

**FATORES DE VIRULÊNCIA DE FUNGOS RELACIONADOS A ZOONOSES
ISOLADOS EM AMBIENTE DE BANHO E TOSA DE UM *PET SHOP***

**VIRULENCE FACTORS OF FUNGI RELATED TO ZOONOSIS IN GROOMING
ENVIRONMENT OF A PET SHOP**

**FACTORES DE VIRULENCIA DE HONGOS RELACIONADOS A ZOONOSIS
AISLADOS EN AMBIENTE DE BAÑO Y TOSA DE UN *PET SHOP***

Lucimara Rodrigues Carobeli

Aluna do curso Biomedicina; Laboratório de Micologia Médica; Departamento de Análises Clínicas e Biomedicina; Universidade Estadual de Maringá.
E-mail: lucimaracarobeli@gmail.com

Beatriz Vesco Diniz

Aluna do curso Biomedicina; Laboratório de Micologia Médica; Departamento de Análises Clínicas e Biomedicina; Universidade Estadual de Maringá.
E-mail: beatrizvesco1@gmail.com

Nathália Martins Morette de Carvalho

Aluna do curso Biomedicina; Laboratório de Micologia Médica; Departamento de Análises Clínicas e Biomedicina; Universidade Estadual de Maringá.
E-mail: nacarvalho99@gmail.com

Luana Yukari Chinen

Aluna do curso Biomedicina; Laboratório de Micologia Médica; Departamento de Análises Clínicas e Biomedicina; Universidade Estadual de Maringá.
E-mail: luana.yukaric@gmail.com

Josiane Lie Tanoye

Aluna do curso Biomedicina; Laboratório de Micologia Médica; Departamento de Análises Clínicas e Biomedicina; Universidade Estadual de Maringá.

Terezinha Inez Estivalet Svidzinski

Docente da Universidade Estadual de Maringá, Maringá; Departamento de Análises Clínicas e Biomedicina; Laboratório de Micologia Médica
E-mail: terezinha.svidzinski@gmail.com

Flávia Franco Veiga

Doutoranda do programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Universidade Estadual de Maringá; Laboratório de Micologia Médica
Departamento de análises Clínicas e Biomedicina
E-mail: flaviafveiga@gmail.com

Melyssa Negri

Pós-doutora pela Universidade Estadual de Maringá; Doutorado em Engenharia Biomédica pela Universidade do Minho Portugal; Docente da Universidade Estadual de Maringá; Departamento de Análises Clínicas e Biomedicina
E-mail: melyssanegri@gmail.com.

RESUMO

Este estudo avaliou a presença de fungos em objetos utilizados em banho e tosa, além do risco de infecção e a patogenicidade dos mesmos. Aplicou-se questionários a donos de animais domésticos e proprietários de *pet shops*, para verificar a proximidade, os hábitos e cuidados praticados nesses ambientes. Realizou-se coletas de diferentes superfícies em um *pet shop* de Maringá-PR, após o isolamento e a identificação dos fungos, avaliou-se seu risco de infecção. Constatou-se que os hábitos dos tutores e animais, assim como dos manipuladores nos estabelecimentos de banho e tosa, podem influenciar na transmissão de doenças fúngicas e oferecer riscos aos envolvidos. Os gêneros de leveduras encontrados nos objetos foram: *Candida*, *Rhodotorula* e *Trichosporon*. Entre fungos filamentosos, os principais gêneros presentes foram: *Fusarium*, *Scedosporium* e *Curvularia*. Quanto ao teste de virulência, observando os substratos infectados ao microscópio, verificou-se que dos isolados testados: *Candida kefyr*, *Rhodotorula spp.*, *Trichosporon spp.* e *Fusarium spp.*, todos exibiram capacidade de colonizar pelos, unhas e cabelos. Conclui-se que o estreitamento da relação humano-animal e a prática de banho e tosa em estabelecimentos comerciais com grande fluxo de animais podem oferecer risco de zoonose, sendo necessárias boas práticas de higienização e hábitos saudáveis para minimização do mesmo.

Palavras-chave: zoonose, fungos, virulência, *pet shops*

ABSTRACT

This study evaluated the presence of fungi in objects used in bathing and grooming, besides the risk of infection and their pathogenicity. Questionnaires were applied to pet owners and pet shop owners, to verify the proximity, habits and care practiced in these environments. Samples of different surfaces were collected at a pet shop in Maringá-PR, after fungal isolation and identification, its risk of infection was evaluated. It was found that the habits of tutors and animals, and the manipulators in bathing and grooming establishments as well, can influence the transmission of fungal diseases and offer risks to those involved. The yeasts found in the objects were: *Candida*, *Rhodotorula* and *Trichosporon*. Among filamentous fungi, the main genera present were: *Fusarium*, *Scedosporium* and *Curvularia*. For the virulence test, observing the substrates infected under the microscope, it was found that the isolates tested: *Candida kefyr*, *Rhodotorula spp.*, *Trichosporon spp.* and *Fusarium spp.*, all exhibited the ability to colonize fur, nails and hair. In conclusion, the narrowing of the human-animal relationship and the practice of bathing and grooming in commercial establishments with large flow of animals can offer a risk of zoonosis, so good hygiene practices and healthy habits are necessary for its minimization.

Key-words: zoonosis, fungi, virulence, pet shops.

RESUMEN

Este estudio evaluó la presencia de hongos en objetos utilizados en baño y tosa, además del riesgo de infección y la patogenicidad de los mismos. Se aplicó cuestionarios a dueños de animales domésticos y propietarios de *pet shops*, para verificar la proximidad, los hábitos y cuidados practicados en esos ambientes. Se realizaron colectas de diferentes superficies en una *pet shop* de Maringá-PR, después del aislamiento y la identificación de los hongos, se evaluó su riesgo de infección. Se constató que los hábitos de los tutores y animales, así como de los manipuladores en los establecimientos de baño y tosa, pueden influir en la transmisión de enfermedades fúngicas y ofrecer riesgos a los involucrados. Los géneros de levaduras encontrados en los objetos fueron: *Candida*, *Rhodotorula* y *Trichosporon*. Entre hongos filamentosos, los principales géneros presentes fueron: *Fusarium*, *Scedosporium* y *Curvularia*. En cuanto a la prueba de virulencia, observando los sustratos infectados al

microscopio, se verificó que de los aislados probados: *Candida kefyr*, *Rhodotorula* spp., *Trichosporon* spp. y *Fusarium* spp., todos exhibieron capacidad de colonizar por las uñas y el cabello. Se concluye que el estrechamiento de la relación humano-animal y la práctica de baño y tosa en establecimientos comerciales con gran flujo de animales pueden ofrecer riesgo de zoonosis, siendo necesarias buenas prácticas de higienización y hábitos saludables para minimización del mismo.

Palabras-clave: zoonosis, hongos, virulencia, *pet shops*.

INTRODUÇÃO

A estreita e intensa relação entre o homem e os animais é instaurada há milênios e repercute de forma intensiva sobre a saúde de ambos. O elevado número de cães e gatos em ambientes urbanos aliado a fatores como a falta de saneamento e o crescimento das cidades, ocasiona vários problemas, entre eles riscos de acidentes por mordeduras, arranhaduras, atropelamentos e disseminação de zoonoses, doenças transmitidas para o homem através dos animais, como exemplo a raiva, leptospirose, leishmaniose, entre outras infecções fúngicas e bacterianas. Portanto, a escolha de ter um ou mais animais de estimação deve ser feita com cuidado, pensando na qualidade de vida de todos os envolvidos na relação, evitando assim riscos indesejáveis¹.

A distribuição e os padrões das infecções fúngicas variam conforme as condições socioeconômicas, geográficas, culturais e o número de condições individuais de risco para adquirir essas infecções². As ações humanas interferem na dispersão dos fungos, além da versatilidade do habitat, persistência no ambiente e formas de reprodução. É importante também o fator de virulência desses fungos, que é a capacidade do microrganismo de causar danos ao hospedeiro, podendo indicar se tem um potencial de reprodutividade e transmissão rápida³. As infecções fúngicas mais comuns em humanos são causadas por dermatófitos, que são infecções superficiais nos tecidos queratinizados, como pelos, unhas, cabelos e pele, inclusive os animais domésticos podem ser um meio de transmissão para os fungos zoofílicos⁴. Os fungos que colonizam superficialmente os humanos, podem causar infecções graves em hospedeiros imunocomprometidos, que realizaram procedimentos clínicos invasivos ou sofreram algum trauma extenso, pois estes não conseguem prevenir e combater uma infecção, estes casos são de extrema importância pelo alto risco de mortalidade⁵. O desenvolvimento de tratamentos são limitados devido a proximidade na evolução dos fungos com os humanos, comparado a outros microrganismos patogênicos. Conhecemos pouco sobre os processos da infecção de fungos não invasivos comuns, sendo necessário ter um estudo e cuidado nos ambientes que existe risco de contaminação e transmissão⁶.

Estima-se que fungos ambientais encontrados em *pet shops*, possam oferecer riscos aos animais, tutores e manipuladores, entretanto mais pesquisas são necessárias para esclarecer essa relação. Diante disso, o objetivo deste estudo foi demonstrar a influência dos hábitos entre humanos e animais na ocorrência de zoonoses, além de identificar a presença de fungos em fômites de higienização de cães e avaliar a virulência dos mesmos, verificando sua capacidade de infectar unhas, pelos e cabelos.

METODOLOGIA

Estudo da relação entre tutor e animal de estimação

Para avaliar a proximidade física e o risco de uma possível infecção pelo contato tutor e animal de estimação, elaborou-se um questionário com perguntas referentes aos animais, seus tutores e seus hábitos conjuntos, que foi submetido a voluntários aleatórios que possuem animais domésticos. Os critérios de inclusão foram ter como animais de estimação cão e/ou gato e ser residente na região de Maringá-PR. Para isso, utilizou-se a plataforma online Formulários Google (<https://goo.gl/forms/IDsRw4fA0kng4Fv13>).

Avaliação de cuidados dos estabelecimentos de higiene animal

Foi elaborado um questionário e entregue em diferentes *pet shops* de Maringá-PR que aceitaram participar da pesquisa, com perguntas a respeito do seu funcionamento, para avaliar os riscos de propagação dos fungos. Posteriormente, em um estabelecimento que aceitou participar do projeto, foi realizada as coletas de ar, superfícies e mãos dos funcionários.

Coleta ambiental micológica

Foram coletados fungos presentes no ar, diferentes superfícies e mãos de profissionais. A coleta dos fungos presentes no ar realizou-se pelo método de decantação passiva, com Placas de Petri com Sabouraud dextrose ágar (SDA) (Difco, Detroit, Michigan, EUA) com 50 mg / mL de cloranfenicol (Sigma Aldrich, St. Louis, Michigan, EUA), que foram mantidas abertas por 15 minutos em um ambiente fechado e em outro aberto, devidamente identificadas ao respectivo ambiente. Para a coleta de fungos presentes em superfícies, foi utilizado *swab* estéril umedecido em solução salina 0,85% em uma área pré-determinada, friccionando-o na superfície desejada e semeou-se em placas contendo SDA. Na coleta de fungos das mãos, foi utilizado um *swab* umidificado com solução salina 0,85%, friccionado sobre toda a superfície

das mãos. O *swab* contendo a amostra foi semeado em placa contendo SDA. Todas as placas (ar, superfícies e mãos) foram incubadas a 25 °C por 3 dias.

Quantificação de fungo

Depois do período de incubação realizou-se a leitura e cálculo do número de colônias em UFC (unidades formadoras de colônias) de todas as placas, por área em cm², quando não foi possível avaliar a área foi delimitada por UFC/objeto. As placas que foram coletadas do ar, utilizou-se a relação ar interno/ar externo. Todas as colônias diferentes foram re-isoladas em uma nova placa contendo SDA para isolamento e identificação.

Identificação micológica

Os fungos foram identificados através de aspectos macroscópicos, microscópicos e de provas bioquímicas (assimilação e fermentação). Para leveduras, as amostras positivas foram então transferidas para o ágar de seleção CHROmagar® *Candida* (Difco, EUA), para assegurar a pureza dos isolados e identificar culturas mistas. A partir da cultura pura, as leveduras foram identificadas através do método clássico utilizando colônias isoladas⁷.

Em relação aos fungos filamentosos, preliminarmente de acordo com sua macromorfologia: cor e textura da colônia, tipo de borda e taxa de crescimento radial, bem como sua micromorfologia: características de hifas, conidióforos e conídios⁷. As amostras foram armazenadas em caldo de dextrose Sabouraud (SDB) (Disco, Detroit, Michigan, EUA) com 10% de glicerol a -20 °C na Coleção Micológica do Laboratório de Medicina Micologia da Universidade Estadual de Maringá (UEM), Brasil.

Avaliação de fatores de virulência

Foram selecionados quatro fungos para o estudo: *Candida kefyr*, *Rhodotorula* spp., *Trichosporon* spp. e *Fusarium* spp., os quais foram isolados de gaiola, brinquedo, mãos do profissional que dava banho nos animais e da bancada de secagem, respectivamente. Avaliou-se as capacidades de colonização e invasão destes fungos à unha e cabelo humano e ao pelo animal.

Para isso, foram recolhidos e esterilizados fragmentos de unhas e cabelos de voluntários saudáveis femininos e de pelos de cachorro. Os mesmos foram colocados sobre uma lâmina de vidro e sobre estes foram pipetados 50 µL de suspensão conidial (5×10^4 conídios/mL de solução salina 0,85%) de cada um dos isolados testados. A lâmina de vidro

foi montada em placa de Petri com papel de filtro embebido em água destilada e autoclavada, para assegurar um ambiente úmido e incubada durante 7 dias a 25 °C. Também foi realizado controle negativo.

A invasão e a aderência aos substratos foram observados através de microscopia óptica, para isso, os fragmentos de unhas, cabelos e pelos foram clarificados com hidróxido de potássio (KOH) a 40% e corados com azul de Evans, possibilitando a visualização de estruturas como hifas e conídios.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Relação entre tutor e animal

Foram entrevistadas 129 pessoas com um total de 251 animais, sendo 72% (181) cães. Um total de 31,8% (41/129) dos entrevistados afirmaram que seus animais realizam banho e tosa em *pet shops*. Relatou-se que 69,8% (90/129) dos tutores mantêm seus animais no interior das residências e 57,4% (74/129) permitem que o animal compartilhe espaços de uso predominante humano, como sofás e camas, indicando grande proximidade entre homem e animal. Estes resultados concordam com estudo realizado em São Paulo, onde foi relatado que 71% dos animais tem acesso aos quartos dos donos, 57% dormem com seus responsáveis em suas camas e 58% dos responsáveis adoram beijar ou receber lambidas na face de seus cães⁸. Percebe-se assim que a relação entre tutor e animal doméstico contempla novos hábitos de convívio, que podem facilitar a transmissão de zoonoses.

Os animais de 41,9% (54/129) dos entrevistados já tiveram lesões de pele e/ou pelos, destas 24,1% (13/54) foram causadas por fungos, 53,7% (29/54) por outros agentes e 22,2% (12/54) não souberam o motivo da lesão, demonstrando além da alta incidência das doenças fúngicas, o desconhecimento da etiologia das lesões dos animais em muitos casos. Estudos indicam aumento na ocorrência de micoses em animais domésticos, principalmente cães e gatos. As dermatofitoses e a esporotricose são dois exemplos de zoonoses micóticas, essencialmente contraídas pelo íntimo contato com os agentes infectantes⁹. Em estudo retrospectivo, realizado em Santa Maria-RS, detectou-se alta prevalência de candidíase, dermatofitose, malasseziose e esporotricose em cães e gatos¹⁰. Em Araçatuba-SP, o dermatófito *Microsporum canis* foi isolado de amostras provenientes de animais aparentemente hígidos, mostrando que os cães podem atuar como portadores sadios deste fungo¹¹.

Dos treze animais que apresentaram infecção fúngica, doze eram cães e apenas um era gato, destes 46% (6/13) tinham contato frequente com outros cães, 23% (3/13) com gatos e 7,7% (1/13) se relaciona frequentemente com outros tipos de animais. Além disso, 69,2% (9/13) dos animais que já apresentaram fungos eram mantidos no interior das residências e 53,8% (7/13) compartilhavam sofás e camas com os donos. O banho e tosa de 53,8% (7/13) desses animais era feito em *pet shops*.

Assim, verifica-se que os animais que já tiveram alguma doença provocada por fungos possuíam um convívio estreito com seus donos e contato com diversos animais. Os dados obtidos sugerem que um animal colonizado, apresentando ou não patologia, atua como reservatório de fungos e outros microrganismos, podendo transmiti-los aos tutores. Também é possível inferir que se estes animais frequentarem *pet shops*, podem levar tais microrganismos a este ambiente, aos manipuladores e outros animais, caracterizando assim o risco de zoonose.

Relação entre *pet shop* e animal

O risco de fungos zoofílicos nos *pet shops* é alarmante pelo alto poder de contágio entre os animais, pelo contato direto ou indireto com instrumentos compartilhados e ambiente contaminado sendo prejudicial para a saúde do animal e para saúde dos indivíduos envolvidos.

O questionário elaborado foi entregue a 38 *pet shops* de Maringá-PR, porém apenas 45% aceitaram respondê-lo, podendo observar que além do banho e tosa, possuem venda, hospedagem e clínica. Em média, dois a seis funcionários atendem de 15 a 20 animais por dia, não sendo especializados apenas em uma etapa do processo, mas é frequente a higienização das mãos após esse contato, normalmente há presença de doenças fúngicas nos animais (dado este informado pelos proprietários dos animais), os quais possuem tratamento diferenciado. E todos os animais atendidos permanecem separados uns dos outros desde o transporte até antes e depois do banho.

As bancadas, toalhas, pinças, lâminas para tosa, gaiolas, tanques e o chão são limpos diariamente. Enquanto que nas rasqueadeiras, secadores, carros, escovas de dentes, brinquedos e bebedouros a higienização é realizada semanalmente e nos últimos quatro itens citados, não são todos os *pet shops* que disponibilizaram a informação. Após o aceite para a coleta micológica foram coletados um total de 14 sítios para isolamento de fungos, dentro do ambiente de banho e tosa.

Riscos de propagação de fungos em ambiente de *pet shop*

Os *pet shops* têm uma importância no controle de zoonoses nos animais de estimação, já que há um grande fluxo de diferentes animais em um único ambiente¹². É necessário ter atenção em relação a arquitetura do local, qualidade do ar, higienização frequente das mãos dos manipuladores e dos utensílios, pois podem facilitar a ocorrência de infecções fúngicas entre os animais e seus manipuladores¹³.

Aqueles que apresentarem alguma doença necessitam de tratamento diferenciado, pois durante os procedimentos de higiene e estética, são utilizados instrumentos comuns de banho e tosa entre os cães. Se não houver uma higienização correta, o profissional estaria transferindo diferentes microrganismos de um animal para o outro, principalmente os fungos zoofílicos, possibilitando uma propagação de doenças. Também é importante considerar que o animal aparentemente saudável ou assintomático, pode albergar potenciais patógenos e ser um foco de transmissão¹².

O problema desses animais serem infectados por fungos, é que são frequentemente relacionados à transmissão direta ou indireta aos seus tutores e aos profissionais que trabalham com eles¹⁴. É importante identificar essas relações, pois muitas vezes as pessoas não conhecem qual é a fonte de infecção, que poderia ser pelos conídios dos fungos dispersos pelo ar ou físico como mordidas e arranhões de animais de estimação^{14,15,16}. A investigação desses ambientes é de fundamental importância, pois indica um veículo de transmissão de zoonoses e auxilia na criação de medidas preventivas para a proliferação de doenças¹³.

Nesta pesquisa, foram coletados um total de 14 pontos (tanque, escova de dente, toalha, rasqueadeira, bancada, secador, pinça, lâmina de tosa, gaiola, rejunte, brinquedo, bebedouro, mãos de manipuladores e do ar) para isolamento de fungos. E foi constatado o crescimento de fungos em todos os locais.

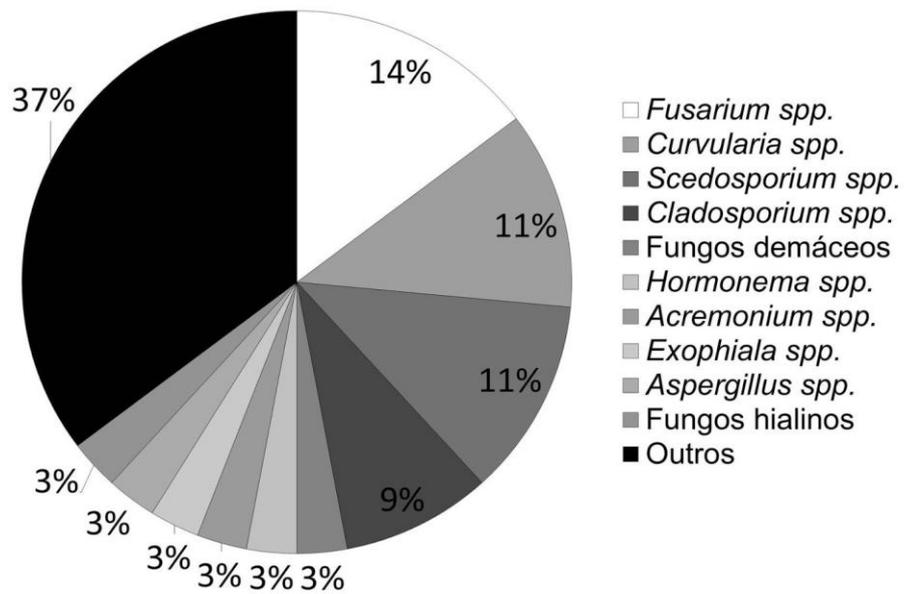
Inicialmente realizou-se a contagem de fungos em placas, para depois isolar e identificar os fungos crescidos. Sendo que o tanque teve crescimento de 35 UFC/cm² e a bancada de 57,5 UFC/cm², este crescimento teve um resultado parecido com uma sala de internação sem desinfecção de um hospital veterinário, a semelhança poderia ser pelo fato de ambos os locais terem um grande fluxo de animais com diferentes microrganismos residentes¹⁷. Os locais mais contaminados foram da área externa, sendo o rejunte (4650 UFC/objeto), bebedouro (3750 UFC/objeto) e brinquedo (2125 UFC/objeto), já que são onde os animais ficavam todos juntos, ao ar livre, até o momento da higienização e tosa.

A qualidade do ar do ambiente de trabalho, envolve um risco ocupacional aos trabalhadores expostos aos microrganismos, que podem desenvolver doenças respiratórias e alergias¹⁸. No local avaliado, a relação ar interno e ar externo foi de 0,25, sendo menor que 1,5, significa que a qualidade do ar está dentro dos padrões de aceitação da Resolução RE nº 9, de 16 de janeiro de 2003 da Anvisa.

Identificação dos fungos coletados

Houve crescimento de 24 leveduras pertencentes aos gêneros *Candida*, *Rhodotorula* e *Trichosporon* (FIG.1). Em outro estudo, realizado em *pet shops*, hospitais, clínicas e consultórios veterinários na cidade de Pelotas-RS, foram identificados estes mesmos gêneros de leveduras em instrumentos de tosa¹⁷. O gênero *Candida* spp., um dos que apresentou maior prevalência durante a identificação, está relacionado há casos de infecção causando lesões cutâneas, candidíase e dermatites em cães¹⁰. É comum os animais domésticos e humanos serem contaminados por essa levedura, mas por muitas espécies desse fungo serem comensais é difícil ocorrer uma epidemia¹³.

Quantidade de fungos filamentosos isolados no pet shop



Quantidade de leveduras isoladas no pet shop

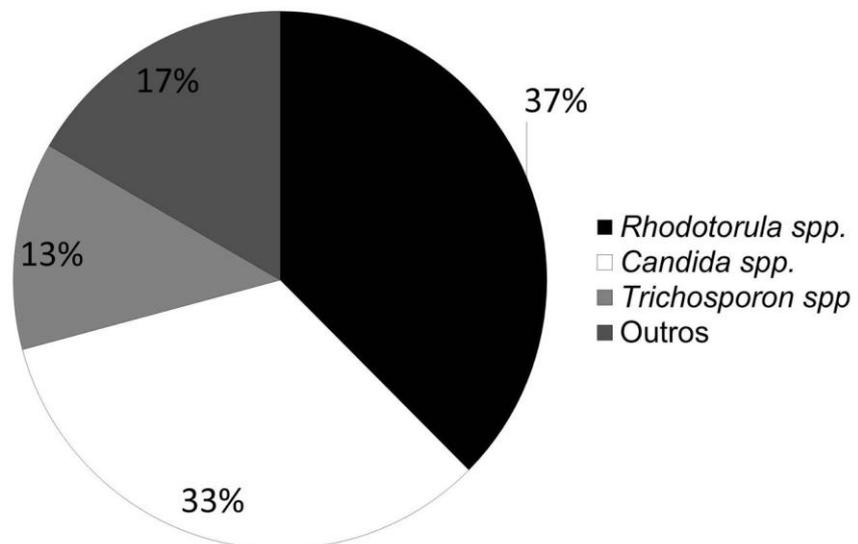


Figura 1- Identificação dos fungos encontrados no *pet shop*.

Fonte: Elaborado pelos autores.

Rhodotorula spp., considerado contaminante de amostras por ser saprófita, tem sido descrito em casos de infecção sistêmica¹⁷. *Trichosporon spp.* é a levedura que mais acomete os humanos, após *Candida spp.*, descrita como agente oportunista causador de infecções invasivas em pacientes com câncer hematológico e infecções superficiais como onicomicose, pedra branca, tinea pedis. É importante salientar que pessoas e animais com o sistema imune comprometido, são mais suscetíveis a serem infectados por essas leveduras oportunistas¹⁹.

Houve crescimento de 35 fungos filamentosos, sendo 10 gêneros diferentes identificados, com predomínio de *Fusarium*, *Scedosporium* e *Curvularia*, como expresso na FIG 1. Grande parte são fungos saprotróficos (fungos filamentosos hialinos e demáceos), alimentam-se de matéria orgânica originária de processos de decomposição. Esses fungos filamentosos predominantes, normalmente não causam problemas de saúde, entretanto tem capacidade de penetrar em superfícies que sofreram trauma, podendo causar micoses ou complicações mais sérias em pessoas que possuem fatores de risco²⁰.

Não foi identificado nenhum dermatófito, sendo mínimo o risco de transmissão de dermatófitos nestes ambientes, já que os instrumentos utilizados nos cães não são fômites contaminados¹⁷. Em uma investigação com pelos de gatos sem dermatomicoses aparentes, conseguiram identificar alguns dermatófitos, isso salienta a importância deste estudo, já que os animais podem ser portadores assintomáticos de fungos patogênicos, possibilitando a transmissão aos donos²¹.

São poucas espécies do gênero *Fusarium spp.* que causam infecções em humanos, entretanto é importante salientar que há um fator de virulência significativo. Trata-se de um patógeno nosocomial comum, capaz de infectar os pacientes hematológicos, além de causar onicomicoses e ceratites. *Scedosporium spp.* pode ser encontrado em ambientes com água poluída, esgoto, solo e locais vivem os animais. A colonização desse fungo e a manifestação clínica são micoses subcutâneas ou superficiais, como micetoma, otite e onicomicose, ou infecções mais profundas causando inflamações²⁰. *Curvularia spp.* acomete animais e é muito encontrado em vegetais. Nos humanos acontecem patologias oportunistas, alergias no trato respiratório, onicomicoses, ceratites, otites e infecções sistêmicas²².

Virulência e patogenicidade dos isolados testados

Nos testes *in vitro* para avaliação da virulência dos fungos selecionados, todos os isolados: *Candida kefyr*, *Rhodotorula spp.*, *Trichosporon spp.* e *Fusarium spp.* foram capazes

de colonizar todos os substratos testados: unhas, cabelos e pelos (FIG 2). Entretanto, ao nosso conhecimento não há na literatura estudos que avaliaram a virulência de fungos isolados de instrumentos utilizados em ambiente de banho e tosa. Assim, este é o primeiro trabalho em que avalia a capacidade de invasão em pelo, unha e cabelo de fungos isolados *pet shop*.

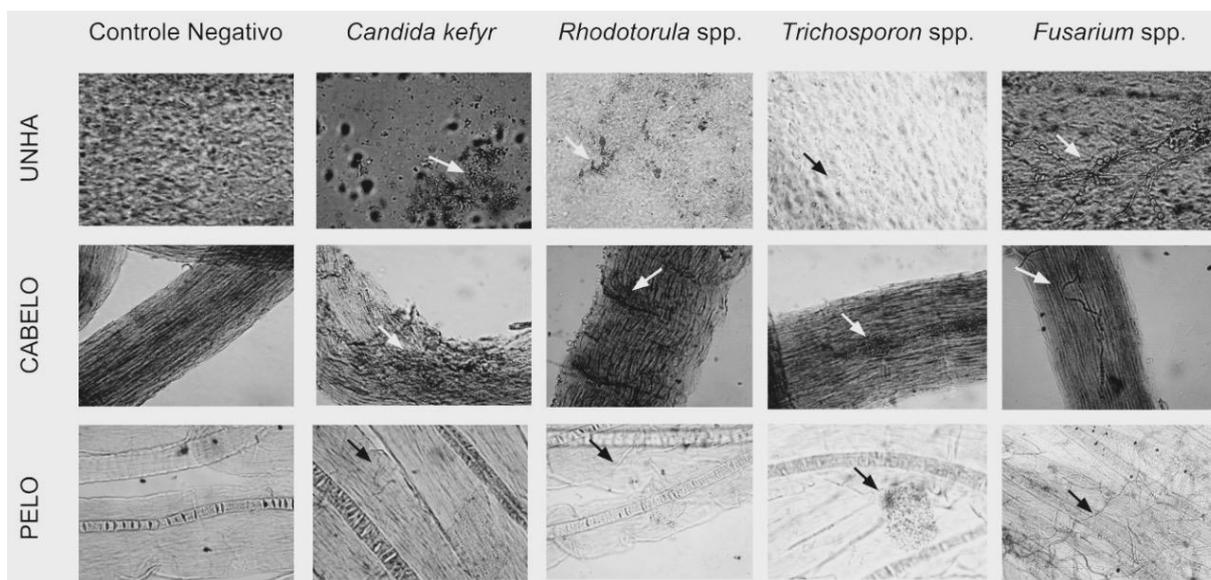


Figura 2 - Invasão de substratos queratinizados por *Candida kefyr*, *Rhodotorula* spp., *Trichosporon* spp. e *Fusarium* spp. As setas evidenciam estruturas fúngicas. Objetiva de 40x.
Fonte: Elaborado pelos autores.

Para que ocorra a colonização tecidual por fungos, estes devem superar os mecanismos de defesa inatos do hospedeiro. Alguns fatores como estrutura física e química da pele, a falta de umidade e a presença da microbiota normal, podem dificultar o crescimento de microrganismos patogênicos. O processo de queratinização é um importante mecanismo de defesa do hospedeiro contra agentes infecciosos que acometem sítios superficiais, este processo ocorre através da renovação do estrato córneo realizado pelos queratinócitos que leva a descamação epitelial e possível remoção dos fungos²³. Portanto, para alcançar a epiderme o patógeno deve aderir à superfície do tecido, os conídios devem germinar e, quando presente, a hifa rapidamente entrar no estrato córneo, impedindo que o fungo seja eliminado pelas defesas da pele²⁴.

Os próximos fatores a serem considerados são aqueles relacionados ao agente infeccioso, sua capacidade de invadir tecidos e causar processos patológicos, constituindo sua virulência. As enzimas hidrolíticas são conhecidas como fatores de virulência de algumas espécies de fungos, pois favorecem a capacidade de invasão através da hidrólise de

componentes estruturais do tecido epidérmico, como as fosfolipases que clivam os fosfolipídios constituintes da membrana celular. Isso resulta na desestabilização e penetração na membrana da célula hospedeira e tecidos²⁵.

No presente estudo, as leveduras e o fungo filamentosos se desenvolveram, invadiram os substratos queratinizados e produziram estruturas de propagação, que foram visualizadas ao microscópio óptico (FIG. 2). Também foi possível observar em todos os casos a degradação das estruturas queratinizadas em comparação com os controles negativos (amostra sem fungos). Espécies do gênero *Candida*, *Trichosporon* e *Fusarium* são fungos capazes de invadir e causar infecções em tecidos queratinizados em humanos^{17, 19, 26} e em cães^{27, 28, 29}. O gênero *Rhodotorula* tem surgido como agentes oportunistas, particularmente em pacientes imunocomprometidos, entretanto estudos vêm mostrando a capacidade de *Rhodotorula* spp. em causar onicomicose em pacientes imunocompetentes^{30,31} e infecção respiratória em cães²⁸.

Os resultados obtidos têm importância médica, uma vez que se tratam de fungos oportunistas que são responsáveis por doenças como otite, infecções urinárias, onicomicoses, micotoxicoses, infecções oculares e até fungemias³². Tais resultados indicam a possibilidade desses fungos que estavam presentes no ambiente quando inalados com o ar, ingeridos ou inoculados através de traumas, como arranhaduras, mordidas, ou acidentes com os objetos cortantes usados em tosa, por exemplo, situações passíveis de ocorrerem em *pet shops*, havendo infecção. É importante ressaltar que fatores como carga fúngica, tipo do agente e de características do hospedeiro, como deficiência do sistema imunológico, ruptura das barreiras naturais e alterações da microbiota normal podem contribuir para o processo patológico tanto para o homem quanto para os animais^{20, 21, 22}.

CONCLUSÕES

É alta a incidência de doenças fúngicas em animais domésticos e a proximidade na interação humano-animal, aumentando o risco de transmissão de fungos, sendo os *pet shops*, importantes veiculadores dessas zoonoses, destacando-se fungos pertencentes aos gêneros *Fusarium*, *Candida*, *Rhodotorula* e *Trichosporon*, os quais apresentaram capacidade de infecção tanto nos pelos de animal, quanto unhas e cabelos humanos, portanto as espécies anemófilas encontradas podem utilizar queratina como única fonte nutricional, tendo potencial de provocar doenças nestes tecidos. Assim, é fundamental os hábitos de

higienização adequada tanto dos estabelecimentos de banho e tosa, como dos proprietários e animais de estimação.

AGRADECIMENTOS

Este estudo foi apoiado por Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), Conselho Nacional Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Paraná Fundação Araucária e Financiadora de Estudos e Projetos (FINEP/COMCAP).

REFERÊNCIAS

1. Santos FS, Táparo CV, Colombo G, Tencate LN, Perri SHV, Marinho M. Conscientizar para o bem-estar: posse responsável. *Rev Ciênc Ext.* 2014; 10(2):65-73. Disponível em <http://ojs.unesp.br/index.php/revista_proex/article/view/805/978> Acesso em 11 jan. 2019.
2. Silva CS, Santos JRN, Pinheiro EAD, Mendes AGG, Araújo MLS, Almeida JL, et al. Correlação entre internações por micoses e condições climáticas em São Luís, no período de 1998 a 2016. *Rev Ceuma Perspectivas.* 2017; 30(1):59-65. Disponível em <<http://www.ceuma.br/portalderevistas/index.php/RCCP/article/view/206>> Acesso em 11 jan. 2019.
3. Fisher MC, Henk DA, Briggs CJ, Brownstein JS, Madoff LC, McCraw SL, et al. Emerging fungal threats to animal, plant and ecosystem health. *Nature.* 2012; 484(7393):186-194. Disponível em <<https://www.nature.com/articles/nature10947>> Acesso em 11 jan. 2019.
4. Torres MELM, Herculano PN, Lima MLF, Soares PT, Siqueira ABS, Souza-Motta CM, et al. Isolamento e perfil enzimático de cães e gatos com dermatofitoses atendidos em hospitais veterinários do Recife, Pernambuco. *Pesq Vet Bras.* 2018; 38(5):930-934. Disponível em <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-736X2018000500930&lng=pt&nrm=iso>. Acesso em 18 jan. 2019.
5. Gurry GA, Campion V, Premawardena C, Woolley I, Shortt J, Bowden DK, et al. High rates of potentially infectious exposures between immunocompromised patients and their companion animals: an unmet need for education. *Intern Med J.* 2017; 47(3):333-335. Disponível em <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/imj.13361>> Acesso em 18 jan. 2019.
6. Brown GD, Denning DW, Gow NAR, Levitz SM, Netea MG, White TC. Hidden Killers: Human Fungal Infections. *Sci Transl Med.* 2012; 4(165).
7. Larone DH. *Medically important fungi: A guide to identification.* 5ª ed. Washington: American Society For Microbiology Press; 2011.

8. Lallo MA, Spadacci-Morena DD, Dall'acqua SC. Comportamento humano na criação de cães e a prevalência de parasitos intestinais com potencial zoonótico. *Rev Acad Cienc Anim.* 2016; [S.l.], 14:119-128.
9. Ferreira L, Sanches EMC, Spanamberg A, Ferreira RR, Machado MLS, Roehe C, et al. Zoonoses micóticas em cães e gatos. *Acta Scientiae Veterinariae.* 2007; 35:296-299.
10. Galiza GJN, Silva TM, Caprioli RA, Barros CSL, Irigoyen LF, Figuera RA, et al. Ocorrência de micoses e pitiose em animais domésticos: 230 casos. *Pesq Vet Bras.* 2014; 34(3):224-232. Disponível em <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-736X2014000300005> Acesso em 11 jan. 2019.
11. Cardoso NT, Frias DFR, Kozusny-Andreani DI. Isolamento e identificação de fungos presentes em pelos de cães hígidos e com sintomas de dermatofitose, do município de Araçatuba, São Paulo. *Archives of Veterinary Science.* 2013; 18(3):46-51. Disponível em <<https://revistas.ufpr.br/veterinary/article/view/28975/20877>> Acesso em 11 jan. 2019.
12. Halsby KD, Walsh AL, Campbell C, Hewitt K, Morgan D. Healthy Animals, Healthy People: Zoonosis Risk from Animal Contact in Pet Shop, a Systematic Review of the Literature. *PLoS ONE.* 2014; 9(2):e89309. Disponível em <<https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0089309>> Acesso em 11 an. 2019.
13. Benedict K, Richardson M, Vallabhaneni S, Jackson BR, Chiller T. Emerging issues, challenges, and changing epidemiology of fungal disease outbreaks. *Lancet Infect Diseases.* 2017; 17:403-412.
14. Seyedmousavi S, Guillot J, Tolooe A, Verweij PE, Hoog GS. Neglected fungal zoonoses: hidden threats to man and animals. *Clinical Microbiology and Infections.* 2015; 21(5):416-25. Disponível em <[https://www.clinicalmicrobiologyandinfection.com/article/S1198-743X\(15\)00325-0/fulltext](https://www.clinicalmicrobiologyandinfection.com/article/S1198-743X(15)00325-0/fulltext)> Acesso em 11 jan. 2019.
15. Moretti A, Agnetti F, Mancianti F, Nardoni S, Righi C, Moretta I, et al. Dermatophytosis in animals: epidemiological, clinical and zoonotic aspects. *Giornale Italiano Di Dermatologia E Venereologia.* 2013; 148(6):563-72.
16. Moran NE, Ferketich AK, Wittum TE, Stull JW. Dogs on livestock farms: A cross-sectional study investigating potential roles in zoonotic pathogen transmission. *Zoonoses Public Health.* 2018; 65(1):80-87. Disponível em <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/zph.12373>> Acesso em 11 jan. 2019.
17. Mattei AS, Madrid IM, Santin R, Schuch LFD, Meireles MCA. Presença de fungos com potencial patogênico em instrumentos de tosa. *Archives of Veterinary Science.* 2014; 19(2):40-45. Disponível em <<https://revistas.ufpr.br/veterinary/article/view/32998/22520>> Acesso em 11 jan. 2019.
18. Nayar T S, JothishAn PS. An Assessment of the air quality in indoor and outdoor air with reference to fungal spores and pollen grains in four working environments in Kerala, India. *Aerobiologia.* 2013; 29:131–152.
19. Colombo AL, Padovan AC, Chaves GM. Current knowledge of *Trichosporon* spp. and *Trichosporonosis*. *Clinical Microbiol Reviews.* 2011; 24(4):682-700. Disponível em <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3194827/>> Acesso em 11 jan. 2019.

20. Lass-Flörl C, Cuenca-Estrella M. Changes in the epidemiological landscape of invasive mould infections and disease. *The Journal Antimicrobial Chemotherapy*. 2017; 72(suppl_1):i5-i11. Disponível em <https://academic.oup.com/jac/article/72/suppl_1/i5/3074191> Acesso em 11 jan. 2019.
21. Ferreiro L, Roehe C, Dorneles AS, Machado G, Fraga CF, Lupion CG, et al. Isolamento de dermatófitos e fungos saprotróficos do pelame de gatos sem dermatoses na região metropolitana de Porto Alegre - RS, Brasil. *Acta Scientiae Veterinarie*. 2014; 42:1191. Disponível em <<https://www.redalyc.org/pdf/2890/289029240023.pdf>> Acesso em 11 jan. 2019.
22. Oliveira AMAV, Alencar RM, Porto JCS, Ramos IRBF, Noletto IS, Santos TC, et al. Analysis of fungi in aerosols dispersed by high speed pens in dental clinics from Teresina, Piauí, Brazil. *Environmental Monitoring and Assessment*. 2018; 190:56.
23. Peres NT, Maranhao FC, Rossi A, Martinez-Rossi NM. Dermatófitos: interação patógeno-hospedeiro e resistência a antifúngicos. *An. Bras. Dermatol*. 2010; 85(5):657-667. Disponível em <<http://www.scielo.br/pdf/abd/v85n5/v85n05a09.pdf>> Acesso em 11 jan. 2019.
24. Vermout S, Tabart J, Baldo A, Mathy A, Losson B, Mignon B. Pathogenesis of dermatophytosis. *Mycopathologia*. 2008. 166:267-75.
25. Li X, Gao M, Han X, Tao S, Zheng D, Cheng Y, et al. Disruption of the phospholipase D gene attenuates the virulence of *Aspergillus fumigatus*. *Infect Immun*. 2012; (80): 429-440. Disponível em <<https://iai.asm.org/content/80/1/429.long>> Acesso em 11 jan. 2019.
26. Galletti J, Negri M, Grassi FL, Kioshima-Cotica ÉS, Svidzinski TI. *Fusarium* spp. is able to grow and invade healthy human nails as a single source of nutrients. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*. 2015.; 34(9): 1767–1772. Disponível em <<https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs10096-015-2410-1>> Acesso em 19 jan. 2019.
27. Namitome K, Kano R, Sekiguchi M, Iwasaki T, Kaneshima T, Nishifuji K. Isolation of *Fusarium* sp. from a claw of a dog with onychomycosis. *J Vet Med Sci*. 2011; 73(7):965-969. Disponível em <https://www.jstage.jst.go.jp/article/jvms/73/7/73_11-0012/_article> Acesso em 19 jan. 2019.
28. Biegańska MJ, Rzewuska M, Dąbrowska I, Malewska-Biel B, Ostrzeszewicz M, Dworecka-Kaszak B. Mixed Infection of Respiratory Tract in a Dog Caused by *Rhodotorula mucilaginosa* and *Trichosporon jirovecii*: A Case Report. *Mycopathologia*. 2018; 183(3):637-644. Disponível em <<https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs11046-017-0227-4>> Acesso em 19 jan. 2019.
29. Bumroongthai K, Chetanachan P, Niyomtham W, Yurayart C, Prapasarakul N. Biofilm production and antifungal susceptibility of co-cultured *Malassezia pachydermatis* and *Candida parapsilosis* isolated from canine seborrheic dermatitis. *Med Mycol*. 2016; 54(5):544-549. Disponível em <<https://academic.oup.com/mmy/article/54/5/544/2579205>> Acesso em 19 jan. 2019.
30. Uludag Altun H, Meral T, Turk Aribas E, Gorpelioglu C, Karabicak N. A Case of Onychomycosis Caused by *Rhodotorula glutinis*. *Case Rep Dermatol Med*. 2014; 563261. Disponível em <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4190823/>> Acesso em 19 jan. 2019.
31. Mot AC, Pârvu M, Pârvu AE, Rosca-Casian O, Dina NE, Leopold N, et al. Reversible naftifine-induced carotenoid depigmentation in *Rhodotorula mucilaginosa* (A. Jörg.) F.C.

Harrison causing onychomycosis. *Scientific Reports*. 2017; 7(1):11125. Disponível em <<https://www.nature.com/articles/s41598-017-11600-7>> Acesso em 19 jan. 2019.

32. Sidrim JJC, Moreira JLB. *Fundamentos clínico-laboratoriais da micologia médica*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1999.