

Diagnóstico laboratorial das dermatofitoses

Dermatophytosis' laboratorial diagnosis

Jairo I. dos Santos¹, Moema P. P. Coelho² & Berenice P. Nappi¹

RESUMO – Dermatofitoses ou tinhas são micoses causadas por um grupo de fungos conhecidos como dermatófitos, cujas espécies estão distribuídas nos gêneros *Epidermophyton*, *Microsporum* e *Trichophyton*. O seu diagnóstico laboratorial, assim como o de muitas outras micoses, baseia-se no exame microscópico direto do material clínico bem como no isolamento do fungo em meios de cultura apropriados. Metodologias modernas baseadas na detecção do DNA fúngico e que vem sendo aplicadas na identificação dos dermatófitos ainda não atingiram adequada padronização e relação custo/benefício que justifiquem a sua utilização na rotina laboratorial.

PALAVRAS-CHAVE – Dermatofitoses, dermatófitos, colheita de material clínico, diagnóstico laboratorial.

SUMMARY – Dermatophytoses or ringworms are mycoses caused by fungi known as dermatophytes, which comprise species that are distributed in the genus *Epidermophyton*, *Microsporum* and *Trichophyton*. The laboratory diagnosis of dermatophytoses, as in other mycoses, is based on direct microscopic examination of the clinical specimen followed by the isolation of fungus in appropriate culture media. Modern methodologies, based in the detection of the dermatophyte DNA, have not reached yet adequate standardization and cost/benefit balance to justify its use in the laboratory routine.

KEYWORDS – Dermatophytoses, dermatophytes, Laboratory diagnosis, specimen collection.

INTRODUÇÃO

Dermatofitoses ou tinhas são micoses causadas por um grupo de fungos conhecidos como dermatófitos. Suas espécies distribuem-se em três gêneros: *Epidermophyton*, *Microsporum* e *Trichophyton*. O gênero *Epidermophyton* apresenta uma única espécie de importância: *E. floccosum*. O gênero *Microsporum* compreende espécies como *Microsporum canis*, *M. gypseum*, *M. audouinii*, *M. cookei* e *M. nanum*. O gênero *Trichophyton* tem como espécies mais importantes *Trichophyton rubrum*, *T. mentagrophytes*,

T. tonsurans, *T. schoenleinii*, *T. violaceum* e *T. verrucosum*³⁰. As manifestações clínicas decorrentes das dermatofitoses resultam tanto da colonização e multiplicação dos dermatófitos na camada córnea da pele, quanto pela conseqüente reação dos hospedeiros.

Tradicionalmente, as dermatofitoses são classificadas clinicamente de acordo com as localizações anatómicas afetadas por estes fungos. A denominação de cada tipo de dermatofitose é feita adicionando-se um nome latino que designa o local do corpo afetado à palavra *tinea* (Tabela I).

TABELA I
Dermatofitoses humanas: principais manifestações clínicas e respectivas espécies de dermatófitos envolvidas*

Manifestações clínicas	Principais dermatófitos envolvidos	Manifestações clínicas	Principais dermatófitos envolvidos
<i>Tinea unguium</i>	<i>T. rubrum</i> ; <i>T. mentagrophytes</i> var <i>interdigitale</i> ; <i>E. floccosum</i>	<i>Tinea capitis</i>	<i>T. tonsurans</i> ; <i>M. canis</i> ; <i>T. violaceum</i> ; <i>M. gypseum</i>
<i>Tinea pedis</i>	<i>T. mentagrophytes</i> ; <i>T. rubrum</i> ; <i>E. floccosum</i>	<i>Tinea favus</i>	<i>T. schoenleinii</i> ; <i>T. Tinea barbae</i> ; <i>T. verrucosum</i> ; <i>T. mentagrophytes</i> ; <i>T. violaceum</i>
<i>Tinea corporis</i>	<i>T. rubrum</i> ; <i>T. mentagrophytes</i> ; <i>E. floccosum</i> ; <i>M. canis</i> ; <i>M. gypseum</i>	<i>Tinea manuum</i>	<i>T. rubrum</i> ; <i>T. mentagrophytes</i> ; <i>M. gypseum</i> ; <i>E. floccosum</i>
<i>Tinea cruris</i>	<i>E. floccosum</i>	<i>Tinea imbricata</i>	<i>T. concentricum</i>
	<i>T. rubrum</i> ; <i>T. mentagrophytes</i>		

* Segundo Rippon (1988)³⁰

Recebido em 25/5/2001
Aprovado em 11/2/2002

¹Departamento de Análises Clínicas, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC

²Laboratório de Patologia Clínica, Hospital Universitário, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC

Diagnóstico laboratorial das dermatofitoses

No diagnóstico laboratorial das dermatofitoses, como em outras micoses, a colheita do material clínico assim como a sua conservação e transporte devem ser realizados de forma adequada já que influenciaria muito no resultado final do exame laboratorial^{6,8,17,30}. É importante assegurar-se que o paciente não esteja fazendo uso de medicação antifúngica no momento da colheita. Caso isto ocorra, é necessário que haja a suspensão do uso do mesmo por pelo menos uma semana antes da colheita do material. É importante também se levar em consideração a quantidade de material a ser colhido. Deve-se procurar colher uma quantidade de material que seja suficiente para a realização de pelo menos dois exames laboratoriais. Entretanto, em algumas situações, em razão da pouca descamação observada na lesão, não é possível colher grande quantidade de material.

Quando da realização da colheita do material biológico deve-se respeitar a questão do crescimento radial do fungo na lesão. Assim, deve-se evitar colher material em áreas lesionadas mais antigas como o centro das lesões na pele e a região distal das unhas infectadas, pois o fungo geralmente apresenta-se em menor quantidade ou com pouca viabilidade nestes locais.

Os cabelos devem ser coletados junto com a raiz, já que o fungo está presente próximo a estas áreas. Já lesões de pele devem ser raspadas na região intermediária entre a parte lesionada e a parte sã, partindo-se da região próxima ao centro em direção à periferia da lesão. Quando não for possível evidenciar esta diferenciação, deve raspar áreas representativas das lesões.

O teto de bolhas e vesículas pode ser cortado com tesoura e coletado evitando-se, entretanto, o líquido contido nas mesmas, pois geralmente apresenta poucos elementos fúngicos. Já o material de lesões supuradas deve ser colhido com "swab" em virtude da dificuldade de se realizar raspagens neste tipo de lesão.

As unhas devem ser preferencialmente raspadas na sua área distrófica ou descorada até quase atingir o leito ungueal. O material queratinizado que se acumule embaixo da unha também deve ser coletado. Como o material biológico colhido das lesões por dermatofitoses geralmente compõe-se de material sólido, o mesmo deve ser transportado em recipientes secos como placas de Petri pequenas ou mesmo em envelopes de papel resistentes. Caso não for possível realizar o exame laboratorial logo após a coleta, o mesmo pode ser mantido em ambiente seco e ao abrigo da luz por pelo menos uma semana.

Exame microscópico direto

No exame microscópico direto o material colhido deve ser tratado com clarificantes, como o hidróxido de potássio (potassa) em uma concentração de 10-30%, para que as estruturas fúngicas presentes possam ser adequadamente visualizadas ao microscópio.

Dimetilsulfóxido (DMSO) pode ser acrescentado em proporção variável no sentido de acelerar o processo de clarificação²³. Também pode ser acrescentada glicerina a 10% para evitar a dessecação rápida das lâminas¹⁷. O tempo de clarificação pode variar em função do tipo de material clínico, de alguns minutos como em raspados finos de pele, até muitas horas em se tratado de fragmentos maiores de unha.

Vários autores têm utilizado o branco de calcoflúor na solução de potassa^{6,7,11,25,26}. Este reagente liga-se à parede fúngica tornando os elementos fúngicos fluorescentes sob luz ultravioleta, facilitando assim a sua observação. Haldane & Robart (1990)¹² compararam a sensibilidade do uso de potassa com ou sem calcoflúor no exame microscópico direto de raspados de pele com o objetivo de avaliar a sua sensibilidade e especificidade de cada método para o diagnóstico de dermatofitoses e concluíram que o uso do calcoflúor não aumentou a sensibilidade e especificidade do exame microscópico direto. Além disso, a utilização do calcoflúor exige que a amostra seja observada em microscópio de fluorescência, aumentando assim, os custos deste teste.

Os dermatófitos em geral apresentam morfologia semelhante entre si ao exame microscópico direto³⁰. Em pele e unhas o aspecto mais observado é o da presença de filamentos micelianos septados de tamanho variável e que podem estar ramificados. É possível observar a presença de artroconídeos nos quais os filamentos micelianos separam-se fisicamente em nível dos septos e posteriormente os mesmos arredondam-se formando cadeias semelhantes a um colar de contas. Entretanto, deve-se ter grande cuidado na leitura microscópica, procurando-se esquadrihar todas as áreas da lâmina contendo o material clarificado, já que resultados falso-negativos são comuns em amostras de material contendo poucos elementos fúngicos³⁰.

Nos cabelos os dermatófitos apresentam-se como estruturas arredondadas (artroconídeos) e mais raramente filamentos micelianos, podendo estar tanto localizadas fora do cabelo, sendo chamadas de parasitismo por *ectothrix*, como dentro dos pelos, sendo chamados de parasitismo por *endothrix*. Entre as espécies cuja invasão ao cabelo produz o tipo *ectothrix* de parasitismo, podemos citar o *M. canis*, *M. gypseum* e

TABELA II
Morfologia dos dermatófitos no material clínico colhido nas lesões*

Origem do material clínico	Morfologia do fungo ao exame microscópico direto
Pele	Hifas septadas, ramificadas ou não, artroconídeos
Unha	Hifas septadas, ramificadas ou não, artroconídeos
Cabelos	Artroconídeos arredondados ao redor do cabelo (<i>Ectothrix</i>) Artroconídeos arredondados dentro do cabelo (<i>Endothrix</i>), hifas e bolhas de ar no interior do cabelo**

* Segundo Rippon (1988)³⁰; ** Em infecções por *T. schoenleinii*

T. mentagrophytes. Já aquelas associadas ao tipo endothrix estão *T. tonsurans* e *T. violaceum*, entre outros³⁰. Os resultados devem ser expressos de maneira a se fazer uma descrição morfológica clara e concisa das estruturas fúngicas observadas à microscopia. Na Tabela 2 são descritas resumidamente as estruturas fúngicas mais freqüentes em cada tipo de material biológico.

Cultivo e identificação dos dermatófitos

O cultivo dos dermatófitos é realizado rotineiramente em meio de ágar Sabouraud dextrosado contendo inibidores bacterianos e fúngicos como cloranfenicol e cicloheximide^{5,17,30}. Este meio está disponível no mercado brasileiro com nomes comerciais como "Mycobiotic agar" (Difco), Mycosel (BBL) ou Ágar Sabouraud Seletivo (Biobrás). Outro tipo de meio recomendado para o cultivo rotineiro de dermatófitos é o agar extrato de malte²⁹. A temperatura ótima de crescimento situa-se na faixa de 25 a 30°C. Nestas condições os dermatófitos crescem num período de uma a três semanas.

Como procedimento alternativo de cultivo pode-se utilizar o meio DTM ("Dermatophyte Test Medium"), que mostra a reação alcalina que se segue ao crescimento do dermatófito com mudança de cor para o vermelho, já que utiliza o vermelho de fenol como indicador da reação³³. Entretanto, a utilização deste meio pode prejudicar a visualização de características importantes como a presença de pigmentos, dificultando ou inviabilizando a identificação da espécie do dermatófito. Além disso, têm sido descritas reações falso-negativas para dermatófitos do gênero *Microsporum*, bem como reações falso-positivas para alguns fungos anemófilos²⁷.

Outros meios especializados podem ser utilizados quando o material está fortemente contaminado com bactérias ou leveduras. É o caso do meio CEA, que é constituído por ácido casamínico, eritritol e albumina⁹. Segundo os autores, ele pode ser útil para cultivo de dermatófitos a partir de amostras provenientes de pacientes com diabetes ou outras condições patológicas debilitantes, em cujas lesões são encontradas freqüentemente leveduras do gênero *Candida*, principalmente a espécie *C. albicans* e *C. tropicalis*.

Para a correta identificação da espécie do dermatófito, devem ser avaliadas as características macro e micromorfológicas das colônias e, em alguns casos, critérios fisiológicos e nutricionais^{5,17,30}. O estudo da morfologia inclui características macroscópicas como coloração da superfície e do reverso da colônia, topografia, textura e velocidade de crescimento. Além disso, fragmentos da colônia devem ser corados (geralmente com lactofenol azul de algodão) e examinados ao microscópio para a presença de elementos característicos como modificações de hifas, macro e microconídios (Tabela III). Algumas vezes pode ser necessária a realização de repiques das colônias para meios que favoreçam a formação de conídios, como ágar batata ou lactrimel^{4,14}. Ensaio adicional incluem o

TABELA III
Principais critérios utilizados para a identificação de espécies de dermatófitos*

Tipos de critérios	Parâmetros que podem ser observados
Macromorfológicos	Velocidade de crescimento, textura, topografia e cor do micélio e formação de pigmento reverso nas colônias, nos meios de cultura.
Micromorfológicos	Presença de modificações de hifas como gavinhas, candelabros fávicos, hifas em "raquete" e clamidoconídios no micélio.
Fisiológicos	Assimilação de uréia, estimulação de crescimento em presença de vitaminas (tiamina, ácido nicotínico), aminoácidos (histidina) e álcoois (inositol); perfuração de pelo "in vitro".

* Segundo Rippon (1988)³⁰; Clayton & Midgley (1989)⁵; Lacaz et al. (1991)¹⁷

teste de urease²⁸ e teste de perfuração de pelo "in vitro"¹ para diferenciação das espécies *T. rubrum* e *T. mentagrophytes* e cultivo em grãos de arroz para diferenciação de espécies de *Microsporum*³¹. Além disso, algumas espécies de dermatófitos que são menos freqüentes na rotina laboratorial, apresentam requerimentos nutricionais especiais de maneira que, para o seu isolamento, é necessário que os mesmos sejam acrescentados ao meio de isolamento. Assim, o *Trichophyton equinum* necessita de ácido nicotínico enquanto que o *T. verrucosum* necessita de inositol e tiamina para o seu crescimento³¹.

Identificação dos dermatófitos baseada na detecção do seu DNA

Uma das áreas que tem sido objeto de interesse por parte dos pesquisadores é o da composição genética dos dermatófitos, como é demonstrado pelo grande número de publicações recentes abordando este tema^{2,3,10,13,15,16,18,22,24,32}. Alguns destes estudos tiveram por objetivo utilizar técnicas de biologia molecular na detecção do DNA do dermatófito e por consequência na sua identificação. Assim, Liu et al. (1997)¹⁹, por meio da técnica de AP-PCR (*Arbitrarily Primed Polymerase Chain Reaction*) conseguiram identificar e diferenciar amostras de 16 espécies de dermatófitos. Posteriormente, os mesmos autores aperfeiçoaram esta técnica e conseguiram identificar corretamente a espécie de dermatófito de 23 entre 25 amostras desconhecidas²⁰. Entretanto, nestes trabalhos, eles utilizaram DNA extraído de culturas de dermatófitos e não do material biológico das lesões como seria desejável.

A possibilidade de detectar diretamente DNA de dermatófitos a partir de material clínico foi recentemente demonstrado por Turin et al. (2000)³⁴. Eles aplicaram um ensaio de PCR no qual foram amplificadas regiões do DNA ribossomal e assim conseguiram detectar DNA de várias espécies de fungos, incluindo-se entre elas dermatófitos, em 40 amostras clínicas de origem humana e animal. Machouart-Dubach et al. (2001)²¹ por sua vez compararam o ensaio de

PCR-RFLP (*Polymerase Chain Reaction - Restriction Fragment Lengthy Polymorphism*), no qual fragmentos de DNA do dermatófito, contidos material de lesão, foram extraídos, amplificados e posteriormente digeridos com enzimas de restrição. As amostras identificadas desta forma apresentaram uma correspondência de 98,7% com o método padrão de cultivo das amostras em ágar Sabouraud.

Apesar de todos estes avanços e da intensa pesquisa que está sendo realizada neste campo, o diagnóstico baseado na detecção e identificação de DNA fúngico ainda não pode ser considerado uma metodologia recomendada para ser utilizada no dia a dia da rotina de diagnóstico das dermatofitoses, tendo em vista a inexistência até o momento de uma padronização para os diferentes ensaios genéticos, o alto custo dos reagentes utilizados, a infra-estrutura necessária para a realização destes testes e o treinamento do pessoal de laboratório.

CONCLUSÕES

O diagnóstico laboratorial das dermatofitoses ainda se baseia nos métodos tradicionais de exame microscópico direto do material clínico e no cultivo do fungo em ágar Sabouraud ou meios similares, que contenham inibidores. Para que se alcance a sensibilidade e especificidade esperadas nestes métodos, é necessário que o profissional envolvido na rotina micológica tome os devidos cuidados na colheita, conservação e transporte do material clínico, já que influenciarão muito no resultado final do exame. Novas metodologias que vem sendo desenvolvidas para serem aplicadas na identificação dos dermatófitos a partir do seu DNA contido no material clínico proveniente da lesão, ainda não atingiram adequada padronização e uma relação custo/benefício que justifiquem a sua utilização na rotina laboratorial.

REFERÊNCIAS

- Ajello, L.; Georg, L. K. *In vitro* hair cultures for differentiating between atypical isolates of *Trichophyton mentagrophytes* and *Trichophyton rubrum*. *Mycopathol. Mycol. Appl.*, 8:3-17, 1957.
- Baek, S. C.; Chae, H. J.; Houh, D.; Byun, D. G.; Cho, B. K. Detection and differentiation of causative fungi of onychomycosis using PCR amplification and restriction enzyme analysis. *Int. J. Dermatol.*, 37:682-686, 1998.
- Bock, M.; Maiwald, M.; Kappe, R.; Nickel, P.; Näher, H. Polymerase chain reaction-based detection of dermatophyte DNA with a fungus-specific primer system. *Mycoses*, 37:79-84, 1994.
- Borelli, D. Medios caseros para micologia. *Arch. Venez. Med. Trop. y Parasitol.*, 4: 301-310, 1962.
- Clayton, Y. M.; Midgley, G. Identification of agents of superficial mycoses. In: Evans, E. G. V.; Richardson, M. D. *Medical Mycology - a practical approach*. IRL Press, Oxford, 1989.
- Davey, K. G.; Campbell, C. K.; Warnock, D. W. Mycological techniques. *J. Clin. Pathol.*, 49:95-99, 1996.
- Elder, B. L.; Roberts, G. D. Rapid methods for the diagnosis of fungal infections. *Lab. Med.*, 17: 591-596, 1986.
- Evans, E. G. V.; Richardson, M. D. General guidelines on laboratory diagnosis. In: Evans, E. G. V.; Richardson, M. D. *Medical Mycology - a practical approach*. IRL Press, Oxford, 1989.
- Fisher, J. B.; Kane, J. The laboratory diagnosis of dermatophytosis complicated by *Candida albicans*. *Can. J. Microbiol.*, 20: 167-182, 1974.
- Gräser, Y.; Kuijpers, A. F. A.; Presber, W.; De Hoog, G. S. Molecular taxonomy of *Trichophyton mentagrophytes* and *Trichophyton tonsurans*. *Med. Mycol.*, 37:315-330, 1999.
- Hageage, G. L.; Harrington, B. J. Use of calcofluor white in clinical mycology. *Lab. Med.* 15:109-112, 1984.
- Haldane, D. J. M.; Robart, E. A comparison of calcofluor white, potassium hydroxide, and culture for the laboratory diagnosis of superficial fungal infection. *Diag. Microbiol. Infect. Dis.*, 13: 337-339, 1990.
- Harmsen, D.; Schwinn, A.; Brocker, E. B.; Frosch, M. Molecular differentiation of dermatophyte fungi. *Mycoses* 42:67-70, 1999.
- Kaminski, G. W. The routine use of modified Borelli's Lactrimel agar (MBLA). *Mycopathology*, 91:57-59, 1985.
- Kano, R.; Nakamura, Y.; Watanabe, S.; Tsujimoto, H.; Hasegawa, A. Phylogenetic relation of *Epidermophyton floccosum* to the species of *Microsporum* and *Trichophyton* in chitin synthase 1 (CHS1) gene sequences. *Mycopathology*, 146:111-113, 1999.
- Kano, R.; Okabayashi, K.; Nakamura, Y.; Ooka, S.; Kashima, M.; Mizoguchi, M.; Watanabe, S.; Hasegawa, A. Differences among chitin synthase I gene sequences in *Trichophyton rubrum* and *T. violaceum*. *Med. Mycol.* 38:47-50, 2000.
- Lacaz, C. S.; Porto, E.; Martins, J. E. C. *Micologia Médica*. Sarvier, 8ª ed., São Paulo, 1991.
- Leclerc, M. C.; Philippe, H.; Guého, E. Phylogeny of dermatophytes and dimorphic fungi based on large subunit ribosomal RNA sequence comparisons. *J. Med. Vet. Mycol.*, 32:331-341, 1994.
- Liu, D.; Coloe, S.; Baird, R.; Pedersen, J. Molecular determination of dermatophyte fungi using the arbitrarily primed polymerase chain reaction. *B. J. Dermatol.*, 137:351-355, 1997.
- Liu, D.; Coloe, S.; Baird, R.; Pedersen, J. Application of PCR to the identification of dermatophyte fungi. *J. Med. Microbiol.*, 49:493-497, 2000.
- Machouart-Dubach, M.; Lacroix, C.; De Chauvin, F. M.; Le Gall, L.; Giudicelli, C.; Lorenzo, F.; Derouin, F. Rapid discrimination among dermatophytes, *Scytalidium* spp, and other fungi with a PCR-restriction fragment length polymorphism ribotyping method. *J. Clin. Microbiol.*, 39:685-690, 2001.
- Makimura, K.; Tamura, Y.; Mochizuki, T.; Hasegawa, A.; Tajiri, Y.; Hanazawa, R.; Uchida, K.; Saito, H.; Yamaguchi, H. Phylogenetic classification and species identification of dermatophyte strains based on DNA sequences of nuclear ribosomal internal transcribed spacer 1 regions. *J. Clin. Microbiol.*, 37:920-924, 1999.
- Milne, L. J. R. Direct microscopy. In: Evans, E. G. V.; Richardson, M. D. *Medical Mycology - a practical approach*. IRL Press, Oxford, 1989.
- Mochizuki, T.; Kawasaki, M.; Ishizaki, H.; Makimura, K. Identification of several clinical isolates of dermatophytes based on the nucleotide sequence of internal transcribed spacer 1 (ITS 1) in nuclear ribosomal DNA. *J. Dermatol.* 26:276-81, 1999.
- Monheit, J. E.; Brown, G.; Kott, M. M.; Schmidt, W. A.; Moore, D. G. Calcofluor white detection of fungi in cytopathology. *Am. J. Clin. Pathol.*, 108:616-618, 1986.
- Monheit, J. E.; Cowan, D. F.; Moore, D. G. Rapid detection of fungi in tissues using calcofluor white and fluorescence microscopy. *Arch. Pathol. Lab. Med.*, 108:616-618, 1984.
- Moriello, K. A.; Deboer, D. J. Fungal flora of the haircoat of cats with and without dermatophytosis. *J. Med. Vet. Mycol.*, 29:219-230, 1991.
- Philpot, C. The differentiation of *Trichophyton mentagrophytes* from *Trichophyton rubrum* by a single urease test. *Sabouraudia*, 5:189-193, 1967.
- Richardson, M. D.; Evans, E. G. V. Culture and isolation of fungi. In: Evans, E. G. V.; Richardson, M. D. *Medical Mycology - a practical approach*. IRL Press, Oxford, 1989.
- Rippon, J. W. *Medical mycology: the pathogenic fungi and the pathogenic actinomycetes*. WB Saunders, 3ª, Philadelphia, 1988.
- Shadowy, H. J.; Philpot, C. M. Utilization of standard laboratory methods in the laboratory diagnosis of problem dermatophytes. *Am. J. Clin. Pathol.*, 74:197-201, 1980.
- Summerbell, R. C.; Haugland, R. A.; Li, A.; Gupta, A. K. rRNA gene internal transcribed spacer 1 and 2 sequences of asexual, anthropophilic dermatophytes related to *Trichophyton rubrum*. *J. Clin. Microbiol.*, 37:4005-4011, 1999.
- Taplin, D.; Zaias, N.; Rebell, G.; Blank, H. Isolation and recognition of dermatophytes on a new medium (DTM). *Arch. Dermatol.*, 99:203-209, 1969.
- Turin, L.; Riva, F.; Galbiati, G.; Cainelli, T. Fast, simple and highly sensitive double-rounded polymerase chain reaction assay to detect medically relevant fungi in dermatological specimens. *Eur. J. Clin. Invest.*, 30:511-518, 2000.

Endereço para correspondência:

Prof. Jairo Ivo dos Santos
Departamento de Análises Clínicas, Centro de Ciências da Saúde - UFSC
Campus Universitário, Florianópolis, SC - 88040-970
Tel.: (0xx48) 331-9712
E-mail: jivo@cc.ufsc.br