**Universidade de São Paulo
Instituto de Medicina Tropical de
São Paulo**

Antonio Marques dos Santos Filho

**Onicomicose em pacientes dialíticos e transplantados renais: prevalência, etiologia e
perfil de suscetibilidade a antifúngicos em pacientes atendidos no Hospital das
Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo**

Dissertação apresentada ao Instituto de
Medicina Tropical da Universidade de São
Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências

Área de concentração: Doenças Tropicais e Saúde Internacional

Orientador: Prof. Dr. Gil Benard

São Paulo
2016

**Universidade de São Paulo
Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**

Antonio Marques dos Santos Filho

**Onicomicose em pacientes dialíticos e transplantados renais: prevalência, etiologia e
perfil de suscetibilidade a antifúngicos em pacientes atendidos no Hospital das
Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo**

Dissertação apresentada ao Instituto de
Medicina Tropical da Universidade de São
Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências

Área de concentração: Doenças Tropicais e Saúde Internacional

Orientador: Prof. Dr. Gil Benard

São Paulo
2016

Ficha catalográfica
Preparada pela Biblioteca do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo da
Universidade de São Paulo
© Reprodução autorizada pelo autor

Santos Filho, Antonio Marques dos

Onicomiose em pacientes dialíticos e transplantados renais: prevalência, etiologia e perfil de suscetibilidade a antifúngicos em pacientes atendidos no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo/ Antonio Marques dos Santos Filho. – São Paulo, 2016.

Dissertação (Mestrado) – Instituto de Medicina Tropical de São Paulo da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências.

Área de concentração: Doenças Tropicais e Saúde Internacional

Orientador: Gil Benard

Descritores: 1. UNHAS. 2. HEMODIÁLISE. 3. TRANSPLANTE DE RIM. 4. ANTIFÚNGICOS.

USP/IMTSP/BIB-07/2016.

Dedicatória

Este trabalho é dedicado aos meus pais pelo apoio incondicional, por tudo que fizeram por mim ao longo da minha vida. Minha esposa Fabiana Mota, obrigado pelo amor, amizade, incentivo companheirismo e por estarmos realizando juntos o sonho de sermos pais.

Agradecimentos

Ao Prof. Gil. Benard pela confiança e paciência na orientação deste trabalho e por ter doado parte do seu tempo para que tornasse possível a conclusão desta dissertação.

Aos meus pais, esposa, irmãos, sobrinhos e toda minha família pelo apoio, para que eu chegasse até esta etapa de minha vida.

À Dra. Carlucci Ventura, pela ajuda na captação dos pacientes e análises dos prontuários, sem sua ajuda esse trabalho não seria possível.

À Roseli Freitas, por ter feito parte da minha jornada nestes cinco anos no laboratório de Micologia Médica e que muito contribui para meus conhecimentos em micologia, muito obrigado pela ajuda e amizade.

À Dra. Gilda Del Negro pelos ensinamentos e ajuda na realização dos testes moleculares.

À Ricardo Spina pela ajuda na coleta e realização dos exames, cujo apoio foi imprescindível para realização deste trabalho.

À dona Antônia, meu sincero agradecimento pela amizade, conversas e companheirismo e pelo apoio técnico na realização deste trabalho.

À todos alunos e funcionários que estiveram ou estão no Lim 53, em especial Sônia, Viviane, Mônica, Mauro, Edna, Aline, Fábio, Glória, Danilo, Vanessa, Renata, Letícia, Gabriel, Gabriela e Lumena meus sinceros agradecimentos.

Aos funcionários, técnicos, enfermeiros e médicos do Ambulatório de Urologia e Transplante Renal pelo acolhimento, companheirismo, amizade e ajuda na captação dos pacientes renais.

À Dra. Mariluz dos Reis por disponibilizar o Ambulatório de Clínica Geral para que fossem captados os pacientes do grupo controle.

À todos os pacientes que muitas vezes em situações difíceis aceitaram participar desse estudo.

Meus sinceros agradecimentos a todos aqueles que de alguma forma doaram um pouco de si para que a conclusão deste trabalho se tornasse possível.

RESUMO

Santos Filho AM. Onicomicose em pacientes dialíticos e transplantados renais: prevalência, etiologia e perfil de suscetibilidade a antifúngicos em pacientes atendidos no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (dissertação). São Paulo: Instituto de Medicina Tropical de São Paulo da Universidade de São Paulo; 2016.

Onicomicose é uma infecção crônica das unhas provocadas por fungos. É a doença mais comum das unhas em todo o mundo e constitui cerca de metade de todas as alterações ungueais em indivíduos imunocompetentes e imunossuprimidos. Nos últimos anos, vários estudos tem demonstrado aumento na prevalência de onicomicose. Esse aumento pode ser atribuído a diversos fatores, incluindo o aumento da expectativa de vida, e propagação do vírus da imunodeficiência humana (HIV). Nesse sentido, o número de pacientes renais crônicos vem aumentando em todo mundo. No entanto, a literatura relata poucos estudos sobre a prevalência e as características das onicomicoses nestes pacientes. Diante disso, nossos objetivos foram determinar a prevalência, etiologia e perfil de suscetibilidade das onicomicoses provenientes de pododáctilos de pacientes dialíticos (DL), receptores de transplante renal (RTR) e pacientes grupo controle. Foram examinados 510 pacientes, sendo 336 provenientes da Unidade de Transplante Renal (149 DL e 187 RTR), e 174 pacientes do Ambulatório de Clínica Geral, sem histórico de doença associada à imunossupressão (Grupo controle). Os isolados foram identificados por testes fenotípicos e moleculares. O perfil de suscetibilidade foi realizado pelo método de microdiluição em caldo frente aos fármacos fluconazol, itraconazol, voriconazol e terbinafina. A prevalência de onicomicose foi de 23,4%

nos pacientes DL e 23,0% nos RTR, significativamente maior que no grupo controle (13,2%). Nos pacientes DL, onicomicose foi associada com diabetes, mas não com o tempo de diálise e sexo. Nos pacientes RTR, onicomicose foi mais prevalente em homens, mas não houve associação com duração do transplante, diabetes e protocolo de tratamento imunossupressor. *Trichophyton rubrum* foi a agente mais prevalente (45,9%), seguido por *T. mentagrophytes* (24,5%) e *Candida parapsilosis* (18%). Todos antifúngicos foram eficazes frente aos isolados de dermatófitos, sendo terbinafina o mais eficiente. Os isolados de *C. parapsilosis* foram todos sensíveis aos quatro antifúngicos de acordo com os atuais “end-points”. Nossos achados permitiram concluir que pacientes renais (DL e RTR) tem risco aumentado de desenvolver onicomicose. Nossos dados também revelaram que a etiologia e a suscetibilidade das espécies isoladas são comparáveis aos encontrados em outros grupos de pacientes não renais descritos na literatura.

Descritores: unhas. hemodiálise. transplante de rim. antifúngicos.

ABSTRACT

Santos Filho AM. Onychomycosis in dialysis patients and kidney transplant recipient: prevalence, etiology and antifungal susceptibility profile in patients treated at the Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (dissertation). São Paulo: Instituto de Medicina Tropical de São Paulo da Universidade de São Paulo; 2016.

Onychomycosis is a chronic fungal infection of the nail. It is the most common disorder of nails worldwide and constitutes about 50% of all nail changes of the immunosuppressed and healthy patients. In recent years, several reports have shown increased prevalence of onychomycosis. This increase can be attributed to several factors, including increased life expectancy, and to the human immunodeficiency virus (HIV) epidemics. In this regard, the number of chronic renal patients is also increasing worldwide. However, the literature reports few studies on onychomycosis in these patients. Therefore, our objectives were to determine the prevalence, etiology and susceptibility profile of onychomycosis of the toenail of patients undergoing hemodialysis treatment (HD), kidney transplant recipients (KTR) and control patients. Were examined 510 patients, 336 attending the Renal Transplantation Unit (187 KTR e 149 HD) and 174 patients attending an internal medicine outpatient service with diseases other than renal disease (control group). The isolates were identified by phenotypic and molecular tests. Antifungal susceptibility tests were performed using a broth microdilution method against the antifungal drugs voriconazole, itraconazole, fluconazole and terbinafine. The prevalence of onychomycosis in HD patients (23.4%) and KTR (23.0%) was significantly higher than control group (13.2%). In HD patients, onychomycosis was

associated with diabetes but not duration of dialysis and gender. In KTR, onychomycosis was more prevalent in males, but not associated with duration of transplantation, diabetes or immunosuppressive protocols. *Trichophyton rubrum* was the most prevalent species (45.9%) followed by *T. mentagrophytes* (24.5%) and *Candida parapsilosis* (18%). While all antifungals were efficient against the dermatophyte isolates, terbinafine was the most effective. All *C. parapsilosis* isolates were sensitive to the antifungals according to the current endpoints. In conclusion, this study shows that HD patients and KTR are at high risk of contracting onychomycosis. Our data also show that the etiology and susceptibility of the species are comparable with those found in other groups of non-renal patients described in the literature

Descriptors: nails. hemodialysis. renal transplantation. antifungals.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Anatomia da unha do dedo do pé (secção do dedo do pé).	21
Figura 2 – (a) Onicomicose subungueal distal em paciente DL com 66 anos mostrando envolvimento da unha com acometimento da região plantar; (b) onicomicose subungueal distal em paciente RTR com 38 anos mostrando moderado acometimento da unha.....	50
Figura 3 – Exame direto clarificado com KOH 20 % + DMSO 40 %. (a) leveduras em brotamento; (b) fungo filamentoso com presença de hifas septadas.	50
Figura 4 – Aspectos macromorfológicos dos isolados de dermatófitos em ágar Sabouraud-dextrose. (a) <i>T. rubrum</i> ; (b) <i>T. mentagrophytes</i> e (c) <i>T. Tonsurans</i>	56
Figura 5 – Análise micromorfológica em meio ágar batata corado com lactofenol; (a) <i>T. rubrum</i> ; (b) <i>T. tonsurans</i> ; (c) <i>T. mentagrophytes</i> e (d) <i>N. dimidiatun</i>	57
Figura 6 – Teste de perfuração de pelo in vitro, (a) <i>T. mentagrophytes</i> (pelo perfurado) e (b) <i>T. rubrum</i> (pelo integro).	58
Figura 7 – Teste de hidrólise de ureia. (a) <i>T. mentagrophytes</i> uréase positiva e (b) <i>T. rubrum</i> uréase negativa.	58
Figura 8 – (a) Plaqueamento em meio CHROMagar evidenciando colônia pura de coloração roxo/bege; (b) Micromorfologia em ágar fubá Tween 80 mostrando isolado sugestivo de <i>C. parapsilosis</i>	59
Figura 9 – Placa de microtitulação com diferentes concentrações de itraconazol. 61	

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Dados demográficos dos grupos avaliados.....	46
Tabela 2 – Distribuição dos pacientes por faixa etária.	47
Tabela 3 – Distribuição dos pacientes DL conforme o tempo de diálise.....	47
Tabela 4 – Distribuição dos pacientes RTR conforme a duração do transplante.	48
Tabela 5 – Combinação dos imunossupressores utilizados nos pacientes RTR.....	49
Tabela 6 – Medicação imunossupressora utilizada nos pacientes RTR independente da combinação.....	49
Tabela 7 – Prevalência de onicomicose nos pacientes DL, RTR, e controle conforme a faixa etária.....	52
Tabela 8 – Prevalência de onicomicose em relação ao sexo.....	52
Tabela 9 – Prevalência das onicomicoses conforme o tempo de diálise.....	53
Tabela 10 – Prevalência de onicomicoses conforme o tempo do transplante.	54
Tabela 11 – Prevalência de onicomicose nos pacientes RTR de acordo o tratamento imunossupressor.....	54
Tabela 12 – Prevalência de onicomicose em relação a presença de diabetes mellitus.....	55
Tabela 13 – Prevalência dos agentes etiológicos causadores de onicomicose nos pacientes RTR e DL, de acordo com o sexo.	60
Tabela 14 – Suscetibilidade in vitro dos dermatófitos e leveduras frente os quatro agentes antifúngicos.	62

LISTA DE ABREVEATURAS E SIGLAS

ABTO	Associação Brasileira de Transplantes de Órgãos
C	<i>Candida</i>
CLSI	Clinical Laboratory Standards Institute
CIM	Concentração inibitória mínima
DMSO	Dimetilsulfóxido
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DL	Dialítico
FFND	Fungo filamentoso não dermatófito
HCFMUSP	Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo
HIV	Vírus da imunodeficiência humana
IRC	Insuficiência renal crônica
IRCT	Insuficiência renal crônica terminal
KOH	Hidróxido de potássio
KNO ₃	Nitrato de potássio
LIM	Laboratório de investigação médica
mL	Mililitros
mm	Milímetros
Mol	Mols
mM	Milimolar
OSLD	Onicomicose subungueal distal e lateral
OSB	Onicomicose superficial branca
OSP	Onicomicose subungueal proximal
ODT	Onicomicose distrófica total

PCR	Reação em cadeia da polimerase
pmp	Por milhão de pessoa
pH	Potencial hidrogeniônico
RTR	Receptor de transplante renal
SIDA	Síndrome da Imunodeficiência Adquirida
T	<i>Trichophyton</i>
TFG	Taxa de filtração glomerular
UFC	Unidade formadora de colônia
USA	United States of America

LISTA DE SÍMBOLOS

%	Porcentagem
°C	Graus Celsius
µg	Microgramas
µL	Microlitros
<	Menor que
>	Maior que
±	Mais ou menos
=	Igual
-	menos
L	Litro
α	Alfa
P	Nível de significância

SUMÁRIO

1.0	INTRODUÇÃO	18
1.1	Epidemiologia.....	19
1.2	Revisão bibliográfica	20
1.2.1	Estruturas das unhas.....	20
1.3	Aspectos clínicos.....	22
1.4	Etiologia das onicomicoses	23
1.4.1	Onicomicoses por dermatófitos	23
1.4.2	Onicomicoses por leveduras	24
1.4.3	Onicomicose por fungos filamentosos não dermatófitos	25
1.5	Tratamento das onicomicoses.....	27
1.5.1	Tratamento tópico	28
1.5.2	Tratamento Sistêmico.....	29
1.6	Doença renal crônica.....	30
1.7	Transplante renal	32
1.8	Infecções fúngicas em receptores de órgãos sólidos	33
1.9	Justificativa	34
2.0	OBJETIVOS	35
2.1	Objetivos Gerais.....	35
2.2	Objetivos Específicos	35
3.0	PACIENTES E MÉTODOS.....	36
3.1	Ética	36
3.2	Casuística	36
3.3	Coleta.....	37
3.4	Exame microscópico direto.....	37
3.5	Isolamento e identificação - dermatófitos e FFND	37

3.5.1	Microcultivo em lâmina (Técnica de Ridell).....	38
3.6	Crítérios de identificação dos FFND	39
3.7	Provas fisiológicas e bioquímicas para identificação de dermatófitos	39
3.8	Identificações das leveduras	39
3.8.1	Isolamento em meio seletivo - CHROMagar Candida®.....	40
3.8.2	Microcultivo em ágar fubá-Tween 80.....	40
3.8.3	Provas bioquímicas	41
3.8.3.1	Auxanograma: assimilação de fontes de carboidratos e nitrogênio	41
3.8.3.2	Zimograma: fermentação de fontes de carboidratos.....	42
3.8.4	Técnica da PCR	42
3.9	Testes de suscetibilidade aos antifúngicos (microdiluição em caldo).....	43
3.10	Análises estatísticas	45
4.0	RESULTADOS	46
4.1	Medicação imunossupressora	48
4.2	Diagnostico das onicomicoses	50
4.2.1	Aspectos clínicos.....	50
4.2.3	Exame microscópico direto.....	50
4.3	Prevalência das onicomicoses	51
4.3.1	Prevalência das onicomicoses em relação ao sexo.....	52
4.3.2	Prevalência das onicomicoses em relação ao tempo de diálise	53
4.3.3	Prevalência das onicomicoses em relação ao tempo de transplante	53
4.3.4	Prevalência das onicomicoses de acordo a medicação imunossupressora .	54
4.3.5	Prevalência das onicomicoses em relação a presença de diabetes mellitus	55
4.4	Isolamento dos agentes	55
4.5	Identificação fenotípica dos isolados	56
4.5.1	Macromorfologia dos isolados de dermatófitos.....	56
4.5.2	Micromorfologia dos isolados de dermatófitos e FFND.....	57

4.5.3	Técnica da perfuração do pelo <i>in vitro</i>	57
4.5.4	Teste da hidrólise de ureia	58
4.5.5	Isolamento e identificação das leveduras	59
4.6	Teste de suscetibilidade aos antifúngicos.....	60
5.0	DISCUSSÃO	63
6.0	CONCLUSÕES	69
7.0	REFERÊNCIAS.....	70
	ANEXO A – Termo de consentimento livre e esclarecido	78
	ANEXO B – Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa HC-FMUSP.....	82
	ANEXO C – Questionário padronizado para o estudo.....	84

1.0 INTRODUÇÃO

Onicomicose é uma infecção crônica das unhas provocadas por fungos. É a doença mais comum das unhas em todo o mundo e constitui cerca de metade de todas as alterações ungueais em indivíduos imunocompetentes e imunossuprimidos.^{1, 2} A infecção não é considerada grave, embora represente uma questão de saúde pública devido à sua alta prevalência e morbidade associada. A doença pode ter consequência negativa para os pacientes, tais como dor, baixa autoestima e pode eventualmente prejudicar o trabalho e o convívio social.^{3, 4} Os agentes etiológicos mais comuns são dermatófitos, leveduras e fungos filamentosos não dermatófitos conhecidos como (FFND).⁵

Os fatores predisponentes para onicomicose são: idade avançada, imunossupressão, infecção pelo HIV, presença de diabetes, prática de esportes, doença vascular periférica, distúrbios relacionados com a pele, tais como hiperhidrose, psoríase e trauma nas unhas.⁶⁻⁹ O diagnóstico laboratorial das onicomicoses é de extrema importância para uma terapêutica adequada, pois os fungos de acordo com gênero e espécie respondem de forma diferente a terapia antifúngica.¹⁰ Em muitos casos o tratamento é iniciado antes mesmo de realizar procedimentos de diagnóstico.¹¹ Os antifúngicos mais usados no tratamento das onicomicoses são as classes dos azóis e alânicas. Entre os azóis incluem itraconazol, fluconazol e cetoconazol, no entanto, o cetoconazol é pouco utilizado devido sua interação medicamentosa e hepatotoxicidade. A classe alânicas é representada principalmente pela terbinafina.¹² Apesar da quantidade de fármacos disponíveis para tratar onicomicose, muitas vezes o sucesso terapêutico não é alcançado, vários fatores contribuem para ausência de resposta à terapia, tais como; não adesão ao tratamento, diagnóstico incorreto, infecção recorrente e dosagem incorreta.¹³

1.1 Epidemiologia

Nos últimos anos a prevalência de onicomicose tem aumentado. Esse aumento pode ser atribuído a diversos fatores, incluindo o aumento da expectativa de vida, utilização generalizada de terapias imunomoduladoras e propagação do vírus da imunodeficiência humana-HIV.⁹ Com o avançar da idade a incidência de onicomicose aumenta progressivamente: em pacientes acima de 60 anos, esse índice pode chegar a mais de 30%.⁷ Sigurgeirsson e Baran.¹⁴ analisaram a prevalência de onicomicose na população mundial, através de dados obtidos da literatura a partir de 1950. Os autores dividiram o estudo em três categorias: 1 – população baseada em estudo clínico laboratorial; 2 – estudos baseados em população randomizada e 3 – estudos baseado em pacientes recrutados que faziam outros tratamentos. A primeira categoria avaliou 21 artigos que citaram prevalência de onicomicose publicados em 2012. A prevalência média foi de 11,4% variando de 5 a 17,7%. A segunda categoria avaliou estudos de base populacional de 11 populações entre 1969 e 2006. Nesse estudo observaram prevalência média de 3,6%. Nessas duas categorias foram observados onicomicoses principalmente nos pododáctilos, sendo *T. rubrum* o agente de maior frequência. A terceira categoria avaliou estudos baseados em 21 hospitais, sendo que um estudo foi excluído por apresentarem prevalência baseada apenas no diagnóstico clínico, e desta forma obtiveram prevalência média de 10,9%.¹⁴ Vários estudos têm chamado atenção a respeito das onicomicoses em imunodeprimidos. As onicomicoses interferem indiretamente na morbimortalidade de pacientes com SIDA (Síndrome da Imunodeficiência Adquirida). Gupta et al., 2000.⁸ conduziram um estudo com 500 paciente HIV positivos provenientes do Canadá e Brasil, a prevalência de onicomicose foi de 24 % e 20% respectivamente.

No caso dos diabéticos, onicomicose pode aumentar o risco para outros distúrbios dos pés e se não tratada pode levar a amputação de membro. Lesões na pele adjacente das unhas infectadas pode ocorrer sem o conhecimento dos pacientes e levar a infecções secundárias por fungos e bactérias.^{15, 16} As unhas distróficas e infectadas são comuns em pacientes diabéticos, podendo infectarem as unhas vizinhas e levar ao desenvolvimento de *tinea pedis*, podendo traumatizar a pele e resultar em abrasões e úlceras. Estas podem passar despercebidas devido à sensibilidade diminuída dos membros inferiores e podem evoluir com complicações.^{15, 17, 18} Mais recentemente Lanternier et al.¹⁹ estudaram 17 pacientes com dermatofitose sistêmica e invasiva associada a imunodeficiência desconhecida, todos provenientes de países africanos. Quatro foram a óbito com idades entre 28 e 39 anos por complicações decorrentes da dermatofitose invasiva. Seis pacientes apresentavam concomitantemente onicomicose crônica grave com acometimento de vários pododáctilos e com invasão da região dorsal dos pés. O estudo imunológico revelou que todos apresentavam deficiência autossômica recessiva de proteína contendo o domínio de recrutamento de caspase 9, (CARD9).¹⁹ CARD9 é uma proteína de via de sinalização dos receptores dectina-1, dectina-2 e lectina tipo C induzida em macrófago além de outros receptores, todos estes envolvidos no reconhecimento de fungos por células do sistema inato. Os autores concluíram que dermatofitose profunda parece ser uma manifestação clínica importante na deficiência do CARD9.¹⁹

1.2 Revisão bibliográfica

1.2.1 Estruturas das unhas

A unha é constituída por uma forma especializada de queratina e formada por estruturas altamente especializadas; placa da unha, matriz da unha, leito da unha abaixo dela, e os sulcos que o rodeiam. A matriz da unha é a parte responsável pela produção da placa ungueal. A placa ungueal fica inserida no leito ungueal subjacente por meio de minúsculas interdigitações verticalmente dispostas. O leito ungueal está inserido na epiderme por meio da prega ungueal proximal e da cutícula, bem como as pregas ungueais laterais de cada lado da unha. A placa ungueal distal está inserida na epiderme subjacente pelo hiponíquio (Figura 1).

Figura 1 – Anatomia da unha do dedo do pé (secção do dedo do pé).

Compreender a anatomia da unha é essencial para o tratamento adequado. Deformidade da unha não é apenas na aparência estética, mas pode ser funcionalmente incapacitante. As unhas dos pés crescem mais lentamente do que as das mãos, cerca de 1 mm por mês e continuamente durante todo ciclo de vida de um indivíduo. Embora nos idosos esse crescimento seja ainda mais lento, a

estrutura normal da unha se altera com a idade. Estas alterações estão relacionadas principalmente com perda da função da unha, e como resultado maior exposição a várias doenças, incluindo infecções por fungos.²⁰

1.3 Aspectos clínicos

Do ponto de vista clínico as onicomicoses são classificadas de acordo com a localização, extensão e coloração das lesões. A primeira classificação foi proposta por Zaias em 1972, e reunia três diferentes formas de invasão da lâmina ungueal: I - Onicomicose subungueal distal e lateral (OSDL), em que a invasão se origina a partir da superfície distal e lateral inferior da placa; II - Onicomicose superficial branca (OSB), em que a invasão se origina a partir da superfície superior da placa e III - Onicomicose subungueal proximal (OSP), em que a invasão começa na superfície inferior da região periungueal proximal. O termo onicomicose distrófica total (ODT) surgiu depois para explicar o fato de que em alguns pacientes toda a placa da unha e muitas vezes a região periungueal podem ser comprometidas pela infecção.²¹ Desde então houve inúmeras alterações no processo de invasão e colonização fúngica da região ungueal, bem como se observou aumento na incidência de diferentes organismos e alterações no tratamento. Avaliando-se todos estes parâmetros houve uma série de modificações que foram introduzidas para explicar novas descobertas.^{21, 22} Hay e Baran propuseram uma nova classificação das onicomicoses. Nessa classificação além dos tipos clínicos acima citados foram inseridos onicomicose padrão misto, onde se observa mais de um tipo clínico na mesma lesão; onicomicose distrófica total, no qual ocorre como alteração secundária a estados avançados de outros padrões de invasão da placa ungueal, ou pode ocorrer como alterações primárias associada a imunodeficiência grave, por exemplo, HIV/AIDS ou candidíase mucocutânea crônica. Onicomicose secundária a

invasão da placa ungueal por fungos pode ocorrer secundariamente à outra doença ungueal, como por exemplo, onicomicose secundária a psoríase.²¹

1.4 Etiologia das onicomicoses

1.4.1 Onicomicoses por dermatófitos

Os dermatófitos pertencem a um grupo de microrganismos que são capazes de invadir os tecidos queratinizados (pele, pelo e unhas) de humanos e de animais. A maioria destes fungos residem no solo e estão envolvidos na decomposição. No entanto, os dermatófitos podem infectar hospedeiros vivos. São classificados em três gêneros anamórficos: *Trichophyton*, *Microsporum* e *Epidermophyton* e de acordo com seu habitat são sendo divididos em três grupos: antropofílicos, zoofílicos e geofílicos. Os antropofílicos estão adaptados aos seres humanos, e são os que mais provocam onicomicose no homem. Os zoofílicos estão adaptados aos animais e são adquiridos pelo homem através do contato com animais infectados. Os geofílicos normalmente vivem no meio ambiente e infectam os pacientes após contato com o solo, e são encontrados com menor frequência provocando infecções em humanos.²³⁻²⁵

A taxonomia dos dermatófitos, particularmente *T. mentagrophytes*, é controversa, podendo ser atribuídos nomes diferentes, dependendo dos métodos (tradicionais ou moleculares) usados em sua identificação. O diagnóstico laboratorial dos dermatófitos é realizado com base em sua morfologia (macro e microscópica), características nutricionais e bioquímicas. A distribuição geográfica é bastante variada, algumas espécies são cosmopolitas e outras dependem de adaptação a determinadas regiões uma vez que crescem melhor em clima quente e úmido e, portanto, são mais comuns em regiões tropical e subtropicais.^{25, 26}

A invasão da placa ungueal por dermatófitos é referido como *tinea unguium*. Entretanto a palavra onicomicose é usada como termo geral para todas as infecções das unhas.^{23, 24} A infecção por dermatófitos é geralmente cutânea e restrita a camada superficial, devido à incapacidade do fungo para penetrar o tecido mais profundo ou órgãos de hospedeiros.²⁴ Reações a uma infecção por dermatófitos podem variar de leve a grave, como consequência de reações do hospedeiro a metabólitos produzidos pelo fungo, a virulência da espécie infectante, localização anatômica da infecção e fatores ambientais locais.²³ Aproximadamente 75% das onicomicoses são provocada por dermatófitos. Entre estes o gênero *Trichophyton* apresenta maior frequência de acometimento, sendo *T. rubrum* o mais frequente seguido por *T. mentagrophytes* var. *interdigitale*, ambos antropofílicos. Na América do Sul, América do Norte e partes da Europa essas duas espécies são frequentemente as que mais causam onicomicose.^{1, 27, 28} Outras espécies de *Trichophyton* como *T. tonsurans*, *T. megnini*, *T. schoenleinii*, *T. violaceum*, *T. soudanense* e *T. concentricum* também são observadas como agente de onicomicose, porém, com menor frequência de isolamento. Poucas espécies do gênero *Microsporum* são consideradas agentes de onicomicose. Entre estas destacam-se *M. gypseum* e *M. canis*, porém, com baixa incidência. O gênero *Epidermophyton* é formado por apenas duas espécies e somente *E. floccosum* é considerado agente de onicomicose.²³

1.4.2 Onicomicoses por leveduras

Entre as leveduras causadoras de onicomicoses destacam-se as espécies pertencentes ao gênero *Candida*. As espécies são predominantemente unicelulares, reproduzem-se assexuadamente por brotamento ou fissão binária, e mais raramente sexuadamente pela produção de ascósporos e basidiósporos.^{24, 29}

O diagnóstico laboratorial é baseado na observação de leveduras ovaladas, pseudohifas e blastoconídios no exame microscópico direto, características (macro e micromorfológicas) e utilização de provas bioquímicas, como fermentação e assimilação de carboidratos e fisiológicas, como formação de tubos germinativos em soro fetal bovino a 37°C e testes moleculares.²⁴

Candida sp podem causar infecções superficiais ou profundas no homem e em diversos animais, constituindo um grupo de microrganismos oportunistas e sua patogenicidade depende de condições ambientais locais.²⁴ Infecções provocadas por espécies de *Candida* acometem principalmente pele, unhas e mucosas. Algumas fazem parte da microbiota superficial da pele, mucosas e trato gastrointestinal. Assim, para que a levedura seja considerada patogênica é necessária visualização do agente no exame microscópico direto, além do isolamento em cultura.²⁴ As espécies do gênero que mais provoca onicomicoses são: *Candida albicans*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *C. krusei*, *C. guilliermondii*, *C. ciferii*, *C. sake*, *C. haemulonii*, *C. famata* e *C. zeylanoides*. Entretanto as duas primeiras são predominantemente mais isoladas.^{1, 30, 31}

Muitos estudos citam *C. albicans* como a espécie mais frequentes em casos de onicomicose.^{27, 32, 33} Entretanto, outros estudos têm mostrado predominância de *C. parapsilosis*.^{1, 30}

1.4.3 Onicomicose por fungos filamentosos não dermatófitos

Os FFND são fungos prevalentes em regiões quentes e úmidas, principalmente nas áreas subtropical e tropical, sendo que em algumas regiões são endêmicos; quando comparados a regiões de clima temperado, sua incidência pode variar com a região geográfica.³⁴ FFND como agente de onicomicose é de difícil diagnóstico, uma vez que são considerados fungos anemófilos e contaminantes das

unhas e dos próprios laboratórios de micologia. Não há uma padronização dos critérios para o diagnóstico, verificando-se inconsistência entre diferentes estudos, que pode afetar a qualidade dos dados publicados.³⁵ Discrepâncias em infecções por FFND são observadas; estes dados refletem a dificuldade em provar esses agentes como causador de onicomicose.³⁴ Os FFND de maior ocorrência em onicomicose são os gêneros *Scopulariopsis brevicaulis*, *Fusarium* sp., *Acremonium* sp., *Aspergillus* sp., *Neoscytalidium* sp. e *Onychocola canadenses*.³⁶ Gupta et al.³⁵ revisaram a literatura e verificaram que os principais métodos de diagnóstico das onicomicoses por FFND eram: I. Exame microscópico direto com solução de KOH em escamas ungueais; II. Isolamento do FFND, como agente de onicomicose, em cultura pura, para demonstrar a viabilidade das estruturas fúngicas visualizadas no exame microscópico direto; III. Ausência de isolamento de dermatófito em cultura, para considerar o FFND como patógeno primário; IV. Isolamento, a partir de coletas sucessivas, com intervalo de 1 a 2 semanas, com crescimento em dois ou mais tubos; V. Exame histopatológico, por ser mais sensível e demonstrar invasão tecidual, pode ser utilizado como alternativa quando o exame direto e cultura resultam falso negativo; e VI. Diagnóstico molecular que é altamente específico, entretanto requer um laboratório especializado, com equipamentos e reagentes caros, além de não diferenciar o agente infectante de contaminantes.³⁵

Oycka e Gugnani.³⁷ estudaram a capacidade que fungos filamentosos possuem em degradar queratina. Foram utilizando recortes de unhas e pó de queratina como substratos. Dois isolados de *Neoscytalidium dimidiatum* demonstraram eficácia similar na degradação dos substratos: 42 - 43% em recortes de unhas e 24 - 26% em pó de queratina. Espécies de *Neoscytalidium hyalinum* e *Neoscytalidium japonicum* degradaram recortes de unhas em 40% e 38% respectivamente. No caso de *Fusarium solani* recortes de unhas foram degradados em 43% e queratina em pó em 20%. Os autores também testaram duas espécies

de dermatófitos, *T. rubrum* e *T. interdigitale* mostrando que as duas espécies degradam unhas em 70% e 73% e queratina em 42% e 52% respectivamente. Demonstram desta forma que estes agentes possuem potencial como agente primário de infecções ungueais.³⁷

Nos últimos anos houve um aumento nos casos de infecções por FFND. Em pacientes com imunossupressão a onicomicose por FFND deve ser observada com critério e atenção, pois pode representar porta de entrada para uma infecção grave ou até mesmo fatal. As espécies do gênero *Fusarium* são fitopatógenos de ampla distribuição e já foi descrito caso fatal de infecção sistêmica secundária originada de onicomicose por este agente.³⁸

1.5 Tratamento das onicomicoses

O tratamento das onicomicoses depende do padrão clínico da lesão, gênero e/ou espécie e gravidade da lesão. Basicamente são dois tipos, tratamento tópico e oral.³⁹ No entanto, recentemente, tratamento a laser e terapia fotodinâmica tem sido avaliados em alguns estudos.^{40, 41} Apesar dos tratamentos disponíveis, falhas terapêuticas são frequentemente observadas. Inúmeros fatores são citados para explicar a ausência de resposta terapêutica; tais como a não-adesão ao tratamento, diagnóstico incorreto, dosagem incorreta e doença avançada. A recidiva da doença também é documentada e a taxa de recorrência varia entre 10% a 53%, independente do tratamento usado e pode ser causada pela falta de cura micológica ou reinfecção.⁴² Além disso, na escolha do tratamento deve-se considerar idade e co-morbidades do paciente, efeitos secundários e interações entre drogas, o custo do tratamento e adesão do paciente.⁴³

1.5.1 Tratamento tópico

Tratamento tópico é recomendado para pacientes que não podem se submeter a terapia antifúngica sistêmica, em casos de onicomicose superficial branca e quando não há comprometimento da matriz da unha. Pode ser também indicado na profilaxia pós-tratamento. Os fármacos mais utilizados são os imidazólicos; tioconazol solução 28%, ciclopirox olamina solução e esmalte 8% e amorolfina esmalte 5%.⁴⁴ Todos antifúngicos acima citados têm amplo espectro de ação frente aos principais agentes de onicomicoses. Tioconazol é um antifúngico sintético com ação fungicida *in vitro* contra leveduras e dermatófitos. Estudo *in vivo* com tioconazol revelou 22% de cura micológica.⁴⁵

O mecanismo de ação da amorolfina visa inibir duas enzimas (delta-14-reductase e de delta-7,8-isomerase). Essas duas enzimas bloqueiam a produção do ergosterol, principal esteroide da membrana celular dos fungos, tendo, portanto, atividade fungicida e fungistática.⁴⁶ A eficácia de amorolfina 5% esmalte aplicada uma vez por semana foi avaliada em 100 pacientes e resultou em 38% de cura micológica após seis meses de tratamento.⁴⁷

O mecanismo de ação do ciclopirox é pouco conhecido. Acredita-se que possa inibir o transporte de certos substratos essenciais para as células fúngicas resultando em efeito fungicida.^{46, 48} As taxas de curas em casos de onicomicoses podem variar entre 9-32% utilizando formulações tópicas.⁴⁶ Sucesso no tratamento de onicomicoses causadas por FFND com ciclopirox 8% também tem sido documentado.³⁶

Todas as formas tópicas acima citadas podem ser usadas também como um adjuvante para os antifúngicos sistêmicos. As vantagens da terapia tópica é que não são observados efeitos adversos significantes além de existir um menor risco de interações medicamentosas. As desvantagens é que a eficácia é limitada,

exceto em casos leves, devido à sua incapacidade de penetrar através da placa da unha.⁴⁸

1.5.2 Tratamento Sistêmico

Tratamento sistêmico apresenta maior eficácia em todos os tipos de onicomicoses.⁴⁹ Griseofulvina foi o primeiro agente antifúngico de uso sistêmico utilizados no tratamento das onicomicoses e durante muito tempo foi o único. No entanto, sua eficácia é baixa e limitada aos dermatófitos, além disso, recorrência de infecção é frequentemente relatada.⁴⁸ Atualmente estão disponíveis vários antifúngicos de uso sistêmico, os mais utilizados são os pertencentes à classe dos azóis e alilamina. Os representantes dos azóis são; fluconazol, itraconazol, voriconazol e cetoconazol; entretanto, cetoconazol é raramente prescrito devido a sua elevada hepatotoxicidade.⁵⁰ O mecanismo de ação dos azóis consiste em inibir o citocromo P 450 que ativa a enzima 14 α -demetilase o qual converte o lanosterol em ergosterol, principal esterol da membrana celular. Com isso ocorre o bloqueio da síntese da membrana celular da célula fúngica.⁴⁹

Em pacientes renais crônicos o uso de antifúngicos requer certa atenção devido à farmacodinâmica dos mesmos. Vários estudos mostraram que os azóis alteram a farmacocinética dos imunossupressores utilizados para controle de rejeição do enxerto.^{49, 51, 52} Níveis séricos de ciclosporina aumentam 1,7 vezes nos pacientes na presença de voriconazol. Assim, as concentrações sanguíneas devem ser cuidadosamente monitoradas quando estes agentes são administrados concomitantemente.⁵³

Terbinafina pertence à classe das alilaminas e podem ser administrada como um antifúngico tópico ou sistêmico por via oral. Assim como nos azóis, o

mecanismo de ação da terbinafina também consiste em inibir a biossíntese do ergosterol, porém em ponto diferente da via, inibindo a enzima esqualeno epoxidase causando acumulação de esqualeno no citoplasma da célula, resultando em alteração letais da membrana celular da célula fúngica.⁵⁴ Ao contrário dos azóis, terbinafina é fracamente ligada a citocromos hepáticos e seu metabolismo envolve apenas cerca de 5% da capacidade de metabolização das enzimas hepáticas P 450. No entanto, recomendações de testes de função hepática devem ser realizados periodicamente durante o tratamento. Outros eventos adversos relatados com a utilização de terbinafina incluem distúrbios que podem se tornar permanentes, tais como; depressão, neutropenia e doenças de pele, como síndrome Stevens Johnson.⁵⁴

1.6 Doença renal crônica

Em um indivíduo adulto jovem a taxa de filtração glomerular (TFG) é de cerca de 125ml/min por 1,73m². Quando a TFG cai abaixo de 60 ml/min por 1,73m² por 3 meses ou mais, presença de lesão renal (albuminúria) o indivíduo é diagnosticado com insuficiência renal crônica (IRC). Portanto, IRC é o resultado da perda progressiva e irreversível da função renal. Quando a TFG cai < 15 ml/min por 1,73m² o indivíduo evolui para insuficiência renal crônica terminal (IRCT), onde os rins não conseguem mais manter a normalidade do meio interno do paciente.⁵⁵⁻⁵⁷ Diabetes mellitus, hipertensão arterial e glomerulonefrite são as principais causas de IRC em todos os países desenvolvidos e em muitos países em desenvolvimento. No entanto, glomerulonefrite e causas desconhecidas são mais comuns nos países da Ásia e África Subsaariana.⁵⁸ Essas diferenças estão relacionadas principalmente ao menor número de doenças infecciosas, estilo de vida, menor taxa de natalidade e maior expectativa de vida nos países desenvolvidos. Em contrapartida, doenças

infeciosas continuam prevalentes em países de baixa renda, secundárias à falta de saneamento, água contaminada, elevadas taxas de doença transmitidas por vetores. Poluição ambiental, pesticidas, uso exagerado de analgésico, aditivos também contribuem para a carga da doença renal crônica nos países em desenvolvimento.⁵⁹

No Brasil, segundo dados fornecidos pela sociedade brasileira de nefrologia cerca de 65% dos pacientes com IRCT teve como diagnóstico de base diabetes e/ou hipertensão arterial, seguido por glomerulonefrite em 11% dos pacientes.⁶⁰ Nos últimos anos o número de pacientes com IRC vem aumentando progressivamente em todo mundo. Tal situação já é considerada tão grave que tem levado autoridades médicas a considerá-lo como um problema de saúde pública, devida às elevadas taxas de morbidade e mortalidade associadas, ao impacto negativo sobre a qualidade de vida dos pacientes, e ao custo elevado de seu tratamento.^{61, 62} No caso da IRCT estão disponíveis vários tratamentos incluindo: hemodiálise, diálise peritoneal ambulatorial contínua, diálise peritoneal automatizada, diálise peritoneal intermitente e transplante renal. No Brasil, 70% dos pacientes que fazem diálise descobrem a doença tardiamente, quando se necessita de terapia renal substitutiva.^{60, 61} Dados da Sociedade Brasileira de Nefrologia indicam que o número de pacientes renais mantidos em diálise no Brasil passou de 42.695 em 2000 para 112.000 em 2014. Atualmente, existem 715 unidades de diálise ativas cadastradas com programas crônicos e com taxa de ocupação em torno de 85%, sendo que 50% dessas unidades fica na região sudeste. A taxa anual de prevalência estimada de pacientes em diálise é cerca de 552 pmp (por milhão de população) e somente no ano 2014 houve um aumento de 10% em relação ao ano anterior. A taxa anual de incidência é de cerca de 180 pmp e também foram observados aumento de 20% nos últimos quatro anos. Os números

indicam ainda que taxa anual de mortalidade para quem enfrenta o tratamento é 19%.⁶⁰

1.7 Transplante renal

Nas últimas décadas o surgimento de novos imunossupressores, maior compreensão do processo de imunomodulação e novos critérios estabelecidos, proporcionou a ampliação na doação de órgãos e o aumento no número de transplantes.⁶³ Apesar de terem ocorrido recentes avanços na sobrevivência de pacientes receptores de órgãos sólidos, por outro lado, manifestações infecciosas ainda são a causa de elevadas taxas de morbimortalidade após o transplante. Vários fatores contribuem para estas manifestações, incluído a terapia imunossupressora que também inclui idade do paciente e outras morbidades como diabetes mellitus.^{64, 65} Pacientes receptores de órgãos sólidos apresentam imunossupressão decorrente da medicação para controle dos mecanismos de rejeição. Estes medicamentos interferem primariamente com a resposta imune celular tornando-os mais susceptíveis a infecções oportunistas e não oportunista.⁶³

No Brasil o número de transplante aumentou gradativamente nos últimos anos. O transplante renal responde pela maior parte de todos os transplantes de órgãos sólidos. Segundo dados fornecidos pela Associação Brasileira de Transplantes de Órgãos (ABTO), o número de transplante renal no Brasil passou de 3372 em 2005 para 5653 em 2014, colocando o Brasil em segundo lugar em número absoluto entre 30 países. Em relação ao número de transplante, passou de 19,9 em 2005 para 29,6 por pmp em 2014, colocando o Brasil em 32º lugar entre 50 países. Houve uma queda de 21% no número de doadores vivos e um aumento de 38% no número de doadores falecidos nesse mesmo período.⁶⁶ Segundo dados fornecidos pela ABTO (2015) há cerca de 110.000 pacientes em tratamento DL no

Brasil, sendo que cerca de 35% têm indicação de transplante. O número de pacientes em lista de espera é de 19.440 (96 pmp), o que significa que menos de 25% dos pacientes que necessitam transplante renal estão em lista.

1.8 Infecções fúngicas em receptores de órgãos sólidos

As infecções causadas por fungos representam cerca de 5% de todas as infecções em pacientes RTR.⁶⁴ A incidência pode variar entre 2 a 14% e a mortalidade de 27 a 77% dependendo de fatores como; região geográfica, exposição ambiental e os efeitos dos regimes imunossupressores. Dificuldade em estabelecer um diagnóstico precoce, aliada a terapia muitas vezes ineficaz, toxicidade dos antifúngicos, interação dos antifúngicos com os fármacos imunossupressores, representam os principais problemas no tratamento de infecções fúngicas nessa população.⁶⁴ Diante disso, essas infecções representam a principal causa de morte em indivíduos submetidos a transplante de órgãos sólidos em todo o mundo.^{67, 68} Alguns estudos têm mostrado que infecções fúngicas superficiais em RTR são mais comuns que na população geral.⁶⁹⁻⁷² Em estudo realizado no Egito os autores observaram maior frequência de alterações ungueais em 302 pacientes RTR comparados a um mesmo número de indivíduos controle. Neste estudo verificou-se também que onicomicose foi à segunda desordem ungueal mais frequente nesses pacientes com prevalência de 7,6% e significativamente maior que o grupo controle.⁷⁰ Mais recentemente foram observados pacientes RTR com infecção cutânea e invasiva por agentes causadores de onicomicoses, como no estudo de Garinet et al.⁷³ em que 5 pacientes RTR apresentavam infecção cutânea e invasiva por espécies de *Neoscytalidium*, sendo que três desses pacientes apresentavam onicomicose.

1.9 Justificativa

Vários fatores predisponentes estão associados com o aumento na prevalência de onicomicose, incluindo as imunodeficiências. Entre as imunodeficiências, Aids é a mais frequentemente relatada, sugerindo que deficiências de células T contribuem para maior suscetibilidade a onicomicoses. Nesse sentido, pacientes renais crônicos DL e RTR apresentam alterações tanto da resposta imune inata como adaptativa tornando-os mais suscetíveis ao desenvolvimento de infecções. No entanto, a literatura relata poucos estudos sobre onicomicose em pacientes renais crônicos. Dado que o aumento da perspectiva de vida do paciente renal é um evento recente, e que o número de pacientes renais em diálise ou submetidos a transplante aumentou em escala alarmante em todo o mundo nas últimas décadas. Portanto, é necessário um melhor conhecimento da prevalência e do impacto das onicomicoses nestes pacientes para proporcionar prevenção e tratamento mais adequados.

2.0 OBJETIVOS

2.1 Objetivos Gerais

Determinar a prevalência das onicomicoses em pododáctilos de pacientes DL, RTR e pacientes controle do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da USP.

2.2 Objetivos Específicos

- Comparar a prevalência das onicomicoses nos três grupos de pacientes estudados.
- Avaliar se a diabetes mellitus contribui para o aumento na prevalência das onicomicoses nos três grupos.
- Isolar e identificar os agentes etiológicos causadores de onicomicose nos dois grupos de pacientes renais crônicos.
- Determinar o perfil de suscetibilidade *in vitro* das espécies isoladas frente aos antifúngicos fluconazol, itraconazol, voriconazol e terbinafina por meio do método de microdiluição em caldo.

3.0 PACIENTES E MÉTODOS

3.1 Ética

Este projeto de pesquisa obteve aprovação do Comitê de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa-CAPPesq da Diretoria Clínica do HC-FMUSP (Anexo B).

3.2 Casuística

Foram examinados um total de 510 pacientes atendidos no HC-FMUSP, sendo 336 pacientes provenientes da Unidade de Transplante Renal (187 RTR e 149 DL), e 174 pacientes do Ambulatório de Clínica Geral, sem histórico de doença associada à imunossupressão (Grupo controle).

Os pacientes que apresentavam alterações nos pododáctilos, tais como: descolamentos, distrofias e ou mudança de cor foram considerados como sugestivos de onicomicose sendo encaminhados para a coleta. A coleta foi realizada no Ambulatório de Dermatologia do HC-FMUSP e posteriormente o material foi encaminhado para o laboratório de Micologia Médica (LIM-53) do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo para a realização de exame microscópico direto e ou cultura.

Para a realização desse estudo nos grupos RTR e DL foram excluídos os pacientes com idade <18 e >75 anos, grávidas, portadores do HIV, apresentando dificuldades de locomoção ou fazendo uso de medicação antifúngica tópica ou sistêmica. Para o grupo controle foram excluídos pacientes com idade <18 e >75 anos, com histórico de doença renal, grávidas, imunodeprimidos, fazendo uso de medicação imunossupressora ou medicação antifúngica tópica ou sistêmica. Para tanto foi aplicado questionário padronizado para o estudo (Anexo C).

3.3 Coleta

Para a realização da coleta a área ao redor da unha foi desinfetada com etanol 70%. A coleta da amostra dos pododáctilos foi feita com instrumental estéril na região lesionada das unhas comprometidas, tomando o cuidado de desprezar a primeira porção que conhecidamente é rica em contaminantes.

De acordo com a apresentação clínica da unha usou-se bisturi de ponta fina e cureta para raspagem por baixo da lâmina ungueal, retirando o material existente entre a zona de transição entre tecido integro e lesado; na onicomicose superficial a coleta foi realizada na superfície externa da lâmina ungueal mediante raspado intenso da zona afetada; na onicomicose subungueal proximal foi feito um raspado ao nível da lâmina externa da unha e progressivamente abriu-se um orifício em profundidade para se realizar a coleta da amostra (coleta via transungueal) e para onicomicose distrófica, na qual a coleta foi realizada com a retirada de escamas da região superficial e subungueal da unha. As amostras foram utilizadas para realização do exame direto e para o isolamento em meio de cultura.

3.4 Exame microscópico direto

Para o exame microscópico direto, as escamas foram colocadas entre lâmina e lamínula e adicionado hidróxido de potássio a 20% em 40% DMSO (KOH + DMSO), sem adição de corantes. Foi considerado exame direto positivo quando observada presença de hifas hialinas septadas, hifas astrosporadas, hifas septadas demáceas, leveduras com gemulação ou brotamento.

3.5 Isolamento e identificação - dermatófitos e FFND

O raspado ungueal foi inoculado nos meios de cultura: ágar Sabouraud-dextrose acrescido de cloranfenicol (DIFCO – Becton, Dickinson and Company, EUA) e ágar Mycosel (DIFCO – Becton, Dickinson and Company, EUA). As culturas foram incubadas à temperatura 28°C, por um período de até quatro semanas, sendo acompanhadas semanalmente. Após isolamento seguiu-se um protocolo de identificação, iniciado por avaliação morfológica pela técnica de microcultivo em lâmina, em meio ágar batata dextrose para dermatófitos e fungos filamentosos não dermatófitos.

Os isolados foram identificados levando em consideração suas características macromorfológicas no que diz respeito à consistência, textura, pigmentação do verso e anverso. Também foram observadas entre lâmina e lamínula com o auxílio de microscópio óptico comum, suas características micromorfológicas, coradas com azul de lactofenol, além da realização de provas de perfuração de pelo e hidrólise de ureia.

3.5.1 Microcultivo em lâmina (Técnica de Ridell)

A metodologia de microcultivo em lâmina consistiu em utilizar lâminas de microscopia como suporte para pequenos blocos de ágar batata dextrose, acondicionados no interior de placas de Petri estéreis, onde foram inoculados em suas extremidades fragmentos da cultura, em seguida recobertos por lamínula. Estas placas foram incubadas a temperatura ambiente no período de até 15 dias. Após este período, foi retirada a lamínula e coradas com azul de lactofenol para observação das características micromorfológicas. Esta técnica permitiu a caracterização dos isolados através da visualização íntegra das estruturas de frutificação.

3.6 Critérios de identificação dos FFND

Para o diagnóstico das onicomicoses por FFND utilizamos alguns dos critérios recomendados por Gupta et al.³⁵ ou seja, visualização de hifas com ou sem esporos no exame microscópico direto, isolamento de FFND com ausência de crescimento de dermatófitos em três coletas seriadas com intervalos de três ou mais semanas com isolamento do mesmo agente na mesma unha.

3.7 Provas fisiológicas e bioquímicas para identificação de dermatófitos

Para identificação dos dermatófitos utilizamos prova de perfuração do pelo e hidrólise de ureia. Para testar a capacidade que os dermatófitos possuem em perfurar pelo *in vitro*, uma pequena porção de pelos de criança (pré-púbere) foi semeada em 25 ml de água destilada estéril com três gotas de extrato de levedura a 10%. Posteriormente esse meio foi inoculado com uma pequena porção da cultura pesquisada e incubado a 25°C por até quatro semanas. Após esse período um pelo foi removido desse sistema e examinado entre lâmina e lamínula corado com lactofenol. Para avaliar a capacidade que os dermatófitos possuem em hidrolisar ureia uma pequena porção da cultura a ser testada foi inoculada em meio ágar ureia e incubada a 25°C por até oito dias. Atividade ureásica foi observada quando produziu alteração alcalina do pH de amarelo para vermelho.

3.8 Identificações das leveduras

Para a identificação das leveduras foram utilizados os seguintes testes: plaqueamento em meio cromogênico (CHROMagar Candida - DIFCO – Becton, Dickinson and Company, EUA), microcultivo em lâmina em ágar fubá (DIFCO –

Becton, Dickinson and Company, EUA) acrescido de 1% de Tween 80 (Riedel de Haën, Alemanha), provas bioquímicas por meio do auxanograma e zimograma e molecular através da técnica da reação em cadeia da polimerase (PCR).

3.8.1 Isolamento em meio seletivo - CHROMagar Candida®

Este procedimento requer que o material isolado seja plaqueado, por esgotamento, em meio cromogênico CHROMagar Candida®. É útil tanto para purificação dos isolados, como para identificação presuntiva, devido à capacidade cromogênica do meio, uma vez que algumas espécies apresentam colorações específicas, tais como: colônias de coloração verde claro, sugestivas de *C. albicans*; verde escuro *C. dubliniensis*; azul sugestiva de *C. tropicalis* e rosa em diferentes tonalidades e aspectos, sugestivas de outras espécies de leveduras do gênero *Candida*.

3.8.2 Microcultivo em ágar fubá-Tween 80

Esta técnica baseia-se no princípio de que leveduras, quando semeada em ágar fubá com Tween-80 apresentam a capacidade de filamentação, formando pseudo-hifas e/ou hifas verdadeiras. Assim, pelas características micromorfológicas diferenciadas das estruturas filamentosas, pode-se sugerir a espécie de levedura implicada na identificação. O microcultivo ou técnica de Ridell apud Lacaz et al.²⁴ foi realizado, utilizando o ágar fubá, acrescido de Tween 80 (1%); com pH ajustado entre 5,8 e 6,2. O meio foi distribuído com auxílio de pipeta estéril, em camada fina sobre lâminas previamente preparadas em câmara de microcultivo. Após solidificação do meio, cada amostra foi semeada em três linhas finas, horizontais e paralelas na superfície do ágar e coberta com laminula. Após a adição de água

destilada estéril ao algodão presente na placa, para obtenção de câmara úmida, o sistema fechado foi incubado a 25 °C, por até cinco dias. A leitura foi executada observando a morfologia, presença do pseudomicélio e disposição dos blastoconídios.

3.8.3 Provas bioquímicas

3.8.3.1 Auxanograma: assimilação de fontes de carboidratos e nitrogênio

A realização do auxanograma se processou inoculando em placas de Pétri (90 X 15 mm) 2 mL de uma suspensão da levedura diluída em salina a 0,9%, com turbidez correspondente a concentração de 3 da escala de McFarland. A suspensão com 40 mL de meio C (Yeast carbohydrate base - DIFCO – Becton, Dickinson and Company, EUA) e N (Yeast carbon base - DIFCO – Becton, Dickinson and Company, EUA) foi vertida, nas respectivas placas sobre a suspensão e homogeneizadas. Após solidificação, os carboidratos (glicose, maltose, galactose, lactose, sacarose, rafinose, xilose, inositol, melibiose, trealose e celobiose) e fontes nitrogenadas (peptona e KNO_3) foram distribuídos em pequenas quantidades nos pontos previamente marcados, com auxílio de palitos esterilizados. A incubação foi feita à temperatura de 25°C, por até 72 horas, e a leitura foi realizada diariamente. Esta técnica baseia-se na capacidade que as leveduras apresentam em utilizar determinado carboidrato como única fonte de carbono e nitrogênio inorgânico (nitrato de potássio), para sua viabilidade celular. Desta forma consideramos positiva quando as fontes de carbono e/ou nitrogênio apresentaram crescimento de halo ao redor da fonte.²⁴

3.8.3.2 Zimograma: fermentação de fontes de carboidratos

A capacidade de uma levedura fermentar determinado carboidrato está diretamente ligada à habilidade desta em possuir sistemas enzimáticos eficientes capazes de permitir, em baixas tensões de oxigênio, degradar açúcares para produção de energia, formando, entre outros metabólitos, etanol e gás carbônico. No teste de fermentação de carboidratos foi utilizado o meio basal (7,5 g peptona, 4,5 extrato de levedura, para cada 1000 mL de água destilada), acrescido de azul de bromotimol e distribuído em alíquotas de 2 mL em tubos Kahn contendo tubos de Duham invertidos, para visualização de gás. As amostras foram testadas quanto à habilidade de fermentar dextrose, maltose e galactose. Para tanto, foi adicionado 1 mL da solução de cada carboidrato (preparados à concentração de 6%) a cada tubo de meio de cultura autoclavado. O pH foi ajustado para 6,5. Posteriormente, o azul de bromotimol foi dissolvido em etanol e adicionado, aos poucos, a este meio até obtenção de coloração verde intensa. Para preparação do inóculo, uma pequena porção da levedura foi ressuspensa em 5 mL de salina a 0,9 % estéril, com turbidez correspondente à concentração 3 da escala de McFarland. Foram transferidos 0,1 mL da suspensão para cada um dos quatro tubos de meio basal, contendo os diferentes açúcares. A bateria de testes foi incubada a 25 °C e as leituras foram realizadas periodicamente observando-se a produção de ácido através da mudança de coloração do meio basal para amarelo e a formação de gás capturado no interior do tubo de Durham. A observação foi feita por um período máximo de sete dias. Os resultados foram considerados positivos em função da produção de gás e alteração do pH (mudança de cor).²⁴

3.8.4 Técnica da PCR

A identificação das leveduras com análise fenotípica sugestiva de *C. parapsilosis* foi confirmada utilizando-se a técnica da PCR. As extrações de DNA foram realizadas seguindo protocolo previamente descrito por Van Burik et al.⁷⁴, e as amplificações foram realizadas utilizando os *primers forward* CPAR3 (5'-GCCAGAGATTAACTCAACCAA-3') e *reverse* CPAR2 (5'-CCTATCCATTAGTTTATACTCCGC-3'), para confirmação das espécies do complexo *C. parapsilosis*.⁷⁵

3.9 Testes de suscetibilidade aos antifúngicos (microdiluição em caldo)

Os testes de suscetibilidade aos antifúngicos foi realizado utilizando os protocolos para microdiluição em caldo proposto pelo Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI)^{76, 77} As drogas antifúngicas utilizadas foram: fluconazol, itraconazol, voriconazol e terbinafina (Sigma-Aldrich St. Louis USA. A solução-mãe de cada antifúngico foi preparada conforme recomendação do documento.

A solução-mãe de fluconazol foi preparada em água destilada com concentração de 5120 µg/mL, e as soluções-mãe de itraconazol; voriconazol e terbinafina na concentração de 1600 µg/mL foram preparadas em dimetilsulfóxido (DMSO). As soluções-mãe dos quatro antifúngicos foram aliquotadas em tubos estéreis e em seguida armazenado em freezer - 70 °C.^{76, 77}

Para cada antifúngico foram preparadas 10 diferentes concentrações a partir da solução-mãe, sendo que para fluconazol as concentrações foram de 0,06 até 32µg/mL e para itraconazol, voriconazol e terbinafina 0,015 até 8µg/mL.

As provas foram realizadas em placas de microtitulação estéreis com tampa contendo 96 orifícios. Cada antifúngico foi distribuído em uma placa com alíquotas de 100 µL desde a coluna 1 até a coluna 10, correspondendo cada coluna a uma

concentração diferente. Os orifícios da coluna 11 e 12 foram reservados para controle de crescimento e esterilidade respectivamente. Após a aplicação dos antifúngicos as placas foram cobertas com película plástica (Parafilm) e acondicionadas em freezer - 70° C por um período máximo de 3 meses. Para realização dos testes, as placas foram descongeladas a temperatura ambiente, 30 minutos antes. O meio de cultura utilizado no teste foi o RPMI-1640 (Sigma Chemical, St. Louis, USA) com 0,165 mol/L de MOPS e pH 7,0.^{76, 77}

Para preparação do inoculo as amostras foram cultivadas em tubos contendo ágar batata dextrose sem cloranfenicol e incubadas a 30 °C por um período 4 a 10 dias para dermatófitos e 2 dias para leveduras. Posteriormente cobriu-se as colônias com aproximadamente 2 mL de solução salina estéril a 0,85% e preparou-se uma suspensão mexendo delicadamente as colônias com auxílio de alça descartável estéril. A mistura resultante de conídios e ou fragmentos de hifas foi retirada e transferida para um tubo de ensaio estéril. Após 5 minutos em repouso para decantação dos fragmentos de hifas a suspensão celular foi recolhida e transferida para um tubo estéril e agitado em vórtex durante 15 segundos.^{76, 77}

O inoculo (2x) quando combinado com os 100 µL do antifúngico presente em cada poço da placa foi diluído 1:1 chegando-se a concentração final desejada de ($0,5 \times 10^3$ a $2,5 \times 10^3$ UFC/mL). Posteriormente cada placa foi incubada à temperatura de 35 °C por 4 dias. Em todos os testes foram utilizadas as cepas padrão de referência *C. parapsilosis* ATCC 22019 e *C. krusei* ATCC 6258 para controle de qualidade.^{76, 77}

A determinação da concentração inibitória mínima (CIM) foi realizada visualmente após 4 dias de incubação para os dermatófitos e 48 horas para leveduras, observando presença ou ausência de crescimento.^{76, 77}

3.10 Análises estatísticas

Os resultados obtidos foram analisados através do teste exato de Fisher e do teste Qui-quadrado (X^2) com correção de Yates. O nível de significância estatística foi estabelecido para $p \leq 0,05$.

4.0 RESULTADOS

As características dos pacientes tais como; sexo e idade estão apresentados na tabela 1. Com relação ao sexo 52,7% dos pacientes pertenciam ao sexo feminino e 47,3% ao sexo masculino. A idade média dos pacientes foi de 48,0 anos no grupo DL, 47,2 no grupo RTR e no grupo controle 45,3 anos. Com relação a essas características não houve diferença significativa na composição dos grupos.

Tabela 1 – Dados demográficos dos grupos avaliados.

Variáveis	Grupos		
	DL (n = 149)	RTR (n = 187)	Controle (n = 174)
Masculino/Feminino	72/77	92/95	77/97
Idade média (anos) (Desvio padrão)	48,0 ± 12,3	47,2 ± 13,5	45,3 ± 13,3
Mediana	50,4	48,8	47,0
Variação	18-74	18-72	20-74

DL, dialítico; RTR, receptor de transplante renal

Com relação às faixas etárias houve uma distribuição semelhante dos pacientes na faixa etária que vai de 30 a 49 anos nos três grupos avaliados, bem como se observou que a faixa etária de 50 a 59 apresentou maior número de pacientes 149/510 (29,2%), conforme a tabela 2.

Tabela 2 – Distribuição dos pacientes por faixa etária.

Faixa etária	DL (n = 149)	RTR (n = 187)	Controle (n = 174)
18-29	13 (8,7)	22 (11,7)	27 (15,5)
30-39	29 (19,4)	44 (23,5)	32 (18,4)
40-49	32 (21,4)	33 (17,6)	41 (23,5)
50-59	49 (32,8)	49 (26,2)	51 (29,3)
60-75	26 (17,4)	39 (20,8)	23 (13,2)

DL, dialítico; RTR, receptor de transplante renal

No grupo DL o tempo de diálise informado foi em média $3,2 \pm 3,6$ anos. A faixa que apresentavam maior número de pacientes incluídos no momento do estudo foi de até 1 ano de diálise (26,8%), sendo que 11 (7,3%) dos pacientes não souberam responder ou não constavam tais informações nos prontuários conforme a Tabela 3.

Tabela 3 – Distribuição dos pacientes DL conforme o tempo de diálise.

Tempo de diálise	n	%
Até 1 ano	40	26,8
1 < até 2 anos	26	17,4
2 < até 3 anos	19	12,7
3 < até 4 anos	17	11,4
4 < até 5 anos	9	6,0
5 < até 6 anos	9	6,0
6 < anos	18	12,0
Sem dados	11	7,3
Total	149	100

No grupo RTR a duração do transplante até o momento do estudo variou de 6 meses a 43,0 ($6,4 \pm 6,1$) anos. A faixa que apresentou maior número de paciente foi entre 6 meses a 2 anos (25,6%), seguida por 8 < anos (25,1%) conforme a tabela 4.

Tabela 4 – Distribuição dos pacientes RTR conforme a duração do transplante.

Duração do transplante	n	%
6 meses a 2 anos	48	25,6
2 < a 4 anos	35	18,7
4 < a 6 anos	30	16,0
6 < a 8 anos	27	14,4
8 <	47	25,1
Total	187	100

4.1 Medicação imunossupressora

O protocolo de tratamento imunossupressor dos pacientes RTR em geral foi conduzido em combinação com três imunossupressores. A combinação mais usada foi prednisona/tacrolimus/micofenolato sódico (48,1%), seguido por prednisona/tacrolimus/azatioprina (10,1%) e prednisona/ciclosporina/azatioprina (7,0%). Outras combinações estão apresentadas nas tabelas 5. Os imunossupressores mais usados independente da combinação são mostrados na tabela 6.

Tabela 5 – Combinação dos imunossupressores utilizados nos pacientes RTR.

Imunossupressores	n	%
Prednisona + micofenolato sódico + tacrolimus	90	48,1
Prednisona + tacrolimus + azatioprina	19	10,1
Prednisona + ciclosporina + azatioprina	13	7,0
Prednisona + micofenolato sódico + ciclosporina	11	5,8
Prednisona + Micofenolato sódico + rapamicina	10	5,3
Prednisona + tacrolimus + rapamicina	8	4,2
Prednisona + micofenolato mofetil + tacrolimus	5	2,6
Prednisona + ciclosporina + rapamicina	4	2,1
Prednisona + rapamicina	4	2,1
Prednisona + azatioprina	4	2,1
Prednisona + tacrolimus + everolimo	3	1,6
Outras combinações	16	8,5
Total	187	100

Tabela 6 – Medicação imunossupressora utilizada nos pacientes RTR independente da combinação.

Imunossupressor	n	%
Prednisona	185	99,0
Tacrolimus	126	67,3
Micofenolato sódico	117	62,5
Azatioprina	38	20,3
Ciclosporina	31	16,5
Rapamicina	27	14,4
Micofenolato mofetil	8	4,2
Everolimo	6	3,2

4.2 Diagnóstico das onicomicoses

4.2.1 Aspectos clínicos

O diagnóstico das onicomicoses baseou-se nas características clínicas das lesões associado ao exame microscópico direto conforme figura 2 e 3.

Figura 2 – (a) Onicomicose subungueal distal em paciente DL com 66 anos mostrando envolvimento da unha com acometimento da região plantar; (b) onicomicose subungueal distal em paciente RTR com 38 anos mostrando moderado acometimento da unha.

4.2.3 Exame microscópico direto

Figura 3 – Exame direto clarificado com KOH 20 % + DMSO 40 %. (a) leveduras em brotamento; (b) fungo filamentoso com presença de hifas septadas.

Nos três grupos um total de 112 pacientes apresentaram alterações nas unhas dos pododáctilos e foram submetidos à coleta. Exame microscópico direto estabeleceu diagnóstico de onicomicose em 101 (90,2%) destes pacientes. Onze (9,8%) pacientes com alterações nas unhas resultaram em exame microscópico direto negativo. Diante disso uma nova coleta foi realizada com intervalo de 1 mês. Após duas coletas esses exames permaneceram negativos e os pacientes foram diagnosticados como portadores de outras onicopatias que não onicomicose.

4.3 Prevalência das onicomicoses

Dos 101 pacientes diagnosticados com onicomicose 23,4% ($n = 35$) pertenciam ao grupo DL e 23,0% ($n = 43$) ao grupo RTR. No grupo controle a prevalência de onicomicose foi de 13,2% ($n = 23$), significativamente menor comparado ao grupo DL ($p = 0.01$) e ao grupo RTR ($p = 0.02$). Não houve significância estatística entre os grupos DL e RTR ($p = 1.00$), bem como não houve significâncias estatísticas em relação às faixas etárias nos três grupos estudados ($p > 0.05$). Nos três grupos a menor prevalência de onicomicose foi observada na faixa etária 18-29 anos. No grupo DL a maior prevalência de onicomicose ocorreu na faixa etária de 50-59 anos (30,6%). Já no grupo RTR, a maior prevalência foi observada na faixa etária de 60-75 anos (35,8%). Já no grupo controle houve uma semelhança de prevalência entre as faixas etárias de 40-49, 50-59 e 60-75 anos conforme tabela 7.

Tabela 7 – Prevalência de onicomicose nos pacientes DL, RTR, e controle conforme a faixa etária.

Faixa	DL		RTR		Controle		Valor de <i>p</i>		
	n	%	n	%	n	%	DL+ Controle	RTR + Controle	DL + RTR
18 a 29	1	7,6	2	9,0	1	3,7	0,55	0,58	1,00
30 a 39	7	24,1	12	27,2	3	9,3	0,17	0,07	1,00
40 a 49	6	18,7	5	15,1	7	17,0	0,51	0,35	1,00
50 a 59	15	30,6	10	20,4	9	18,0	0,16	0,80	0,35
60 a 75	6	23,0	14	35,8	3	15,0	0,47	0,07	0,41
Total	35	23,4	43	23,0	23	13,2	0.01*	0.02*	1.00

DL, dialítico; RTR, receptor de transplante renal; * Significante

4.3.1 Prevalência das onicomicoses em relação ao sexo

Nos três grupos avaliados 64/241 (26,5%) dos pacientes do sexo masculino foi diagnosticado com onicomicose, significativamente maior comparado as pacientes do sexo feminino em que apenas 37/269 (13,7%) dos pacientes apresentavam onicomicose ($p = 0.0003$). No entanto, ao analisar os grupos separados essa significância não foi observada no grupo controle ($p = 0.08$), conforme tabela 8.

Tabela 8 – Prevalência de onicomicose em relação ao sexo.

Sexo	DL			RTR			Controle		
	n	Valor - <i>p</i>	RR	n	Valor - <i>p</i>	RR	n	Valor - <i>p</i>	RR
M	22/72	0,04*	1,4	28/92	0,01*	1,4	14/77	0,08	1,4
F	13/77			15/95			9/97		

M, masculino; F, feminino; DL, dialítico; RTR, receptor de transplante renal; RR, risco relativo; * Significante

4.3.2 Prevalência das onicomicoses em relação ao tempo de diálise

A prevalência de onicomicose foi estratificada de acordo com a duração da diálise, sendo que 11 (7,3%) dos pacientes essa informação não constava no prontuário. Os pacientes com até dois anos de duração da diálise apresentaram maior frequência de onicomicose (25,7%). No entanto não houve diferença significativa comparado aos pacientes com mais 2 de anos de duração da diálise com prevalência de (22,2%) conforme tabela 9.

Tabela 9 – Prevalência das onicomicoses conforme o tempo de diálise.

Tempo de diálise	n	prevalência	Valor - <i>p</i>
Até 2 anos	66 (44,2%)	17 (25,7)	0,69
2 < anos	72 (48,3%)	16 (22,2)	
Sem dados	11 (7,3%)	2 (18,1)	
Total	149	35 (100)	

4.3.3 Prevalência das onicomicoses em relação ao tempo de transplante

Os pacientes RTR foram estratificados de acordo com duração do transplante. A maior prevalência de onicomicose foi observada na faixa de 6 meses a 4 anos (27,7%) e a menor na faixa de 4 < a 8 anos de transplante (14,0%); entretanto, não houve diferenças significativas em relação a essa variável (tabela 10).

Tabela 10 – Prevalência de onicomicoses conforme o tempo do transplante.

Duração do transplante	n	prevalência	Valor - <i>p</i>
6 meses a 4 anos	83 (44,3%)	23 (27,7)	0,14
4 < a 8 anos	57 (30,4%)	8 (14,0)	
8 <	47 (25,1%)	12 (25,5)	
Total	187	43 (100)	

4.3.4 Prevalência das onicomicoses de acordo a medicação imunossupressora

A prevalência de onicomicose também foi avaliada de acordo com os 5 imunossupressores mais usados no tratamento dos pacientes RTR, em nenhum deles houve diferenças significativas entre aqueles pacientes que usavam determinado imunossupressor comparado com aqueles que não usavam (tabela 11).

Tabela 11 – Prevalência de onicomicose nos pacientes RTR de acordo o tratamento imunossupressor.

Droga	n	%	Valor de <i>p</i>
Com tacrolimus	126	25 (19,8)	0,14
Sem tacrolimus	61	18 (29,5)	
Com micofenolato sódico	117	31 (26,5)	0,15
Sem micofenolato sódico	70	12 (17,1)	
Com azatioprina	38	8 (21,5)	0,83
Sem azatioprina	149	35 (23,4)	
Com ciclosporina	31	8 (16,5)	0,64
Sem ciclosporina	156	35 (22,4)	
Com rapamicina	27	7 (14,4)	0,80
Sem rapamicina	160	36 (22,5)	

4.3.5 Prevalência das onicomicoses em relação a presença de diabetes mellitus

Nos três grupos foi analisada a associação entre diabetes mellitus e onicomicose. Foi diagnosticada diabetes mellitus em 26,1% dos pacientes DL; destes 38,4% foi positivo para onicomicose enquanto apenas 18,1% dos não-diabéticos, mostrando diferença significativa ($p = 0.01$). Entre os pacientes RTR, diabetes mellitus esteve presente em 20,3%; destes 13,1% foi positivo para onicomicose, enquanto os não-diabéticos 25,5%; sendo que esta diferença não foi significativa ($p = 0,13$). Por último, nos pacientes controle em que 13,8% apresentavam diabetes; destes, 12,5% foi positivo para onicomicose enquanto aqueles não-diabéticos 13,3% com prevalência semelhante ($p = 1,00$) conforme tabela 12.

Tabela 12 – Prevalência de onicomicose em relação a presença de diabetes mellitus.

Grupos	Com DM		Sem DM		Valor - p
	n	%	n	%	
DL (n= 149)	39 (26,1%)	15 (38,4%)	110 (73,8%)	20 (18,1 %)	0,01*
RTR (n= 187)	38 (20,3%)	5 (13,1%)	149 (79,6%)	38 (25,5 %)	0,13
Controle (n= 174)	24 (13,8%)	3 (12,5%)	150 (86,2%)	20 (13,3 %)	1,00

DL, dialítico; RTR, receptor de transplante renal; DM, diabetes mellitus; *significante

4.4 Isolamento dos agentes

Nos pacientes renais com exame microscópico positivo $n = 78$ houve isolamento do agente etiológico em cultura em 61 (78,2%). No grupo controle o

diagnóstico foi baseado na avaliação clínica das lesões associada ao exame microscópico direto, sendo que nesse grupo não foi realizado cultura. Todos os exames microscópicos direto desse grupo apresentaram presença de hifas septadas, não sendo observando presença de leveduras e/ou pseudo-hifas.

4.5 Identificação fenotípica dos isolados

A identificação fenotípica dos isolados levou-se em consideração as características morfológicas, bioquímicas e fisiológicas.

4.5.1 Macromorfologia dos isolados de dermatófitos

A análise dos isolados de dermatófitos mostrou colônias cotonosas, puvirulentas e de aspecto cerebriforme com pigmentos variando conforme o isolado: branco, creme e roseo (figura 4).

Figura 4 – Aspectos macromorfológicos dos isolados de dermatófitos em ágar Sabouraud-dextrose. (a) *T. rubrum*; (b) *T. mentagrophytes* e (c) *T. Tonsurans*.

4.5.2 Micromorfologia dos isolados de dermatófitos e FFND

A análise microscópica dos isolados de dermatófitos mostrou hifas em espiral, hifas delgadas, hifas espessas, numerosos microconídios piriforme, globosos dispostos ao longo das hifas compatível com espécies do gênero *Trichophyton*, (figura 5 a, b, c) assim como, hifas demáceas e septadas formando artroconídios compatível com *N. dimidiatum* (figura 5 d).

Figura 5 – Análise micromorfológica em meio ágar batata corado com lactofenol; (a) *T. rubrum*; (b) *T. tonsurans*; (c) *T. mentagrophytes* e (d) *N. dimidiatum*.

4.5.3 Técnica da perfuração do pelo *in vitro*

A perfuração do pelo *in vitro*, foi realizada em todos isolados de dermatófitos, pois *T. rubrum* não perfura o pelo, enquanto *T. mentagrophytes* tem essa capacidade. A figura – 6 apresenta um teste de perfuração do pelo em isolado de *T. rubrum* e *T. mentagrophytes* onde se observa inúmeras perfurações na imagem (a) provocado por *T. mentagrophytes*, enquanto a imagem (b) observa ausência de perfurações em isolado de *T. rubrum*.

Figura 6 – Teste de perfuração de pelo *in vitro*, (a) *T. mentagrophytes* (pelo perfurado) e (b) *T. rubrum* (pelo íntegro).

4.5.4 Teste da hidrólise de ureia

O teste de hidrólise de ureia foi realizado em todos os isolados de dermatófitos. A atividade ureásica produziu alteração alcalina do pH de amarelo para rosa em isolados de *T. mentagrophytes* (figura 7).

Figura 7 – Teste de hidrólise de ureia. (a) *T. mentagrophytes* uréase positiva e (b) *T. rubrum* uréase negativa.

4.5.5 Isolamento e identificação das leveduras

Os isolados de leveduras foram testados quanto a pureza e identificação presuntiva de espécies, através de plaqueamento em meio CHROMagar *Candida* (figura 8a). A identificação das espécies de leveduras foi realizada através da associação da micromorfologia (figura 8b) com provas bioquímicas tais como: auxanograma e zimograma. A confirmação foi realizada pela técnica da PCR e todos os isolados de levedura foram compatíveis com espécies do complexo *C. parapsilosis*.

Figura 8 – (a) Plaqueamento em meio CHROMagar evidenciando colônia pura de coloração roxo/bege; (b) Micromorfologia em ágar fubá Tween 80 mostrando isolado sugestivo de *C. parapsilosis*.

Dos 61 isolamentos em cultura 80,3% foram dermatófitos seguido por leveduras (18%) e FFND (1,6%). Os fungos isolados só foram considerados como agente infectante da lesão ungueal mediante exame microscópico positivo, tanto para fungos filamentosos como para leveduras (figura – 3).

T. rubrum foi o agente de maior frequência de isolamento 28 (45,9%) seguido por *T. mentagrophytes* 15 (24,6%) e espécies do complexo *C. parapsilosis*

11 (18%). Somente em um paciente foi possível comprovar o isolamento de FFND, *Neoscytalidium dimidiatum* (1,6%) conforme a tabela - 13.

Tabela 13 – Prevalência dos agentes etiológicos causadores de onicomicose nos pacientes RTR e DL, de acordo com o sexo.

Fungos isolados		RTR (n = 38)			DL (n = 23)			%
		M	F	n	M	F	n	
Dermatófitos	<i>T. rubrum</i>	13	6	19	8	1	9	28 (45,9)
	<i>T. mentagrophytes</i>	7	3	10	2	3	5	15 (24,6)
	<i>T. tonsurans</i>	4	1	5	1	0	1	6 (9,8)
Leveduras	<i>C. parapsilosis</i>	1	3	4	2	5	7	11 (18,0)
FFND	<i>N. dimidiatum</i>	-	-	-	1	-	1	1 (1,6)

RTR, receptor de transplante renal; DL, dialítico; M, masculino; F, feminino

4.6 Teste de suscetibilidade aos antifúngicos

Foi determinada a concentração inibitória mínima *in vitro* frente aos quatro antifúngicos para os 49 isolados de dermatófitos e 11 de leveduras do complexo *C. parapsilosis*. Os valores de MIC para todos os antifúngicos foram expressos em µg/mL, após 4 dias de incubação para dermatófitos e 72 horas para as *C. parapsilosis* e todos os testes foram realizados em duplicatas (figura 9).

Em geral as espécies de dermatófitos apresentaram padrão semelhante de suscetibilidade para cada antifúngico testado. Fluconazol foi o antifúngico menos eficaz com valores do MIC entre 2,0 – 8,0 µg/mL nos isolados de *T. rubrum* e *T. tonsurans* e entre 2,0 – 16 µg/mL nos isolados de *T. mentagrophytes*. Terbinafina e voriconazol foram os antifúngicos mais eficazes apresentando valores do MIC ≤ 0.12 µg/mL. Para os isolados de *C. parapsilosis* os valores do MIC foram semelhantes entre fluconazol e terbinafina 0.25 – 2.0 µg/mL. No entanto

voriconazol foi o antifúngico mais eficaz apresentando valores entre 0.015 – 0.03 $\mu\text{g/mL}$.

Figura 9 – Placa de microtitulação com diferentes concentrações de itraconazol.

Os valores do MIC das cepas controle *C. krusei* ATCC 6258 e *C. parapsilosis* ATCC 22019 para os quatro antifúngicos estavam dentro dos valores padronizados pelo documento CLSI. Para os isolados de *C. parapsilosis*, de acordo com os pontos de cortes estabelecidos pelo CLSI, não foram observados isolados resistentes. Já os dermatófitos embora não existem pontos de corte estabelecido pelo CLSI para determinar resistência, as faixas dos MICs ficaram dentro dos valores de cepas testados pelo próprio documento. As faixas dos valores do MIC para os isolados de dermatófitos e *C. parapsilosis* dos pacientes renais são mostrados na Tabela 14.

Tabela 14 – Suscetibilidade in vitro dos dermatófitos e leveduras frente os quatro agentes antifúngicos.

Espécies	Antifúngicos	MIC faixa µg/mL
<i>T. rubrum</i> n = 28	Fluconazol	2.0-8.0
	Itraconazol	0.12-0.25
	Voriconazol	0.03-0.06
	Terbinafina	≤ 0.06
<i>T. mentagrophytes</i> n = 15	Fluconazol	2.0-16
	Itraconazol	0.12-0.25
	Voriconazol	0.3-0.12
	Terbinafina	≤ 0.12
<i>T. tonsurans</i> n = 6	Fluconazol	2.0-8.0
	Itraconazol	0.6-0.12
	Voriconazol	0.03-0.12
	Terbinafina	≤ 0.06
<i>C. parapsilosis</i> n= 11	Fluconazol	0.25-2.0
	Itraconazol	0.06-0.12
	Voriconazol	0.015-0.03
	Terbinafina	0.5-2.0

5.0 DISCUSSÃO

Doença renal crônica resulta em deficiências imunológicas devido a diminuição do número de granulócitos e monócitos e da função fagocitária dos macrófagos; diminuição na capacidade das células apresentadoras de antígeno, como as células dendríticas; número reduzido e diminuição na capacidade de produção de anticorpo das células B. Consequentemente, os portadores de doença renal crônica, tem aumento da incidência e da gravidade das infecções.⁷⁸ Nas últimas décadas novos agentes imunossupressores foram introduzidos o que proporcionou aumento do número de transplantes. No entanto, a maioria deprime a imunidade celular o que também leva a maior suscetibilidade a agentes patogênicos e oportunistas.^{64, 65}

Vários fatores estão associados com aumento na incidência de onicomicose, incluindo as imunodeficiências.⁷⁹ Entre as imunodeficiências, a síndrome da imunodeficiência adquirida é a mais frequentemente relatada, com elevadas taxas de prevalência,⁸⁰ sugerindo fortemente que a deficiência de células T tem um papel importante na incidência das onicomicoses. Em nosso estudo foi observado que DL e transplante renal também são condições predisponentes: a prevalência de onicomicose nestes pacientes foi de 23,4% e 23,0% respectivamente ambas significativamente maiores quando comparado a um grupo controle pareados por idade e sexo (13,2 %). Este resultado não é surpreendente, visto que tanto diálises bem como transplante renal estão associadas com maior prevalência de onicomicose, pois ambos têm as funções das células T prejudicadas.⁸¹

Poucos são os estudos descritos que avalia prevalência de onicomicose em pacientes renais crônicos. Saray et al.⁷¹ investigaram a prevalência de onicomicose em pacientes DL e RTR. Os autores encontraram prevalência aumentada nos pacientes DL (19,2%), enquanto a prevalência nos pacientes RTR foi baixa (12,7%)

e comparável com um grupo controle constituído por indivíduos saudáveis recrutados a partir de funcionários do hospital (9,1%). No entanto, neste estudo, o grupo DL era constituído de pacientes mais velhos do que os outros dois grupos, o que pode ter contribuído em certa medida para sua maior prevalência.

Alguns autores já relataram que pacientes DL e RTR estão entre os grupos de risco para onicomicose.⁸² No entanto, os dados publicados ainda não permitem concluir se eles agem ou não como condições predisponentes. Os poucos estudos descritos têm mostrado divergências na prevalência de onicomicose em ambos os grupos, com taxas variando amplamente, entre 4,0 - 26,7% e 7,6 - 22%, respectivamente.^{70, 83-86}

Estudos anteriores envolvendo pacientes RTR britânico também mostraram alta prevalência de onicomicose (22%), mas não significativamente maior que um grupo controle (15%), provavelmente devido ao menor número de pacientes avaliados ($n = 72$).⁸⁷ Mais recentemente, Abdelaziz et al.⁷⁰ relataram menor prevalência em pacientes egípcio (7,6%), mas neste caso a prevalência foi significativamente maior que o grupo controle composto por indivíduos saudáveis (2,3%). Em contraste, Gulec et al.⁸⁸ relataram frequência de onicomicose ligeiramente superior em pacientes turcos (12,7%), no entanto, semelhante ao grupo controle saudável (11,4%). A diferença nas taxas de prevalência entre estes dois estudos podem em parte, ser relacionada a diferentes métodos utilizados para o diagnóstico. Enquanto no primeiro foi baseado na cultura, o segundo o diagnóstico foi fornecido pelo exame microscópico direto, com cultura subsequente. De fato, a sensibilidade da cultura é significativamente menor do que o exame microscópico direto e o diagnóstico de onicomicose deve ser considerado quando existe um exame microscópico direto positivo.²⁵ Outros estudos abordaram prevalência de onicomicose em pacientes RTR, mas infelizmente não compararam com um grupo controle.^{89, 90} Em nosso estudo o tempo desde o transplante (tabela

10) e o protocolo de tratamento imunossupressor (tabela 11) não demonstraram associação com a prevalência de onicomicose. Estes resultados corroboram com dois outros estudos descritos anteriormente.^{72, 91}

Em relação a prevalência de onicomicose em pacientes DL, nossos resultados foram conflitantes com estudos anteriores onde baixas taxas de onicomicose foram encontradas em pacientes egípcios (10,4%) e israelenses (4,0%), que eram comparáveis com os respectivos grupos controle constituídos por indivíduos saudáveis.^{83, 92} No entanto, nossos resultados estão de acordo com taxa de (26,6%) encontradas em 109 pacientes turcos.⁹¹ Infelizmente neste estudo não haviam um grupo controle, mas análise revelou que DM e duração da diálise foram fatores de risco para onicomicose. Em nosso estudo, DM foi um fator de risco para onicomicose, mas não duração da diálise. Ainda sobre pacientes DL, dois outros estudos em pacientes indianos e italianos relataram, respectivamente, alta (18,9%) e baixa (6,4%) prevalência, destacando a variabilidade dos dados em estudos com pacientes DL.^{85, 86}

Como já mencionado no presente estudo, DM foi um fator de risco significativo para o aumento na prevalência das onicomicoses nos pacientes DL, mas curiosamente não nos pacientes RTR. Nós verificamos que 38,4% dos pacientes DL com onicomicose eram diabéticos, nos RTR este índice foi de somente 13,1% (tabela 12). A razão para a associação de DM com onicomicose em pacientes DL, mas não em RTR, é intrigante e merece mais estudos. Com relação a presença de onicomicose em pacientes DL com DM, nossos resultados foram comparáveis aos de Kuvandik et al.⁹¹ em que 68,9% dos pacientes DL com onicomicose eram DM. Em relação a prevalência de onicomicose nos pacientes RTR com DM, nossos resultados foram conflitantes com os dados de Bakr et al.⁷² em que 22,3% dos transplantados sem diabetes tinham dermatofitose e/ou onicomicose enquanto nos diabéticos a prevalência foi 46,6%. Alguns estudos têm

revelado que idade e sexo são fatores de risco para onicomicose, com o avançar da idade a prevalência de onicomicose aumenta progressivamente, sendo mais comum em unhas dos pés de homens.^{14, 93} Gupta et al.⁷ demonstrou que onicomicose em unhas dos pés de pacientes DM ocorreu predominante no sexo masculino. De fato, nosso estudo revelou que sexo foi um fator de risco associado à prevalência de onicomicose, no qual detectou onicomicose em 30,4% dos homens e em apenas 16,2% das mulheres nos dois grupos dos pacientes renais crônicos, sendo esta diferença estatisticamente significativa (Tabela – 8). A diferença observado na incidência de onicomicoses entre homens e mulheres pode estar associada a profissões, práticas de esportes ou quanto os indivíduos são incomodados pelas aparências, e portanto, são motivados a procurar tratamento.¹

Com relação a idade, em discordância com os autores acima citados nosso estudo revelou não haver diferenças estatísticas. As razões para essa discordância podem estar relacionadas ao fato que a doença renal atua como o principal fator de risco nesses pacientes.

Poucos estudos em pacientes renais crônicos relatam a etiologia das onicomicose. Abdelaziz et al.⁷⁰ estudou a etiologia das onicomicoses em pacientes RTR egípcios, concluindo que 65% dos casos de onicomicoses foram provocados por dermatófitos e que *T. rubrum* (26,1%) seguido por *T. mentagrophytes* (13%) foram os mais frequentes. O estudo revelou também que leveduras do gênero *Candida* foram responsáveis por 17,4% dos casos de onicomicoses; infelizmente os autores não identificaram as leveduras em nível de espécies. O mesmo ocorreu em nosso estudo em quem onicomicose foi em grande parte devido a dermatófitos (80,3%): *T. rubrum* (57,1%) foi predominante sobre *T. mentagrophytes* (30,6%) e *T. tonsurans* (12,2%). O fato marcante é a predominância de *C. parapsilosis* entre as leveduras respondendo por 18,0% de todos os agentes isolados. Como em nosso estudo, evidências recentes sugerem *C. parapsilosis* como um patógeno

emergente, e esta espécie tornou-se a espécie de *Candida* mais frequente que causam onicomicose em alguns estudos.⁹⁴ Entre todas culturas positivas apenas um único FFND - *Neoscytalidium dimidiatum* (1,6%) foi isolado em nossos pacientes. Este resultado foi semelhante aos mostrado por Hwang et al.⁹⁵ em que FFND foi isolado em (2,3%) dos pacientes com onicomicose, porém, menor que os apresentados por Gupta et al.⁷ em que 9,0% das onicomicose eram causadas por FFND. Essas diferenças podem ser devido aos critérios seguidos por nós para definir FFND como agente de onicomicose. Cabe ressaltar que o perfil etiológico do nosso estudo não é diferentes daqueles descritos nas populações imunocompetentes.¹

Há vários estudos *in vitro* descrevendo a ação dos antifúngicos em espécies de dermatófitos e leveduras do gênero *Candida* isoladas de onicomicose.^{1, 96-101} No entanto estudos investigando a suscetibilidade dessas espécies em pacientes renais crônicos são limitados.¹⁰² Tratamento antifúngico oral representa a terapia de escolha em pacientes portadores de onicomicose. Embora, a utilização destes medicamentos pode resultar em efeitos colaterais indesejáveis que em pacientes com doença renal crônica pode ser particularmente perigoso.^{53, 103}

Irimie et al.¹⁰² revelaram que dermatófitos isolados de onicomicoses e dermatofitoses envolvendo pacientes renais crônicos têm padrões semelhantes de suscetibilidade a fluconazol, itraconazol, voriconazol e terbinafina. Este estudo revelou também que não houve diferença significativa entre os isolados dos pacientes renais com aqueles do grupo controle. Em concordância com o estudo anterior, em nosso estudo as espécies mostraram semelhanças no padrão de suscetibilidade frente aos mesmos antifúngicos. Terbinafina revelou ser o antifúngico mais eficaz em todos os isolados de dermatófitos com MICs ≤ 0.12 $\mu\text{g/mL}$, e fluconazol o menos eficaz com MICs entre 2-16 $\mu\text{g/mL}$. Estes resultado também são similares aos encontrados em outros estudos com indivíduos

imunocompetente e imunocomprometido.^{1, 96, 102} Todos os quatro antifúngicos foram eficaz frente aos isolados de *C. parapsilosis*. Entretanto, voriconazol e itraconazol apresentaram resultados semelhantes e mais eficientes da mesma forma que fluconazol e terbinafina foram menos eficazes com resultados semelhantes. De acordo com os break point estabelecidos pelo CLSI nenhum dos isolados de *C. parapsilosis* foi considerado resistente. Cabe ressaltar também que esses resultados indicam semelhança aos encontrados na população imunocompetente.^{1,}

¹⁰⁴ No entanto novos estudos são necessários para correlacionar atividade antifúngicos *in vitro* com *in vivo*. O tratamento de onicomicose em pacientes renais crônicos pode ser realizado da mesma forma que na população imunocompetente, entretanto, o cuidado na escolha da droga sistêmica deve ser levado em consideração de acordo com o potencial de interações com as drogas utilizadas para tratamento da condição basal. Alguns autores vêm sugerindo que terbinafina deve ser a droga de escolhas para tratar onicomicose em pacientes diabéticos e com doença renal crônica.^{96, 102} De fato, terbinafina por ser a droga mais eficaz *in vitro* frente aos isolados de dermatófitos, assim como a que apresenta menor interação com os imunossupressores usado para prevenir a rejeição do transplante deve ser a droga de melhor escolha para tratar onicomicose em pacientes com doença renal crônica. Entretanto, o conhecimento da etiologia das onicomicose é fundamental para o sucesso terapêutico, pois terbinafina pode não ser a melhor opção quando o agente for levedura do gênero *Candida*.

6.0 CONCLUSÕES

- Este estudo revelou que pacientes DL e RTR têm maior risco de desenvolver onicomicose comparado com pacientes sem histórico de doença associado a imunossupressão.
- A contribuição da diabetes mellitus para o maior risco de onicomicose foi evidenciada nos pacientes DL, porém não nos RTR; a relação entre diálise, transplante renal e diabetes mellitus necessita ser melhor estudada.
- O perfil etiológico encontrado em nossos pacientes DL e RTR foram similares ao descrito na literatura em indivíduos imunocompetentes e imunossuprimidos, predominando dermatófitos seguido de leveduras.
- Todos os quatros fármacos se mostraram eficientes frente aos isolados de dermatófitos e leveduras. No entanto, necessita-se de mais estudos correlacionando suscetibilidade *in vitro* e *in vivo*.

7.0 REFERÊNCIAS

1. Ghannoum M, Hajjeh R, Scher R, Konnikov N, Gupta A, Summerbell R, et al. A large-scale North American study of fungal isolates from nails: the frequency of onychomycosis, fungal distribution, and antifungal susceptibility patterns. *J Am Acad Dermatol*. 2000;43(4):641-8.
2. Hamnerius N, Berglund J, Faergemann J. Pedal dermatophyte infection in psoriasis. *Br J Dermatol*. 2004;150(6):1125-8.
3. Scher RK. Onychomycosis: a significant medical disorder. *J Am Acad Dermatol*. 1996;35(3 Pt 2):S2-5.
4. De Araújo AJG, Bastos OMP, Souza MAJ, De Oliveira JC. Onychomycosis caused by emergent fungi: clinical analysis, diagnosis and revision. *An Bras Dermatol*. 2003;78(4):445-55.
5. Gupta A, Jain H, Lynde C, MacDonald P, Cooper E, Summerbell R. Prevalence and epidemiology of onychomycosis in patients visiting physicians' offices: a multicenter Canadian survey of 15,000 patients. *J Am Acad Dermatol*. 2000;43(2):244-8.
6. Elewski B, Charif M. Prevalence of onychomycosis in patients attending a dermatology clinic in northeastern Ohio for other conditions. *Arch Dermatol*. 1997;133(9):1172-3.
7. Gupta A, Konnikov N, MacDonald P, Rich P, Rodger N, Edmonds M, et al. Prevalence and epidemiology of toenail onychomycosis in diabetic subjects: a multicentre survey. *Br J Dermatol*. 1998;139(4):665-71.
8. Gupta A, Taborda P, Taborda V, Gilmour J, Rachlis A, Salit I, et al. Epidemiology and prevalence of onychomycosis in HIV-positive individuals. *Int J Dermatol*. 2000;39(10):746-53.
9. Sigurgeirsson B, Steingrimsen O. Risk factors associated with onychomycosis. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2004;18(1):48-51.
10. Scher RK, Tavakkol A, Sigurgeirsson B, Hay RJ, Joseph WS, Tosti A, et al. Onychomycosis: diagnosis and definition of cure. *J Am Acad Dermatol*. 2007;56(6):939-44.
11. Guibal F, Baran R, Duhard E, Feuilhade de Chauvin M. Epidemiology and management of onychomycosis in private dermatological practice in France. *Ann Dermatol Venereol*. 2008;135(8-9):561-6.
12. Antifungal drugs. *Treat Guidel Med Lett*. 2009;7(88):95-102; quiz 3-4.
13. Scher RK, Baran R. Onychomycosis in clinical practice: factors contributing to recurrence. *Br J Dermatol*. 2003;149 Suppl 65:5-9.
14. Sigurgeirsson B, Baran R. The prevalence of onychomycosis in the global population - A literature study. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2013.

15. Rich P. Special patient populations: onychomycosis in the diabetic patient. *J Am Acad Dermatol*. 1996;35(3):S10-S2.
16. Gupta A, Humke S. The prevalence and management of onychomycosis in diabetic patients. *Eur J Dermatol*. 2000;10(5):379-84.
17. Bild DE, Selby JV, Sinnock P, Browner WS, Braveman P, Showstack JA. Lower-extremity amputation in people with diabetes. *Epidemiology and prevention*. *Diabetes Care*. 1989;12(1):24-31.
18. Rich P, Hare A. Onychomycosis in a special patient population: focus on the diabetic. *Int J Dermatol*. 1999;38:17-9.
19. Lanternier F, Pathan S, Vincent QB, Liu L, Cypowyj S, Prando C, et al. Deep dermatophytosis and inherited CARD9 deficiency. *N Engl J Med*. 2013;369(18):1704-14.
20. Baran R, Nakamura R. Doenças da unha: do diagnóstico ao tratamento. Rio de Janeiro: Elsevier, 2011.
21. Hay RJ, Baran R. Onychomycosis: a proposed revision of the clinical classification. *J Am Acad Dermatol*. 2011;65(6):1219-27.
22. Carney C, Tosti A, Daniel R, Scher R, Rich P, DeCoster J, et al. A New Classification System for Grading the Severity of Onychomycosis Onychomycosis Severity Index. *Arch Dermatol*. 2011;147(11):1277-82.
23. Weitzman I, Summerbell RC. The dermatophytes. *Clin Microbiol Rev*. 1995;8(2):240-59.
24. Lacaz CS, Porto E, Martins JEC, Heins-Vaccari EM, Mello NT. Tratado de Micologia Médica. 9ª ed. São Paulo: Sarvier; 2002.
25. Summerbell RC. Epidemiology and ecology of onychomycosis. *Dermatology*. 1997;194 Suppl 1:32-6.
26. Aly R. Ecology and epidemiology of dermatophyte infections. *J Am Acad Dermatol*. 1994;31(3 II):S21-S5.
27. Haneke E, Roseeuw D. The scope of onychomycosis: epidemiology and clinical features. *Int J Dermatol*. 1999;38 Suppl 2:7-12.
28. Araújo AJGd, Bastos OMP, Souza MAJ, Oliveira JCd. Occurrence of onychomycosis among patients attended in dermatology offices in the city of Rio de Janeiro, Brazil. *An bras Dermatol*, Rio de Janeiro. 2003;78(3):299-308.
29. Sidrim JJC, Rocha MFG. Micologia Médica à Luz de autores contemporâneos. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2004.
30. Segal R, Kimchi A, Kritzman A, Inbar R, Segal Z. The frequency of *Candida parapsilosis* in onychomycosis. An epidemiological survey in Israel. *Mycoses*. 2000;43(9-10):349-53.

31. López-Jodra O, Torres-Rodríguez JM. Unusual fungal species causing onychomycosis. *Rev Iberoam Micol.* 1999;16(suppl. 1):S11-S5.
32. Souza LKH, Fernandes OFL, Passos XS, Costa CR, Lemos JA, Silva MRR. Epidemiological and mycological data of onychomycosis in Goiania, Brazil. *Mycoses.* 2010;53(1):68-71.
33. Da Silva Pontes ZBV, De Oliveira Lima E, Cavalcante Oliveira NM, Pereira dos Santos JP, Lira Ramos A, Peixoto Carvalho MFF. Onychomycosis in João Pessoa city, Brazil. *Rev Argent Microbiol.* 2002;34(2):95-9.
34. Vander Straten MR, Balkis MM, Ghannoum MA. The role of nondermatophyte molds in onychomycosis: Diagnosis and treatment. *Dermatologic Therapy.* 2002;15(2):89-98.
35. Gupta AK, Drummond-Main C, Cooper EA, Brintnell W, Piraccini BM, Tosti A. Systematic review of nondermatophyte mold onychomycosis: diagnosis, clinical types, epidemiology, and treatment. *J Am Acad Dermatol.* 2012;66(3):494-502.
36. Tosti A, Piraccini BM, Lorenzi S. Onychomycosis caused by nondermatophytic molds: clinical features and response to treatment of 59 cases. *J Am Acad Dermatol.* 2000;42(2 Pt 1):217-24.
37. Oycka CA, Gugnani HC. Keratin degradation by *Scytalidium* species and *Fusarium solani*. *Mycoses.* 1998;41(1-2):73-6.
38. Arrese J, PierardFranchimont C, Pierard G. Fatal hyalohyphomycosis following *Fusarium* onychomycosis in an immunocompromised patient. *Am J Dermatopathol.* 1996;18(2):196-8.
39. Roberts DT, Taylor WD, Boyle J. Guidelines for treatment of onychomycosis. *Br J Dermatol.* 2003;148(3):402-10.
40. Nijenhuis-Rosien L, Kleefstra N, Wolfhagen MJ, Groenier KH, Bilo HJG, Landman GWD. Laser therapy for onychomycosis in patients with diabetes at risk for foot complications: study protocol for a randomized, double-blind, controlled trial (LASER-1). *Trials.* 2015;16:5.
41. Wanitphakdeedecha R, Thanomkitti K, Bunyaratavej S, Manuskiatti W. Efficacy and safety of 1064-nm Nd:YAG laser in treatment of onychomycosis. *J Dermatolog Treat.* 2016;27(1):75-9.
42. Piraccini BM, Sisti A, Tosti A. Piraccini B M, Sisti A, Tosti A. Long-term follow-up of toenail onychomycosis caused by dermatophytes after successful treatment with systemic antifungal agents. *J Am Acad Dermatol* 2010;62:411-
43. Kaur R, Kashyap B, Bhalla P. Onychomycosis epidemiology, diagnosis and management. *Indian J Med Microbiol.* 2008;26(2):108-16.
44. Lecha M, Effendy I, de Chauvin MF, Di Chiacchio N, Baran R. Treatment options development of consensus guidelines. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2005;19:25-33.

45. Hay RJ, Mackie RM, Clayton YM. Tioconazole nail solution an open study of its efficacy in onychomycosis. *Clin Exp Dermatol*. 1985;10(2):111-5.
46. Baran R, Kaoukhov A. Topical antifungal drugs for the treatment of onychomycosis: an overview of current strategies for monotherapy and combination therapy. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2005;19(1):21-9.
47. Lauharanta J. Comparative efficacy and safety of amorolfine nail lacquer 2-percent versus 5-percent once weekly. *Clin Exp Dermatol*. 1992;17:41-3.
48. Shemer A. Update: medical treatment of onychomycosis. *Dermatol Ther*. 2012;25(6):582-93.
49. Albengres E, Le Louet H, Tillement JP. Systemic antifungal agents drug interactions of clinical significance. *Drug Saf*. 1998;18(2):83-97.
50. Westerberg DP, Voyack MJ. Onychomycosis: current trends in diagnosis and treatment. *Am Fam Physician*. 2013;88(11):762-70.
51. Back DJ, Tjia JF, Abel SM. Azoles, allylamines and drug-metabolism. *Br J Dermatol*. 1992;126:14-8.
52. Katayama M, Igarashi H, Tani K, Nezu Y, Harada Y, Yogo T, et al. Effect of multiple oral dosing of fluconazole on the pharmacokinetics of cyclosporine in healthy beagles. *J Vet Med Sci*. 2008;70(1):85-8.
53. Romero AJ, Le Pogamp P, Nilsson LG, Wood N. Effect of voriconazole on the pharmacokinetics of cyclosporine in renal transplant patients. *Clin Pharmacol Ther*. 2002;71(4):226-34.
54. Ryder NS. Terbinafine - mode of action and properties of the squalene epoxidase inhibition. *Br J Dermatol*. 1992;126:2-7.
55. Vassalotti JA, Stevens LA, Levey AS. Testing for chronic kidney disease: a position statement from the national kidney foundation. *Am J Kidney Dis*. 2007;50(2):169-80.
56. Stevens LA, Levey AS. Current Status and Future Perspectives for CKD Testing. *Am J Kidney Dis*. 2009;53(3):S17-S26.
57. Parmar MS. Chronic renal disease. *BMJ*. 2002;325(7355):85-90.
58. Jha V, Garcia-Garcia G, Iseki K. Chronic kidney disease: global dimension and perspectives (vol 382, pg 260, 2013). *Lancet*. 2013;382(9888):208.
59. Ayodele OE, Alebiosu CO. Burden of Chronic Kidney Disease: an International perspective. *Adv Chronic Kidney Dis*. 2010;17(3):215-24.
60. SBN. Sociedade Brasileira de nefrologia. (Censo 2013); 2014. Available from: www.censo-sbn.org.br.
61. Junior JER. Doença Renal Crônica: definição, Epidemiologia e classificação J Bras Nefrol. 2004;26:1-3.

62. Unruh ML, Hartunian MG, Chapman MM, Jaber BL. Sleep quality and clinical correlates in patients on maintenance dialysis. *Clin Nephrol*. 2003;59(4):280-8.
63. Cruz J, Cruz HMM, Kirsztajn GM, Barros RT. *Atualidades em Nefrologia*. Sarvier; 2012; 204-07.
64. Patel R, Paya CV. Infections in solid-organ transplant recipients. *Clin Microbiol Rev*. 1997;10(1):86.
65. Fishman JA. Medical progress: Infection in solid-organ transplant recipients. *N Engl J Med*. 2007;357(25):2601-14.
66. ABTO. Associação Brasileira de Transplantes de Órgãos. RBT-registro brasileiro de transplantes; 2014. Available from: www.abto.org.br.
67. Eswarappa M, Varma PV, Madhyastha R, Reddy S, Gireesh MS, Gurudev KC, et al. Unusual fungal infections in renal transplant recipients. *Case Rep Transplant*. 2015;2015:292307.
68. Alangaden GJ, Thyagarajan R, Gruber SA, Morawski K, Garnick J, El-Amm JM, et al. Infectious complications after kidney transplantation: current epidemiology and associated risk factors. *Clin Transplant*. 2006;20(4):401-9.
69. Imko-Walczyk BB, Preodota A, Okuniewska A, Jaskiewicz J, Zegarska B, Placek W, et al. Superficial fungal Infections in renal transplant recipients. *Transplant Proc*. 2014;46(8):2738-42.
70. Abdelaziz AM, Mahmoud KM, Elsayy EM, Bakr MA. Nail changes in kidney transplant recipients. *Nephrol Dial Transplant*. 2010;25(1):274-7.
71. Saray Y, Seckin D, Gulec T, Akgun S, Haberal M. Nail disorders in hemodialysis patients and renal transplant recipients: a case-control study. *J Am Acad Dermatol*. 2004;50(2):197-202.
72. Bakr NI, El-Sawy E, Hamdy AF, Bakr MA. Skin infections in Egyptian renal transplant recipients. *Transpl Infect Dis*. 2011;13(2):131-5.
73. Garinet S, Tourret J, Barete S, Arzouk N, Meyer I, Frances C, et al. Invasive cutaneous *Neoscytalidium* infections in renal transplant recipients: a series of five cases. *Bmc Infect Dis*. 2015;15.
74. Van Burik J, Schreckhise R, White T, Bowden R, Myerson D. Comparison of six extraction techniques for isolation of DNA from filamentous fungi. *Med Mycol*. 1998;36(5):299-303.
75. Luo G, Mitchell T. Rapid identification of pathogenic fungi directly from cultures by using multiplex PCR. *J Clin Microbiol*. 2002;40(8):2860-5.
76. CLSI. Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Filamentous Fungi; Approved Standard - Second Edition. CLSI document M38-A2. Wayne, PA: Clinical Laboratory Standards Institute; 2008.

77. CLSI. Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts; Fourth informational supplement. CLSI document M27-S4. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2012.
78. Vaziri ND, Pahl MV, Crum A, Norris K. Effect of uremia on structure and function of immune system. *J Ren Nutr.* 2012;22(1):149-56.
79. Tosti A, Hay R, Arenas-Guzman R. Patients at risk of onychomycosis: risk factor identification and active prevention. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2005;19:13-6.
80. Gupta AK, Taborda P, Taborda V, Gilmour J, Rachlis A, Salit I, et al. Epidemiology and prevalence of onychomycosis in HIV-positive individuals. *Int J Dermatol.* 2000;39(10):746-53.
81. Betjes MG. Immune cell dysfunction and inflammation in end-stage renal disease. *Nat Rev Nephrol.* 2013;9(5):255-65.
82. Gupta AK, Daigle D, Foley KA. The prevalence of culture-confirmed toenail onychomycosis in at-risk patient populations. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2015;29(6):1039-44.
83. Dyachenko P, Monselise A, Shustak A, Ziv M, Rozenman D. Nail disorders in patients with chronic renal failure and undergoing haemodialysis treatment: a case-control study. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2007;21(3):340-4.
84. Virgili A, Zampino MR, La Malfa V, Strumia R, Bedani PL. Prevalence of superficial dermatomycoses in 73 renal transplant recipients. *Dermatology.* 1999;199(1):31-4.
85. Kolla PK, Desai M, Pathapati RM, Mastan Valli B, Pentyala S, Madhusudhan Reddy G, et al. Cutaneous manifestations in patients with chronic kidney disease on maintenance hemodialysis. *ISRN Dermatol.* 2012;2012:679619.
86. Bencini PL, Montagnino G, Citterio A, Graziani G, Crosti C, Ponticelli C. Cutaneous abnormalities in uremic patients. *Nephron.* 1985;40(3):316-21.
87. Shuttleworth D, Philpot CM, Salaman JR. Cutaneous fungal infection following renal transplantation: a case control study. *Br J Dermatol.* 1987;117(5):585-90.
88. Gulec A, Demirbilek M, Seckin D, Can F, Saray Y, Sarifakioglu E, et al. Superficial fungal infections in 102 renal transplant recipients: a case-control study. *J Am Acad Dermatol.* 2003;49(2):187-92.
89. Kopsa H, Zazgornik J, Schmidt P, Pils P, Thurner J. [Long-term observation of fungal and other skin disorders after renal transplantation (author's transl)]. *Med Klin.* 1977;72(36):1447-50.
90. Polat E, Demir E, Ilkit M, Aridogan IA, Polat F, Erken U. Dermatomycosis in renal transplant recipients in Adana, Turkey. *Int J Dermatol.* 2008;47(9):971-2.

91. Kuvandik G, Cetin M, Genctoy G, Horoz M, Duru M, Akcali C, et al. The prevalence, epidemiology and risk factors for onychomycosis in hemodialysis patients. *Bmc Infect Dis.* 2007;7.
92. Salem A, Al Mokadem S, Attwa E, Abd El Raoof S, Ebrahim HM, Faheem KT. Nail changes in chronic renal failure patients under haemodialysis. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2008;22(11):1326-31.
93. Kaur R, Kashyap B, Makkar R. Evaluation of clinicomycological aspects of onychomycosis. *Indian J Dermatol.* 2008;53(4):174-8.
94. Fich F, Abarzúa-Araya A, Pérez M, Nauhm Y, León E. *Candida parapsilosis* and *Candida guilliermondii*: emerging pathogens in nail candidiasis. *Indian J Dermatol.* 2014;59(1):24-9.
95. Hwang SM, Suh MK, Ha GY. Onychomycosis Due to Nondermatophytic Molds. *Ann Dermatol.* 2012;24(2):175-80.
96. Ozcan D, Seckin D, Demirbilek M. In vitro antifungal susceptibility of dermatophyte strains causing tinea pedis and onychomycosis in patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus: a case-control study. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2010;24(12):1442-6.
97. Carrillo-Munoz AJ, Giusiano G, Guarro J, Quindos G, Guardia C, Del Valle O, et al. In vitro activity of voriconazole against dermatophytes, *Scopulariopsis brevicaulis* and other opportunistic fungi as agents of onychomycosis. *Int J Antimicrob Agents.* 2007;30(2):157-61.
98. Carrillo-Munoz A-J, Giusiano G, Cardenes D, Hernandez-Molina J-M, Eraso E, Quindos G, et al. Terbinafine susceptibility patterns for onychomycosis-causative dermatophytes and *Scopulariopsis brevicaulis*. *Int J Antimicrob Agents.* 2008;31(6):540-3.
99. Sarifakioglu E, Seckin D, Demirbilek M, Can F. In vitro antifungal susceptibility patterns of dermatophyte strains causing tinea unguium. *Clin Exp Dermatol.* 2007;32(6):675-9.
100. Manzano-Gayosso P, Javier Mendez-Tovar L, Arenas R, Hernandez-Hernandez F, Millan-Chiu B, Torres-Rodriguez JM, et al. Onychomycosis-causing yeasts in four Mexican dermatology centers and their antifungal susceptibility to azolic compounds. *Rev Iberoam Micol.* 2011;28(1):32-5.
101. Bueno JG, Martinez C, Zapata B, Sanclemente G, Gallego M, Mesa AC. In vitro activity of fluconazole, itraconazole, voriconazole and terbinafine against fungi causing onychomycosis. *Clin Exp Dermatol.* 2010;35(6):658-63.
102. Irimie M, Tataru A, Oanta A, Moga M. In vitro susceptibility of dermatophytes isolated from patients with end-stage renal disease: a case-control study. *Mycoses.* 2014;57(3):129-34.
103. Peyton LR, Gallagher S, Hashemzadeh M. Triazole antifungals: a review. *Drugs of Today.* 2015;51(12):705-18.

104. Ataides FS, Chaul MH, El Essal FE, Costa CR, Souza LKH, Fernandes OFL, et al. Antifungal susceptibility patterns of yeasts and filamentous fungi isolated from nail infection. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2012;26(12):1479-85.

ANEXO A – Termo de consentimento livre e esclarecido

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
LABORATÓRIO DE MICOLOGIA MÉDICA DO INSTITUTO DE
MEDICINA TROPICAL DE SÃO PAULO

I - IDENTIFICAÇÃO DO SUJEITO DA PESQUISA OU ESPONSÁVEL LEGAL

1. NOME DO PACIENTE:.....

DOCUMENTO DE IDENTIDADE Nº: SEXO: M ☐ F ☐

DATA DE NASCIMENTO:/...../.....

ENDEREÇO..... Nº APTO:

BAIRRO:.....CIDADE

CEP:.....TELEFONE:

2. RESPONSÁVEL LEGAL

ATUREZA (grau de parentesco, tutor, curador etc.)

DOCUMENTO DE IDENTIDADE:.....SEXO: M ☐ F ☐

DATA DE NASCIMENTO:/...../.....

ENDEREÇO:Nº.....APTO:.....

BAIRRO: CIDADE:

CEP:.....TELEFONE: DDD (.....)

II - DADOS SOBRE A PESQUISA CIENTÍFICA**1. TÍTULO DO PROTOCOLO DE PESQUISA**

“Onicomycose em pacientes dialíticos e transplantados renais: prevalência, etiologia e perfil de suscetibilidade a antifúngicos em pacientes atendidos no Hospital das clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo”

2. PESQUISADOR:

Prof. Dr Gil Benard CRM Nº 48049

CARGO/FUNÇÃO: Responsável pelo Laboratório de Micologia Médica, LIM - 53
 HC-FMUSP. UNIDADE DO HC-FMUSP: Departamento de Dermatologia

3. AVALIAÇÃO DO RISCO DA PESQUISA:

SEM RISCO ☐ RISCO MÍNIMO x RISCO MÉDIO ☐

RISCO BAIXO ☐ RISCO MAIOR ☐

(Probabilidade de que o indivíduo sofra algum dano como consequência imediata ou tardia do estudo).

4. DURAÇÃO DA PESQUISA: 24 meses.

III - REGISTRO DAS EXPLICAÇÕES DO PESQUISADOR AO PACIENTE OU SEU REPRESENTANTE LEGAL SOBRE A PESQUISA CONSIGNANDO:

1. Justificativa e os objetivos da pesquisa

Você está sendo convidado a participar de uma pesquisa clínica, que tem como objetivo o estudo de lesões dermatológicas causadas por fungos. Participando, você estará contribuindo para o avanço nos estudos de identificação de agentes de infecções dermatológicas causadas por fungos em pacientes dialíticos e transplantados renais.

Antes de tomar uma decisão é importante que você compreenda porque esta pesquisa clínica está sendo realizada e o que ela envolverá. Por favor, leia com atenção este documento, faça as perguntas que desejar e pense bem antes de concordar.

Sinta-se à vontade para perguntar sobre quaisquer dúvidas ou para pedir maiores informações ao seu médico antes de tomar uma decisão sobre sua participação. Se, após a leitura destas informações, você não concordar em participar da pesquisa, não haverá qualquer prejuízo.

Se você escolher participar, você poderá retirar seu consentimento a qualquer momento e você deixará de participar do estudo, sem que haja qualquer prejuízo, devendo apenas informar ao médico responsável o motivo que o levou a se retirar do estudo.

O objetivo deste estudo é obter dados clínicos e epidemiológicos das infecções acometidas em pacientes em diálise e transplantados renais.

2. Procedimentos que serão utilizados e propósitos, incluindo a identificação dos procedimentos que são experimentais.

Se você decidir participar e assinar este Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, você responderá a um questionário sobre sua doença e, após será submetido à coleta do material através de raspagem da unha ou pele.

3. Desconfortos e riscos esperados.

A coleta do material será realizada superficialmente onde não há a possibilidade de dor ou desconforto algum.

4. Benefícios que poderão ser obtidos.

A partir dos resultados obtidos o médico poderá analisar a possibilidade de instituir uma terapêutica adequada.

IV - ESCLARECIMENTOS DADOS PELO PESQUISADOR SOBRE GARANTIAS DO SUJEITO DA PESQUISA CONSIGNANDO:

1. Acesso, a qualquer tempo, às informações sobre procedimentos, riscos e benefícios relacionados à pesquisa, inclusive para dirimir eventuais dúvidas.

Você tem o direito de questionar o médico responsável pelo acompanhamento de seu caso a qualquer momento, no sentido de esclarecer todas as dúvidas decorrentes do estudo em questão, sejam elas relacionadas com os riscos, benefícios ou quaisquer outros assuntos ligados a este estudo e com o tratamento da doença que o afete. Se você tiver dúvidas sobre seus direitos e deveres durante a participação no estudo, você deve esclarecê-los com o seu médico.

2. Liberdade de retirar seu consentimento a qualquer momento e de deixar de participar do estudo, sem que isto traga prejuízo à continuidade da assistência.

Você poderá retirar seu consentimento, a qualquer momento e deixar de participar do estudo, sem que haja qualquer prejuízo, devendo apenas informar ao médico responsável o motivo que o levou a abandonar o estudo, para que esta informação conste na avaliação global dos resultados obtidos com todos os pacientes.

3. Salvaguarda da confidencialidade, sigilo e privacidade.

Em hipótese alguma você terá sua identidade divulgada para outras pessoas ou entidades, além daquelas que participam efetivamente do acompanhamento deste estudo. Estarão, também, mantidas em sigilo todas as informações obtidas e que estejam relacionadas com a sua privacidade e não será possível sua identificação através de fotografias.

V - Autorização específica para fotografar a lesão de pele e/ou unha.

☐ Sim ☐ Não

VI - OBSERVAÇÕES COMPLEMENTARES:

VII - CONSENTIMENTO PÓS-ESCLARECIDO

Declaro que, após convenientemente esclarecido pelo pesquisador e ter entendido o que me foi explicado, consinto em participar do presente Protocolo de Pesquisa.

São Paulo, _____ de _____ 20____

Assinatura do sujeito da pesquisa ou responsável legal

Assinatura do pesquisador
Prof. Dr. Gil Benard

ANEXO B – Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa HC-FMUSP.

Hospital das Clínicas da FMUSP
Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa
CAPPesq

Nº Protocolo: 0887/11

Título: AVALIAÇÃO E ESTUDO DA PREVALÊNCIA DAS ONICOMICOSSES EM PACIENTES PORTADORES DE INSUFICIÊNCIA RENAL CRÔNICA, DIALÍTICOS E TRANSPLANTADOS RENAIIS ATENDIDOS NO HC-FMUSP

Pesquisador Responsável: Gil Benard

Pesquisador Executante: Cleiton Alves

Co-autores: Paulo Ricardo Criado, Carlucci Gualberto, Ricardo Spina Nunes, Roseli Santos de Freitas, Raquel Maria de Carvalho

Finalidade Acadêmica: Mestrado

Departamento: DERMATOLOGIA

A Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa – CAPPesq da Diretoria Clínica do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, **APROVOU / TOMOU CIÊNCIA** na sessão datada de 01/02/2012, o protocolo acima.

A CAPPesq em obediência à Resolução CNS 196/96, solicita ao pesquisador (a) a elaboração de relatório parcial e final.

No caso de relatório parcial é necessário informar o tempo previsto para a conclusão do protocolo e breve resumo dos resultados obtidos.

CAPPesq, 06 de Fevereiro de 2012

PROF. DR. LUIZ EUGÊNIO GARCEZ LEME
Coordenador
Comissão de Ética para Análise de
Projetos de Pesquisa - CAPPesq

Hospital das Clínicas da FMUSP
Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa
CAPPesq

Nº Protocolo: 0887/11

Título: AVALIAÇÃO E ESTUDO DA PREVALÊNCIA DAS ONICOMICOSSES EM PACIENTES PORTADORES DE INSUFICIÊNCIA RENAL CRÔNICA, DIALÍTICOS E TRANSPLANTADOS RENAIIS ATENDIDOS NO HC-FMUSP

Pesquisador Responsável: Gil Benard

Pesquisador Executante: Cleiton Alves

Finalidade Acadêmica: Mestrado

Departamento: DERMATOLOGIA

O Coordenador da Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa – CAPPesq da Diretoria Clínica do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, **APROVOU / TOMOU CIÊNCIA ad referendum** em 19/12/2012, do(s) documento(s) abaixo mencionado(s):

•Carta datada de 07.12.12 - Solicitação de alteração de pesquisador executante para Antônio Marques dos Santos Filho

A CAPPesq em obediência à Resolução CNS 196/96, solicita ao pesquisador (a) s elaboração de relatório parcial e final.

No caso de relatório parcial é necessário informar o tempo previsto para a conclusão do protocolo e breve resumo dos resultados obtidos.

CAPPesq, 19 de Dezembro de 2012

PROF. DR. LUIZ EUGÊNIO GARCEZ LEME
 Coordenador
 Comissão de Ética para Análise de
 Projetos de Pesquisa - CAPPesq

ANEXO C – Questionário padronizado para o estudo.

LABORATÓRIO DE MICOLOGIA MÉDICA DO INSTITUTO DE MEDICINA TROPICAL: PROTOCOLO CLÍNICO			
Protocolo Nº	Data da entrada:	Registro:	
Nome:		Sexo: M ☐ F ☐	
Idade:	Raça: branca ☐ preta ☐ amarela ☐ parda ☐ indígena ☐ ignorado ☐		
Data de nascimento:	Ocupação:		
Telefones Res.	Com.	Cel.	
Dados de residência			
Endereço:			Nº
Complemento (apto., casa, ...)		Zona: ☐ urbana ☐ Rural	
Bairro:	Município:	CEP:	País:
História Médica / Ano do Diagnóstico			
☐ Diabetes Mellitus tipo 1 ☐ tipo 2 ☐		☐ Hepatite B ☐ C ☐	
☐ Hipertensão arterial		☐ Doença autoimune	
☐ Doença hematológica		☐ Cirurgia	
☐ Transplante		☐ Hemodiálise	
☐ HIV		☐ Outros	
Medicações Sistêmicas / Início e Tempo de Uso			
Medicação	Nome do Medicamento	Início	Tempo de uso
☐ Imunossupressores			
☐ Corticoides			
☐ Antifúngicos			
☐ Antibióticos			
☐ Antidiabéticos			
☐ Antidepressivos			
☐ Diuréticos			
☐ Reposição hormonal			
☐ Outro			
☐ Nenhum			
Onicomicose surgiu ☐ antes ou ☐ depois do uso do medicamento?			
Fatores de Risco e Início do tratamento			
☐ Transplante renal	Data / /		
☐ Hemodiálise	Data / /		
☐ Insuficiência renal crônica	Data / /		
☐ Quimioterapia (Câncer)	Data / /		
☐ Outros	Data / /		
Onicomicose surgiu ☐ antes ou ☐ depois do fator de risco?			

Hábitos							
Etilismo sim ☐ não ☐ Já ingeriu bebidas alcoólicas?			Sim ☐ Não ☐ Quando parou?				
Tabagismo sim ☐ não ☐ Já fumou? Sim ☐ Não ☐			Quando parou?				
Apresentação Clínica			Início dos Sintomas (anos)				
☐ Onicomicose subungueal distal e lateral (OSDL)			≤ 5	> 5	>10	>15	>20
☐ Onicomicose superficial branca (OSB)			≤ 5	> 5	>10	>15	>20
☐ Onicomicose distrófica total (ODT)			≤ 5	>5	>10	>15	>20
☐ Onicomicose subungueal proximal (OSP)			≤ 5	>5	>10	>15	>20
☐ Outra			≤ 5	>5	>10	>15	>20
Unhas dos pés acometidas							
Direito				Esquerdo

Fotos das lesões: sim ☐ não ☐							
Além da onicomicose há lesões em outras superfícies? ☐ Sim ☐ Não Qual?							
Mucosa genital: Não ☐ Sim ☐ : Localização _____ tipo/cor _____							
Pele: Não ☐ Sim ☐ : Localização _____ tipo/cor _____							
Couro cabeludo: Não ☐ Sim ☐ : Localização _____ tipo/cor _____							
Unhas das mãos: Não ☐ Sim ☐ : Localização _____ tipo/cor _____							
Tratamento							
Realizado ☐ Não Realizado ☐				Início do tratamento:			
Se não realizado Qual motivo?				Abandono ☐ recusa ☐ não se aplica ☐			
Se Realizado Qual?				Medicação Tópica ☐ Medicação Sistêmica ☐			
Qual o nome do Medicamento Utilizado?							
Dados Laboratoriais							
Coletas	Exame direto (data)			Cultura (data)			
☐ 1º	☐ Pos. ☐ Neg.			☐ Pos. ☐ Neg.			
☐ 2º	☐ Pos. ☐ Neg.			☐ Pos. ☐ Neg.			
☐ 3º	☐ Pos. ☐ Neg.			☐ Pos. ☐ Neg.			
Métodos de identificação da Espécie							
☐ Fenotípicos		Identificação específica:					
☐ Molecular		Identificação específica:					