ANA CLAUDIA BALDA

**Avaliação das concentrações de terbinafina no
pelame de gatos da raça Persa com
dermatofitose e daqueles portadores de
Microsporum canis tratados em esquema de
pulsoterapia ou terapia contínua**

São Paulo
2008

ANA CLAUDIA BALDA

DEDALUS - Acervo - FMVZ

11300031904

**Avaliação das concentrações de terbinafina no
pelame de gatos da raça Persa com
dermatofitose e daqueles portadores de
Microsporum canis tratados em esquema de
pulsoterapia ou terapia contínua**

Tese apresentada ao Programa de
Pós-Graduação em Clínica
Veterinária da Faculdade de
Medicina Veterinária e Zootecnia
da Universidade de São Paulo para
obtenção do título de Doutor em
Medicina Veterinária

Departamento:
Clínica Médica

Área de concentração:
Clínica Veterinária

Orientador:
Prof. Dr. Carlos Eduardo Larsson

São Paulo
2008

ID. 22523

N.º CLASSIFICAÇÃO
T. 2006
FMVZ
N.º TOMBO:
027918

SAB 17/18
Seymour

Autorizo a reprodução parcial ou total desta obra, para fins acadêmicos, desde que citada a fonte.

8f
BIBLIOTECA VIRGINIE BUFF D'ÁPICE
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA
E ZOOTECNIA DA USP
27/6/08

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO-NA-PUBLICAÇÃO

(Biblioteca Virgínie Buff D'Ápice da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo)

T.2006
FMVZ

Balda, Ana Cláudia

Avaliação das concentrações de terbinafina no pelame de gatos da raça Persa com dermatofitose e daqueles portadores de *Microsporum canis* tratados em esquema de pulsoterapia ou terapia contínua / Ana Cláudia Balda. – São Paulo: A. C. Balda, 2008.

72 f. : il.

Tese (doutorado) - Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Clínica Médica, 2008.

Programa de Pós-Graduação: Clínica Veterinária.
Área de concentração: Clínica Veterinária.

Orientador: Prof. Dr. Carlos Eduardo Larsson.

1. Dermatofitose. 2. Gatos. 3. Terbinafina. 4. Pulsoterapia.
I. Título.

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia
Hospital Veterinário

Ao Ilmo.Sr.
Prof. Dr. **Carlos Eduardo Larsson**

DECLARAÇÃO

Declaramos que o projeto “Avaliação da concentração de terbinafina no pelame de cães e gatos com dermatofitose tratados em esquema de pulsoterapia e terapia contínua”, sob a sua responsabilidade, previamente aprovado pela Comissão de Bioética dessa Faculdade, foi analisado e atende as normas da Comissão de Ética desse Hospital, que acompanhará administrativamente sua execução.

Substituição do responsável, inserção de novos colaboradores e mudanças na metodologia proposta deverão ser imediatamente comunicados a essa comissão, assim como as datas de suspensão ou término do projeto.

São Paulo, 27 de junho de 2005

Prof. Dr. Luís Claudio Lopes Correia da Silva
Presidente da Comissão de Ética do HOVET/FMVZ/USP

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Nome: BALDA, Ana Claudia

Título: Avaliação das concentrações de terbinafina no pelame de gatos da raça Persa com dermatofitose e daqueles portadores de *Microsporum canis* tratados em esquema de pulsoterapia ou terapia contínua

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Clínica Veterinária da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Medicina Veterinária

Data: 21/07/08

Banca Examinadora

Prof. Dr. Carlos E. Carlson
Assinatura: [assinatura]

Instituição: FMVZ/USP
Julgamento: aprovada

Prof. Dr. Jane Tomimori
Assinatura: [assinatura]

Instituição: UNIFESP
Julgamento: aprovada

Prof. Dr. Silvio Alexandre Miyabe
Assinatura: [assinatura]

Instituição: UNESP
Julgamento: Aprovada

Prof. Dr. Denise Faletta Felisberto
Assinatura: [assinatura]

Instituição: USP
Julgamento: APROVADA

Prof. Dr. Rauldo Luis
Assinatura: [assinatura]

Instituição: UNISA
Julgamento: APROVADA

Aos **meus pais Carlos e Carmelia** que passaram a vida ressaltando a importância do conhecimento e do esforço, se eu pudesse ter escolhido meus pais... escolheria vocês!

Ao meu irmão **Carlos**, cunhada **Rita** e sobrinho **André (o moleque mais legal do mundo!)** por estarmos sempre juntos e principalmente pelo apoio de vocês nas horas difíceis!

Ao meu querido mestre, orientador e "pai" **Carlos Eduardo Larsson**, por todos os seus ensinamentos, por ter não só me inspirado, mas também me guiado na carreira docente, que apesar de difícil é muito recompensadora.

Aos **meus queridos alunos**, pessoas que me tornaram um ser humano melhor. Dedico essa tese a todos vocês, cada um fez tudo valer a pena!

Aos **animais**, seres muito especiais, a grande razão da existência dessa profissão, pelo amor incondicional e verdadeiro que dedicam a nós.

Aos Persas que compuseram meus grupos de tratamento: **Milady, Ludmila, Shoshanah, Ionah, Princezinha, Ceci, Guisella, Lisieux, Tufy, Ondina, Yasmin, Michele, Arieih, Beith, Speedy, Serelepe, René, Elvis, Omijé, Oliver, Shmesh, Aleph, Geshem, Roger, Aviv, Stephen, Tic e Cacau**

Agradecimentos

Ao Sr. Antônio Levy, proprietário dos gatos, por ter permitido que seus animais ficassem sob meus cuidados durante um período de mais de seis meses, pela confiança e estímulo ao meu trabalho.

Ao Geraldo Natalino Tezzi pela dedicação e cuidado com os animais e ao Carlito dos Santos Belau, pelo auxílio na colheita de material clínico.

Às médicas veterinárias contratadas do Serviço de Dermatologia do Hovet/USP: Mary Otsuka e Simoni Maruyama por toda generosidade, amizade e força durante o desenvolvimento desse trabalho.

Aos meus colegas de pós-graduação e amigos: Ângela, Carlos, Luciana, Luís, Márcia e Tatiana por terem me auxiliado no atendimento dos animais, pelo convívio e amizade.

Aos meus queridos colegas de trabalho e verdadeiros amigos da FMU por formarem um grupo tão humilde, generoso, unido e competente! É um prazer trabalhar (ou ter trabalhado) com vocês: Alexandre Lourenço, Aline Machado De Zoppa, Carla Bargi Belli, Carla Lorigados, Carolina Amália, Cynthia Carpiggiani, Débora Gidali, Daniel Mendes Netto, Eduardo Lopes Eziliano, Gustavo Sabatini, João Francisco Mattos, Ronaldo Jun Yamato e Terezinha Knobl.

À todos os residentes da FMU e à M.V. Patrícia Guerra, pelo apoio, carinho e amizade de sempre.

Aos amigos Rita de Cássia Carmona Castro, Ricardo Duarte Silva, Andreza Conti, Christiane Prosser e Alessandra Vargas pela troca de idéias, pelas aulas que ministraram na graduação e pós-graduação da FMU, por compartilharem muito trabalho e convivência no Provet.

Aos profissionais que me auxiliaram com a metodologia do HPLC de alguma forma: Prof. Dr. Gilberto De Nucci, Prof. Dr. Jorge Arrese, Prof. Dr. Krafchik, Prof. Dr. Benedito Correa, Prof. Dr. Mark Papich e à M.V. Tatiana Reis.

Às pesquisadoras do Laboratório de Bioquímica e Biofísica do Instituto Butantan: Ana Marisa Schudzinsky Tavassi, Isabel de Fátima Correia Batista e Sandra Alves Barreto pela ajuda essencial no final da tese, permissão do uso do laboratório e auxílio na análise dos resultados.

À Rejane Figueiredo, pelo auxílio na análise estatística.

À Shirlei Vieira Marques e ao Prof. Dr. Carlos Pelleschi Taborda, respectivamente pela ajuda na realização dos cultivos micológicos e permissão do uso do laboratório.

À *Silvia Dellaquila* e à *Bayer Saúde Animal* que cederam as ampolas de *Advocate®* para uso em todos os animais

À *Samatha Ive Myiashiro* e *Marly Elisabete Ferreira de Castro* pela realização dos exames no Laboratório clínico do *Hovet/USP*.

À *M.V. Aline Santana Da Hora* e *Profa. Dra. Mitika Kuribayashi Hagiwara* pelo apoio com a realização dos hemogramas e sorologias nos animais.

Ao *Prof. Dr. Archivaldo Reche Junior* pelas sugestões valiosas durante o período em que os animais permaneceram no gatil.

Ao *Prof. Dr. Ronaldo Lucas* pelo papel importante que exerceu na minha carreira, pelos conselhos e amizade.

À *Profa. Dra. Denise Saretta Schwartz* pela gentileza e valiosas sugestões na leitura do projeto.

À todos os Professores da *FMVZ/USP* que contribuíram com a minha formação, especialmente aqueles do Departamento de Clínica Médica, que me acolheram tão bem durante o longo período de graduação e pós-graduação.

Às secretárias da graduação e pós-graduação, um "obrigada" muito especial para a *Adelaide*, que ouve nossas lamentações e sempre nos aconselha com sabedoria.

À bibliotecária *Elza Faquim* pelo auxílio com as referências e formatação da tese.

RESUMO

BALDA, A. C. **Avaliação das concentrações de terbinafina no pelame de gatos da raça Persa com dermatofitose e daqueles portadores de *Microsporum canis* tratados em esquema de pulsoterapia ou terapia contínua.** [Evaluation of terbinafine hair concentration in Persian cats with dermatophytosis and healthy carriers of *Microsporum canis* treated with pulse or continuous therapy]. 2008. 72 f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.

A dermatofitose é micose superficial desencadeada, principalmente, pelo *Microsporum canis* e de ocorrência comum nos felinos da raça Persa. Objetivou-se no presente estudo avaliar e comparar a melhora clínica e negatificação micológica nos animais tratados com a terbinafina em pulsoterapia em relação a terapia contínua; evidenciar o acúmulo de terbinafina no pelame e o tempo em que o fármaco permanece em doses terapêuticas após a suspensão de sua administração; correlacionar a melhora clínica com a quantificação do fármaco no pelame; comparar a ocorrência de efeitos colaterais em pulsoterapia em relação a terapia contínua.. Foram incluídos nesse estudo, 27 gatos da raça Persa, 17 portadores assintomáticos e 10 sintomáticos do *M. canis*, o Grupo I foi composto por 13 fêmeas tratadas em pulsoterapia. Durante os primeiros sete dias a terbinafina foi administrada na dose de 20 mg/kg a cada 24 horas por via oral, seguidos por um período de suspensão da medicação pelos 21 dias subseqüentes, posteriormente foi realizado um segundo ciclo de sete dias, na dose de 40 mg/kg a cada 24 horas, novamente seguidos por um período de suspensão do fármaco nos 21 dias posteriores. O Grupo II foi constituído por 14 machos, que receberam terapia contínua, durante 56 dias. Nos primeiros 28 dias foi administrada a dose de 20 mg/kg a cada 24 horas por via oral e nos 28 dias subseqüentes a dose foi aumentada para 40 mg/kg diários. Os animais foram submetidos à duas colheitas de pelame pela Técnica do carpete com intervalo de 15 dias, anteriormente e posteriormente à terapia. Também eram realizadas colheitas de pelame nos dias zero, sete, 28, 35 e 56 dias para realização da quantificação das concentrações de terbinafina no pelame dos animais tratados, pela cromatografia líquida de alta performance (HPLC). Quinzenalmente, colhia-se sangue para realização de função hepática. Houve

cura clínica e micológica em 100% dos animais tratados, as concentrações de terbinafina no pelame dos gatos se mantiveram acima daquelas consideradas terapêuticas por 21 dias após a pulsoterapia de sete dias, tanto na dose de 20, quanto na dose de 40 mg/kg diários, mas ocorreu maior acúmulo do fármaco na dose mais alta em terapia contínua, todavia esses animais apresentaram episódios eméticos na primeira semana de terapia, além de aumento da atividade sérica das transferases e da fosfatase alcalina. Já no grupo da pulsoterapia, não houve aumento da atividade sérica das enzimas hepáticas. A terbinafina foi eficaz e segura no tratamento de portadores sintomáticos e assintomáticos de *M. canis*.

Palavras-chave: Dermatofitose. Gatos. Terbinafina. Pulsoterapia.

ABSTRACT

BALDA, A. C. Evaluation of terbinafine hair concentration in Persian cats with dermatophytosis and healthy carriers of *Microsporum canis* treated with pulse or continuous therapy [Avaliação das concentrações de terbinafina no pelame de gatos da raça Persa com dermatofitose e daqueles portadores de *Microsporum canis* tratados em esquema de pulsoterapia ou terapia contínua]. 2008. 72 f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.

Dermatophytosis is a superficial mycosis caused mainly by *Microsporum canis* and is very common in Persian cats. The goals of this study were: to evaluate the clinical and mycological cure in the animals treated with terbinafine in pulse therapy compared with continuous therapy; the accumulation of terbinafine in cats hair and the time that it is maintained in therapeutical concentrations after its suspension; correlates the clinical cure with the quantity of the drug in the hair and compare the side effects in pulse therapy in relation to continuous therapy. In this study were included 27 Persian cats, 17 healthy carriers of *M. canis* and 10 cats with dermatophytosis. The group I was composed of 13 females treated with pulse therapy, during the first seven days in the dosis of 20 mg/kg, daily, followed by a period of suspension of the medication for 21 days, subsequently, it was realized a new cycle of therapy, more seven days of terbinafine in the dosis of 40 mg/kg daily, repeating a period of suspension for another 21 days . The group II was composed of 14 males, that received continuous therapy, during 56 days, in the first 28 days they received the oral dosis of 20 mg/kg daily and 40 mg/kg daily for the next 28 days. The animals were submitted to two mycological cultures collected by the carpet square method with 15 days of interval, before and after the therapy. It was realized also manual avulsion of the cats hair for the quantification of terbinafine by high performance liquid chromatography (HPLC) in the days zero, seven, 28, 35 and 56. Every 15 days, blood samples were taken for hepatic function evaluation. There were clinical and mycological cure in 100% of treated animals; the concentrations of terbinafine in cats hair were maintained above therapeutical concentrations in pulse therapy in the dosis of 20, and also in 40 daily oral administration, but there was a higher accumulation of the drug when it was used in the higher dosis in continuous therapy. Although were seen emesis in

the first week of therapy, and also higher serical activities of hepatic enzymes. There were no alterations in the values of ALT and FA in the pulse therapy group. Terbinafine had good efficacy and was secure for the treatment of healthy carriers of *M. canis* and also in animals with dermatophytosis.

Key words: Dermatophytosis. Cats. Terbinafine. Pulsetherapy.

LISTA DE APÊNDICES

APÊNDICE A -	Felino, Persa, macho, 5 anos, apresentando lesões alopécicas. Quadro generalizado de dermatofitose. São Paulo - FMVZ/USP - 2008.....	58
APÊNDICE B -	Felino, Persa, macho, 5 anos (animal da figura 1), alopecia com escamas micáceas e lesão iatrogênica (raspado de pele). São Paulo - FMVZ/USP - 2008.....	59
APÊNDICE C -	Felino, Persa, fêmea, 3 anos, apresentando lesões alopécicas mal definidas de dermatofitose. São Paulo - FMVZ/USP - 2008.....	60
APÊNDICE D -	Alopecia com escamas micáceas (detalhe do quadro lesional - figura 3) São Paulo - FMVZ/USP - 2008.....	61
APÊNDICE E -	Felinos da raça Persa, incluídos nos Grupos I e II, desprovidos de lesões cutâneas, portadores são do <i>Microsporum canis</i> . São Paulo - FMVZ/USP - 2008.....	62
APÊNDICE F -	Fêmeas, felinas, da raça Persa incluídas no Grupo 1 - terbinafina "per os" (20 e 40 mg/kg, respectivamente, no primeiro e segundo ciclo) em pulsoterapia, segundo idade, resultados dos exames complementares, peso e características das lesões.....	63
APÊNDICE G -	Machos, felinos, da raça Persa incluídos no grupo 2 - terbinafina "per os" (20 e 40 mg/kg respectivamente no primeiro e segundo mês) em terapia contínua, segundo idade, resultados dos exames complementares e características das lesões.....	64
APÊNDICE H -	Atividade sérica das enzimas hepáticas em U/L dos animais incluídos no protocolo terapêutico de pulsoterapia com terbinafina em relação aos dias de tratamento. FMVZ/USP. São Paulo, 2008.....	65
APÊNDICE I -	Atividade sérica das enzimas hepáticas em U/L dos animais incluídos no protocolo terapêutico contínuo com terbinafina em relação aos dias de tratamento. FMVZ/USP. São Paulo, 2008.....	68
APÊNDICE J -	Exemplo de Cromatograma (animal 20 - dia 56).....	71
APÊNDICE K -	Média das soluções padrões de terbinafina.....	72

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 -	Concentração de terbinafina (ng) no pelame (mg) dos animais em relação aos dias de tratamento com pulsoterapia.....	33
Gráfico 2 -	Concentração de terbinafina (ng) no pelame (mg) dos animais em relação aos dias de tratamento com pulsoterapia.....	34
Gráfico 3 -	Média das concentrações de terbinafina dos animais tratados com pulsoterapia e terapia contínua, no decorrer dos dias de tratamento.....	34

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 -	Concentrações de terbinafina em ng/mg de pelame de gatos tratados em pulsoterapia nas doses de 20 mg/kg no primeiro ciclo (durante sete dias), com posterior descanso de 21 dias e 40 mg/kg no segundo ciclo (durante sete dias), também seguidos de 21 dias de descanso.....	32
Quadro 2 -	Concentrações de terbinafina em ng/mg de pelame de gatos tratados em terapia contínua, por via oral, nas doses de 20 mg/kg nos primeiros 28 dias e 40 mg/kg nos 28 dias subseqüentes.....	32
Quadro 3 -	Concentrações de terbinafina em ng/mg em relação à média de todos os animais tratados em pulsoterapia e daqueles tratados em terapia contínua, por via oral, nas doses de 20 mg/kg nos primeiros 28 dias e 40 mg/kg nos 28 dias subseqüentes.....	33

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Média, mediana e desvio padrão dos grupos de pulsoterapia e terapia contínua utilizando-se análise de variância de medidas repetidas. FMVZ/USP - São Paulo - 2008.....	33
Tabela 2 - Média, mediana e desvio padrão utilizando-se o teste de Mann-Whitney nos grupos tratados com pulsoterapia e terapia contínua.....	34

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

ALT: alanina aminotransferase

AST: aspartato aminotransferase

FA: fosfatase alcalina

GGT: gama glutamiltransferase

HPLC: cromatografia líquida de alta performance (high performance liquid chromatography)

H₂SO₄: ácido sulfúrico

ICB/USP: Instituto de Ciência Biomédicas da Universidade de São Paulo

M: mol

M. canis: *Microsporum canis*

MIC: concentração inibitória mínima (minnimal)

mL: microlitros

mg: miligramas

mg/kg: miligramas por quilograma

μL: microlitros

NaOH: hidróxido de sódio

ng: nanogramas

nm: nanômetros

FMVZ/USP: Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo

VCM: Departamento de Clínica Médica

$$g: 11,17 \times r \times \left(\frac{rpm}{1000} \right)^2$$

r: raio (da centrífuga)

®: marca registrada

v/v: volume/volume

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	19
2 OBJETIVOS	29
3 MATERIAIS E MÉTODOS	30
3.1 Materiais	30
3.2 Métodos	33
3.2.1 Extração e análise da terbinafina a partir do pelame	33
3.3 Análise estatística	35
4 RESULTADOS.....	36
4.1 Análise estatística.....	40
5 DISCUSSÃO	43
6 CONCLUSÕES	50
REFERÊNCIAS	51
APÊNDICES	58

1 INTRODUÇÃO

A dermatofitose é infecção fúngica superficial, que se instala nas porções queratinizadas ou semiqueratinizadas do tegumento. Nos felinos, o dermatófito isolado com maior frequência como agente etiológico é *Microsporum canis* (*M. canis*), que se constitui em fungo zoofílico, e, em menor frequência, os dermatófitos *Microsporum gypseum* e *Trichophyton mentagrophytes* (SPARKES et al., 1993; LARSSON et al., 1994; CABAÑES et al., 1997; YAMAMURA et al., 1997; PINTER et al., 1999; BALDA et al., 2004).

A frequência dessa dermatopatia varia entre 1,4 e 2,0% da casuística dermatológica dos cães e gatos atendidos em hospitais-escola (SCOTT; PARADIS, 1990; MORIELLO, 2003; BALDA et al., 2004). Acomete com maior frequência gatos de pelame longo e raça definida, sendo a raça Persa aquela relatada por diversos autores como a mais predisposta. Em relação à idade, animais com menos de um ano ou idosos apresentam maior predisposição, mas a dermatofitose pode acometer gatos de qualquer faixa etária (PINTER et al., 1999; MORIELLO; DEBOER, 1999; SCOTT; MILLER; GRIFFIN, 2001; BALDA et al., 2004).

Apesar da dermatofitose não ser uma dermatopatia tão frequente na rotina clínica, a importância da doença se dá pelo fato de tratar-se de uma antroponose. Além disso, deve-se considerar que os gatos podem ser portadores assintomáticos do *M. canis*, atuando como fontes de infecção para outros animais e, também, para o próprio homem (JAHAM; PARADIS, 1997; PINTER et al., 1999; MORIELLO; DeBOER, 1999; SCOTT; MILLER; GRIFFIN, 2001; BALDA et al., 2004; DEBOER; MORIELLO, 2006; MORIELLO; NEWBURY, 2006). Diversos autores isolaram *M. canis* a partir de gatos desprovidos de lesões em repetidos cultivos. No Brasil, a obtenção de cultivos positivos a partir de população felina assintomática, variou de 25 a 30% (GAMBALE et al., 1993; DIECKMANN et al., 1998). Em estudos similares realizados em outros países, o *M. canis* já foi isolado em felinos assintomáticos em frequências que variaram de 15 a 88% (BAXTER, 1973; MANTOVANNI; MORGANTI, 1977; WOODGYER, 1977; MARTINEZ, 1986; ZAROR

et al., 1986; THOMAZ; SCHEIDT; WALKER., 1989; ROMANO; VALENTI; BARBARA, 1997).

A dermatofitose é importante em gatis, em função da aglomeração de animais e, principalmente, nas criações de gatos Persa, já que tal raça apresenta evidente predisposição à doença.

Em alguns países há relatos de aumento das infecções por *M.canis* na espécie humana, provavelmente em função do crescente convívio humano com cães e gatos (TORRES; MOREIRA, 1984; MARTINEZ, 1986; COLOMB; BATTESTI; COGNAT 1987; LUNDER; LUNDER, 1991). As dermatofitoses representam 8,7% das dermatoses em crianças no Brasil, sendo a *tinea capitis*, causada pelo *M. canis*, a infecção fúngica mais comum (TALARICO FILHO et al., 1998).

A transmissão interespecie vem sendo relatada, ao longo dos anos por inúmeros autores, variando entre 18,7 e 87,0% (LONDERO; FISHMAN; RAMOS, 1961; BATISTA JUNIOR; NICO, 1967; WARNER et al., 1984; PEPIN; OXENHAM, 1986; CUADROS et al., 1990; PINHEIRO; MOREIRA; SIDRIM, 1997; BALDA et al., 2004).

Alguns autores afirmam que 50% das pessoas expostas a gatos infectados, sintomáticos ou assintomáticos, adquirem a doença e que em 70% das famílias que possuem gatos infectados, pelo menos um dos membros da família poderá desenvolver a doença (PEPIN; OXENHAM, 1986; SCOTT; MILLER; GRIFFIN, 2001).

Com relação à patogenia da infecção dermatofítica, sabe-se que há envolvimento de fatores extrínsecos e intrínsecos ao hospedeiro. Os fatores extrínsecos são aqueles relacionados aos fungos e à sua atividade enzimática, principalmente, a produção de queratinase, fator apontado como um dos mais importantes para estabelecer a virulência de um dermatófito (VIANI, 1999).

Dentre os fatores intrínsecos, a integridade da epiderme associada aos fatores séricos, que possuem ação antifúngica, e os ácidos graxos, presentes na emulsão sebácea, constituem barreira natural que impede a penetração dos dermatófitos na epiderme (SCOTT; MILLER; GRIFFIN, 2001).

Na espécie humana, sabe-se que há uma resposta inespecífica constituída pela descamação epidérmica, pois os queratinócitos têm potencial de fagocitose de

antígenos e, ainda, de secretar várias linfocinas, sendo a principal a interleucina-1, afora fatores séricos inibitórios, transferrina insaturada e alfa-2 macroglobulinas que, respectivamente, inibem o crescimento do dermatófito e a ação das queratinases (ZAITZ, 1994; ZAITZ, 1998).

Assim, como já relatado na espécie humana, sabe-se que a resposta celular relaciona-se com a melhora clínica, enquanto que a imunidade humoral é pouco expressiva para tal, também, na espécie felina (SPARKES; STOKES; GRUFFID-JONES, 1995).

Em relação às manifestações clínicas da dermatofitose, a alopecia (parcial ou total) é comumente observada em decorrência do envolvimento folicular (NESBITT, 1998; WILLESEN et al., 1998; MORIELLO; DEBOER, 1999; SCOTT; MILLER; GRIFFIN, 2001; BALDA et al., 2004). As lesões elementares mais freqüentes são escamas furfuráceas e/ou micáceas, crostas e, mais raramente, pápulas, eritema e hiperpigmentação. Na maioria das vezes, as lesões têm conformação numular, geográfica, irisada ou anular e, mormente, ocorrem em região cefálica e de membros, sendo que tais lesões se generalizam com relativa freqüência (JAHAM; PARADIS, 1997; PINTER et al., 1999; MORIELLO; DEBOER, 1999; SCOTT; MILLER; GRIFFIN, 2001; BALDA et al., 2004). O prurido em casos de dermatofitoses felinas, no Brasil, é detectado em cerca de 12% dos gatos acometidos (BALDA et al., 2004).

Alguns padrões lesionais são relacionados com a presença do *M. canis* nos gatos, quais sejam: alopecia simétrica bilateral, doenças do Complexo granuloma eosinofílico, hiperplasia do órgão supra-caudal e dermatite miliar. Nos gatos da raça Persa, pode-se observar a ocorrência de dermatite esfoliativa, com presença de escamas na região dorsal, por vezes sem alopecia e em geral, nessa raça, observa-se maior gravidade das lesões, assim como quadros mais generalizados (MORIELLO, 2003; NEWBURY; MORIELLO, 2006).

O dermatófito causa uma infecção superficial, mas há raras descrições de ocorrência de pseudomicetoma em gatos da raça Persa, que se trata de uma infecção subcutânea causada por *M. canis*. Tais lesões nodulares, que podem ulcerar-se, localizam-se em região de tronco ou na base da cauda. Os quérions, lesões nodulares que ocorrem por uma infecção bacteriana secundária, eliciada por

Staphylococcus intermedius, à infecção dermatofítica primária podem, também, acometer os gatos também, apesar de serem menos comuns nessa espécie em relação à congênere canina (SCOTT; MILLER; GRIFFIN, 2001).

Os quadros de otite externa por *M. canis* são relatados em frequência que varia entre oito e 10% dos animais que apresentam dermatofitose, a otomicose pode ser a única manifestação clínica da dermatofitose evidenciada (WAWRZKIEWICZ et al., 1994; AMARAL et al., 1998; BALDA et al., 2004).

Nos felinos, a dermatofitose deve ser sempre considerada no diagnóstico diferencial das alopecias inflamatórias, e muitas vezes, é difícil para o proprietário observar se há presença de prurido, já que o gato pode manifestar prurido tão somente pela lambedura da lesão, mimetizando inclusive quadros de tricotilomania (MORIELLO; NEWBURY, 2006).

O diagnóstico das dermatofitoses é baseado nos dados de anamnese, no aspecto clínico das lesões, pelo emprego da Lâmpada de Wood, pelo exame direto e histopatológico. Deve sempre ser confirmado com cultivo micológico, já que além de ser um exame sensível e específico, permite a identificação do gênero e da espécie do fungo. No caso de portadores assintomáticos ou de animais em tratamento com repilação parcial da lesão, a Técnica do carpete é bastante útil, já que esses animais não apresentam lesões evidentes (MARIAT; ADAN-CAMPOS, 1961). Tal método, inclusive, é bastante eficiente na colheita de material quando friccionado por sobre áreas falacróticas. Quando o pelame colhido por essa Técnica é submetido ao cultivo micológico, se obtém maior sensibilidade da cultura em relação àquelas colhidas por avulsão manual (SONODA et al., 2004).

O tratamento da dermatofitose baseia-se na remoção ambiental dos artrosporos, em terapia tópica antifúngica, visando a redução da população fúngica do pelame do animal e/ou na terapia sistêmica, utilizada em animais com lesões generalizadas ou em gatis que possuem um grande número de animais infectados. Há diversas classes de antifúngicos sistêmicos disponíveis no mercado para uso na terapia das dermatofitoses, dentre elas incluem-se os derivados do grisano, os azóis (imidazóis e triazóis), sendo o cetoconazol um imidazólico, e o itraconazol e o fluconazol, triazólicos. Dentre as alilaminas, a terbinafina constitui-se no único medicamento de uso sistêmico pertencente a esse grupo (DEBOER; MORIELLO, 2006; NEWBURY; MORIELLO, 2006).

A pulsoterapia nas micoses superficiais é uma modalidade de terapia baseada na escolha de um antifúngico que tenha a propriedade de se acumular nos tecidos queratinizados e que será administrado na forma de pulsos, ou seja, o medicamento não será utilizado de forma contínua, mas sim em períodos curtos de sete dias, seguidos por um período de cerca de 21 dias, no qual o paciente não recebe medicação, chamado de período de descanso (SAMPAIO; RIVITTI, 2007).

Os períodos curtos de administração da medicação são chamados de pulsos e em alguns indivíduos se faz necessária a administração de vários pulsos para obtenção do ansiado resultado. O período de tratamento e a alta devem ser baseados na avaliação periódica do paciente para determinação da cura clínica (ou seja, a cura da lesão, com repilação e ausência de escamas e crostas) e na cura micológica (quando se obtém pelo menos dois cultivos negativos sucessivos).

A principal indicação da pulsoterapia em seres humanos são as onicomicoses, que requerem terapias muito prolongadas, podendo chegar a ultrapassar períodos de um ano. Nesses pacientes, observou-se que não era necessária a administração contínua de alguns medicamentos, já que esses se acumulam em tecidos queratinizados. Propôs-se então, que os antifúngicos triazólicos, principalmente o itraconazol e dentre as alilaminas, a terbinafina, fossem utilizados dessa forma (RAMOS; SILVA et al., 1998; SAMPAIO; RIVITTI, 2007).

Há diversos relatos de sucesso da pulsoterapia em relação às onicomicoses em humanos. Já, em animais, há poucas referências a esse esquema terapêutico. Colombo et al. (2001) utilizaram o itraconazol, em esquema de pulsoterapia, em nove gatos, administrando a medicação, na dose de 10 mg/kg, a cada 24 horas, seguidamente durante 28 dias e preconizando a suspensão do fármaco por sete dias consecutivos, alternados com sete dias de administração a partir de então. Oito gatos (88,8%), segundo aqueles autores apresentaram cura clínica e micológica em 56 dias de terapia.

O paciente deverá ser periodicamente reavaliado para a realização de novos ciclos, quando necessário. Alguns estudos foram realizados baseados em protocolos terapêuticos de pulsoterapia em crianças com *tinea capitis*, principalmente, utilizando o itraconazol que, apesar de ser um fármaco fungistático, propiciou bons índices de cura, por vezes até igual àqueles da terbinafina (GUPTA et al., 1994), no entanto, este triazólico gera um custo mais elevado relativamente à terbinafina.

Outro antifúngico que poderia ser utilizado em esquema de pulsoterapia é o fluconazol. Apesar de sua eficácia, o custo da medicação para um período de 20 dias é muito maior em relação a um curso de tratamento de 15 dias com terbinafina (KRAFCHIK et al., 1999).

O tratamento de *tinea capitis*, causada por *Microsporum spp*, foi eficaz quando se utilizou a terbinafina em pulsoterapia, em dois ciclos, em avaliação realizada em 42 pacientes, administrando a medicação por sete dias consecutivos e a suspendendo por 21 dias (UNGPACHORN et al., 2004).

Em função do custo e da eficácia, a griseofulvina ainda é o fármaco de escolha no tratamento das dermatofitoses, ao menos em medicina veterinária. Na Bélgica, no entanto, já foi retirada do mercado há alguns anos e é possível que isso aconteça em outros países. Em função disso, há premente necessidade de que sejam realizados estudos sobre a eficácia, segurança e custo de outros princípios ativos, sendo assim, a terbinafina pode ser uma boa alternativa terapêutica (LATEUR, 2000).

A terbinafina é um antifúngico que pertence à classe das alilaminas, cuja atividade antifúngica "in vitro" inclui ação fungicida e fungistática sobre dermatófitos e algumas leveduras. É muito bem absorvida, após a administração oral. Esse fármaco liga-se, fortemente, às proteínas plasmáticas, mas essa ligação não é específica e sua eliminação plasmática é lenta. É lipofílica e queratinofílica, por isso se acumula nos tecidos queratinizados. O mecanismo de ação se dá pela inibição do ergosterol, que ocorre na etapa da epoxidação do esqualeno, acarretando tanto o acúmulo de esqualeno, como a deficiência do ergosterol (PETRANYL et al., 1984; RYDER, 1992; BIRNBAUM, 1990; BACK et al., 1992).

Ainda não se conhece, com precisão, a ação do esqualeno, mas acredita-se que elevadas concentrações dessa substância possam interferir na função da membrana e na síntese da parede celular. Pressupõe-se que o acúmulo dessa substância, no tecido, seja responsável pela ação fungicida da terbinafina. Sabe-se, ainda, que os derivados azólicos ligam-se inespecificamente e fortemente ao citocromo P-450, de tal forma, que tais medicações interagem também com o citocromo P-450 humano, podendo isto implicar em hepatotoxicidade, no que se refere às suas interações com outros agentes terapêuticos que dependam da etapa de oxidação pelo citocromo P-450 (BRECKENRIDGE, 1992).

As alilaminas, de forma distinta, ligam-se fracamente ao citocromo P-450. A terbinafina é uma droga verdadeiramente fungicida, tanto “in vitro”, como “in vivo”, portanto, pode-se esperar cura mais rápida e redução nos índices de recidiva (PETRANYL et al., 1984).

É distribuída, na camada basal, a partir da circulação sangüínea. É, também, distribuída para o estrato córneo e folículos pilosos através da secreção sebácea. Altas concentrações de terbinafina podem ser encontrados nesta emulsão, porém, o fármaco é indetectável na secreção sudorípara écrina (KOVARIK et al., 1995).

A meia vida de eliminação, da camada córnea e na secreção sebácea, é lenta, da ordem de três a cinco dias. Concentrações acima daquelas ditas terapêuticas, para a maioria dos casos de dermatofitose, podem estar presentes por mais de três semanas, após a suspensão da terapia oral. Justamente desta propriedade de acúmulo que essa medicação começou a ser utilizada em pulsoterapia.

Jones et al. (1990), demonstraram que essa droga é tão efetiva quanto a griseofulvina, entretanto requer um tempo de terapia bem menor. Alguns dermatologistas citam, inclusive, melhora em casos de “tinea capitis”, com a utilização de 250 mg a cada 24 horas, durante duas semanas. O fármaco é tão efetivo topicamente quanto o é pela via oral e tem demonstrado excelente atividade contra dermatófitos, no entanto parece ser ineficaz nas micoses profundas (VILARS et al., 1993).

Em humanos, a administração de 250 mg diários, no decorrer de quatro semanas, em casos de *tinea capitis*, gera resultados tão bons quanto a griseofulvina utilizada por oito semanas (DEGREEF; DEDONCKER, 1994). Recomenda-se a administração de 62,5 mg (ou de 3 a 6 mg/kg) para crianças com menos de 20 quilogramas; 125 mg para pacientes entre 20 e 40 kg e de 250 mg para pacientes acima de 40 quilogramas. Como efeitos colaterais, podem-se observar sintomas gastrointestinais, reações cutâneas adversas, disfunção hepatobiliar.

Em estudo realizado “in vitro”, pesquisadores comprovaram que a terbinafina é altamente efetiva contra *M. canis*, *T. mentagrophytes* e *M. gypseum* com uma concentração inibitória mínima (MIC) de 0,03 µg/mL (HOFBAUER; LEITNER; RYDER, 2002).

Vários estudos demonstraram a eficácia da terbinafina em cães e gatos tratados com doses que variaram entre cinco e 40 mg/kg administradas por via oral a cada 24 horas por períodos contínuos. A duração da terapia variou entre 21 e 120 dias. Em relação aos efeitos colaterais, a manifestação clínica mais comumente observada pelos autores foi êmese e relativamente às alterações laboratorias, o aumento das atividades séricas de alanina-amino-transferase (ALT) e fosfatase alcalina (FA) foram as alterações relatadas com maior frequência. A maioria dos autores associa tanto os quadros eméticos, quanto o aumento da atividade sérica das enzimas, com uso de doses mais altas (MANCIANTI et al., 1999; CHEN, 2000; KOTNIK et al., 2001; MORIELLO, 2004; MORIELLO; NEWBURRY, 2006; BALDA, OTSUKA; LARSSON, 2007).

Em humanos tratados com terbinafina foram relatados diversos efeitos colaterais relacionados à reações cutâneas: eritema multiforme, eritrodermia, urticária, erupção pustular generalizada e lúpus eritematoso discóide (GUPTA; LYNDE; LAUZON, 1998; SCHMUTZ et al., 1999; FARHI; VIGUIER; COSNES, 2006).

Em relação à espécie felina há apenas relatos de reação urticariforme sete a 14 dias após a suspensão da terbinafina (FOUST et al., 2007).

A terbinafina é uma medicação que persiste no estrato córneo humano, unhas, cabelo e secreção sebácea por vários meses após o tratamento (FAERGEMANN; ZEHENDER; MILLERIOUX, 1994). Concentrações fungicidas de terbinafina também foram encontradas no pelame de gatos após apenas nove dias de tratamento oral (KOTNIK et al., 2001).

Mancianti et al. (1999) observaram 92% de cura clínica e micológica em gatos tratados com 30 mg kg de terbinafina, via oral a cada 24 horas, por apenas 14 dias, sugerindo assim, que a pulsoterapia poderia ser eficaz em animais.

A pulsoterapia em animais visa, também, à diminuição do custo do tratamento, principalmente em locais com grande número de pacientes, melhor adesão do proprietário à terapia, já que se terá que administrar a medicação por um período de tempo supostamente menor, e a provável diminuição da ocorrência dos efeitos colaterais (FOUST et al., 2007).

A utilização de um método preciso e adequado para a determinação das concentrações de terbinafina no pelame é importante para a precisa avaliação de sua utilização em esquema de pulsoterapia.

A cromatografia é um método físico-químico de separação, fundamentado na migração diferencial dos componentes de uma mistura, que ocorre devido a diferentes interações entre duas fases imiscíveis, a fase móvel ou orgânica e a fase estacionária ou aquosa (CASS; DEGANI, 2001).

O método de cromatografia já foi utilizado em felinos para avaliação de concentrações plasmáticas e no pelame de gatos após aplicação de metaflumizona tópica, para constatar o acúmulo de tal substância principalmente no pelame, até 56 dias pós-aplicação (DELAY et al., 2007).

Vários autores se referem à cromatografia líquida de alta performance (high performance liquid chromatography – HPLC) como método adequado e facilmente exeqüível para tal finalidade, tanto no pelame quanto no plasma. Além disso, tais autores afirmam que o método requer equipamento básico de cromatografia que pode ser encontrado na maioria dos laboratórios analíticos (ERZEN et al., 2000; YEGANEH et al., 2000; KOTNIK et al., 2001; KUZNER et al., 2001; OLIVEIRA et al., 2001).

Os autores retro-referidos não utilizaram o método de HPLC com o objetivo de avaliar a eficácia da pulsoterapia em pacientes humanos e tampouco em animais.

No entanto, Foust et al. (2007) determinaram as concentrações residuais de terbinafina utilizando o método de HPLC, no pelame de gatos saudáveis, com cultivo negativo para *M. canis*, após 14 dias de tratamento oral na dose de 30 a 40 mg/quilograma. Tais autores constataram que oito semanas após a suspensão da administração do medicamento, ainda havia concentrações de terbinafina que foram comparáveis com MIC de 0,03 µg/mL, reputadas como terapêuticas no pelame, o que na opinião daqueles autores, sugeriria que a pulsoterapia pode ser uma opção terapêutica efetiva.

Pela importância da dermatofitose em gatis de Persa, pela angústia de proprietários de animais acometidos e muitas vezes pela perda econômica que essa dermatopatia pode implicar, propôs-se a avaliação da pulsoterapia como alternativa terapêutica em função do menor custo e da pressuposta maior adesão à terapia por

parte dos proprietários. Para que a pulsoterapia seja utilizada são necessárias mais informações relativas ao acúmulo do fármaco no pelame, aos potenciais efeitos colaterais, já que se utiliza uma dose bem mais alta, além da avaliação da eficácia da terbinafina, levando em conta as curas clínica e micológica.

2 OBJETIVOS

- Avaliar a cura clínica e a negatificação do cultivo micológico nos animais tratados com a terbinafina, em esquema de pulsoterapia, em relação a terapia contínua;
- evidenciar o acúmulo de terbinafina no pelame, bem como o tempo em que tal fármaco permanece em doses terapêuticas na cobertura pilosa após a suspensão de sua administração;
- correlacionar a melhora clínica com a quantificação da fármaco presente no pelame;
- comparar a eventual ocorrência de efeitos colaterais, tegumentares ou sistêmicos, decorrentes do uso do princípio ativo em esquema contínuo em relação àquele de pulsoterapia.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Materiais

A amostragem foi composta a partir de colônia de criatório particular de 27 gatos, da raça Persa, mantida no gatil do Departamento de Clínica Médica (VCM) da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (FMVZ/USP), durante um período de seis meses (dezembro de 2006 a junho de 2007), sendo constituída de 13 fêmeas e 14 machos, adultos, com idades entre quatro e 10 anos. O peso dos machos variou entre 2,5 e 4,5 quilogramas e aquele das fêmeas entre 1,5 e 3,5 quilogramas. Previamente à inclusão dos animais nos protocolos terapêuticos, realizou-se exame físico e colheita de sangue para realização de hemograma, contagem de plaquetas, determinação das funções renal e hepática e realização de exame sorológico para detecção de eventual infecção pelos vírus da imunodeficiência e leucemia felina.

Como os animais apresentavam pulicose, optou-se pela erradicação dos ectoparasitas, anteriormente ao início dos protocolos de experimentação. Foram utilizadas formulações comerciais a base de imidacloprida 10% associada à moxidectina 1%,¹ em duas aplicações *spot on* com intervalo de 30 dias.

Todos os gatos receberam o mesmo tipo de alimentação a base de ração comercial² seca e úmida. Foram mantidos em duas salas, uma destas destinadas exclusivamente para as fêmeas e outra tão somente para os machos.

Ambos os recintos continham gaiolas, porém, tais gaiolas permaneceriam abertas para a livre deambulação e acesso dos animais, já que se optou por mantê-los em condições mais próximas possíveis de seu habitat. Os animais também tinham acesso a solário telado durante o dia e no decorrer da noite permaneceriam confinados nas salas fechadas.

¹ Advocate® (bisnagas de 0,4 mL e 0,8 mL) – Bayer Saúde Animal.

² Friskies® (rações seca e úmida) - Purina-Nestlé.

Obteve-se, junto ao proprietário, dados relativos à identificação dos animais, bem como evolução das lesões, tipo de habitat e criação, transmissão intra e interespecie e emprego de terapia prévia. Dez animais (37%) apresentavam lesões compatíveis com dermatofitose (Apêndices A, B, C e D), tais lesões foram descritas com relação ao tipo, morfometria e topografia em dermogramas. Os outros 17 (63%) felinos eram portadores assintomáticos do *M. canis* (Apêndice E).

Preteritamente à inclusão dos animais nos protocolos de experimentação, o proprietário foi esclarecido sobre a necessidade de colheita de material para a realização dos exames complementares, firmando autorização para a estadia dos animais no gatil, bem como para sua manipulação e tratamento.

Iniciados os protocolos, os gatos foram observados, pelo menos, três vezes ao dia, durante o período em que ficaram no gatil, não apenas para administração do medicamento e colheita de material clínico, mas também, para observação de possíveis efeitos colaterais tegumentares, principalmente àqueles relativos a ocorrência de êmese e disorexia.

O piso e as gaiolas de contenção eram higienizados diariamente, com uso de água corrente e sabão, além de hipoclorito de sódio diluído em solução aquosa, na razão de 1:10.

Os animais foram reunidos em dois grupos:

Grupo I: 13 fêmeas, cinco com dermatofitose (38,5%) e oito (61,5%) portadoras assintomáticas de *M. canis*, tratadas com terbinafina³ na dose de 20,8 a 25 mg/kg, a cada 24 horas, “per os”, durante sete dias consecutivos, com suspensão da terapia durante as três semanas subseqüentes e reintrodução em esquema de pulsoterapia em ciclos de sete dias, sucedidos por período de descanso de 21 dias. Foram realizados dois ciclos, sendo que no segundo deles, a dose foi de 40, 5 a 50 mg/kg a cada 24 horas, também “per os”.

Grupo II: 14 machos, sendo cinco (35,7%) com dermatofitose e nove (64,3%) portadores assintomáticos de *M. canis*, submetidos à terapia a base de terbinafina na dose de 23 a 25 mg/kg “per os” a cada 24 horas em administração contínua durante

³Cloridrato de terbinafina - comprimidos de 250 mg (caixa com 28) - EMS.

os primeiros 30 dias de tratamento e 42 a 50 mg/kg a cada 24 “per os” no segundo mês de terapia.

Não se utilizou de qualquer tipo de terapia tópica.

Os animais foram submetidos a:

- colheita de pelame, pela Técnica do carpete e por avulsão manual, respectivamente para realização de cultivo micológico e quantificação da terbinafina pelo método de HPLC;

- colheita de sangue, por venopunção da veia jugular, para determinação da atividades sérica das enzimas hepáticas (alanina aminotransferase – ALT; fosfatase alcalina – FA; aspartato aminotransferase – AST e gamaglutamil transferase – GGT) utilizando-se kits comerciais e procedendo a mensuração em analisador automático⁴.

As amostras de pelame, dos animais com infecção dermatofítica sintomática ou assintomática, foram colhidas previamente à administração da terbinafina (dia zero) e, posteriormente, aos: sete, 21, 35 e 56 dias após o início da terapia. O pelame foi colhido por avulsão manual, removendo-o o mais próximo possível da pele, sempre a partir das regiões torácica, femoral e escapular direitas, e posteriormente, estocado em tubos Eppendorf a 20°C negativos.

Foram realizadas quatro colheitas de pelame, utilizando tal metodologia, duas imediatamente anteriores ao início da terapia, com intervalo de 15 dias entre elas, e duas posteriores à suspensão do fármaco, também, com intervalo de 15 dias. Na primeira colheita, os animais foram examinados utilizando-se da Lâmpada de Wood.

O cultivo era realizado, a partir do carpete estéril, que era subsequentemente, decalcado nos meios Ágar Sabouraud-dextrose e Mycosel⁵ a 25°C, e observado durante períodos de 21 a 30 dias. A observação da placa, iniciava-se a partir do 10º dia. O cultivo foi considerado negativo, quando da inexistência de crescimento fúngico, após período mínimo de 21 dias. Caso houvesse crescimento da colônia, colhia-se a superfície micelial e realizava-se coloração com Lactofenol-azul-algodão

⁴kit Biosystems® - Barcelona – Spain (ALT, AST e FA); Diasys Diagnostic Systems – Holzheim – Germany (GGT)

⁵Mycosel Ágar (Ágar Sabouraud – OXOID 36g + Quemicetina 0,1g + Cicloheximida 1g + Água destilada 1000mL).

para identificação do dermatófito, a partir da morfologia dos macroconídeos. Todos os cultivos foram realizados no Laboratório de Micologia do Instituto de Ciências Biomédicas da USP (ICB/USP).

Em relação à função hepática, o aumento de atividade enzimática foi considerado naqueles casos em que os valores subseqüentes foram superiores em pelo menos três vezes os valores iniciais.

3.2 Métodos

3.2.1 Extração e análise da terbinafina a partir do pelame

Para a quantificação da terbinafina, no pelame dos animais tratados, utilizou-se do método de cromatografia líquida de alta performance (*high performance liquid chromatography* - HPLC) conforme descrito por Erzen, Kuzner; Kosorok (2000) e modificado por Foust et al. (2007). Realizou-se a extração líquida e a detecção ultravioleta de terbinafina no Laboratório de Bioquímica e Biofísica do Instituto Butantan da Secretaria da Saúde do Estado de São Paulo.

Realizou-se a extração do antifúngico de cinco animais sintomáticos de cada Grupo (I e II), a partir de amostras de pelame colhidas nos dias zero, sete, 21, 35 e 56 a contar do início da administração da terbinafina. Portanto, analisou-se um total de cinquenta amostras colhidas a partir de dez animais sintomáticos.

Obtinha-se 20 a 40 miligramas de pelame dos animais que receberam terbinafina e transferia-se esse material clínico para tubos plásticos com capacidade para 50 mL.

Em seguida adicionava-se 5,0 mL de NaOH (5M) e 2,0 mL de metanol e incubava-se esta mistura sob agitação orbital (350 ciclos/minuto), durante 90 minutos a 30°C. Após esse período, a mistura era neutralizada com 0,9 mL de ácido

fosfórico (85%), adicionando-se 4,0 mL de tampão fosfato (0,01 M, pH5) e 5,0 mL de hexano. Os tubos eram submetidos novamente à agitação orbital durante 25 minutos.

Para a separação das fases (orgânica e aquosa) os tubos eram centrifugados a 800 g, durante cinco minutos, a temperatura ambiente.

Cada uma das amostras da fase orgânica (superior) foi transferida para novos tubos (com capacidade para 15 mL), os quais foram devidamente rotulados e reservados para posterior utilização. Naqueles tubos que continham a fase aquosa (inferior), foram adicionados 5,0 mL de hexano, e novamente submetida ao agitador orbital durante 25 minutos, com controle térmico a 30°C.

Mais uma vez as fases foram separadas por centrifugação (nas mesmas condições anteriores), e à fase orgânica (superior) obtida neste segundo procedimento, foi agregada àquela que havia sido reservada na etapa anterior.

O volume total obtido foi então reduzido para 1,5 mL (sob atmosfera de nitrogênio). A este material foram adicionados 0,5 mL de uma solução de H₂SO₄ (0,5M):propanol (85:15 v/v), e esta mistura foi novamente incubada a 30°C sob agitação orbital durante 15 minutos.

Ao término da incubação, as amostras foram centrifugadas e as fases (orgânica e aquosa) foram separadas, sendo que a fase aquosa foi filtrada e, posteriormente, analisada no HPLC.

Os compostos extraídos, bem como os padrões de terbinafina foram monitorados em comprimento de onda de 224 nm em HPLC.⁶

Tanto as amostras do padrão como as amostras a serem analisadas eram injetadas (20 µL) no HPLC e separadas (durante 10 minutos) em coluna⁷ de fase reversa, com fluxo constante de 1 mL/min, usando-se como solvente acetonitrila: TEA (0,012 mM) (40:60 - v/v) preparada em tampão fosfato de sódio 0,02 M.

Concentrações conhecidas de terbinafina foram utilizadas para a construção da curva-padrão (25; 50; 100 e 200 ng) que foi adotada para determinação da concentração do composto encontrado no pelame dos animais tratados.

⁶Modelo LCD-20 - Shimadzu®

⁷Supelcosil LC18 DB 15cm x 4,6 mm, 5µm

Após a detecção da terbinafina, foram obtidas bandas cromatográficas que seguiram uma distribuição gaussiana, sendo a concentração do soluto calculada pela área.

3.3 *Análise estatística*

Como o interesse do estudo foi de comparar os resultados obtidos para os dois grupos em cinco momentos diferentes, o método estatístico proposto foi de modelo linear com medidas repetidas, utilizando a estrutura de variâncias adequada, de acordo com os dados. Este método permite realizar comparações tanto entre tempos (MAGALHÃES; LIMA, 2000).

4 RESULTADOS

A identificação de todos os felinos da raça Persa, incluídos no estudo relativa à idade, sexo, peso e resultados do exame pela Lâmpada de Wood e dos cultivos micológicos estão dispostas nos apêndices F e G.

M. canis foi o único dermatófito isolado nos dois cultivos realizados a partir do pelame colhido pela Técnica do carpete, em 100% dos animais incluídos no estudo. Dos 27 animais, 10 (37,0%) eram portadores sintomáticos, apresentando lesões alopécicas, de conformação circular, com presença de escamas e crostas, compatíveis com dermatofitose.

Ao submeter os 27 gatos ao exame pela Lâmpada de Wood, obteve-se fluorescência em seis gatos (22,2%).

No Grupo I, tratado em esquema de pulsoterapia, não foram observadas manifestações clínicas que pudessem ser relacionadas aos conhecidos efeitos colaterais da terbinafina, nem com uso da dose baixa de 20 mg/kg e tampouco com o aumento da dose para 40 mg/kg. Em relação aos exames de função hepática, não observou-se aumento da atividade sérica das enzimas (Apêndice H).

Já no grupo tratado em esquema de terapia contínua, não foram observados efeitos colaterais quando o fármaco foi utilizado na dose baixa, mas em três gatos ocorreram episódios eméticos, dois apresentaram dois e três episódios ao dia nos dois primeiros dias de tratamento e um apresentou êmese no quinto dia de tratamento. Tais manifestações clínicas foram acompanhadas pelo aumento das atividades séricas de ALT, AST, FA e GGT (Apêndice I). Houve resolução espontânea de tais episódios, não sendo necessária a suspensão da administração da terbinafina.

Ocorreu cura clínica nos 10 animais sintomáticos, que apresentaram repilação das áreas previamente alopécicas, bem como pelo desaparecimento das lesões dermatofíticas. O resultado do cultivo micológico foi negativo nas amostras de pelame, colhidas pela Técnica do carpete, quinze dias após a suspensão da medicação e manteve-se negativo em todos os animais, aos 30 dias após a suspensão da terbinafina.

Quando da utilização da HPLC para detecção das concentrações de terbinafina no pelame dos animais tratados, verificou-se que não houve acúmulo de terbinafina no dia zero e as concentrações da terbinafina respectivamente nos dias sete, 28, 35 e 56 no grupo tratado em pulsoterapia nas doses de 20 e 40 mg/kg estão dispostas no quadro 1.

Animal	Dia zero	Dia sete	Dia 28	Dia 35	Dia 56
1	ND	22	14	45	2
3	ND	12	65	40	ND
5	ND	20	36	300	14
8	ND	37	49	60	27
11	ND	10	1	36	8

ND: Não detectável

Quadro 1 - Concentrações de terbinafina em ng/mg de pelame de gatos tratados em pulsoterapia nas doses de 20 mg/kg no primeiro ciclo (durante sete dias), com posterior descanso de 21 dias e 40 mg/kg no segundo ciclo (durante sete dias), também seguidos de 21 dias de descanso.
FMVZ/USP - São Paulo - 2008

Os cálculos das concentrações em ng/mg foram obtidos pelo cálculo da área dos gráficos após passagem das alíquotas de cada animal e detecção dos picos por HPLC, a exemplo do cromatograma e da média do padrão representados nos apêndices J e K.

No quadro 2 estão dispostos os valores das concentrações de terbinafina em mg/dL obtidos a partir do pelame de gatos tratados com terbinafina em terapia contínua nas doses de 20 mg/kg nos primeiros 28 dias e terapia e 40 mg/kg administrados nos 28 dias de terapia subseqüentes.

Animal	Dia zero	Dia sete	Dia 28	Dia 35	Dia 56
19	ND	12	8	19	36
20	ND	91	67	137	143
21	ND	43	34	34	68
22	ND	48	58	170	145
26	ND	26	42	32	19

Quadro 2 - Concentrações de terbinafina em ng/mg de pelame de gatos tratados em terapia contínua, por via oral, nas doses de 20 mg/kg nos primeiros 28 dias e 40 mg/kg nos 28 dias subseqüentes. FMVZ/USP - São Paulo - 2008

Para comparação das concentrações médias de terbinafina entre os grupos tratados, com pulsoterapia e terapia contínua, dispõem-se no quadro 3 os valores em ng/mg da terbinafina no pelame dos animais tratados.

Grupo	Dia zero	Dia sete	Dia 28	Dia 35	Dia 56
Pulsoterapia	ND	20	33	96	10
Terapia contínua	ND	44	41	78	82

Quadro 3 - Concentrações de terbinafina em ng/mg de pelame em relação à média dos valores de todos os animais submetidos à pulsoterapia e daqueles tratados em terapia contínua, por via oral, nas doses de 20 mg/kg nos primeiros 28 dias e 40 mg/kg nos 28 dias subseqüentes.
FMVZ/USP - São Paulo - 2008

Nos gráficos 1 e 2 estão representados, respectivamente o grupo tratado com pulsoterapia e com terapia contínua. O gráfico 3 representa as concentrações médias de terbinafina em todos os animais tratados para comparação da pulsoterapia e terapia contínua, em relação aos dias de tratamento.

Gráfico 1 - Concentração de terbinafina (ng) no pelame (mg) dos animais em relação aos dias de tratamento com pulsoterapia. FMVZ/USP - São Paulo - 2008

Gráfico 2 - Concentração de terbinafina (ng) no pelame (mg) dos animais em relação aos dias de tratamento com terapia contínua. FMVZ/USP - São Paulo - 2008

Gráfico 3 - Média das concentrações de terbinafina dos animais tratados com pulsoterapia e terapia contínua, no decorrer dos dias de tratamento. FMVZ/USP - São Paulo - 2008

Em relação à atividade sérica das enzimas hepáticas, não houve alteração importante durante a terapia no Grupo I, de fêmeas tratadas em pulsoterapia.

Já no Grupo II, tratado com terapia contínua, foram observados aumentos nas atividades séricas de ALT, AST, FA e GGT em três (23,0%) dos animais (números 16, 20 e 27), alterações que ocorreram logo após o período em que passaram a receber doses mais altas de terbinafina. Os resultados estão dispostos no apêndice I.

Os cultivos realizados 15 e 30 dias após a suspensão da terbinafina, tanto no grupo tratado com pulsoterapia, quanto naquele de administração contínua, foram negativos.

4.1 Análise estatística

O interesse do estudo foi o de comparar os resultados médios obtidos para cada grupo de tratamento (pulsoterapia ou terapia contínua) e também em diversos momentos diferentes (7º, 28º, 35º e 56º dia). O primeiro dia não entrou na avaliação, pois, em todos os Grupos, o valor era zero, não havendo variabilidade para a comparação. Desta forma, o teste estatístico recomendado para realizar as comparações, tanto entre os grupos como em diferentes momentos, foi a Análise de Variância com Medidas Repetidas (univariada). Para a utilização desta abordagem a matriz de covariância das observações de um mesmo indivíduo deve ter uma forma específica. Quando esta forma específica não é encontrada, ou devido ao pequeno tamanho da amostra, o teste é corrigido baseado na correção de Huynh-Feldt. Os resultados dos testes estão apresentados na Tabela 1, indicando haver diferenças entre os grupos, ou entre os tempos, quando $p\text{-valor} < 0,05$.

Pelos resultados dos testes aplicados, foram verificadas, também, se houve existência de interação nos resultados, ou seja, comportamentos diferenciados em função de uma outra variável. A existência de interação pode indicar, por exemplo, que ocorreu diferença entre os tratamentos em um ou outro momento avaliado, e/ou

pode indicar que há diferenças entre os momentos apenas para um determinado grupo, porém para outra(s) não há.

Iniciou-se a análise (Tabela 1), verificando-se a eventual existência de interação, para verificar comportamentos diferenciados, porém, pelos resultados obtidos, pôde-se observar que não houve efeito de interação ($p=0,092$). Também não houve efeito de grupo de tratamento, ou seja, observando os resultados, em todas as avaliações, não há evidências de diferenças entre os tratamentos, independente do momento avaliado. Os resultados apenas mostram uma tendência ($0,5 < p < 0,10$) à diferença entre os diferentes momentos, independente do grupo de tratamento, sugerindo que há um aumento da concentração no pelame com o passar do tempo.

Grupo		dia zero	dia 7	dia 28	dia 35	dia 56
I - Pulsoterapia	média	0	20,2	33,0	96,2	10,2
	mediana	0	20,0	36,0	45,0	8,0
	desvio padrão	0	10,7	25,9	114,3	10,9
	mínimo	0	10	1	36	0
	máximo	0	37	65	300	27
II - Terapia contínua	média	0	44,0	41,8	78,4	82,2
	mediana	0	43,0	42,0	34,0	68,0
	desvio padrão	0	29,9	22,9	69,8	59,1
	mínimo	0	12	8	19	19
	máximo	0	91	67	170	145

Efeito de interação: $p = 0,220$; Efeito de tempo: $p = 0,092$; Efeito de tratamento: $p = 0,387$

Tabela 1 – Média, mediana e desvio padrão dos grupos de pulsoterapia e terapia contínua utilizando-se análise de variância de medidas repetidas. FMVZ/USP - São Paulo - 2008

Foi utilizado ainda, o teste não paramétrico de Mann-Whitney, considerando nível de significância de 5%. Pelos resultados dispostos na Tabela 2, pode-se observar que houve diferença entre os tratamentos apenas no último momento, evidenciando que a última avaliação do material provindo do Grupo I, que utilizou pulsoterapia, apresentou valores menores de concentração relativamente ao Grupo II, no qual se utilizou terapia contínua.

Dia		Grupo I	Grupo II	p
		Pulsoterapia	Terapia contínua	
Zero	média	0,0	0,0	***
	mediana	0,0	0,0	
	desvio padrão	0,0	0,0	
	mínimo	0,0	0,0	
	máximo	0,0	0,0	
7	média	20,2	44,0	0,095
	mediana	20,0	43,0	
	desvio padrão	10,7	29,9	
	mínimo	10,0	12,0	
	máximo	37,0	91,0	
28	média	33,0	41,8	0,690
	mediana	36,0	42,0	
	desvio padrão	25,9	22,9	
	mínimo	1,0	8,0	
	máximo	65,0	67,0	
35	média	96,2	78,4	0,421
	mediana	45,0	34,0	
	desvio padrão	114,3	69,8	
	mínimo	36,0	19,0	
	máximo	300,0	170,0	
56	média	10,2	82,2	0,016
	mediana	8,0	68,0	
	desvio padrão	10,9	59,1	
	mínimo	0,0	19,0	
	máximo	27,0	145,0	

Tabela 2 – Média, mediana e desvio padrão segundo o teste de Mann-Whitney nos Grupos I (pulsoterapia) e II (terapia contínua). FMVZ/USP - São Paulo - 2008

5 DISCUSSÃO

A raça Persa apresenta, em todas as latitudes, predisposição à dermatofitose, como o já descrito por diversos autores internacionais e nacionais (JAHAM; PARADIS, 1997; PINTER et al., 1999; MORIELLO; DeBOER, 1999; SCOTT; MILLER; GRIFFIN, 2001; BALDA et al., 2004; DEBOER; MORIELLO, 2006; MORIELLO; NEWBURRY, 2006). Em função disso, foi aquela escolhida para compor os dois grupos de experimentação. A dermatofitose caracteriza-se por se constituir em sério problema em gatis, palpáveis perdas econômicas em função do custo da terapia, de estigmatização dos gatis comerciais, pelo custo das medidas higiênico-sanitárias adotadas e propriamente por gerar alterações no manto piloso, de tal magnitude, que impedem inclusive a comercialização dos animais criados. Destaque-se, ainda, que a dermatofitose se constitui em ergodermatose, eventualmente transmitida aos proprietários dos estabelecimentos, de seus prepostos e dos compradores dos produtos do gatil.

Pela importância da dermatofitose em gatis de Persa e principalmente pela perda econômica em que essa dermatopatia pode implicar, a avaliação da eficácia, relativas às curas clínica e micológica de gatos sintomáticos e assintomáticos tratados em pulsoterapia é muito importante para que esta modalidade terapêutica seja considerada como alternativa, em função, principalmente, do menor custo relativamente às terapias contínuas.

Optou-se pela manutenção dos animais no gatil da FMVZ/USP para que houvesse padronização do arraçoamento, do horário de medicação e, também, para que a colheita de material se tornasse mais fácil.

Anteriormente ao início do protocolo experimental, os animais foram mantidos por dois meses para garantir a adequada e gradual adaptação ao gatil para minimizar o estresse desencadeado pela administração da medicação por via oral, e pela manipulação para colheita de material clínico, utilizado na confecção dos exames e pela própria mudança ambiental.

Duas semanas após a chegada dos animais ao gatil, todos foram avaliados clinicamente pela realização de exame físico, colheita de sangue para execução de hemograma, funções hepática, renal e de sorologia para evidenciar eventual

infecção retroviral (vírus da imunodeficiência e leucemia felina). Optou-se por manter no gatil apenas os 27 animais considerados saudáveis relativamente aos demais sistemas, que não o tegumentar.

O critério utilizado para inclusão dos animais nos grupos de terapia foi relacionado ao sexo, já que a maior parte dos animais não eram ovário-salpingo-histerectomizados ou orquiectomizados. Evitou-se, assim, a ocorrência de indesejáveis cruzamentos ou mesmo de intercorrências geradas por brigas pelas fêmeas no estro, durante a terapia. Foust et al. (2007) afirmaram que não há diferença em relação ao metabolismo da terbinafina entre machos e fêmeas.

O pelame para realização do cultivo micológico foi obtido pela Técnica do carpete utilizada em todos os animais. Esse método de colheita foi escolhido em função de sua efetividade, reputadas como superiores em relação à colheita por simples avulsão de pelame (SONODA et al., 2004), provavelmente pela obtenção de uma amostra de pelame proveniente de toda a superfície corpórea, principalmente nos casos de animais assintomáticos. A maioria dos animais não apresentava lesões cutâneas evidentes e a Técnica empregada é, exatamente a indicada para detecção de portadores assintomáticos.

Optou-se, ainda, por se utilizar de imidaclopride associada à moxidectina para controle da pulicose, já que os microtraumas causados por ectoparasitas, sabidamente podem facilitar o estabelecimento da infecção dermatofítica, além disso, parte dos animais da amostragem, também, apresentava otoacariase, diagnosticada após realização de otoscopia e de exame parasitológico de cerúmen. A efetividade foi cabalmente comprovada pela resolução da infestação e do quadro otópico, após as aplicações do acaricida tópico.

Não foi utilizada terapia antifúngica tópica para que não houvessem vieses na interpretação da eficácia do tratamento a base de terbinafina oral em nenhum dos Grupos.

Apesar de diversos autores referirem sucesso terapêutico com doses variando entre cinco e 20 mg/kg (CHEN, 2000; BALDA; OTSUKA; LARSSON, 2007), a dose preconizada para uso nos grupos terapêuticos foi de 20 e 40 mg/kg. Tal decisão foi baseada na afirmação de autores que constataram que, após utilização de terbinafina em doses mais altas (variando de 30 a 40 mg/kg), em gatos infectados

experimentalmente, ocorria cura micológica mais rápida do que em relação aos animais que recebiam doses mais baixas (10 a 20mg/kg). Referiam, ainda, que a utilização de doses maiores, essas promoviam um maior acúmulo do princípio ativo no pelame (MANCIANTI et al., 1999; KOTNIK et al., 2001). Como um dos grupos, propunha-se o esquema de pulsoterapia, o acúmulo do fármaco era um fator importante.

Ressalte-se que naqueles estudos (CHEN, 2000; BALDA; OTSUKA; LARSSON, 2007) em que se utilizou de doses menores (5 mg/kg), redundando em eficácia da ordem de 80 a 90%, estiveram incluídos espécimes caninos de permeio aos felinos tratados. Portanto por se tratar de animais que têm padrão de metabolização distinto dos cães pode-se pressupor e aventar a possibilidade de que doses superiores às classicamente empregadas gerem maior eficácia, quiçá sem acarretar efeitos adversos indesejáveis.

A eficácia da terbinafina nas dermatofitoses felinas desencadeadas por *M. canis* já foi comprovada por diversos autores (MANCIANTI et al., 1999; CHEN, 2000; KOTNIK et al., 2001; MORIELLO, 2004; MORIELLO; NEWBURRY, 2006; BALDA, OTSUKA; LARSSON, 2007), mas nenhum destes utilizou a medicação em pulsoterapia para gatos infectados naturalmente pelo dermatófito, apesar dessa modalidade terapêutica já ter sido considerada como eficaz em virtude do seu acúmulo no pelame de felinos (FOUST et al., 2007).

Utilizou-se de especialidade farmacêutica a base de terbinafina, em apresentação de comprimidos de 250 mg, facilmente fracionado em quarta, metade ou três quartas partes. Para alguns animais de peso corpóreo maior, administrava-se o comprimido por inteiro. Em função disso, as doses administradas, de acordo com o peso foram aproximadas ao máximo possível de 20 e 40 mg/kg, no entanto em alguns casos, tal dose variou entre 20,8 e 25 mg/kg e 40,8 a 50 mg/kg, conforme preteritamente descrito.

Obteve-se cura clínica e micológica em todos os animais, o que, a primeira vista, pode ser imputado exclusivamente à eficácia da terbinafina, já que inexistiu tratamento tópico. Todavia, deve-se considerar que as medidas de manejo adotadas, como o controle de ectoparasitas e a introdução de alimentação padronizada de boa qualidade são fatores que podem também ter colaborado para a

cura da dermatofitose, já que tais medidas provavelmente contribuíram para a recuperação ou manutenção da competência imunológica dos felinos acometidos.

Além do mais, os animais tratados viviam num ambiente domiciliar altamente contaminado pelo *M. canis*, já que eram todos portadores sintomáticos ou assintomáticos de tal dermatófito. Quando foram alocados em ambiente adequadamente, a cada 24 horas, gerou-se fator importante, que também contribuiu para a cura clínica e micológica dos felinos incluídos nesse trabalho. De há muito se sabe que a aglomeração de grande número de animais em locais contaminados dificulta sobremaneira, a erradicação da dermatofitose nos gatis (MORIELLO; NEWSBURY, 2006).

No Grupo I, submetido a pulsoterapia, não foram observados efeitos colaterais nem com a utilização da dose de 20 mg/kg e tampouco com o uso da dose de 40 mg/kg. No entanto, dentre os animais que receberam terapia contínua, não se observou efeitos adversos com o uso da dose de 20 mg/kg, todavia evidenciou-se a ocorrência de episódios eméticos durante a primeira semana de administração da dose de 40 mg/kg. Outros autores já haviam relatado êmese relacionada ao uso de doses mais elevadas (CHEN, 2000; BALDA; OTSUKA; LARSSON, 2007). Coincidentemente, os animais que apresentaram êmese eram aqueles de maior peso corpóreo (felinos números 16, 20 e 27), que, conseqüentemente, receberam doses mais altas de terbinafina, e tal fato pode ser responsável pela ocorrência das manifestações clínicas indesejáveis observadas.

Nesses mesmos felinos foram observados aumentos nas atividades séricas das enzimas hepáticas determinadas, fato que também deve estar relacionado à administração de doses mais elevadas para tais animais, em função de seus pesos corpóreos.

Com relação à eficácia, além da cura clínica e micológica, houve a detecção de terbinafina no pelame de todos os animais tratados, inclusive em concentrações acima daquelas reputadas como terapêuticas, exceto no animal 3 do Grupo I (pulsoterapia), no qual não se evidenciou, no pelame, as concentrações imaginadas, na determinação no 56º dia, mesmo com o aumento da dose utilizada. Tal fato, provavelmente, indica, que para alguns animais podem ser necessários períodos de descanso inferiores a 21 dias, para que haja um maior acúmulo da terbinafina no

pelame. Deve-se ressaltar, ainda, que o fato da terbinafina não ter sido detectada nesse animal, fez com que a média de concentração do fármaco para o Grupo sofresse uma evidente queda (Quadro 3).

No animal 5 (Quadro 1), foram obtidos valores de terbinafina bem mais altos (300 ng/mg) do que o esperado no 35º dia, o que fez com que a média de concentração do fármaco ao se considerar todos os animais do Grupo I (pulsoterapia), atingisse valores mais elevados em relação ao Grupo II submetido à terapia contínua. Nesse caso, é preciso considerar que pode ter havido detecção pelo método do HPLC, de outra substância, que não a terbinafina, que poderia até ser proveniente da dieta, especificamente nesse animal.

Em relação ao Grupo II, tratado com terapia contínua, pode-se observar que os valores médios (Quadro 3) mantiveram-se dentro das doses terapêuticas e que quando houve aumento da dose administrada, ocorreu maior acúmulo da terbinafina no pelame dos gatos tratados, o que era esperado, conforme observado anteriormente por outros autores (KOTNIK et al., 2001).

No Grupo I, tratado com pulsoterapia, não só não houve maior acúmulo da terbinafina após o aumento da dose, como aparentemente ocorreu menor acúmulo quando se comparam os valores das concentrações individuais após o aumento da dose (Quadros 1 e 3). É possível considerar, novamente, que talvez o intervalo de 21 dias, seja interregno excessivo para realização dos ciclos terapêuticos.

Como não foram encontradas diferenças significativas entre os Grupos no teste de Análise de Variância com Medidas Repetidas, executou-se comparação entre os diferentes tratamentos, utilizando-se do teste não paramétrico de Mann-Whitney, considerando nível de significância de 5%, apenas para complementar os resultados e dar indicações, principalmente, ao se utilizar uma amostra maior. Pelos resultados (Tabela 2), pode-se observar que houve diferença entre os tratamentos apenas no dia 56º, já que o Grupo I (pulsoterapia), apresentou valores menores de concentração relativamente ao Grupo II (terapia contínua).

O HPLC mostrou-se, a despeito do trabalho exigido, ser um método efetivo para detecção das concentrações de medicamentos, no caso em particular da terbinafina no pelame de gatos, tal como o referido preteritamente (ERZEN et al., 2000; YEGANEH et al., 2000; KOTNIK et al., 2001; KUZNER et al., 2001; OLIVEIRA et al., 2001; DELAY et al., 2007). Destaque-se que o método de extração foi

modificado, durante o protocolo desenvolvido no presente trabalho, em relação a temperatura utilizada, que foi elevada para 30°C e, ainda, pela submissão das amostras à uma etapa a mais de agitação orbital, para se obter uma homogeneização mais adequada no decorrer da extração.

Levando-se em conta a eficácia terapêutica baseada na cura clínica e micológica, como houve desaparecimento das lesões em todos os animais tratados e negatização da cultura, constatada por dois cultivos realizados com intervalo de 15 dias, pode-se afirmar que tanto a terapia contínua, quanto a pulsoterapia foram eficazes, quando utilizadas nas doses de 20 e 40 mg/kg.

Houve maior acúmulo do fármaco no pelame, em análise do material por HPLC, no grupo tratado continuamente com doses de 40 mg/kg, mas nesses animais ocorreram efeitos colaterais como êmese e aumento das atividades séricas das enzimas hepáticas, fatos esses também observados por outros autores (MANCIANTI et al., 1999; KOTNIK et al., 2001; FOUST et al., 2007). Portanto, em relação a terapia contínua, aparentemente esta é mais segura quando utilizada na dose de 20 mg/kg.

Em relação à pulsoterapia, foram encontradas concentrações do fármaco no pelame após análise pelo HPLC, bem acima daquelas consideradas terapêuticas, tanto na dose de 20 quanto na dose de 40 mg/kg, mas como obteve-se eficácia idêntica em relação às curas clínica e micológica, parece mais viável economicamente a opção pela utilização da terapia na dose de 20 mg/kg “per os” a cada 24 horas, em ciclos de sete dias.

Em relação ao período de descanso, é provável que para obtenção de melhor eficácia, seja necessário um intervalo um pouco menor, já que dentre os cinco animais nos quais se mensurou as concentrações de terbinafina pelo HPLC, não houve detecção do fármaco no pelame de um deles, após um período de suspensão por 21 dias.

Pelos resultados expostos, pode-se recomendar com base na efetividade constatada e ausência de efeitos colaterais, que o protocolo representado pelo emprego da terbinafina em pulsoterapia, nas doses de 20 ou até de 40 mg/kg seja preconizado, já que nos dois casos, foram também constatados acúmulos do

fármaco no pelame dos gatos tratados, acima daqueles considerados terapêuticos (MIC superior a 0,03 ng/mg de pelame).

Relativamente ao tratamento em pulsoterapia, considerando felinos com peso médio de 3,0 quilogramas, o custo é cinco vezes menor do que a terapia contínua com o mesmo fármaco, sendo então, o baixo custo, a grande vantagem dessa modalidade terapêutica. Deve-se lembrar ainda, que relativamente ao mesmo esquema terapêutico, quando comparada ao uso do itraconazol ou fluconazol, além da dificuldade de fracionamento, pelo fato desses fármacos terem apresentações em cápsulas, o custo da terbinafina é o menor dos três, considerando as doses específicas de cada princípio terapêutico, pelos mesmos períodos de uso.

6 CONCLUSÕES

Em função da metodologia empregada, em condições experimentais com pacientes naturalmente acometidos por microsporíase permite-se concluir que:

- a terbinafina foi eficaz e segura no tratamento de portadores sintomáticos e assintomáticos de *M. canis* redundando em cura clínica e micológica, de todos os felinos tratados;
- as concentrações de terbinafina, no pelame dos gatos, se mantiveram acima daquelas consideradas como terapêuticas por três semanas após a pulsoterapia de sete dias, tanto na dose de 20, quanto na dose de 40 mg/kg;
- ocorreu maior acúmulo do fármaco, quando este foi utilizado na dose de 40 mg/kg, em período contínuo;
- na dose de 40 mg/kg em esquema contínua, foram observados episódios eméticos na primeira semana de terapia, acompanhados, ainda, de aumento da atividade sérica das transferases e fosfatase alcalina;
- não houve aumento de atividade sérica das enzimas hepáticas nos animais tratados em pulsoterapia.

REFERÊNCIAS

- AMARAL, R. C.; IBÁÑEZ, J. F.; MAMIZUKA, E. M.; GAMBALE, W.; PAULA, C. R.; LARSSON, C. E. Microbiota indígena do meato acústico de gatos hígidos. **Ciência Rural**, v. 28, n. 3, p. 441-445, 1998.
- BALDA, A. C.; OTSUKA, M.; LARSSON, C. E. Ensaio clínico da griseofulvina e da terbinafina na terapia das dermatofitoses em cães e gatos. **Ciência Rural**, v. 37, n. 3, p. 750-754, 2007.
- BALDA, A. C.; OTSUKA, M.; LARSSON, C. E.; GAMBALE, W. Estudo retrospectivo de casuística das dermatofitoses em cães e gatos atendidos no Serviço de Dermatologia da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo. **Acta Scientiae**, v. 32, n. 2, p. 133-140, 2004.
- BACK, D. J.; TJIA, J. F.; ABEL, S. M. Azoles, allylamines and drug metabolism. **British Journal of Dermatology**, v. 126, n. 39, p. 14-18, 1992.
- BATISTA JUNIOR, J. A.; NICO, F. Incidência do *Microsporum canis* em cães de Belo Horizonte. **Arquivos da Escola de Veterinária**, v. 19, p. 89-93, 1967.
- BAXTER, M. Ringworm due to *Microsporum canis* in cats and dogs in New Zealand. **New Zealand Veterinary Journal**, v. 25, p. 33-37, 1973.
- BENNETT, J. E. Antifungal agents. In ____ GOODMAN GILMAN, A.; RALL, T. W.; NIES, A. S.; TAYLOR, P. **The pharmacological basis of therapeutics**. 8. ed. New York: Permagon Press, 1990. p. 1175-1190.
- BIRNBAUM, J. Pharmacology of the allylamines. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 23, n. 4, p. 782-785, 1990.
- BRECKENRIDGE, A. Clinical significance of interactions with antifungal agents. **British Journal of Dermatology**, v. 126, n. 39, p. 19-22, 1992.
- CABAÑES, F. J.; ABARCA, M. L.; BRAGULAT, M.R. Dermatophytosis agentes in dogs and cats. **Veterinary Clinics of North America: Small Animals Practice**, v. 137, n. 2, p. 107-113, 1997.
- CASS, Q. B.; DEGANI, A. L. G. **Desenvolvimentos de métodos por HPLC fundamentos, estratégias e validação**. São Carlos: Editora da Universidade Federal de São Carlos. 2001.

CHEN, C. The use of terbinafine for the treatment of dermatophytosis. **Veterinary Dermatology**. Fourth World Congress of Veterinary Dermatology, San Francisco. Scientific abstracts, v. 11, n. 1, p. 41, 2000.

COLOMB, D.; BATTESTI, M. R.; COGNAT, T. Development of dermatomycoses and their causative agents in Lyons area. From an analysis of 6000 samples on Sabouraud's medium done over a 20 year period at a dermatology department. **Annales de Dermatologie et de Venereologie**, v. 114, n. 4, p. 515-521, 1987.

COLOMBO, S.; CORNEGLIANI, L.; VERCELLI, A. Efficacy of itraconazole as combined continuous pulsetherapy in feline dermatophytosis: preliminary results in nine cases. **Veterinary Dermatology**, v. 12, p. 347-350, 2001.

CUADROS, J. A.; GARCIA, J.; ALOS, J. I.; GONZALES-PLACIO, R. Dermatophytosis in a urban setting: prospective study of 135 cases. **Enferm Infectious Microbiology Clinics**, v. 8, n. 7, p. 429-433, 1990.

DEBOER, D.; MORIELLO, K. Cutaneous fungal infections. In____ Greene, C. E. (Ed.). **Infectious diseases of the dog and cat**. 3rd ed. St. Louis, MO: W.B. Saunders, 2006, p. 550-569.

DEGREEF, H. J.; DEDONCKER, P. R. G. Current therapy of dermatophytosis. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 31, n. 3, p. 25-30, 1994.

DELAY, R. L.; LACOSTE, E.; DELPRAT, S.; BLOND-RIOU, F. Pharmacokinetics of metaflumizone in the plasma and hair of cats following topical application. **Veterinary Parasitology**, v. 150, p. 258-262, 2007.

DIECKMANN, A. M.; QUEVEDO, A. C.; RIBEIRO, V. L. R.; NOBRE E CASTRO, M. C. Dermatofitos isolados de cães e gatos clinicamente sadios procedentes da cidade de Niterói, RJ, Brasil. **Revista Brasileira de Clínica Veterinária**, v.5, n.2, p. 93-94, 1998.

ERZEN, N. K., KUZNER, J., DROBINIC-KOSOROK, M. The development of the method for determination of terbinafine in cat's plasma and hair. **European Journal of Phisiology**, v. 440 (supl), p. 168-170, 2000.

FAERGEMANN, J.; ZEHENDER, H.; MILLERIOUX, L. Levels of terbinafina in plasma, stratum corneum, dermis-epidermis (without stratum corneum), sebum, hair and nails during and after 250 mg terbinafina once daily for 7 and 14 days. **Clinical and Experimental Dermatology**, v. 19, p. 121-126, 1994.

FARHI, D.; VIGUIER, M.; COSNES, A. Terbinafine-induced subacute cutaneous lupus erythematosus. **Dermatology**, v. 212, p. 59-65, 2006.

FOUST, A. L.; MARSELLA, R.; AKUSEWICH, L. H.; KUNKLE, G.; STERN, A.; MOATTARI, S.; SZABO, N. Evaluation of persistence of terbinafina in the hair of normal cats after 14 days of daily therapy. **Veterinary Dermatology**, v. 18, n. 4, p. 246-251, 2007.

GAMBALE, W.; LARSSON, C. E.; MORITAMI, M. M.; CORRÊA, B.; PAULA, C. R.; FRAMIL, V. M. S. Dermatophytoses and other fungi of the haircoat of cats without dermatophytosis in the city of São Paulo, Brazil. **Feline Practice**, v. 21, n. 3, p. 29-33, 1993.

GUPTA, A. K.; LYNDE, C. W.; LAUZON, G. J. Cutaneous adverse effects associated with terbinafine therapy: 10 case report and a review of the literature. **British Journal of Dermatology**, v. 138, p. 529-532, 1998.

GUPTA, A. K.; SAUDER, D. N.; SHEAR, N. H. Antifungal agents: an overview. Part 2. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 30, n. 6, p. 911-933, 1994.

HOFBAUER, B.; LEITNER, I.; RYDER, N. S. *In vitro* susceptibility of *Microsporum canis* and other dermatophyte isolates from veterinary infections during therapy with terbinafina or griseofulvin. **Medical Mycology**, v. 40, p. 179-183, 2002.

JAHAM, C.; PARADIS, M. La dermatophytie feline I: étiopathogénie, aspects Clinique et principes diagnostiques. **Le Médecin Vétérinaire du Québec**, v. 27, n. 4, p. 141-155, 1997.

JONES, T. S.; VILARS, V. V. Terbinafine. In: RYLEY, J. F. (Ed.) **Chemotherapy of fungal disease**. Heidelberg, Germany: Springer-Verlag, 1990. V. 96, p. 483-503. (Series: Handbook of experimental pharmacology).

KOTNIK, T.; KOZUH ERZEN, N.; KUZNER, J.; DROBNIC-KOSOROK, N. Determination of terbinafine hydrochloride in cat hair by two chromatographic methods. **Biomedical Chromatographic**, v. 15, n. 8, p. 497-502, 2001.

KOVARIK, J. M.; MUELLER, E. A.; ZEHENDER, H. Multiple-dose pharmacokinetics and distribution in tissue of terbinafina and metabolites. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 39, p. 2738-2741, 1995.

KRAFCHIK, B.; PELLETIER, J. An open study of tinea capitis in 50 children treated with a 2 week course of oral terbinafine. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 41, n. 1, p. 60-63, 1999.

KUZNER, J., ERZEN, N. K., DROBNIC-KOSOROK, M. Determination of terbinafine hydrochloride in cat hair by two chromatographic methods. **Biomedical Chromatography**, v. 15, p. 497-502, 2001.

LARSSON, C. E., NAHAS, C. R., LEDON, A. L. B. P., GAMBALE, W., PAULA, C. R., CORREA, B. Ringworm in domestic cats in São Paulo, Brazil, between 1981-1990. **Feline Practice**, v. 22, n. 3, p. 219-222, 1994.

LATEUR, N. Dermatophytosis due to domestic animals. **Reviste Medicale de Bruxeles**, v. 21, n. 1, p. 237-241, 2000.

LONDERO, A. T.; FISCHMAN, O.; RAMOS, C. D. Importância do gato na transmissão do *Microsporium canis* no Rio Grande do Sul (Brasil). **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 3, n. 2, p. 81-84, 1961.

LUNDER, M. E.; LUNDER, M. Is *M. canis* infection about become a serious dermatological problem? **Dermatology**, v. 184, n. 2, p. 87-89, 1992.

MAGALHÃES, M. N., LIMA, A. C. P. **Noções de probabilidade e estatística**. São Paulo: IME-USP, 2ª ed, 2000.

MARIAT, T. F., ADAN-CAMPOS, C. La technique du carré de tapis, méthode simple de prélèvement dans lès mycoses superficielles. **Annales de L'institut Pasteur**, v. 113, p. 666-669, 1967.

MARTINEZ, R. L. Investigación de algunas fuentes de infección em lãs dermatofitosis. Estudio Del suelos, animales y hombre. **Gaceta Medica del Mexico**, v. 122, p. 167-172, 1986.

MANTOVANI A.; MORGANTI, L. Dermatophytozoonoses in Italy. **Veterinary Science Communication**, v. 1, n. 15, p. 171-77, 1977.

MORIELLO, K. A. Important factors in the pathogenesis of feline dermatophytosis. **Veterinary Medicine**, v. 98, n. 3, p. 845-858, 2003.

MORIELLO, K. A. Treatment of dermatophytosis in dogs and cats: review of published studies. **Veterinary Dermatology**, v. 15, p. 336-415, 2004.

MORIELLO, K. A.; DEBOER, D. J. Dermatophytosis. In: GUAGUERE, E., PRELAUD, P. **A Practical guide to feline dermatology**. 1ª ed., 1999, p. 41.

MORIELLO, K. A.; NEWSBURRY, S. Recommendations for the management and treatment of dermatophytosis in animal shelters. **Veterinary Clinics of North America**, v. 36, p. 89-114, 2006.

NESBITT, G. H.; ACKERMAN, L. Dermotherapeutics. In____: **Canine and feline dermatology – Diagnosis and treatment**. New Jersey: ULS, 1998. p. 71-108.

OLIVEIRA, C.H.; BARRIENTOS-ASTIGARRAGA, R. E.; DE MORAES, M. O.; BEZERRA, F. A. F.; DE MORAES, M. E. A.; DE NUCCI, G. Terbinafine quantification in human plasma by high-performance liquid chromatography coupled to electrospray tandem mass spectrometry: application to a bioequivalence study. **Therapeutic Drug Monitoring**, v. 23, n. 6, p. 709-716, 2001.

PEPIN, G. A.; OXENHAM, M. Zoonotic dermatophytosis (ringworm). **Veterinary Records**, v. 118, p. 110-111, 1986.

PETRANYL, G.; RYDER, N. S.; STUETZ, A. Allylamine derivatives: new class of synthetic antifungal agents inhibiting fungal squalene epoxidase. **Science**, v. 224, p. 1239-1241, 1984.

PINHEIRO, A. Q.; MOREIRA, J. L.; SIDRIM, J. J. Dermatophytosis in the urban environment and the coexistence of man with dogs and cats. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 30, n. 4, p. 287-294, 1997.

PINTER, L.; JURAK, Z.; UKALOVIC, M.; SUSIC, V. Epidemiological and clinical features of dermatophytosis in dogs and cats in Croatia between 1990 and 1998. **Veterinarski Archiv**, v. 69, n. 5, p. 261-270, 1999.

RAMOS; SILVA, M.; MARQUES, S. A.; GONTIJO, B.; ZAITZ, C.; CAMPBELL, I.; VELOSO, S. T. Efficacy and safety of itraconazole pulse therapy: Brazilian multicentric study on toenail onychomycosis caused by dermatophytes. **Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology**, v. 11, p. 109-116, 1998.

ROMANO, C.; VALENTI, L.; BARBARA, R. Dermatophytosis isolated from asymptomatic stray cats. **Mycoses**, v. 40, n. 11-12, p. 471-472, 1997.

RYDER, N. S. Terbinafine: mode of action and properties of the squalene epoxidase inhibition. **British Journal of Dermatology**, v. 126, n. 39, p. 2-7, 1992.

SAMPAIO, S. A. P.; RIVITTI, E. A. **Dermatologia**. 3^a ed. São Paulo: Artes Médicas, 2007, p. 711, 1438.

SCHMUTZ, J. L.; BARBAUD, A.; TRÉCHOT, P. Terbinafine et lupus érythémateux (1^{er} cas publié). **Annals of Dermatology and Venereology**, v. 126, p. 463, 1999.

SCOTT, D. W.; MILLER, W. H.; GRIFFIN, C. E. **Small Animal Dermatology**. 6th ed. Philadelphia: Saunders, 2001, p. 336-422.

SCOTT, D. W.; PARADIS, M. A survey of canine and feline skin disorders seen in a university practice: Small Animal Clinic, University of Montreal, Saint-Hyacinthe, Quebec (1987-1988). **Canadian Veterinary Journal**, v. 31, p. 830-835, 1990.

SONODA, M. C.; OTSUKA, M.; GAMBALE, W.; LARSSON, C. E. Comparação da eficácia do exame direto do pelame, daquele com o emprego da Luz de Wood frente ao cultivo micológico em cães e gatos com dermatofitose. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CLÍNICOS VETERINÁRIOS DE PEQUENOS ANIMAIS, 24., 2004, Belo Horizonte..., v. 1, p.1.

SPARKES, A. H.; GRUFIDD-JONES, T. J.; SHAW, S. E.; WRIGHT, A. I.; STOKES, C. R. Epidemiological and diagnostic features of canine and feline dermatophytosis in the United Kingdom from 1956 to 1991. **Veterinary Records**, v. 133, n. 3, p. 57-61, 1993.

SPARKES, A. H.; STOKES, C. R.; GRUFIDD-JONES, T. J. Experimental *Microsporum canis* infections in cats: correlation between immunological and clinical observations. **Journal of Medical and Veterinary Micrology**, v. 33, p. 177-184, 1995.

TALARICO FILHO, S.; CUCÉ, L. C.; FOSS, S. A.; MARQUES, S. A.; SANTAMARIA, J. R. Efficacy, safety and tolerability of terbinafine for Tinea capitis in children: Brazilian multicentric study with daily oral tablets for 1, 2 and 4 weeks. **Journal of the European Academy of Dermatology and Veneorology**, v. 11, p. 141-146, 1998.

TORRES, S. M. F.; MOREIRA, Y. K. Dermatomicoses em cães em Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil. **Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 36, n. 6, p. 695-701, 1984.

THOMAZ, M. L.; SCHEIDT, V. J.; WALKER, R. L. Inapparent carriage of *Microsporum canis* in cats. **Special Focus – Parasitology**, v. 11, n. 5, p. 563-568, 1989.

UNGPAKORN, R.; AYUTYNONT, T.; REANGCHAINAM, S.; SUPANYA, S. Treatment of *Microsporum spp* tinea capitis with pulsed oral terbinafine. **Clinical and Experimental Dermatology**, v. 29, p. 300-303, 2004.

VIANI, F. C. **Produção de queratinases, elastase, lipase e desoxirribonuclease por amostras de *Microsporum canis* isoladas de animais com dermatofitose e assintomáticos**. 84 f. Dissertação (mestrado em microbiologia) – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1999.

VILLARS, V. V.; JONES, T. C. Special features of the clinical use of oral terbinafine in the treatment of fungal diseases. **British Journal of Dermatology**, v. 126, n. 39, p. 61-69, 1993.

WARNER, R. D. Ocurrance and impact of zoonoses in pet dogs and cats at USA Air Force bases. **American Journal of Public Health**, v. 74, p. 1239-1242, 1984.

WAWRZIEWICZ, K.; ZIÓLKOWSKA, A. C.; WAWRZIEWICZ, J. *Microsporum canis*: the major etiological agent of ringworm in cats and dogs. **Medycyna Weterynary**, v. 50, n. 7, p. 319-322, 1994.

WILLESEN, T. **Dermatologia clínica de cães e gatos**. 2ª ed. Holanda: Elsevier, 1998. p. 22-25.

WOODGYER, A. J. Assymptomatic carriage of dermatophytes by cats. **New Zealand Veterinary Journal**, v. 25, p. 67-69, 1977.

YAMAMURA, A. A. M.; PEREIRA, E. P.; SHIMADA, M. K.; FUGIWARA, C. Y.; DANHONE, A. S.; CHAMI, D. Ocorrência de dermatofitose em **cães** e gatos atendidos pelo Hospital Veterinário da Universidade Estadual de Londrina, Paraná. **Semina Ciências Agrárias**, v. 18, n. 1, p. 41-44, 1997.

YEGANEH, M. H.; MCLACHLAN, A. Determination of terbinafine in tissues. **Biomedical Chromatography**, v. 14, p. 261-268, 2000.

ZAITS, C. Dermatofitoses. In: ZAITS, C.; MARQUES, S. A.; MARQUES, S. A.; RUIZ, L.R.B.; SOUZA, V.M. **Micologia médica**. São Paulo: Medsi, 1998. p. 81-98.

ZAITS, C. Imunologia das dermatofitoses. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 69, n. 3, p. 217-222, 1994.

ZAROR, L.; FISCHMANN, O.; BORGES, M.; VILANOVA, A.; LENITS, J. The role of cats and dogs in the epidemiological cycle of *Microsporum canis*. **Mykosen**, v. 29, n. 4, p. 185-188, 1986.

Apêndice A - Felino, Persa, macho, 5 anos, apresentando lesões alopécicas. Quadro generalizado de dermatofitose. São Paulo - FMVZ/USP – 2008.

Apêndice B - Felino, Persa, macho, 5 anos (animal do apêndice A), alopecia com escamas micáceas e lesão iatrogênica (raspado de pele). São Paulo - FMVZ/USP – 2008.

Apêndice C - Felino, Persa, fêmea, 3 anos, apresentando lesões alopecícas mal definidas de dermatofitose. São Paulo - FMVZ/USP – 2008.

Apêndice D - Alopecia com escamas micáceas (detalhe do quadro lesional – apêndice C). São Paulo - FMVZ/USP – 2008.

Apêndice E – Felinos da raça Persa, incluídos nos Grupos I e II, desprovidos de lesões cutâneas, portadores são do *Microsporum canis*. São Paulo - FMVZ/USP – 2008.

Apêndice F – Fêmeas, felinas, da raça Persa incluídas no Grupo 1 – terbinafina “per os” (20 e 40 mg/kg, respectivamente, no primeiro e segundo ciclo) em pulsoterapia, segundo idade, resultados dos exames complementares, peso e características das lesões

Animal	Idade aproximada (anos)	Lâmpada de Wood	Cultivo micológico	Peso (kg)	Distribuição lesional	Alterações tegumentares	Topografia
1	4	Positivo	<i>M. canis</i>	2,5	Localizada	Alopecia Eritema Escamas furfuráceas	Face externa de pavilhões auriculares
2	4	Positivo	<i>M. canis</i>	2,5	----	----	----
3	5	Positivo	<i>M. canis</i>	3,0	Multifocal	Alopecia Eritema	Região frontal, dorsal e cauda
4	4	Negativo	<i>M. canis</i>	2,5	----	----	----
5	5	Negativo	<i>M. canis</i>	1,5	Localizada	Alopecia Escamas furfuráceas	Face externa pavilhões auriculares Cauda
6	5	Negativo	<i>M. canis</i>	2,0	----	----	----
7	6	Negativo	<i>M. canis</i>	2,5	----	----	----
8	9	Negativo	<i>M. canis</i>	3,0	Multifocal	Alopecia Escamas furfuráceas	Região cefálica
9	10	Negativo	<i>M. canis</i>	3,0	----	----	----
10	5	Positivo	<i>M. canis</i>	3,0	----	----	----
11	4	Negativo	<i>M. canis</i>	3,0	Multifocal	Alopecia Escamas furfuráceas	Membros
12	5	Negativo	<i>M. canis</i>	3,0	---	----	----
13	7	Negativo	<i>M. canis</i>	3,5	----	----	----

---- ausência de lesões

Apêndice G- Machos, felinos, da raça Persa incluídos no grupo 2 – terbinafina “per os” (20 e 40 mg/kg respectivamente no primeiro e segundo mês) em terapia contínua, segundo idade, resultados dos exames complementares e características das lesões

Animal	Idade aproximada (anos)	Lâmpada de Wood	Cultivo micológico	Peso (kg)	Distribuição lesional	Alterações tegumentares	Topografia
14	5	Positiva	<i>M. canis</i>	2,5	----	----	----
15	5	Negativa	<i>M. canis</i>	2,5	----	----	----
16	9	Negativa	<i>M. canis</i>	4,0	----	----	----
17	4	Negativa	<i>M. canis</i>	3,0	----	----	----
18	7	Negativa	<i>M. canis</i>	3,0	----	----	----
19	9	Negativa	<i>M. canis</i>	2,5	Generalizada	Alopecia Escamas furfuráceas	Dorso, membros, região cefálica
20	8	Negativa	<i>M. canis</i>	4,5	Multifocal	Alopecia Eritema Escamas furfuráceas	Dorso
21	5	Negativa	<i>M. canis</i>	3,0	Multifocal	Alopecia Eritema Escamas furfuráceas	Face cranial de membros pélvicos e torácicos
22	5	Positiva	<i>M. canis</i>	2,0	Generalizada	Alopecia simétrica bilateral Escamas furfuráceas Crosta melicéricas	Dorso Membros torácicos Membros pélvicos
23	4	Negativa	<i>M. canis</i>	3,0	----	----	----
24	5	Negativa	<i>M. canis</i>	3,0	----	----	----
25	5	Negativa	<i>M. canis</i>	3,0	----	----	----
26	6	Positiva	<i>M. canis</i>	2,0	Generalizada	Alopecia Escamas micáceas	Dorso Membros torácicos Membros pélvicos
27	7	Negativa	<i>M. canis</i>	4,0	----	----	----

---- ausência de lesões

APÊNDICE H - Atividade sérica das enzimas hepáticas em U/L dos animais incluídos no protocolo terapêutico de pulsoterapia com terbinafina em relação aos dias de tratamento.
FMVZ/USP. São Paulo, 2008

Animal 1

Dias	ALT (U/L)	AST (U/L)	FA (U/L)	GGT (U/L)
Zero	30,8	16,9	13,1	0
15	24,5	11,9	20,3	0
30	28,7	21,8	24,6	0
45	24,0	11,6	27,2	0
60	25,4	14,7	26,8	0

Animal 2

Dias	ALT	AST	FA	GGT
Zero	27,5	16,3	18,1	0
15	24,2	11,7	37,9	0
30	23,8	12,1	33,4	0
45	31,8	17,2	24,6	0
60	20,7	11,4	35,0	0

Animal 3

Dias	ALT	AST	FA	GGT
Zero	28,0	14,4	10,5	0
15	24,4	9,2	28,9	0
30	20,0	7,8	22,5	0
45	20,8	12,0	24,7	0
60	21,4	13,0	28,5	0

Animal 4

Dias	ALT	AST	FA	GGT
Zero	17,4	13,6	10,1	0
15	15,0	9,1	25,0	0
30	12,2	7,5	28,7	0,16
45	12,7	8,3	29,4	0
60	15,1	9,0	26,0	0,29

Animal 5

Dias	ALT	AST	FA	GGT
Zero	34,8	12,3	14,8	0
15	18,7	11,8	28,3	0
30	30,2	9,9	25,0	0
45	30,0	11,0	23,0	0
60	31,0	13,0	20,0	0

Animal 6

Dias	ALT	AST	FA	GGT
Zero	28,5	13,1	6,6	0
15	32,3	11,5	33,7	0,48
30	23,6	11,0	18,1	0,22
45	33,9	11,0	17,7	0,73
60	31,6	11,9	31,2	1,3

Animal 7

Dias	ALT	AST	FA	GGT
Zero	24,8	11,3	18,5	0
15	26,7	12,4	24,5	0
30	20,8	8,5	29,7	0
45	25,5	9,2	42,0	0
60	23,4	8,7	36,6	0

Animal 8

Dias	ALT	AST	FA	GGT
Zero	25,4	14,1	18,0	0
15	25,7	11	38,23	0
30	18,9	9,0	31,2	0
45	21,8	11	38,8	0
60	18,3	10,0	34,0	0,63

Animal 9

Dias	ALT	AST	FA	GGT
Zero	39,1	13,2	26,2	0
15	27,2	13,6	24,5	0
30	23,9	11,1	27,8	0
45	26,6	11,8	28,1	0
60	27,6	10,0	26,8	0

Animal 10

Dias	ALT	AST	FA	GGT
Zero	35,4	13,0	10,1	1,3
15	26,7	10,9	11,9	0
30	21,9	10,0	19,8	0,5
45	21,8	8,6	23,3	0
60	29,8	9,8	23,2	0

Animal 11

Dias	ALT	AST	FA	GGT
Zero	24,4	16,2	9,4	0
15	55	18,3	49	0,72
30	53,4	23,9	62,0	0,76
45	51,0	23,7	61,0	0,8
60	59,1	24,2	63,5	1,38

Animal 12

Dias	ALT	AST	FA	GGT
Zero	24,7	18,9	10,1	0
15	27,2	19,1	22,6	0
30	14,6	11,5	15,5	0
45	18,8	15,1	20,0	0
60	20,2	12,8	19,3	0

Animal 13

Dias	ALT	AST	FA	GGT
Zero	26,9	10,9	18,7	0
15	17	10,6	19,2	0
30	15	11,6	17,9	0
45	14,3	11,4	15,9	0
60	15,8	14,9	37,4	0

ALT: alanina aminotransferase

AST: aspartato aminotransferase

FA: Fosfatase alcalina

GGT: Gama glutamiltransferase

APÊNDICE I - Atividade sérica das enzimas hepáticas em U/L dos animais incluídos no protocolo terapêutico contínuo com terbinafina em relação aos dias de tratamento. FMVZ/USP. São Paulo, 2008

Animal 14

Dias	ALT	AST	FA	GGT
Zero	23,1	17,7	2,4	0
15	15,0	10,0	10,0	0
30	17,3	11,4	11,3	0
45	10,4	11,2	11,1	0
60	20,3	19,0	11,1	0

Animal 15

Dias	ALT	AST	FA	GGT
Zero	17,3	11,3	10,4	0
15	18,5	19,3	28,0	0
30	19,1	18,9	16,0	0
45	18,5	12,0	30,0	0
60	12,3	10,0	35,0	0

Animal 16

Dias	ALT	AST	FA	GGT
Zero	20,0	11,4	19,2	0
15	21,3	19,8	28,8	0,43
30	18,5	9,75	16,8	0
45	60,3	8,8	83,0	0
60	25,3	10,5	26,6	0

Animal 17

Dias	ALT	AST	FA	GGT
Zero	28,0	10,4	34,9	0
15	22,2	10,1	47,5	0
30	15,1	20,7	27,5	0
45	12,3	6,7	17,5	0
60	15,2	8,5	40,5	0

Animal 18

Dias	ALT	AST	FA	GGT
Zero	35	13,1	14,7	0
15	49,4	21,9	22,2	0,6
30	26,6	15,4	16,4	0
45	42,0	16,3	21,0	0
60	41,5	18,0	22,0	0

Animal 19

Dias	ALT	AST	FA	GGT
Zero	17,1	10,2	10,2	0
15	17,3	15	29,4	0
30	11,4	11,8	11,8	0
45	9,3	11,9	7,0	0
60	20,2	21,4	26,8	0

Animal 20

Dias	ALT	AST	FA	GGT
Zero	53,4	15,3	29,1	0
15	41,2	15,6	30,9	0,31
30	51,0	21,3	41,0	0,14
45	151,0	27,8	85,0	15,5
60	22,1	28,7	3,5	0,09

Animal 21

Dias	ALT	AST	FA	GGT
Zero	19,6	10,8	19,5	0
15	20,3	10,9	9,1	0
30	15,1	10,3	21,6	0
45	15,2	14,5	18,3	0
60	12,5	15,6	18,0	0

Animal 22

Dias	ALT	AST	FA	GGT
Zero	43,6	17,4	14,32	0
15	45,1	15,8	43,3	0,98
30	18,3	12,3	20,6	0
45	16,9	9,1	18,5	0
60	19,7	12,9	16,1	0

Animal 23

Dias	ALT	AST	FA	GGT
Zero	20,3	12,5	17,1	0,61
15	17,8	8,2	18,9	0
30	18,0	9,9	24,0	0
45	17,3	11,9	18,6	0
60	18,3	15,6	28,5	0

Animal 24

Dias	ALT	AST	FA	GGT
Zero	16,3	16,4	16	0
15	13,7	9,12	13,9	0,63
30	15,0	17,1	8,3	0
45	17,3	16,4	11,7	0
60	18,0	10,0	12,0	0

Animal 25

Dias	ALT	AST	FA	GGT
Zero	38,9	19,5	10,6	0
15	21,9	16,4	40,1	0,09
30	15,0	10,9	35,7	0
45	19,8	15,3	30,7	0
60	23,0	16,0	37,0	0

Animal 26

Dias	ALT	AST	FA	GGT
Zero	15,7	22,4	5,4	0
15	26,1	15,9	18,2	0
30	18,5	14,1	27,4	0
45	12,7	12,3	21,4	0
60	20,1	30,6	13,2	0

Animal 27

Dias	ALT	AST	FA	GGT
Zero	21,1	16,1	9,4	0
15	16,2	16,3	16,5	0
30	11,2	15,0	21,1	0
45	102,0	34,5	36,0	0,4
60	13,3	13,1	31,0	0

ALT: alanina aminotransferase

AST: aspartato aminotransferase

FA: Fosfatase alcalina

GGT: Gama glutamiltransferase

APÊNDICE J – Exemplo de cromatograma (animal 20 – dia 56°)

==== Shimadzu LCsolution Analysis Report ====

C:\Documents and Settings\Usuário\Meus documentos\Isabel\Terbinafine\280408\Animal20_dia56__030608_224.lcd

Acquired by : Admin
 Sample Name : Animal20_dia56__030608
 Sample ID : Animal20_dia56__030608
 Vail # :
 Injection Volume : 20 uL
 Data File Name : Animal20_dia56__030608_224.lcd
 Method File Name : Metodoterbinafine.lcm
 Batch File Name :
 Report File Name : Default.lcr
 Data Acquired : 3/6/2008 15:49:22
 Data Processed : 3/6/2008 16:31:13

<Chromatogram>

APÊNDICE K – Média das soluções padrões de terbinafina

Média do Padrão