

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE BIOCÊNCIAS
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA DE FUNGOS**

ERTÊNIA PAIVA OLIVEIRA

**AVALIAÇÃO *IN VITRO* E *IN VIVO* DO POTENCIAL ANTIMICÓTICO DE
DERIVADOS DO ANEL AROMÁTICO DE TIOFENO FRENTE À DERMATÓFITOS**

Recife
2017

ERTÊNIA PAIVA OLIVEIRA

**AVALIAÇÃO *IN VITRO* E *IN VIVO* DO POTENCIAL ANTIMICÓTICO DE
DERIVADOS DO ANEL AROMÁTICO DE TIOFENO FRENTE À DERMATÓFITOS**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Biologia de Fungos da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial à obtenção do título de mestre em Biologia de Fungos.

Orientador: Prof. Dr. Reginaldo Gonçalves de Lima Neto

Co-Orientador: Prof. Dr. Francisco Jaime Bezerra Mendonça Júnior

Recife
2017

Catálogo na Fonte:
Bibliotecário Bruno Márcio Gouveia, CRB-4/1788

Oliveira, Ertênia Paiva

Avaliação *in vitro* e *in vivo* do potencial antimicótico de derivados do anel aromático de tiofeno frente à dermatófitos / Ertênia Paiva Oliveira. – 2017.

94 f. : il.

Orientador: Reginaldo Gonçalves de Lima Neto.

Coorientador: Francisco Jaime Bezerra Mendonça Júnior.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro de Biociências. Programa de Pós-graduação em Biologia de Fungos, Recife, 2017.

Inclui referências, apêndices e anexos.

1. Micose 2. Micologia médica I. Lima Neto, Reginaldo Gonçalves de (orientador) II. Mendonça Júnior, Francisco Jaime Bezerra III. Título.

616.969

CDD (22.ed.)

UFPE/CB – 2018 - 051

ERTÊNIA PAIVA OLIVEIRA

**AVALIAÇÃO *IN VITRO* E *IN VIVO* DO POTENCIAL ANTIMICÓTICO DE
DERIVADOS DO ANEL AROMÁTICO DE TIOFENO FRENTE À DERMATÓFITOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia de Fungos, Área de Concentração de Biociências, da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do título de mestre em Biologia de Fungos.

Aprovada em: 20/02/2017

COMISSÃO EXAMINADORA

PROF. DR. REGINALDO GONÇALVES DE LIMA NETO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
(ORIENTADOR)

PROF^a. DR^a. DANIELLE PATRÍCIA CERQUEIRA MACEDO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
(MEMBRO EXTERNO)

PROF^a. DR^a. OLIANE MARIA CORREA MAGALHÃES
UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
(MEMBRO INTERNO)

*Dedico este trabalho à Deus
primeiramente, depois a minha amada
mãe **Maria Edicleide Paiva Pinto
Oliveira**, maior exemplo de perseverança
e abdicção para que meu sonho viesse a
tornar-se possível, e que mesmo apesar
das inúmeras dificuldades soube
transmitir toda sua sabedoria e apoio
constante.*

AGRADECIMENTOS

À Deus, por permitir que este sonho se tornasse possível, conduzindo e iluminando meus passos durante esta jornada árdua e gratificante.

Aos meus pais (Francisco Leonardo/ Maria Edicleide) que estiveram ao meu lado em todos os momentos, oferecendo apoio e compreensão, carinho e sentindo muito orgulho ao longo dessa caminhada.

À minha mãe Maria Edicleide, que me educou, e me ensinou a ser uma mulher forte, de caráter e a sempre correr atrás dos meus sonhos. Sempre se orgulhando das minhas conquistas. Ela que sempre apoiou todas as minhas escolhas, embora algumas discordasse. Mãe, essa vitória é sua.

Aos meus irmãos Elton, Erta e Elvis, que sempre demonstraram orgulho, e que com muito amor e dedicação estão sempre torcendo e confiando na minha capacidade.

Agradeço a minha avó, que sempre cuidou de mim com amor e carinho e me deu todos os mimos possíveis, e sei o quanto se orgulha de mim.

Sou grata aos meus familiares: tias, tios, primos e primas, que acreditaram no meu mérito, sempre na torcida para que tudo desse certo.

Aos meus mais que amigos de trabalho da FIP: Adelson, Barreto, Patrícia, Paula Viviane, que sempre acreditaram e abraçaram meu sonho antes mesmo de ser conquistado. E quando conquistado, vibraram de alegria, à vocês meu muito obrigada. Sei o quanto se alegram com minha alegria.

Aos meus amigos que o curso de Biomedicina/FIP colocou na minha vida: Aline, Aleson, Cassandra, Franciélia, Niedja e Ideraldo, vocês foram, e são muito importantes para mim. Foi nos estímulos na produção de trabalhos e congressos, em especial de Aleson onde tudo começou, e que vida acadêmica começou a fazer parte dos meus sonhos. Obrigada por tudo.

Agradeço meus amigos de apartamento (201) Gabrielle e Robson, por me aturarem durante toda caminhada completamente estressante, angustiante e alegre. Por torcerem sempre por mim e estarem sempre prontos a escutarem as reclamações e histórias divertidas durante este percurso.

Um agradecimento especial para Robson Raion, por sempre se dispor a ajudar no meu experimento *in vivo*, onde não havia fim de semana e nem feriado, à você muito obrigada.

Agradeço também aos meus amigos Luiz e Carlos Nobrega por estarem sempre me apoiando e torcendo para tudo desse certo, além dos conselhos morais e psicológicos sempre que necessário. Obrigada por estarem sempre por perto quando precisei. Sou imensamente grata pela amizade e carinho demonstrados a mim.

Agradeço aos professores da Micologia Médica por ter contribuído muito para o meu crescimento pessoal e profissional: Prof. Armando, Profa. Danielle Macedo, Profa. Rejane, Prof. Reginaldo e Profa. Oliane.

Agradeço aos colegas e amigos que conquistei na micologia médica, vocês foram muito importantes para minha formação e crescimento profissional: Ana Emília, Ana Paula, Audilene, Carlos Tiburcio, Cícero, Daniela Buonafina, Franz, Melyna, Michel, Pamella e Tatiana.

Agradeço especialmente ao meu orientador Prof. Dr. Reginaldo Gonçalves de Lima Neto, um exemplo de eficiência e sabedoria, por ter abdicado de seu tempo para me ajudar no que fosse preciso sempre com muita dedicação e presteza. À você professor, a minha eterna e mais sincera gratidão.

Agradeço a Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), pelo apoio físico e financeiro para que esta pesquisa fosse executada com êxito.

“O sucesso nasce do querer, da determinação e persistência em se chegar a um objetivo. Mesmo não atingindo o alvo, quem busca e vence obstáculos, no mínimo fará coisas admiráveis.”

José de Alencar.

RESUMO

Diversos fungos são comensais da superfície da pele e mucosas, como os tratores gastrintestinal e geniturinário de indivíduos saudáveis. Contudo, a presença de dermatófitos na pele ou em seus anexos, indica quadro sugestivo de micose. O número limitado de antifúngicos eficazes é uma preocupação no tratamento dessas infecções fúngicas. Com base no exposto, a pesquisa teve como objetivo avaliar o potencial antifúngico *in vitro* e *in vivo*, de derivados do anel aromático de tiofênicos frente a agentes dermatofitoses. Foram analisadas 120 amostras coletadas de 97 pacientes atendidos no Serviço de Dermatologia do Hospital das Clínicas/UFPE entre outubro de 2015 a fevereiro de 2016. Adicionalmente, foi adquirido 21 isolados viáveis estocados na Coleção de Culturas URM do Departamento de Micologia da UFPE. Foi realizado teste de sensibilidade antifúngica *in vitro* para determinar o potencial antifúngico de quatro derivados nitro-tiofenos (NTT-1, NTT-2, NTT-3, NTT-4). O Cetoconazol foi usado como antifúngico de referência. Destes, oito (8,24%) apresentaram diagnóstico positivo para dermatofitose. Foi possível determinar concentração inibitória mínima (CIM) das moléculas frente a 22 (73,33%) isolados, onde as moléculas NTT-3 e NTT-4, apresentaram maior potencial antifúngico, com CIM variando de 1.024 µg/mL a 2 µg/mL, quando comparados ao NTT-1 e NTT-2. O NTT-3 foi a mais efetiva, sendo possível determinar o CIM em 25 (83,33%) dos isolados, enquanto o NTT-4 foi efetivo em 22 (73,33%) dos 30 isolados testados. Cetoconazol apresentou atividade antifúngica para 22 (73,33%) isolados com CIM variando de 8 µg/mL a 0,0625µg/mL. O modelo experimental de dermatofitose foi realizado em ratos *Wistar* imunossuprimidos e infectados com *Trichophyton mentagrophytes* URM/5432, e posteriormente tratados com NTT-3, alcançando cura clínica e laboratorial. Diante do exposto, conclui-se que as quatro moléculas testadas apresentaram potencial antifúngico *in vitro* e o tiofeno selecionado NTT-3 promoveu cura de animais infectados. Os derivados nitro-tiofenos podem se tornar mais uma opção terapêutica disponível no mercado contra as dermatofitoses.

Palavras-chave: Atividade antifúngica. Dermatofitose. Opção terapêutica.

ABSTRACT

Several fungi are commensal the surface of the skin and mucous membranes, such as gastrointestinal and genitourinary tracts of healthy individuals. However, the presence of dermatophytes in the skin and appendages is suggestive of mycoses. The limited number of effective antifungal drugs is a concern in the treatment of these fungal infections. This search evaluated the *in vitro* and *in vivo* antifungal activity of thiophene derivatives against dermatophytes. We analyzed 120 biological samples collected from 97 patients attended at the Dermatology Service of Clinical Hospital- UFPE from October 2015 to February 2016. In addition, 21 isolates stocked at URM Culture Collection were obtained. *In vitro* antifungal susceptibility test was performed with four nitro-thiophenes derivatives (NTT-1, NTT-2, NTT-3 and NTT-4). The ketoconazole was used as antifungal reference. Among all patients, eight (8.24%) presented diagnosis for dermatophytoses. All molecules presented minimal inhibitory concentration (MIC) against 22 (73,33%) isolates, which the NTT-3 and NTT-4 molecules, showed more activity than NTT-1 and NTT-2, with MIC between de 1.24 $\mu\text{g/mL}$ to 2 $\mu\text{g/mL}$. NTT-3 was the most effective compound with MIC determined in 25 (83.33%) isolates, while the NTT-4 was effective in 22 (73.33%) among the 30 isolates evaluated. Ketoconazole presented antifungal activity for 22 (73.33%) isolates with MIC between 8 $\mu\text{g/mL}$ to 0,0625 $\mu\text{g/mL}$. The experimental model of dermatophytosis was performed in immunosuppressed *Wistar* rats and infected with *Trichophyton mentagrophytes* URM5432. The animals were promisingly treated with NTT-3 and achieved total healing. On this, it is concluded that the four molecules tested had antifungal potential *in vitro* and the screened thiophene NTT-3 promoted healing of infected animals. Nitro- thiophene derivatives may become another therapeutic option available against dermatophytoses.

Key-words: Antifungal activity. Dermatophytosis. Therapeutic option.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1- HIFAS (A) E ARTROCONÍDEOS (B) CARACTERÍSTICOS DE DERMATÓFITOS..... 27

FIGURA 2- ARTROSPOROS OBSERVADO AO EXAME DIRETO COM HIDROXIDO DE POTASSIO A 20% NA OBJETIVA 400X (A); NUMEROSO FILAMENTOS SEPTADOS E HIALINOS OBSERVADOS AO EXAME DIRETO NA OBJETIVA DE 400X (B)..... 51

FIGURA 3- COLÔNIA DE *TRICHOPHYTON MENTAGROPHYTES*, VERSO (A); REVERSO (B); E MICROSCOPIA DA COLÔNIA, COM A PRESENÇA DE MICROCONÍDEOS ARREDONDADOS E AGRUPADOS (C). COLÔNIA DE *TRICHOPHYTON RUBRUM*, VERSO (D); REVERSO (E); E MICROSCOPIA DA COLÔNIA, COM A PRESENÇA DE MICROCONÍDEOS IRREGULARES E PIRIFORMES (F). COLÔNIA DE *MICROSPORUM GYPSEUM*, VERSO (G); REVERSO (H); MICROSCOPIA DA COLÔNIA COM A PRESENÇA DE MACRONÍDEOS COM VARIAÇÃO DE TRÊS A SETE SEPTAÇÃO (I)..... 51

FIGURA 4- TESTE DE SENSIBILIDADE ANTIFÚNGICA *IN VITRO* DE ISOLADOS DE DERMATÓFITOS FRENTE A CETOCONAZOL (A); TESTE DE SENSIBILIDADE ANTIFÚNGICA *IN VITRO* DE ISOLADOS DE DERMATÓFITOS FRENTE AOS QUATROS NTTs (B)..... 56

FIGURA 5- LESÃO ERITEMATOSA E DESCAMATIVA FORMADA APÓS DEZ DIAS DE DESAFIO COM O DERMATÓFITO EM DORSO DE RATO *WISTAR* IMUNOSSUPRIMIDO TÓPICAMENTE COM BETAMETASONA E SISTEMICAMENTE COM VALERATO DE ESTRADIOL (A); HIFAS SEPTADAS E ARTROCONÍDEOS CARACTERÍSTICO DE DERMATOFITOS OBSERVADOS EM *IMPRINT* COM FITA ADESIVA CORADA COM AZUL DE METILENO, MAGNIFICAÇÃO X400 (B)..... 58

FIGURA 6- COLÔNIA COM ASPECTO PULVERULENTA DE COLORAÇÃO BRANCA CARACTERÍSTICO DE *TRICHOPHYTON MENTAGROPHYTES* ISOLADO DE RATO *WISTAR* APÓS DEZ DIAS DA INFECÇÃO (A); PRESENÇA DE HIFAS E MICROCONÍDEOS ARREDONDADOS AO EXAME DIRETO

OBSERVADA DA CULTURA ORIUNDO DO RATO WISTAR EM EXPERIMENTO APÓS CARACTERÍSTICO DE *TRICHOPHYTON MENTAGROPHYTES* (B).....58

FIGURA 7- TRATAMENTO COM CETOCONAZOL POR 30 DIAS(A); TRATAMENTO COM A MOLÉCULA NTT-3 POR 30 DIAS(B); ANIMAL CONTROLE POSITIVO SEM RECEBER NENHUM TIPO TRATAMENTO (C).....59

FIGURA 8- AVALIAÇÃO HISTOPATOLÓGICA DA LESÃO NO DORSO DO RATO WISTAR. G2: GRUPO CONTROLE POSITIVO, DEMONSTRANDO REAÇÃO INFLAMATÓRIA COM LINFOCITOSE DIFUSA (HE) (A); G3: AINDA NÃO TRATADO COM CETOCONAZOL, MOSTRANDO FOLICULITE COM INFILTRADOS DE LINFOCITOSE (-HE) (B); G4: AINDA NÃO TRATADO COM NITRO-TIOFENO, MOSTRANDO REAÇÃO INFLAMATÓRIA COM LINFOCITOSE (HE) (C); G4: PELE NORMAL COM 30 DIAS DE TRATAMENTO COM NITRO-TIOFENO E FOLÍCULO PILOSO SEM APRESENTAR REAÇÃO INFLAMATÓRIA APÓS O TRATAMENTO (HE) (D) 59

FIGURA 9- ANÁLISE MOLECULAR UTILIZANDO OS PRIMERS (CAGA)₄ E (GTG)₅ RESPECTIVAMENTE DO ISOLADO (URM 5432) E DO *TRICHOPHYTON MENTAGROPHYTES* ORIUNDO DA INFECÇÃO DERMATOFÍTICA EM WISTAR UTILIZADO COMO COBAIA DO MODELO EXPERIMENTAL *IN VIVO*..... 60

LISTA DE TABELAS

TABELA 1- GÊNEROS E ESPÉCIES DE DERMATÓFITOS.....	28
TABELA 2- OPÇÕES DE TRATAMENTO ORAL PARA ASDERMATOFITOSES	43
TABELA 3- PACIENTES ATENDIDOS NO SERVIÇO DE DERMATOLOGIA HC/UFPE ENTRE OUTUBRO DE 2015 A FEVEREIRO DE 2016	50
TABELA 4- DERMATÓFITOS VIÁVEIS ESTOCADOS NA COLEÇÃO DE CULTURAS URM/UFPE, ISOLADOS A PARTIR DE AMOSTRAS CLÍNICAS.....	53
TABELA 5- ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DE DERIVADOS NTT-1 AO NTT-4 E CETOCONAZOL CONTRA DERMATÓFITOS OBTIDOS DE PACIENTES COM DERMATOFITOSE NO HOSPITAL DAS CLÍNICAS, ENTRE OUTUBRO DE 2015 A FEVEREIRO DE 2016, E DE ISOLADOS ESTOCADOS NA COLEÇÃO DE CULTURAS URM DO DEPARTAMENTO DE MICOLOGIA, RECIFE, BRASIL.	55

LISTA DE ABREVIATURA E SIGLAS

AIDS	- Síndrome da Imunodeficiência Adquirida
ATCC	- <i>American Type Culture Collection</i>
BDA	- Batata Dextrose Agar
CB	- Centro de Biociências
CEP	- Comitê de Ética e Pesquisa
CEUA	- Comissão de Ética em Uso de Animais
CIM	- Concentração Inibitória Mínima
CLSI	- <i>Clinical Laboratory Standards Institute</i>
CO ₂	- Dióxido de Carbono
DMSO	- Dimetilsulfóxido
FDA	- <i>Food and Drug Administration</i>
HC	- Hospital das Clínicas
HE	- Hematoxilina-eosina
HIV	- Vírus da Imunodeficiência Humana
KOH	- Hidróxido de Potássio
LSVM	- Laboratório de Síntese e Vetorização de Moléculas
NO ₂	- Óxido Nítrico
ODT	- Onicomicose Distrófica Total
OE	- Onicomicose Endonyx
OMS	- Organização Mundial de Saúde
OSB	- Onicomicose Superficial Branca
OSDL	- Onicomicose Subungueal Distal e Lateral
OSP	- Onicomicose Subungueal Proximal
SDA	- Sabouraud Dextrose Agar
TP	- <i>Tinea pedis</i>
UEPB	- Universidade Estadual da Paraíba
UFPE	- Universidade Federal de Pernambuco

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	17
1.1 PROBLEMATIZAÇÃO.....	18
1.2 OBJETIVOS.....	18
1.2.1 Objetivo Geral	18
1.2.2 Objetivos Específicos	18
1.3 PROCEDIMENTOS METODOLÓGICOS.....	19
1.3.1 Comitê de Ética	19
1.3.2 Obtenção dos Derivado de Tiofeno	19
1.3.3 Obtenção de Amostras Biológicas	20
1.3.4 Teste de Sensibilidade a Antifúngicos <i>in vitro</i>	21
1.3.5 Dermatofitose Experimental <i>in vivo</i>	22
2 REVISÃO DE LITERATURA	26
2.1 ABORDAGEM HISTÓRICA DAS DERMATOFITOSSES.....	26
2.2 DERMATÓFITO.....	27
2.3 DERMATOFITOSE.....	29
2.4 ASPECTOS CLÍNICOS.....	30
2.4.1 <i>Tinea capitis</i>	31

2.4.2 <i>Tinea corporis</i>	32
2.4.3 <i>Tinea cruris</i>	33
2.4.4 <i>Tinea faciei</i>	33
2.4.5 <i>Tinea barbae</i>	34
2.4.6 <i>Tinea manuum</i>	35
2.4.7 <i>Tinea pedis</i>	35
2.4.8 <i>Tinea unguium</i>	36
2.4.8.1 Onicomicose subungueal distal e lateral (OSDL)	37
2.4.8.2 Onicomicose superficial branca (OSB).....	37
2.4.8.3 Onicomicose subungueal proximal (OSP).....	38
2.4.8.4 Onicomicose endonyx (OE).....	38
2.4.8.5 Onicomicose distrófica total (ODT).....	39
2.5 DIAGNÓSTICO	39
2.6 TRATAMENTO	41
2.6.1 Antifúngicos de via tópica	42
2.6.2 Antifúngicos via oral	42
2.7 ANTIFÚNGICO	44
2.7.1 Alilaminas	45

2.7.2 Azóis.....	45
2.7.3 Griseofulvina	46
2.7.4 Ciclopirox olamina	46
2.7.5 Derivados de morfolinás.....	47
2.8 RESISTÊNCIA ANTIFÚNGICA	47
2.9 NOVOS ANTIFÚNGICOS	48
2.9.1 Tiofeno e seu Potencial Antifúngico.....	48
3 ANÁLISE DOS RESULTADOS	50
3.1 ISOLADOS DE DERMATÓFITOS DIAGNOSTICADOS	50
3.2 ISOLADOS DA COLEÇÃO DE CULTURAS/URM-UFPE, VIAVÉIS	52
3.3 ATIVIDADE ANTIFÚNGICA <i>IN VITRO</i>.....	53
3.4 MODELO DE DERMATOFITOSE <i>IN VIVO</i>	56
4 CONSIDERAÇÕES FINAIS	62
REFERÊNCIAS.....	63
APÊNDICE A – TERMO DE ASSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO PARA MENORES DE 12 A 18 ANOS.....	75
APÊNDICE B- TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO PARA ADULTOS IMPOSSIBILITADOS DE ASSINAR O TCLE.	78

APÊNDICE C- TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO PARA MAIORES DE 18 ANOS OU EMANCIPADOS.....	81
APÊNDICE D- TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO PARA RESPONSÁVEL LEGAL PELO MENOR DE 18 ANOS	84
APENDICE E- TERMO DE COMPROMISSO E CONFIDENCIALIDADE.....	87
ANEXO A- TERMO DE APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA HUMANO.....	88
ANEXO B- TERMO DE APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA ANIMAL.....	91
ANEXO C- CARTA DE ANUÊNCIA DO SERVIÇO DE DERMATOLOGIA DO HOSPITAL DAS CLÍNICAS	92
ANEXO D- CARTA DE SUBMISSÃO DE ARTIGO CIENTÍFICO.....	93
ANEXO E- COMUNICADO DE INVENÇÃO.....	94

1 INTRODUÇÃO

Os dermatófitos são fungos filamentosos, considerados patogênicos, pois degradam e utilizam a queratina presentes na pele, pelo e unha como fonte de alimento causando assim, uma infecção superficial conhecida como dermatofitose ou tinhas, que pode acometer o homem, ou até mesmo outros mamíferos. Estes fungos são comumente classificados em três gêneros: *Trichophyton*, *Epidermophyton* e *Microsporum*. Há pouco mais de 40 espécies de dermatófitos que pode afetar os seres humanos, e muitos destes pode causar infecção em mais de um local no corpo. A distribuição geográfica para estes fungos variam de região para região, tendo diversos fatores que influenciam no desenvolvimento da dermatofitose, tais como variações de clima, fatores socioeconômicos, estilo de vida, presença e animais domésticos e idade. Desta forma, torna-se indispensável o diagnóstico da dermatofitose associado a uma terapêutica eficaz, tendo em vista o caráter estético, clínico e de potencial de transmissão (CHIACCHIO et al., 2014; WHITE et al., 2014).

Um motivo de preocupação no tratamento de infecções fúngicas é o número limitado de antifúngicos eficazes. Embora medicamentos como, fluocitosina e os azóis tais como cetoconazol, itraconazol ou fluconazol, sejam considerados eficazes para o tratamento de candidíases e dermatofitoses, a maioria desses medicamentos são prejudiciais devido à elevada toxicidade. A maioria dos antifúngicos são fungistáticos, e podem levar ao desenvolvimento de resistências devido em parte ao uso da medicação por longos períodos, ou até mesmo a realização da administração desses medicamentos por curto período de tempo, sem ter tido êxito total do tratamento (SORTINO et al., 2008, ZAMPIERI et al., 2008).

Os derivados de tiofeno vem se mostrando importantes compostos sintéticos para química medicinal, permitindo a obtenção de vários compostos em diversas aplicações médicas e biológicas (PUTEROVÁ, KRUTOŠÍKOVÁ e VÉGH, 2009), incluindo algumas atividades: antivirais (BONINI et al., 2004), antitumorais (FERREIRA et al., 2009); analgésicas e antiinflamatórias (NIKOLAKOPOULOS et al., 2006) e antiparasitárias (RAM et al., 1997); especialmente antibacterianas e antifúngicas (MCKAY et al., 2006; PINTO et al., 2008). Em um dos trabalhos de Mendonça-Júnior et al., (2011) foram observados que os compostos de tiofenos apresentaram atividade promissora frente à *Cryptococcus neoformans*, e *Candida*

spp. Com estudos de CADD (planejamento de fármacos auxiliado por computador), mais tarde foi possível conhecer informações estruturais e eletrônicas importantes e essenciais à atividade antifúngica desses derivados, observando a presença de grupos polares como por exemplo do grupo NO_2 , fator importante para a potencialização da atividade antifúngica (SCOTTI et al., 2012).

1.1 PROBLEMATIZAÇÃO

A dermatofitose é micose mais prevalente na população que vivem em países tropicais, pois a elevada temperatura e umidade, baixos níveis socioeconômicos e falta de higienização adequada da população são os principais fatores predisponentes, e de acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS), se tratando de um problema de saúde pública. Raros estudos sugerem a realização de mais pesquisas a cerca da epidemiologia da doença, além de estudos que tenham como objetivos novas opções terapêuticas, pois os dermtófitos vem apresentando cada vez mais resistências aos limitados antifúngicos disponíveis no mercado.

Através dos testes de sensibilidade *in vitro* e *in vivo*, com o intuito de se descobrir novos fármacos, é possível ampliar as opções de recurso terapêuticos que apresentem respostas rápidas, seguras e eficazes.

1.2 OBJETIVOS

1.2.1 Objetivo Geral

Avaliar o potencial antifúngico *in vitro* e *in vivo*, de derivados tiofênicos frente a agentes etiológicos de dermatofitoses.

1.2.2 Objetivos Específicos

- a) Coletar amostras clínicas de pacientes atendidos no Laboratório de Pesquisas do Serviço de Dermatologia/HC/UFPE;

- b) Realizar o diagnóstico micológico no Laboratório de Micologia Médica/CB/ UFPE.
- c) Solicitar isolados de dermatófitos mantidos na Coleção de Culturas do Departamento de Micologia/UFPE.
- d) Determinar a concentração inibitória mínima (CIM) dos isolados de dermatófitos frente a quatro nitrotiofenos-semitiocarbamazônicos substituídos e cetoconazol através de testes de sensibilidade antifúngica *in vitro*.
- e) Avaliar a eficácia do nitro-tiofeno selecionado isoladamente e na preparação farmacêutica tópica contendo o derivado tiofênico em modelo experimental murino de dermatofitose.

1.3 PROCEDIMENTOS METODOLÓGICOS

1.3.1 Comitê de Ética

O trabalho foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa (CEP) do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco, que tem por finalidade acompanhar as pesquisas envolvendo seres humanos, bem como preservar a integridade e dignidade dos indivíduos sujeitos a pesquisa. Em atendimento à resolução CNS/MS Nº 466/12, a pesquisa teve aprovação com o seguinte protocolo CAAE 47985215.3.0000.5208. Concomitantemente a proposta do projeto foi submetido à Comissão de Ética em Uso de Animais do Centro de Biociências da Universidade Federal de Pernambuco (CEAU-UFPE) que por sua vez, tem por objetivo analisar os aspectos éticos de todos os procedimentos envolvendo o uso de animais em atividades de pesquisa e ensino na UFPE, obtendo aprovação com o seguinte protocolo 23076.031245/2015-95.

1.3.2 Obtenção dos Derivados de Tiofeno

Os tiofenos utilizados nessa pesquisa foram sintetizados e gentilmente cedidos por pesquisadores do Laboratório de Química e Inovação Terapêutica do Departamento de Antibióticos da UFPE.

A caracterização e comprovação estrutural dos derivados de tiofênos foram conduzidos no Laboratório de Síntese e Vetorização de Moléculas (LSVM) do Departamento de Ciências Biológicas, Campus V, UEPB. Os produtos de partida para a síntese dos novos candidatos a fármacos antifúngicos foram os adutos de Gewald, ou simplesmente os próprios 2-amino-tiofenos, que foram obtidos por um procedimento novo proposto por Bourgeaux e colaboradores (2007).

Após apropriadamente sintetizados, os derivados foram então purificados por diferentes métodos de purificação, a depender do composto, incluindo: destilação, recristalização usando co-solventes, e técnicas cromatográficas de coluna, ou placa preparativa.

1.3.3 Obtenção de Amostras Biológicas

As amostras biológicas utilizadas para obtenção dos isolados clínicos, foram coletados de pacientes com lesões sugestivas de dermatofitoses, atendidos no Laboratório de Pesquisas *in vitro* do Serviço de Dermatologia/HC/UFPE. Para a realização da coleta foi realizado uma prévia assepsia, utilizando gaze ou algodão embebido de álcool a 70% no local da lesão. Em seguida foi realizado uma escarificação do sítio anatômico lesionado com auxílio de um bisturi esterilizado, onde foram priorizadas as bordas da lesões, para obter escamas epidérmicas e/ou ungueais finas. Os materiais foram então recolhidos em placa de Petri devidamente esterilizadas.

Após a coleta, as amostras biológicas oriundos dos pacientes, foram transportadas para o Laboratório de Micologia Médica/CB/UFPE. O diagnóstico micológico foi realizado através dos métodos padrões (exame direto e isolamento em cultura), no Laboratório de Micologia Médica/CB/UFPE.

No exame direto, entre lâmina e lamínula, foram colocados fragmentos finos do material biológico e em seguida adicionado hidróxido de potássio (KOH 20%) que é um clarificante, que tem como objetivo degradar a queratina das escamas epidérmicas e ungueais, facilitando a visualização das estruturas fúngicas, quando presentes.

Paralelamente, ao exame direto, foi realizado o semeio das amostras biológicas pela inoculação em sete diferentes pontos na superfície de placas de Petri contendo o meio ágar Sabouraud na composição de 10g de peptona, 40g de glucose e 20g de ágar suplementado de 2 mL de cloranfenicol, que é um antibiótico, que tem por

finalidade inibir crescimento bacteriano. As culturas foram mantidas a 35°C em uma atmosfera aeróbica, e observadas diariamente por um período de até 15 dias. Após o crescimento fúngico, foi realizada a purificação para identificação taxonômica clássica dos agentes etiológicos, por meio das observações macroscópicas e micromorfologias, seguindo Lacaz e colaboradores, 2002.

Adicionalmente, os dermatófitos (*Trichophyton mentagrophytes*, *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton tonsurans*, *Microsporum gypseum*, *Microsporum canis* e *Epidermophyton floccosum*), foram adquiridos da Coleção de Culturas URM/ UFPE, e foram também avaliados contra o potencial antifúngico dos tiofenos puros e sintéticos.

1.3.4 Teste de Sensibilidade a Antifúngicos *in vitro*

Para o teste de sensibilidade foram preparadas placas de microdiluição de 96 poços contendo 100 µL de meio padrão RPMI 1640 tamponado a pH 7,0 com MOPS. Em seguida foram preparados as formulações dos tiofenos em diluições seriadas na escala de concentração de 1.024 a 2 mg/mL, seguindo as orientações do CLSI M38-A2 e CLSI M27-A3 (CLSI, 2008). Utilizamos dispersões de tiofeno puro do complexo de tiofeno-2-hidroxiopropil-β-ciclodextrina. Todas as preparações das moléculas de tiofeno foram dissolvidas em dimetilsulfóxido (DMSO), e diluídos meio de cultura padrão RPMI. Utilizamos como referência o antifúngico comercial cetoconazol e a linhagem *Candida parapsilosis* ATCC 22019 como controle de qualidade.

A fim de se obter um inóculo de fungos filamentosos contendo 10^4 UFC.mL⁻¹, os dermatófitos foram cultivados em tubo com 20 mL contendo Batata Dextrose Ágar (BDA; Difco), sem suplementação de extrato de levedura, e feito incubação por um período de quatro a sete dias a 35° C. As suspensões dos microrganismos foram preparadas, em tubos contendo 5 mL de solução fisiológica esterilizada (0,85%) acrescido de Tween 20, mantidas a 37°C, e, em seguida, ajustadas no espectrofotômetro de 65-70% de transmitância a 530 nm de comprimento de onda para dermatófitos. Para se obter um inóculo de levedura contendo 1,0 a 5,0 x 10⁶ CFU.mL⁻¹ foi feito cultivo em tubo contendo Sabouraud Dextrose Agar (SDA; Difco) adicionado 0,04g de extrato de levedura para cada 20 mL de meio, em seguida incubado por dois dias a 35° C, e em seguida, em tubos com 5 ml de solução fisiológica esterilizada (0,85%) sem adição de tween 20, ajustado a 90% transmiância a 530nm

de comprimento de onda para a ATCC (22019). Para os dermatófitos uma diluição de 1:50 foi realizado, para se obter um inóculo final de $5,0 \times 10^3$ CFU.mL⁻¹. Para as leveduras, foram feitas duas diluições em série a partir de 1:100 e 1:20 para se obter um inóculo final contendo $1,0$ a $5,0 \times 10^3$ UFC.mL⁻¹.

Após a preparação da placa contendo o meio RPMI e distribuição de forma seriada dos tiofenos e cetoconazol, foram adicionados 100 µL para cada inóculo previamente obtido aos poços da primeira coluna da Placa de Microdiluição, e em seguida, foram feitas 10 diluições seriadas entre os poços 1 a 10, onde nos poços 1, se encontram sempre as maiores concentrações das formulações e nos poços 10 as menores concentrações, os poços 11 foram utilizados como controle negativo e os poços 12 como controle positivo. As microplacas foram posteriormente incubadas a 35°C em uma incubadora de livre de CO₂ e foram avaliados visualmente após 48 horas de incubação para isolados de *Candida parapsilosis* e após 96 hs de incubação para isolados de dermatófitos. Os CIMs corresponderam as menores concentrações das drogas que mostraram inibição de crescimento em comparação com fungos não tratados. Após as leituras visuais, foram realizados retrocultivos em placas de Petri contendo meio ágar Sabouraud esterilizado, dos poços onde visualmente eram detectados as inibições dos crescimentos fúngicos e dos poços do controle positivo, permitindo assim a confiabilidade do CIM no teste realizado. Todos os testes foram realizados em triplicata e valores de CIM foram expressos como média aritmética.

1.3.5 Dermatofitose experimental *in vivo*

Ratos *Wistar* albinos, de oito a doze semanas de idade, pesando 250 g, fornecidos pelo Biotério de Farmacologia e Fisiologia (UFPE) foram utilizados no estudo. Os animais foram criados sob condições específicas de assepsia e manuseados de acordo com procedimentos experimentais. Todos os animais receberam água e ração que foram fornecidas *ad libitum*.

O desenho experimental *in vivo* seguiu o protocolo de Green et al., (1982); Green et al., (1990); Thomson et al., (2011); Suante et al., (2008); Odds et al., (2004), com modificações. Não foi utilizado animais livre de germes “germfree”, como descrito na metodologia de Green, (1990). Foram utilizados 24 ratos *Wistar* albinos fêmeas,

divididos em quatro grupos contendo seis animais cada grupo. O grupo 1 representa o controle negativo, estes animais sofreram apenas escarificação: recebendo solução salina sem adição de inóculo fúngico; o grupo 2 representa o controle positivo, sendo submetido a escarificação com inóculos de dermatófitos; o grupo 3 foi estabelecido como tratado controle, estes, foram escarificados e receberam suspensão do inóculo com dermatófitos e tratamento com cetoconazol e o grupo 4 foi chamado como tratado experimental, recebendo escarificação com suspensão do inóculo com dermatófitos e o tratamento com a formulação tópica proposta a base de nitro-tiofenos-tiosemicarbamazônicos a ser selecionado após testes de sensibilidade antifúngica *in vitro*.

Para obtenção do inóculo, os dermatófitos foram repicados para tubos com Ágar Batata Dextrose (BDA) por quinze dias a 37°C. Em seguida foram realizadas suspensões com micélio e esporos do referido isolado em tubo com 5 mL de salina esterilizado acrescido de tween 80, na concentração 0,03% e levado para homogeneização no agitador tubo tipo vortex (Phoenix/ Mod. AP56) por 5 minutos, a fim de se obter uma suspensão final com concentração de 10^8 UFC/mL, de acordo com a escala Mc Farland de número 2 (THOMSON et al., 2011).

Para o estabelecimento da dermatofitose em *Wistar* foi necessária a imunossupressão tópica-local dos animais. Durante sete dias foi realizada uma imunossupressão tópica com 50 µL de dipropionato de betametasona a 5mg/mL na área do dorso a ser induzida a lesão. Quatro dias antes da infecção, foi injetado nos animais (pesando \pm 200g) de forma subcutânea, 2mL de valerato de estradiol, conhecido como um pré-tratamento para inibir as defesas imunes inatas e adquiridas (ODSS et al, 2004).

Duas horas antes da infecção, os animais foram mantidos em jejum e após este período foi feito um procedimento de combinação de anestésicos xilazina e quetamina, proporcional ao peso do rato, aplicados na região intraperitoneal. O anestésico foi empregado durante a inoculação e coleta de fragmento tecidual para realização da etapa histopatológica. Após 5 minutos, com o animal sob efeito anestésico foi realizada a tricotomia de uma área com 3cm² com auxílio de uma lâmina de barbear, seguido de uma leve escarificação com bisturi esterilizado na região dorsal. Ao redor da lesão formada foi aplicado vaselina sólida, com o propósito de formar uma barreira para que o inóculo administrado não fosse dispersado. Posteriormente, foi dispensado 200 µL da suspensão de 10^8 cels/mL previamente

preparado. Após o estabelecimento clínico da lesão dermatofítica e confirmação da micose através da realização do exame direto e cultura positivas para dermatofitose, foi iniciado o tratamento com derivado tiofeno e o antifúngico de referência cetoconazol nos devidos grupos experimentais. O tratamento começou sete dias após a confirmação da infecção fúngica, cada animal do grupo de tratamento recebeu 100µL contendo 0,02 mg/mL aplicado topicamente na área da lesão utilizando ponteiros devidamente esterilizados. O tratamento foi instituído por 30 dias, sendo realizada a aplicação tópica apenas uma vez ao dia.

Os ratos foram monitorados diariamente, por um período de 30 dias, para observação dos sinais clínicos da evolução durante o tratamento. Após o término do tratamento foi realizado o diagnóstico laboratorial micológico: 1) exame direto através de escarificação da lesão, onde as escamas epidérmicas e fios de pêlo foram clarificados utilizando KOH a 20%, além de imprint da lesão com uma fita corado com azul de metileno, sendo as lâminas observadas ao microscópio com amplificação de 400x; 2) cultura das escamas epidérmicas e/ou fios de pelo foram realizadas em ágar Sabouraud, acrescido de cicloexamida com incubação em estufa a 35°C; 3) análise histopatológica da lesão corada em ácido periódico de Schiff. Adicionalmente, foi realizado a análise molecular de um isolado resultante da dermatofitose no rato Wistar do modelo experimental, com o objetivo de confirmar que o isolado de *Trichosporum mentagrophytes* (URM 5432) inoculado, foi o mesmo obtido da lesão dermatofítica estabelecida.

Para a análise histopatológica, o animal foi anestesiado e sacrificado por deslocamento cervical e/ou CO₂. Em seguida foi realizado a coleta de fragmento do tecido lesionado com dermatofitose após sete dias de infecção, além de fragmento de tecido dos animais que receberam tratamento por 30 dias. Os tecidos foram submerso em formol a 10%, utilizada para evitar a autólise das células. Após 24 horas, se iniciou processo de desidratação do tecido, onde o fragmento foi mergulhado em frascos com álcool em concentrações decrescentes até o álcool a 70%. Em seguida foi dado início ao processo de diafanização com três banhos sequenciais de xilol que tem a função de otimizar a penetração da parafina no tecido. A peça foi posicionada em um recipiente utilizado para ser imerso por três banhos de parafina a 60°C, por 30 minutos cada banho. Em seguida, faz-se o emblocamento propriamente dito do fragmento de tecido, vertendo-o em outro banho de parafina numa forma e aguardando seu endurecimento. Após o emblocamento, procedeu-se a microtomia com cortes entre 5

a 6 micrômetros. Os cortes foram distendidos em banho-maria a 56°C, para evitar micro dobras no material, seguido da pescagem e posterior secagem (Prof. Cláudio Yudi, postado em 5 de Agosto de 2013, <http://histologiavet.blogspot.com.br/>, consultado dia 26/11/2016).

Foi utilizada a hematoxilina-eosina que é uma das colorações mais utilizado para corar estruturas fúngicas em lâminas histopatológicas. Na montagem da lâmina, é dispensada uma gota de resina sintética sobre o corte, é então coberta com a lamínula. Finalmente as lâminas foram colocadas em estufas a 37°C para secagem. A lâmina depois de preparada é observada ao microscópio óptico para pesquisa de estruturas fúngicas. (Prof. Cláudio Yudi, postado em 5 de Agosto de 2013, <http://histologiavet.blogspot.com.br/>, consultado dia 26/11/2016).

Para a análise molecular, os oligonucleotídeos utilizados como primers foram os com sequências de repetições simples (ALI et al., 1986). Os fragmentos de DNA polimórficos das espécies analisadas foram amplificados em reações de PCR com o uso do primer (GACA)₄ e (GTG)₅ (5'-GTGGTGGTGGTGGTG-3'); (Bioneer, Daedeok-gu, Daejeon, South Korea). As reações de amplificação foram realizadas em volume final de 25 µL contendo 25 ng do DNA molde, 1X Taq buffer (Invitrogen life technologies), 0.75 mM de MgCl₂, 0.25 mM de dNTPs (Fermentas, UK), 0.25µM dos primers oligonucleotídeos e 0.1 U de Taq DNA polimerase (Fermentas, UK). As amostras foram amplificadas em termociclador seguindo o protocolo: desnaturação inicial por 5 minutos a 93 °C; desnaturação por 20 segundos a 93 °C, anelamento por 45 segundos a 55 °C, extensão por 90 s a 72°C. Esta foi seguida por um ciclo de extensão final de 6 minutos a 72 °C. Os tubos com as amostras foram mantidos a 4°C antes da análise. Trinta e dois ciclos de amplificação foram aplicados para todos os primers e as amostras passaram pelo processo de eletroforese em gel de agarose a 1,5% em tampão Tris-acetate-EDTA TAE [pH 8,0] a 100 V por 30 minutos, corados com GelRed™ (Biotium, Hayward, USA), visualizados com luz ultravioleta e fotografados. O padrão de bandas das pistas do DNA genômico entre os isolados originais e os obtidos no retrocultivo foi comparado (RODRIGUES et al., 2004).

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 ABORDAGEM HISTÓRICA DAS DERMATOFIToses

As infecções dermatofíticas parecem ser tão antigas como a própria história da humanidade. Segundo as observações de Greer (1994), o surgimento dos fungos queratinofílicos sapróbios se dá início no período mesozóico, onde foram referidas espécies zoofílicas e com posteriores adaptações passaram a ser antropofílicas adaptando-se a diferentes substratos e ecossistemas, no qual pudessem se reproduzir. Sendo assim, podemos deduzir que os dermatófitos acompanham a própria existência humana (RUBIO et al., 1999).

Os estudos relacionados a micologia médica teve início nos meados do século XIX, sendo os dermatófitos os primeiros a serem estudado por Robert Remak, esclarecendo a etiologia do *Favus* (doença que geralmente acomete o couro cabeludo). Posteriormente em 1842, David Gruby, redescobre a etiologia do *Favus*, criando o gênero *Microsporum*, referindo-o a pequenos esporos em volta ao eixo do cabelo, comprovando a etiologia fúngica das *tineas* (ELEWSKI, 2000). David Gruby, também descreveu em 1842, ectotrix, que se trata de uma invasão externa da haste do cabelo ou barba, e endotrix, que trata de uma invasão retido dentro da haste capilar. Por volta de 50 anos mais tarde, os dermatófitos foram estudados por Raymond Jacques Andrien Sabouraud, médico dermatologista, formado pelo Instituto Pasteur, tido como o fundador da micologia médica moderna. Seu tratado *Lês Tignes*, publicado em 1910, elucidou o quebra-cabeça relacionado a classificação e identificação dos dermatófitos, classificando-os em quatro gêneros: *Achorion*, *Trichophyton*, *Epidermophyton* e *Microsporum*, baseado nos aspectos clínicos, morfologia, fisiologia, e observações microscópicas, além das terapias para dermatofitoses (ARORA et al., 1991). O meio de cultivo criado pelo referido pesquisador ainda está sendo amplamente utilizado nos dias atuais para cultura de fungos, apesar da origem de (seus ingredientes terem sido modificados), e é chamado ágar Sabouraud dextrose, em sua homenagem (ODDS,1991).

Chester Emmons em 1934, inovou o esquema taxonômico de Sabouraud, e reorganizou os dermatófitos baseado na morfologia dos esporos, classificando-os em apenas três gêneros: *Microsporum*, *Trichophyton* e *Epidermophyton*. A reprodução sexuada foi estudada por Donald Griffin em 1960, corroborando os estudos

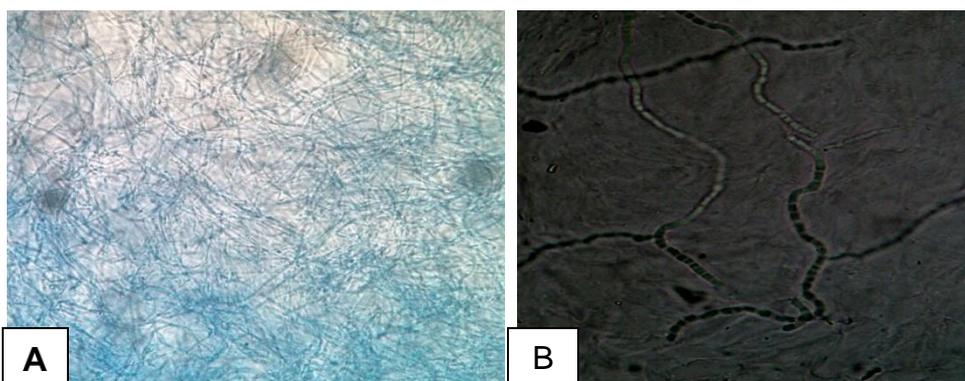
anteriormente obtidos por Nannizzi, em 1926 (Sidrim; Moreira, 1999; Sidrim; Rocha, 2004). A evidência da reprodução sexual dos dermatófitos abriu portas para estudos genéticos com estes fungos (WEITZMAN, 1964).

Contudo, no que diz respeito a taxonomia dos fungos, ainda se encontra distante de estar totalmente definida, onde Gräser e colaboradores (1999) e Woodgyer (2004) questionam a validação taxonômica de algumas espécies de dermatófitos, em suas publicações.

2.2 DERMATÓFITOS

Os dermatófitos são fungos filamentosos, septados e queratinofílicos, capazes de causar infecções superficiais conhecidas como dermatofitose ou tineas. Esses fungos podem se reproduzir sexualmente (estado perfeito ou teleomórfico), e enquadram-se no reino: Fungi, divisão Ascomycota, classe Eurotiomycetes, ordem: Onygenales, família: Anthrodermataceae e gênero *Anthroderma* ou de forma assexuadamente (estado imperfeito ou anamórfico), inserido nos gêneros: *Microsporum*, *Epidermophyton* e *Trichophyton* (NASERI et al., 2013).

Figura 1. Hifas (a) e arthroconídeos (b) característicos de dermatófitos.



Fonte: Oliveira (2016).

Existem pouco mais de 40 espécies de dermatófitos, e estes estão divididos em três gêneros: *Trichophyton*, *Microsporum* e *Epidermophyton*, conforme sumarizado na Tabela 1. Sendo estes classificados conforme, a formação e morfologia de seus conídios. Os dermatófitos são também classificados em outros três diferentes grupos: geofílicos, zoofílicos e antropofílicos, dependendo da fonte primária

de infecção (CHIACCHIO et al., 2014; PADHYE et al., 1999). O grupo dos geofílicos são aqueles transmitidos para os seres humanos através do contato com o solo, os dos zoofílicos são as infecções dermatofíticas transmitidas para o homem através do contato com animais infectados, sendo este tipo de infecção o mais menos frequente, nos dos antropofílicos, são aqueles dermatófitos transmitidos diretamente de uma pessoa para outra, onde são mais comumente isolados. Existe ainda a forma de transmissão indireta através de fômites contaminados, por exemplo, escovas de cabelo, chapéus, capacetes, toalhas entre outros (HAINER, 2003).

Tabela 1. Gêneros e espécies de dermatófitos.

<i>Epidermophyton</i>	<i>Microsporium</i>	<i>Trichophyton</i>
<i>E. floccosum</i>	<i>M. amazonicum</i>	<i>T. ajelloi</i>
<i>E. stockdaleae</i>	<i>M. appendiculatum</i>	<i>T. concentricum</i>
	<i>M. audouinii</i>	<i>T. eboreum</i>
	<i>M. boullardii</i>	<i>T. equinum</i>
	<i>M. canis</i>	<i>T. fischeri</i>
	<i>M. cookei</i>	<i>T. flavescens</i>
	<i>M. distortum</i>	<i>T. georgiae</i>
	<i>M. duboisii</i>	<i>T. gloriae</i>
	<i>M. equinum</i>	<i>T. gourvillii</i>
	<i>M. ferrugineum</i>	<i>T. kanei</i>
	<i>M. fulvum</i>	<i>T. langeronii</i>
	<i>M. gallinae</i>	<i>T. megninii</i>
	<i>M. gypseum</i>	<i>T. melis</i>
	<i>M. langeronii</i>	<i>T. mentagrophytes var. erinacei</i>
	<i>M. nanum</i>	<i>T. mentagrophytes var. granulosum</i>
	<i>M. persicolor</i>	<i>T. mentagrophytes var. interdigitale</i>
	<i>M. praecox</i>	<i>T. mentagrophytes var. kraidenii</i>

<i>M. racemosum</i>	<i>T. mentagrophytes var. goetzii</i>
<i>M. ripariae</i>	<i>T. mentagrophytes var. mentagrophytes</i>
<i>M. rivalieri</i>	<i>T. mentagrophytes var. nodulare</i>
	<i>T. mentagrophytes var. quinckeanum</i>
	<i>T. raubitschekii</i>
	<i>T. rubrum</i>
	<i>T. sarkisovii</i>
	<i>T. shoenleinii</i>
	<i>T. simii</i>

Fonte: Phadhye et al., 1999

2.3 DERMATOFITOSE

A dermatofitose é uma infecção fúngica superficial considerada a mais frequente dentre as micoses causadas por fungos filamentosos, afetando aproximadamente 25% da população mundial. Assim, estima-se que 30 a 70% da população adulta são hospedeiros assintomáticos, aumentando o número de casos com o decorrer dos anos (PERES et al., 2010). Na região Amazônica, existe um alto índice destas infecções micóticas superficiais, isto pode ser atribuído aos fatores ambientais da região, como a alta temperatura e umidade, além das condições sociais humanas que favorece o desenvolvimento e disseminação destes fungos (PIRES et al., 2014). A distribuição geográfica destes fungos é bastante variável, e depende de região para região ao longo do tempo, sendo influenciados por vários fatores, tais como: mudança de clima, fatores socioeconômicos, estilo de vida, convívio com animais de estimação e grupos de idade, enquanto outros são cosmopolitas (CHIACCHIO et al., 2014). São considerados fungos queratinofílicos, pois necessitam da queratina presente nos tecidos, tais como: cabelo, pele e unha para o seu desenvolvimento. As dermatofitoses não são consideradas infecções oportunistas, podendo comprometer tanto imunocomprometidos, como imunocompetentes. Eles são considerados incapazes de penetrar nas camadas mais profunda da pele: derme

e a hipoderme, bem como em órgãos de imunocompetentes. Sendo assim, também não se desenvolvem em superfícies mucosas (BAPTISTA, et al., 2015; PERES, et al., 2010; VENTURINI, et al., 2012).

É importante salientar que as dermatofitoses vem sendo descrita por acometer, sobretudo crianças, com idade menor que 12 anos, onde as lesões são mais frequentemente observadas no couro cabeludo (*Tinea capitis*), face (*Tinea faciei/barbae*) ou antebraço, abdômem e mãos (*Tinea corporis*). Os adultos são considerados a segunda população mais acometida por estas infecções, além disto, pessoas com imunidade comprometida, como pacientes transplantados, pacientes que apresentem algum tipo de câncer, pessoas que faz uso exorbitante de imunossupressores, em especial corticoides, diabéticos, portadores da síndrome da imunodeficiência adquirida, de idade avançada e também os portadores da Síndrome de Down, estes, compreendem um grande grupo de risco para estas infecções dermatofíticas (AQUINO et al., 2007; BIER, et al., 2013). Segundo Ghannoum (2013), fatores familiares também são considerados de risco para o desenvolvimento das dermatofitoses, sendo assim, o *T. rubrum* tem susceptibilidade e interação por linhagem autossômica dominante.

2.4 ASPECTOS CLÍNICOS DA DERMATOFITOSE

As manifestações clínicas das dermatofitoses são muito variáveis, e resultam da combinação do agente causador bem como da resposta imunológica do hospedeiro, e podem levar meses a anos para se desenvolver, podendo até mesmo ser assintomático, ou apresentar apenas prurido, sendo que na maioria dos casos dessas infecções é evidenciado o surgimento de lesões eritematosas descamativas e fissura. Utiliza-se a palavra *tinea*, e em seguida, o termo em latim do local de acometimento. Assim, a divisão dos quadros clínicos das dermatofitoses dependerá da região acometida. Estas infecções incluem: *tinea capitis*, *tinea corporis*, *tinea cruris*, *tinea faciei*, *tinea barbae*, *tinea manus*, *tinea pedis* e *tinea unguium* (onicomicoses) (DEGREEF, 2008; MIMS et al., 1995; PERES et al., 2010).

2.4.1 *Tinea Capitis*

É uma infecção fúngica de cabelo e couro cabeludo e a mais contagiosa dentre as demais *tineas*. Acomete preferencialmente crianças pré-escolares e escolares de ambos os sexos, porém apresenta-se com mais frequência em meninos (BALCI et al., 2014). Entretanto, pode acometer adultos e idosos. É tipicamente causada por dermatófitos do gênero *Microsporum* e *Trichophyton*. O *Trichophyton tonsurans* pode promover uma infecção assintomática principalmente em crianças, contudo pode causar infecção aparente em adultos que apresentam contato próximo com estas crianças (SOMBATMAITHAI et al., 2015).

A *tinea capitis* é uma micose superficial que tem distribuição universal, tendo predileções por regiões tropicais e subtropicais, consistindo um problema de saúde pública em alguns países, principalmente nos menos desenvolvidos. Alguns fatores, como clima, nível socioeconômico, higiene da população, urbanização, imunidade do hospedeiro e ações terapêuticas torna esta manifestação mais prevalente (GÜRTLER et al., 2005).

A tinha do couro cabeludo é considerada uma infecção exógena, causado por espécies fungicas antropofílicas e zoofílicas, tem como principal fonte de contágio o homem, e *T. tonsurans* agente etiológico mais comum que provoca resposta inflamatória moderada, porém com período mais longo de evolução da lesão. As infecções em animais têm como principal agente etiológico *Microsporum canis*, produzindo uma intensa resposta inflamatória, no entanto de evolução mais curta. O principal agente etiológico presente no solo é *Microsporum gypseum*, causando infecção humana de forma mais rara (BENNASSAR; GRIMALT, 2010; GÜRTLER et al., 2005).

No Brasil o principal agente etiológico da tinha do couro cabeludo é *T. tonsurans*, sendo ele mais frequente na região Norte e Nordeste, Distrito Federal e Paraná e *M. canis* mais prevalente na região Sul, São Paulo, Rio de Janeiro, Espírito Santo e Goiânia (GÜRTLER et al., 2005).

As manifestações clínicas desta infecção fúngica varia de uma lesão não inflamatória à erupções postulares severas, onde são clinicamente diferenciadas em três formas de acordo com o acometimento dos pelos:

Tricofítica: é uma forma clínica que está associada mais constantemente ao *T. tonsurans*, que pode adquirir o aspecto de “alopecia de ponto preto”. Este fungo

parasita invadindo o cabelo sem destruição da cutícula (endotrix), fazendo com que o cabelo quebre facilmente, acarretando em lesões de alopecia de tamanho variado, que podem ser únicas ou múltiplas, podendo ainda promover reações inflamatórias (SCHECHTMAN et al., 2015).

Microspórica: é uma manifestação que está associada, mais frequentemente a *M. canis*, causando ectotrix, que é uma infecção onde o parasitismo ocorre na superfície do cabelo, que provoca a destruição da cutícula do cabelo causando alopecia de dimensões variadas. No entanto, a *tinea capitis* pode mostrar-se um tipo de infecção não-inflamatória e limitada (SCHECHTMAN et al., 2015).

Favosa: é uma lesão dermatofítica do couro cabeludo, associada na maioria dos casos ao agente etiológico *T. schoenleinii*, que é um dermatófito antropofílico. A tinea favosa ocorre mais frequentemente em crianças da área rural e que vivem em baixas condições de higiene, raramente presente na faixa adulta. Sua manifestação clínica se dá pelo surgimento de quadros de alopecia bem delimitada e de forma severa, apresentando mau cheiro e exibindo um aspecto próximo a dermatite seborreica. Pode tornar-se uma infecção crônica e persistente, que se não tratada corretamente pode deixar cicatrizes (ANANE et al., 2013; VALLARELLI et al., 2014).

2.4.2 Tinea corporis

É uma infecção superficial também conhecida por pele glabra ou impingem, causada por fungos dermatofíticos, que acomete a camada superficial (pele) do corpo, no entanto, não afeta o pelo. Ele é considerado o mais frequente dentre todos os tipos dermatofitoses. A *tinea corporis* é uma micose que está relacionado mais comumente a crianças, praticantes de esportes e sobretudo obesos. Os agentes etiológicos mais frequentemente envolvidos são: *T. rubrum*, *T. tonsurans* e *T. mentagrophytes*. O *M.canis* e *M.gypseum*, mais raramente. As manifestações clínicas caracterizam-se por lesões únicas ou múltiplas, a princípio de tamanho pequeno medindo de 1-2 cm de diâmetro, porém tem crescimento centrífugo podendo atingir a um tamanho de 5 cm ou mais de diâmetro, de formatos arredondadas ou ovulares, apresentando bordas bem delimitadas e parte central aparentemente curada, com aparência eritematosas, descamativas e geralmente pruriginosas (BACHMEYER et al., 2013; BHAGRA et al., 2013; LEE et al., 2016; SAHOO et al., 2016).

Esta micose pode ser confundida com muitas outras doenças de pele, como psoríase, dermatite seborréica, eczema, carcinoma de células escamosas entre outros, sendo necessário um diagnóstico diferencial laboratorial (ELY et al., 2014; QADIM et al., 2013).

2.4.3 *Tinea cruris*

A *tinea cruris*, ou também conhecida como “jock itch”, é uma infecção fúngica que acomete a camada mais superficial da pele, também causadas por dermatófitos, sendo o *Trichophyton rubrum*, o agente etiológico mais prevalente seguido pelo *Epidermophyton floccosum*. É uma micose localizada na região genito-crural, podendo espelhar-se para área perianal (nádegas) e perineal (coxas), ocorrendo com mais frequentemente em homens adultos-jovens, adolescentes e mulheres na fase pós-púberes “fértil” (EL-GOHARY et al., 2013; ELMEGEED et al., 2015).

Suas manifestações clínicas caracterizam-se por placas eritematosas com bordas elevadas, úmidas e descamativas, geralmente acompanhada de intenso prurido na região da coxa medial e dobras inguinais. As placas apresentam-se geralmente de forma bilateral, não afetando o pênis nem o escroto, devido ao confronto com a *Candida*, porém pode-se desenvolver uma candidíase devido a esta antibiose (ELY et al., 2014).

Acredita-se que muitas infecções por *tinea cruris* pode estar relacionada a pessoas que coincidentemente tenha *tinea pedis*, pelo grande contato que existe entre as mãos e os pés (WEINSTEIN; BERMAN, 2002). Existe ainda uma doença que vem sendo confundida com *tinea cruris* que é conhecida como tinea de eritrasma, causada por uma *Corynebacterium minutissimum*. O método diagnóstico utilizado para diferencia-las é a luz de wood, onde vai exibir um fluorescência vermelho coral para as lesões causadas pelo *C. minutissimum* e azul para *tinea cruris* (ELY et al., 2014).

2.4.4 *Tinea faciei*

Infecção fúngica causada por dermatófitos, que tem como principais agentes etiológicos o *T. rubrum* e *T. mentagrophytes*, e acomete principalmente a população do sexo feminino, restringindo-se a região da face, incluindo lábio superior e queixo. Também acomete frequentemente crianças, devido ao contato direto com animais.

Pode ser adquirida através do contato com animais domésticos ou de outras infecções dermatofíticas do corpo, como provenientes da *tinea capitis* e *tinea corporis*. Esta micose não é comum, porém pode ocorrer em qualquer lugar do mundo, embora seja mais frequente em regiões tropicais, devido à umidade e as altas temperaturas (MALHOTRA et al., 2015; MEDSCAP, 2015).

A manifestações clínicas são caracterizadas pelo surgimento de erupções eritematosas faciais únicas ou múltiplas, de aspectos arredondados, descamativos, com bordas elevadas e bem delimitadas e quase sempre apresenta prurido. Por se tratar de uma infecção na face, esta micose pode lembrar outros tipos de doenças, tais como: lúpus cutâneo eritematoso, dermatite de contato e alergias (GIOSEFFI et al., 2013; MEDSCAPE, 2015).

2.4.5 *Tinea barbae*

É uma dermatofitose incomum que atinge a área da barba/bigode com invasão dos pelos, podendo alastrar-se para o pescoço. É uma dermatofitose do tipo zoofílica adquirida pelo contato com direto com animais, e além de sua incidência ser considerada baixa, é restrita a pessoas do sexo masculino e mais comum em adultos, e em especial, moradores da zona rural. Os agentes etiológicos geralmente causadores desta micose são: *Trichophyton mentagrophytes* e *Trichophyton verrucosum*. Em determinados territórios geográfico *T. schoenleinii*, *T. violaceum* e *T. megninii*, podem também ser causadores desta tinha. No entanto, as infecções causadas por *M. canis* e *T. rubrum* é julgado incomum (BOLOGNIA et al., 2015)

A *tinea barbae* ocorre com mais frequência em países tropicais que apresentam temperaturas altas e bastante umidade. Suas manifestações clínicas são caracterizadas de duas formas: inflamatórias ou não inflamatórias, dependendo do agente etiológico e da resposta imune do paciente. A primeira infecção quando causada por fungos zoofílicos tendem a ser severos, com inflamação intensa e supurativa, apresentando numerosas pústulas foliculares. Pode ocorrer concomitantemente uma superinfecção causada por bactérias (foliculite bacteriana) gerando a formação de abscessos, fístulas e lesão semelhantes a placas de kerium. Além disto, futuramente os pacientes podem manifestar sintomas constituintes, tais como, mialgias ou linfadenopatias e apresentar alopecia cicatricial. A segunda infecção, é superficial e pouco inflamatória, sendo clinicamente semelhante a *tinea*

corporis, geralmente causada por *T. rubrum*, caracterizada por placas eritematosas, pápulosas (elevadas). Algumas outras condições podem disfarçar a *tinea barbae*, sendo necessário realizar o diagnóstico diferencial para foliculite bacteriana, infecções virais (herpes simples e herpes zoster), acne vulgar, dermatite periorbital actinomicoses cervicofaciales fístulas dentarias (BOLONGNIA et al., 2015; KOLE; ELEWSKI, 2013).

2.4.6 Tinea manuum

A *tinea manuum* é uma infecção fúngica que acomete mais precisamente o dorso mãos, onde geralmente exibe lesão unilateral, porém pode apresentar também lesão bilateral. É uma dermatofitose menos comum, quando comparado a *tinea pedis*. A *tinea manuum* é comumente causada por *T. rubrum* e *T. mentagrophytes*. Quando se evidencia o aparecimento de vesículas o *T. mentagrophytes* se mostra mais frequente (DESGARENNES et al. 2011; MORIARTY et al., 2012).

Esta dermatofitose apresenta uma morfologia clínica que se assemelha a *tinea corporis*, no entanto, a superfície da região palmar infectada, apresenta aparência descamativa (SCHLOSSBERG, 2015).

2.4.7 Tinea pedis

A *tinea pedis* é uma infecção fúngica ocasionada por dermatófitos no qual atinge a camada superficial dos pés. Conhecida também como “pé-de-atleta”, e não é causada apenas por dermatófitos, mas também por bactérias. A prevalência desta infecção fúngica vem crescendo consideravelmente nas últimas décadas, e cerca de 15% de toda população mundial pode desenvolver esta micose, causado apenas por dermatófitos. Existem alguns fatores predisponentes para o desenvolvimento desta infecção, tais como: idade, sexo, moradia na zona urbana, psoríase, diabetes, imunidade debilitada, hiperidrose e praticantes de esportes, além disto residir em regiões de umidade temperaturas altas também favorece o desenvolvimento dessa doença (MIRALOGLU et al., 2016; SABADIM et al., 2011).

A *tinea pedis* acomete geralmente adolescentes e jovens adultos de faixa etária entre 25-44 anos, sobretudo atletas e diabéticos. Em criança de faixa etária menor que 4 anos, este tipo de micose é considerado rara (BALCI et al., 2014).

Os agentes etiológicos mais corriqueiros desta infecção são antropofílicos, incluindo *Trichophyton rubrum sensu stricto*, seguido do *Trichophyton mentagrophytes* variação *interdigitalis* e *Epidermophyton floccosum* (ILKIT *et al.*, 2013). As manifestações clínicas dessa doença pode envolver os espaços interdigitais ou parte lateral dos pés. No tipo intertriginoso, manifesta-se de forma crônica e de condição recorrente, apresentando descamação e maceração da pele nos espaços interdigitais ou subdigitais geralmente entre o 4º e o 5º dedo, podendo ser evidenciado fissuração e prurido. Esta infecção pode partir do espaço interdigital e disseminar para a região plantar, no entanto, raramente irá acometer a região do dorso dos pés. No tipo papuloescamoso, a micose é crônica que acomete geralmente a região bilateral plantar dos pés, caracterizada por inflamação leve e apresentar descamação local ou difusa em “mocassim”. No tipo vesiculoso, ocorre à formação de pequenas vesículas, que são notados na curvatura interna da região plantar e na superfície anterior plantar, podendo estar associado a descamações. Vesículas maiores são menos frequentes, porém podem ser visualizados. Os tipos ulcerativos agudos estão habitualmente associados a maceração e ulceração de grandes áreas da região plantar. É comum e bastante frequente que esta infecção manifeste odor desagradável, tendo em vista que, está micose apresenta frequentemente uma superinfecção secundária causada por bactérias Gram negativas (MORIARTY *et al.*, 2012; TACHIBANA *et al.*, 1976; WEBMD, 2014).

2.4.8 *Tinea unguium*

A *tinea unguium* ou onicomicoses, é uma infecção fúngica crônica que atinge a unha associado a cerca de 50% de todas as onicopatias (MCAULEY *et al.*, 2016). A onicomicose não é um tipo de doença que se resolve espontaneamente, porém, ela não ameaça a vida do paciente. No entanto, ela pode causar dor, desconforto, desfiguração e pode causar limitações físicas e ocupacionais, além de poder afetar o estado emocional e psicossocial, tendo em vista o impacto na qualidade de vida dos pacientes (MCAULEY *et al.*, 2016; MORIARTY *et al.*, 2012).

Esta infecção fúngica acomete 10% da população mundial, percentual esse que aumenta mais a cada ano, e é considerada uma das doenças mais comuns em muitos países. É mais prevalente na população do sexo masculino, indivíduos mais velhos e pessoas com psoríase, diabetes e de imunidade comprometida, bem como,

portadores do HIV. Os dermatófitos são considerados os principais causadores das onicomicoses, sendo o *Trichophyton rubrum* o agente etiológico mais isolado nessa manifestação clínica, com aproximadamente 70% dos casos de onicomicoses, seguido pelo *Trichophyton mentagrophytes*. Porém, existem outros microrganismos, como as leveduras, mais precisamente a *Candida* spp e os fungos não-dermatófitos como *Aspergillus* spp, *Fusarium* spp, entre outros, são considerados patogênicos secundários também causadores das onicomicoses (CEILLEY, 2015; SABADIM et al., 2011; SCHALKA et al., 2012).

A *tinea unguium* (onicomicoses) classificam-se clinicamente de cinco diferentes formas: 1. Onicomicose subungueal distal e lateral; 2. Onicomicose de superfície branca 3. Onicomicose subungueal proximal; 4. Onicomicose Endonyx; 5. Onicomicose distrófica total (MORIARTY et al., 2012).

2.4.8.1 Onicomicose subungueal distal e lateral (OSDL)

A Onicomicose subungueal distal e lateral (OSDL) é a mais comum, aproximadamente 90% dos casos de onicomicose ocorre por este tipo de lesão, no qual se dá a predominância por dermatófitos, podendo haver um envolvimento muito ocasional por outro fungo filamentosos. Este tipo de infecção superficial geralmente afeta o leito, a lâmina e o hiponíquio da unha, resultando em hiperqueratose e onicolise que é o descolamento do leito ungueal, geralmente iniciando pelas bordas laterais da unha. Pode haver acúmulo de material sob a unha, que irá servir de reservatório para bactérias e fungos. As unhas acometidas apresentarão aspectos endurecidos, de espessura grossa com coloração marrom amarelado, podendo ser acompanhada ou não de dor. Esta infecção geralmente começa a partir de infecção fúngica prévia, como a *tinea pedis*. A OSDL desenvolve-se tanto nas unhas das mãos como nas dos pés, sendo o *Trichophyton rubrum* o agente etiológico mais frequente neste perfil de micose (ROSSANA SATTE, 2016; SCHALKA et al., 2012).

2.4.8.2 Onicomicose superficial branca (OSB)

A onicomicose superficial branca é pouco frequente, presente em apenas 5% dos casos, com alta incidência em crianças. Este tipo de onicomicose é representado por lesões de aspecto opaco, quebradiço, e com surgimento de pontos

esbranquiçados (leuconiquia), como aspecto de “giz”, na lâmina ungueal, sobretudo nas unhas dos pés. Com a evolução desta infecção fúngica, as manchas podem apresentar coloração amarelada e destruir toda a unha. A OSB permite dividir-se em três subcategorias, conferindo implicações terapêuticas: a primeira: engloba a lâmina ungueal superficial; a segunda: apresenta uma dupla invasão na lâmina ungueal superficial ou ventral; e a terceira: representada por uma onicomicose profunda e difusa, sendo mais observada em crianças ou pacientes HIV positivo. O agente etiológico mais comum desta forma de onicomicose é *Trichophyton mentagrophytes* (ALMEIDA JR et al., 2015; ROSSANA SATTE, 2016; SCHALKA et al., 2012;).

2.4.8.3 Onicomicose subungueal proximal (OSP)

Essa infecção é também conhecida como onicomicose subungueal proximal branca, é o subtipo mais raro das onicomicoses, e quando causadas por fungos dermatófitos, esta forma clínica está geralmente associada com pacientes que tem a síndrome da imunodeficiência adquirida (HIV/ AIDS) (CAMBUIM et al., 2011). Os fungos patogênicos invadem a cutícula da unha, penetrando na lâmina ungueal e seguem em direção à porção distal. Inicialmente esta infecção apresenta fragmentos de cor esbranquiçada do lado proximal da lâmina ungueal, e devido a esta característica que não é única entre os subtipos da onicomicose, é necessário determinar o diferencial entre o OSP e Onicomicose superficial branca OSB. Na OSB a infecção fúngica é apresentada na camada mais superficial da unha, e é facilmente raspada, já na onicomicose subungueal proximal é uma infecção que se apresenta no interior da unha, porque a infecção se inicia pela cutícula e matrix ungueal, com predominância nas unhas das mãos. A *Candida* é o agente etiológico mais comum nesse subtipo de onicomicose, porém, quando causados por dermatófitos, *Trichophyton mentagrophytes* e *Trichophyton rubrum* são os mais frequentes (DIAS et al., 2013a; LEE et al., 2011; SABADIN et al., 2011)

2.4.8.4 Onicomicose endonyx (OE)

Essa onicomicose é determinada por uma propagação fúngica invasiva na camada superficial da lâmina ungueal, apresentando hiperqueratose mínima ou ausente. O aspecto opaco na lâmina ungueal com descoloração branco-leitosa é

geralmente incomum. O agente etiológico frequentemente envolvido nessa onicomicose é o *Trichophyton rubrum*, no entanto, em alguns casos peculiares de (OE), pode ser causado por *Trichophyton soudanense* e *Trichophyton violaceum* (SOUZA et al., 2013).

2.4.8.5 Onicomicose distrófica total (ODT)

Qualquer variação destes subtipos de onicomicose descrito acima pode evoluir para a distrofia ungueal total. O ODT compreende o estágio mais avançado, ocorrendo à destruição completa da unha, no qual ela perde toda sua arquitetura normal. O agente etiológico mais comum é o *Trichophyton rubrum*, seguido pelo *Trichophyton mentagrophytes*. No entanto, existem outros dermatófitos envolvidos nesse subtipo de onicomicose como *Epidermophyton floccosum*, *Trichophyton tonsurans*, *Microsporum canis* e *Trichophyton violaceum*, sendo este último pouco frequente (CAMBUIM et al., 2011; SABADIN et al., 2011; SCHALKA et al., 2012).

2.5 DIAGNÓSTICO

As dermatofitoses não podem ser diagnosticadas somente pelos aspectos clínicos devido à sua semelhança com outras doenças tais como dermatite seborreica, psoríase, candidíase, carcinoma escamoso, entre outras, sendo assim se faz necessário a realização de um procedimento mais complexo que vai desde o histórico do paciente, observações clínicas seguido da coleta, até as análises macroscópica e microscópica realizadas no laboratório. Para um diagnóstico confiável e preciso, é importante que a quantidade e a qualidade do material bem como transporte, sejam adequadas, visto que estas etapas influenciarão nos resultados dos exames laboratoriais. É importante ressaltar que o paciente não poderá estar fazendo uso de nenhuma medicação antifúngica, pois esta omissão poderá mascarar o resultado do exame (SANTOS et al., 2002; SHIRAKI et al., 2004; URANO et al., 2003).

Sendo assim, existem etapas a serem seguidas para de fato diagnosticar as dermatofitoses:

Coleta: é importante a realização de uma assepsia no local onde existe a lesão minimizando assim possíveis contaminações para as etapas seguintes. Caso a lesão sugestiva encontre-se na pele, deve-se realizar a escarificação na borda da lesão

mais recente com uma lâmina de bisturi esterilizados, e o material biológico deverá ser coletado em uma placa de Petri, também devidamente esterilizada. Caso a infecção esteja presente na cabeça, deve-se fazer também escarificação na borda da lesão com bisturi e placas de Petri, ambos esterilizados, bem como fazer a coleta do fio do cabelo juntamente com o bulbo capilar, já que o fungo pode se localizar nessa área. Se houver lesões supurativas recomenda-se que a coleta seja feita com swab esterilizados, devido à dificuldade para realizar a escarificação nesses tipos de lesões, e o swab deverá ser imerso em tubo com solução salina. Nas coletas das unhas deve-se fazer a raspagem da lâmina ungueal em com bisturi e colhido em placa de Petri, bem como o material que é formado na matrix subungueal (SANTOS et al., 2002; SAHOO; MAHAJAN, 2016).

Exame direto: o material biológico obtido através de escarificação da pele, unha ou couro cabeludo deverá ser clarificado com hidróxido de potássio (KOH) em concentração que varie entre 10 a 40% é colocado entre lamina e lamínula e levado ao microscópio para visualização das estruturas fúngicas. O material obtido através da coleta com swab é colocado a fresco entre lâmina e lamínula, e em seguida corado com azul de metileno. Nos casos positivos para dermatofitoses de pele e unha, o achado laboratorial visualizado será a presença de hifas hialinas septadas, ramificadas com ou sem arthroconídios, já no pelo observa-se estruturas arredondadas conhecidas como arthroconídeos, sendo rara a presença de filamentos micelianos. Se o parasitismo ocorrer fora do pelo, é chamado de ectotrix, e se o parasitismo for dentro endotrix, e se for dentro e fora é o tipo ecto-endotrix (SAHOO; MAHAJAN, 2016; SANTOS et al., 2002).

Meio de cultura: o material biológico, oriundo das escamas epidérmicas, ungueais e da coleta realizada com swab são semeadas em meio primário de isolamento para fungos como o ágar Sabouraud dextrose (SDA) acrescido antibiótico, geralmente cloranfenicol. Para as escamas epidérmicas e ungueais é realizada a técnica de sete ponto na placa de Petri, havendo uma pequena distância entre os pontos, já para o material obtido através da coleta com swab é feito um semeio por técnica de desgaste ou esgotamento. Em seguida está placa é incubada a uma temperatura que varia de 25 a 30°C, por até 15 dias, tempo hábil para o desenvolvimento das colônias. Após o crescimento das colônias, deve-se avaliar suas características macro e micromorfológicas. Algumas espécies se diferenciam pela velocidade de crescimento, aspecto da colônia e coloração da superfície e reverso

das colônias. Concomitantemente as observações macroscópicas, um fragmento da colônia é corado com lactofenol azul de algodão e observado ao microscópio com o objetivo de correlacionar as estruturas visualizadas ao exame direto anteriormente, com as estruturas presentes na lâmina do cultivo, sendo observadas algumas modificações das hifas e a presença de micro e macroconídeos a depender do agente etiológico causador da infecção (SANTOS et al., 2002; SAHOO; MAHAJAN,2016).

Recentemente, técnicas na biologia molecular foram adaptadas para detectar DNA de dermatófitos, com o objetivo de auxiliar a identificação do isolado clínico oriundo de pacientes, corrobora com as técnicas convencionais para o diagnóstico das dermatofitoses. Segundo Liu e colaboradores em 1997, através do AP-PCR (Arbitrary Primer Polymerase Chain Reaction), conseguiram a identificação e diferenciação em uma amostragem de 16 espécies de dermatófitos. Posteriormente, Liu et al. (1997) aperfeiçoaram a técnica e conseguiram identificar precisamente 23 de 25 espécies de dermatófitos. Em 2000, foi realizado a detecção do DNA de dermatófitos diretamente do material clínico por Turin e colaboradores, através da técnica de PCR e amplificando as regiões do DNA ribossomal. Machouart-Dubach et al. (2001) compararam a técnica de PCR-RFLP (Polymerase Chain Reaction - Restriction Fragment Lengthy Polymorphism) com a técnica de Liu et al. (1997), e verificou-se uma correlação de 98,7% entre as técnicas. Embora o diagnóstico através da biologia molecular seja uma técnica de identificação e diferenciação inovadora e precisa e reprodutível, ela não pode ser considerada uma metodologia de diagnóstico requisitada para o cotidiano, visto que, não existe ainda uma metodologia padronizada para os diferentes ensaios, além do alto custo que as técnicas moleculares demandam para serem realizados (SANTOS et al., 2002).

2.6 TRATAMENTO

O tratamento para as dermatofitoses ocorrem muitas vezes por períodos onerosos e longos, que perdura de seis meses a um ano. Existem várias classes de antifúngicos utilizados na terapêutica desta micose, tais como: as alilaminas (principalmente: naftifinas e a terbinafina); os azólicos (cetoconazol, fluconazol e itraconazol); griseofulvina, as equinocandinas, e mais recentemente vem se utilizando novos fármacos bem como amorolfina e ciclopirox olamina de uso tópico em casos de onicomicoses causados por dermatófitos (PERES et al., 2010).

A princípio a via de administração geralmente escolhida para o tratamento das micoses dermatofíticas, é a via tópica como pomada, creme ou solução, no entanto, a depender do tipo de lesão, como *tinea capitis* e *tinea unguium*, e alguns casos de *tinea pedis* (que envolve a região plantar e o dorso do pé) a forma escolhida é preferencialmente a via oral, pois geralmente estes tipos de *tinea* não respondem ao uso tópico (RUBIO et al., 1999).

2.6.1 Antifúngicos de via tópica

A escolha para o tratamento via tópico (poliênicos, derivados imidazólicos, amorolfina, terbinafina, tonalftato, ciclopirox olanina) estão associados nas infecções pelo qual não acometem vastas áreas (GUPTA et al., 2004). Segundo alguns autores, este tipo de intervenção só é considerado efetivo, quando realizado na fase inicial da infecção (PÁLACIO et al. 2002). Por exemplo, em casos de onicomicoses o tratamento tópico só é indicado quando a matriz ungueal não está acometida, caso contrário a resposta ao tratamento não é resolutivo (manual de condutas, RUIZ; CHIACCHIO, 2005). Deste modo, os resultados conquistados com a escolha pelo tratamento tópico, conseguem ser otimizados mediante associação aos tratamentos que utilizam antimicóticos por via oral (RUIZ; CHIACCHIO, 2005).

2.6.2 Antifúngicos via oral

O tratamento por administração via oral é indicado para os pacientes que apresentam ineficácia terapêutica através da administração de antifúngico por via tópica, e geralmente nestes casos pode haver a combinação de antifúngicos com o objetivo de potencializar o efeito terapêutico. Em geral, a opção terapêutica por via oral, conforme exposta na Tabela 2, tem melhores resultados do que a terapia por via tópica, no entanto, a metabolização através da via hepática, seguindo da eliminação por via renal da grande maioria dos antifúngicos é considerada um dos prejuízos que este tipo de tratamento apresenta, pois em sua grande maioria produzem efeitos tóxicos (BARAN; KAOUKHOV, 2005; MEINERZ et al., 2007; MUNÓZ-CARILLO et al., 2010).

Tabela 2. Opções de tratamento oral para as dermatofitoses.

Infecção	Recomendação	Alternativa
<i>Tinea ungueum</i> (onicomicoses)	Terbinafina 250 mg/dia 6 semanas para unhas das mãos e 12 para unhas dos pés.	Itraconazol 200 mg/dia/ 3- 5 meses ou 400 mg/dia durante uma semana por 4-5 meses consecutivos. Fluconazol 150-300 mg/dia durante uma semana em 6-12 meses consecutivos. Griseofulvina 500-1000 mg/dia até curar (12-18 meses).
<i>Tinea capitis</i>	Griseofulvina 500 mg/dia até curar (6-8 semanas).	Terbinafina 250 mg/dia/ 4 semanas Itraconazol 100 mg/dia/ 4 semanas Fluconazol 100 mg/dia/4 semanas.
<i>Tinea corporis</i>	Griseofulvina 500 mg/dia até curar (4-6 semanas), geralmente combinado com imidazólico tópico.	Terbinafina 250 mg/dia por 2-4 semanas. Itraconazol 100 mg/dia por 15 dias ou 200 mg/dia por uma semana. Fluconazol 150-300 mg/semana por 4 semanas
<i>Tinea cruris</i>	Griseofulvina 500 mg/dia até curar (4-6 semanas).	Terbinafina 250 mg/dia por 2-4 semanas. Itraconazol 100 mg/dia por 15 dias ou 200 mg/dia por uma semana.

		Fluconazol 150-300 mg/semana por 4 semanas.
<i>Tinea pedis</i>	Griseofulvina 500 mg/dia até curar (4-6 semanas).	Terbinafina 250 mg/dia por 2-4 semanas. Itraconazol 100 mg/dia por 15 dias ou 200 mg/dia por uma semana.
		Fluconazol 150-300 mg/semana por 4 semanas.
<i>Tinea crônica ou difundida (não responde a terapia via tópica)</i>	Terbinafina 250mg/dia durante 4-6 semanas	Itraconazol 200 mg/ dia por 4-6 semanas. Griseofulvina 500-1000 mg/dia até curar (3-6 meses).

Fonte: The University of Adelaide

(<http://www.mycology.adelaide.edu.au/Mycoses/Cutaneous/Dermatophytosis/>, consultado dia 05 de Novembro de 2016).

2.7 ANTIFÚNGICOS

A intervenção antimicrobiana deu início nos anos 40, após a produção em ampla escala da penicilina devido á gravidade das infecções bacterianas. Sendo assim, o desenvolvimento de antifúngicos foi tardio (SHEEHAN et al., 1999). No entanto, a percepção científica adquirida sobre estudos antimicrobianos mostrou-se bastante benéfico para o desenvolvimento de antifúngicos (REX et al., 2001).

Existem algumas classes antifúngicas utilizados nos tratamentos das infecções fúngicas.

2.7.1 Alilaminas

São antifúngicos sintéticos, esta classe tem como principal mecanismo de ação a inibição de enzimas esqueleno epóxidase, que participa da síntese do ergosterol que é um componente da membrana celular fúngica (BENNET, 2003; ODDS et al., 2003 b). A morte fúngica se dá pelo acúmulo de esqueleno na membrana levando a lise da célula fúngica (GHANNOUM et al., 1999).

Dentre os fármacos pertencentes a classe das alilaminas, a terbinafina é seu principal representante, sendo uma droga lipofílica que desempenha ação tanto fungicida como fungistática. A terbinafina é o antifúngico de escolha em tratamento de onicomicoses causada por dermatófitos e *tinea capitis* (RUBIO et al., 1999).

2.7.2 Azóis

São antifúngicos sintéticos heterocíclicos e fungistáticos com amplo espectro de ação. São apolares e subdivididos em imidazóis e triazóis, tendo como principais fármacos disponíveis o fluconazol, itraconazol, cetoconazol, miconazol e econazol. Este grupo de antifúngicos participam da inibição da enzima lanosterol-14- α -dimetilase, enzima necessária para converter o lanosterol em ergosterol. A ausência do ergosterol na membrana do fungo altera as funções básicas essencial para o desenvolvimento normal do fungo (ODDS, 2003 a; SHEEHAN et al., 1999).

O primeiro imidazol (clormidazol) foi sintetizado em 1944, mas só foi introduzido este antifúngico para uso em 1958. Então, no final da década de 60 e início da década de 70, foram introduzidos três novos antifúngicos, miconazol clotromazole econazol para uso tópico, até que na década 1980, surge o cetoconazol para utilização sistêmica que perdurou durante anos como antifúngico oral, revolucionando o tratamento das micoses sistêmicas, anteriormente restrito aos poliênicos. No entanto, logo se viu baixa resposta terapêutica, recorrência na maioria das infecções, além da interferência com as vias de citocromo P-450 do hospedeiro, e assim, seu uso foi então substituído pelo aparecimento dos triazóis, surgindo na década de 90 com o fluconazol e itraconazol, que apresentaram uma menor interferência no metabolismo humano (MAERTENS, 2004).

Ainda assim, a ação antifúngica dos dois fármacos fluconazol e itraconazol é julgado restrito, devido a diversidade de espécies responsáveis pelas infecções

fúngicas. A atividade do fluconazol é muito limitada aos dermatófitos (MAERTENS, 2004).

Uma segunda geração encontra-se disponível no mercado (voriconazol) aprovado em 2002 pela Food and Drug Administration (FDA), com o objetivo de suprir as falhas observadas com o fluconazol e itraconazol (HERBRECHT, 2004). Porém, o voriconazol ainda não é um fármaco ideal, uma vez que este antifúngico provoca disfunção hepática assim como os outros fármacos disponíveis (MAERTENS, 2004). Com o mesmo objetivo, estudos clínicos (in vitro) foi realizado com (ravuconazol e posaconazol) e aprovado pela FDA em 2006, sendo estes fármacos oito vezes mais efetivo que o fluconazol (MAERTENS, 2004).

2.7.3 Griseofulvina

Lançada para uso clínico em 1958, a griseofulvina é um fármaco insolúvel em água, mas pode ser administrado de forma oral. Este antifúngico é produzido por *Penicillium griseofulvum*, sendo o primeiro fármaco com capacidade seletiva para dermatófitos a ser testado em humanos (DEACON, 2006; ODDS, 2003 a).

Este fármaco apresenta ação fungistática tendo afinidade pelas células da pele precursoras da queratina, fixando-se a ela com grande intensidade, permanecendo unida a queratina da pele, das unhas e cabelos, impedindo a síntese da parede celular fúngica e participa na interferência da polimerização dos microtúbulos desfazendo o fuso mitótico, conseqüentemente inibindo a multiplicação do fungo. O tratamento terá que ser longo, pode durar várias semanas ou meses, até que todos os tecidos estejam saldáveis. No tratamento um novo tecido vai crescendo, e conseqüentemente eliminando o tecido infectado (DEACON, 2005; FERNÁNDEZ- TORRES et al., 2002; MUÑOZ-CARILLO et al., 2010; ODDS, 2003a).

2.7.4 Ciclopirox olamina

É uma hidroxipiridona, de uso tópico, fungicida de amplo espectro. Possui propriedades anti-inflamatórias. Este antifúngico impede a captação de componentes essenciais que participa da síntese da membrana celular fúngica, com a inibição da síntese da parede celular do fungo, ocorre conseqüentemente bloqueio da reprodução

celular. Este fármaco é eficaz contra a maioria dos agentes causadores de micoses superficiais (DIAS et al. 2013b).

2.7.5 Derivados de morfolinás

A amorfolina é a principal representante desta classe de antifúngicos, um medicamento unicamente de uso tópico, que possui atividade antifúngica fungistática e fungicida, com eficácia no tratamento de todas as micoses superficiais em especial para as onicomicoses na formulação creme e esmalte (lacquer). Esta substância atua principalmente alterando a biossíntese de esteróis membranares levando a redução do ergosterol e levando ao acúmulo de esqueleno e de outros metabolitos intermediários gerando uma ação fungicida (DIAS et al., 2013b; LACAZ et al., 2002; SÁNCHEZ-CARAZO et al., 1999; SIDRIN, 2004).

2.8 RESISTÊNCIA ANTIFÚNGICA

O controle das infecções fúngicas superficiais irá depender da resposta imunológica do hospedeiro. Ocorrendo a falha na defesa contra o patógeno, a doença se instala, havendo a necessidade da utilização de antifúngicos (fungistáticos ou fungicidas) para intervir o mais especificamente contra o agente causador da infecção fúngica. No entanto, a especificidade destes fármacos contra os patógenos agressores ainda é muito limitada, devido ao pouco entendimento da biologia dos patógenos. Além do que, os antifúngicos de modo geral apresentam números limitados de alvos celulares, tais como ergosterol ou enzimas que participam de sua síntese, a síntese de ácidos nucleicos e da parede celular, bem como da formação de microtúbulos, acarretando a mecanismos de resistências aos fármacos disponíveis no mercado (MARTINEZ-ROSSI et al 2008; PERES et al., 2010).

Em 2003 foi relatado um caso de resistência a terbinafina, que é uma das drogas mais utilizadas em tratamentos de dermatofitoses causadas por *T. rubrum* (MUKHERJEE et al., 2003; PERES et al., 2010).

Os mecanismos bioquímicos e moleculares predominantes que contribuem para o fenótipo de resistência a drogas nos eucariotos: são redução da captação de drogas; modificação ou degradação metabólica da droga pela célula; modificação na interação droga-sítio alvo ou outras enzimas que estão envolvidas na mesma via

enzimática; por meio de mutações pontuais, superexpressão de molécula alvo; através da recombinação gênica e aumento de efluxo celular (MARTINEZ-ROSSI et al 2008; PERES et al., 2010). Sua resistência se dá devido ao aumento da expressão das bombas de efluxo, regulando o transporte intracelular de derivados azóis, onde a superexpressão dos genes CDR1 e CDR2, que são codificados pelos transportadores do tipo ABC (*ATP binding cassette*) e do gene MDR1 codificadores dos transportadores MSF, faz com que haja a diminuição da susceptibilidade da maioria dos azóis de uso clínico, bem como ao fluconazol respectivamente (MELLADO et al., 2002; MISHRA et al., 2007; PERES et al., 2010).

A resistência aos azóis ocorre devido a alteração estrutural da enzima 14- α lanosterol dimetilase que participa da biossíntese do ergosterol, esta enzima é o alvo de ação dos derivados azólicos. A enzima 14- α lanosterol dimetilase é produto do gene CYP51/ ERG11 e qualquer modificação em sua sequência resultara em mudanças na estrutura enzimática, influenciando negativamente na afinidade de azóis para os alvos celulares (LUPETTI et al., 2002; PRASAD, 2004; SANGLARD, 2002).

2.9 NOVOS ANTIFÚNGICOS

Atualmente cerca de 1,2 milhões de pessoas tem infecções fúngicas em todo o mundo, e a incidência dessas infecções vem aumentando significativamente com o passar dos anos devido ao número de pacientes imunocomprometidas, tais como pacientes portadores do HIV, bem como pacientes com câncer, transplantados ou apresentando doenças auto-imune que requerem terapia imunossupressoras. Poucos fármacos disponíveis apresentam eficácia comprometida, com resistência para tratamentos convencional além de alta toxicidade. Estudos vem sendo conduzidos para o desenvolvimento de novas opções antifúngicas a partir de estruturas já conhecidas, com o objetivo destes novos fármacos serem mais efetivo, além de reduzir os efeitos colaterais indesejáveis (CHANG et al., 2016).

2.9.1 Tiofeno e seu potencial antifúngico

Os tiofenos são compostos heterocíclicos com fórmula C_4H_4S , contendo um anel de cinco membros, podendo ser encontrado em produtos naturais como petróleo

e carvão, farmacologicamente ativos, muitos dos quais estão sendo empregados em uso clínicos regulares (MISHRA et al., 2011).

Os derivados tiofênicos, e 2-amino- tiofênicos tem se revelado importantes intermediários sintéticos para a química medicinal, permitindo a obtenção de um grande número de compostos bioativos apresentando diversas aplicações médicas e biológicas (PUTEROVÁ et al., 2009), das quais já incluem: atividades antivirais ((BONINI et al., 2004), antitumorais (FERREIRA et al., 2006;), analgésico e anti-inflamatório (NIKOLAKOPOULOS et al., 2006), antiparasitário (RAM et al., 1997), antimicrobianos, além de atividades antifúngicas (MCKAY, et al., 2006; PINTO et al., 2008).

Em um de seus trabalhos Mendonça Junior e colaboradores (2011) obtiveram nos últimos anos diversos resultados comprovando o potencial antifúngico de cicloalquil[b]tiofenos, onde observaram que os compostos que apresentaram atividades mais promissoras foram os derivados que possuíam em sua estrutura um porção nitro-aromática. Mais tarde, estudos de CADD (planejamento de fármacos auxiliados por computadores), utilizando também o derivado 2-amino-tiofênicos proporcionaram a obtenção de informações estruturais e eletrônicas essenciais à atividade antifúngica destes derivados, onde se pode observar que a presença de grupos polares, aumenta a solubilidade em água, por exemplo, do grupo NO₂, considerados fatores importantes para a otimização da atividade antifúngica. O uso de compostos químicos que apresentam o grupo NO₂ na terapia de diversas doenças, já é conhecido (MENDONÇA JUNIOR et al., 2011; SCOTTI et al., 2012; SOUZA et al., 2012).

3 ANÁLISE DOS RESULTADOS

3.1 ISOLADOS DE DERMATÓFITOS DIAGNOSTICADOS

Foram analisadas 120 amostras biológicas coletadas de 97 pacientes, entre o período de outubro de 2015 a fevereiro de 2016. Destes, oito (8,24%) dos pacientes apresentaram diagnóstico positivo para dermatofitose conforme a Tabela 3.

Tabela 3. Pacientes atendidos no Serviço de Dermatologia do Hospital das Clínicas da UFPE, e diagnosticados laboratorialmente com dermatofitose entre outubro de 2015 a fevereiro de 2016.

Identificação de paciente	Espécie	Sítio anatômico de coleta	Material biológico	Ano de coleta
*HC 591	<i>Trichophyton rubrum</i>	Unhas das mãos	Escama ungueais	2015
HC 651	<i>T. rubrum</i>	Unhas dos mãos	Escamas ungueais	2015
HC 609	<i>Microsporum gypseum</i>	Posterior da cabeça	Escamas epidérmicas	2015
HC 610	<i>T. rubrum</i>	Braço direito	Escamas epidérmicas	2015
HC 628	<i>T. rubrum</i>	Pés	Escamas epidérmicas	2015
HC314	<i>T. rubrum</i>	Unha das mãos	Escamas ungueais	2016
HC 297	<i>T mentagrophytes</i>	Interdigitais	Escamas epidérmicas	2016
HC 786	<i>M.gypseum</i>	Cabeça	Escamas epidérmicas	2016

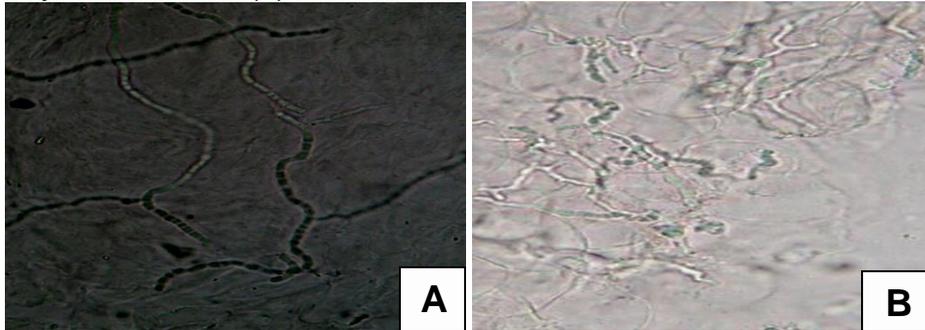
*HC – Hospital das Clínicas, da Universidade Federal de Pernambuco.

Fonte: Oliveira (2016)

Ao exame direto obtido dos oito pacientes positivos atendido no Serviço de Dermatologia do Hospital das Clínicas como mostra a Tabela 3, foi possível observar a presença de numerosos filamentos micelianos, hialinos, septados e/ ou artrosporados, e obter o agente etiológico em meio de cultura, confirmando 100% dos oito casos positivos para dermatofitose, como mostra as Figuras 2 e 3. *Trichophyton mentagrophytes* em meio ágar Sabouraud, apresenta colônias com textura pulverulento de coloração variando de branco-amarelado ao castanho-avermelhado, microscopicamente apresenta microconídeos arredondados e agrupados, conforme a Figura 3 (A, B e C). *Trichophyton rubrum* semeado em ágar Sabouraud, apresenta colônia de textura algodonsa, de cor branca, e com o tempo seu reverso adquire coloração avermelhada, e microscopicamente apresenta microconídeos regulares em e possuem foram de lágrima, conforme o exposto na Figura 3 (D, E e F). *Microsporum gypseum* é caracterizado por colônia de textura arenosa, apresentando coloração amarelo-acastanhado, o reverso pode apresentar variação de cor, do laranja ao marron, microscopicamente é caracterizado pela presença de macroconídeos com

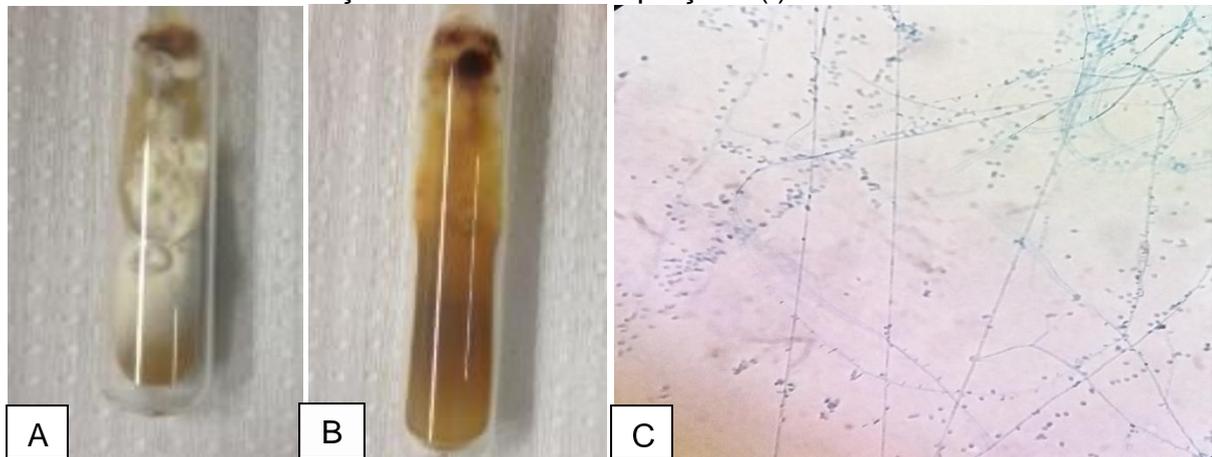
variação de três a sete septações de paredes finas, tendo a extremidade levemente arredondada, ilustrado na Figura 3 (G, H e I).

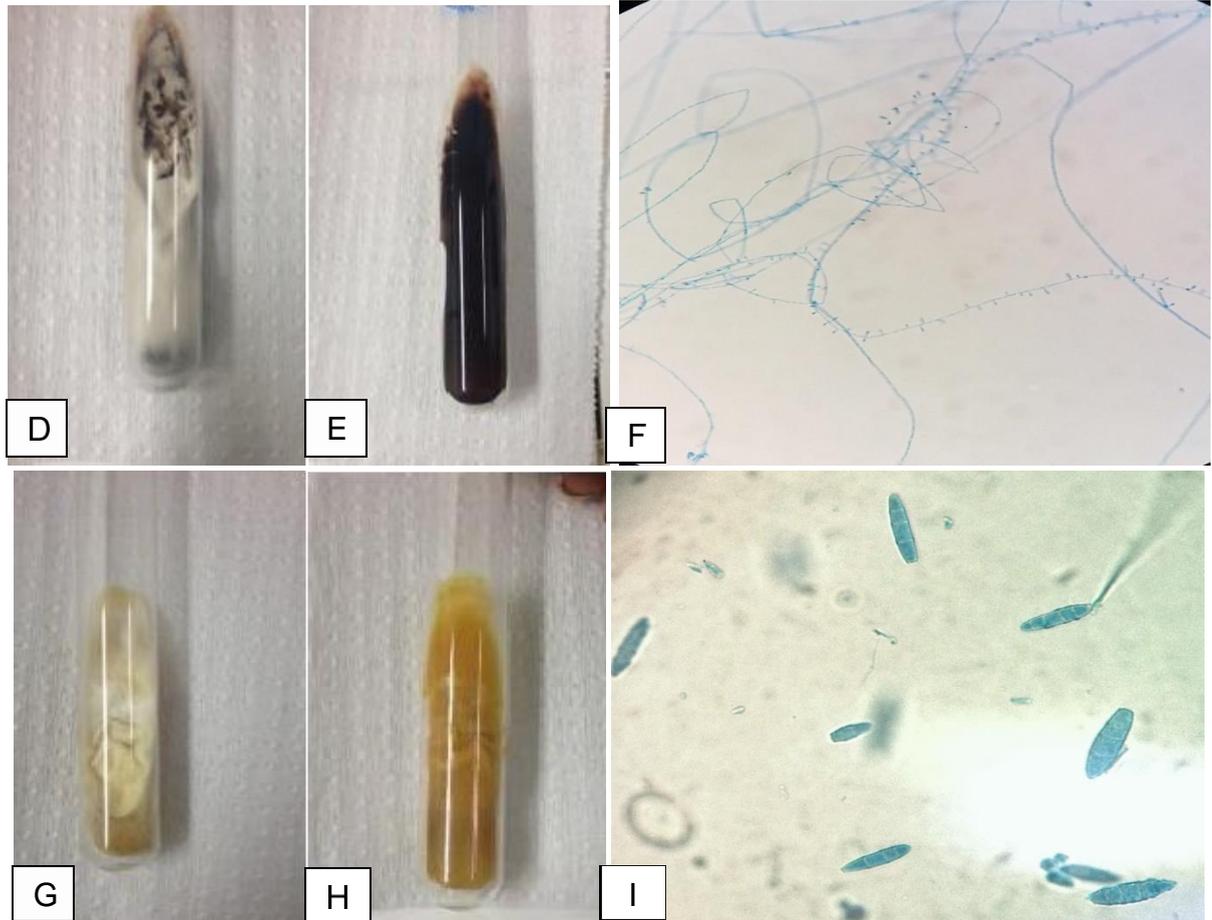
Figura 2. Artrosporos observado ao exame direto com hidróxido de potássio a 20% na objetiva 400x (a); numerosos filamentos septados e hialinos observados ao exame direto na objetiva de 400x (b).



Fonte: Oliveira (2016).

Figura 3. Colônia de *Trichophyton mentagrophytes*, verso (A); reverso (B); e microscopia da colônia, com a presença de microconídeos arredondados e agrupados (C). Colônia de *Trichophyton rubrum*, verso (D); reverso (E); e microscopia da colônia, com a presença de microconídeos irregulares e piriformes (F). Colônia de *Microsporum gypseum*, verso (G); reverso (H); microscopia da colônia com a presença de macronídeos com variação de três a sete septações (I).





Fonte: Oliveira (2016).

3.2 ISOLADOS DA COLEÇÃO DE CULTURAS/URM-UFPE, VIÁVEIS

Adicionalmente foram adquiridos vinte e um isolados viáveis mantidos na Coleção de Cultura/URM do Departamento de Micologia da UFPE, entre os vinte e três que foram solicitados. O número de registro na Coleção de Culturas, a espécie do dermatófito, ano de depósito e substrato de isolamento se encontram sumarizados na Tabela 4. Foram solicitados dois isolados de *Microsporum canis* a Coleção de Cultura URM Departamento de Micologia da UFPE, porém os mesmos não esporulavam, deste modo, não se encontram em condições viáveis, então foram retirados do teste, pois a esporulação é um requisito necessário para a realização do teste de sensibilidade antifúngica *in vitro*.

Tabela 4. Dermatofitos viáveis estocados na Coleção de Culturas URM/UFPE, isolados a partir de amostras clínicas.

Número de registro	Espécie	Ano de depósito	Substrato de isolamento
URM 450	<i>Trichophyton tonsurans</i>	1955	***
URM 700	<i>T. tonsurans</i>	1956	Couro cabeludo
URM 2668	<i>Epidermophyton floccosum</i>	1982	***
URM 2822	<i>T. tonsurans</i>	1985	Couro cabeludo
URM 3182	<i>E. floccosum</i>	1990	Região da virilha
URM 4741	<i>T. tonsurans</i>	2004	Nádegas
URM 4798	<i>E. floccosum</i>	2004	***
URM 4967	<i>T. tonsurans</i>	2005	Couro cabeludo
URM 5110	<i>E. floccosum</i>	2005	Região plantar
URM 5144	<i>T. rubrum</i>	2005	Região glútea
URM 5431	<i>T. mentagrophytes</i>	2007	***
URM 5432	<i>T. mentagrophytes</i>	2007	***
URM 5516	<i>T. tonsurans</i>	2007	***
URM 5479	<i>Microsporum gypseum</i>	2007	***
URM 6199	<i>M. gypseum</i>	2010	Perna esquerda
URM 6213	<i>T. rubrum</i>	2010	Coxas
URM 6753	<i>T. rubrum</i>	2010	Rim transplantado
URM 6211	<i>T. mentagrophytes</i>	2010	Unha do pé direito
URM 6754	<i>E. floccosum</i>	2012	Rim transplantado
URM 6921	<i>M. gypseum</i>	2013	Canino
URM 6999	<i>E. floccosum</i>	2013	***

***substrato não informado

Fonte: Oliveira (2016).

3.3 ATIVIDADE ANTIFÚNGICA *IN VITRO*

. Na tabela 5, se encontram as concentrações inibitórias mínimas (CIM) para cada molécula testada frente a trinta isolados, destes vinte e nove dermatofitos e uma cepa de referência *Candida parapsilosis* ATCC 22019. As quatro moléculas testadas bem como o antifúngico cetoconazol mostram atividade antifúngica contra alguns isolados de dermatofitos, assim como para a ATCC. Os isolados foram analisados a um critério de 100% de inibição do crescimento fúngico.

As moléculas de derivados nitrotiofenos-tiosemicarbazônicos NTT-3 e NTT-4, apresentaram mais atividade comparado ao NTT-1 e NTT-2. Adicionalmente a

molécula NTT-3 foi a mais efetiva, pois foi possível determinar CIM frente a vinte e cinco (83,33%) dos isolados, enquanto o NTT-4 foi efetivo em vinte e dois (73,33%) isolados entre os trinta testados. O antifúngico de referência cetoconazol apresentou atividade antifúngica para vinte e dois (73,33%) isolados. O NTT-4 demonstrou ter um potencial bioativos tão bom, quando comparado ao cetoconazol, porém menos bioativo que o NTT-3, conforme a Tabela 5.

De acordo ainda com a Tabela 5. Pode-se observar que para o isolado de *Epidermophyton floccosum* URM2668, foi sensível apenas a molécula NTT-4, apresentando resistências as demais moléculas inclusive ao cetoconazol. O isolado *E. floccosum* URM5110 o *Microsporium gypseum* URM5472, foi sensível a todas as moléculas de derivados de tiofenos bem como ao cetoconazol, no entanto, o NTT-4 apresentou o mesmo CIM, quando comparados ao cetoconazol. O isolado *M. gypseum* URM6921, apresentou resistência a três moléculas do derivado de tiofeno, inclusive ao cetoconazol, porém, apresentou sensibilidade ao NTT-3. Para o *Trichophyton rubrum* HC591, observa-se resistente ao cetoconazol e a apenas uma (NTT-2) moléculas do derivado de tiofenos, apresentado sensibilidade para as demais moléculas testadas (NTT-1, NTT-3 e NTT4). Os isolados *T. rubrum* URM6753, *T. mentagropytes* URM621, *T. tonsurans* URM700, apresentaram resistência ao cetoconazol, apresentando sensibilidade para as mesmas duas moléculas de derivados de tiofeno (NTT-3 e NTT-4). O *T. tonsurans* URM4741, foi sensível a duas moléculas do derivado de tiofeno (NTT-1 e NTT-2), onde o mesmo apresentou resistência ao cetoconazol.

Quando analisa-se com relação as moléculas do derivados de nitro-tiofenos, apenas um isolado HC591 selvagem, dentre os oito, apresenta CIM máximo de 1.024 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ para NTT-3, sendo este isolado resistente ao cetoconazol. Os demais apresentaram CIM, relativamente baixos, quando comparados às concentrações utilizadas. Quando comparados com os isolados obtidos pela coleção de culturas URM, apenas seis isolados dentre os quinze; o *T. rubrum* URM5144, *T. tonsurans* URM450 e o *T. tonsurans* URM5516, apresentaram CIM máximo para o NTT-2. Já o *T. mentagrophytes* URM6211 e *T. tonsurans* URM700, apresentaram CIM máximo para o NTT-3, embora os mesmos apresentaram resistência ao cetoconazol. O *T. tonsurans* URM5516 apresentou CIM máxima para o NTT-1 e NTT-2. Nos demais, em alguns isolados é possível observar até o mesmo CIM que o cetoconazol, ou CIM bastante próximos.

Os resultados obtidos neste estudo corroboram com resultados de outros autores (MENDONÇA JUNIOR et al., 2011; SOUZA et al., 2012), que evidenciaram grande potencial antifúngico de outros derivados de tiofenos 2-amino-substituídos contra cepas de *Candida* spp e *Criptococcus neoformans*, leveduras bastante patogênicas e que apresenta alta resistência aos antifúngicos comercialmente disponíveis. Os derivados de nitrotiofenos-tiosemicarbazona utilizados neste estudo não podem ser comparados com outras pesquisas, pois não existem estudos ainda com estas quatro moléculas (NTT-1, NTT-2, NTT-3 e NTT-4), tampouco utilizando cepas de dermatófitos.

Tabela 5. Atividade antifúngica dos quatro derivados nitrotiofenos-tiosemicarbazônicos e cetoconazol contra dermatófitos obtidos de pacientes com dermatofitose no do Serviço de Dermatologia do Hospital das Clínicas/UFPE, entre outubro de 2015 a fevereiro de 2016, e de isolados estocados na Coleção de Culturas URM do Departamento de Micologia da UFPE.

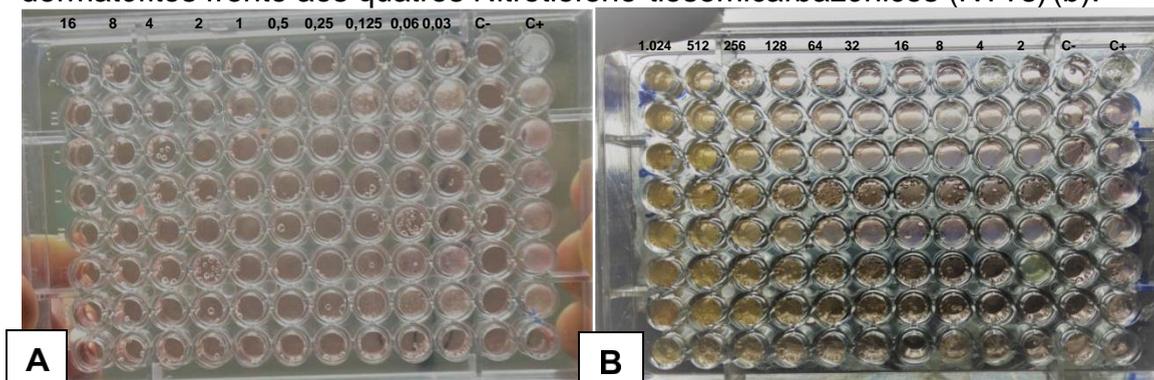
Espécies de dermatófitos	Identificação de dermatófitos	Compostos – CIM [†] valores em µg.mL ⁻¹				
		NTT-1	NTT-2	NTT-3	NTT-4	Ceto [‡]
<i>E. floccosum</i>	URM [¶] 2668	C	C	C	4	C
<i>E. floccosum</i>	URM 3182	C	C	C	C	C
<i>E. floccosum</i>	URM 4798	128	C	256	32	2 ^{††}
<i>E. floccosum</i>	URM5110	64	512	16	4	4 ^{††}
<i>E. floccosum</i>	URM 6754	256	C	64	C	0.5 ^{††}
<i>E. floccosum</i>	URM 6999	8	8	4	8	0.5 ^{††}
<i>M. gypseum</i>	HC 609	C	128	8	16	4 ^{††}
<i>M. gypseum</i>	HC 786	C	256	16	32	4 ^{††}
<i>M. gypseum</i>	URM 5479	64	256	8	2	2 ^{††}
<i>M. gypseum</i>	URM 6199	C	C	C	C	8 ^{††}
<i>M. gypseum</i>	URM 6921	C	C	512	C	C
<i>T. rubrum</i>	HC 314	C	128	8	C	0.5 ^{††}
<i>T. rubrum</i>	HC 651	C	C	128	256	0.0625 ^{††}
<i>T. rubrum</i>	HC 591	32	C	1.024	256	C
<i>T. rubrum</i>	HC 610	32	512	4	2	0.125 ^{††}
<i>T. rubrum</i>	HC 628	C	C	C	C	2 ^{††}
<i>T. rubrum</i>	URM 5144	C	1.024	64	C	0.0625 ^{††}
<i>T. rubrum</i>	URM 6213	128	256	64	16	0.25 ^{††}

<i>T. rubrum</i>	URM 6753	C	C	512	512	C
<i>T. mentagrophytes</i>	HC 297	C	C	128	128	0.25 ^{††}
<i>T. mentagrophytes</i>	URM 5431	512	512	32	32	0.25 ^{††}
<i>T. mentagrophytes</i>	URM 5432	256	512	8	8	0.0625 ^{††}
<i>T. mentagrophytes</i>	URM 6211	C	C	1.024	1.024	C
<i>T. tonsurans</i>	URM 450	C	1.024	128	64	0.5 ^{††}
<i>T. tonsurans</i>	URM 700	C	C	1.024	512	C
<i>T. tonsurans</i>	URM 2822	C	C	512	256	1 ^{††}
<i>T. tonsurans</i>	URM 4741	512	1.024	C	C	C
<i>T. tonsurans</i>	URM 4967	8	256	4	128	2 ^{††}
<i>T. tonsurans</i>	URM 5516	1.024	1.024	32	128	4 ^{††}
<i>C. parapsilosis</i>	ATCC ^{##} 22019	C	C	64 ^{††}	32 ^{††}	0.125 ^{††}

[†]CIM – Concentração Mínima Inibitória; [‡]Ceto - Cetoconazol; ^{††}100% Inibição de Crescimento; C - Crescimento Testada em Alta Concentração; ^{##}ATCC – Coleção de Culturas Tipo Americana; [†]URM – Coleção de Cultura URM/UFPE/Brasil; HC – Hospital das Clínicas, Universidade Federal de Pernambuco; NTT-nitrotiofenos-tiosemicarbazônicos.

A Figura 4. Representa de forma ilustrativa a realização do teste de sensibilidade *in vitro* para cetoconazol e derivado do anel aromáticos de tiofenos frente a dermatofitos, respectivamente.

Figura 4. Teste de sensibilidade antifúngica *in vitro* de isolados de dermatófitos frente a cetoconazol (a); Teste de sensibilidade antifúngica *in vitro* de isolados de dermatófitos frente aos quatros Nitrotiofeno-tiosemicarbazônicos (NTTs) (b).



Fonte: Oliveira (2016).

3.4 MODELO DE DERMATOFITOSE *IN VIVO*

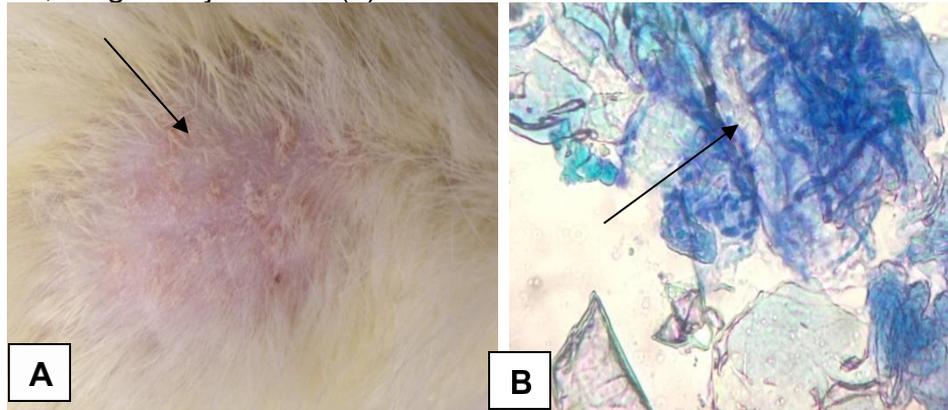
No modelo experimental de dermatofitose *in vivo* foi utilizado o isolado *Trichophyton mentagrophytes* (URM-5432), por ter sido possível determinar CIM de todas as moléculas do derivados tiofenos frente a este isolado, além de ter sido sensível ao cetoconazol. Após o primeira tentativa e quinze dias observando os

animais, foi verificado através de exame direto e cultura que não houve estabelecimento da lesão. Foi então realizado um segundo modelo experimental, onde se manteve os procedimentos anteriormente positivo, havendo modificações necessária: 1) aumento da área lesionada de 2,5cm² para 3 cm²; 2) aplicar uma suspensão com 200µL do inóculo ao invés de colocar a colônia de fungo diretamente na pele do animal em experimento. Neste modelo experimental modificado também não foi verificado o estabelecimento da lesão dermatofítica nos animais, porém, foi verificado um avanço positivo para as seguintes tentativas do *in vivo*. Foi adicionado alguns procedimentos de descrito no trabalho realizado por THOMSON e colaboradores, 2011, relatando o uso da betametasona tópica (0,05%) que é um imunossupressor local por sete dias. Foi realizado mais uma tentativa, agora com a implementação do uso do imunossupressor tópico, e quinze dias após a infecção, foi realizado o exame micológico direto, e mais uma vez sem sucesso, porém com uma observação clínica promissora. Foi então realizado uma outra tentativa de modelo experimental, nesta foram mantidos os procedimentos experimentais que apresentaram sucesso: 1) lesão com 3cm²; 2) aplicação de 200 µL da suspensão do inóculo; 3) aplicação do betametasona tópico por sete dias e adicionalmente foi implementado a utilização de outras duas metodologias descritas em (ODDS et al., 2004 c; SUANTE et al., 2008) respectivamente. 1) aplicação injetável de forma subcutânea do valerato de estradiol, quatro dias antes da infecção; 2) e a formação de barreira com vaselina sólida, com o objetivo de impedir a dispersão da suspensão do inóculo

As dificuldades reproduzidas da dermatofitose em cobaias comumente patogênicos em humanos, constatadas neste trabalho corroboram com os resultados de Odds e colaboradores (2004) e Suante e colaboradores (2008).

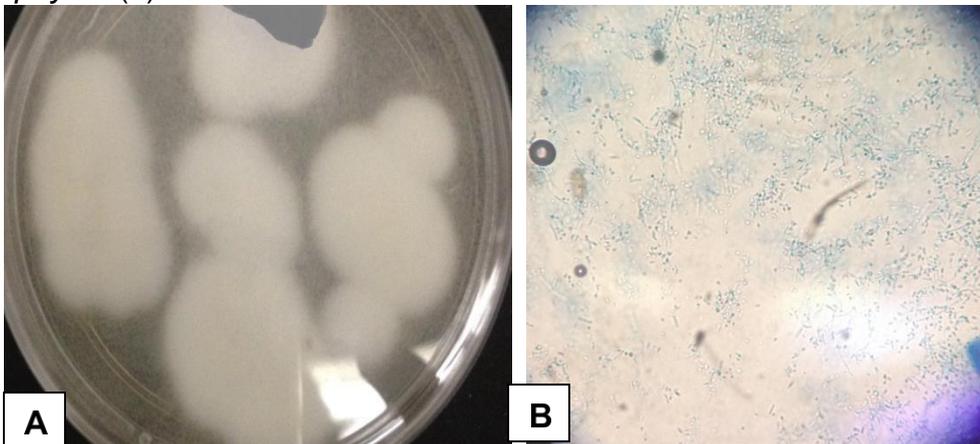
Após 10 dias da infecção, foi observada lesão como mostra a (Figura 5 A), e hifas como mostra a (Figura 5 B), estruturas fúngicas típicas de dermatofitose em parasitismo, e retrocultivo do dermatófito com colônia (Figura 6 A) e micoscopia do *T. mentagrophytes* isolados de cobaia (Figura 6 B).

Figura 5. Lesão eritematosa e descamativa formada após dez dias de desafio com o dermatófito em dorso de rato *Wistar* imunossuprimido tópicamente com betametasona e sistemicamente com valerato de estradiol (a); hifas septadas e arthroconídeos característico de dermatofitos observados em *imprint* com fita adesiva corada com azul de metileno, magnificação x400 (b).



Fonte: Oliveira (2016).

Figura 6. Colônia com aspecto pulverulenta de coloração branca característico de *Trichophyton mentagrophytes* isolado de rato *wistar* após dez dias da infecção (a); presença de hifas e microconídeos arredondados ao exame direto observada da cultura oriundo do rato *Wistar* em experimento característico de *Trichophyton mentagrophytes* (b).

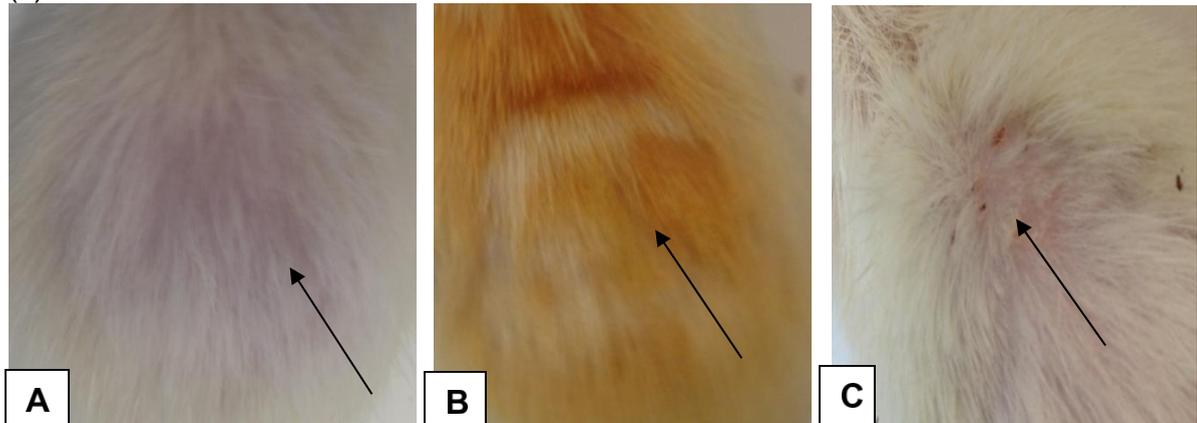


Fonte: Oliveira (2016).

Após o estabelecimento da lesão e diagnóstico, foi instituído o tratamento por 30 dias consecutivos com 0,02 mg/mL em 100µL a cada 24h de cetoconazol no grupo de animais com dermatofitose, e 0,02 mg/mL em 100µL a cada 24h da molécula do derivado de nitro-tiofeno (NTT-3) em outro grupo de animais com dermatofitose, também por período de 30 dias consecutivos. Após 30 dias dos grupos de animais tratados utilizando com cetoconazol e 30 dias dos animais tratados com NTT-3,

conforme a Figura 7, pode-se observar a melhora de ambas as lesões, com crescimento quase que totalmente dos pelos dos animais em experimento.

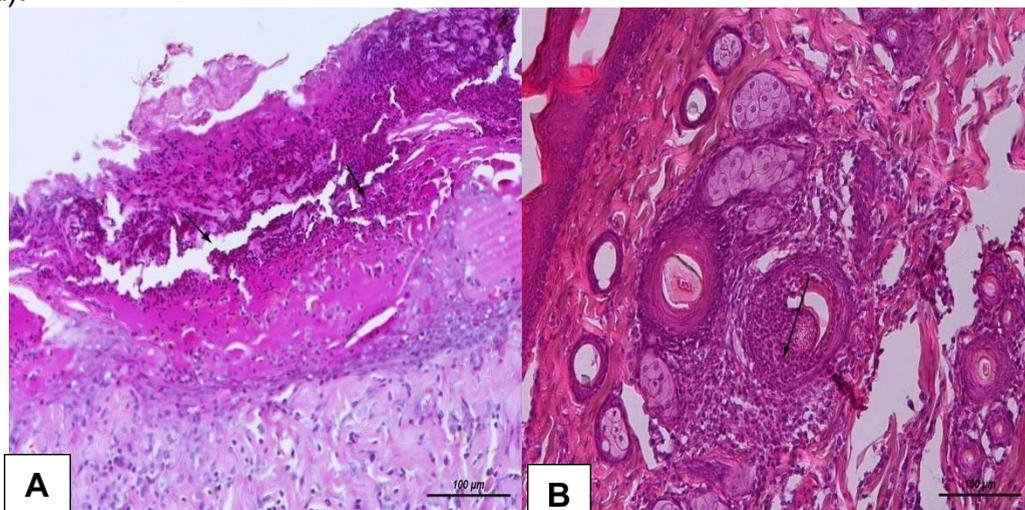
Figura 7. Tratamento com cetoconazol por 30 dias (a); tratamento com a molécula NTT-3 por 30 dias (b); animal controle positivo sem receber nenhum tipo tratamento (c).

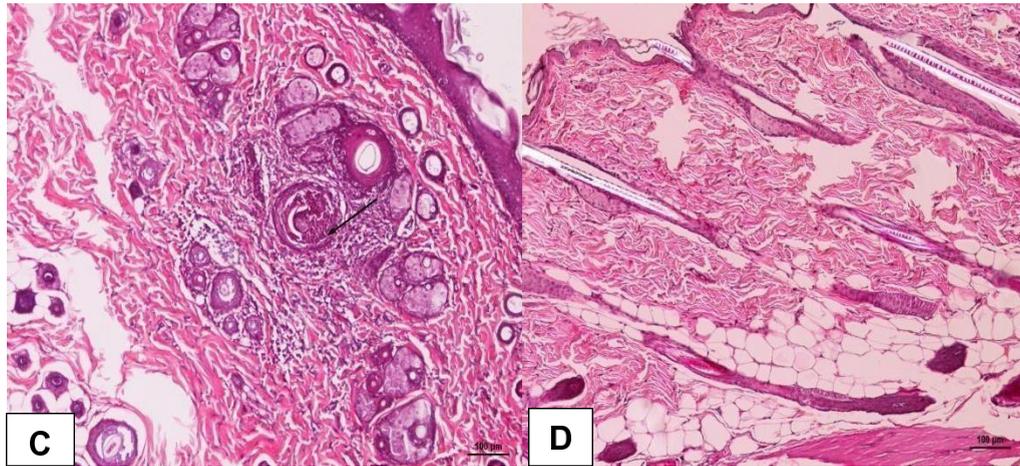


Fonte: Oliveira (2016).

Após dez dias da infecção foi observada por análise histopatológica da presença de reação inflamatória agudas difusas, com a presença de infiltrados difusos linfocitose, com polimorfonucleares, bem como a presença de acne, com o envolvimento do bulbo que caracteriza a infecção fúngica, detectado em hematoxilina-eosina (HE), o que caracteriza a infecção fúngica, conforme mostrado na Figura 8.

Figura 8. Avaliação histopatológica da lesão no dorso do rato Wistar. G2: grupo controle positivo, demonstrando reação inflamatória com linfocitose difusa (HE) (a); G3: ainda não tratado com cetoconazol, mostrando foliculite com infiltrados de linfocitose (HE) (b); G4: ainda não tratado com nitro-tiofeno, mostrando reação inflamatória com linfocitose (HE) (c); G4: Pele normal com 30 dias de tratamento com nitro-tiofeno e folículo piloso sem apresentar reação inflamatória após o tratamento (HE) (d).

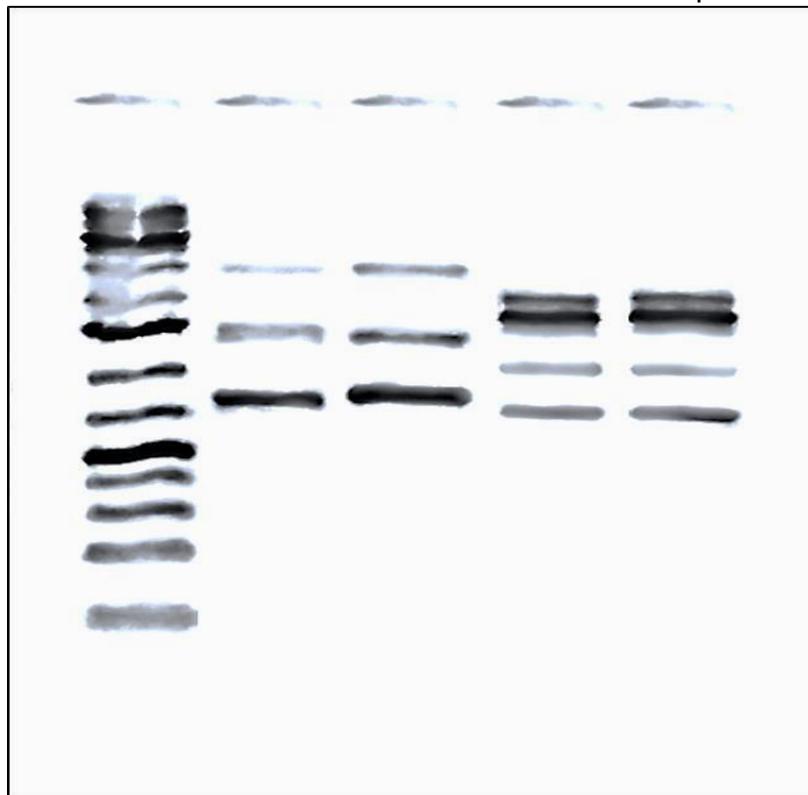




Fonte: Oliveira (2017).

De acordo com a análise molecular utilizando os primers (GACA)₄ e (GTG)₅ respectivamente, foi possível verificar que o isolado obtido da lesão dermatofítica do modelo experimental *in vivo* se trata do mesmo isolado que foi inoculado para causar a dermatofitose nas cobaias, como mostra a Figura 9.

Figura 9. Análise molecular utilizando os primers (CAGA)₄ e (GTG)₅ respectivamente do isolado (URM 5432) e do *Trichophyton mentagrophytes* oriundo da infecção dermatofítica em *Wistar* utilizado como cobaia do modelo experimental *in vivo*.



Fonte: Oliveira (2017).

Verificou-se que não foi possível o estabelecimento do modelo experimental *in vivo* de dermatofitose seguindo algumas metodologias, sendo necessária algumas modificações.

Observou-se que não é “simples” estabelecer modelo experimental *in vivo* de dermatofitose em ratos *wistar*. E isto pode ser explicado por estes animais apresentarem muita resistência a vários microorganismos, o que muitas vezes dificultará o estabelecimento de algumas infecções. As dificuldades reproduzidas da dermatofitose em cobaias comumente patogênicos em humanos, constatadas Neste Trabalho Corroboram Com Os Resultados De Odds E Colaboradores (2004) E SUANTE e colaboradores (2008).

Notou-se que as técnicas mais reprodutíveis para o estabelecimento da lesão dermatofítica só foi possível através da modificação de algumas metodologias seguidas, tais como a de Thomson e colaboradores (2011), com a aplicação do imunossupressor tópico, e a aplicação do valerato de estradiol e a demarcação utilizando a vaselina sólida, descrito por ODDS et al., 2004 e SUANTE et al., 2008, respectivamente.

As características observadas nos cobaias do experimento inicialmente foi a perda de peso e fezes diarreica durante a imunossupressão tópica, dez dias após a inoculação fúngica, houve o aparecimento de placas eritematosas e descamativas. Foi observado que 100 µL, não foi suficiente para causar a lesão, além da não realização da imunossupressão tópica e aplicação da imunossupressão hormonal.

A confirmação da dermatofitose no modelo experimental foi possível através do exame direto, cultura e realização do histopatológico, muito embora o exame histopatológico não seja realizado como um método de diagnóstico rotineiro, porém sua inclusão no diagnóstico foi realizada no propósito de complementar e verificar a resposta inflamatória do dermatófito quando atinge a camada queratina da pele e folículo piloso, demonstrado assim, o estabelecimento da verdadeira infecção.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com base nos resultados observados ao longo do desenvolvimento da pesquisa podemos inferir que:

- Entre os pacientes com suspeita clínica de micose atendidos em um serviço dermatológico de referência, é possível isolar dermatófitos e diagnosticar a dermatofitose em cerca de 8% dos casos;
- Coleção de culturas com certificação de qualidade ISO 9001:2008 mantém a viabilidade de espécies de dermatófitos em mais de 90% dos depósitos;
- Tanto os isolados de dermatófitos clínicos como aqueles estocados em Coleção de cultura podem apresentar resistência *in vitro* ao cetoconazol, antifúngico de referência no tratamento da dermatofitose;
- Derivados (nitrotiofenos-tiosemicarbamazônas) apresentam potencial antifúngicos *in vitro* frente isolados de dermatófitos;
- Modelo experimental localizado de dermatofitose em ratos *Wistar* imunossuprimidos tópico e sistemicamente é reprodutível e possibilita pesquisas a cerca de novas propostas terapêuticas e acompanhamento histopatológica da micose com controle de cura;
- Derivado nitrotiofeno-tiosemicarbamazona possui capacidade de promover cura clínica e laboratorial em ratos *Wistar* imunossuprimidos e infectados com isolado clínico de *Trichophyton mentagrophytes*.

REFERÊNCIAS

ALI, S; MÜLLER, C. R.; EPPLEN, J.T. Dna Finger Printing By Oligonucleotide Probes Specific For Simple Repeats. **Human Genetics**, Alemanha, v. 74, n. 3, p. 239–243, jully, 1986.

ALMEIDA JR, Hiram Larangeira de; BOABAID, Roberta Oliveira; TIMM, Vitor; SILVA, Ricardo Marques e; CASTRO, Luis Antonio Suita de. Scanning electron microscopy of superficial white onychomycosis. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, Rio de Janeiro, v.90, n.5, p. 753-755, out. 2015.

ANANE, Sonia; CHTOUROU, Olfa. Tinea capitis favosa misdiagnosed as tinea amiantacea. **Medical Mycology Case Reports**.

AQUINO, Valério Rodrigues; CONSTANTE, Caroline Collioni; BAKOS, Lucio. Frequência das dermatofitoses em exames micológicos em Hospital Geral de Porto Alegre, Brasil. **Investigação Clínica, Epidemiológica, Laboratorial e Terapêutica**, Porto Alegre, v. 10, n. 54, p. 240-244, jun. 2007.

ARORA, Dilip Kumar; AJELLO, Libero; MUKERJI, Knudsen Guy. **Handbook of Applied Mycology**. Edição 2. Merceel Dekker Inc, New York: Humans, Animals and Insects, 1991, 783 p.

BACHMEYER, Claude; BUOT, Geneviève. Tinea corporis in a mixed martial arts fighter. **Canadian Medical Association or its Licensors**, Paris, v.9, n.3, p.897, jul. 2013.

BALCI, Elcin; GULGUN, Mustafa; BABACAN, Oguzhan; KARAOGLU, Abdulbaki; KESIK, Vural; YESILKAYA, Sirzat; TURKER, Turker; TOK, Duran; KOC, Ayse Nedret. Prevalence and risk factors of tinea capitis and tinea pedis in school children in Turkey. **Journal of Pakistan Medical Association**, Kayseri, v.64, n.5, p. 514-518, mai. 2014.

BAPTISTA, Edilene Bolutari; ZIMMERMANN-FRANCO, Danielle Cristina; LATALIZA, Alexandre Augusto Barros; RAPOSO, Nádia Rezende Barbosa. Chemical composition and antifungal activity of essential oil from *Eucalyptus smithii* against dermatophytes. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 48, n. 6, p. 746-752, dec. 2015.

BARAN, R.; KAOUKHOV, A. Topical Antifungal Drugs For The Treatment Of Onychomycosis: An Overview Of Current Strategies For Monotherapy And Combination Therapy. **Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology**, France, v. 19, p.21-29, jan. 2005.

BENNASSAR, ANTONI; GRIMALT, RAMON. Management Of Tinea Capitis In Childhood. **Clinical, Cosmetic And Investigational Dermatology**, Spain, v. 3, p. 89-98, jul. 2010.

BENNETT, James E. **Fármacos Antimicrobianos: fármacos antifúngicos. As bases farmacológicas da terapêutica**. Goodman & Gilman. 10ª Edição. Local: Rio de Janeiro. 2003. 859-875 p.

BHAGRA S; GANJU AS; SOOD A; GULERIA RC; KANGA AK. *Microsporum gypseum* dermatophytosis in a patient of acquired immunodeficiency syndrome: A rare case report. **Indian Journal of Medical Microbiology**, Índia, v.31, n.3, p. 295-298, jul. 2013.

BIER, Daniele; FARIAS, Marconi Rodrigues de; MURO, Marisol Dominguez; SONI, Luciana Maria Faiad; CARVALHO, Vânia Oliveira, PIMPÃO; Cláudia Turra. Isolamento de dermatófitos do pelo de cães e gatos pertencentes a proprietários com diagnóstico de dermatofitose. **Archives of Veterinary Science**, v.18, n.1, p.1-8, fev.2013.

BOLOGNIA, Jean L.; JORIZZO, Joseph L.; SCHAFFER, Julie V. **Dermatologia**. 3ª Edição. Local: Rio de Janeiro. 2009. 1259 p.

BONINI, Carlo; CHIUMMIENTO, Lucia; BONIS, MARGHERITA DE; FUNICELLO, Maria; LUPATELLI, Paolo. Synthesis of a first thiophene containing analog of the HIV protease inhibitor nelfinavir. **Tetrahedron letters**, Italy, v.45, n. 13, p. 2707-2799, march, 2004.

CAMBUIM, Idalina Inês Fonsêca Nogueira; MACÊDO, Danielle Patrícia Cerqueira; DELGADO, Marília; LIMA, Kedma de Magalhães; MENDES, Genilda Pereira; SOUZAMOTTA, Cristina Maria de; LIMA, Débora Maria Massa; FERNANDES, Maria José; MAGALHÃES, Oliane Maria Correia; QUEIROZ, Lusinete Acioli de†; NEVES, Rejane Pereira. Avaliação clínica e micológica de onicomicose em pacientes brasileiros com HIV/AIDS. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Recife, v.44, n.1, p. 40-42, fev. 2011.

CEILLEY, Roger I. Fungus: New Treatment Options for Toenail Onychomycosis and Tinea Pedis. **Seminars in Cutaneous Medicine and Surgery**, Irvine, v.34, n.4, p. 61-64, jun. 2015.

CHANG, Ya-Lin; YU, Shang-Jie; HEITMAN, Joseph; WELLINGTON, Melanie; CHEN, Ying- Lien. New Facets of Antifungal Therapy. **Journal Virulence**, Taipei, v. 7, n. 2. nov. 2016.

CHIACCHIO, Nilton Di; MADEIRA, Celso Luiz; HUMAIRE, Caio Rosa; SILVA, Camila Simon; FERNANDES, Lucia Helena Gomes; REIS, Ana Lucia Dos. Superficial

mycoses at the Hospital do Servidor Público Municipal de São Paulo between 2005 and 2011. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, Rio de Janeiro, v. 89, n. 1, p. 67-71, fev. 2014.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. **Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts**. Approved standard. 3^o Edition. CLSI documents: M27-A3. CLSI, Wayne, PA, 2008.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. **Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts**. Approved standard. 3^o Edition. CLSI documents: M38-A2. CLSI, Wayne, PA, 2008.

DEACON, Jim. Principles and Practice of Controlling Fungal Growth. **Fungal Biology**, Malden, USA, 4^o Edition, april, 2005.

DEGREEF, Hugo. Clinical forms of dermatophytosis (ringworm infection). **Mycopathologia**, Belgium, v. 166, n. 5-6, p. 257-265, may, 2008.

DESGARENNES, María del Carmen Padilla; OROZCO, Leticia Paulina Alfaro; HERNÁNDEZ, Miguel Ángel Cardona. Tiña por *Trichophyton tonsurans* en diversas topografías. Revisión de la literatura. **Revista del Centro Dermatológico Pascua**, México, v.20, n.2, p. 46-53, ago. 2011.

DIAS, Maria Fernanda Reis Gavazzoni; QUARESMA-SANTOS, Maria Victória Pinto; BERNARDES-FILHO, Fred; AMORIM, Adriana Gutstein da Fonseca; SCHECHTMAN, Regina Casz; AZULAY, David Rubem Azulay. Update on therapy for superficial mycoses: review article part I. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, Rio de Janeiro, v.88, n.5, p. 764-774, oct. 2013 a.

DIAS, Maria Fernanda Reis Gavazzoni; BERNARDES-FILHO, Fred; QUARESMA-SANTOS, Maria Victória Pinto; AMORIM, Adriana Gutstein da Fonseca; SCHECHTMAN, Regina Casz; AZULAY, David Rubem. Treatment of superficial mycoses: review - part II. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, Rio de Janeiro, v. 88, n. 6, p. 937-944, dec. 2013 b.

ELEWSKI, Boni Elizabeth. Tinea capitis: A current perspective. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v.42, n.1, p.1-20, Jan. 2000.

ELY, John W.; ROSENFELD, Sandra; STONE, Mary Seabury. Diagnosis and Management of Tinea Infections. **American Family Physician**, Iowa, v.90, n.10, p. 702-711, nov. 2014.

EL-GOHARY, Morsy; VAN ZUUREN, Esther J. ; FEDOROWICZ, Zbys; BURGESS, Hana; DONEY, Liz; STUART, Beth; MOORE, Michael; LITTLE, Paul. Topical antifungal treatments for tinea cruris and tinea corporis. **The Cochrane Database of Systematic Reviews**, United Kingdom, n. 8, aug. 2013.

ELMEGEED, Al Shima M. Abd.; OUF, Salama A.; MOUSSA, Tarek A. A.; ELTAHLAWI, S. M. R. Dermatophytes and other associated fungi in patients attending to some hospitals in Egypt. **Brazilian Journal of Microbiology**, Giza, v46, n.3, p. 799-805, nov. 2014.

FERREIRA, André P.; SILVA, João L. Derrera da.; DUARTE, M. Tereza; PIEDADE, M. Fátima Minas; ROBALO, M. Paula; HARJIVAN, Shrika G.; MARZANO, Cristina; GALDIN, Valentina; MARQUES, M. Metilde. Synthesis and Characterization of New Organometallic Benzo[b]thiophene Derivatives with Potential Antitumor Properties. **Organometallics**, Lisboa, v. 28, n. 8, p. 5412-5423, september, 2009.

FERNÁNDEZ-TORREZ Belkys; CABAÑES, Francisco J.; CARRILLO-MUÑOZ, Alfonso Javier; ESTEBAN, Alexandre; INZA, Isabel; ABARCA, Lourdes; GUARRO, Josep. Collaborative Evaluation of Optimal Antifungal Susceptibility Testing Conditions for Dermatophytes. **Journal of Clinical Microbiology**, Barcelona, v. 40, n. 11, p. 3999-4003, november, 2002.

GHANNOUM, MAHMOUD; RICE, LOUIS B. Antifungal Agents: Mode of Action, Mechanisms of Resistance, and Correlation of These Mechanisms with Bacterial Resistance, **Clin Microbiol Rev**, Cleveland, v. 12, n. 4, p. 501-517, oct, 1999.

GHANNOUM, Mahmoud; MUKHERJEE, Prasun Kumar; WARSHAW, Erin M.; SCOTT, Evans; KORMAN, Neil J.; TAVAKKOL, Ayatollah. Molecular analysis of dermatophytes suggests spread of infection among household members. **Cutaneous Medicine for the Practitioner**, Cutis, v.91, n. 5, p. 237–245, maio. 2013.

GIOSEFFI, María Laura; CALVANO, Roberta; GIACHETTI, Ana; SOJO, Magdalena. Descripción del caso presentado en el número anterior: Tinea facie. **Archivos Argentinos de Pediatría**, Buenos Aires, v.111, n.1, p. 74-76, fev. 2013.

GRÄSER, Y.; KUIJPERS, A.F; PRESBER, W.; DE HOOG, G.S. Molecular Taxonomy of Trichophyton Mentagrophytes and T. Tonsurans. **Medical mycology**, Germany, v. 35, n. 5, p. 315-330, oct. 1999.

GREEN III, Frederick; LEE, Kenneth W.; BALISH, Edward. Chronic T. mentagrophytes Dermatophytosis of Guinea Pig Skin Grafts on Nude Mice. **The Journal of Investigative Dermatology**, U.S.A, v. 70, n. 2, p. 125-129, january 1982.

GREEN III, Frederick; BALISH, Edward. *Trichophyton mentagrophytes* Dermatophytosis in Germfree Guinea Pigs. **The Journal of Investigative Dermatology**, U.S, v. 75, n. 6, p. 476-480, march 1990.

GUPTA, Ajay Kumar; CARNEY, Paul Scott; Jegsothy S. M; TURNER, J. E. WERSCHLE, Willian P. EPSTEIN B. Onychomycosis: managment and treatment. **Cutis**. New Jersey, V. 74, n. 1, p. 16-25. 2004.

GÜRTLER, Thaiz Gava Rigoni; DINIZ, Lucia Martins; NICCHIO, Larissa Nicchio. Microepidemia de tinha do couro cabeludo por *Microsporum canis* em creche de Vitória - Espírito Santo (Brasil). **Anais Brasileiros de Dermatologia**, Vitória, v.80, n.3, p 267-272, jul. 2005.

HAINER B.L. Dermatophyte Infections. **Am Fam Physician**, South Carolina, v. 1, n. 67, p. 101-108, jan, 2003.

HERBRECHT R. Voriconazole: therapeutic review of a new azole antifungal. **Expert Review of Anti-infective Therapy**, France, v. 2, n. 4, p. 485-497, aug. 2004.

ILKIT, Macit; DURDU, Murat. Tinea pedis: The etiology and global epidemiology of a common fungal infection. **Critical Reviews in Microbiology**, v.41, n.3, p. 374-388, fev. 2014.

KOLE, Laurean; ELEWSKI, Boni. **Acneiform Eruptions in Dermatology: a Differential Diagnosis**. 1ª Edição. Local: New York. 2013. 67-70 p.

LACAZ, Carlos as Silva; PORTO, Edward; MARTINS, José Eduardo Costa; HEINS-VACCARI, Elisabeth Maria; MELO, Natalina Takahashi. **Tratado de Micologia Médica Lacaz**. 2ª edição. São Paulo: Sarvier, 2002.

LEE, Kyung Jin; LEE, Young Bok; LEE, Jun Young; CHO, Baik Kee; CHOI, Jong Soo; PARK, Hyun Jeong. Proximal Subungual Onychomycosis in a Patient with Classic Kaposi Sarcoma Caused by *Trichophyton rubrum*. **Annals of Dermatology**, Deagu, v.23, n.1, p. 11-15, ago. 2011.

LEE, Weon Ju; SIM, Hyun Bo; JANG, Yong Hyun; LEE, Seok-Jong; KIM, Do Won; JUN, Jae Bok; BANG, Yong Jun. Skin Infection due to *Trichophyton tonsurans* Still Occurs in People in Korea but not as Outbreaks. **Journal of Korean Medical Science**, Daegu, v.31, n.2, p. 296-300, out. 2016.

LIU D.; COLOE, S.; BAIRD, R.; PEDERSEN, J. Molecular determination of dermatophyte fungi using the arbitrarily primed polymerase chain reaction. **British Journal of Dermatology**, Australia, v. 137, n. 3, p. 351-355, sep. 1997.

LUPETTI, Antonella; DANESI, Romano; CAMPA, Mario; TACCA, Del Mario; KELLY, Steven. Molecular basis of resistance to azole antifungals. **Tends in Molecular Medicine**, Italy, v. 8, n. 2, p. 76-81, february, 2002.

MACHOUART-DUBACH, Marie; LACROIX, Claire; CHAUVIN, Martine Feuilhade de; GALL, Isabelle Le; GUIDICELLI, Catherine; LORENZOL, Frédéric; DEROUIN, Francis Derouin. Rapid Discrimination among Dermatophytes, *Scytalidium* spp., and Other Fungi with a PCR-Restriction Fragment Length Polymorphism Ribotyping Method. **Journal of Clinical Microbiology**, Paris, v. 39, n. 2, p. 685-690, february, 2001.

MAERTENS, Johan A. History of the development of azole derivatives. **Clinical Microbiology and Infection**, Belgium, v. 10, n. 1, p. 1-10, mar. 2004.

MALHOTRA, Sita; MALHOTRA, Suresh Kumar; AGGARWAL, Yukti. Tinea faciei caused by trichophyton mentagrophytes in a 20-day-old neonate. **Indian Dermatology Online Journal**, Punjab, v.6, n.1, p. 43-46, dez. 2015.

MARTINEZ-ROSSI, N.M.; Peres, N.T.A.; Rossi, A. Antifungal resistance mechanisms in dermatophytes. **Mycopathologia**, São Paulo, v. 166, n. 5, p. 369-383, nov-dec. 2008.

MCAULEY, W. J.; JONES, S, A.; TRAYNOR, M. J.; GUESNÉ, S.; MURDAN, S.; BROWN, M. B. An investigation of how fungal infection influences drug penetration through onychomycosis patient's nail plates. **Biopharmaceutics**, UK, v.102, n.16, p. 178-184, mar. 2016.

MCKAY, Geoffrey; REDDY, Ranga; ARHIN, Francis; BELLEY, Adam; LEHOUX, Dario; MOECK, Greg; SARMIENTO, Ingrid; PARR, Thomas R.; GROS, Phipippe; PELLETIER, Jerry; FAR, Adel Rafai. Triaminotriazine DNA helicase inhibitors with antibacterial activity. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, Canada, v. 16, n.5, p. 1286-1290, march, 2006.

M.D Barry L. Hainer. Dermatophyte Infections. **American Family Physician**, Charleston, v. 67, n.1, p. 101-108, jan. 2003.

MEDSCAP News & Perspective. **Tinea Faciei Clinical Presentation**. Disponível em: www.emedicine.medscape.com/article/1118316-clinical#b1 Acesso em: 15 mar. 2016.

MEINERZ, Ana Raquel Mano; CLEFF, Marlete Brum; NASCENTE, Patrícia da Silva; NOBRE, Márcia de Oliveira; SCHUCH, Luiz Filipe Damé; ANTUNES, Tatiana de Ávila; XAVIER, Melissa O.; MEIRELES, Mário Carlos Araújo; MELLO, João Roberto de Braga. Efeitos de doses elevadas da terbinafina e itraconazol em ratos Wistar. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, São Paulo, v. 43, n. 1, p. 105-109, Jan/Mar. 2007.

MELLADO, Emilia; CUENCA-ESTRELLA, Manuel; RODRIGUEZ-TUDELA, Juan Luis. Importancia clínica de los mecanismos de resistencia de los hongos filamentosos a los antifúngicos. **Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica**, Espanha, v. 20, n. 10, p. 523-530, dec. 2002.

MENDONÇA JUNIOR, Francisco Jaime Bezerra; LIMA-NETO, Reginaldo Gonçalves, oliveira, Tiago B. de; lima, Maria do C.A. de; PITTA, Ivan R.; GALDINO, Suely L.; CRUZ, Rayssa M.D. da; ARAÚJO, Rodrigo S.A. de; NEVES, Rejane Pereira. Synthesis and Evaluation of the Antifungal Activity of 2-(Substituted-Amino)-4,5- Dialkyl-Thiophene-3-Carbonitrile Derivatives. **Latin American Journal of Pharmacy**, João Pessoa, v. 30, n. 8, p. 1492-1499, june, 2011.

MIMS; PLAYFAIR; ROITT; WAKELIN; WILLIAMS. **Microbiologia Médica**. 1º Edição. São Paulo: Ed Manole LTDA, 1996. 14-28 p.

MIRALOGLU, Meral; KURUTAS, Ergul Belge; OZTURK, Perihan; ARICAN, Ozer. Evaluation of local trace element status and 8-Iso-prostaglandin F_{2α} concentrations in patients with Tinea pedis. **Biological Procedures Online**, Adana, v.18, n.1, p. 2-6, jan. 2016.

MISHRA, Nagendra; PRASAD, Tulika; SHARMA, Neeraj; PAYASI, Anurag; PRASAD, Rejandra; GUPTA, Dwijendra; SINGH, Randhir. Pathogenicity and drug resistance in *Candida albicans* and other yeast species. **Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica**, India, v. 53, n. 3, p. 201-233, august, 2007.

MISHRA, Raghav; JHAM K.K.; KUMAR, Sachin; TOMER, Isha. Synthesis, properties and biological activity of thiophene: A review. **Der Pharma Chemica**, United States of America, v. 3, n. 4, p. 38-54, 2011.

MORIARTY, Blaitin; HAY, Roderick; MORRIS-JONES, Rachael. The diagnosis and management of tinea. **British Medical Journal**, London, v.43, n.80, p. 345, jul. 2012.

MUKHERJEE, Prasum Kumar; 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**, United States of America v. 47, n. 1, p. 82-86, jan. 2003.

MUÑOZ-CARRILLO, Alfonso Javier; TUR-TUR, Cristina; HERNÁNDEZ-MOLINA, Juan Manuel; SANTOS, Patricia; CÁRDENES, Dalia; GUISIANO, Gustavo. Antifúngicos disponibles para el tratamiento de las micosis ungueales. **Revista Iberoamericana de Micología**, Barcelona, v. 27, n. 2, p. 49-56, JUNIO, 2010.

NASERI, Ali; FATA, Abdolmajid; NAJAFZADEH, Mohammad Javad; SHOKRI, Hojjatollah. Surveillance of dermatophytosis in northeast of Iran (Mashhad) and review of published studies. **Mycopathologia**, v.176, n.3, p. 247-253, ago. 2013.

NIKOLAKOPOULOS, George; FIGLER, Heide; LINDEN, Joel; SCAMMELLS, Peter J. 2-Aminothiophene-3-carboxylates and carboxamides as adenosine A₁ receptor allosteric enhancers. **Bioorganic & medicinal chemistry**, Australia, v. 14, n. 7, p. 2358-2365, april, 2006.

ODDS, F. C. Sabouraud('s) agar. **Journal of Medical and Veterinary Mycology**, New York, v. 29, n. 6, p. 355–359. 1991.

ODDS, Frank C. Antifungal Agents: their diversity and increasing sophistication. **Micologist**, Aberdeen, v. 17, n. 2, p. 51-55, may. 2003 a.

ODDS, Frank C.; BROWN, Alistair J. P.; GOW, Neil. A. R. Antifungal Agents: Mechanisms of Action. **Trends Microbiol.**, Aberdeen, v. 11, n. 6, p. 272-279, June, 2003 b.

ODDS, Frank C.; AUSMA, J.; GERVEN, F. Van; WOSTENBORGHES, F.; MEERPOEL, L.; HEERES, J.; BOSSCHE H. Vanden; BORGES, M. *In vitro* and *In Vivo* Activities of the Novel azoles Antifungal Agent R126638. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, Belgium, v. 48, n. 2, p. 388-391, october, 2004.

PARDHYE, Arvind A.; WEITZMAN, I. The Dermatophytosis. **Microbiology and Microbial infection-Medical Mycology**, London, v. 4, p. 215-236. 1999.

PALÁCIO, Amalia Del; GARAU, Margarita; CUÉTARA, Maria-Soledad. Tratamiento actual de las dermatofitosis. **Revista Iberoam Micologia**, Madri, v. 19, p. 68-71, octubre, 2002.

PERES, Nalu Teixeira de Aguiar; MARANHÃO, Fernanda Cristina Albuquerque; ROSSI, Antonio; MARTINEZ-ROSSI, Nilce Maria. Dermatophytes: host-pathogen interaction and antifungal resistance. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, Rio de Janeiro, v.85, n.5, p.657-667, october, 2010.

PINTO, Eugénia; QUEIROZ, Maria-João R. P.; VALE-SILVA, Luís A.; OLIVEIRA, João F.; BEGOUIN, Agathe; BEGOUIN, Jeanne- Marie; KIRSCH, Gilbert. Antifungal activity of synthetic di(hetero)arylamines based on the benzo[*b*]thiophenemioiety. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, Portuga, v. 16, n. 17, p. 8172-8177, september,2008.

PIRES, Carla Andréa Avelar; LOBATO, Amanda Monteiro; CARNEIRO, Francisca Regina Oliveira; CRUZ, Natasha Ferreira Santos da; SOUSA, Priscila Oliveira de; MENDES, Alena Margareth Darwich. Clinical, Epidemiological, and Therapeutic Profile of Dermatophytosis*. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, Belém, v.89, n.2, p.259-264, abr. 2014.

PRASAD, Rajendra; KAPOOR, Khyati. Multidrug Resistance in Yeast *Candida*. **International Review of Cytology**, India, v. 242, p. 215-248, decembre, 2004.

Prof. Cláudio Yudi, postado em 5 de Agosto de 2013, <http://histologiavet.blogspot.com.br/>, consultado dia 26/11/2016.

PUTEROVÁ, Zita; KRUTOSIKOVÁ, Alzbeta; VÉGH, Daniel. Applications Substituted 2-Aminothiophenes In Drug Design. **Nova Biotechnologica**, Slovak Republic, v. 9, n. 2, p. 167-173, 2009.

QADIM, Hamideh Herizchi; GOLFOROUSHAN, Farideh; AZIMI, Hamideh; GOLDUST, Mohamad. Factors leading to dermatophytosis. **Annals of Parasitology**, Tabriz, v. 59, n. 2, p. 99-102, maio. 2013.

RAM, Vishnu J.; GOEL, Atul; SHUKLA, P. K.; KAPIL, A. synthesis of thiophenes and thieno[3,2-c]pyran-4-ones as antileishmanial and antifungal agents. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, India, v. 7, n. 24, p. 3101-3106, december, 1997.

REX, John H.; PFALLER, Micheal A.; WALSH, Thomas J.; CHATURVEDI, Vishnu; ESPINEL-INGROFF, Ana; GHANNOUM, Mahmoud A.; GOSEY, Linda L.; ODDS, Frank C.; RINALDI, Michael G.; SHEEHAN, Daniel J.; WARNOCK, David, W. Antifungal Susceptibility Testing: Practical Aspects and Current Challenges. **Clinical Microbiology Reviews**, Houston, v. 14, n. 4. p. 643-658, oct. 2001.

RODRIGUES, Sarina. M.; SCHAFE, Glenn. E.; LEDOUX, Joseph E. Molecular mechanisms underlying emotional learning and memory in the lateral amygdala. **Neuron**, New York, v. 44, n. 1, p. 75-91, september, 2004.

ROSSANA SETTE. Onicomicose - formas clínicas. Disponível em: <http://www.micologia.com.br/onicomicose.shtml> Acesso em: 22. Mar. 2016.

RUBIO, M^a Carmen; REZUSTA, Antonio; TOMÁS, Joaquina Gil; RUESCA, Rafael Benito. Perspectiva Micológica de los Dermatofitos en el ser Humano. **Revista Iberoamericana de Micología**, Zaragoza, v.16, p. 16-22. 1999.

RUIZ, Ligia Rangel B.; CHIACCHIO, Nilton Di. Manual de Conduta nas Onicomicoses: Diagnóstico e Tratamento. São Paulo, p. 191-201. Maio, 2005.

SABADIN, Clarice Saggin; BENVENÚ, Sérgio Augusto; FONTOURA, Mara Mary Carvalho da; SAGGIN, Ligia Maria Fernandes; TOMIMORI, Jane; FISCHMAN, Olga. Onychomycosis and Tinea Pedis in Athletes from the State of Rio Grande Do Sul (Brazil): A Cross-Sectional Study. **Mycopathologia**, Rio Grande do Sul, v.171, n.3, p. 183-189. set. 2011.

SAHOO, Alok Kumar; MAHAJAN, Rahul. Management of tinea corporis, tinea cruris, and tinea pedis: A comprehensive review. **Indian Dermatology Online Journal**, New Delhi, v.7, n.2, p. 77-86, abr. 2016.

SÁNCHEZ-CAROZZO, José Luis; LOSADA, L. Obón; SANJUAN, V. Pont. Tratamiento actual de las micosis superficiales. *Revista Iberoamericana de Micología, España*, v. 16, p. 26-30, 1999.

SANGLARD, Dominique. Clinical Relevance Of Mechanisms Of Antifungal Drug Resistance In Yeasts. **Emfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica**, Switzerland, v. 20, n. 9, p. 262-270, July, 2002.

SANTOS, Jairo I. dos; COELHO, Moema P. P; NAPPI, Berenice P. Diagnóstico laboratorial das dermatofitoses. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, Florianópolis, v. 34, n.1, p. 3-6, fev. 2002.

SAUNTE, D.M.; HASSELBY, J. P.; BRILLOWSKA-DABROWSKA, A.; FRIMODT-MOLLER, N.; SVEJGAARD, E. L.; LINNEMANN, D.; NIELSEN, S.S.; HADERSDAL, M.; ARENDRUP, C. Experimental guinea pig model of dermatophytosis: a simple and useful tool for the evaluation of new diagnostics and antifungals. **Medical Mycology**, Denmark, v. 46, n. 4, p. 303-313, January, 2008.

SCHALKA, Sergio; NUNES, Samanta; NETO, Antonio Gomes. Comparative clinical evaluation of efficacy and safety of a formulation containing ciclopirox 8% in the form of a therapeutic nail lacquer in two different posologies for the treatment of onychomycosis of the toes. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, Rio de Janeiro, v.87, n.1, p. 19-25, fev. 2012.

SCHECHTMAN Regina Casz; QUARESMA, Maria Victória; BUÇARD, Alice Mota; SILVA, Nanashara Diane Valgas; FILHO, Fred Bernardes; SODRÉ, Celso Tavares. Dermatoscopic findings as a complementary tool in the differential diagnosis of the etiological agent of tinea capitis*. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, Rio de Janeiro, v.90, n.3, p.5-13, Jun. 2015.

SCHLOSSBERG David. **Clinical Infectious Disease**. Second Edition. Philadelphia: Cambridge University press, 2015. 173 p.

SCOTTI, Luciana; SCOTTI, Marcus Tullius; LIMA, Edeltrudes de Oliveira; SILVA, Marcelo Sobral da; LIMA, Maria do Carmo Alves de; PITTA, Ivan da Rocha; MOURA, Ricardo Olímpio de; OLIVEIRA, Jaismary Gonzaga Batista de; CRUZ, Rayssa Marques Duarte da; JUNIOR, Francisco Jaime Bezerra Mendonça. Experimental Methodologies and Evaluations of Computer-Aided Drug Design Methodologies Applied to a Series of 2-Aminothiophene Derivatives with Antifungal Activities. **Molecules**, João Pessoa, v. 17, n. 3, p. 2298-2315, February, 2012.

SHEEHAN, Daniel J.; HITCHCOCK, Christopher A.; SIBLEY, Carol M. Current and Emerging Azole Antifungal Agents. **Clinical Microbiology Reviews**, New Jersey, v. 12, n. 1, p. 40-79, Jan. 1999.

SHIRAKI, Y; SODA, N; HIROSE, N; HIRUMA, M. Screening Examination and Management of Dermatophytosis by *Trichophyton tonsurans* in the Judo Club of a University. **Japanese Journal of Medical Micology**, Tokio, v.45, n.1, p. 7-12, 2004.

SIDRIM, José Julho Costa; ROCHA, Marcos Fabio Gadelha. **Micologia Médica à Luz de Autores Contemporâneos**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004.

SOMBATMAITHAI, Alita; PATTANAPRICHAUL, Penvadee; TUCHINDA, Papapit; SURAWAN, Theetat; MUANPRASART, Chanai; MATHAPAN, Lalita; BUNYARATAVEI, Sumanas. Tinea Capitis Caused by *Trichophyton Tonsurans* Presenting as an Obscure Patchy Hair Loss Due to Daily Antifungal Shampoo Use. **Dermatology Pratical & Conceptual**, Thailand, v. 5, n. 2, p. 133-135, apr. 2015.

SORTINO, M. CECHINEL, FILHO V.; CORRÊA, R.; ZACCHINO, S. N-Phenyl and N-Phenylalkyl-Maleimides Acting Against *Candida* spp.: Time-To-Kill, Stability, Interaction with Maleamic Acids. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, Argentina, v. 16, n. 1, p. 560-569, jan, 2008.

SOUZA, Beatriz; OLIVEIRA, Tiago de; AQUINO, Thiago; LIMA, Maria de; PITTA, Ivan; GALDINO, Suely; LIMA, Edeltrudes; GONÇALVES-SILVA, Teresinha; MILITÃO, Gardênia; SCOTTI, Luciana; SCOTTI, Marcus; MENDONÇA, Francisco. Preliminary antifungal and cytotoxic evaluation of synthetic cycloalkyl[b]thiophene derivatives with PLS-DA analysis. **Acta Pharmaceutica**, Recife, v. 62, n. 2, p. 221-236, june,2012.

SOUZA, Linton Wallis Figueiredo; SOUZA, Simone Vilas Trancoso; BOTELHO, Ana Cristina de Carvalho. Endonyx toenail onychomycosis caused by *Trichophyton rubrum*: treatment with photodynamic therapy based on methylene blue dye. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, Rio de Janeiro, v.88, n.6, p. 1019-1021, dec. 2013.

TACHIBANA, Dora K. Microbiology of the Foot. **Annual Review of Microbiology**, San Francisco, v.30, p. 351-375, out. 1976.

THOMSON, M. Pamela; ANTICEVIC, C. Sonia; RODRIGUEZ, B. Héctor; SILVA, V. Víctor. Actividad Antifúngica Y Perfil De Seguridad Del Producto Natural Derivado Del Aceite De Maravilla Ozonizado (Amo_3) En Dermatofitos*. **Revista Chilena De Infectología**, Santiago, v. 28 n. 6, p. 512-519, agosto, 2011.

TURIM; RIVA; GALBIATI; CAINELLI. Fast, simple and highly sensitive double-rounded polymerase chain reaction assay to detect medically relevant fungi in dermatological specimens. **European Journal of Clinical Investigation**, Italy, v. 30, n. 6, p. 511-518, june, 2000.

URANO, S; SHIRAI, S; SUZUKI, Y; SUGAYA, K; TAKIGAWA, M; MOCHIZUKI, T. A case of Tinea capitis caused by *Trichophyton tonsurans*. **Japanese Journal of Medical Micology**, Shizuoka, v. 44, n.1, p. 25-29, 2003.

VALLARELLI, Andrelou Fralete Ayres. Goya and tinea favosa*. **Anais Brasileiros Dermatologia**, Campinas, n. 89, n. 6, p. 992-994, jan. 2014.

VENTURINI, James; ALVARES, Anuska Marcelino; CAMARGO, Marcela Rodrigues de; MARCHETTI, Camila Martins; FRAGA-SILVA, Thais Fernanda de Campos; LUCHINI, Ana Carolina; ARRUDA, Maria Sueli Parreira de. Dermatophyte-host relationship of a murine model of experimental invasive dermatophytosis. **Microbes and Infection**, Uberaba, v. 14, p. 1144-1151, jul. 2012.

WEBMD. Athlete's foot: toe web (interdigital) type. Disponível em: <http://www.webmd.com/fitness-exercise/athletes-foot-toe-web-interdigital-type>. Acesso em: 21 mar. 2016.

WEINSTEIN, Andrew; BERMAN, Brian. Topical treatment of common superficial tinea infections. **American Family Physician**, Miami, v.65, n.10, p. 2095-2103, maio. 2002.

WEITZMAN, Irene. Incompatibility in the *Microsporium gypseum* complex. **Rev. Mycologia**, v.56, n.3, p. 425-435, jun. 1964.

WHITE, Theodore C.; FINDLEY, Keisha; DAWSON JR, Thomas L.; SCHEYNIUS, Annika; BOEKHOUT, Teun; CUOMO, Christina A.; XU, Ju; SUANDERS, Charles W. Fungi on the Skin: Dermatophytes and Malassezia. **Could Spring Harbor Perspectives in Medicine**, Kansas city, v. 4, p. 1-17, fev. 2014.

WOODGYER, A. The Curious Adventures Of Trichophyton Equinum In The Realm Of Molecular Biology: A Modern Fairy Tale. **Medical Mycology**, Victoria, v. 42, n. 5, p. 397-403, oct, 2004.

ZAMPIERI, D; MAMOLO, M. G.; LAURINI, E.; SCIALINO, G.; BANFI, E.; VIOL, L. Antifungal and Antimycobacterial Activity of 1-(3,5-Diaryl-4,5-Dihydro-1H-Pyrazol-4-Yl)-1H-Imidazole Derivatives. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, Italy, v. 16, n. 8, p. 4516-4522, 2008.

APÊNDICE A – TERMO DE ASSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO
(PARA MENORES DE 12 a 18 ANOS - Resolução 466/12)

Convidamos o (a) Sr. (a) para participar como voluntário (a) da pesquisa (avaliação *in vitro* e *in vivo* do potencial antimicótico de derivados do anel aromático de tiofeno frente à dermatófitos). Esta pesquisa é de responsabilidade da pesquisadora Ertênia Paiva Oliveira, Av. Prof. Moraes Rego, s/n Cidade Universitária – Recife/PE – 50.670.901, Recife-PE- Telefone (81- 998913505), e-mail: oliveiraertenia@gmail.com, inclusive ligações a cobrar e está sob a orientação do: Prof. Reginaldo Gonçalves de Lima Neto- Telefone para contato: (81 2126 8525), e-mail: goncalves_reginaldo@hotmail.com .Participa também desta pesquisa o pesquisador: Prof. Francisco Jaime Bezerra Mendonça Junior, Telefone para contato: (81 2126 8235)

Caso este Termo de Consentimento contenha informação que não lhe seja compreensíveis, as dúvidas podem ser tiradas com a pessoa que está lhe entrevistando e apenas ao final, quando todos os esclarecimentos forem dados e concorde com a realização do estudo pedimos que rubrique as folhas e assine ao final deste documento, que está em duas vias, uma via lhe será entregue para que seus pais ou responsável possam guarda-la e a outra ficará com o pesquisador responsável.

Você será esclarecido (a) sobre qualquer dúvida e estará livre para decidir participar ou recusar-se. Caso não aceite participar, não haverá nenhum problema, desistir é um direito seu. Para participar deste estudo, o responsável por você deverá autorizar e assinar um Termo de Consentimento, podendo retirar esse consentimento ou interromper a sua participação a qualquer momento, sem nenhum prejuízo.

INFORMAÇÕES SOBRE A PESQUISA:

- Descrição da pesquisa: Esta pesquisa tem como objetivo avaliar antifúngicos contra fungos causadores de dermatofitoses (tipo de micose), em pacientes atendidos no serviço de dermatologia HC/UFPE possibilitando o diagnóstico e promovendo posteriormente uma alternativa terapêutica contra dermatófitos (fungos que causam amicose).
- Esclarecimento do período de participação do voluntário na pesquisa: A coleta de dados só se iniciará após aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa do CCS/UFPE. Haverá a coleta de material biológico, onde será realizado escarificações no local que apresentar lesões sugestivas de dermatofitoses, para posteriormente ser realizado o diagnóstico micológico laboratorial. As coletas serão realizadas conforme a solicitação médica.

- **RISCOS diretos** para o voluntário: Risco de desconforto e constrangimento no momento da coleta, entretanto serão utilizados para o desenvolvimento da referida pesquisa apenas amostras biológicas tais como escamas epidérmicas, ungueais e pelos, que terão solicitação médica para diagnóstico micológico, independente de execução do projeto.

Possível perda de algum material biológico, entretanto o pesquisador se compromete com a manipulação do material de forma adequada e segura. Possível quebra de sigilo ou extravio de algum dado do paciente. Como forma de minimizar esses riscos, o pesquisador se compromete com a manipulação adequada e a confidencialidade dos dados coletados conforme declaração anexada na plataforma Brasil.

- **BENEFÍCIOS diretos e indiretos** para os voluntários.

A garantia de receber todos os esclarecimentos sobre “o instrumento de coleta de dados (aplicação de questionário, entrevista, formulário)” antes e durante o transcurso da pesquisa, podendo afastar-se em qualquer momento se assim o desejar, estando assegurado o absoluto sigilo das informações obtidas; b- A segurança plena de que não será identificado mantendo o caráter oficial da informação, assim como, o paciente está assegurada que a pesquisa não acarretará nenhum prejuízo individual ou coletivo; c- A segurança de que não terá nenhum tipo de despesa material ou financeira durante o desenvolvimento da pesquisa, bem como, esta pesquisa não causará danos físico ou mesmo constrangimento moral e ético ao entrevistado; d- A garantia de que toda e qualquer responsabilidade nas diferentes fases da pesquisa é dos pesquisadores, bem como, fica assegurado, poderá haver divulgação dos resultados finais em órgãos de divulgação científica em que a mesma seja aceita; e- A garantia de que todo o material resultante será utilizado exclusivamente para a construção da pesquisa e ficará sob a guarda dos pesquisadores, podendo ser requisitado pelo entrevistado em qualquer momento. Acrescentamos que os sujeitos envolvidos na pesquisa serão diretamente beneficiados com o diagnóstico de seu possível processo infeccioso, direcionando um tratamento rápido e eficaz.

As informações desta pesquisa serão confidenciais e serão divulgadas apenas em eventos ou publicações científicas, não havendo identificação dos voluntários, a não ser entre os responsáveis pelo estudo, sendo assegurado o sigilo sobre a sua participação. Os dados coletados nesta pesquisa (idade, sexo, doença de base, uso de medicamentos, etc), ficarão armazenados em (pastas de arquivo no computador pessoal do pesquisador responsável), sob a responsabilidade do (Ertênia Paiva Oliveira), no endereço (acima informado), pelo período de mínimo 5 anos.

O (a) senhor (a) não pagará nada para participar desta pesquisa. Se houver necessidade, as despesas para a sua participação serão assumidos pelos pesquisadores

(ressarcimento de transporte e alimentação). Fica também garantida indenização em casos de danos, comprovadamente decorrentes da participação na pesquisa, conforme decisão judicial ou extra-judicial.

Em caso de dúvidas relacionadas aos aspectos éticos deste estudo, você poderá consultar o Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos da UFPE no endereço: **(Avenida da Engenharia s/n – 1º Andar, sala 4 - Cidade Universitária, Recife-PE, CEP: 50740-600, Tel.: (81) 2126.8588 – e-mail: cepccs@ufpe.br).**

Assinatura do pesquisador (a)

ASSENTIMENTO DO(DA) MENOR DE IDADE EM PARTICIPAR COMO VOLUNTÁRIO(A)

Eu, _____, portador (a) do documento de Identidade _____ (se já tiver documento), abaixo assinado, concordo em participar do estudo “avaliação *in vitro* e *in vivo* do potencial antimicótico de derivados do anel aromático de tiofeno frente à dermatófitos” como voluntário (a). Fui informado (a) e esclarecido (a) pelo (a) pesquisador (a) sobre a pesquisa, o que vai ser feito, assim como os possíveis riscos e benefícios que podem acontecer com a minha participação. Foi-me garantido que posso desistir de participar a qualquer momento, sem que eu ou meus pais precise pagar nada.

Local e data _____

Assinatura do (da) menor : _____

Presenciamos a solicitação de assentimento, esclarecimentos sobre a pesquisa e aceite do/a voluntário/a em participar. 02 testemunhas (não ligadas à equipe de pesquisadores):

Nome:	Nome:
Assinatura:	Assinatura:

**APÊNDICE B- TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO
(PARA ADULTOS IMPOSSIBILITADOS DE ASSINAR O TCLE - Resolução
466/12)**

Convidamos o (a) Sr.(a) para participar, como voluntário (a), da pesquisa (avaliação *in vitro* e *in vivo* do potencial antimicótico de derivados do anel aromático de tiofeno frente à dermatófitos), que está sob a responsabilidade do (a) pesquisador (a) (Ertênia Paiva Oliveira, Av. Prof. Moraes Rego, s/n Cidade Universitária – Recife/PE – 50.670.901, Recife-PE- Telefone (81 998913595), e-mail: oliveiraertenia@gmail.com , inclusive ligações a cobrar e está sob a orientação de: Reginaldo Gonçalves de Lima Neto Telefone para contato: (81 2126 8525), e-mail goncalves_reginaldo@hotmail.com .Participa também desta pesquisa o pesquisador: Francisco Jaime B. M. Junior, Telefone para contato: (81 21268235).

Caso este Termo de Consentimento contenha informações que não lhe sejam compreensível, as dúvidas podem ser tiradas com a pessoa que está lhe entrevistando e apenas ao final, quando todos os esclarecimentos forem dados e concorde com a realização do estudo pedimos que rubriche as folhas e assine ao final deste documento, que está em duas vias, uma via lhe será entregue para que possa guarda-la e a outra ficará com o pesquisador responsável. O (a) Sr.(a) não terá nenhuma despesa e nem receberá qualquer pagamento para participar como voluntário(a).

O (a) Sr.(a) será esclarecido (a) sobre qualquer dúvida e estará livre para decidir participar ou recusar-se. Caso não aceite participar, não haverá nenhum problema, desistir é um direito seu. Para participar deste estudo, a pessoa autorizada por você deverá assinar pelo (a) Sr.(a) este Termo de Consentimento, podendo, também, retirar esse consentimento ou interromper a sua participação a qualquer momento, sem nenhum prejuízo.

INFORMAÇÕES SOBRE A PESQUISA:

- Descrição da pesquisa: Esta pesquisa tem como objetivo avaliar antifúngicos contra fungos causadores de dermatofitoses (tipo de micose), em pacientes atendidos no serviço de dermatologia HC/UFPE possibilitando o diagnóstico e promovendo posteriormente uma alternativa terapêutica contra dermatófitos (fungos que causam amicose).
- Esclarecimento do período de participação do voluntário na pesquisa: A coleta de dados só se iniciará após aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa do CCS/UFPE. Haverá a coleta de material biológico, onde será realizado escarificações no local que apresentar lesões sugestivas de dermatofitoses, para posteriormente ser realizado o diagnóstico micológico laboratorial. As coletas serão realizadas conforme a solicitação médica.
- **RISCOS diretos** para o voluntário: Risco de desconforto e constrangimento no momento da coleta, entretanto serão utilizados para o desenvolvimento da referida pesquisa apenas amostras biológicas tais como escamas epidérmicas, ungueais e pelos, que terão solicitação médica para diagnóstico micológico, independente de execução do projeto.

Possível perda de algum material biológico, entretanto o pesquisador se compromete com a manipulação do material de forma adequada e segura. Possível quebra de sigilo ou extravio de algum dado do paciente. Como forma de minimizar esses riscos, o pesquisador se compromete com a manipulação adequada e a confidencialidade dos dados coletados conforme declaração anexada na plataforma brasil.

➤ **BENEFÍCIOS diretos e indiretos** para os voluntários.

A garantia de receber todos os esclarecimentos sobre “o instrumento de coleta de dados (aplicação de questionário, entrevista, formulário)” antes e durante o transcurso da pesquisa, podendo afastar-se em qualquer momento se assim o desejar, estando assegurado o absoluto sigilo das informações obtidas; b- A segurança plena de que não será identificado mantendo o caráter oficial da informação, assim como, o paciente está assegurada que a pesquisa não acarretará nenhum prejuízo individual ou coletivo; c- A segurança de que não terá nenhum tipo de despesa material ou financeira durante o desenvolvimento da pesquisa, bem como, esta pesquisa não causará dano físico ou mesmo constrangimento moral e ético ao entrevistado; d- A garantia de que toda e qualquer responsabilidade nas diferentes fases da pesquisa é dos pesquisadores, bem como, fica assegurado, poderá haver divulgação dos resultados finais em órgãos de divulgação científica em que a mesma seja aceita; e- A garantia de que todo o material resultante será utilizado exclusivamente para a construção da pesquisa e ficará sob a guarda dos pesquisadores, podendo ser requisitado pelo entrevistado em qualquer momento. Acrescentamos que os sujeitos envolvidos na pesquisa serão diretamente beneficiados com o diagnóstico de seu possível processo infeccioso, direcionando um tratamento rápido e eficaz.

As informações desta pesquisa serão confidenciais e serão divulgadas apenas em eventos ou publicações científicas, não havendo identificação dos voluntários, a não ser entre os responsáveis pelo estudo, sendo assegurado o sigilo sobre a sua participação. Os dados coletados nesta pesquisa (idade, sexo, doença de base, uso de medicamentos, etc), ficarão armazenados em (pastas de arquivo no computador pessoal do pesquisador responsável), sob a responsabilidade do (Ertênia Paiva Oliveira), no endereço (acima informado), pelo período de mínimo 5 anos.

O (a) senhor (a) não pagará nada para participar desta pesquisa. Se houver necessidade, as despesas para a sua participação serão assumidos pelos pesquisadores (ressarcimento de transporte e alimentação). Fica também garantida indenização em casos de danos, comprovadamente decorrentes da participação na pesquisa, conforme decisão judicial ou extra-judicial.

Em caso de dúvidas relacionadas aos aspectos éticos deste estudo, você poderá consultar o Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos da UFPE no endereço: **(Avenida da Engenharia s/n – 1º Andar, sala 4 - Cidade Universitária, Recife-PE, CEP: 50740-600, Tel.: (81) 2126.8588 – e-mail: cepccs@ufpe.br).**

Assinatura do pesquisador(a)

CONSENTIMENTO DA PARTICIPAÇÃO DA PESSOA COMO VOLUNTÁRIO (A)

Eu, _____, CPF _____, abaixo assinado, pelo meu representante legal, após a escuta da leitura deste documento e ter tido a oportunidade de conversar e esclarecido as minhas dúvidas com o pesquisador responsável, concordo em participar do estudo (avaliação *in vitro* e *in vivo* do potencial antimicrobiano de derivados do anel aromático de tiofeno frente à dermatófitos), como voluntário (a). Fui devidamente informado (a) e esclarecido (a) pelo(a) pesquisador (a) sobre a pesquisa, os procedimentos nela envolvidos, assim como os possíveis riscos e benefícios decorrentes de minha participação. Foi-me garantido que posso retirar o meu consentimento a qualquer momento, sem que isto leve a qualquer penalidade (ou interrupção de meu acompanhamento/assistência/tratamento).

A rogo de _____, que é (não alfabetizado/juridicamente incapaz/ deficiente visual), eu _____ assino o presente documento que autoriza a sua participação neste estudo.

Assinatura _____

Local e data:

Presenciamos a solicitação de consentimento, esclarecimentos sobre a pesquisa e o aceite do voluntário em participar. (02 testemunhas não ligadas à equipe de pesquisadores):

Nome:	Nome:
Assinatura:	Assinatura:

APÊNDICE C- TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (PARA MAIORES DE 18 ANOS OU EMANCIPADOS - Resolução 466/12)

Convidamos o (a) Sr.(a) para participar, como voluntário (a), da pesquisa (avaliação *in vitro* e *in vivo* do potencial antimicótico de derivados do anel aromático de tiofeno frente à dermatofitos), que está sob a responsabilidade do (a) pesquisador (a) (Ertênia Paiva Oliveira, Av. Prof. Moraes Rego, s/n Cidade Universitária – Recife/PE – 50.670.901, Recife-PE- Telefone (81 998913595), e-mail: oliveiraertenia@gmail.com , inclusive ligações a cobrar e está sob a orientação de: Reginaldo Gonçalves de Lima Neto Telefone para contato: (81 2126 8525), e-mail goncalves_reginaldo@hotmail.com .Participa também desta pesquisa o pesquisador: Francisco Jaime B. M. Junior, Telefone para contato: (81 21268235).

Caso este Termo de Consentimento contenha informações que não lhe sejam compreensível, as dúvidas podem ser tiradas com a pessoa que está lhe entrevistando e apenas ao final, quando todos os esclarecimentos forem dados e concorde com a realização do estudo pedimos que rubrique as folhas e assine ao final deste documento, que está em duas vias, uma via lhe será entregue para que possa guarda-la e a outra ficará com o pesquisador responsável. O (a) Sr.(a) não terá nenhuma despesa e nem receberá qualquer pagamento para participar como voluntário(a).

O (a) Sr.(a) será esclarecido (a) sobre qualquer dúvida e estará livre para decidir participar ou recusar-se. Caso não aceite participar, não haverá nenhum problema, desistir é um direito seu. Para participar deste estudo, a pessoa autorizada por você deverá assinar pelo (a) Sr.(a) este Termo de Consentimento, podendo, também, retirar esse consentimento ou interromper a sua participação a qualquer momento, sem nenhum prejuízo.

INFORMAÇÕES SOBRE A PESQUISA:

- Descrição da pesquisa: Esta pesquisa tem como objetivo avaliar antifúngicos contra fungos causadores de dermatofitoses (tipo de micose), em pacientes atendidos no serviço de dermatologia HC/UFPE possibilitando o diagnóstico e promovendo posteriormente uma alternativa terapêutica contra dermatofitos (fungos que causam amicose).
- Esclarecimento do período de participação do voluntário na pesquisa: A coleta de dados só se iniciará após aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa do CCS/UFPE. Haverá a coleta de material biológico, onde será realizado escarificações no local que apresentar lesões sugestivas de dermatofitoses, para posteriormente ser realizado o diagnóstico micológico laboratorial. As coletas serão realizadas conforme a solicitação médica.
- **RISCOS diretos** para o voluntário: Risco de desconforto e constrangimento no momento da coleta, entretanto serão utilizados para o desenvolvimento da referida pesquisa apenas amostras biológicas tais como escamas epidérmicas, ungueais e pelos, que terão solicitação médica para diagnóstico micológico, independente de execução do projeto.

Possível perda de algum material biológico, entretanto o pesquisador se compromete com a manipulação do material de forma adequada e segura. Possível quebra de sigilo ou extravio de algum dado do paciente. Como forma de minimizar esses riscos, o

pesquisador se compromete com a manipulação adequada e a confidencialidade dos dados coletados conforme declaração anexada na plataforma brasil.

➤ **BENEFÍCIOS diretos e indiretos** para os voluntários.

A garantia de receber todos os esclarecimentos sobre “o instrumento de coleta de dados (aplicação de questionário, entrevista, formulário)” antes e durante o transcurso da pesquisa, podendo afastar-se em qualquer momento se assim o desejar, estando assegurado o absoluto sigilo das informações obtidas; b- A segurança plena de que não será identificado mantendo o caráter oficial da informação, assim como, o paciente está assegurada que a pesquisa não acarretará nenhum prejuízo individual ou coletivo; c- A segurança de que não terá nenhum tipo de despesa material ou financeira durante o desenvolvimento da pesquisa, bem como, esta pesquisa não causará dano físico ou mesmo constrangimento moral e ético ao entrevistado; d- A garantia de que toda e qualquer responsabilidade nas diferentes fases da pesquisa é dos pesquisadores, bem como, fica assegurado, poderá haver divulgação dos resultados finais em órgãos de divulgação científica em que a mesma seja aceita; e- A garantia de que todo o material resultante será utilizado exclusivamente para a construção da pesquisa e ficará sob a guarda dos pesquisadores, podendo ser requisitado pelo entrevistado em qualquer momento. Acrescentamos que os sujeitos envolvidos na pesquisa serão diretamente beneficiados com o diagnóstico de seu possível processo infeccioso, direcionando um tratamento rápido e eficaz.

As informações desta pesquisa serão confidenciais e serão divulgadas apenas em eventos ou publicações científicas, não havendo identificação dos voluntários, a não ser entre os responsáveis pelo estudo, sendo assegurado o sigilo sobre a sua participação. Os dados coletados nesta pesquisa (idade, sexo, doença de base, uso de medicamentos, etc), ficarão armazenados em (pastas de arquivo no computador pessoal do pesquisador responsável), sob a responsabilidade do (Ertênia Paiva Oliveira), no endereço (acima informado), pelo período de mínimo 5 anos.

O (a) senhor (a) não pagará nada para participar desta pesquisa. Se houver necessidade, as despesas para a sua participação serão assumidos pelos pesquisadores (ressarcimento de transporte e alimentação). Fica também garantida indenização em casos de danos, comprovadamente decorrentes da participação na pesquisa, conforme decisão judicial ou extra-judicial.

Em caso de dúvidas relacionadas aos aspectos éticos deste estudo, você poderá consultar o Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos da UFPE no endereço: **(Avenida da Engenharia s/n – 1º Andar, sala 4 - Cidade Universitária, Recife-PE, CEP: 50740-600, Tel.: (81) 2126.8588 – e-mail: cepccs@ufpe.br).**

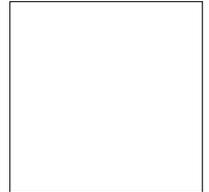
Assinatura do pesquisador(a)

CONSENTIMENTO DA PARTICIPAÇÃO DA PESSOA COMO VOLUNTÁRIO (A)

Eu, _____, CPF _____, abaixo assinado, pelo meu representante legal, após a escuta da leitura deste documento e ter tido a oportunidade de conversar e esclarecido as minhas dúvidas com o pesquisador responsável, concordo em participar do estudo (avaliação *in vitro* e *in vivo* do potencial antimicótico de derivados do anel aromático de tiofeno frente à dermatófitos), como voluntário (a). Fui devidamente informado (a) e esclarecido (a) pelo(a) pesquisador (a) sobre a pesquisa, os procedimentos nela envolvidos, assim como os possíveis riscos e benefícios decorrentes de minha participação. Foi-me garantido que posso retirar o meu consentimento a qualquer momento, sem que isto leve a qualquer penalidade (ou interrupção de meu acompanhamento/assistência/tratamento).

Local e data _____

Assinatura do participante: _____



Impressão digital

(opcional)

Presenciamos a solicitação de consentimento, esclarecimentos sobre a pesquisa e o aceite do voluntário em participar. (02 testemunhas não ligadas à equipe de pesquisadores):

Nome:	Nome:
Assinatura:	Assinatura:

APÊNDICE D- TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (PARA RESPONSÁVEL LEGAL PELO MENOR DE 18 ANOS - Resolução 466/12)

Solicitamos a sua autorização para convidar o (a) seu/sua filho (a) {ou menor que está sob sua responsabilidade} para participar, como voluntário (a), da pesquisa (avaliação *in vitro* e *in vivo* do potencial antimicótico de derivados do anel aromático de tiofeno frente à dermatófitos). Esta pesquisa é da responsabilidade do (a) pesquisador (a) Ertênia Paiva Oliveira, Av. Prof. Moraes Rego, s/n Cidade Universitária – Recife/PE – 50.670.901, e-mail: oliveiraertenia@gmail.com, inclusive ligações a cobrar e está sob a orientação de: Reginaldo Gonçalves de Lima Neto Telefone para contato: (81 2126 8525), e-mail goncalves_reginaldo@hotmail.com. Participa também desta pesquisa o pesquisador: Francisco Jaime Bezerra Mendonça Junior, Telefone para contato: (81 2126 8225).

Caso este Termo de Consentimento contenha informações que não lhe sejam compreensíveis, as dúvidas podem ser tiradas com a pessoa que está lhe entrevistando e apenas ao final, quando todos os esclarecimentos forem dados, caso concorde que o (a) menor faça parte do estudo pedimos que rubriche as folhas e assine ao final deste documento, que está em duas vias, uma via lhe será entregue e a outra ficará com o pesquisador responsável.

Caso não concorde, não haverá penalização nem para o (a) Sr.(a) nem para o/a voluntário/a que está sob sua responsabilidade, bem como será possível ao/a Sr. (a) retirar o consentimento a qualquer momento, também sem nenhuma penalidade.

INFORMAÇÕES SOBRE A PESQUISA:

- Descrição da pesquisa: : Esta pesquisa tem como objetivo avaliar antifúngicos contra fungos causadores de dermatofitoses (tipo de micose), em pacientes atendidos no serviço de dermatologia HC/UFPE possibilitando o diagnóstico e promovendo posteriormente uma alternativa terapêutica contra dermatófitos (fungos que causam a micose).
- Esclarecimento do período de participação do voluntário na pesquisa: A coleta de dados só se iniciará após aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa do CCS/UFPE. Haverá a coleta de material biológico, onde será realizado escarificações no local que apresentar lesões sugestivas de dermatofitoses, para posteriormente ser realizado o diagnóstico micológico laboratorial. As coletas serão realizadas conforme a solicitação médica.
- **RISCOS diretos** para o voluntário: Risco de desconforto e constrangimento no momento da coleta, entretanto serão utilizados para o desenvolvimento da referida pesquisa apenas amostras biológicas tais como escamas epidérmicas, ungueais e pelos, que terão solicitação médica para diagnóstico micológico, independente de execução do projeto.

Possível perda de algum material biológico, entretanto o pesquisador se compromete com a manipulação do material de forma adequada e segura. Possível quebra

de sigilo ou extravio de algum dado do paciente. Como forma de minimizar esses riscos, o pesquisador se compromete com a manipulação adequada e a confidencialidade dos dados coletados conforme declaração anexada na plataforma brasil.

➤ **BENEFÍCIOS diretos e indiretos** para os voluntários.

A garantia de receber todos os esclarecimentos sobre “o instrumento de coleta de dados (aplicação de questionário, entrevista, formulário)” antes e durante o transcurso da pesquisa, podendo afastar-se em qualquer momento se assim o desejar, estando assegurado o absoluto sigilo das informações obtidas; b- A segurança plena de que não será identificado mantendo o caráter oficial da informação, assim como, o paciente está assegurada que a pesquisa não acarretará nenhum prejuízo individual ou coletivo; c- A segurança de que não terá nenhum tipo de despesa material ou financeira durante o desenvolvimento da pesquisa, bem como, esta pesquisa não causará dano físico ou mesmo constrangimento moral e ético ao entrevistado; d- A garantia de que toda e qualquer responsabilidade nas diferentes fases da pesquisa é dos pesquisadores, bem como, fica assegurado, poderá haver divulgação dos resultados finais em órgãos de divulgação científica em que a mesma seja aceita; e- A garantia de que todo o material resultante será utilizado exclusivamente para a construção da pesquisa e ficará sob a guarda dos pesquisadores, podendo ser requisitado pelo entrevistado em qualquer momento. Acrescentamos que os sujeitos envolvidos na pesquisa serão diretamente beneficiados com o diagnóstico de seu possível processo infeccioso, direcionando um tratamento rápido e eficaz.

As informações desta pesquisa serão confidenciais e serão divulgadas apenas em eventos ou publicações científicas, não havendo identificação dos voluntários, a não ser entre os responsáveis pelo estudo, sendo assegurado o sigilo sobre a sua participação. Os dados coletados nesta pesquisa (idade, sexo, doença de base, uso de medicamentos, etc), ficarão armazenados em (pastas de arquivo no computador pessoal do pesquisador responsável), sob a responsabilidade do (Ertênia Paiva Oliveira), no endereço (acima informado), pelo período de mínimo 5 anos.

O (a) senhor (a) não pagará nada para participar desta pesquisa. Se houver necessidade, as despesas para a sua participação serão assumidos pelos pesquisadores (ressarcimento de transporte e alimentação). Fica também garantida indenização em casos de danos, comprovadamente decorrentes da participação na pesquisa, conforme decisão judicial ou extra-judicial.

Em caso de dúvidas relacionadas aos aspectos éticos deste estudo, você poderá consultar o Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos da UFPE no endereço:

(Avenida da Engenharia s/n – 1º Andar, sala 4 - Cidade Universitária, Recife-PE, CEP: 50740-600, Tel.: (81) 2126.8588 – e-mail: cepccs@ufpe.br).

Assinatura do pesquisador(a)

CONSENTIMENTO DA PARTICIPAÇÃO DA PESSOA COMO VOLUNTÁRIO (A)

Eu, _____, CPF _____, abaixo assinado, responsável por _____, autorizo a sua participação no estudo (avaliação *in vitro* e *in vivo* do potencial antimicótico de derivados do anel aromático de tiofeno frente à dermatófitos), como voluntário (a). Fui devidamente informado (a) e esclarecido (a) pelo(a) pesquisador (a) sobre a pesquisa, os procedimentos nela envolvidos, assim como os possíveis riscos e benefícios decorrentes de minha participação. Foi-me garantido que posso retirar o meu consentimento a qualquer momento, sem que isto leve a qualquer penalidade (ou interrupção de meu acompanhamento/assistência/tratamento).

Local e data _____

Assinatura do participante: _____

Impressão digital (opcional)

Presenciamos a solicitação de consentimento, esclarecimentos sobre a pesquisa e o aceite do voluntário em participar. (02 testemunhas não ligadas à equipe de pesquisadores):

Nome:	Nome:
Assinatura:	Assinatura:

APÊNDICE E- TERMO DE COMPROMISSO E CONFIDENCIALIDADE

Título do projeto: “Avaliação *in vitro* e *in vivo* do potencial antimicótico de derivados do anel aromático de tiofeno frente à dermatófitos.”

Pesquisador responsável: Prof. Dr. Reginaldo Gonçalves de Lima Neto

Instituição/Departamento de origem do pesquisador: Universidade Federal de Pernambuco/ Departamento de Medicina Tropical

Telefone para contato: (81) 2126 8525

E-mail: goncalves_reginaldo@hotmail.com

O(s) pesquisador (es) do projeto acima identificado(s) assume(m) o compromisso de:

- Preservar o sigilo e a privacidade dos voluntários cujos dados coletados e materiais biológicos serão estudados;
- Assegurar que as informações e materiais biológicos serão utilizados, única e exclusivamente, para a execução do projeto em questão;
- Assegurar que os resultados da pesquisa somente serão divulgados de forma anônima, não sendo usadas iniciais ou quaisquer outras indicações que possam identificar o voluntário da pesquisa.

O(s) pesquisador (es) declara(m) que os dados coletados nesta pesquisa (fotos), ficarão armazenados em pastas de arquivo no computador pessoal, sob a responsabilidade do pesquisador responsável, no endereço Av. Prof. Moraes Rego, s/n Cidade Universitária – Recife/PE – 50.670.901, Recife-PE, pelo período de mínimo 5 anos.

O(s) Pesquisador(es) declara(m), ainda, que a pesquisa só será iniciada após a avaliação e aprovação do Comitê de Ética e Pesquisa Envolvendo Seres Humanos, do Centro de Ciências da Saúde, da Universidade Federal de Pernambuco – CEP/CCS/UFPE.

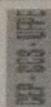
Recife, de de 2015.

Reginaldo Gonçalves de Lima Neto
Assinatura do Pesquisador Responsável

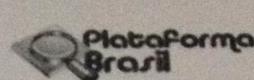
ANEXO A- TERMO DE APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA HUMANO

Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos	UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE / UFPE-	Plataforma Brasil
PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP		
DADOS DO PROJETO DE PESQUISA		
Título da Pesquisa: AVALIAÇÃO IN VITRO E IN VIVO DO POTENCIAL ANTIMICÓTICO DE DERIVADOS DO ANEL AROMÁTICO DE TIOFENO FRENTE A DERMATOFITOS		
Pesquisador: Reginaldo Gonçalves de Lima Neto		
Área Temática:		
Versão: 1		
CAAE: 47985215.3.0000.5208		
Instituição Proponente: CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS		
Patrocinador Principal: Financiamento Próprio		
DADOS DO PARECER		
Número do Parecer: 1.219.367		
Apresentação do Projeto:		
Trata-se de projeto de mestrado do CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS DEPARTAMENTO DE MICOLOGIA PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA DE FUNGOS. Mestrando(a): ERTÊNIA PAIVA OLIVEIRA; Orientador(a): Dr. Reginaldo Gonçalves de Lima Neto (UFPE) Co-Orientador(a): Dr. Francisco Jaime Bezerra Mendonça Junior (UEPB)		
Objetivo da Pesquisa:		
Avaliar o potencial antifúngico in vitro e in vivo, de derivados tiofênicos contendo uma porção nitro-aromática frente a agentes de etiologia fúngicas causadores de dermatofitoses. População estudada: pacientes com suspeita de dermatofitoses, atendidos no serviço de dermatologia do Hospital das clínicas HU/UFPE.		
Avaliação dos Riscos e Benefícios:		
Os riscos serão mínimos, pois a coleta das amostras biológicas será realizada por profissionais qualificados e habilitados. Serão utilizados para o desenvolvimento da referida pesquisa apenas amostras biológicas de pacientes que tiverem solicitação médica para diagnóstico micológico, independente de execução do projeto. Adicionalmente, o pesquisador se compromete com a manipulação do material de forma adequada e segura.		
Endereço: Av. da Engenharia s/nº - 1º andar, sala 4, Prédio do CCS		
Bairro: Cidade Universitária		CEP: 50.740-600
UF: PE	Município: RECIFE	
Telefone: (81)2126-8588	E-mail: cepccs@ufpe.br	

Comitê de Ética
em Pesquisa
Envolvendo
Serres Humanos



UNIVERSIDADE FEDERAL DE
PERNAMBUCO CENTRO DE
CIÊNCIAS DA SAÚDE / UFPE-



Continuação do Parecer: 1.219.367

Benefícios: O trabalho contribuirá com o diagnóstico de confiança e possivelmente com o desenvolvimento de nova opção terapêutica contra dermatófitos, tendo em vista o número limitado dos antifúngicos comercializados, visando assim tratamentos mais eficazes, que apresentem pouco ou nenhum efeito tóxicos, antifúngicos mais específicos e com custo mais acessível para a população.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

pesquisa relevante e não acarreta riscos para os participantes.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

todos presentes

Recomendações:

não há

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

não há

Considerações Finais a critério do CEP:

O Protocolo foi avaliado na reunião do CEP e está APROVADO para iniciar a coleta de dados. Informamos que a APROVAÇÃO DEFINITIVA do projeto só será dada após o envio do Relatório Final da pesquisa. O pesquisador deverá fazer o download do modelo de Relatório Final para enviá-lo via "Notificação", pela Plataforma Brasil. Siga as instruções do link "Para enviar Relatório Final", disponível no site do CEP/CCS/UFPE. Após apreciação desse relatório, o CEP emitirá novo Parecer Consubstanciado definitivo pelo sistema Plataforma Brasil.

Informamos, ainda, que o (a) pesquisador (a) deve desenvolver a pesquisa conforme delineada neste protocolo aprovado, exceto quando perceber risco ou dano não previsto ao voluntário participante (item V.3., da Resolução CNS/MS Nº 466/12).

Eventuais modificações nesta pesquisa devem ser solicitadas através de EMENDA ao projeto, identificando a parte do protocolo a ser modificada e suas justificativas.

Para projetos com mais de um ano de execução, é obrigatório que o pesquisador responsável pelo Protocolo de Pesquisa apresente a este Comitê de Ética relatórios parciais das atividades desenvolvidas no período de 12 meses a contar da data de sua aprovação (item X.1.3.b., da Resolução CNS/MS Nº 466/12). O CEP/CCS/UFPE deve ser informado de todos os efeitos adversos ou fatos relevantes que alterem o curso normal do estudo (item V.5., da Resolução CNS/MS Nº 466/12). É papel do/a pesquisador/a assegurar todas as medidas imediatas e adequadas frente a evento adverso grave

Endereço: Av. da Engenharia s/nº - 1º andar, sala 4, Prédio do CCS

Bairro: Cidade Universitária

CEP: 50.740-600

UF: PE

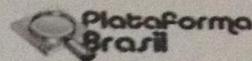
Município: RECIFE

Telefone: (81)2126-8588

E-mail: cepccs@ufpe.br

Comitê de Ética
em Pesquisa
Envolvendo
Serres Humanos

UNIVERSIDADE FEDERAL DE
PERNAMBUCO CENTRO DE
CIÊNCIAS DA SAÚDE / UFPE-



Continuação do Parecer: 1.219.367

ocorrido (mesmo que tenha sido em outro centro) e ainda, enviar notificação à ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária, junto com seu posicionamento.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Outros	Carta de Anuência Micologia.JPG	29/07/2015 15:38:08		Aceito
Outros	Carta de Anunência.JPG	29/07/2015 15:38:27		Aceito
Outros	Carta de Apresentação.JPG	29/07/2015 15:38:59		Aceito
Outros	Termo de Confidencialidade.JPG	29/07/2015 15:41:48		Aceito
Outros	Carta de Anuência do HC.JPG	02/08/2015 19:40:46		Aceito
Declaração de Pesquisadores	Declaração de Mestrado.JPG	02/08/2015 19:41:16		Aceito
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_P ROJETO_557883.pdf	02/08/2015 20:14:50		Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto.docx	03/08/2015 15:23:00		Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE para adulto impossibilitado.docx	03/08/2015 15:23:26		Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE para maiores de 18 anos.docx	03/08/2015 15:23:45		Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE para responsável legal.docx	03/08/2015 15:24:07		Aceito
Outros	TALE menores de 18 anos.docx	03/08/2015 15:24:31		Aceito
Outros	Currículo lattes de Ertenia.docx	03/08/2015 15:28:39		Aceito
Outros	Currículo lattes de Reginaldo.docx	03/08/2015 15:29:26		Aceito
Outros	Currículo lattes de Francisco.docx	03/08/2015 15:30:00		Aceito

Endereço: Av. da Engenharia s/nº - 1º andar, sala 4, Prédio do CCS

Bairro: Cidade Universitária **CEP:** 50.740-600

UF: PE **Município:** RECIFE

Telefone: (81)2126-8588

E-mail: cepccs@ufpe.br

ANEXO B- TERMO DE APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA ANIMAL

Universidade Federal de Pernambuco
Centro de Ciências Biológicas
Av. Prof. Nelson Chaves, s/n
50670-420 / Recife - PE - Brasil
Fones: (55 81) 2126 8840 | 2126 8351
fax: (55 81) 2126 8350
www.ccb.ufpe.br

Recife, 27 de outubro de 2015.

Ofício nº 105/15

Da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFPE
Para: **Prof. Reginaldo Gonçalves de Lima Neto**
Departamento de Medicina Tropical – CCS
Universidade Federal de Pernambuco
Processo nº 23076.031245/2015-95

Os membros da Comissão de Ética no Uso de Animais do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco (CEUA-UFPE) avaliaram seu projeto de pesquisa intitulado, “**Avaliação *in vitro* e *in vivo* do potencial antimicrobiano de derivados do anel aromático de tiofeno frente à dermatofitos**”.

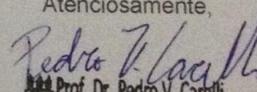
Concluimos que os procedimentos descritos para a utilização experimental dos animais encontram-se de acordo com as normas sugeridas pelo Colégio Brasileiro para Experimentação Animal e com as normas internacionais estabelecidas pelo National Institute of Health Guide for Care and Use of Laboratory Animals as quais são adotadas como critérios de avaliação e julgamento pela CEUA-UFPE.

Encontra-se de acordo com as normas vigentes no Brasil, especialmente a Lei 11.794 de 08 de outubro de 2008, que trata da questão do uso de animais para fins científicos e didáticos.

Diante do exposto, emitimos **parecer favorável** aos protocolos experimentais a serem realizados.

Origem dos animais: Biotério do Departamento de Fisiologia e Farmacologia – CCB/UFPE; Animais: ratos Wistar; Idade: 90 dias; Peso: 250g; Sexo: machos e fêmeas; Nº total de animais: 24.

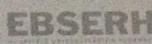
Atenciosamente,


Prof. Dr. Pedro V. Carrelli
Presidente da CEUA / CCB - UFPE
UFPE SIAPE 1801584

ANEXO C- CARTA DE ANUÊNCIA DO SERVIÇO DE DERMATOLOGIA DO HOSPITAL DAS CLÍNICAS



HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA UFPE
FILIAL DA EMPRESA BRASILEIRA DE
SERVIÇOS HOSPITALARES



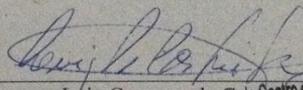
CARTA DE ANUÊNCIA

Declaramos para os devidos fins, que aceitaremos a pesquisadora Ertênia Paiva Oliveira, a desenvolver o seu projeto de pesquisa "AVALIAÇÃO *IN VITRO* E *IN VIVO* DO POTENCIAL ANTIMICÓTICO DE DERIVADOS DO ANEL AROMÁTICO DE TIOFENO FRENTE À DERMATÓFITOS", que está sob a coordenação/orientação do Prof. Reginaldo-Gonçalves de Lima Neto e co-orientação Prof. Francisco Jaime Bezerra Mendonça Junior cujo objetivo é realizar o diagnóstico micológico das amostras clínicas e avaliar o potencial antimicótico frente a dermatófitos, e buscar novas opções terapêuticas contra dermatofitoses, no setor de dermatologia do HC/UFPE.

Esta autorização está condicionada ao cumprimento do (a) pesquisador (a) aos requisitos da Resolução 466/12 e suas complementares, comprometendo-se o/a mesmo/a a utilizar os dados pessoais dos sujeitos da pesquisa, exclusivamente para os fins científicos, mantendo o sigilo e garantindo a não utilização das informações em prejuízo das pessoas e/ou das comunidades.

Antes de iniciar a coleta de dados o/a pesquisador/a deverá apresentar a esta Instituição o Parecer Consubstanciado devidamente aprovado, emitido por Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos, credenciado ao Sistema CEP/CONEP.

Recife, em 30, 07, 2015



Luiz Gonzaga de Castro e Souza Fr
Chefe do serviço de dermatologia
HC-UFPE SIAPE 1133618 CRM 9652

Célia Maria Machado Barbosa de Castro
Gerente de Ensino, Pesquisa e Extensão do HC/UFPE - GEPEX

HC-UFPE Av. Prof. Moraes Rego, s/n - Cidade Universitária - Recife/PE
CEP: 50670-420 Tel: (81) 2126.3953 / 2126.3984 Fax: 3453.3675
e-mail: hcdiretoria@ufpe.br

ANEXO D– CARTA DE SUBMISSÃO DE ARTIGO CIENTÍFICO

25/01/2017

Gmail - Submission Confirmation



ertenia paiva oliveira <oliveiraertenia@gmail.com>

Submission Confirmation

Journal of Microbiological Methods <eesserver@eesmail.elsevier.com>

25 de janeiro de 2017 21:34

Responder a: Journal of Microbiological Methods <mimet@elsevier.com>

Para: oliveiraertenia@gmail.com

Dear Miss Oliveira,

Your submission entitled "Experimental Model: Dermatophytosis Infection in Wistar Rats" has been received by Journal of Microbiological Methods as Research Paper

You may check on the progress of your paper by logging on to the Elsevier Editorial System as an author. The URL is <https://ees.elsevier.com/mimet/>.

Your username is: oliveiraertenia@gmail.com

If you need to retrieve password details, please go to:

http://ees.elsevier.com/mimet/automail_query.asp

Your manuscript will be given a reference number once an Editor has been assigned.

Thank you for submitting your work to this journal.

Kind regards,

Elsevier Editorial System
Journal of Microbiological Methods

For further assistance, please visit our customer support site at <http://help.elsevier.com/app/answers/list/p/7923>. Here you can search for solutions on a range of topics, find answers to frequently asked questions and learn more about EES via interactive tutorials. You will also find our 24/7 support contact details should you need any further assistance from one of our customer support representatives.

ANEXO E- COMUNICADO DE INVENÇÃO



Universidade Federal de Pernambuco
Diretoria de Inovação

COMUNICAÇÃO DE INVENÇÃO

Instruções Gerais de Preenchimento:

- Para preenchimento deste Formulário de Comunicação de Invenção é necessário que pelo menos um dos inventores (não é obrigatório que seja o principal inventor) tenha vínculo com a [Universidade Federal de Pernambuco](#).
 - Não use este formulário se estiver comunicando: material sujeito a direitos de autor, software, tecnologia de cultivares/variedades de plantas, [hibridomas](#) ou anticorpos não-terapêuticos.
 - O preenchimento completo de TODOS os campos deste formulário é obrigatório para a sua aceitação, caso contrário, o mesmo será desconsiderado.
 - Após recebimento deste formulário devidamente preenchido e do material complementar exigido, a sua comunicação será oficialmente protocolada na Diretoria de Inovação. Veja a última página deste formulário para instruções acerca de como submeter esta documentação.
 - Os inventores devem obter e ler o Manual de Propriedade Intelectual da UFPE em <http://www.ufpe.br/dine/>
-