

**DERMATOFITOSE EXPERIMENTAL: UM ESTUDO COMPARATIVO ENTRE
CAMUNDONGOS DIABÉTICO-INDUZIDOS E UM GRUPO CONTROLE LIVRE DESTA
CONDIÇÃO.**

**EXPERIMENTAL DERMATOPHYTOSIS: A COMPARATIVE STUDY BETWEEN
DIABETIC-INDUCED MICE AND HEALTHY CONTROL GROUP**

Anuska Marcelino Alvares, Maria Sueli Parreira de Arruda.

**Laboratório de Imunopatologia Experimental - Departamento de Ciências Biológicas
UNESP – Bauru**

Resumo

Embora, para alguns autores, certas características dos pacientes diabéticos, como a alta taxa de glicose e a diminuição da circulação sanguínea nas extremidades, possam torná-los mais suscetíveis às infecções por dermatófitos, há controvérsias sobre a maior incidência do envolvimento fúngico nos pés diabéticos. No presente estudo, investigamos essa assertiva em camundongos suíços diabético-induzidos pela administração de aloxana, uma droga que destrói as ilhotas de Langerhans do pâncreas impedindo que este execute suas funções endócrinas. Para tanto, 42 camundongos suíços diabéticos-induzidos e 42 controles inoculados com 10^7 *Trichophyton mentagrophytes* via coxim plantar foram avaliados quanto à instalação e disseminação fúngica e quanto ao desenvolvimento da resposta imune específica através do teste do coxim plantar (TCP), no período compreendido entre 6h e 30 dias. Pudemos verificar que o diabetes não afetou a evolução da infecção, uma vez que, em ambos os grupos, com o passar do tempo, houve um decréscimo significativo no número de animais infectados e na quantidade de fungos presente nos órgãos internos. Entretanto, aos 30 dias somente animais diabéticos ainda exibiam disseminação. Do mesmo modo, em todos os períodos avaliados, animais diabético-induzidos exibiram sempre uma maior frequência de animais infectados e um quadro mais expressivo de disseminação fúngica que os animais controles. Contudo, somente às 48h, esta alteração foi estatisticamente significativa e este parâmetro estava diretamente associado aos níveis de glicose sanguínea dos animais (Fisher's test - $P < 0,05$ e $r > 0,7$). Verificamos ainda, que animais dos dois grupos mostraram-se reatores aos antígenos de dermatófitos aos 15 e 30 dias da infecção; contudo, daqueles avaliados aos 30 dias, 50% dos diabético-induzidos não responderam ao mesmo ($P < 0,05$). Em conjunto, nossos resultados indicam que camundongos diabéticos são mais suscetíveis às dermatofitoses sistêmicas que camundongos não-diabéticos. A permanência fúngica nos órgãos

internos pode ainda representar uma fonte constante de microrganismos, favorecendo a recorrência da infecção. Assim, seria prudente maior atenção e/ou tratamento antifúngico nestes pacientes, de modo a prevenir complicações posteriores.

Palavras-chaves: dermatofitoses, diabetes mellitus, *Trichophyton mentagrophytes*.

Abstract

Even though, for some authors, characteristics of diabetic patients as the hyperglycemia and the decrease of blood peripheral circulation can become those patients more susceptible to dermatophytosis infections, this subject is still contradictory towards the higher incidence level of fungal involvement of feet diabetics as compared to healthy individuals. In the present study, we try to check this assertive out in diabetic-induced Swiss mice by the intravenous injection of alloxan, a drug that acts on the insulin producing pancreatic beta cell and selectively kills these cells. In present study, 42 diabetic-induced Swiss mice and 42 controls were inoculated with 10^7 *Trichophyton mentagrophytes* via footpad, and they were analyzed by the fungi installation and dissemination in a period of time corresponding to 6 hours to 30 days. Afterwards, it was examined the development of specific immune response by Footpad Test. It was that diabetics condition does not favor the evolution of fungi infections, because in the two groups, along the time, one significant decrease was observed in the number of infected animals and in the amount of fungal present in the internal organs. However, by the 30th day it was observed that only diabetic-induced animals showed fungi dissemination. In the same way, in the whole investigated period of time animals diabetic-induced showed always a higher frequency of infected animals than the control group. Furthermore, only in the analysis performed after 48 hours these alterations were significant. It was also found that both groups showed positive dermatophyte antigen reaction by the 15th and 30th day of infection, however by the 30th day 50% of induced-diabetic mice did not answer to the antigen. Our results indicated that diabetic-induced mice are more susceptible to systemic dermatophytosis than the normal one. Moreover, our findings suggest that the fungi persistence in the internal organ may represent one constant source of microorganisms, favoring the recurrence of infection. Thus, it will be cautious to begin antifungal treatment in order to prevent this complication of feet diabetics.

Keywords: dermatophytosis, diabetes mellitus, *Trichophyton mentagrophytes*.

INTRODUÇÃO

As dermatofitoses são micoses superficiais cutâneas, determinadas pela colonização dos tecidos queratinizados (pele, pêlos e unhas) por dermatófitos. (Hainer, 2003). Foram descritos três gêneros destes fungos anamorfos (imperfeitos ou com reprodução assexuada), todos semelhantes em sua morfofisiologia, imunologia e taxonomia: *Microsporum*, *Epidermophyton* e *Trichophyton* (*T*) (Chinelli et al.2003) este último é um agente etiológico bastante comum das dermatofitoses humanas.

Embora na maioria das vezes as dermatofitoses limitem-se a produzir infecções nas camadas superficiais da pele ou em seus anexos, em estudo piloto, verificamos que a introdução de dermatófitos via subcutânea levava à disseminação da infecção. Essa condição, pouco descrita na literatura experimental, também pode ser observada em humanos (Seckin, 2004; Parkhomenko, 2001) e tem sido responsabilizada pela dermatofitose crônica recorrente.

Conquanto os mecanismos envolvidos nos processos de infecção e de cura permaneçam ainda pouco conhecidos e alguns estudos apontem a participação importante da resposta imune no controle dessa infecção, pacientes com dermatofitoses, mesmo aqueles com infecções severas, muitas vezes exibem reatividade cutânea a tricofitina (Zrimsek et al., 1999), ou seja, a doença evolui mesmo na presença de hipersensibilidade do tipo tardio. Do mesmo modo, embora a presença de anticorpos séricos específicos para o fungo tenha sido demonstrada tanto em pacientes como em animais de experimentação (Zrimsek et al, 2003; Hamouda et al, 1993), existe consenso entre os investigadores que a imunidade humoral tem um pequeno papel na resistência a estas infecções.

Assim, à semelhança de outras micoses, outros fatores parecem estar envolvidos na evolução das dermatofitoses. Um dos fatores que têm sido alvo de estudos recentes é a presença de diabetes. Segundo Joseph e Tan (2004), a alta taxa de glicose contida no sangue servindo como alimento para o fungo, aliada à menor circulação sanguínea nas extremidades como as mãos e pés, faz com que os pacientes diabéticos se tornem mais suscetíveis a essas infecções. Contudo, os estudos sobre a prevalência dessa condição em diabéticos têm mostrado resultados conflitantes. Para alguns autores, como Rhodes (1968) e Alteras et al (1979) e, mais recentemente, Mayser et al , (2004), há uma maior incidência destes fungos nos pés de pacientes diabéticos do que na população livre dessa condição; já para Garcia-Humbria et al (2005), Mlinaric-Missoni (2005) e outros (Fusaro e Goetz; 1971; Somerville e Lacaster, 1973; Romano, 2001), a maior incidência de infecção dermatofítica em diabéticos não é estatisticamente significativa em relação aos indivíduos livres do fungo.

Visando obter dados que auxiliem a melhor compreensão desse fenômeno é nosso objetivo investigar a influência do diabetes na susceptibilidade de camundongos suíços à infecção por *Trichophyton mentagrophytes*, através da pesquisa de fungos no local do inóculo e órgãos internos, além

da identificação da produção de anticorpos por imunodifusão radial dupla e do desenvolvimento da hipersensibilidade tardia, através do teste do coxim plantar.

MATERIAIS E MÉTODOS

Foram utilizados 84 camundongos Suíços, machos, com 45 dias de idade, provenientes do Biotério Central de Botucatu- UNESP; destes, 42 foram submetidos à indução do diabetes, caracterizando o grupo diabético-induzido (DI) e 42 permaneceram livres dessa patologia, caracterizando o grupo Controle (GC). Ambos os grupos foram inoculados com o fungo.

Os camundongos do grupo DI permaneceram isentos de água por 24 horas antes da indução. O diabetes foi induzido pela injeção de Aloxa na veia caudal, numa concentração de 75 mg/ kg nos períodos iniciais (Li-Ping Wu et al., adaptado) e 65 mg/Kg nos períodos mais tardios (Huang, F; Wu, W, 2005). Após este procedimento, os animais foram tratados com glicose a 5% durante 24 horas. O nível de glicose no sangue (bgl) foi determinado após 2 dias. Animais com bgl acima de 200 mg/dl foram considerados diabéticos (KOREG, 1991).

Tanto nos animais diabético-induzidos como nos livres dessa patologia foram inoculados 10^7 *Trichophyton mentagrophytes* viáveis no coxim plantar direito. Lotes de 7 camundongos de cada grupo foram avaliados às 6, 24 e 48 horas e aos 7, 15 e 30 dias após a inoculação do fungo.

Os animais foram eutanisados por inalação com éter sulfúrico. Foram coletados, com material cirúrgico estéril, o coxim plantar inoculado, fígado, baço e rins para análise microbiológica através do cultivo de fragmentos e o coxim plantar esquerdo, daqueles avaliados nos períodos tardios, para avaliação histológica do TCP. Foi ainda coletado o sangue dos animais por punção cardíaca, o soro obtido foi estocado a -20°C e avaliado imunologicamente.

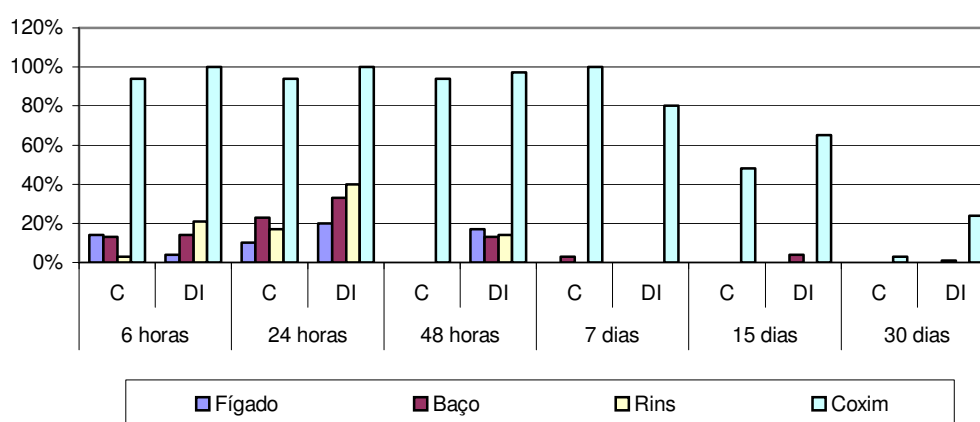
RESULTADOS

Os dados obtidos quando da pesquisa de fungos no coxim plantar e órgãos internos estão sumarizados na Figura 1.

Através do teste de Fisher, verificamos que nos períodos de 6 e 24 horas e aos 15 e 30 dias não houve diferença significativa entre a disseminação ocorrida nos animais do grupo controle e naqueles diabético-induzidos. Para o período de 48 horas, a diferença foi estatisticamente significativa, já que 27% dos animais diabético-induzidos exibiam disseminação fúngica para baço, fígado, rins e linfonodo poplíteo, enquanto apenas 5% dos animais do grupo controle apresentavam este quadro ($P > 0,05$). Evolutivamente, quando os dados foram contrapostos, através da análise de regressão linear, apenas o período de 30 dias não apresentou diferenças estatisticamente significantes em relação à quantidade de

fragmentos com a presença de fungos. A avaliação às 48 horas não foi evolutivamente significativa quando comparadas com os grupos posteriores a esse período. Todos os outros períodos evoluem de forma significativa ($P < 0,05$ e $r \geq 0,8$)

Figura 1: Percentual da disseminação fúngica para o fígado, baço, rins e coxim plantar de camundongos suíços diabético-induzidos (DI) e seus respectivos controles (C). Análise microbiológica da evolução da infecção no período compreendido entre 6 horas e 30 dias da inoculação do *T.mentagrophytes* no coxim plantar.



Correlação entre o comportamento do fungo e os níveis de glicose no sangue dos animais

Os dados que permitem esta avaliação estão sumarizados na Tabela 1. Para os períodos mais tardios previmos a necessidade de medir a glicemia também do GC, para melhor comparação dos grupos. A análise estatística dos mesmos revelou que as diferenças observadas nos animais avaliados às 6 e 24 horas e aos 7, 15 e 30 dias não são estatisticamente significantes. Já os animais experimentados no período de 48 horas têm a taxa de disseminação diretamente relacionada ao nível de glicose no sangue ($r \geq 0,7$ e $P < 0,05$).

Tabela 1 – Distribuição da amostragem segundo os níveis de glicose e a presença de fungos (em vermelho) no fígado, baço, rins, coxim e linfonodo poplíteo em animais diabético-induzidos. Avaliação às 48 horas da infecção, mostrando os níveis de glicose estatisticamente significantes quando relacionados à disseminação fúngica. (n=7, p<0,05).

<i>Animais</i>	<i>DI1</i>	<i>DI2</i>	<i>DI3</i>	<i>DI4</i>	<i>DI5</i>	<i>DI6</i>	<i>DI7</i>
<i>Glicemia</i>	>600	>600	>600	>600	>600	559	>600
<i>Fígado</i>	10/1	10/2	10/0	10/2	10/0	10/7	10/0
<i>Baço</i>	10/0	10/1	10/1	10/0	10/0	10/7	10/4
<i>Rins</i>	10/0	10/0	10/0	10/0	10/0	10/10	10/0
<i>Coxim</i>	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/4
<i>Linfonodo</i>	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1

Avaliação imunológica

A avaliação do desenvolvimento da resposta de hipersensibilidade tardia foi realizada através do estudo histológico da pata teste. Segundo este parâmetro, todos os animais avaliados aos 7 e 15 dias da inoculação exibiam infiltrado mononuclear, característico da positividade desta prova. Já aos 30 dias, enquanto todos os animais do grupo controle foram TCP positivos, apenas 4 dos 7 animais diabético-induzidos apresentaram reatividade a esta prova.

Quando realizada a imunodifusão radial para pesquisa de anticorpos séricos específicos, nenhum dos animais experimentados apresentou linhas de precipitação no gel; portanto mostraram-se não reatores para essa prova.

DISCUSSÃO

Dentre as complicações que se seguem à instalação do diabetes em humanos, destacamos no presente estudo, as infecções dermatofíticas que ocorrem nos pés (onicomicoses). Essas infecções rompem a integridade da pele, fornecendo assim uma porta de entrada importante para fungos e bactérias. Segundo Frykberg (1998) e Rich (2002), as onicomicoses contribuem para a severidade do pé diabético, o que eleva a já alta taxa de amputação nestes pacientes.

Visando contornar essa adversidade, alguns pesquisadores se empenharam em compreender os mecanismos envolvidos nesse processo. Os primeiros estudos que investigaram a existência de relação entre tolerância à ingestão de glicose e infecções dermatofíticas recorrentes, apontaram uma associação positiva entre elas Rothman (1953). Posteriormente, Jolly e Carpenter (1969) discordando destes

achados, descreveram uma curva de tolerância elevada em 28 de 29 indivíduos com infecções causadas por dermatófitos.

Por outro lado, Alteras & Saryt (1979) investigando a prevalência de dermatófitos em 100 indivíduos diabéticos e 100 não-diabéticos, encontraram resultados positivos em 70 dos diabéticos e 53 dos não-diabéticos. No cultivo de amostras encontrou fungos em 57 dos diabéticos e em 40 dos não-diabéticos. Para os autores, estes resultados apóiam a hipótese que aponta uma correlação positiva entre infecções por dermatófitos e alto nível de glicose no sangue. Já Lugo-Somolinos et al (1992) em estudo semelhante, e observando resultados positivos em 31% dos diabéticos contra 33% dos controles, excluíram a possibilidade desta relação. Observaram ainda que a cronicidade da condição parecia não influenciar na predisposição dos indivíduos às infecções.

Resultados semelhantes foram obtidos por Buxton et al (1996). Avaliando a prevalência das dermatofitoses em 100 pacientes diabéticos insulina-dependentes bem controlados e em 100 indivíduos não-diabéticos, não encontraram maior prevalência dessa patologia nos diabéticos. A porcentagem total de infecção (pele e unhas) foi de 19% em diabéticos e 17% em controles.

Também Romano et al (2001), estudando 171 pacientes diabéticos e 276 controles, encontraram resultados que falavam a favor da dissociação destas patologias: observaram positividade em 7 diabéticos e 17 controles. Em pacientes diabéticos, o fungo isolado mais freqüente foi o *T. mentagrophytes*. Não observaram qualquer associação entre dermatofitoses e a duração, tipo ou complicação do diabetes, nem com o nível de açúcar no sangue ou nível de hemoglobina glicosilada.

Mais recentemente, Garcia-Humbria et al (2005) verificaram que tanto diabéticos (75% - 30/40) como controles (65% - 26/40) apresentavam uma alta freqüência de micoses superficiais (a diferença não foi significativa $p = 0.329$). Estatisticamente as diferenças observadas quanto à presença de micose superficial, nível de glicose sanguínea, valores de hemoglobina glicosilada não foram significantes.

Do mesmo modo, Mlinaric-Missoni (2005) estudando 509 pacientes diabéticos, encontrou fungos nos pés de 122 deles (24%). Atentando para os fatores que influenciaram o desenvolvimento da infecção, verificou que esta não estava significativamente correlacionada ao sexo, idade ou tempo de duração do diabetes, mas sim ao tipo de diabetes que o paciente portava. Em pacientes diabéticos não insulina-dependentes a incidência de fungo foi significativamente maior (30.1%) quando comparada à incidência verificada em pacientes insulina-dependentes (19.8%).

Os dados apresentados acima revelam que a relação entre níveis sanguíneos de glicose e infecção por dermatófitos é ainda controversa, com alguns autores sustentando e outros negando a existência de associação entre elas.

Nossos resultados revelam que, até as 24 horas, embora a infecção se mostre mais intensa e agressiva nos animais diabético-induzidos que nos livres desta condição, estas diferenças não são estatisticamente significantes. Contudo, após 48 horas, a presença do diabetes favorece a disseminação do fungo para outros órgãos e, deste modo, constituindo uma fonte constante de microrganismos e, conseqüentemente, favorecendo a recorrência da infecção.

Apesar de verificarmos uma tendência à resolução nos dois grupos estudados, este quadro, ou seja, maior exuberância da infecção nos animais diabéticos-induzidos, se manteve até o final da experimentação. É possível que esse fenômeno esteja relacionado às alterações na atividade dos macrófagos, já que esta pode ser afetada pelos transtornos dessa condição. Segundo Ptak (1998), a produção das citocinas IL-6 e TNF- α por macrófagos peritoneais estaria diretamente relacionada com a concentração de glicose no sangue; estados hiperglicêmicos, mas com níveis considerados baixos de glicose sanguínea, ou seja, acima de 300mg/dl, mas inferiores a 500mg/dl, estimulariam levemente a atividade dos macrófagos, quando em altos níveis, i.e., acima de 500mg/dl reduziriam significativamente essa atividade. Neste mesmo caminho, Brownlee M (1995) e Vlassara et al (1994) verificaram uma associação entre a hipoinsulinemia e deficiência na atividade dos fagócitos. Por outro lado, existem relatos que discordam dessa idéia, sugerindo, por exemplo, que macrófagos de pacientes e de animais diabéticos exibem aumento da produção de radicais livres do oxigênio, ou seja, maior atividade macrofágica (Setiadi et al; 1987).

De qualquer modo, a permanência de *T. mentagrophytes* em alguns animais diabéticos até o final da experimentação, fala a favor da assertiva que aponta o comprometimento macrofágico nesta condição, já que animais sadios foram eficientes em debelar a infecção. Fala a favor ainda da participação importante da resposta imune adaptativa na modulação das dermatofitoses, uma vez que os animais diabéticos com infecção persistente, não exibiram resposta de hipersensibilidade tardia (DTH) para antígenos fúngicos específicos.

Como é sabido, embora os dermatófitos operem dentro do estrato córneo, possuem a capacidade de provocar tanto a resposta imune humoral como a celular ou de hipersensibilidade tardia (Koga, 1993). Existe consenso entre os pesquisadores de que a imunidade humoral desempenha um papel pequeno entre os mecanismos de resistência do hospedeiro aos dermatófitos; títulos de anticorpos mais elevados em infecções crônicas sugerem que os mesmos não são eficazes em debelar a infecção. No presente estudo, não fomos capazes de determinar a presença de anticorpos específicos no soro de nossos animais. É possível que, nas condições ensaiadas, ou não houve produção de imunoglobulinas ou esta não foi intensa o suficiente para ser detectada pelo método ensaiado.

Com relação à imunidade celular, tem sido sugerido que o desenvolvimento da resposta de hipersensibilidade tardia refletiria a eficiência com que a infecção é contida. A DTH atuaria provocando o aumento da proliferação epidérmica; a descamação resultante desse processo, facilitaria a eliminação do dermatófito. Associado a isso, a DTH desencadeada pelos antígenos fúngicos, destruiria ou diminuiria a integridade da epiderme permitindo que esta seja embebida pelo plasma; como o plasma contém substâncias inibidoras, esse fenômeno resultaria na paralisação do crescimento do dermatófito até que o mesmo seja eliminado pela multiplicação celular e descamação da epiderme.

Por outro lado, em estudos anteriores realizados por nosso grupo, camundongos não-diabéticos infectados pelo *T. mentagrophytes*, independentemente do desenvolvimento de DTH foram capazes de debelar a infecção ao redor do 30º dia da inoculação.

Considerando que, nos animais avaliados no presente estudo, a infecção evoluiu ou para a resolução ou para a manutenção da mesma, independentemente da presença de DTH, nossos resultados sugerem que o desenvolvimento desse tipo de resposta não é preponderante no controle das dermatofitoses.

Em conjunto, nossos resultados indicam que camundongos diabéticos são mais suscetíveis às dermatofitoses sistêmicas que camundongos não-diabéticos. A permanência fúngica nos órgãos internos pode ainda representar uma fonte constante de microrganismos, favorecendo a recorrência da infecção. Assim, seria prudente maior atenção e/ou tratamento antifúngico nestes pacientes, de modo a prevenir complicações posteriores.

AGRADECIMENTOS

Meus sinceros agradecimentos aos meus colegas de trabalho que contribuíram para o desenvolvimento deste estudo, Marcela Rodrigues de Camargo, Milena Lima Bastazini e James Venturini.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BROWNLEE M. Advanced protein glycosylation in diabetes and aging. *Annu Rev. Med.*, **46**, 1995, 223-34.
- BUXTON PK et al. The prevalence of dermatophyte infection in well- controlled diabetics and the response to *Trichophyton* antigen. **Br J Dermatol.**, **134**, 5, 1996, 900-3.
- CHINELLI PA et al. Dermatophyte agents in the city of Sao Paulo, from 1992 to 2002. **Rev Inst Med Trop Sao Paulo.** **45(5)**, 2003, 259-63.

- GARCIA-HUMBRIA L et al. Superficial mycoses: comparative study between type 2 diabetic patients and a non-diabetic control group. **Invest Clin.**, **46**, 1, 2005, 65-74.
- HAINER BL. Dermatophyte Infections. **Am Fam Physician.**, **67**, 1, 2003, 101-8.
- HAMOUDA T et al. Class-specific antibody in human dermatophytosis reactive with *Trichophyton rubrum* derived antigen. **Mycopathologia**, **127**, 2, 1994, 83-8.
- KOGA, T. *et al.* *In vitro* release of interferon- γ by peripheral blood mononuclear cells of patients with dermatophytosis in response to stimulation with trichophytin. **Br. J. Dermatol.** **128**, 1993, 703-4.
- LIU K et al. Morphologic criteria for the preliminary identification of *Fusarium*, *Paecilomyces*, and *Acremonium* species by histopathology. **Am J Clin Pathol.**, **109**, 1, 1998, 45-54.
- MAYSER P et al. Prevalence of fungal foot infections in patients with diabetes mellitus type 1 - underestimation of moccasin-type tinea. **Exp Clin Endocrinol Diabetes**, **112**, 5, 2004, 264-8.
- MLINARIC-MISSONI E, KALENIC S, VAZIC-BABIC V. Species distribution and frequency of isolation of yeasts and dermatophytes from toe webs of diabetic patients. **Acta Dermatovenereol Croat.**, **13**, 2, 2005, 85-92.
- PARKHOMENKO IUK et al. Pathohistological characteristics of dermatophytic onychomycosis. **Arkh Patol.**; **63(4)**, 2001, 51-4.
- ROMANO C et al. Prevalence of dermatophytic skin and nail infections in diabetic patients. **Mycoses**, **44**, 3-4, 2001, 83-6.
- SECKIN D, ARIKAN S, HABERAL M. Deep dermatophytosis caused by *Trichophyton rubrum* with concomitant disseminated nocardiosis in a renal transplant recipient. **J Am Acad Dermatol.**, **51(5)**, 2004, 173-6.
- SETIADI H *et al* Increased adhesion to fibronectin and Mo-1 expression by diabetic monocytes. **J Immunol.**, **138**, 1987, 3230-4.
- TAN JS; JOSEPH. Common fungal infections of the feet in patients with diabetes mellitus. **Drugs Aging**, **21**, 2004, 101-12.
- VLAASSARA H, BUCALA R, STRIKER L. Pathogenic effects of advanced glycosylation: biochemical, biologic, and clinical implications for diabetes and aging. **Lab Invest.**, **70**, 1994, 138-51.
- ZRIMSEK P et al. Detection by Elisa of the humoral response in rabbits naturally infected with *Trichophyton mentagrophytes*. **Vet Microbiol.**, **70**, 1999, 76-7.
- ZRIMSEK P et al. Serum-specific antibodies in rabbits naturally infected with *Trichophyton mentagrophytes*. **Med Mycol.**, **41**, 4, 2003, 321-9.

Apoio Financeiro: FAPESP - Fundação de Amparo a Pesquisas do Estado de São Paulo.