

## ISOLAMENTO E IDENTIFICAÇÃO DE FUNGOS PRESENTES EM PELOS DE CÃES HÍGIDOS E COM SINTOMAS DE DERMATOFITOSE, DO MUNICÍPIO DE ARAÇATUBA, SÃO PAULO

Natália Tonheiro Cardoso<sup>1</sup>, Danila Fernanda Rodrigues Frias<sup>2</sup>, Dora Inés Kozusny-Andreani<sup>1</sup>

<sup>1</sup> UNICASTELO

<sup>2</sup> EMBRAPA - GENEPLUS

Correspondência: Danila Fernanda Rodrigues Frias: danilafrias@yahoo.com.br

**RESUMO:** A dermatofitose é uma doença de caráter zoonótico causada por fungos patogênicos chamados dermatófitos. O objetivo deste trabalho foi identificar os fungos presentes em pelos de cães hígidos e com sintomas de dermatofitose do Município de Araçatuba, São Paulo. Foram coletadas 100 amostras de pelos, destas 50 foram provenientes de cães aparentemente hígidos coletadas em clínicas veterinárias e pet shop, e 50 provenientes de cães com sintomas de dermatofitose coletadas no centro de controle de zoonoses. Em cada grupo, 25 amostras eram de machos e 25 de fêmeas. Para detecção do fungo, foi realizado exame direto nos pelos através da clarificação com hidróxido de potássio a 20% e observação ao microscópio. Também foi realizado cultivo em Placas de Petri, com posterior identificação macroscópica e microscópica dos agentes. Nos dois grupos, todas as amostras foram positivas. Nos animais hígidos, o fungo mais encontrado foi o *Penicillium* spp, seguido pelo dermatófito *Microsporium canis*. Nos animais com sintomas de dermatofitose, o fungo mais isolado também foi o *Penicillium* spp, mas tiveram grande destaque os dermatófitos *Microsporium canis* e *Trichophyton mentagrophytes*. De acordo com os resultados obtidos conclui-se que os cães são reservatórios naturais de fungos sapróbios e dermatófitos mesmo sem apresentar lesão aparente na pele. Em nenhum grupo houve diferença entre os sexos e o dermatófito de maior ocorrência foi o *Microsporium canis*.

**Palavras-chave:** dermatófitos; sapróbios; *Microsporium canis*; *Penicillium* spp; *Trichophyton mentagrophytes*

## ISOLATION AND IDENTIFICATION OF FUNGI PRESENT IN HEALTHY DOGS' HAIR AND IN DOGS WITH SYMPTOMS OF DERMATOPHYTOSIS IN THE CITY OF ARAÇATUBA, SÃO PAULO

**ABSTRACT:** The Dermatophytosis (Ringworm) is a zoonotic disease caused by pathogenic fungi called dermatophytes. The aim of this study was to identify fungi present in healthy dogs hair and with symptoms of dermatophytosis in Araçatuba, São Paulo. One hundred of hair samples were collected, 50 of these from apparently healthy dogs collected in veterinary clinics and pet shops, and 50 from dogs with symptoms of dermatophytosis collected on zoonosis control centers. In each group, 25 samples were from males and 25 from females. For the detection of fungi, an examination direct in hair was conducted by clarifying with potassium hydroxide 20% and observation under a microscope. It was also performed culture, with Petri dishes with further macroscopic and microscopic identification of agents. In both groups, all samples were positive. In healthy animals, the most found fungus was *Penicillium* spp., followed by the dermatophyte *Microsporiumcanis*. In animals with symptoms of dermatophytosis, the most isolated fungus was also the *Penicillium* spp., but dermatophytes *Microsporiumcanis* and *Trichophyton mentagrophytes* had great prominence. According to the results, it was concluded that the dogs are natural reservoirs of saprobic fungus and dermatophyte even without apparent injury in the skin. There was no difference between sexes and the highest occurrence was the dermatophyte *Microsporiumcanis*.

**Key Words:** dermatophytes; saprobe; *Microsporium canis*; *Penicillium* spp; *Trichophyton mentagrophytes*

## INTRODUÇÃO

A pele é considerada o maior órgão do corpo, sendo responsável pela proteção de todo organismo. As alterações neste órgão são avistadas quando já estão evidentes, como por exemplo, a perda de pelos, o início do prurido, alterações no odor da pele, alteração na pigmentação, presença de descamações ou crostas, sendo estes os principais sinais de apresentação de doença dermatológica, associados à sensibilidade ao toque (Wilkinson & Harvey, 1995).

Dermatofitoses são micoses superficiais causadas por fungos denominados dermatófitos, pertencentes ao grupo dos fungos filamentosos, hialinos, septados, queratinofílicos, sensíveis à griseofulvina, capazes de colonizar e causar lesões no extrato córneo do homem e animais (Mendleau & Hnilica, 2003; Brilhante *et al.*, 2004). É uma doença de caráter contagioso também conhecida como “tinha” ou ringworm, que apresenta marcada afinidade pela queratina afetando, portanto, pelos, unhas, cascos, penas e células queratinizadas da pele (Thadei, 2012).

Os dermatófitos são classificados em três gêneros: *Epidermophyton*, *Microsporum* e *Trichophyton*, que incluem cerca de 40 espécies, das quais somente algumas, pertencentes aos gêneros *Microsporum* e *Trichophyton* são usualmente as causas de dermatofitose em animais domésticos. Podem ser divididos em três grupos ecológicos, conforme seu habitat e/ou hospedeiros naturais, em antropofílicos (humanos), zoofílicos (animais) e geofílicos (solo) (Cabañes, 2000).

De acordo com Thadei (2012), os dermatófitos infectam várias espécies animais, determinando de modo geral, uma área circular de perda de pelo com a borda externa alta e avermelhada, pele escurecida e a face, as orelhas, as

patas e a cauda são as áreas geralmente mais afetadas. Estas lesões são resultado de uma reação inflamatória ao fungo, provocando lesões secas e, comumente, não pruriginosas que se distribuem focalmente na superfície cutânea, sem causar transtornos gerais aos animais afetados (Jungerman & Schwartzman, 1972; Pereira & Meireles, 2000; Baranová *et al.*, 2003).

Dentre os dermatófitos, o *Microsporum canis* é o fungo que acomete cães e gatos com mais frequência. A sua transmissão ocorre pelo contato de pelos e escamas infectadas ou do próprio fungo presente nos animais, ambiente, escovas, pentes, etc. Animais jovens, idosos e com deficiência imunológica são acometidos com mais frequência podendo ser fonte de infecção para outros animais ou até para o homem (Bichard & Sherding, 2008).

O diagnóstico da dermatofitose baseia-se na evidência da infectividade, na aparência das lesões características e na presença de micélios ou esporos do fungo (Harvey & Mckeever, 2004). O exame microscópico direto de pelos infectados tem valor de diagnóstico, porém o método mais comumente empregado e mais confiável para o diagnóstico da dermatofitose é o uso de culturas fúngicas (Feitosa, 2008).

Outra técnica empregada no diagnóstico é através da utilização de uma lâmpada especial, conhecida como lâmpada de Wood, que detecta a presença de dermatófito. Infelizmente, apenas 50 % de um tipo específico de fungo, chamado *Microsporum canis* fica fluorescente no pelo do animal, por isso, um resultado negativo com a utilização da lâmpada de Wood não descarta a possibilidade da presença de dermatófitos (Harvey & Mckeever, 2004).

Para que o tratamento dessas afecções seja efetivo, o diagnóstico do

gênero e espécie causal da doença é essencial, pois para cada tipo e agente, existem fármacos mais eficientes (Guaguère & Bensignor, 2005).

Devido a todos os fatores já discutidos, o presente trabalho teve por objetivo diagnosticar os agentes etiológicos das dermatofitoses em cães com sintomas sugestivos de dermatofitose e cães hígidos do Município de Araçatuba, SP.

## MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Microbiologia, da Universidade Camilo Castelo Branco, Campus Fernandópolis, SP. Durante o período entre Fevereiro a Maio de 2012, foram coletadas amostras de pelos de 100 cães, da cidade de Araçatuba-SP, distribuídos em dois grupos: a) 50 animais hígidos, provenientes de clínicas e pet shop; b) 50 animais com sintomas de dermatofitose do Centro de Controle de Zoonoses do Município. Em ambos os grupos 50% dos animais eram machos e 50% fêmeas.

As amostras de pelos foram retiradas com pinça estéril, depositadas em coletores universais estéreis com tampas e transportados para o laboratório. Parte do material foi utilizado para exame microscópico direto. Para tal finalidade os pelos foram depositados em lâminas e clareados pela adição de solução de hidróxido de potássio a 20% com leve aquecimento. Em seguida, o material foi observado ao microscópio óptico (40x) para verificação de estruturas fúngicas (artrósporos).

O restante do material foi cultivado em Ágar Sabourau e Ágar Sabouraud enriquecido com extrato de levedura, tiamina, antibióticos (estreptomina e cloranfenicol) e cicloheximida. Este último composto serve para supressão de crescimento de

fungos saprofitos que possam inibir o desenvolvimento dos agentes etiológicos da dermatofitose. A microbiota saprofítica se desenvolve mais rapidamente impossibilitando o isolamento dos dermatofitos.

As Placas de Petri contendo os diferentes meios de cultura foram inoculadas e incubadas a 34°C por 10 dias, sendo avaliadas a partir do terceiro dia de incubação para verificação do estabelecimento da cultura, no entanto o diagnóstico foi realizado no décimo dia.

A avaliação foi conduzida de acordo com as características macroscópicas e microscópicas. O exame microscópico foi realizado utilizando a técnica descrita por Minami (2003). Adicionou-se em uma lâmina uma gota de lactofenol azul-algodão. Em seguida, foi retirado um fragmento das bordas da cultura sendo depositado sobre a gota de corante, e posteriormente foi depositada uma lamínula. Após este procedimento as estruturas foram observadas ao microscópio óptico (40x). Para identificação macroscópica foram avaliadas as características das colônias levando em consideração o anverso e reverso das mesmas, como descrito por De la Maza *et al.* (1999) e Minami (2003).

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey com 5% de probabilidade, utilizando software Assitat version 7.6 beta (Silva & Azevedo, 2009).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

O exame direto com a utilização da técnica de clarificação com hidróxido de potássio favoreceu a visualização de estruturas de parasitismo, localizados na parte externa e na parte interna dos pelos. Quando os dermatófitos são encontrados fora do pelo, o parasitismo

se denomina ectotrix e, dentro do pelo o parasitismo é chamado endotrix (Minami, 2003; Quinn *et al.*, 2005).

A positividade das culturas foi verificada em 100% dos animais com sintomatologia de dermatofitose, sem apresentar diferenças quanto ao sexo. Brilhante *et al.* (2003) e Pinter & Stritof (2004), não encontraram diferenças quanto achados fungicos em amostras avaliadas de animais de sexos e raças diferentes. A Tabela 1 mostra as proporções de fungos patogênicos isolados de pelos de animais doentes e hígidos.

Tabela 1: Proporção individual de dermatófitos e fungos saprófitos isolados de pelos de cães com sintomas de dermatofitose e hígidos. Araçatuba, São Paulo, Brasil.

| Espécie Fúngica                    | Fêmea hígida | Macho hígido | Macho com sintomas de dermatofitose | Fêmea com sintomas de dermatofitose |
|------------------------------------|--------------|--------------|-------------------------------------|-------------------------------------|
| <i>Aspergillus</i> spp             | 7% a*        | 9% a         | 16% a                               | 16% a                               |
| <i>Rhizopus</i> spp                | 8% a         | 8% a         | 8% a                                | 8% a                                |
| <i>Fusarium</i> spp                | 2% a         | 2% a         | 4% a                                | 4% a                                |
| <i>Microsporium canis</i>          | 12% b        | 12% b        | 80% a                               | 76% a                               |
| <i>Microsporium gypseum</i>        | 2% b         | 6% b         | 32% a                               | 36% a                               |
| <i>Trichophyton mentagrophytes</i> | 4% b         | 8% b         | 48% a                               | 52% a                               |
| <i>Penicillium</i> spp             | 25% b        | 45% ab       | 72% a                               | 80% a                               |
| <i>Candida albicans</i>            | 0% a         | 0% a         | 8% a                                | 12% a                               |
| <i>Malassezia</i> spp              | 0% a         | 0% a         | 4% a                                | 4% a                                |

\*Valores na linha seguidos pela mesma letra não diferiram entre si pelo teste de Tukey com 5% de probabilidade.

O dermatófito *Microsporium canis* foi isolado na maioria das amostras dos animais doentes sem diferença entre os sexos. Os resultados obtidos neste trabalho confirmam os encontrados por outros autores, que identificaram *M. canis* como o dermatófito mais frequentemente isolado em animais domésticos (Brilhante *et al.*, 2003; Bernardo *et al.*, 2005; Frias & Kozusny-Andreani, 2008; Ramadina *et al.*, 2010).

Verificou-se que os pelos dos cães doentes e acometidos por *M. canis*, machos e fêmeas apresentaram parasitismo ectotrix, com presença de esporos arredondados, pequenos, formando uma bainha ao redor do pelo. Esta forma de parasitar o pelo é característica do gênero *Microsporium*. Os pelos infectados por *Microsporium*

apresentam acúmulo de esporos na superfície externa e produzem fluorescência esverdeada oriunda de um metabólito do triptofano que é visível quando exposto a luz ultravioleta (Quinn *et al.*, 2005).

Este dermatófito também foi isolado das amostras provenientes de animais aparentemente hígidos, mostrando que os cães são portadores sãos deste fungo. Este fato é importante quando relacionamos os casos de dermatofitoses humanas, onde a maioria também é causada por este tipo de fungo (Copetti *et al.*, 2006). Isso pode ser explicado devido ao estreito relacionamento entre estas espécies.

Por outro lado, o *M. gypseum*, classificado como fungo geófilo, foi isolado em número elevado nos animais com sintomas de dermatofitose, em 32% das fêmeas e 34% dos machos, evidenciando diferenças significativas com os animais hígidos (Tabela 1). Este fungo é considerado como agente pouco frequente nas dermatofitoses de animais domésticos, inclusive não se conhecem surtos interespecíficos determinados por este agente (Costa *et al.*, 1994). Kozak *et al.* (2003) em estudos sobre dermatofitose em cães não isolaram *M. gypseum*. No entanto Coelho *et al.* (2008) encontraram este dermatófito em 15,8% das amostras clínicas analisadas, e Frias & Kozusny-Andreani (2008) isolaram em 26% das amostras.

O fungo *Trichophyton mentagrophytes* foi isolado em machos (52%) e fêmeas (48%) que apresentaram sinais clínicos de dermatofitose, sendo também encontrado em animais hígidos, porém em menor proporção. Outros autores também citaram a ocorrência deste fungo em pelos de animais hígidos, em menores proporções (Frias & Kozusny-Andreani, 2008).

Os fungos saprófitos encontrados foram dos gêneros

*Penicillium*, *Rhizopus*, *Aspergillus* e *Fusarium* tanto em animais com sinais clínicos de dermatofitose como nos hígdos. Este resultado corrobora com os encontrados por Paixão *et al.* (2001) e Frias & Kozusny-Andreani (2008).

Foram encontradas associações entre fungos saprófitos e dermatófitos. Estas associações são bastante frequentes, e os resultados obtidos neste trabalho são semelhantes aos descritos por Paixão *et al.* (2001), Frias & Kozusny-Andreani (2008) e Coelho *et al.* (2008).

Tanto os animais machos como as fêmeas com sinais clínicos de dermatofitose apresentaram culturas positivas em meio Agar Sabouraud para *Candida albicans* e *Malassezia* spp. Kozak *et al.* (2003) isolou *C. albicans* e *Malassezia* em 5% e 54%, dos animais avaliados, respectivamente. O isolamento de *Malassezia* em material proveniente de tegumento e pelos de cães é frequente devido a serem comensais de pele de animais, e a colonização e o crescimento deste micro-organismo podem estar associados à imunossupressão e a outros fatores predisponentes (Quinn *et al.*, 2005).

## CONCLUSÃO

De acordo com os resultados obtidos nas condições em que foi realizado o experimento pode-se concluir que os cães são reservatórios de fungos dermatófitos e sapróbios, já que as amostras coletadas de cães sem nenhuma lesão de pele visível, isolaram-se estes fungos. Por este motivo, e pela dermatofitose ser uma zoonose, o contato entre o ser humano e seus animais de estimação deve ser criterioso, principalmente crianças e pessoas imunossuprimidas, devido a real hipótese de adquirir o fungo e desenvolver a doença.

Não houve diferença no isolamento de fungos sapróbios entre animais de diferentes sexos tanto no grupo de animais hígdos como no de com sintomas de dermatofitose. A maior frequência de isolamento nos animais com sintomas de dermatofitose, no município de Araçatuba, foi do dermatófito *Microsporum canis*.

## REFERÊNCIAS

- BILEK, J.; BARANOVA, Z., KOZAK, M. *et al.* *Trichophyton mentagrophytes* var. *quinckeanum* as a cause of zoophilic dermatomycosis in a human family. **Bratisl Lek Listy**, v.106, n.12, p.383-385, 2005.
- BERNARDO, F.; LANÇA, A.; GUERRA, M. M. Dermatofitos isolados de animais de companhia (cão e gato), em Lisboa, Portugal (2002-2004). **Revista Portuguesa de Ciência Veterinária**, v.100, p.85-88, 2005.
- BICHARD, S. J.; SHERDING, R. G. **Clínica de pequenos animais**: Manual Saunders. 3. ed. São Paulo: Roca, 2008. p. 458- 459.
- BRILHANTE, R. S. N.; CAVALCANTE, C. S. P.; SOARES-JUNIOR, F. A. *et al.* High rate *Microsporum canis* feline and canine dermatophytoses in Northeast Brazil: epidemiological and diagnosis features. **Mycopathologia**, v.156, n.4, p.303-308, 2003.
- BRILHANTE, R. S. N.; CAVALCANTE, C. S. P.; SOARES-JUNIOR, F. A. *et al.* Evaluation of *Microsporum canis* in diferente methods of storage. **Medical Mycology**, v.42, n.6, p.499-504, 2004.
- CABAÑES, F. J. Dermatofitosis animales. Recientes avances. **Revista Iberoamericana de Micología**, v.17, n.1, p.S8-S12, 2000.
- COELHO, A. C.; LEGRIA, N.; RODRIGUES, J. Isolamento de dermatofitos em animais domésticos em Vila Real, Portugal. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.60, n.4, p.1017-1020, 2008.
- COPETTI, M. V.; SANTURIO, J. M.; CAVALHEIRO, A. S. *et al.* Dermatophytes isolated from dogs and cats suspected of dermatophytosis in Southern Brazil. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.34, n.2, p.119-124, 2006.

- COSTA, E. O.; DINIZ, L. S. M.; BENITES, N. R. *et al.* Surtos interespecíficos por *Microsporium canis* e *Microsporium gypseum*. **Revista de Saúde Pública**, v.8, n.5, p.337-340, 1994.
- DE LA MAZA, L. M.; PEZZLO, M. T.; BARON, E. J. **Atlas de diagnóstico em microbiologia**. Ed Artmed. 1999, 216p.
- FEITOSA, F. L. F. **Semiologia Veterinária: A arte do diagnóstico**. 2. ed. São Paulo: Roca, 2008. p. 609.
- FRIAS, D. F. R.; KOZUSNY-ANDREANI, D. I. Isolamento de dermatofitos e fungos sapróbios de pelos de cães de Fernandópolis, Brasil. **CES, Veterinária e Zootecnia**, v.2, p.52-60, 2008.
- GUAGUÈRE, É.; BENSIGNOR, E. **Terapêutica dermatológica do cão**. São Paulo: Roca, 2005. p. 196-199.
- HARVEY, R. G.; MCKEEVER, P. J. **Manual colorido de dermatologia do cão e do gato: Diagnóstico e Tratamento**. Rio de Janeiro: Revinter, 2004. p. 210-212.
- JUNGERMAN, P. F.; SCHWARTZMAN, R. M. **Veterinary Medical Mycology**. Philadelphia: Lea & Febiger, 1972. p.3-28.
- KOZAK, M.; BILEK, J.; BELADICOVA, K. *et al.* Study of the dermatophytes in dogs and the risk of human infection. **Bratisl Lek Listy**, v.104, n.7-8, p.211-217, 2003.
- MENDLEAU, L.; HNILICA, K. A. **Dermatologia de pequenos animais: Atlas colorido e guia terapêutico**. 1. ed. Roca, 2003.
- MINAMI, P. S. **Micologia. Métodos laboratoriais de diagnósticos das micoses**. Ed. Manole, 2003, 199p.
- PAIXÃO, G. G.; SIDRIM, M. J. J. C.; CAMPOS, G. M. M. *et al.* **Dermatófitos e fungos sapróbios isolados de cães e gatos**. Fortaleza. 2001. p.53.
- PEREIRA, D. B.; MEIRELES, M. C. As doenças causadas por fungos e oomycetos. Dermatofitoses. In: RIET CORREA, F.; SCHILD, A. L.; MÉNDEZ, M. C. *et al.* **Doenças de ruminantes e eqüinos**. 2. ed. São Paulo: Varela, 2000. p.367-373.
- PINTER, I.; STRITOF, Z. A retrospective study *Trichophyton metatagrophytes* infection in dogs (1970-2002). **Veterinarns kiarhiv**, v.74, n.4, p.251-260, 2004.
- QUINN, P. J.; MARKEY, B. K.; CARTER, M. E. *et al.* **Microbiologia Veterinária e Doenças Infeciosas**. Porto Alegre: Artmed, 2005.
- RAMANDINHA, R. R.; REIS, R. K.; CAMPOS, S. G. *et al.* Lufenuron no tratamento da dermatofitose em gatos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.30, n.2, p.132-138, 2010.
- SILVA, F. de A. S.; AZEVEDO, C. A. V. de. Principal componentes analysis in the software Assitat-Statistical attendance. In: **World Congresso Computers in Agriculture**, 7, Reno-NV-USA: American Society of Agricultural and Biological Engineers, 2009.
- THADEI, C. L. **Dermatofitoses (Fungos dermatófitos)**. Disponível em <<http://www.saudeanimal.com.br/artig137.htm>> Acesso em: 17 jul. 2012.
- WILKINSON, G. T.; HARVEY, R. G. **Atlas colorido de dermatologia dos pequenos animais**. 2. ed. São Paulo: Manole, 1995. p.2-15, 207.