

# Isolamento e identificação de fungos associados à dermatofitose e dermatomicose em cães.

## Aislamiento e identificación de hongos asociados con dermatofitosis y dermatomicosis en caninos

### Isolation and identification of fungi is associat of dermatophytosis and dermatomicosis on dogs.

Danila Fernanda Rodrigues Frias<sup>1</sup>; Dora Inês Kozusny-Andreani<sup>2</sup>

Recibido el 24 de septiembre de 2008 y aceptado El 27 de noviembre de 2008

#### Resumen

O presente trabalho teve como objetivo determinar os fungos associados à dermatofitose e dermatomicose em cães, visando demonstrar a participação do cão como um portador são de fungos patogênicos. Durante a campanha de vacinação anti-rábica, foram coletadas 200 amostras de pêlos. Estas amostras foram inicialmente avaliadas pelo exame microscópico direto e, em seguida cultivadas e identificadas. O exame direto demonstrou estruturas de parasitismo, localizados na parte externa (ectotrix - 76,5%) e na parte interna (endotrix - 2,5%) dos pêlos. O cultivo de pêlos em ágar Sabouraud permitiu identificar duas espécies de *Microsporum*: *canis* (51%) e *gypseum* (26%), uma *Trichophyton*: *mentagrophytes* (2,5%) e representantes do gênero *Epidermophyton* (1%). Além dos dermatófitos, fungos sapróbios, pertencentes aos gêneros *Aspergillus*: *A. niger* (7%) e *A. flavus* (5%); *Penicillium* (7%) e *Rhizopus* (0,5%). Destas amostras foram obtidas culturas constituídas por uma espécie de fungo (84%) ou em associações (16%). Concluiu-se dermatófitos do gênero *Microsporum* foram encontrados na maioria dos animais e que há maior frequência da espécie *Microsporum canis*, os fungos sapróbios são constituintes da microbiota de pêlos de cães e que os cães são portadores de fungos sapróbios e dermatófitos, pois, 100% das amostras foram positivas para algum destes fungos.

#### Palabras clave

dermatófitos, sapróbios, *Microsporum*, *Aspergillus*, *Trichophyton*.

#### Summary

The goal of this study was to determine the fungi is associate of dermatophytosis and dermatomicosis on dogs, aiming to demonstrate the role of dogs as carriers for pathogenic fungi. During anti-rabies vaccination campaign, 200 fur samples were collected and examined

by direct microscopy followed by agent's isolation and identification. Direct examination showed structures that suggested parasitism. 75% of these structures were located at ectothrix while 2.5% were at endothrix. Fur's cultivation was done in Sabouraud agar and it allowed identification of the following agents: *Microsporum canis* (51%), *Microsporum gypseum* (26%), *Trichophyton mentagrophytes* (2.5%) and representatives from genus

<sup>1</sup>Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - UNESP, Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Reprodução Animal. Doutoranda. Via de Acesso: Prof. Paulo Donato Castellane, S/N, CEP: 14884-900, Jaboticabal, São Paulo, Brasil.

Telefone: (16) 3209 2646. E-mail: danilafrias@yahoo.com.br.

Epidermophyton (1%). Besides dermatophytes, saprobe fungi such as *Aspergillus niger* (7%), *Aspergillus flavus* (5%), *Penicillium* (7%) and *Rhizopus* (0.5%) were also found. Eighty-four percent of samples were constituted by only one species of fungus, while 16% of them were constituted by associations of fungi. In conclusion, dermatophytes of genus *Microsporum* were found in most tested samples and species of *M. canis* had the highest frequency. Saprobe fungi are constituents of fur's flora and dogs are carries of saprobe fungi and dermatophytes, for 100% of samples were positive for at least one of these fungi.

### Key words

Dermatophytes, saprobe, *Microsporum*, *Aspergillus*, *Trichophyton*.

### Resumen

El presente trabajo tuvo como objetivo determinar los hongos asociados a la presentación de la dermatoficosis y dermatomicosis en caninos, con el propósito de demostrar el papel de los caninos como portadores sanos de hongos patógenos. Durante una campaña de vacunación anti-rábica, fueron colectadas 200 muestras de pelaje canino. Estas muestras fueron evaluadas por el examen microscópico directo y posteriormente cultivadas e identificadas. El examen directo demostró la presencia de estructuras del patógeno localizadas tanto en la parte externa (ectotrix- 76,%) como en la parte interna (endotrix – 2,5%) del pelaje. El cultivo de estas muestras realizado en agar Sabouraud permitió identificar dos especies de *Microsporum*: *M.canis* (51%) y *M. gypseum* (26%), *Trichophyton*: mentagrophytes (2,5%) y representantes del género *Epidermophyton* (1%). Además de los dermatofitos se encontraron hongos saprófitos pertenecientes a los géneros *Aspergillus*: *A. niger* (7%) y *A. flavus* (5%); *Penicillium* (7%) y *Rhizopus* (0,5%). De estas muestras fueron obtenidos cultivos con una sola especie de hongo (84%) o en asociaciones (16%). Se concluye que los dermatofitos del género *Microsporum* fueron encontrados en la mayoría de animales y que hay mayor frecuencia de la especie *M. canis*. Los hongos saprobios constituyen la microbiota del pelaje canino y además éstos son portadores de hongos saprófitos y dermatofitos, debido a que el 100% de las muestras fueron positivas para algunos de estos hongos.

### Palabras clave

dermatofitos, sapróbios, *Microsporum*, *Aspergillus*, *Trichophyton*.

### Introducción

A dermatofitose é uma doença de caráter contagioso causada por um grupo homogêneo de fungos patogênicos chamados dermatófitos, os quais apresentam marcada afinidade pela queratina, são encontrados no mundo todo, sendo reconhecidas mais de trinta espécies [8, 13, 16, 18]. As dermatofitoses constituem zoonoses de importância, uma vez que cães e gatos, dentre os animais domésticos, são os que mantêm mais estreito contato com a espécie humana [16]. Podem ser transmitidas de animal para animal, de animal para seres humanos, ou do solo para os animais e para os seres humanos [13].

Além dos dermatófitos, outros fungos são apontados como agentes de dermatofitose, os sapróbios, geralmente encontrados no ambiente e outros materiais e comumente isolados de cães e gatos. Estes pertencem aos gêneros *Aspergillus* spp e *Penicillium* spp [12]. Fora o contato direto, fontes importantes de infecção são os denominados portadores, que são animais sem lesões visíveis, mas que, ainda assim, convivem pacificamente com o agente e só demonstram lesões se o agente encontrar condições favoráveis, como por exemplo, distúrbios do sistema imunológico, desenvolvendo assim, seu poder patogênico e invadindo tecidos [19].

O diagnóstico inicial de animais infectados é feito através do exame direto de escamas de pele e pêlos, o qual revela a presença de estruturas de parasitismo, porém, para a identificação das espécies de dermatófitos presentes é necessária a realização de culturas, onde suas características morfológicas macroscópicas e microscópicas são essenciais para fechamento de diagnóstico [4, 5, 8, 10, 13, 16].

Por todas estas razões, o presente trabalho tem como objetivo determinar os fungos associados à dermatofitose e dermatomicose presentes em pêlos de cães saudáveis, visando demonstrar a participação do cão como portador.

### Materiales y Metodos

O experimento foi conduzido no Laboratório de

Microbiologia, da Universidade Camilo Castelo Branco - UNICASTELO, Campus VII, Fernandópolis, SP.

Para o isolamento dos dermatófitos e fungos sapróbios presentes nos cães, foram amostrados pêlos de 200 animais sadios, ou seja, sem lesão aparente na pele. A amostragem foi realizada durante a vacinação anti-rábica, no município de Fernandópolis, SP.

Os pêlos foram retirados com pinça estéril e depositados em tubos de ensaio (com tampa) também estéreis e em seguida, transportados para o laboratório.

Parte do material foi utilizado para exame microscópico direto. Para tal finalidade os pêlos foram depositados em lâminas e clareados pela adição de solução de hidróxido de potássio a 20% e leve aquecimento. O material assim preparado foi observado ao microscópio óptico.

O cultivo de dermatófitos e fungos sapróbios foi realizado em ágar Sabouraud Dextrose (Difco), acrescido de cloranfenicol e cicloheximida para evitar contaminações bacterianas. As placas de Petri inoculadas foram incubadas a  $36 \pm 0,5^\circ\text{C}$  durante sete dias.

O exame microscópico das culturas foi realizado da seguinte maneira: em uma lâmina foi depositada uma gota lactofenol azul-algodão e, um fragmento retirado das bordas da cultura foi depositado sobre a gota de corante, posteriormente foi depositada uma lamínula, após este procedimento as estruturas foram observadas ao microscópio óptico.

A identificação dos fungos foi realizada macroscopicamente e microscopicamente de acordo com DE LA MAZA et al., (1999) e MINAMI (2003).

## Resultados

O exame direto e a utilização da técnica de clarificação com hidróxido de potássio e coloração com lactofenol azul-algodão favoreceram a visualização de estruturas de parasitismo, localizados na parte externa (ectotrix) e na parte interna (endotrix) dos pêlos. O parasitismo ectotrix foi observado em 76,5% dos pêlos avaliados, enquanto que estruturas endotrix foram observadas em 2,5% dos animais.

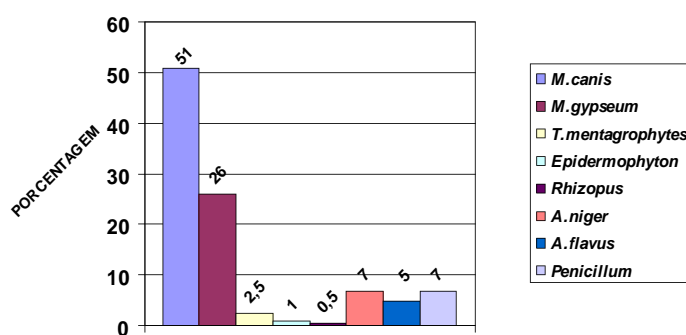
O cultivo de pêlos em ágar Sabouraud Dextrose demonstrou a presença de dermatófitos dos gêneros *Microsporum*, *Trichophyton* e *Epidermophyton* através da avaliação das características morfológicas macroscópicas e microscópicas. Foram identificadas duas espécies de *Microsporum*: *canis* e *gypseum*, e *Trichophyton mentagrophytes*.

Nas culturas foram observados, além dos dermatófitos, fungos sapróbios, pertencentes aos gêneros *Aspergillus*, *Penicillium* e *Rhizopus*. As espécies de *Aspergillus* foram identificadas como *A. niger* e *A. flavus*.

Das amostras de pêlos cultivadas foram obtidas culturas constituídas por uma espécie de fungo ou em associações. Observou-se em 8% dos animais associações entre dermatófitos, 7,5% dos animais apresentaram associações de dermatófitos e fungos sapróbios, 0,5% associações entre fungos sapróbios.

**Figura 1: Porcentagem de dermatófitos e fungos sapróbios, isolados de 200 amostras de pêlos de cães sadios de Fernandópolis, SP, Brasil.**

**A quantificação dos fungos isolados dos pêlos dos 200 cães esta descrita no gráfico 1.**



## Discussión

Os dermatófitos são fungos septados que existem no mundo todo, sendo reconhecidas mais de trinta espécies. Muitas pertencem aos Fungi Imperfecti e são classificadas três gêneros: *Microsporum*, *Trichophyton* e *Epidermophyton* [13, 16, 18]. O *Trichophyton* pode infectar os pêlos, a pele ou as unhas; o *Microsporum* usualmente envolve unicamente pêlos ou pele; o *Epidermophyton* afeta somente pele e unhas, neste caso, escamas de pele poderiam estar aderidas ao pêlo, por isso foi encontrado este gênero nos pêlos cultivados neste experimento [18].

Os dermatófitos podem ser encontrados fora (parasitismo ectotrix) e dentro (parasitismo endotrix) do pêlo. O parasitismo ectotrix pode ser causado pelo gênero *Microsporum* que aparece como esporos arredondados, pequenos, formando uma bainha ao redor do pêlo, junto ao folículo, provocando o seu desligamento nessa região,

esta informação corresponde ao resultado encontrado, pois a maioria do parasitismo encontrado foi o ectotrix e o fungo de maior prevalência foi o do gênero *Microsporum*, embora os animais não apresentassem lesões na pele características de dermatofitose. Os pêlos contaminados por *Microsporum* 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 [4, 16]. O parasitismo endotrix pode ser causado pelo gênero *Trichophyton*, que forma hifas ou cadeias artrosporadas por dentro do pêlo, provocando a sua ruptura [13], sendo também encontrado e como havia pouco parasitismo ainda, os animais não apresentavam lesões. Estas características permitem um pré-diagnóstico do agente causal da dermatofitose fazendo com que o pré-tratamento seja mais eficiente, mas, no entanto, para a confirmação devem ser realizadas culturas e identificação do fungo [10]. O meio tradicional para propagação de dermatófitos e sapróbios é o ágar Sabouraud com Dextrose, o mesmo utilizado neste experimento [5, 8, 14].

Nos procedimentos de identificação dos dermatófitos, a morfologia macroscópica da colônia é muito importante, em especial, no que se refere à coloração do anverso e reverso [4, 8, 13, 16]. *Microsporum canis* em ágar Sabouraud produz, em uma semana, colônia cotonosa branca ou amarela, com reverso amarelo alaranjado. Microscopicamente apresenta numerosos macroconídeos em forma de fuso com parede celular espessa [5, 10]. As colônias de *Epidermophyton* apresentam-se geralmente brancas à marrom claro. A superfície é plumosa e pulverulenta. O reverso pode ter uma pigmentação laranja-marrom. As colônias de *Trichophyton mentagrophytes* crescem bem em temperaturas de 25°C e são usualmente de cor creme, embora possam ficar escuras com a idade. A superfície da colônia parece fofa e pulverulenta. O lado inferior da colônia pode ter cor variável, castanho claro, marrom ou vermelho escuro [5]. Todas estas características foram avaliadas e auxiliaram na identificação dos agentes encontrados.

## Conclusiones

De acordo com a pesquisa realizada, concluímos que o fungo encontrado na maioria das amostras analisadas foi o *Microsporum canis*, por isso este dermatófito é o maior causador da doença em cães e no homem. Já os sapróbios de maior ocorrência foram o *Aspergillus* spp

Em levantamentos realizados sobre dermatofitose humana, o *M.canis* está presente como um dos agentes mais prevalentes, variando de 25,6 a 32,12% [2, 3, 11]. Em cães e gatos este dermatófito é a espécie mais freqüentemente isolada de dermatofitoses, chegando a porcentagens de 96,3 a 98% [1, 2, 7, 17]. Sendo assim, devido ao estreito contato dos seres humanos com animais de estimação, que concluímos neste trabalho serem portadores são de dermatófitos e fungos sapróbios, a probabilidade de aquisição desta doença é muito grande, e a presença do *M.canis* naturalmente nestes animais explica os casos de dermatofitoses humanas serem causadas na maioria por esta espécie de dermatófito.

Em relação aos fungos sapróbios, estes podem ser achados em materiais clínicos e são comumente encontrados em ambientes de laboratórios e clínicas veterinárias [6, 9]. Em alguns casos, tais como doenças crônicas, terapias anticancerígenas, tratamentos prolongados com antibióticos, terapias com esteróides, estes fungos podem assumir propriedades patogênicas e invadir tecidos, por esta razão é muito importante que o médico veterinário seja capaz de distinguir entre os fungos patogênicos e os sapróbios e saber que os sapróbios podem atuar também de forma patogênica como citado anteriormente [15].

O envolvimento de fungos sapróbios como agentes de micoses em gatos e cães deve ser corretamente analisado, sendo de suma importância a identificação dos mesmos, já que resultados de pesquisas sugerem como possíveis agentes etiológicos de dermatofitoses em gatos e cães os gêneros *Alternaria*, *Rhizopus*, *Chaetomium*, *Cladosporium*, *Trichoderma*, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Cândida*, *Fusarium* e *Curvularia* [15]. Os fungos sapróbios comumente isolados de cães e gatos pertencem aos gêneros *Aspergillus* spp e *Penicillium* spp, o que foi demonstrado em 19% das amostras analisadas. Esta característica de isolamento provavelmente relaciona-se com o habitat do fungo, já que estes gêneros são achados no solo, ar, plantas e outros materiais, os quais estão em contato constante com os animais [12].

e *Penicillium* spp, devido a presença constante deles no solo e o contato freqüente deste aos animais.

Como foi encontrado pelo menos algum tipo de fungo em todas as amostras analisadas, concluiu-se também que os animais são portadores são de dermatófitos e sapróbios, pois albergavam o fungo, mas não apresentavam nenhum tipo de lesão de pele.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Copetti MV, Santurio JM, Cavalheiro AS, Boeck AA, argenta JS, et. al. 2006. Dermatophytes isolated from dogs and cats suspected of dermatophytosis in Southern Brasil. *Acta Scientiae Veterinariae*; 34(2):119-124.
2. Costa EO, Diniz LSM, Benites NR, Coutinho SD, Carvalho VM, et. al. 1994. Surtos interespecíficos por *Microsporum canis* e *Microsporum gypseum*. *Revista de Saúde Publica*; 8:337-340.
3. Cucé LC. 1975. Flora dermatofítica em São Paulo. *Annais Brasileiros de Dermatologia*; 50:141-146.
4. Davis BD, Dulbeco R, Eisen HN, Ginsberg HS, Wood WB. 1978. *Tratado de Microbiologia*. Buenos Aires: Salvat.
5. De La Maza LM, Pezzolo MT, Baron EJ. 1999. *Atlas de diagnóstico em microbiologia*. Porto Alegre: Artmed.
6. Gambale W, Correa B, Paula CR, Purchio A, Larsson CE. 1987. Ocorrência de fungos em lesões superficiais de cães na cidade de São Paulo, Brasil. *Revista da Faculdade de Medicina Veerinária e Zootecnia da USP*; 24:187-191.
7. Gonzalez Cabo JF. 1990. Epidemiologia de las dermatofitosis animales. *Bolletín Micológico*; 5:29-42.
8. Hirsh DC, Zee EEEYC. 2003. *Microbiologia Veterinária*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan.
9. Ishikawa MM, Lucas R, Larsson CE. 1996. Isolamento e identificação da microbiota fúngica e de dermatofitos da pele de eqüinos hígidos e de aqueles afetados por dermatofitose. *Brazilian Journal Veterinary Research and Animal Science*; 33:170-175.
10. Lacaz CZ, Porto E, Heins-Vacari EM, Melo NT. 1998. *Guia para identificação de fungos, actinomicetos e algas de interesse médico*. São Paulo: Sarvier.
11. Londero AT, Benavenga PP. Human infections by *Microsporum nanum* in Brasil. 1972. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*; 14:388-391.
12. Mancianti F, Papini R. Isolation of keratinophilic fungi from the floors of private veterinary clinics in Italy. 1996. *Veterinary Research Communications*; 20:161-166.
13. Mimani PS. 2003. *Micologia: Métodos laboratoriais de diagnósticos das micoses*. São Paulo: Manole.
14. Nobre MO, Meireles MCA, Cordeiro JMC. Importância do felino doméstico na epidemiologia da dermatofitose por *Microsporum canis*. 2001 *Revista da Faculdade de Zootecnia, Veterinária e Agronomia de Uruguaiana*; 7:81-84.
15. Paixão GC, Sidrim JJC, Campos GMM, Brilhante RSN, Rocha MFG. 2001. Dermatophytes and saprobe fungi isolated from dogs and cats in the city of Fortaleza, Brazil. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinaria e Zootecnia*; 53:568-573.
16. Quin PJ, Markey BK, Carter ME, Donnelly WJ. 2005. *Microbiologia veterinária e doenças infecciosas*. Porto Alegre: Artmed.

17. Sparkes AH, Gruffydd-Jones TJ, Shaw SE, Wrights AI, Stakes CR. 1993. Epidemiological and diagnostic features of canine and feline dermatophytes in the United Kingdom from 1956 to 1991. *The Veterinary Record*; 133:57-61.
18. Tortora GJ, Funke BR, Case CL. 2002. *Microbiologia*. Porto Alegre: Artmed.
19. Trabulsi LR. *Microbiologia*. 1991. Rio de Janeiro: Atheneu.



**Lucas** es la clase de compañía que todos quisiéramos tener.

Es leal, tierno, amable y juguetón y quiere estar contigo

**Adopta TU mascota**

**Centro de Bienestar Animal La Perla**

**Línea de adopción: 3420275 • Municipio de Medellín - Secretaría del Medio Ambiente**