência é manifestada a dois ou mais fármacos de classes distintas, utiliza-se o termo multirresistência; este fenômeno foi, neste estudo, observado em 5 isolados de *T. rubrum* e 1 de *T. mentagrophytes*, todos resistentes ao fluconazol e griseofulvina. O impacto clínico destes achados só poderá ser adequadamente considerado quando os *breakpoints* definidores de resistência estiverem consolidados, com base na resistência *in vitro* e na sua correlação com o desfecho dos tratamentos.

Tabela 1 – Suscetibilidade de *T. mentagrophytes* (n=30) frente a agentes antifúngicos.

Antifúngicos	Faixa de suscetibilidade	CIM ₅₀	CIM ₉₀	CIM modal	Média geométrica
Cetoconazol	0,06 – 4,0	0,5	2,0	1,0	0,455
Fluconazol	2 – 16	4,0	16	4,0	4,59
Isoconazol	0,25 – 2,0	0,25	1,0	0,5	0,44
Itraconazol	0,06 – 0,5	0,25	0,5	0,5	0,249
Terbinafina	0,03 – 0,25	0,06	0,125	0,03	0,068
Griseofulvina	0,25 – 2,0	0,5	2,0	0,25	0,601
Ciclopirox	0,125 – 1,0	0,25	0,25	0,25	0,25

CIM₅₀: concentração capaz de inibir 50% dos isoladosCIM₉₀: concentração capaz de inibir 90% dos isoladosTabela 2 – Suscetibilidade de *T. rubrum* (n=30) frente a agentes antifúngicos.

Antifúngicos	Faixa de suscetibilidade	CIM ₅₀	CIM ₉₀	CIM modal	Média geométrica
Cetoconazol	0,03 – 8,0	0,5	2,0	0,5	0,350
Fluconazol	1 – 32	4,0	32	1,0	4,28
Isoconazol	0,03 – 2,0	0,5	1,0	0,5	0,52
Itraconazol	0,03 – 0,25	0,125	0,25	0,125	0,0908
Terbinafina	0,03 – 0,5	0,03	0,03	0,03	0,036
Griseofulvina	0,25 – 4,0	1,0	4,0	0,5	0,831
Ciclopirox	0,125 – 0,25	0,25	0,25	0,25	0,227

CIM₅₀: concentração capaz de inibir 50% dos isoladosCIM₉₀: concentração capaz de inibir 90% dos isoladosTabela 3 – Número e percentual de isolados resistentes de *T. rubrum* e *T. mentagrophytes* frente a agentes antifúngicos.

Antifúngicos	Dermatófitos resistentes		
	<i>T. rubrum</i>	<i>T. mentagrophytes</i>	Total
Cetoconazol	0	0	0
Fluconazol	9	6	15(25%)
Isoconazol	0	0	0
Itraconazol	0	0	0
Terbinafina	0	0	0
Griseofulvina	10	7	17(28,3%)
Ciclopirox	0	0	0

Tabela 4 – Percentual de resistência cruzada e multirresistência de *T. rubrum* e *T. mentagrophytes* frente a agentes antifúngicos.

Resistência cruzada	Multirresistência
0	0
0	0
0	0
0	0
0	0
0	6* (10%)
0	0

*Multirresistência: *T. rubrum* (n=5) e *T. mentagrophytes* (n=1)

Referências

- AQUINO, V. R.; CONSTANTE, C. C.; BAKOS, L. Frequência das dermatofitoses em exames micológicos em Hospital Geral de Porto Alegre, Brasil. **Anais Bras Dermatol.** 82(3):239-44, 2007.
- 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. **Rev Inst Med Trop S Paulo.** 51(1):9-12, 2009.
- BARROS, M. E. S.; SANTOS, D. A.; HAMDAN, J. S. Evaluation of susceptibility of *Trichophyton mentagrophytes* and *Trichophyton rubrum* clinical isolates to antifungal drugs using a modified CLSI microdilution method (M38-A). **J Medi Microbiol.** 56, 514-518, 2007.
- CARRILO-MUÑOZ, A. J.; TUR-TUR, C.; CÁRDENAS, D.; ROJAS, F.; GIUSNO, G. Influencia del grupo ecológico sobre la sensibilidad in vitro de los hongos dermatofitos a los antifúngicos. **Rev Iberoamericana Micol.** 30(2):130-133, 2013.
- CLINICAL and Laboratory Standards Institute. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of filamentous fungi; approved standard, second edition **CLSI** document. **M38-A2.** Wayne, USA, 2008.
- FACHIN, A. L.; MAFFEI, C. M. L.; MARTINEZ-ROSSI, N. M. In vitro susceptibility of *Trichophyton rubrum* isolates to griseofulvin and tioconazole. Induction and isolation of a resistant mutant to both antimycotic drugs. **Mycopathol.** 135:141-143, 1996.
- FAVRE, B.; HOFBAUER, B.; HILDERING, K. S.; RYDER, N. S. Comparison of *in vitro* activities of 17 antifungal drugs against a panel of 20 dermatophytes by using a microdilution. Assay **J Clin Microbiol.** 41(10): 4817-4819, 2003.
- FERNÁNDEZ-TORRES, B.; CARRILLO, A. J.; MARTÍN, E.; DEL PALACIO, A.; MOORE, M. K.; VALVERDE, A.; SERRANO, M.; GUARRO, J. *In vitro* activities of 10 antifungal drugs against 508 dermatophyte strains. **Antimicrob Agents Chemother.** 45(9):2524-8, 2001.
- FERNÁNDEZ-TORRES, B.; INZA, I.; GUARRO, J. *In vitro* Activities of the new antifungal drug eberconazole and three other topical agents against 200 strains of dermatophytes. **J Clin Microbiol.** 41(11): 5209-5211, 2003.

GHANNOUM, M. A.; CHATURVEDI, V.; ESPINEL-INGROFF, A.; PFALLER, M. A.; RINALDI, M. G.; LEE-YANG, W.; WARNOCK, D. W. Intra- and interlaboratory study of a method for testing the antifungal susceptibilities of dermatophytes. **J Clin Microbiol.** 42: 2977-2979, 2004.

GHANNOUM, M.; ISHAM, N.; SHEEHAN, D. Voriconazole susceptibilities of dermatophyte isolates obtained from a worldwide *Tinea capitis* clinical trial. **J Clin Microbiol.** 44(7):2579-80, 2006.

HALL, G. S.; SEKERES, J. A.; NEUNER, E.; HALL, J. O. Antifungal agents. In: Hall G. S. (Editor) Interactions of yeasts, moulds, and antifungal agents. **Springer**, New York, 2012.

HAY, R. Onychomycosis. **Journal of the Europe on Academy of Dermatology** 19 (1):1-7, 2005.

HRYNCEWICZ-GWÓŹDŹ, A.; KALINOWSKA, K.; PLOMER-NIEZGODA, E.; BIELECKI, J.; JAGIELSKI, T. Increase in resistance to fluconazole and itraconazole in *Trichophyton rubrum* clinical isolates by sequential passages in vitro under drug pressure. **Mycopathol.** 176(1-2):49-55, 2013.

JONES, H. E. Problems of resistant dermatophytes. **J Am Acad Dermatol.** 23:779-781, 1990.

KO, J. Y.; LEE, H. E.; JAE, H.; OH, D. H.; KIM, J. S.; YU, H. J. Cure rate, duration required for complete cure and recurrence rate of onychomycosis according to clinical factors in Korean patients. **Mycoses.** 54 (5):e384-e388, 2011.

LARONE, D. H. Medically important fungi: a guide to identification. **ASM Press**; Washington, USA. 1995.

LENHART, K. Griseofulvin-resistant mutants in dermatophytes. **Mykosen.** 12(11):655-660, 1969.

LOPES, J. O.; ALVES, S. H.; MARI, C. R. D.; OLIVEIRA, L. T. O.; BRUM, L. M.; WESTPHALEN, J. B.; FURIAN, F. W.; ALTERMANN, M. J. A ten-year survey of onychomycosis in the central region of the Rio Grande do Sul, Brazil. **Rev Inst Med Trop S Paulo.** 41(3):147-149, 1999.

MOOSSAVI, M.; BAGHERI, B.; SCHER, R. K. Systemic antifungal therapy. **Dermatol Clin.** 19(1):35-52, 2001.

MOTA, C. R.; MIRANDA, K. C.; LEMOS, J. A.; COSTA, C. R.; SOUZA, L. K. H.; PASSOS, X. S.; SILVA, H. M.; SILVA, M. R. Comparison of *in vitro* activity of five antifungal agents against dermatophytes, using the agar dilution and broth microdilution methods. **Rev Soc Bras Med Trop.** 42(3):250-254, 2009.

MUKHERJEE, P. K.; LEIDICH, S. D.; ISHAM, N.; LEITNER, I.; RYDER, N. S.; GHANNOUM, M. A. Clinical *Trichophyton rubrum* strain exhibiting primary resistance to terbinafine. **Antimicrob Agents Chemother.** 47(1):82-6, 2003.

NWEZE, E. I.; OGBONNA, C. C.; OKAFOR, J. *In vitro* susceptibility testing of dermatophytes isolated from pediatric cases in Nigeria against five antifungal. **Rev Inst Med Trop S Paulo.** 49(5):293-295, 2007.

ODDS, F. C.; BROWN, A. J. P.; GOW, N. A.R. Antifungal agents: mechanisms of action trends in **Microbiology.** v. 11, n. 6 June 2003.

OSBORNE, C. S.; HOFBAUER, B.; FAVRE, B.; RYDER, N. S. *In vitro* analysis of the ability of *Trichophyton rubrum* to become resistant to terbinafine. **Antimicrob Agents Chemother.** 47(11):3634-6, 2003.

OYEKA, C. A.; GUGNANI, H. C. *In vitro* activity of seven azole compounds against some clinical isolates of non-dermatophytic filamentous fungi and some dermatophytes. **Mycopathol.** 110(3):157-61, 1990.

PEREA, S.; FOTHERGILL, A. W.; SUTTON, D. A.; RINALDI, M. G. Comparison of *In vitro* Activities of voriconazole and five established antifungal agents against different species of dermatophytes using a broth macrodilution method. **J Clin Microbiol.** 39(1) 385-388, 2001.

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. **An. Bras Dermatol.** 89(2):259-64, 2014.

SIQUEIRA, E. R.; FERREIRA, J. C.; PEDROSO, R. S.; LAVRADOR, M. A. S.; CANDIDO, R. C. Dermatophyte susceptibilities to antifungal azole agents tested *in vitro* by broth macro and microdilution methods. **Rev Inst Med Trop São Paulo.** 50(1) 1-5, 2008.

VERALDI, S. Isoconazole nitrate: a unique broad-spectrum antimicrobial azole effective in the treatment of dermatomycoses, both as monotherapy and in combination with corticosteroids. **Mycoses.** 56(1):3-15, 2013.

ZALACAIN, A.; OBRADOR, C.; MARTINEZ, J. P.; VIÑAS, M.; VINUESA, T. Characterization of the antimicrobial susceptibility of fungi responsible for onychomycosis in Spain. **Med Mycol.** 49(5):495-9, 2011.

6 DISCUSSÃO GERAL

Em relação ao perfil de suscetibilidade, foram analisadas cepas de *T. rubrum* e *T. mentagrophytes*, isoladas de lesões de unhas (*Tinea unguium*). A lesão em estudo foi a de maior incidência na pesquisa retrospectiva, e cujo tratamento é o mais difícil quando comparado aos das outras tinhas. A partir destas amostras foram realizados os testes de suscetibilidade *in vitro* para termos conhecimento do perfil destas cepas frente aos antifúngicos mais usados nos tratamentos das dermatofitoses. Os antifúngicos testados foram cetoconazol, fluconazol, isoconazol, itraconazol, terbinafina, griseofulvina e ciclopirox, sendo que os resultados obtidos foram satisfatórios, já que uma pequena porcentagem dos isolados estudados apresentaram baixa resposta aos antifúngicos. A terbinafina e o itraconazol apresentaram as CIMs mais baixas, já o fluconazol e a griseofulvina apresentaram as CIMs mais elevadas. Foram detectados isolados resistentes ao fluconazol (25%) e a griseofulvina (28,3%). A resistência cruzada que também é um fator preocupante, não foi observada em nosso estudo. Ainda, detectamos multirresistência frente ao fluconazol e griseofulvina em cinco isolados de *T. rubrum* e em um de *T. mentagrophytes*, correspondendo a 10% dos isolados.

A resistência e a multirresistência podem ser justificadas por diversos fatores. Talvez se devam ao fato da interrupção precoce do tratamento, dos efeitos adversos dos antifúngicos que levam os pacientes a abandonarem a terapia, e da dificuldade de o fármaco atingir o sítio infeccioso (JONES et al., 1990). Recentemente, com a padronização dos testes de suscetibilidade para fungos filamentosos, a possibilidade de avaliarmos a suscetibilidade dos dermatófitos passou a ser uma realidade e a resistência pode ser considerada como outra causa das recidivas (PIRES et al., 2014).

7 CONCLUSÃO

- Os resultados de CIMs revelaram que a terbinafina (0,03-0,5 µg/mL) e o itraconazol (0,03-0,5 µg/mL) foram os antifúngicos mais ativos contra os dermatófitos, sendo o fluconazol (1-32 µg/mL) e griseofulvina (17/28,3%) os menos ativos;
- Foram detectados isolados resistentes frente ao fluconazol (25%) e a griseofulvina (28,3%);
- Não detectamos resistência cruzada entre os azólicos, porém, multirresistência frente ao fluconazol e griseofulvina foi detectada em 10% dos isolados em estudo;
- Ressalta-se que estudos adicionais devam ser realizados para elucidar melhor a existência destas resistências e multirresistências encontradas nos dermatófitos.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, L. M. M. et al. Resposta in vitro de fungos agentes de micoses cutâneas frente aos antifúngicos sistêmicos mais utilizados na dermatologia. **An Bras Dermatol.** n. 84,v. 3, p. 249-55, 2009.

ALY, R. Ecology and epidemiology of dermatophyte infections. **J AM Acad Dermatol.** n. 31, p. S21-S25, 1994.

AIJABRE, S. M. H. et al. Adherence of arthroconidia and germlings of anthropophilic and zoophilic varieties of *Trichophyton mentagrophytes* to human corneocytes as an early event in the pathogenesis of dermatophytosis. **Clin Exper Dermatol.** n. 18, p. 231-235, 1993.

AJELLO, L.; GEORG, L. *In vitro* hair cultures for differentiating between atypical isolates of *Trichophyton mentagrophytes* and *Trichophyton rubrum*. **Mycopath Mycol.** n. 8, p. 3-17, 1957.

AKTAS, A. E. et al. Investigation of In Vitro Activity of Five Antifungal Drugs against Dermatophytes Species Isolated from Clinical Samples Using the E-Test Method. **Eurasian J Med;** n. 46, p. 26-31, 2014.

AQUINO, V. R.; CONSTANTE, C. C.; BAKOS, L. Frequency of dermatophytosis in mycological examinations at a general hospital in Porto Alegre, Brazil. **An Bras Dermatol.** n. 82, p. 239-44, 2007.

ARAÚJO, A. J. G. et al. Occurrence of onychomycosis among patients attended in dermatology offices in the city of Rio de Janeiro, Brazil. **An Bras Dermatol.** Rio de Janeiro, n. 78, v. 3, p. 299-308, 2003.

ARAÚJO, C. R. *In vitro* susceptibility testing of dermatophytes isolated in goiania, Brazil, against five antifungal agents by broth microdilution method. **Rev Inst Med Trop S Paulo.** n. 51, v. 1, p. 9-12, 2009.

ARAÚJO, S. M. Fungal agents in different anatomical sites in public health services in Cuiabá, state of Mato Grosso, Brazil. **Rev Inst Med Trop S Paulo.** n.º 54, v. 1, p. 5-10, 2012.

BARAN, R. et al. A randomized trial of amorolfine 5% solution nail lacquer combined with oral terbinafine compared with terbinafine alone in the treatment of dermatophytic toenail onychomycosis affecting the matrix region. **Br J Dermatol.** n. 142, p. 1177-1183, 2000.

BARROS, M. E. S.; HAMDAN, J. S. Determination of susceptibility/resistance to antifungal drugs of *Trichophyton mentagrophytes* isolates by a macrodilution method. **Can J Microbiol.** n. 51, v. 11, p. 983-987, 2005.

BARROS, M. E. S.; SANTOS, D. A.; HAMDAN, J. S. Evaluation of susceptibility of *Trichophyton mentagrophytes* and *Trichophyton rubrum* clinical isolates to antifungal drugs using a modified CLSI microdilution method (M38-A). **J Med Microbiol.** n. 56, p. 514-518, 2007.

BELLMANN, R. Clinical pharmacokinetics of systemically administered antimycotics. **Curr Clin Pharm.** n. 2, p. 37-58, 2007.

BLAKE, J. S. et al. An immunoinhibitory cell wall glycoprotein (mannan) from *Trichophyton rubrum*. **J Invest Dermatol.** n. 96, p. 651-661, 1991.

BRILHANTE, R. S. N. et al. Epidemiologia e ecologia das dermatofitoses na cidade de Fortaleza: o *Trichophyton tonsurans* como importante patógeno da *Tinea capitis*. **Rev Soc Bras Med Trop.** n. 33, n. 5, p. 417-425, 2000.

BRESSAN, A. L. et al. *Tinea granulomatosa* de Majocchi. **An Bras Dermatol.** n. 86, v. 4, p. 797-805, 2011.

BONIFAZ, A.; TIRADO-SÁNCHEZ, B. A.; PONCEB, R. M. Granuloma de Majocchi. **Gac Méd Méx.** n. 144, v. 5, p. 427-433, 2008.

BUDAK, A. et al. Dermatophytes isolated from superficial fungal infections in Krakow, Poland, between 1995 and 2010. **Mycoses.** n. 56, p. 422-428, 2013.

CAFARCHIA, C. et al. Molecular epidemiology, phylogeny and evolution of dermatophytes Infection. **Genetics and Evolution.** n. 20, p. 336-351, 2013.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. 2008. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of filamentous fungi. Approved standard—second ed M38-A2. CLSI, Wayne, PA.

CARRILLO-MUÑOZ, A. J. et al. Antifúngicos disponibles para el tratamiento de las micosis ungueales. **Rev Iberoam Micol.** n. 27, v. 2, p. 49-56, 2010.

CARRILLO-MUÑOZ, A. J. et al. Influence of the ecological group on the in vitro antifungal susceptibility of dermatophytic fungi. **Rev Iberoam Micol.** n. 30, v. 2, p. 130-133, 2013.

CHEN, J. et al. Substrate adaptation of *Trichophyton rubrum* secreted endoproteases. **Microbial Pathogenesis.** n. 48, p. 57-61, 2010.

COSTA, T. R. et al. Etiologia e epidemiologia das dermatofitoses em Goiânia, GO, Brasil. **Rev Soc Bras Med Trop.** v. 32, n. 4, 1999.

COSTA, M. et al. Epidemiologia e etiologia das dermatofitoses em Goiânia, GO, Brasil. **Rev Soc Bras Med Trop.** n. 35, v. 1, p. 19-22, 2002.

DARKES, M. J.; SCOTT, L. J.; GOA, K. L. Terbinafine: a review of its use in onychomycosis in adults. **Am J Clin Dermatol.** n. 4, v. 1, p. 39-65, 2003.

DI CHIACCHIO, N. et al. Superficial mycoses at the Hospital do Servidor Público Municipal de São Paulo between 2005 and 2011. **An Bras Dermatol.** n. 89, v. 1, p. 67-71, 2014.

DIOGO, H. C.; SARPIERI, A.; MELHEM, M.; PIRES, M. C. Avaliação do método de disco-difusão para determinação da eficácia da terbinafina in vitro em agentes de micoses superficiais e subcutâneas. **An Bras Dermatol.** n. 85, p. 324-330, 2010.

ELEWSKI, B. E. Onychomycosis. **Am J Clin Dermatol.** v. 1, p. 19-26, 2000.

FERNANDEZ-TORRES, B. **Sensibilidad antifúngica de los dermatofitos.** 2005. 119 f. Tesis Doctoral Unidad de Microbiología Departament de Ciències Mèdiques Bàsiques Facultat de Medicina i Ciències de la Salut Universitat Rovira i Virgili Reus, Espanya, 2005.

GHANNOUM, M. A. et al. Intra- and interlaboratory study of a method for testing the antifungal susceptibilities of dermatophytes. **J Clin Microbiol.** n. 42, p. 2977-2979, 2004.

GHELARDI, E. et al. Potential of ergosterol synthesis inhibitors to cause resistance or cross-resistance in *Trichophyton rubrum*. **Ant Agent Chem.** n. 58, v. 5, p. 2825-2829, 2014.

GRASER, Y.; SCOTT, J.; SUMMERBELL, R. The new species concept in dermatophytes-a polyphasic approach. **Mycopathol.** n. 166, v. 5-6, p. 239-56, 2008.

- GUPTA, A. K.; SAUDER, D. N.; SHEAR, N. H. Antifungal agents: An overview. Part II Continuing medical education. **J Am Academy of Dermatol.** n. 30, v. 6, p. 911-933, 1994.
- GUPTA, A. K. et al. Onychomycosis in children: an overview. **J Drugs Dermatol.** n. 2, v. 31-34, 2003.
- GUPTA, A. K.; BLUHM, R. Ciclopirox (Loprox) gel for superficial fungal infections. **Skin Therapy Lett.** n. 7, p. 4-5, 2004.
- GUPTA, A. K.; RYDER, J. E.; SUMMERBELL, R. C. Onychomycosis: classification and diagnosis. **J Drugs Dermatol.** n. 3, p. 51-56, 2004.
- GUPTA, A. K.; COOPER, E. A. Update in antifungal therapy of dermatophytosis. **Mycopathol.** n. 166, v. 5-6, p. 353-67, 2008.
- GOMES, J. M. F. **Caracterização dos dermatófitos e leveduras isolados de lesões sugestivas de dermatomicoses em cães.** 2004. 92 f. Dissertação de Mestrado – Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias da Faculdade de Veterinária da Universidade Estadual do Ceará. Fortaleza: Ceará, 2004.
- HAINER, B. L. Dermatophyte infections. **Am Fam Physician.** n. 67, p. 101-108, 2003.
- HAVLICKOVA, B.; CZAİKA, V. A.; FRIEDRICH, M. Epidemiological trends in skin mycoses worldwide. **Mycoses.** n. 51, v. 4, p. 2-15, 2008.
- HAZEN, K. Fungicidal versus fungistatic activity of terbinafine and itraconazole: An *in vitro* comparison. **J Am Acad Dermatol.** n. 38, p. S37 -S41, 1998.
- HAWKINS, D. M.; SMİDT, A. C. Superficial fungal infections in children. **Clin N Am.** n. 61, p. 443-455, 2014.
- HRYNCEWICZ-GWÓZDZ, A. et al. Increase in resistance to fluconazole and itraconazole in *Trichophyton rubrum* clinical isolates by sequential passages *in vitro* under drug pressure. **Mycopathol.** n. 176, p. 49-55, 2013.
- JARABRÁN, M. C. D. et al. Evaluación del perfil de sensibilidad *in vitro* de aislamientos clínicos de *Trichophyton mentagrophytes* y *Trichophyton rubrum* a aislados en Chile. **Rev Iberoam Micol.** xxx (xx): xxx-xxx, 2014. <http://dx.doi.org/10.1016/j.riam.2013.12.002>.

KALINOWSKA, K. Epidemiology of dermatomycoses in Poland over the past decade, epidemiology insights, Dr. Maria De Lourdes Ribeiro De Souza Da Cunha (Ed.), 2012 ISBN: 978-953-51-0565-7.

KUDAVA, K. et al. Some characteristics of *Tinea capitis*. **Iran J Pediatr**. n. 23, v. 6, p. 707-708, 2013.

KURIAN, A.; HABER, R. M. Tinea corporis gladiatorum presenting as Majocchi granuloma. **ISRN Dermatol**; 2011:767589, 2011.

LONDERO, A. T.; RAMOS, C. D. Agentes de dermatofitoses humanas no interior do Estado do Rio Grande do Sul no período 1960-1987. **An bras Dermatol**. n. 64: 161-164, 1989.

LOPES, J. O.; ALVES, S. H.; BENEVENGA, J. P. Dermatofitoses humanas no interior do Rio Grande do Sul no período 1988- 1992. **Ver Inst Med Trop S Paulo**. n. 36, v. 2, p. 115-119, 1994.

LOPES, J. O. et al. A ten-year survey of onychomycosis in the central region of the Rio Grande do Sul, Brazil. **Rev Inst Med Trop S Paulo**. n. 41, v. 3, p. 147-149, 1999.

MARTINEZ-ROSSI, N. M.; PERES, N. T. A.; ROSSI, A. Antifungal Resistance Mechanisms in Dermatophytes. **Mycopathologia**. nº166, p. 369-383, 2008

MEGAGNIN, C. M. et al. Perfil de suscetibilidade a antifúngicos de dermatófitos isolados de pacientes com insuficiência renal crônica. **An Bras Dermatol**. n. 86, v. 4, p. 694-701, 2011.

MEHLIG, L. et al. Clinical evaluation of a novel commercial multiplex-based PCR diagnostic test for differential diagnosis of dermatomycoses. **Mycoses**, n. 57, p. 27-34, 2014.

MENDEZ-TOVAR et al. Resistencia a compuestos azólicos de aislamientos clínicos de *Trichophyton* spp. **Rev Iberoam Micol**. n. 24, p. 320-322, 2007.

MEZZARI, A. Frequency of dermatophytes in the metropolitan area of Porto Alegre, RS, Brazil. **Rev Inst Med Trop S Paulo**. n. 40, v. 2, p. 71-76, 1998.

MILLIKAN, L. E. Current concepts in systemic and topical therapy for superficial mycoses. **Clin Dermatol**. n. 28, p. 212-216, 2010.

MINELLE, L.; NEME, L. Atualizações em micoses superficiais. **Rev Bras Med.** n. 61, n. 5, p. 28-34, 2004.

MONOD, M. Secreted Proteases from dermatophytes **Mycopathologia** 166:285-294, 2008.

MUKHERJEE, P. K. et al. Clinical *Trichophyton rubrum* strain exhibiting primary resistance to terbinafine. **Antimicrob Agents Chemother.** n. 47, p. 82-86.

NEGRONI, R. Historical aspects of dermatomycoses. **Clin in Dermatol.** n. 28, p. 125-132, 2010.

NENOFF, P. et al. Dermatomycoses: Causative agents, epidemiology and pathogenesis Mycology – an update. Part 1: **JDDG.** 12(3)188-210.

NIR-PAZ, R. et al. Case reports deep infection by *Trichophyton rubrum* in an immunocompromised patient. **J Clin Microbiol.** p. 5298-5301, 2003.

OLIVEIRA, J. A. A. et al Micoses superficiais na cidade de Manaus, AM, entre março e novembro/2003. **An Bras Dermatol.** n. 81, p. 238-243, 2006.

PERES, N. T. A. et al. Dermatofitos: interação patógeno-hospedeiro e resistência a antifúngicos. **An Bras Dermatol.** n. 85, v. 5, p. 657-667, 2010.

PIRES, C. A. A. et al. Clinical, epidemiological and therapeutic profile of dermatophytosis. **An. Bras. Dermatol.** n. 89, v. 2, p. 259-264, 2014.

POLILLI, E. et al. *Tinea incognito* caused by *Microsporum gypseum* in a Patient with Advanced HIV Infection: A Case Report. **Dermatol.** n. 3, p. 55-59, 2011.

ROQUE, S. S. O. **Atualização no tratamento das onicomicoses.** 2013 p. 25. Monografia. Programa de Pós-graduação em Dermatologia (com bases de Medicina Estética) do ICS – FUNORTE – Montes Claros, Núcleo Alfenas, 2013.

RUBIO, M. C. Perspectiva micológica de los dermatofitos en el ser humano. **Rev Iberoam Micol.** n. 16, p. 16-22, 1999.

SÁNCHEZ-SALDAÑA, L.; SÁNCHEZ, R. M.; SENA, H. K. Infecciones micóticas superficiales Artículo De Revisión. **Dermatología Peruana.** n. 3, v. 19, 2009.

- SANTOS, D. A.; BARROS, M. E. S.; HAMDAN, J. S. Establishing a method of inoculum preparation for susceptibility testing of *T. rubrum* and *T. mentagrophytes*. **J Clin Microbiol.** n. 1, v. 44, p. 98-101, 2006.
- SATTER, E. K. *Tinea Imbricata*. **Cutis.** n. 83, p. 188-191, 2009.
- SANTOS, J. I. et al. Diagnóstico laboratorial das dermatofitoses. **RBAC.** n. 1, v. 34, p. 3-6, 2002.
- SCHOELER, A. P. et al. Prevalência de dermatófitos na rotina de micologia em hospital particular de médio porte na cidade de Chapecó, estado de Santa Catarina, Brasil. **Rev Cienc Farm Bas Apl.** n. 31, v. 1, p. 103-106, 2010.
- SEEBACHER, C.; BOUCHARA, J.-P.; MIGNON, B. Updates on the Epidemiology of Dermatophyte Infections. **Mycopathol.** 166(5-6):335352, 2008.
- SHERMER, A. et al. Prevalência de micoses superficiais diagnosticadas em um laboratório de análises clínicas em Goiânia, Goiás. **Goiânia.** n. 4, v. 41, , p. 855-868, 2014.
- SILVA, I. V. et al. Dois casos de Quérion por *Trichophyton mentagrophytes*. **Nascer e Crescer.** n. 4, v. 21, , p. 237-240, 2012.
- SIU, J. J. W. et al. Comparison of in vitro antifungal activities of efinaconazole and currently available antifungal agents against a variety of pathogenic fungi associated with onychomycosis. **Antimicrobial Agents Ch.** n. 57, p. 1610-6, 2013.
- TAUBER, A.; MULLER-GOYMANN, C. C. Comparison of the antifungal efficacy of terbinafine hydrochloride and ciclopirox olamine containing formulations against the dermatophyte *Trichophyton rubrum* in an infected nail plate model **Mol. Pharmaceutics,** 11(7):1991-1996, 2014.
- VASCONCELLOS, C. et al. Identification of fungi species in the onychomycosis of institutionalized elderly. **An Bras Dermatol.** v. 88, n. 3, p. 377-80, 2013.
- ZAIAS, M.; GERBERT, R. Chronic dermatophytosis caused by *Trichophyton rubrum*. **J Am Acad Dermatol.** v. 35, p. 17-20, 1996.
- WEITZMAN, I.; SUMMERBELL, R. C. The dermatophytes. **Clin Microbiol.** n. 8, p. 240-259, 1995.