

PATRÍCIA CRISTINA RODRIGUES LIMA

**ONICOMICOSSES EM UM SERVIÇO DERMATOLÓGICO
PÚBLICO FEDERAL: DIAGNÓSTICO, SUSCEPTIBILIDADE
DOS ISOLADOS, EPIDEMIOLOGIA E TRATAMENTO**

**Recife
2018**

PATRÍCIA CRISTINA RODRIGUES LIMA

**ONICOMICOSSES EM UM SERVIÇO
DERMATOLÓGICO PÚBLICO FEDERAL: DIAGNÓSTICO,
SUSCEPTIBILIDADE DOS ISOLADOS, EPIDEMIOLOGIA E
TRATAMENTO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Patologia do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco, para obtenção do título de Mestre em Patologia.

Orientador

Prof^o Dr^o Reginaldo Gonçalves de Lima Neto

Área de Concentração

Patologia

Linha de Pesquisa

Modelos morfofisiológicos e imunológicos das doenças.

**Recife
2018**

Catálogo na Fonte
Bibliotecária: Mônica Uchôa, CRB4-1010

L732e Lima, Patrícia Cristina Rodrigues.
Onicomicoses em um serviço dermatológico público federal: diagnóstico, susceptibilidade dos isolados, epidemiologia e tratamento / Patrícia Cristina Rodrigues Lima. – 2018.
47 f.: il.; tab.; 30 cm.

Orientador: Reginaldo Gonçalves Lima Neto.
Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco, CCS, Programa de Pós-Graduação em Patologia, Recife, 2018.

Inclui referências, apêndices e anexos.

1, Onicomicose, 2, Diagnóstico, 3, Susceptibilidade. I. Lima Neto, Reginaldo Gonçalves (Orientador). II. Título.

616.07 CDD (23.ed.) UFPE (CCS2018-154)



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PATOLOGIA

Centro de Ciências da Saúde - UFPE

Av. Prof. Moraes Rego 1235 - Cidade Universitária - CEP: 51

Prédio da Pós-graduação do Centro de Ciências da Saúde (

Fone/Fax: (81) 2126.8529

<http://www.ppgpatologiaufpe.com>

DISSERTAÇÃO DEFENDIDA PARA A OBTENÇÃO DO TÍTULO DE MESTRE EM PATOLOGIA

AUTOR: PATRÍCIA CRISTINA RODRIGUES LIMA

ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: PATOLOGIA

**NOME DA DISSERTAÇÃO: “ONICOMICOSSES EM UM SERVIÇO
DERMATOLÓGICO PÚBLICO FEDERAL: DIAGNÓSTICO, SUSCEPTIBILIDADE
DOS ISOLADOS, EPIDEMIOLOGIA E TRATAMENTO.”**

ORIENTADOR: PROF. DR. REGINALDO GONÇALVES LIMA NETO

DATA DA DEFESA: 09 DE MARÇO DE 2018.

APROVADO: 09 DE MARÇO DE 2018

BANCA EXAMINADORA:

Prof^ª. Dr^ª. Rejane Pereira Neves
Dept^º de Patologia – CCS/UFPE

Prof. Dr. Carlos Roberto Weber Sobrinho
Dept^º de Medicina Tropical – CCS/UFPE

Prof^ª. Dr^ª. Francisca Janaina Soares Rocha
Dept^º de Medicina Tropical – CCS/UFPE

RESUMO

A onicomicose é uma micose superficial que acomete a lâmina ungueal. É uma doença crônica que pode ter como agentes causadores, leveduras, dermatófitos e fungos filamentosos não dermatófitos. Essa onicopatía atinge as unhas das mãos e pés, de ambos os sexos, e em sua maioria adultos. Alguns fatores são predisponentes para que ocorra a infecção fúngica como, idade, umidade excessiva, traumas, uso de material contaminado. Esta pesquisa diagnosticou onicomicoses em pacientes atendidos em um serviço público, no período de agosto de 2016 a julho de 2017, através da aplicação de questionários. Para o diagnóstico laboratorial micológico, através do exame direto e cultura, foi realizada coleta de material biológico, identificação dos agentes causadores, e teste de sensibilidade antifúngica. Foram atendidos 196 indivíduos que apresentavam lesões sugestivas para onicomicose. Foram examinadas 224 amostras sendo 119 (53,13%) com resultado positivo para a doença. Nessa pesquisa o agente etiológico mais prevalente foram as leveduras do gênero *Candida* com 92 (77,31%) isolados, seguida dos fungos filamentosos não dermatófitos com 19 (15,97%) e dermatófitos 8 (6,72%). O sítio anatômico mais afetado foram as unhas das mãos e a atividade laboral foi relacionada ao ambiente do lar. Os dados desse estudo podem auxiliar na busca em aprimorar a identificação e diminuir o tempo de cura e número de pessoas infectadas.

Palavras-chave: Onicomicose. Diagnóstico. Susceptibilidade.

ABSTRACT

Onychomycosis is a superficial mycosis that affects the nail plate. It is a chronic disease that can have as causative agents, yeasts, dermatophytes and non-dermatophyte filamentous fungi. This onychopathy reaches the nails of the hands and feet, of both sexes, and for the most part adults. Some factors predispose to fungal infection such as age, excessive humidity, trauma, use of contaminated material. This research diagnosed onychomycosis in patients attended at a public service, from August 2016 to July 2017, through the application of questionnaires. For the mycological laboratory diagnosis, through direct examination and culture, the collection of biological material, identification of the causative agents, and antifungal sensitivity test were performed. A total of 196 subjects with lesions suggestive of onychomycosis were treated. A total of 224 samples were examined, being 119 (53.13%) positive for the disease. The most prevalent etiological agent was *Candida* yeasts with 92 (77.31%) isolates, followed by non dermatophyte filamentous fungi with 19 (15.97%) and dermatophytes 8 (6.72%). The most affected anatomical site was the nails of the hands and the work activity was related to the environment of the home. The data from this study can help in the search to improve the identification and to reduce the time of cure and the number of people infected.

Key words: Onychomycosi. Diagnosis. Susceptibility.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

	Manuscrito	
Fig 01	Histograma das frequências para variável idade	33
Fig 02	Gráfico de barras da relação sexo/agente etiológico	33

LISTA DE TABELAS

Manuscrito

Tabela 1	Susceptibilidade Antifúngica <i>In vitro</i> para dermatófitos isolados a partir das escamas ungueais de pacientes de um serviço público.	31
Tabela 2	Susceptibilidade Antifúngica <i>In vitro</i> para fungos filamentosos não dermatófitos isolados a partir das escamas ungueais de pacientes de um serviço público.	31
Tabela 3	Susceptibilidade Antifúngica <i>In vitro</i> de <i>Candida</i> isoladas a partir das escamas ungueais de pacientes de um serviço público.	32

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CB	Centro de Biociências
CCS	Centro de Ciências da Saúde
CIM	Concentração Inibitória Mínima
CLSI	<i>Clinical Laboratory Standard Institute</i>
FFND	Fungos Filamentosos Não Dermatófitos
HC	Hospital das Clínicas
HIV	Virus da Imunodeficiência Humana
KOH	Hidróxido de Potássio
MALDI-TOF	<i>Matrix Assisted Laser Desorption/Ionization Time-of-Flight</i>
MS	<i>Mass Spectrometry</i>
Nd Yag	<i>Neodymium-doped yttrium aluminium garnet</i>
OBS	Onicomicose Branca Superficial
ODT	Onicomicose Distrófica Total
OE	Onicomicose Edonix
OM	Onicomicose Mista
OSLD	Onicomicose Subungueal Lateral Distal
OSP	Onicomicose Subungueal Proximal
UFPE	Universidade Federal de Pernambuco
YEPD	<i>Yeast Extract Peptone Dextrose</i>

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	10
2	REFERENCIAL TEÓRICO	11
2.1	ONICOMICOSSES	12
2.1.1	Aspectos clínicos	12
2.1.2	Aspectos laboratoriais	13
2.2	EPIDEMIOLOGIA DAS ONICOMICOSSES	13
2.3	TRATAMENTOS	14
3	OBJETIVOS	15
3.1	OBJETIVO GERAL	15
3.2	OBJETIVO ESPECÍFICO	15
4	METODOLOGIA	16
4.1	POPULAÇÃO ALVO	16
4.2	REALIZAÇÃO DO DIAGNÓSTICO MICOLÓGICO	16
4.3	PURIFICAÇÃO E IDENTIFICAÇÃO DOS ISOLADOS	16
4.4	IDENTIFICAÇÃO PROTEÔMICA POR MALDI-TOF MS	17
4.4.1	Análise proteômica	17
4.5	TESTE DE SUSCEPTIBILIDADE ANTIFÚNGICA <i>IN VITRO</i>	18
4.6	DESENHO EXPERIMENTAL	20
4.7	COLETA DE DADOS	20
4.8	ANÁLISE DE DADOS	20
4.9	PERÍODO DE REFERÊNCIA	21
4.10	CONSIDERAÇÕES ÉTICAS	21
5	RESULTADOS – ARTIGO ORIGINAL(Manuscrito)	22
6	CONCLUSÕES	34
7	CONSIDERAÇÕES FINAIS	35
	REFERÊNCIAS	36
	APÊNDICE A Ficha de coleta	41
	APÊNDICE B Termo de Consentimento Livre Assistido	42
	APÊNDICE C Artigo publicado- Short Communication	44
	ANEXO A Parecer do CEP	45
	ANEXO B Formatação do Manuscrito	46

1. INTRODUÇÃO

As onicomicoses são micoses superficiais provocadas por fungos e afetam a região da lâmina ungueal, ocasionando danos diversos. A infecção ocorre principalmente por leveduras e dermatófitos. Os Fungos Filamentosos Não Dermatófitos (FFND), também são encontrados como agentes etiológicos nas onicomicoses com menor frequência, porém, nos últimos anos o número de casos vem aumentando (ARAÚJO et al., 2003; BEJAR et al., 2015).

Essa dermatomicose atinge a população mundial, e apesar de ser superficial, e tem características específicas de acordo com a região geográfica, sendo comuns em países de clima tropical como exemplo: o Brasil. (ARAÚJO, et al., 2010; TOMAZ,2011; CRIADO et al., 2011, ELEWSKI, TOSTI, 2015).

As características clínicas da infecção ungueal pode variar de acordo com o agente causador e pode acontecer nos quirodáctilos ou pododáctilos, ou ambos simultaneamente (SHAHZAD et al., 2014).

Gênero, idade, ocupação são fatores predisponentes nas onicomicoses, enquanto doenças preexistentes como diabetes, hipertensão, doença vascular periférica, imudepressão são condições de risco (MONTARIM, ALMEIDA, COLOMBO, 2015).

Mesmo diante das evidências clínicas, os exames laboratoriais são essenciais para diagnosticar a doença. Identificar a espécie fúngica viabiliza adotar uma terapia resolutiva (GELOTAR et al., 2013).

A ausência de tratamento, conduz a progressão da doença e pode acarretar sequelas na lâmina ungueal, dor, prejudicar a sociabilidade e desenvolvimento pleno das funções laborais, além de infectar outros seres humanos por transmissão direta ou indireta (CEILLEY, 2015).

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 ONICOMICOSSES

A doença fúngica ungueal também chamada de onicomicose, é uma micose superficial crônica que pode acometer as unhas dos pés e ou das mãos. Uma das dermatoses mais comuns nos atendimentos em consultórios de dermatologia (STEINER, GASQUES, GATTI, 2014).

A unha é um anexo cutâneo localizado nas extremidades distais do dedos, tem função protetora, pinçamento, e estética. É formada por camadas de células anucleadas ricas em queratina, o que lhe confere característica de placa com consistência rígida. Faz parte de um conjunto de estruturas que formam o aparelho ungueal, sendo elas: dobra ungueal proximal, matriz, leito, hiponíquio, dobras ungueais laterais e lâmina ungueal ou unha. O seu crescimento se dá a partir da matriz, localizada na extremidade proximal dos dedos (MAGALHÃES, SUCCI, SOUSA, 2003; BARBOSA et al., 2013).

A lâmina ungueal pode ser afetada por fungos de diversas espécies porém as mais comuns são os dermatófitos e as leveduras, sendo os fungos filamentosos não dermatófitos (FFNF) menos encontrados. Além das alterações morfológicas da lâmina a contaminação fúngica das unhas podem originar infecções bacterianas secundárias, ser dolorosas, afetar socialmente, emocionalmente a vida do hospedeiro podendo ainda danificar de forma permanente a unha infectada. A doença pode se propagar facilmente para outras unhas, bem como contaminar outras pessoas pelo uso inadequado de fômites como: tesouras, alicates, lixas (GELOTAR et al., 2013; STEINER, GASQUES, GATTI, 2014).

Pacientes idosos, diabéticos, com doença vascular periférica, HIV positivo, ou que faz uso de antibioticoterapia, ou imunossupressores, são mais suscetíveis ao desenvolvimento da onicomicose, sendo também os que apresentam maior risco quanto as complicações da mesma (LONE et al., 2013; AMEEN et al., 2014).

2.1.1. Aspectos clínicos

A onicomicose pode afetar parcialmente ou em sua totalidade a lâmina ungueal, em um ou mais dedos, dos pés ou das mãos ou em ambos, promovendo características macroscópicas como: mudança de coloração, espessamento ou afinamento da lâmina, amolecimento da queratina, descolamento do leito ungueal. Diante disso, existe uma classificação de acordo com o padrão de comprometimento da unha, sendo correlacionada com o agente fúngico causador da lesão. O que auxilia com a seleção do tratamento adequado (HAY, BARAN, 2011).

Diante do exposto, é possível destacar cinco dos principais padrões clínicos, referente a região da lâmina afetada, a saber: onicomicose subungueal lateral distal (OSLD), onicomicose branca superficial (OBS), onicomicose subungueal proximal (OSP), onicomicose endonix (OE) e onicomicose distrófica total distrófica (ODT) (HAY, BARAN, 2011).

A OSLD caracteriza-se pela mudança na coloração da lâmina ungueal, espessamento e onicolise variada, sendo o *T. rubrum* o principal agente etiológico encontrado. Na Onicomicose Branca Superficial (OBS) a lâmina é atingida superficialmente podendo depois atingir outras camadas da mesma, aparecem manchas brancas, em alguns casos linhas brancas é a mais comum em crianças e o agente mais identificado nesse tipo é o *T. mentagrophytes*. A onicomicose subungueal proximal (OSP) não é muito comum e atinge a área mais próxima, da prega ungueal em direção ao centro do corpo da unha, também tem maior incidência de dermatófito, sendo mais característico em pacientes HIV positivo. Na onicomicose Endonix (OE) nesse tipo a superfície da unha tende a se fragmentar, coloração escura, o espessamento é quase inexistente e o fungo penetra rapidamente na placa sem acessar as bordas, os organismos mais isolados são *T. soudanense* e *T. violaceum*. A Onicomicose Distrófica Total (ODT) acomete toda área da unha ou várias regiões ao mesmo tempo são comprometidas, pode ser uma progressão de quaisquer dos tipos citados e normalmente é causada por *Candida*

sp. Ainda, a Onicomiose de Padrão Misto (OM), onde partes da unha são infectadas por mais de um tipo clínico, as combinações mais comuns são OSLD com OBS e OSP com OBS (SOUZA, SOUZA, BOTELHO, 2012; AMEEN et al., 2014).

Além desses, outro tipo de onicomiose ocasionada pela levedura *Candida* possui quatro características clínicas distintas como: associação com paroníquia crônica, distrofia, candidíase crônica mucocutânea, onicólise distal tendo essa aspecto idêntico a OSLD. A contaminação por *Candida* spp. nas unhas são comumente relacionadas a uso de corticóides, imunossupressão, insuficiência vascular periférica, pessoas convivendo com HIV/AIDS (AMEEN et al., 2014).

2.1.2. Aspectos laboratoriais

A investigação laboratorial é fundamental para estabelecimento do diagnóstico correto, uma vez que algumas disfunções como: psoríase, onicólise, onicogribose, traumas, podem parecer clinicamente com a onicomiose. O diagnóstico laboratorial é feito através do exame direto e da cultura das escamas ungueais coletadas da área comprometida da unha, de acordo com cada caso clínico (AMEEN et al., 2014).

2.2 EPIDEMIOLOGIA DAS ONICOMICOSSES

O fato de não ser uma doença de notificação compulsória, os dados epidemiológicos são imprecisos, porém a literatura descreve como sendo a onicopatia de maior prevalência, cerca de 50% dos casos e no mundo afetando um percentual aproximado de 20% da população. Os dermatófitos são os agentes etiológicos mais encontrados nos achados laboratoriais seguidos pelas leveduras e os fungos filamentosos não dermatófitos. (RIBEIRO et al., 2014, AMEEN et al., 2014).

O sexo feminino se apresenta como o gênero de maior prevalência da onicomiose e a faixa etária mais acometida é acima de 40 anos de idade, sendo pouco comum em crianças. Indivíduos que exercem atividades em contato constante com água e com produtos químicos

podem ter maior probabilidade de desenvolver a doença (LIMA, RÊGO, MONTENEGRO, 2007; RIBEIRO et al., 2014; MONTARIN, GOTTARDO, COLOMBO, 2015).

Os dados sobre gênero mais afetado, região anatômica e agente etiológico podem variar de acordo com a região geográfica e situação sócio-econômica e cultural da população afetada (SIU et al., 2013; AKTHA, SHARMA, PATHAK, 2015).

2.3 TRATAMENTOS

A escolha terapêutica por tratamento tópico, sistêmico ou combinado varia de acordo com o comprometimento da lâmina ungueal e o estado clínico do paciente. Os efeitos colaterais dos antifúngicos orais como: gastrite, hepatopatias e interação com outras drogas, aliados ao alto custo, e longa duração do tratamento requer um manejo individualizado para se obter uma maior adesão por parte dos pacientes (STEINER, GASQUEZ, GATTI, 2014).

O uso de medicação sem indicação médica, tratamentos cosméticos, por alguns indivíduos, associado a falta de cuidados com a higiene pode acarretar na progressão da doença, e talvez justifique o crescimento contínuo de pessoas com a onicomicose (SILVA, DOIMO, FARIA, 2011; SCHIMITT et al., 2013; STEINER, GASQUEZ, GATTI, 2014).

Entre as drogas de uso comum para onicomicoses estão a terbinafina, itraconazol, fluconazol, efaconazol solução. A Sociedade Brasileira de Dermatologia, no Manual de conduta nas onicomicoses - Diagnóstico e Tratamento (2005), indica como terapia tópica: amolrofina 5%, cicloporix olamina 8% ambos esmaltes e tiaconazol 28% solução; para terapêutica sistêmica: a griseofulvina, terbinafina, itraconazol, fluconazol; outro procedimento ainda sugerido é a avulsão parcial da lâmina para facilitar a permeação dos princípios ativos e diminuir a massa crítica dos fungos. A combinação de drogas também é uma opção de tratamento, exigindo avaliação do profissional médico. (RUIZ, CHIACCHIO, 2005; SILVA, DOIMO, FARIA, 2011; ELEWSKI, TOSTI, 2015).

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Diagnosticar e caracterizar as onicomicoses em pacientes atendidos em um serviço dermatológico público federal no Nordeste do Brasil.

3.2 Objetivos Específicos

Diagnosticar os casos suspeitos de onicomicoses através de procedimentos laboratoriais micológicos.

Descrever o perfil epidemiológico dos pacientes diagnosticados.

Determinar o perfil de susceptibilidade dos isolados clínicos aos antifúngicos comercialmente disponíveis.

Identificar os isolados de *Candida ao taxa* de espécie.

Correlacionar aspectos clínicos com o agente etiológico.

4. METODOLOGIA

4.1 POPULAÇÃO ALVO

Pacientes de ambos os sexos, com diagnóstico clínico de onicomicose em um serviço dermatológico público federal

4.2 REALIZAÇÃO DO DIAGNÓSTICO MICOLÓGICO

A coleta do material se fez por raspagem/escarificação da unha, com auxílio de lâmina de bisturi estéril, após higienização da área afetada com álcool a 70°, até obter quantidade necessária de escamas ungueais.

As amostras foram acondicionadas em placas estéreis para a realização do exame direto e cultura. Para verificar possíveis estruturas fúngicas microscópicas, foi realizado o exame direto utilizando solução de KOH entre 20% e 40%. Escamas finas das unhas foram dispostas sobre a solução de KOH seguida da sobreposição da lamínula, a visualização por microscopia, sendo realizada no mesmo dia da coleta.

Outra parte das amostras ungueais foram distribuídas em sete pontos da placa de Petri em meio Ágar Sabouraud Dextrose suplementado com cloranfenicol. As placas semeadas foram mantidas em estufa com temperatura média de 36°C por até quatro semanas e periodicamente verificadas para análise morfológica macroscópica e comparação com o exame direto.

4.3 PURIFICAÇÃO E IDENTIFICAÇÃO DOS ISOLADOS

Foram colocados fragmentos da colônia em água destilada esterilizada adicionada de 50 mg/L cloranfenicol. Desta suspensão 0,2mL semeados por esgotamento na superfície do meio ágar Sabouraud com antibiótico contido em placas de Petri. Posteriormente, as colônias foram repicadas para tubos de ensaio contendo meio específico, de acordo com o fungo isolado, para posterior identificação. Após serem obtidas culturas puras, estas foram identificadas por

taxonomia clássica de acordo com as características macroscópicas e microscópicas (BARNNET et al., 2000; HOOG; GUARRO, 2000).

4.4 IDENTIFICAÇÃO PROTEÔMICA POR MALDI-TOF MS

Concomitantemente, as amostras clínicas foram semeadas em duplicata na superfície do meio ágar Sabouraud (DIFCO) adicionado de 50 mg/L de clorafenicol contido em placas de Petri, mantidas em temperaturas de 30° C e 37° C por até 15 dias (LACAZ et al., 2002). Após o surgimento das colônias com macroscopia sugestiva de levedura, foram purificadas e identificadas por proteômica através de Espectrometria de Massas pela técnica de MALDI-TOF MS (LIMA-NETO et al., 2014).

4.4.1. Análise proteômica

Para identificação foram utilizadas suspensões dos isolados clínicos de leveduras cultivadas e mantidas em meio Dextrose Peptona Extrato de Levedura (YEPD) a 35° C por 24 horas. Os isolados foram submetidos à análise através da extração proteica por espectrometria de massas (MALDI-TOF Autoflex III Bruker Laser Nd:Yag smartbeam, Bruker Daltonick Inc., USA/Germany). Sumariamente, aproximadamente três a cinco colônias fúngicas foram transferidas para tubos Eppendorf de 1,5 mL misturadas completamente em 300 µL de água destilada e esterilizada e agitadas ao vortéx. Em seguida adicionado 900 µL etanol absoluto, o conteúdo foi cuidadosamente homogeneizado e então centrifugado a 12.000rpm durante 2 min; o sobrenadante foi descartado e o sedimento seco a temperatura ambiente. O pellet foi misturado com 50 µL de ácido fórmico (70%), levado ao vortéx, em seguida foi adicionado 50 µL de acetonitrila e homogeneizado sobre o vórtex.

A solução foi então centrifugada a 12.000 rpm durante 2 min, e 1 µL do sobrenadante foi colocado em duplicata sobre uma placa de aço, seco a temperatura ambiente a 25° C. Posteriormente, cada amostra foi revestida com 1µL de solução de matriz, o qual consisti de

uma solução saturada de α -ciano- Ácido 4 hidroxí-cinâmico (HCCA) em 50% de acetonitrila e 2,5% ácido trifluoroacético (concentração final: 10 mg HCCA/mL) e seca a temperatura ambiente a 25°C. A placa alvo em aço polido de MALDI-TOF MS foi subsequentemente introduzida no espectrômetro de massas para obtenção dos espectros proteicos.

Os espectros para determinação dos isolados a partir de cada perfil protéico foram obtidos através de um laser Nd: YAG (neodymium-doped yttrium aluminium garnet; Nd:YAG Nd:Y₃Al₅O₁₂) de 1064nm, onde a intensidade do laser foi ajustada ligeiramente acima do limiar para a produção de íons. Um kit protéico (protein calibration standart I, Bruker Daltonics, Bilerica, MA, USA) com conhecidos valores de massa das proteínas, foram usadas para calibração. A variação de massa entre 2.000 a 20.000 Da foi registrado usando modo linear com pulso de 104 ns em uma voltagem de +20 kV. Espectros finais foram gerados através da soma de 300 tiros de laser acumulados por perfil e oito perfis produzidos por amostra, levando a um total de 2.400 disparos de laser somados por espectro. A lista de picos obtidos foi exportada ao software Biotyper™ (Biotyper system, versão 3.0) onde as identificações finais foram determinadas. Identificação através do software Biotyper™ foi baseada apenas na presença ou ausência de cada pico no espectro.

4.5. TESTE DE SUSCEPTIBILIDADE ANTIFÚNGICA *IN VITRO*

A técnica utilizada seguiu o protocolo M27-A3 (CLSI, 2008) para leveduras e o M38-A2 (CLSI, 2008) para fungos filamentosos. O meio de cultura utilizado foi o RPMI 1640 (Sigma-Aldrich, EUA) com L-glutamina e sem bicarbonato de sódio, pH 7,0 \pm 0,1, com ácido morfolino propano sulfônico (MOPS; 0,165 mol. L⁻¹; Sigma-Aldrich). O meio de cultura foi esterilizado em membranas de 0,22 μ m (Millipore, Darmstadt, Alemanha). Os agentes antifúngicos comerciais utilizados foram cetoconazol, itraconazol, fluconazol, ciclopirox oxalamina para leveduras, e cetoconazol, itraconazol, fluconazol e terbinafina para

dermatófitos e FFND. Concentrações do cetoconazol de 0,03 a 16 $\mu\text{g. mL}^{-1}$, do fluconazol nos intervalos de 0,125 a 64 $\mu\text{g. mL}^{-1}$, da terbinafina de 0,125 a 64 $\mu\text{g. mL}^{-1}$, do itraconazol de 0,03 a 16 $\mu\text{g. mL}^{-1}$ e da ciclopiroxolamina nos intervalos de 0,06 a 32 $\mu\text{g. mL}^{-1}$.

Os isolados clínicos de *Candida* obtidos a partir escamas ungueais foram mantidos em meio Agar Sabouraud Dextrose (SDA) e incubados a 35°C por 24 horas. As suspensões dos isolados foram preparadas em solução salina, e sua densidade ajustada de acordo com a escala 0,5 de MacFarland em 90% da transmitância utilizando um espectrofotômetro em comprimento de onda de 530nm. O volume do inóculo foi ajustado para 5,0 mL e diluído seriadamente de 1:100 em solução salina esterilizada e, posteriormente, diluído em 1:20 diretamente em RPMI 1640, passando de uma concentração de $2\text{-}5 \times 10^6$ para $0,5\text{-}1 \times 10^3$ céls.mL⁻¹.

Os isolados clínicos de dermatófitos e FFND obtidos a partir escamas ungueais foram mantidos em meio Agar Batata Dextrose (BDA) e incubados a 35°C por 7 dias. As suspensões dos isolados foram preparadas em solução salina com tween, e sua densidade ajustada de em 80-82% da transmitância para *Aspergillus* sp e *Scitaldium* sp, 68-70% para *Fusarium* sp e 60-65% para *Trichophyton.sp* utilizando um espectrofotômetro em comprimento de onda de 530nm. O volume dos inóculos foram ajustados para 5,0 mL e diluídos em 1:50 diretamente em RPMI 1640, passando de uma concentração de $2\text{-}4 \times 10^6$ para 5×10^4 UFC/mL, aproximadamente.

Nos testes de sensibilidade foram utilizadas placas de microtitulação planas de 96 poços (TPP; Trasadingen, Suíça). O inóculo foi adicionado aos poços com os antifúngicos a serem testados, e as placas foram incubadas a 35 °C durante 24 horas e 48 horas para determinação das Concentrações Inibitórias Mínimas (CIM). As CIM para o cetoconazol, ciclopirox

olamina, fluconazol e itraconazol foram determinadas para 50% de inibição em relação aos poços controles para leveduras.

Para os FFND e os dermatófitos a CIM ficou estabelecida em 50% para cetoconazol e fluconazol e 80% para itraconazol e terbinafina embora não haja um padrão estabelecido para esse último fármaco, a leitura foi realizada em 48h para FFND e 96h para dermatófitos. Os testes foram realizados em duplicata.

4.6 DESENHO EXPERIMENTAL

Essa é uma pesquisa transversal e prospectiva com abordagem experimental qualitativa, laboratorial e descritiva.

4.7. COLETA DE DADOS

Uma ficha padrão (Apendice A) foi utilizada para documentar dados clínicos e epidemiológicos dos pacientes com onicomicoses, coletados através de entrevista, sendo posteriormente armazenados em um banco de dados. A apresentação clínica será descrita conforme a classificação de Hay e Baran (2011), que inclui onicomicose subungueal lateral e distal (OSLD), onicomicose branca superficial (OBS), onicomicose subungueal proximal (OSP), onicomicose endonix (OE), onicomicose distrófica total (ODT) e onicomicose de padrão misto (OM).

4.8. ANÁLISE DE DADOS

Com o objetivo de caracterizar a amostra estudada, serão apresentadas em forma de tabelas ou gráficos, as frequências relativas (percentuais) e absolutas (N) das classes de cada variável qualitativa. Para as variáveis quantitativas serão utilizadas médias e medianas para resumir as informações, e valores, mínimo e máximo para indicar a variabilidade dos dados.

Inicialmente foi feita uma análise de homogeneidade entre os grupos, com relação as variáveis demográficas e basais, para verificar se são similares, pois o objetivo é que eles sejam iguais e a única diferença entre eles seja o tratamento recebido.

Para a comparação dos grupos com relação as variáveis qualitativas, foi aplicado o teste Exato de Fisher. No caso de suposição de normalidade foi aplicado o teste de Kolmogorov-Smirnov.

Foram considerados estatisticamente significantes os resultados cujos níveis descritivos (valores de p) forem inferiores a 0,05. Os cálculos estatísticos foram realizados no software SPSS para Windows versão 18.0 - Statistical Package for the Social Science.

4.9 PERÍODO DE REFERÊNCIA

O estudo proposto foi realizado no período de agosto de 2016 a julho de 2017

4.10 CONSIDERAÇÕES ÉTICAS

A pesquisa teve início após aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco. Foram utilizados dados primários obtidos a partir de entrevistas (Apendice A), além da coleta de material biológico. Dessa forma os entrevistados assinaram e receberam cópia do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Apendice B)

5. RESULTADOS (Manuscrito do artigo a ser publicado)

ONICOMICOSE: DIAGNÓSTICO, IDENTIFICAÇÃO, SUSCEPTIBILIDADE FÚNGICA

Resumo

Introdução: A onicomicose é uma doença crônica ungueal, que afeta a população mundial, e que apresenta crescente número de pessoas infectadas nas últimas décadas. Entre os agentes etiológicos encontram-se as leveduras, dermatófitos e fungos filamentosos não dermatófitos, podendo variar de acordo com sítio anatômico, condição do indivíduo e localização geográfica. A identificação laboratorial se faz necessária, visto que há uma variedade de agentes causadores e resposta diferenciada aos fármacos existentes. Essa pesquisa objetivou diagnosticar a doença, identificar os isolados fúngicos e sua suscetibilidade aos antifúngicos.

Método: Foram avaliados pacientes atendidos em um serviço público de referência, no período de agosto de 2016 a julho de 2017, apresentando lesões sugestivas para o diagnóstico laboratorial micológico. Assim, foi realizado através de exame microscópico direto clarificado com Hidróxido de Potássio (KOH) a 20% e cultura em meio de cultivo ágar Sabouraud dextrose adicionado de cloranfenicol a 2% (p/v) para todas as amostras clínicas coletadas. Após 15 dias de incubação a 35-37 °C, os aspectos macro e microscópicos das colônias foram analisados para identificação. A identificação das leveduras foi concluída por análise proteômica através de MALDI-TOF MS. Foram realizados testes de susceptibilidade antifúngica *in vitro* para todos os agentes etiológicos isolados. **Resultados:** Dentre os 196 pacientes que apresentaram características clínicas sugestivas de onicomicose, foram coletadas 224 amostras. Nos exames laboratoriais micológicos, 119 amostras foram diagnosticadas positivamente para onicomicose, sendo 77 (39,28%) dos casos ocorridos em indivíduos do gênero feminino e a região das unhas das mãos teve maior frequência com 61 (31,12%) dos casos. O agente etiológico mais isolado foram as leveduras pertencentes ao

gênero *Candida* (76,47%), seguidas dos não dermatófitos 19 (15,97%) destacando o gênero *Fusarium* 14 (11,76%) e dermatófitos 8 (6,72%). As agentes fúngicos isolados, foram submetidos ao teste de sensibilidade de diluição em caldo. As leveduras apresentaram menores CIM para cetoconazol, 25 (89,28%) dos isolados foram sensíveis, 22 (78,58%) isolados foram sensíveis ao fluconazol, para a ciclopirox olamina 24 (85,71%) dos isolados apresentaram CIM baixa categorizando sensibilidade. As leveduras apresentaram maior resistência ao itraconazol apenas 11 (39,3%) foram sensíveis. Entre os dermatófitos (2), um isolado apresentou sensibilidade para todas as drogas testadas, enquanto o outro apenas para terbinafina. Para os 8 isolados de fungos não dermatófitos, o isolado do *Scytalidium dimidatum* apresentou sensibilidade apenas ao cetoconazol, 6 apresentaram resistência ao cetoconazol, fluconazol, itraconazol e terbinafina, e um isolado não houve crescimento em nenhum dos poços. **Conclusão:** As leveduras foram os agentes etiológico de maior frequência, assim como o gênero feminino e a área das mãos foi a mais afetada, associada a ocupação do lar, que demonstra maior contato com umidade. As drogas *in vitro* se mostraram mais efetivas para leveduras destacando, cetoconazol e fluconazol, contudo diferente com ciclopirox olamina, as quais forma menos resistentes. A terbinafina mostrou ser a droga de escolha para os dermatófitos e os FFND mostram resistência a todas as drogas testadas, com mínimos casos de amostra suscetível. A combinação de fármacos sistêmicos e orais pode ser uma solução para o tratamemto da onicomicose por fungos não dermatófitos. O perfil da doença muda com frequência, o que sugere estudos periódicos. As frequentes recidivas, podem estar relacionadas ao alto custo e longo prazo de tratamento, orientações a comunidade podem mudar esse perfil, inclusive diminuindo a infecção.

Palavras chaves: Onicomicose. Identificação. Suscetibilidade. Levedura.

1 INTRODUÇÃO

A onicomicose é uma doença que afeta as unhas das mãos e pés, acomete homens e mulheres e é pouco comum em crianças. As leveduras, dermatófitos e fungos filamentosos não dermatófitos constituem agentes etiológicos desta micose superficial. Nas últimas décadas tem ocorrido aumento de casos de onicomicoses, devido ao crescimento populacional, e terapias extensas com antibióticos e corticóides.^{1,2,3} O aspecto clínico da onicomicose pode variar entre hiperqueratose, mudança na coloração, descolamento distal da lâmina, e pode ser mau diagnosticado com outras doenças como, paroníquia, psoríase, liquen plano⁴. A onicomicose promove prejuízos como diminuição da autoestima, reduz a capacidade funcional e interferência nas atividades da vida diária⁵. A doença desenvolve-se a partir de fatores predisponentes, tais quais, a deformidade nas unhas, indumentária e hábitos inadequados, diabetes, genética, angiopatia, imunossupressão e pacientes imunodeprimidos que apresentam frequência mais alta, comparado com pacientes imunocompetentes.⁶ Estudos realizados em vários países relataram a presença da onicomicose em todo mundo observando aspectos como população, faixa etária, sexo, hábitos culturais e distribuição geográfica^{7,8,9,10}. Aqui, o objetivo foi diagnosticar e caracterizar as onicomicoses em pacientes atendidos em um serviço dermatológico público de referência no Nordeste do Brasil.

2 MÉTODOS

No período entre agosto 2016 e julho de 2017 foram realizadas coletas de questionário e material biológico em pacientes com lesão sugestiva de onicomicose, no Serviço Público de Dermatologia e diagnóstico laboratorial no Laboratório de Micologia Médica, Centro de Biociências da UFPE. Para a realização do diagnóstico micológico foi realizada a coleta do material ungueal pelo método de escarificação abaixo da lâmina ungueal com auxílio de bisturi estéril sendo em seguida acondicionadas em placas estéreis para realização de exame direto e cultura. Para verificação de possíveis estruturas fúngicas microscópicas foi realizado

o exame direto utilizando solução de KOH a 20% sobre os espécimes clínicos em lâminas. Paralelamente o material foi inoculado na superfície do meio de cultura Ágar Sabouraud Dextrose suplementado com cloranfenicol 50mg/L e mantidas à temperatura média de 35-37 °C por até quatro semanas (LACAZ et al., 2002). Após a obtenção das culturas puras realizou-se a identificação por taxonomia clássica de acordo com as características macro e microscópicas no Laboratório de Micologia Médica do Centro de Biociências da UFPE. Adicionalmente, as leveduras foram submetidas à identificação através da extração protéica para espectrometria de massas por MALDI-TOF MS (LIMA-NETO et al 2014). Testes de sensibilidade antifúngica por diluição em caldo, foram realizados para todos os isolados (CLSI, 2008).

3 RESULTADOS

O diagnóstico laboratorial indicou que 108 (34,95%) pacientes tinham onicomicose, 77 (24,91%) pacientes eram do gênero feminino e 31 (10,03%) do sexo masculino. A faixa etária dos pacientes variou entre 10 - 94 anos. Os pacientes que tiveram o resultado conclusivo para onicomicose compreende a faixa etária média de 59 anos. Na Figura 1, é possível observar o histograma das frequências na idade dos pacientes por intervalo de 11 anos. Quanto a região afetada, o maior número de pacientes apresentou região de unhas das mãos mais acometida, e com uma frequência próxima as unhas dos pés, e pacientes com onicomicose nas unhas das mãos e pés concomitantemente, teve o menor percentual.

Em relação aos grupos de fungos nas amostras, destacaram-se as leveduras totalizando 92 (77,31%) dos achados, sendo um caso de levedura associada a *Fusarium* sp., os FFND contaram 19 (15,97%), enquanto os dermatófitos 8 (6,72%) achados. Dos agentes etiológicos todas as leveduras foram espécies de *Candida*, e entre os FFND, foram *Scytalidium* sp., *Aspergillus* sp. e *Fusarium* sp. Para os dermatófitos *Trichophyton* sp. foi único achado nas oito amostras.

Dentre as variáveis analisadas pelo Teste Exato de Fisher tivemos três variáveis cosignificância, a saber: Profissão/Sexo (p valor < 0,001), Agente Etiológico/Sexo (p valor = 0,001), Região afetada/Sexo (p valor = 0,001), onde rejeitamos H₀, e concluímos que existe diferença estatística na proporção entre cada uma delas. A ocupação mais frequente foi a relacionada ao ambiente do lar, onde o sexo feminino foi associado em sua totalidade. Ainda, para as pacientes do sexo feminino *Candida* sp. foi o agente etiológico mais frequente, (Figura 2), foram isoladas trinta e oito amostras de agentes causadores de onicomicoses, 73,70% identificadas como leveduras, 21,05% FFND e 5,30% dermatófitos. As leveduras foram submetidas a análise proteômica por MALDI TOF MS onde foram identificadas as seguintes espécies: *C. albicans* (03), *C. parapsilosis* (12), *C. tropicalis* (08), *C. orthopsilosis* (04). A variável agente etiológico e área afetada, evidenciou que uma maior incidência da levedura *Candida* sp. foi encontrada nas unhas das mãos. Para as unhas dos pés a prevalência foi de *Candida* sp., seguidos de *Fusarium* sp., *Trichophyton* sp., *Aspergillus* sp. e *Scytalidium* sp. e afetando mãos e pés 100% dos pacientes tiveram apenas *Candida* sp. como agente etiológico.

Os dermatófitos isolados tiveram a Concentração Inibitória Mínima (CIM) para terbinafina, menor que 0,125 µg/mL (suscetível), o isolado *T. mentagrophytes* 87, apresentou elevada CIM para cetoconazol, itraconazol e fluconazol, sendo categorizado como resistente. O isolado, *T. mentagrophytes* 263, teve leitura em valores mais baixos categorizando ser suscetível às quatro drogas testadas (tabela 01). Entre as amostras de FFND, foram oito os isolados, os fármacos foram os mesmos utilizados para os dermatófitos. Dos oito isolados, seis apresentaram valores altos de CIM (64 µg/mL e maior que 64 µg/mL), para a menor concentração inibitória com terbinafina, evidenciando resistência, apenas um apresentou leitura menor com CIM (32 µg/mL) categorizando suscetibilidade; para cetoconazol, para a amostra 442 do *Scytalidium* sp. a leitura foi compatível com suscetibilidade CIM, os outros

seis isolados, apresentaram concentrações mais altas demonstrando resistência. Para o fármaco fluconazol foram encontrados dois isolados com indicação de suscetibilidade ($32\mu\text{g/mL}$), enquanto quatro isolados apresentaram CIM maior que $64\mu\text{g/mL}$ e um com $64\mu\text{g/mL}$, o perfil de sensibilidade dos FFND frente ao itraconazol foi de $16\mu\text{g/mL}$ para três isolados e maior que $16\mu\text{g/mL}$ para quatro isolados, demonstrando resistência. O isolado de número 670 não apresentou crescimento em nenhum dos poços, conforme tabela 2.

As drogas utilizadas para os testes com leveduras foram o cetoconazol, fluconazol, itraconazol e ciclopirox oxalamina. Para *C. parapsilosis* os valores da CIM variaram entre $0,03125\mu\text{g/mL}$ – $0,5\mu\text{g/mL}$ em onze isolados, evidenciando suscetibilidade ao cetoconazol, apenas um apresentou resistência ($16\mu\text{g/mL}$), esse perfil foi semelhante para fluconazol ($0,125\mu\text{g/mL}$ - $2\mu\text{g/mL}$) em dez isolados, um com a leitura para dose-dependente ($4\mu\text{g/mL}$), e um resistente ($64\mu\text{g/mL}$). Apresentou maior resistência ao itraconazol, com quatro isolados com a CIM elevada ($4\mu\text{g/mL}$ - $16\mu\text{g/mL}$). Não há padronização para ciclopirox olamina, e o CLSI sugere que valores iguais ou maiores que $1\mu\text{g/mL}$ classifique o agente como resistentes, sendo assim, dois dos isolados de *C. parapsilosis* mostraram-se resistentes a ciclopirox olamina com CIM iguais a $1\mu\text{g/mL}$ e $2\mu\text{g/mL}$. Dos isolados de *C. tropicalis* suscetíveis ao cetoconazol 7 apresentaram CIM entre $0,03125\mu\text{g/mL}$ - $8\mu\text{g/mL}$, apenas um foi resistente com leitura em $16\mu\text{g/mL}$; ao fluconazol os valores foram $0,0125\mu\text{g/mL}$ a $8\mu\text{g/mL}$ para cinco isolados suscetíveis, $16\mu\text{g/mL}$ para um dose-dependente e apenas um resistente com leitura em $64\mu\text{g/mL}$. Para o itraconazol houve maior resistência $1\mu\text{g/mL}$ a $16\mu\text{g/mL}$ para seis isolados, um dose-dependente com $0,5\mu\text{g/mL}$ e um suscetível com taxa de CIM em $0,03125\mu\text{g/mL}$. Considerando o padrão aplicado anteriormente para ciclopirox olamina a *C. tropicalis* evidenciou seis isolados com leitura ente $0,125\mu\text{g/mL}$ - $05\mu\text{g/mL}$ e apenas dois entre $1\mu\text{g/mL}$ e $2\mu\text{g/mL}$ categorizando resistência. Os valores para *C. orthopsilosis* variaram em $0,03125\mu\text{g/mL}$ a $8\mu\text{g/mL}$ para isolados suscetíveis ao cetoconazol e apenas um com

leitura em 16 µg/mL, evidenciando resistência. Ao itraconazol as amostras suscetíveis apresentaram leitura em 0,125 µg/mL, apenas um dose-dependente, 0,5 µg/mL; ao fluconazol, todos os isolados foram suscetíveis (0,25 µg/mL - 2 µg/mL), um isolado apresentou resistência a ciclo olamina (1 µg/mL). Para *C. albicans*, frente ao cetoconazol e fluconazol todas as apresentaram baixas leituras para todos os isolados, categorizando, como suscetíveis. Dessa forma apenas para itraconazol foi evidenciado resistência para um dos isolados (16 µg/mL) e dose-dependente (0,5 µg/mL) para outro; a leitura para ciclopirox olamina foi de 0,25µg/mL para todas as amostras, não houve índice de resistência. Os valores das CIM podem ser vistos na Tabela 3. Dos pacientes atendidos com suposição de infecção fúngica, 55 preencheram questionários onde identificavam o tipo clínico de onicomicose, o tempo de início dos sintomas, agente etiológico e tratamentos. Em 38 dos questionários preenchidos, os exames direto e cultura, diagnosticaram onicomicose. Dessa forma, os dados coletados indicaram 21 pacientes com OSLD, 09 com ODT, 07 com OM. Os que apresentaram OSLD teve *Candida* sp como principal agente etiológico 16 (42,10%), foi encontrado ainda *Fusarium* sp. em 3 (7,89%) amostras, apenas 01 (2,63%) infectado por *T. mentagrophytes* e 01(2,63%) infecção associada com *Candida* sp. e *Fusarium* sp. Para o padrão ODT, *Candida* sp. 05 (13,16%), *Fusarium* sp. 01 (2,63%), *Trichophyton* sp. 01 (2,63%) e associado *Candida* sp. e filamentosos 2 (5,26%). Os pacientes com OM foram 07, 01 (2,63%) teve infecção por *Fusarium* sp., 01 (2,63%) associado *Candida* sp. e *Fusarium* sp., e 5 (13,16%) infectado por *Candida* sp. O relato dos entrevistados mostrou que 16 (42,10%) deles contabiliza de 1-4 anos o início da doença, 13 (33,21%) pacientes afirmaram ter os sintomas entre 5-10 anos, enquanto 5 (13,16%) deles indicam ter as características clínica há mais de 10 anos. Entre os pacientes, 25 (65,78%) afirmaram ter realizado tratamento anterior sem sucesso.

4 DISCUSSÃO

A faixa etária média nesta pesquisa foi de 59 anos, sendo a maior frequência entre 54-64 anos. A incidência da doença em pessoas idosas possivelmente se dá por conta do crescimento lento das unhas, bem como pela dificuldade em cortá-las, e da presença por vezes, de doenças de base como diabetes e também por traumas repetitivos. Em crianças é pouco comum talvez pelo crescimento rápido da unha e tamanho da mesma.^{6,8,18} No Brasil, estudos em Recife, São Paulo, São José do Rio Preto identificaram a mesma faixa etária média, como de maior ocorrência da doença entre os pesquisados, assim como raros casos em crianças. Esses dados corroboraram com os que encontrados nesta pesquisa.^{7,8,16}

O contato excessivo com umidade, e produtos químicos são considerados agravantes para o aparecimento da onicomicose, entre as ocupações das mulheres com a onicopatía neste estudo, predominou as atividades relacionadas ao lar, e o sítio anatômico de maior prevalência foram as unhas das mãos, estudos no Brasil e em outras partes do mundo como Guatemala, Índia, Estados Unidos, também indentificaram o mesmo perfil.^{7,8,16,17} Quanto aos agentes etiológicos mais prevalentes, algumas autores apontam os dermatófitos e o *T.rubrum* é o isolado mais comum.^{6,17,18} Divergindo desses, a levedura do gênero *Candida* foi o agente etiológico mais isolado nesta pesquisa, para ambos os sexos e regiões afetadas, entre os estudos que coletaram dados semelhantes, há um estudo descritivo realizado em São Paulo.^{7,16,19} Nesta pesquisa foi realizada a identificação por análise proteômica das levedurasn isoladas e purificadas, e 100% das amostras foram positivas para *Candida* sp. A *C. albicans* é comumente encontrada como agente causador nas onicomicoses sendo vista em alguns estudos como principal espécie entre as leveduras.¹⁶ Neste estudo a espécie prevalente foi *C. parapsilosis* corroborando com os dados achados em outros estudos.⁷ A *C. tropicalis*, e *C. orthopsilosis* também foram identificadas e com frequência superior a *C.albicans* que teve um número de três, das amostras identificadas. Os FFND foram o segundo grupo mais frequente,

como contaminante no presente estudo, tendo como prevalente o *Fusarium* sp, seguido de *Aspergillus* sp., e *Scybalidium*.sp. Os FFND tem crescido como agentes causadores das infecções fúngicas ungueais.¹⁸ Os dermatófitos, isolados neste estudo, foram da espécie *T.mentagrophytes*, mostrando um perfil diferente do encontrado em alguns estudos realizados onde a espécie *T.rubrum* tem sido relatada como a mais comum por diferentes pesquisadores.^{6,8,17} No Brasil estudos realizados em, Rio de Janeiro (2004), Goiás (2005), Recife (2009), São José do Ribeião Preto (2015), apresentaram o mesmo padrão de agentes causadores da onicomicose, apenas um estudo realizado em São Paulo, obteve *T.rubrum* como agente causador prevalente.^{7,14,16,17,19,20}

Cada espécie causadora da onicomicose produz lesões específicas na lâmina. No presente estudo segundo o padrão morfológico das unhas afetadas encontramos OSLD, com maior frequência seguida, ODT e OM, não ocorreram casos de OSB, nem OP. A lesão característica de OSLD é relacionada a infecção por dermatófitos, porém na candidose ungueal as características são idênticas dificultando a diferenciação do agente etiológico apenas pelo padrão morfológico. A ODT é considerada uma evolução dos outros padrões, onde toda a unha é destruída, hiperqueratose, e modificação do relevo. Os dados para o tipo clínico da onicomicose neste estudo se assemelham com outros estudos, porém diferem quanto a relação agentes etiológicos/padrão clínica.^{6,15,18,20}

TABELAS

Tabela 1 - Suscetibilidade antifúngica *in vitro* dos dermatófitos isolados a partir das escamas ungueais de pacientes de um serviço público.

Nº ID paciente	Gênero	CIM (µg/mL)			
		Cetoconazol	Itraconazol	Fluconazol	Terbinafina
87	<i>Tricophyton mentagrophytes</i>	16	16	64	<0,125
263	<i>Tricophyton mentagrophytes</i>	<0,03125	<0,03125	0.5	<0,125

Tabela 2 - Suscetibilidade antifúngica *in vitro* de fungos filamentosos não dermatófitos isoladas a partir das escamas ungueais de pacientes de um serviço público.

Nº do ID paciente	Gênero	CIM (µg/mL)			
		Cetoconazol	Itraconazol	Fluconazol	Terbinafina
11A	<i>Aspergillus</i> sp	16	16	64	>64
94	<i>Fusarium</i> sp	16	>16	>64	64
151	<i>Fusarium</i> sp	4	16	32	64
260	<i>Fusarium</i> sp	16	16	>64	64
442	<i>Scytalidium</i> sp	0,03125	>16	32	>64
670*	<i>Fusarium</i> sp	-	-	-	-
825	<i>Fusarium</i> sp	8	16	>64	>64
879C	<i>Fusarium</i> sp	>16	>16	>64	32

Tabela 3 - Suscetibilidade antifúngica *in vitro* de *Candida* sp isoladas a partir das escamas ungueais de pacientes de um serviço público.

Nº do ID paciente	Espécie Isolada	CIM (µg/mL)			
		Ceto	Fluco	Itra	Ciclo
36	<i>C. parapsilosis</i>	(S)0,25	(S)2	(S)0,03125	0,5
37 A	<i>C. parapsilosis</i>	(S)0,125	(S)2	(R)16	0,25
79	<i>C. tropicalis</i>	(S)0,03125	(S)0,125	(R)1	2
103	<i>C. parapsilosis</i>	(S)0,0625	(S)1	(S)0,0625	0,5
120	<i>C. parapsilosis</i>	(R)16	(S)0,5	(S)0,125	0,5
167	<i>C. tropicalis</i>	(S)1	(R)8	(R)1	1
185 ^a	<i>C. tropicalis</i>	(S)8	(R)16	(R)16	0,5
185B	<i>C. parapsilosis</i>	(S)0,0625	(S)2	(SDD)0,5	1
191 ^a	<i>C. albicans</i>	(S)8	(S)0,125	(R)16	0,25
192	<i>C. tropicalis</i>	(S)2	(R)64	(R)16	0,5
198	<i>C. albicans</i>	(S)0,03125	(S)0,5	(S)0,125	0,25
200	<i>C. parapsilosis</i>	(S)0,03125	(S)0,25	(SDD)0,25	0,25
206	<i>C. parapsilosis</i>	(S)0,125	(S)0,5	(R)4	2
239	<i>C. tropicalis</i>	(S)1	(R) 64	(R)16	0,25
266	<i>C. tropicalis</i>	R(16)	(S)0,5	(R)16	0,125
273	<i>C. tropicalis</i>	(S)0,5	(S)2	(S)0,03125	0,5
281	<i>C. parapsilosis</i>	(S)0,5	(SDD)4	(R)1	0,25
283	<i>C. orthopsilosis</i>	(S)0,125	(S)2	(S)0,125	0,25
286	<i>C. tropicalis</i>	(S)2	(S)1	(SDD)0,5	0,125
298	<i>C. albicans</i>	(S)0,03125	(S)0,25	(SDD)0,5	0,25
299	<i>C. orthopsilosis</i>	(S)0,03125	(S)0,25	(SDD)0,25	1
306	<i>C. orthopsilosis</i>	(R)16	(S)1	(S)0,125	0,25
625	<i>C. parapsilosis</i>	(S)0,25	(R)64	(R)8	0,25
628	<i>C. parapsilosis</i>	(S)0,03125	(S)0,5	(S)0,125	0,25
669 ^a	<i>C. parapsilosis</i>	(S)0,03125	(S)0,125	(S)0,125	0,25
698	<i>Candida sp*</i>	(S)0,03125	(S)0,5	(R)8	0,125
711 ^a	<i>C. orthopsilosis</i>	(S)8	(S)0,25	(S)0,125	0,25
843	<i>C. parapsilosis</i>	(S)0,0625	(S)2	(S)0,125	0,25

S=Suscetível, SDD=Sensibilidade Dose Dependente, R=Resistente. Não há padronização específica para ciclopirox oxalamina, nesses casos considera-se resistência igual ou acima de 1 µg/mL.

*Espécie não identificada.

ILUSTRAÇÕES

Figura 1

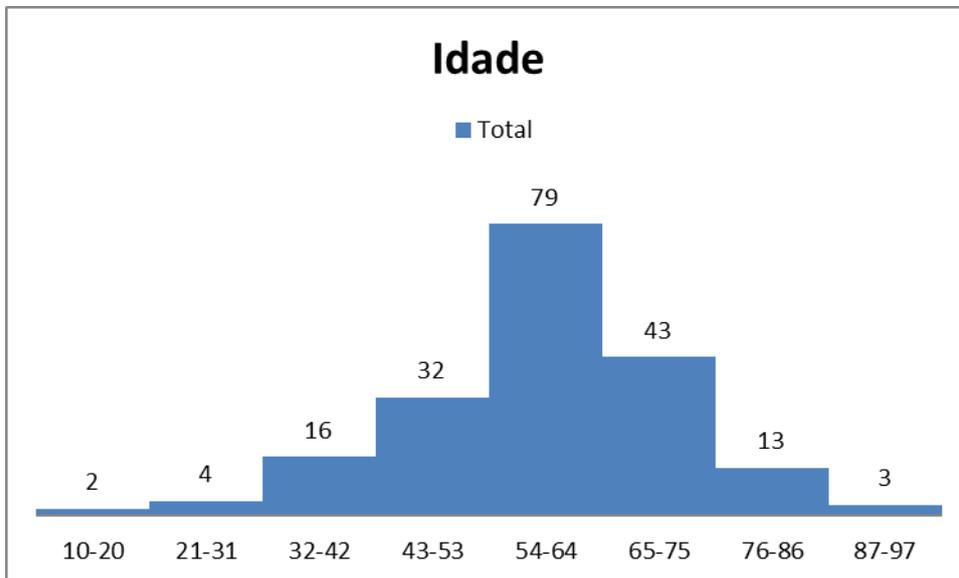


Figura 2

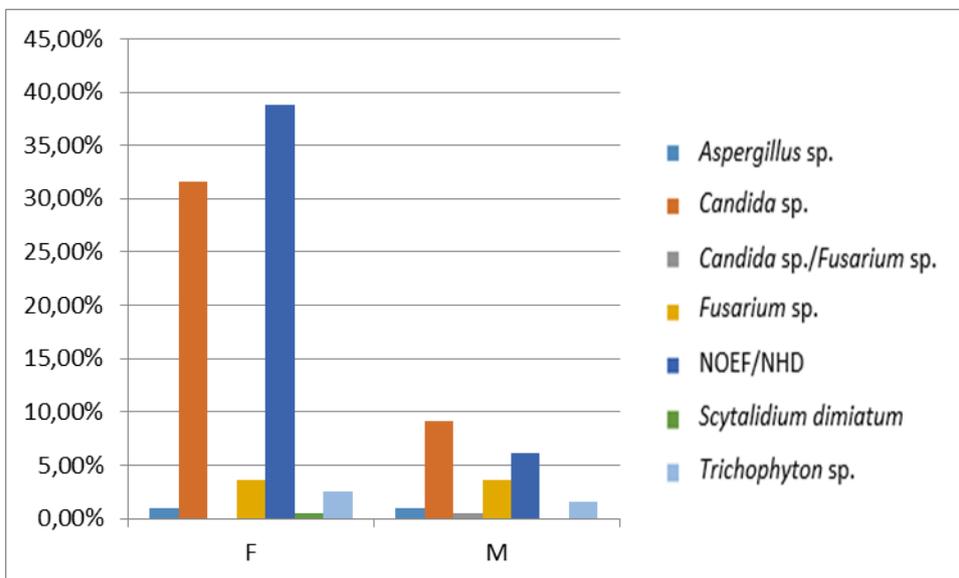


Figura1 Histograma das frequências para variável idade

Figura2 Gráfico de barras da relação sexo/agente etiológico

6.CONCLUSÃO

- O sexo feminino foi mais afetado pela onicomicose.
- A idade média dos indivíduos foi 59 anos.
- A região das unhas das mãos teve maior contaminação.
- O agente etiológico de maior frequência foram leveduras.
- A *C. parapsilosis* foi a espécie mais isolada.
- As leveduras tiveram melhor resposta aos antifúngicos.
- Os FFND foram os microorganismo mais resistentes aos antifúngicos.
- A onicomicose por dermatófitos foi menos frequente.
- A característica padrão mais frequente foi a OSLD
- A maioria dos pacientes realizam tratamento sem eficácia
- O agente etiológico, *Candida* sp, é principal responsável pela OSLD
- O relato de longa duração da doença caracteriza sua cronicidade.

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os dados coletados nesta pesquisa mostram um perfil da onicomicose na região, consideramos que mais estudos devem ser realizados no sentido de esclarecer a população, sobre os recursos para diagnosticar e tratar a doença, bem como tornar mais específico o diagnóstico, visto que a variedade de espécies causadoras responde de forma diferente aos fármacos disponíveis.

REFERÊNCIAS

- AKHTAR,N, SHARMA,H, PATHAK,K Onychomycosis: Potential of Nail Lacquers in Transungual Delivery of Antifungals **Hindawi Publishing Corporation Scientifica** Volume 2016, Article ID 1387936, 12 pages <http://dx.doi.org/10.1155/2016/1387936>
- ARAÚJO, JGA, SOUZA, MAJ, BASTOS, OMP, OLIVEIRA, JC. Onicomioses por fungos emergentes: análise clínica, diagnóstico laboratorial e revisão. **An Bras Dermatol.** 2003; 78(4): 445-455.
- ASIFA,N, FARHATH,K. Current mycological profile of onychomycosis in Kashmir valley: A hospital-based study Department of Microbiology, Government Medical College, Srinagar, Jammu and Kashmir, India2017 **Journal of Laboratory Physicians** DOI: 10.4103/JLP.JLP_131_16 Jul-Sep2017
- AZAMBUJA, CVA, PIMMEL, LA, KLAFKE, GB, XAVIER, MO. Onicomioses: investigação clínica e micológica e testes de suscetibilidade in vitro dos isolados de *trichophyton rubrum*. **An Bras Dermatol.** 2014; 89(4): 581-6.
- BARALDIA, JONES, AS, GUESNÉ,S, TRAYNOR,MJ, MCAULEY,WJ, BROWN,MB, MURDAN,S Human Nail Plate Modifications Induced by Onychomycosis: Implications for Topical Therapy **Pharm Res** (2015) 32:1626–1633 DOI 10.1007/s11095-014-1562-5
- BARBOSA, ML, BRITO, ED, TEIXEIRA, IA, NASSIF, PW A lesson in medicine through the nail: nail lesions related to systemic diseases Vol.4,n.1,pp.75-78 (Set - Nov 2013) **Brazilian Journal of Surgery and Clinical Research – BJSCR**
- BEJAR, V, VILLANEUVE, F, GUEVARA, JM, GONZALES, S, VERGARAY, G, NAPÁN, K., VELASQUE, L., VERGARAY, S. Epidemiologia de las dermatomycosis em 30 años de estudio em el Instituto de Medicina Tropical Daniel A. Carrión, Universidad Nacional Mayor de San Marcos Lima – Peru. **An Fac Med.** 2014; 75(2):167-72.
- CALADO, NB. Frequência e Etiologia das Dermatomycosis em pacientes atendidos no Hospital Giselda Trigueiro, Natal/RN. **Departamento de Ciências e Saúde - Universidade Federal do Rio Grande do Norte.**
- CEILLEY, RI. Fungus: New Treatment Options for Toenail Onychomycosis and Tinea Pedis. **Highlights of Skin Disease Education Foundation** 39th Annual Hawaii Dermatology Seminar. 6-8, 2015.
- CHAN, HHL, WONG, ET, YEUNG, CK,. Psychosocial perception of adults with onychomycosis: a blinded, controlled comparison of 1,017 adult Hong Kong residents with or without onychomycosis **BioPsychoSocial Medicine** 2014, 8:15
- COSTA, M, PASSOS, XS, SOUZA, LKH, MIRANDA, ATB, LEMOS, J A, OLIVEIRA, JGJ, SILVA, MRR. Epidemiologia e Etiologia das Dermatofitoses em Goiania GO, Brasil. **Rev. da Soc. Bras. Med Trop.** 35(1): 19-22, jan-fev. 2002.

ELEWSKI, BE, TOSTI, A Risk Factors and Comorbidities for Onychomycosis. **J. Aesthet. Dermatol**;11(8): 38-42, 2015

FERREIRA, MA, MARTINS, D. Ocorrência de espécies fúngicas isoladas a partir de mãos e unhas de trabalhadores. **Rev Bras Med Trab.** 2016;14(1):60-70

GELOTAR, P, VACHHANI, S, PATEL, B, MAKWANA, N. The prevalence of fungi in fingernail onychomycosis. **Journal of Clinical and Diagnostic Research**, 7(2), 250–252. doi:10.7860/JCDR/2013/5257.2739. 2013

GHANNOUM,M, ISHAM,N (2014) Fungal Nail Infections (Onychomycosis):A Never-Ending Story? **PLoS Pathog** 10(6): e1004105. doi:10.1371/journal.ppat.1004105

HAY,RJ, BARAN, R. Onychomycosis: A proposed revision of the clinical classification. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jaad.2010.09.730> December 2011 Volume 65, Issue 6, p1073-1294, e161-e216

HOY, NY, LEUNG,AKC, METELITSA, AI,ADAMS,S. Review Article New Concepts in Median Nail Dystrophy, Onychomycosis, and Hand, Foot, and Mouth Disease Nail **Pathology International Scholarly Research Network** ISRN Dermatology Volume 2012, Article ID 680163, 5 pages doi:10.5402/2012/680163

JESÚS-SILVA,MA, FERNÁNDEZ MARTÍNEZ, R, M ROLDÁN-MARÍN, R, ARENAS, R. Dermoscopic patterns in patients with a clinical diagnosis of onychomycosis—results of a prospective study including data of potassium hydroxide (KOH) and culture examination. **Dermatol Pract Concept** 2015;5(2):5. doi: 10.5826/dpc.0502a05

KIM,DM, SUH,M K, HA, GY, SOHNG,SH Fingernail Onychomycosis Due to *Aspergillus niger*. **Ann Dermatol** Vol. 24, No. 4, 2012

KIM,DM, SUH,MK, HA,GY Onychomycosis in Children: An Experience of 59 Cases **Ann Dermatol** Vol. 25, No. 3, 2013 <http://dx.doi.org/10.5021/ad.2013.25.3.327>

LACAZ, C. S.; PORTO, E.; MARTINS, J. E. C.; VACCARI, E. M. H.; MELO, N. T.; **Tratado de Micologia Médica**. 9º Ed. São Paulo; Sarvier, 2002.

LEELAVATHI,M, NOORLAILY,MN, LEELAVATHI,M, NOORLAILY,MN. Onychomycosis nailed. **Malaysian Family Physician** 2014; Volume 9, Number 1

LIMA, KM, RÊGO, RSM, MONTENEGRO, F. Diagnósticos Clínicos e Laboratoriais das Onicomicoses. **NewsLab** - edição 83 - 2007

LIMA,KM.,DELGADO,M., REGO,RSM.,CASTRO,CMMB., *Candida albicans* E *Candida tropicalis* ISOLADAS DE ONICOMICOSE EM PACIENTE HIV-POSITIVO: CO RESISTÊNCIA *IN VITRO* AOS AZÓLICOS **REVISTA DE PATOLOGIA TROPICAL** Vol. 37 (1):jan.-abr. 2008

LIMA-NETO, R.,SANTOS,C., LIMA.N.,SAMPAIO,P., PAIS,C., NEVES,RP. Application of MALDI-TOF MS for requalification of a *Candida* clinical isolates culture collection **Brazilian Journal of Microbiology** 45, 2, 515-522 (2014) ISSN 1678-4405

LONE1,R, BASHIR,D SHABIRAHMAD, SYED, A, SYEDKHURSHID A Study on Clinico-Mycological Profile, Aetiological Agents and Diagnosis of Onychomycosis at a Government Medical College Hospital in Kashmir.1983 **Journal of Clinical and Diagnostic Research**. 2013 Sept, Vol-7(9): 1983-1985

M, A, JT, L, V, M, MF ,MM, M, R British Association of Dermatologists' guidelines for the management of onychomycosis 2014 **British Journal of Dermatology**

MAGALHÃES, GM, SUCCI, ICB, SOUSA,MAJ Base for the histopathological study of nail lesions **An bras Dermatol**, Rio de Janeiro, 78(1):49-61, jan./fev. 2003.

MAIA, LC., and CARVALHO JUNIOR, AA. Introdução: os fungos do Brasil. In: FORZZA, RC., org., *et al.* INSTITUTO DE PESQUISAS JARDIM BOTÂNICO DO RIO DE JANEIRO. **Catálogo de plantas e fungos do Brasil [online]**. Rio de Janeiro: Andrea Jakobsson Estúdio: Instituto de Pesquisa Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2010. p. 43-48. Vol. 1. ISBN 978-85-8874-242-0.

MARTÍNEZ-HERRERA,EO, ARROYO-CAMARENA,S, TEJADA-GARCÍA,DL, PORRAS-LÓPEZ,CF, ARENAS,R Onychomycosis due to opportunistic molds DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/abd1806-4841.20153521> **An Bras Dermatol**. 2015;90(3):334-7.

McAULEY,WJ, JONES,AS, TRAYNOR, MJ, GUESNÉ,S, MURDAN, S, BROWN,MB An investigation of how fungal infection influences drug penetration trough onychomycosis patients nail **plates European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics** 102(2016) 178-184

MIRANDA,KC.,ARAUJO,CR.,KHRAIS,CHA.,LEMOS,JA.,COSTA,CR., SOUZA,LKH., PASSOS,XS., FERNANDES,OFL., SILVA,MRR., Identificação de leveduras do gênero *candida* nas unhas e em descamação de pele em goiânia (go), durante o ano de 2003 **Revista De Patologia Tropical** Vol. 34 (2): 123-128. maio-ago. 2005

MONTARIM, DTA, ALMEIDA, MTG, COLOMBO, TE. Onicomicoses estudo epidemiológico e micológico no município de São José do Rio Preto. **J Health Sci Inst**; 33(2): 118-21, 2015.

NCCLS. Método de Referência para Testes de Diluição em Caldo para a Determinação da Sensibilidade a Terapia Antifúngica das Leveduras; Norma Aprovada—Segunda Edição. NCCLS document M27-A2 [ISBN 1-56238-469-4]. NCCLS, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898 Estados Unidos, 2002.)

NCCLS. Método de Referência para Testes de Diluição em Caldo para Determinação da Sensibilidade a Terapia Antifúngica de Fungos Filamentosos; Norma Aprovada. Documento M38-A do NCCLS [ISBN 1-56238-470-8]. NCCLS, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898 Estados Unidos, 2002

OLIVEIRA, JC. **Tópicos em Micologia Médica**. 4ed Rio de Janeiro. 2014. 230 págs.

PAJAZITIL,VASILIE Treatment of Onychomycosis – a Clinical Study **Med Arh**. 2015 Jun; 69(3): 173-176

RIBEIRO,CSC, ZAITZ,C, FRAMIL,VMS, OTTOBONI,TSC, TONOLI,MSC, RIBEIRO,RP Descriptive study of onychomycosis in a hospital in São Paulo **Brazilian Journal of Microbiology** 46, 2, 485-492 (2015) ISSN 1678-4405 www.sbmicrobiologia.org.br DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S1517-838246220130541>

RUIZ LRB, CHIACCHIO ND. Manual de conduta nas onicomicoses Diagnóstico e tratamento. **Sociedade Brasileira de Dermatologia: Departamento de Cabelos e Unhas**. P 201.

SCHIMITT, JV, BOMBONATTO, G, TRIERWEILER, SM, FABRI, AB. Aspectos Gerais de Interações Medicamentosas com Antifúngicos Sistêmicos em um Estudo Amostral Retrospectivo. **An Bras Dermatol**. 2013; 88(3):481-5

SHAHZAD, M, ALZOLIBANI, AA, ROBACE, AAA, SAIF, GAB, BABIKIR, IHK, ABDEL-MAGIED, EM-ELSAYED, AE. Onychomycosis in Qassim region of Saudi Arabia: A clinic etiologic correlation. **Journal of Clinical and Diagnostic Research**, 8(8), 1–4. doi:10.7860/JCDR/2014/8277.4757. 2014

SHIRWAIKAR, AA, THOMAS,T, SHIRWAIKAR,A, LOBO,R, PRABHU,KS Treatment of Onychomycosis: An Update **Indian J Pharm Sci**. 2008 Nov-Dec; 70(6): 710–714. doi: 10.4103/0250-474X.49088

SCHOELER, AP, SGUISSARDI, CH, BERNARDI, E, CEMBRANEL, LR, FUENTEFRIA, AM. Prevalência de dermatófitos na rotina de micologia em hospital particular de médio porte na cidade de Chapecó, estado de Santa Catarina, Brasil. **Rev Ciênc Farm Básica Apl.**, 2010;31(1):103-106 ISSN 1808-4532

SINGAL A, KHANNA, D. Onychomycosis: Diagnosis and management. **Indian J Dermatol Venereol Leprol** 2011; 77: 659-72

SIU,WJJ, TATSUMI,Y, SENDA,H, PILLAI,R, NAKAMURA,T, SONE,D, FOTHERGILL,A Comparison of *In Vitro* Antifungal Activities of Efinaconazole and Currently Available Antifungal Agents against a Variety of Pathogenic Fungi Associated with Onychomycosis aac.asm.org **Antimicrobial Agents and Chemotherapy** p. 1610–1616 April 2013 Volume 57 Number 4

SOMENZI, CC, RIBEIRO, TS, MENEZES, A. Características Particulares da Micologia Clínica e o Diagnóstico Laboratorial de Micoses Superficiais. **NewsLab**, ed.77, 2006;106-118

SOUZA, LWF, SOUZA, SVT, BOTELHO,ACC **Endonyx toenail onychomycosis caused by Trichophyton rubrum: treatment with photodynamic therapy based on methylene blue dye** DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/abd1806-4841.20132180>

SOUZA, LWF, SOUZA, SVT, BOTELHO, ACC. Distal and lateral toenail onychomycosis caused by *Trichophyton rubrum*: treatment with photodynamic therapy based on methylene blue dye **An Bras Dermatol**. 2014;89(1):184-6. DOI:<http://dx.doi.org/10.1590/abd1806-4841.20142197>

STEINER,D, GASQUES,L, GATTI,EF Micose ungueal. **RBM** Dez 14 V 71 N 12 págs.: 95-99 Indexado LILACS LLXP: S0034-72642014016500011.2014

TCHERNEV, G, PENEV,PK , NENOFF, P, ZISOVA,LG CARDOSO,JC,TANEVA,T, GINTER-HANSELMAYER,G, ANANIEV, J, GULUBOVA,M, HRISTOVA,R, NOCHEVA,D, GUARNERI,C, KANAZAWA,N Onychomycosis: modern diagnostic and treatment approaches. **Wien Med Wochenschr** (2013) 163:1–12 DOI 10.1007/s10354-012-0139-3

TOMAZ D. Será fungo? **Revista portuguesa de clinica geral**. 2011; (27):96-108.

VASCONCELLOS, C, PEREIRA, CQM, SOUZA, MC, PELEGRINI,A, FREITAS,RS, TAKAHASHI,JP. Identification of fungi species in the onychomycosis of institutionalized elderly DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/abd1806-4841.20131884> **An Bras Dermatol**. 2013;88(3):377-80.

VELASQUEZ, A, CARDONA,A Meta-analysis of the utility of culture, biopsy, and direct KOH examination for the diagnosis of onychomycosis **BMC Infectious Diseases** (2017) 17:166 DOI 10.1186/s12879-017-2258-3

WESTERBERG,DP, VOYACK,MJ Onychomycosis: Current Trends in Diagnosis and Treatment December 1, 2013 Vol 88, n.11 www.aafp.org/afp **American Family Physician** 763

APÊNDICE A Ficha de coleta

FICHA DE COLETA DE DADOS

NOME:	
IDADE:	SEXO: () F () M
PROFISSÃO:	

DATAS
CONSULTA:
INÍCIO DA PATOLOGIA:
RETORNO PÓS TRATAMENTO:

HISTÓRIA CLÍNICA		
HIPÓTESE DIAGNÓSTICA:		
TRATAMENTO MEDICAMENTOSO:	Prévio:	Atual:
ESPÉCIE FÚNGICA ISOLADA:		
OUTROS MICROORGANISMOS:		
RESULTADO DO TRATAMENTO:		

FATORES PREDISPOANTES	
() Uso prolongado de sapatos fechados	() Idade Extrema
() Hiperidrose	() Pacientes em hemodiálise
() Diabetes	() Neuropatia em MMII
() Portador HIV	() Doença Oncológica
() Onicólise	() Diabetes

APÊNDICE B – Termo de consentimento livre esclarecido**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PATOLOGIA****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 (título completo da pesquisa), que está sob a responsabilidade do (a) pesquisador (a) Patrícia Cristina Rodrigues Machado, com endereço na Rua quinze de março, 454 – Torrões – Recife PE, CEP: – Telefone do pesquisador: 81 997457940 e e-mail: patricia.machado@ufpe.br para contato do pesquisador responsável inclusive ligações a cobrar. Também participam desta pesquisa os pesquisadores: Márcia Oliveira, Co orientadora. Telefone para contato: 81 992529011 e está sob a orientação de: Reginaldo Gonçalves de Lima-Neto, telefone: 81 991479644, e-mail: Gonçalves_reginaldo@hotmail.com.

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 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 e a outra ficará com o pesquisador responsável.

Caso não concorde, não haverá penalização, bem como será possível retirar o consentimento a qualquer momento, também sem nenhuma penalidade.

INFORMAÇÕES SOBRE A PESQUISA:

A pesquisa visa caracterizar as onicomicoses em um serviço dermatológico público federal, obter diagnóstico nos casos de suspeita clínica de onicomicoses através de procedimentos laboratoriais micológicos. Pretende-se ainda descrever o perfil epidemiológico dos pacientes (idade, gênero, profissão, doenças de base) diagnosticados e avaliar a eficácia terapêutica instituída após diagnóstico laboratorial micológico, através de exames para controle de cura. Os pacientes voluntários participarão da pesquisa por um período de um ano a partir de julho/16 a junho/17. O material biológico coleta serão escama da lâmina ungueal (unhas), cerca de 50 µg. A coleta de material pode trazer riscos como: um novo trauma para lâmina ungueal (unha) ou eponíquio (pregas laterais), ou ainda contaminação de outras unhas. Quaisquer desconfortos, serão tratados no setor da dermatologia onde foi realizada a coleta, sem nenhum custo para o paciente. Por outro lado, a coleta de material, garantirá a confirmação do diagnóstico clínico, a etiologia do microorganismo será conhecida o que possibilitará a melhor escolha de tratamento e conseqüentemente resultados positivos mais rápidos para o paciente.

Todas 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 tipo entrevistas, ficarão armazenados em computador pessoal, sob a responsabilidade do pesquisador, no endereço acima informado pelo período de mínimo 5 anos.

Nada lhe será pago e nem será cobrado para participar desta pesquisa, pois a aceitação é voluntária, mas fica também garantida a indenização em casos de danos, comprovadamente decorrentes da participação na pesquisa, conforme decisão judicial ou extra-judicial. Se

houver necessidade, as despesas para a sua participação serão assumidas pelos pesquisadores (ressarcimento de transporte e alimentação).

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)

CONSENTIMENTO DA PARTICIPAÇÃO DA PESSOA COMO VOLUNTÁRIO (A)

Eu, _____, CPF _____, abaixo assinado, após a leitura (ou a escuta da leitura) deste documento e de ter tido a oportunidade de conversar e ter esclarecido as minhas dúvidas com o pesquisador responsável, concordo em participar do estudo, **ONICOMICOSSES EM UM SERVIÇO DERMATOLÓGICO PÚBLICO FEDERAL: DIAGNÓSTICO, SUSCEPTIBILIDADE DOS ISOLADOS, EPIDEMIOLOGIA E TRATAMENTO**, 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 C Artigo publicado

Short Communication

Experimental Pathology and Health Sciences
2016,8(3): 45-46

Effects of vaginal cones in the treatment of female urinary incontinence: literature review

Pontes, V.M.B¹, Moura, M.R.A¹, Machado, P.C.R¹, Rocha, A.P.S¹, Santos, F.A.G¹, Neves, R.P¹

1 – Department of Pathology, Federal University of Pernambuco, Recife, Brazil

Abstract

Introduction: Vaginal cones is a preferred method for treating incontinent women and is a simple and practical way to identify and strengthen the pelvic muscles. Its use induces contraction of the muscles and helps in restoring strength and continence mechanism. **Objective:** To review the literature on effective use of vaginal cones in the treatment of female urinary incontinence. **Methods:** The study was the kind of review, exploratory and descriptive, on the use of vaginal cones for the treatment of female urinary incontinence, with primary sources indexed in the Bireme portal databases (LILACS and SciELO) and PubMed/ MedLine. **Results:** We selected 165 articles in Pubmed portal, 21 in Bireme portal and 80 in the periodic capes. After appreciate 266 articles and analysis of references of selected articles, only 11 studies were included in the survey. The studies addressed the treatment using only the vaginal cones or comparing it with perineal exercises, electrical stimulation or no treatment. **Conclusions:** The use of vaginal cones, associated with pelvic floor exercises, showed positive results in terms of decreased urine incontinence, improved muscle strength and quality of incontinentes women.

Keywords: Vaginal Cones; Urinary Incontinence; Physiotherapy.

Introduction

Urinary incontinence (UI) is defined by the International Continence Society (ICS) as the involuntary loss of urine being considered a social or hygienic nature of problem. (ABRAMS et al, 2003) Medically, urinary incontinence in women is divided into three main types: stress incontinence, urgency urinary incontinence and mixed urinary incontinence. It is known that the pathophysiology of UI is multifactorial, but the weakening of the pelvic floor muscles is a problem frequently encountered in these conditions. Since muscle dysfunction is an important pathogenetic factor of the UI, the conservative therapy with the use of perineal re-education, should focus to strengthen the sphincter components, improved transmission of intra-abdominal pressure, increased muscle tone and consequently the mechanism continence.

Vaginal cones are widely used in the treatment of incontinent women and represent a simple and practical way to identify and strengthen the pelvic floor muscles. When inserted into the vagina, can stimulate learning of contraction of the pelvic floor muscles by retaining cones with increasing weights. Thus, reflex contractions or voluntary muscles to prevent the sliding of the cone out, promote the recruitment of pubococcygeus muscles, maximize gain of muscle strength and decrease the urinary losses. Thus, the study aims to assess the effectiveness of the use of vaginas cones in the

treatment of female urinary incontinence through a literature review.

Material and Methods

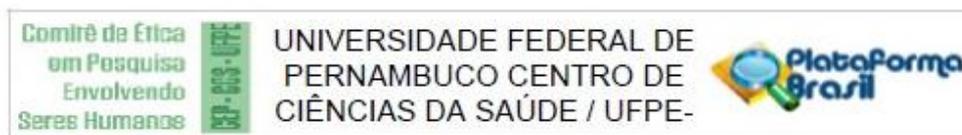
This is a review study, exploratory and descriptive. The search was conducted in the period April-June 2016 which to obtain the data descriptors were chosen according to DeCS lists (Cones Dildo, Incontinence and Physiotherapy) and MeSH (Vaginal cones, Urinary Incontinence and Physiotherapy). The bibliographic research was conducted on the portal of Bireme (LILACS and SCIELO), Pubmed/ Medline and portal CAPES. Articles published in Portuguese and English were selected, with restriction on the publication year (1995-2016) and that addressed the use of vaginal cones for the treatment of female urinary incontinence. The literature review of articles available were excluded.

Results

Initially identified 165 articles in Pubmed portal, 21 in Bireme portal and 80 in the journal CAPES. After examining 266 articles and analysis of references of selected articles, 12 studies were included and used for the development of research. The articles dealt with the treatment of women with stress urinary incontinence using only the vaginal cones or comparing its use with muscle pelvic floor training by perineal exercises, electrical stimulation or no treatment.

Vanessa Pontes
vanessamontesfp@gmail.com

ANEXO A – PARECER DO CEP / CCS / UFPE

**PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP****DADOS DO PROJETO DE PESQUISA**

Título da Pesquisa: ONICOMICOSSES EM UM SERVIÇO DERMATOLÓGICO PÚBLICO FEDERAL: DIAGNÓSTICO, SUSCEPTIBILIDADE DOS ISOLADOS, EPIDEMIOLOGIA E TRATAMENTO

Pesquisador: PATRICIA CRISTINA RODRIGUES MACHADO

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 57861816.4.0000.5208

Instituição Proponente: Universidade Federal de Pernambuco - UFPE

Patrocinador Principal: CONS NAC DE DESENVOLVIMENTO CIENTIFICO E TECNOLÓGICO

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.777.097

Apresentação do Projeto:

Projeto de pesquisa apresentado ao Programa de Pós-Graduação em Patologia do CCS da UFPE da pesquisadora Patrícia Cristina Rodrigues Machado, sob a orientação do Prof. Reginaldo Gonçalves de Lima Neto e co-orientação da Profa. Márcia Helena de Oliveira. Visa estabelecer um estudo detalhado sobre a etiologia das onicomicoses em um serviço público de dermatologia com suporte laboratorial, com a identificação da espécie fúngica e a determinação de seu perfil de sensibilidade/resistência, traz para a comunidade profissional dados que podem proporcionar a melhor escolha de conduta terapêutica, além da possibilidade de orientações preventivas a população. O conhecimento da etiologia e da susceptibilidade das espécies de fungos isoladas das onicomicoses fornecida pelo presente estudo na população estudada, permitira constituir medidas de controle dessa infecção, diminuindo as recidivas e otimizando o

ANEXO B – Formatação do manuscrito para revista de Medicina Tropical

O manuscrito deve ser preparado usando *software* padrão de processamento de textos e deve ser impresso (fonte *Times New Roman* tamanho 12) com espaço duplo em todo o texto, título/legendas para as figuras, e referências, margens com pelos menos 3cm. O manuscrito deve ser dividido nas seguintes seções: Cartão de Apresentação (endereçada ao Editor-Chefe), Página de Título, Título, Resumo, palavras-chaves, Texto do Manuscrito, Agradecimentos, Declaração de Conflito de Interesses, Suporte Financeiro, Lista de Referências, Título das Figuras/Legendas. A Carta de Apresentação, Página de Título, Agradecimentos e Suporte Financeiro devem ser incluídos em documentos separados (estes dois últimos podem ser incluídos junto com a Página de Título). Abreviações devem ser usadas com moderação.

Página de Título: deve incluir o nome dos autores na ordem direta e sem abreviações, afiliações institucionais (Departamento, Instituição, Cidade, Estado e País de cada autor). O endereço completo do autor para correspondência deve ser especificado, incluindo telefone, fax e e-mail. Na página de título também podem ser incluídos agradecimentos e suporte financeiro. A quantidade de autores por manuscrito deve ser limitada ao número real de autores que realmente contribuíram com o manuscrito, exceto para estudos multicêntricos nacionais e internacionais, que devem limitar-se a vinte autores. Quando exceder a vinte autores, o restante será publicado em notas de rodapé.

Indicação de potenciais revisores: Os autores são convidados a fornecer os nomes e informações de contato (e-mail e telefone) por três potenciais revisores imparciais. Favor informar revisores de instituições diferentes dos autores.

Título: deve ser conciso, claro e o mais informativo possível, não deve conter abreviações e não deve exceder a 200 caracteres, incluindo espaços.

Título Corrente: com no máximo 40 caracteres.

Resumo Estruturado: deve condensar os resultados obtidos e as principais conclusões de tal forma que um leitor, não familiarizado com o assunto tratado no texto, consiga entender as implicações do artigo. O resumo não deve exceder 250 palavras (100 palavras no caso de comunicações breves) e abreviações devem ser evitadas. Deve ser subdividido em: **Introdução, Métodos, Resultados e Conclusões.**

Palavras-chaves: 3 a 6 palavras devem ser listados em Inglês, imediatamente abaixo do resumo estruturado.

Introdução: deve ser curta e destacar os propósitos para o qual o estudo foi realizado. Apenas quando necessário citar estudos anteriores de relevância.

Métodos: devem ser suficientemente detalhados para que os leitores e revisores possam compreender precisamente o que foi feito e permitir que seja repetido por outros. Técnicas-padrões precisam apenas ser citadas.

Ética: em caso de experimentos em seres humanos, indicar se os procedimentos realizados estão em acordo com os padrões éticos do comitê de experimentação humana responsável

(institucional, regional ou nacional) e com a Declaração de Helsinki de 1964, revisada em 1975, 1983, 1989, 1996 e 2000. Quando do relato de experimentos, em animais, indicar se seguiu um guia do conselho nacional de pesquisa, ou qualquer lei sobre o cuidado e uso de animais em laboratório foram seguidas e o número de aprovação deve ser enviado à Revista. No caso de pesquisa em seres humanos, os autores devem incluir na seção métodos no subtítulo Considerações Éticas uma declaração de que o estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética Institucional.

Ensaio Clínico: No caso de Ensaio Clínico, o manuscrito deve ser acompanhado pelo número e órgão de registro do ensaio clínico (Plataforma REBEC). Estes requisitos estão de acordo com a BIREME/OPAS/OMS e o Comitê Internacional dos Editores de Revistas Médicas (<http://www.icmje.org>) e do Workshop ICTPR.

Resultados: devem ser um relato conciso e impessoal da nova informação. Evitar repetir no texto os dados apresentados em tabelas e ilustrações.

Discussão: deve relacionar-se diretamente com o estudo que está sendo relatado. Não incluir uma revisão geral sobre o assunto, evitando que se torne excessivamente longa.

Agradecimentos: devem ser curtos, concisos e restritos aqueles realmente necessários, e, no caso de órgãos de fomento não usar siglas.

Conflito de Interesse: todos os autores devem revelar qualquer tipo de conflito de interesse existente durante o desenvolvimento do estudo.

Suporte Financeiro: informar todos os tipos de fomento recebidos de agências de fomento ou demais órgãos ou instituições financiadoras da pesquisa.

Referências: devem ser numeradas consecutivamente, na medida em que aparecem no texto. Listar todos os autores quando houver até seis. Para sete ou mais, listar os seis primeiros, seguido por “et al”. Digitar a lista de referências com espaçamento duplo em folha separada e no final do manuscrito. Referências de comunicações pessoais, dados não publicados ou manuscritos “em preparação” ou “submetidos para publicação” não devem constar da lista de referência. Se essenciais, podem ser incorporados em local apropriado no texto, entre parênteses da seguinte forma: (AB Figueiredo: Comunicação Pessoal, 1980); (CD Dias, EF Oliveira: dados não publicados). Citações no texto devem ser feitas pelo respectivo número das referências, acima da palavra correspondente, em ordem numérica crescente, separados por vírgula ou por hífen quando houver uma sequência sem intervalo. Ex.: Mundo^{1,2}; Vida^{30,42,44-50}. As referências no fim do manuscrito devem estar de acordo com o sistema de requisitos uniformes utilizado para manuscritos enviados para periódicos biomédicos (Consulte: <http://www.nlm.nih.gov/citingmedicine>). Os títulos dos periódicos devem ser abreviados de acordo com o estilo usado no *Index Medicus* (Consulte: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nlmcatalog/journals>).

A responsabilidade pelas citações bibliográficas contidas no texto e na lista de referências recai exclusivamente sobre os autores.