

Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz

Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas

FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ
INSTITUTO NACIONAL DE INFECTOLOGIA EVANDRO CHAGAS
MESTRADO EM PESQUISA CLÍNICA EM DOENÇAS INFECCIOSAS

VIVIAN FICHMAN MONTEIRO DE SOUZA

**CRIOCIRURGIA NO TRATAMENTO DA ESPOROTRICOSE: EXPERIÊNCIA DE
UMA DÉCADA.**

Rio de Janeiro

2018

Fichman, Vivian .

CRIOCIRURGIA NO TRATAMENTO DA ESPOROTRICOSE:
EXPERIÊNCIA DE UMA DÉCADA. / Vivian Fichman. - Rio de janeiro, 2018.
82 f.

Dissertação (Mestrado) - Instituto Nacional de Infectologia Evandro
Chagas, Pós-Graduação em Pesquisa Clínica em Doenças Infecciosas, 2018.

Orientadora: Maria Clara Gutierrez-Galhardo.

Co-orientador: Antonio Carlos Francesconi do Valle.

Bibliografia: f. 58-68

1. Esporotricose. 2. Criocirurgia. 3. Tratamento. I. Título.

VIVIAN FICHMAN MONTEIRO DE SOUZA

**CRIOCIRURGIA NO TRATAMENTO DA ESPOROTRICOSE: EXPERIÊNCIA DE
UMA DÉCADA.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Pesquisa Clínica em Doenças Infecciosas, do Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas, para obtenção do grau de Mestre em Ciências, sob a orientação dos orientadores Profa. Dr.^a. Maria Clara Gutierrez Galhardo e do Prof. Dr. Antonio Carlos Francesconi do Valle.

Rio de Janeiro

2018

VIVIAN FICHMAN MONTEIRO DE SOUZA

**CRIOCIRURGIA NO TRATAMENTO DA ESPOROTRICOSE: EXPERIÊNCIA DE
UMA DÉCADA.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Pesquisa Clínica em Doenças Infecciosas do Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas para obtenção do grau de mestre em Ciências.

Orientadores: Profa. Dra. Maria Clara Gutierrez Galharo
Prof. Dr. Antonio Carlos Francesconi do Valle

Aprovada em: 23 / 02 / 2018

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Dayvison Francis Saraiva Freitas (presidente)
Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas (INI/Fiocruz)

Prof. Dr. Ziadir Francisco Coutinho (membro)
Escola Nacional de Saúde Pública (Ensp/Fiocruz)

Prof. Dr. Flávio Barbosa Luz (membro)
Universidade Federal Fluminense (UFF)

Profa. Dra. Maria da Gloria Bonecini de Almeida (suplente)
Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas (INI/Fiocruz)

Aos meus pais, Tatiana e Cicero.

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, por todo amor, por todo apoio, oportunidades e confiança.

À minha irmã, por todos os anos de companheirismo e amizade.

À Priscila, por ter me apresentado aos meus orientadores e por ter me incentivado a entrar no mestrado, por sua generosidade e amizade em todos os momentos, pelos ensinamentos e por todos os nossos sábados e domingos felizes.

À Maria Clara, minha orientadora, pela oportunidade e confiança em me deixar participar desse trabalho que considero tão importante, por todo o ensinamento passado nesses dois anos, por toda sua incansável dedicação e entusiasmo, por estar sempre disponível, apoiando e comemorando cada passo e crescimento nessa trajetória.

Ao Francesconi, meu coorientador, pela oportunidade e confiança em me deixar participar desse trabalho, por todo o ensinamento passado, por todo apoio e por toda experiência tão valiosa transmitida nos dias de ambulatório.

Ao Dayvison, excelente médico e pesquisador, com quem aprendi e aprendo muito, por ter sempre se disposto a me ajudar, em incontáveis momentos, por todo seu apoio e amizade.

À Raquel, por ter sido responsável pela parte estatística do projeto, por sua paciência em ensinar e esforço para que realmente sejamos capazes de entender e dominar essa parte tão complexa da pesquisa.

Ao Rodrigo, pelas dicas, ensinamentos, parcerias de trabalho e amizade.

Ao Manoel, pela identificação molecular e pelas parcerias de trabalho.

Aos médicos e colegas de trabalho que fizeram parte da minha trajetória.

À Priscilla Sá, fonte de respostas para todas nossas perguntas sobre a pós, por toda sua ajuda, paciência e apoio.

Aos funcionários e professores da Fiocruz.

À Leticia, amiga, a quem admiro por ser um exemplo de força e integridade, por sempre ter acreditado e incentivado minha afinidade pela área acadêmica, por todo seu incondicional apoio.

Aos amigos, Bruno e Rafael, por fazerem parte da minha vida, por toda compreensão e apoio principalmente nos momentos mais difíceis.

Ao Felipe, por sua descontração, por seu apoio e pelo auxílio em Excel avançado.

Aos pacientes, que mesmo podendo não se beneficiar diretamente do estudo, participaram e contribuíram com nosso conhecimento.

Aos membros da banca que dedicaram seu tempo para contribuir e tornar possível a concretização deste trabalho.

FICHMAN, V. **Criocirurgia no tratamento da esporotricose: experiência de uma década.** Rio de Janeiro, 2018. 82 fls. Dissertação [Mestrado em Pesquisa Clínica em Doenças Infecciosas] – Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas.

RESUMO

Introdução: A esporotricose é uma micose subcutânea em que a maioria dos pacientes apresenta uma boa resposta aos esquemas antifúngicos padrões, com cura após uma média de 12 semanas. Entretanto, alguns pacientes apresentam dificuldade no seu manejo terapêutico devido a resposta insatisfatória ou contraindicações ao tratamento padrão. **Objetivo:** Descrever a resposta terapêutica dos pacientes com esporotricose cutânea, tratados com criocirurgia adjuvante aos antifúngicos orais, além de gestantes com esporotricose cutânea, tratadas unicamente com criocirurgia. **Métodos:** Estudo de coorte conduzido entre janeiro de 2006 e dezembro de 2016. Foram incluídos pacientes com diagnóstico confirmado por isolamento de *Sporothrix* spp. em cultura para os quais criocirurgia foi indicada por: a) estarem evoluindo com resposta clínica parcial aos antifúngicos durante o acompanhamento, b) terem interrompido o antifúngico oral por reações adversas, c) apresentarem lesões verrucosas ou úlcero-vegetantes extensas no início do tratamento ou d) serem gestantes que não desejavam realizar termoterapia. As sessões de criocirurgia foram realizadas mensalmente com aplicação de nitrogênio líquido, técnica de *spray* aberto, até a cura clínica da esporotricose. **Resultados:** Foram incluídos 203 pacientes, sendo 199, tratados com criocirurgia adjuvante e 4 gestantes. Em relação aos 199 pacientes, a média de idade foi de 55,7 anos com predomínio de mulheres (67,3%). A forma clínica mais comum foi a linfocutânea (58,6%), seguida da forma fixa (26,2%) e da cutânea disseminada (15,2%). A criocirurgia foi indicada em casos de resposta insatisfatória ao tratamento padrão (91,0%); para lesões extensas (6,0%) ou interrupção do antifúngico por efeito adverso (3,0%). O número de sessões de criocirurgia variou de 1 a 20, com mediana de 3. Cura clínica foi o desfecho em 91,0% dos pacientes, 1,0%, evoluiu com óbito não relacionado à esporotricose e em 8,0%, houve perda de seguimento. Pacientes que necessitaram de mais sessões de criocirurgia (mais de 4) para a obtenção da cura, foram os de mais idade ($p = 0,034$), e com uma maior proporção de comorbidades ($p = 0,047$). Na análise de sobrevida, o início tardio da criocirurgia e presença de doença cardiovascular foram associados a um tempo de tratamento mais prolongado. As gestantes foram submetidas a uma média de 2 sessões, variando de 1 a 3, com 100% de cura. **Conclusão:** Sugere-se que criocirurgia seja incorporada na abordagem terapêutica da esporotricose, tão logo seja caracterizada uma resposta insatisfatória ao tratamento; de forma precoce, em lesões que sabidamente tendem a evoluir cronicamente, principalmente as formas fixas e verrucosas, e como método isolado na impossibilidade de uso de antifúngicos orais, como nas gestantes ou nos pacientes que tenham apresentado reações adversas.

Palavras-chave: Esporotricose, criocirurgia, tratamento.

FICHMAN, V. **Cryosurgery for the treatment of sporotrichosis: experience of a decade.** Rio de Janeiro, 2018. 82 sheets. Master thesis [M. Sc. in Clinical Research in Infectious Diseases] – Evandro Chagas National Institute of Infectious Diseases.

ABSTRACT

Introduction: Sporotrichosis is a subcutaneous mycosis that usually resolves within 12 weeks of treatment. However, some patients present difficulties in their therapeutic management due to contraindications or to unsatisfactory response to oral antifungals. **Objective:** To describe the clinical response of patients who were treated with cryosurgery as an adjuvant therapy along with oral antifungals, and pregnant patients with cutaneous sporotrichosis treated solely with cryosurgery. **Methods:** A cohort study was conducted between January 2006 and December 2016, in Rio de Janeiro, Brazil. Patients diagnosed with sporotrichosis by fungal isolation in culture and that underwent cryosurgery for one of the following situations, were included: a) incomplete response to oral antifungals; b) adverse effects that lead to interruption of the antifungals; c) wide verrucous or ulcerative and vegetative lesions or d) pregnant women who did not desire treatment with local heat. Cryosurgery sessions were performed monthly up to clinical cure with liquid nitrogen, open spray technique. **Results:** The study included 203 patients, 199 that underwent cryosurgery as an adjuvant method and 4 pregnant women treated exclusively with cryosurgery. Concerning the 199 patients, the mean age was 55.7 years, with predominance of women (67.3%). Lymphocutaneous form comprised 58.6%, fixed form, 26.2%, and disseminated cutaneous form, 15.2%. Cryosurgery was indicated due to incomplete response to oral antifungals (91.0%); in verrucous or extensive lesions (6.0%), or in case of discontinuation of oral antifungals because of adverse effects (3.0%). The number of cryosurgery sessions varied from 1 to 20 sessions (median=3). The outcome was clinical cure in 91.0% of patients; 1.0% died during the study due to causes unrelated to sporotrichosis, and 8.0% were lost to follow-up. Patients that needed more sessions of cryosurgery (> 4) were older ($p = 0.034$) and with a greater proportion of comorbidities ($p = 0.047$). The survival analyses posed that the late onset of cryosurgery sessions and presence of cardiovascular disease were associated with a longer treatment course. The pregnant patients with sporotrichosis treated with cryosurgery were all cured after 1 to 3 sessions (mean = 2). **Conclusion:** Cryosurgery should be introduced to the therapeutic approach of sporotrichosis as soon as characterized an unsatisfactory response to drugs; early in the treatment of lesions in which chronicity is predictable, mainly fixed and verrucous forms, and even as an isolated method in cases of contraindications to oral antifungals, such as pregnancy or due to adverse effects.

Keywords: Sporotrichosis; cryosurgery; treatment.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	9
2	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA DA ESPOROTRICOSE	11
2.1	Breve histórico	11
2.2	O agente	11
2.3	Epidemiologia	12
2.4	Patogenia	14
2.5	Diagnóstico laboratorial	16
	2.5.1 Diagnóstico micológico	16
	2.5.1.1 Exame micológico direto	16
	2.5.1.2 Cultura	16
	2.5.2 Diagnóstico imunológico	17
	2.5.3 Diagnóstico histopatológico	17
	2.5.4 Diagnóstico molecular	18
2.6	Apresentação clínica	18
2.7	Tratamento	21
	2.7.1 Solução saturada de iodeto de potássio	21
	2.7.2 Derivados Azólicos	21
	2.7.3 Terbinafina	22
	2.7.4 Anfotericina B	23
	2.7.5 Tratamentos adjuvantes	23
	2.7.5.1 Calor local	24
	2.7.5.2 Eletrocoagulação e curetagem	24
	2.7.5.3 Terapia Fotodinâmica	24
	2.7.6 Tratamento de gestantes	24
3	CRIOCIRURGIA	26
3.1	Criocirurgia na esporotricose	29
4	OBJETIVOS	30
4.1	Objetivo geral	30
4.2	Objetivos específicos	30
5	METODOLOGIA	31
5.1	Desenho do estudo	31

5.2	População do estudo	31
5.3	Critérios de inclusão	31
5.4	Critérios de exclusão	31
5.5	Período e duração do estudo	32
5.6	Plano de recrutamento	32
5.7	Materiais, procedimentos e técnicas	32
5.8	Plano de análise e definição de variáveis	34
5.9	Aspectos éticos	35
6	RESULTADOS	36
6.1	Aspectos sociodemográficos	36
6.2	Formas de transmissão	37
6.3	Formas clínicas	38
6.4	Comorbidades	38
6.5	Tratamento antifúngico empregado	42
6.6	Criocirurgia	43
6.7	Desfechos	45
6.8	Gestantes	46
6.9	Reações adversas à criocirurgia	47
7	DISCUSSÃO	48
8	CONCLUSÕES	55
9	PERSPECTIVAS	57
	REFERÊNCIAS	58
	APÊNDICE A	69
	APÊNDICE B	71
	ANEXO A	77
	ANEXO B	79
	ANEXO C	80
	ANEXO D	81

1 INTRODUÇÃO

A região metropolitana do Rio de Janeiro - Brasil, desde 1997, vive uma epidemia de esporotricose cuja transmissão tem caráter zoonótico, a partir de felinos em ambientes domiciliar e peridomiciliar, predominantemente em suas áreas mais carentes, como as Zonas Norte e Oeste da capital e a Baixada Fluminense (BARROS et al., 2004; SCHUBACH et al., 2005; FREITAS et al., 2010). Em 2013, a esporotricose passou a ser de notificação compulsória no estado do Rio de Janeiro, devido à magnitude desse agravo (Resolução SES Nº 674 DE 12/07/2013).

No que tange ao tratamento, a maioria dos pacientes apresenta uma boa resposta ao itraconazol ou à terbinafina, com cura após uma média de 12 semanas de uso das medicações. Entretanto, alguns pacientes apresentam dificuldade no seu manejo terapêutico, com uma resposta insatisfatória aos antifúngicos orais, ou necessidade de interrompê-los devido às reações adversas. Não é incomum que pacientes com resposta inicial necessitem de antifúngicos por mais de seis meses (BARROS et al., 2004; 2011b; FREITAS et al., 2010), mantendo uma ou duas lesões ativas, apesar da cicatrização das demais. Nesses casos, uma abordagem local, como a criocirurgia, pode ser associada para auxiliar na cura das lesões (FERREIRA et al., 2011; SECCHIN et al., 2017).

Outro grupo que representa um desafio terapêutico na esporotricose são as gestantes. O itraconazol possui potencial teratogênico; o iodeto de potássio pode causar anomalias na tireoide fetal, e a terbinafina é excretada no leite materno além de não ter seu perfil de segurança atestado em gestantes. O ideal, portanto, durante o período da gestação, é a utilização de métodos físicos para o tratamento, sendo a anfotericina B reservada apenas para casos graves (KAUFFMAN et al., 2007; OROFINO-COSTA et al., 2011; FERREIRA et al., 2012). Aplicação de calor local é a modalidade terapêutica mais descrita nesse grupo, mas a criocirurgia representa uma opção segura e que pode ser efetiva, apesar do seu uso não ter sido descrito em gestantes para o tratamento da esporotricose.

A criocirurgia é um método utilizado para o tratamento de inúmeras dermatoses, benignas, pré-malignas e algumas malignas. Com relação às doenças infecciosas, é indicada para verrugas, molusco contagioso, leishmaniose cutânea e cromoblastomicose (MORAES et al., 2008; LÓPEZ-CARVAJAL et al., 2016; AGARWAL et al., 2017), mas pouco relatada na

esporotricose. O mecanismo de ação envolve estímulo da resposta inflamatória local e destruição da lesão pelo congelamento provocado pelo contato com o criógeno.

O Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas (INI) – Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz) - é uma referência no tratamento de pacientes com esporotricose, com uma casuística ímpar – mais de 4.600 casos atendidos até 2016. No contexto desta hiperendemia crescente e diante de casos mais complexos, de difícil manejo, seja pela resposta insatisfatória, por contraindicação, ou mesmo por reações adversas ao tratamento padrão, a criocirurgia tem sido cada vez mais indicada.

Diversos trabalhos do INI sobre esporotricose foram publicados com relatos de sucesso com uso de criocirurgia como tratamento adjuvante, mas envolvendo uma pequena casuística (FRANCESCONI et al., 2009; FERREIRA et al., 2011; ALMEIDA-PAES et al., 2017). Entretanto, um estudo detalhando e sistematizando a criocirurgia no contexto da esporotricose ainda não foi realizado. Por isso, o estudo de uma casuística maior, abrangendo a experiência de uma década, será importante para consolidar o conhecimento e o papel da criocirurgia nessa micose.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA DA ESPOROTRICOSE

2.1 Breve histórico

O primeiro caso de esporotricose data de 1898, relatado por Benjamin Schenck no hospital Johns Hopkins nos Estados Unidos da América (EUA). Nesta ocasião, o fungo isolado foi estudado pelo micologista Erwin F. Smith que concluiu pertencer ao gênero *Sporotrichum* (SCHENCK, 1898). Hektoen e Perkins (1900) relataram o segundo caso em 1900, em Chicago, e foram os primeiros a utilizar a denominação, *Sporothrix schenckii*, para caracterizar o fungo. Em 1903, foi descrito o primeiro caso na Europa, e durante as duas primeiras décadas do século XX, a doença tornou-se comum na França, onde Ramond, Beurmann, Gougerot e outros contribuíram com novos relatos. Os dois últimos descreveram formas disseminadas da doença além da forma cutânea (KWON-CHUNG; BENNETT, 1992). Ainda em 1903, Sabouraud sugeriu a Beurmann e Gougerot o uso do iodeto de potássio para o tratamento da esporotricose, que se mantém até os dias de hoje como uma opção terapêutica. No Brasil, Lutz e Splendore (1907) identificaram o primeiro caso de infecção natural em animais (ratos). Um ano mais tarde, Splendore contribuiu para o diagnóstico histopatológico da esporotricose ao descrever os corpos asteroides. Terra e Rabelo descreveram o primeiro caso no Rio de Janeiro em 1912 (DONADEL et al., 1993). A infecção felina naturalmente adquirida foi apenas relatada no início dos anos 50, nos EUA, por Singer e Muncie (1952), enquanto no Brasil isto se deu em 1956 (FREITAS et al., 1956). Em 2007, após análise fenotípica e genotípica de diversos isolados obtidos em diferentes países, foi proposta uma divisão do agente *S. schenckii* em um complexo, composto por diferentes espécies patogênicas (MARIMON et al., 2007).

2.2 O agente

O Complexo *Sporothrix* faz parte do reino Fungi, é um organismo eucariótico, heterotrófico, sem mobilidade própria, apresentando parede celular rígida e quitinosa. Pertence à Divisão Ascomycota e à classe Pyrenomycetes, ordem Ophiostomatales, e família Ophiostomaceae (GUARRO et al., 2012). Por mais de um século após o primeiro relato de

esporotricose, acreditou-se que ela era causada por uma única espécie: *S. schenckii*. Após estudos moleculares filogenéticos, demonstrou tratar-se de várias espécies que foram, então, agrupadas no complexo *Sporothrix* (MARIMON et al., 2006). Atualmente, esse complexo compreende as seguintes espécies com maior relevância clínica: *S. schenckii* sensu stricto, *Sporothrix brasiliensis*, *Sporothrix globosa*, *Sporothrix luriei*. As novas espécies descritas apresentam especificidades com relação às distribuições geográficas, perfis de virulência e vias de infecção (RODRIGUES et al., 2013a; FERNANDES et al., 2013). *Sporothrix globosa* é cosmopolita, encontrado em material vegetal em decomposição, caracterizando uma sapronose, e possui baixa patogenicidade. *Sporothrix schenckii* tem ecologia semelhante a *S. globosa*, mas já foi relacionado, em menor extensão à transmissão zoonótica (ZHANG et al., 2015). *Sporothrix mexicana* já foi encontrado em certas amostras ambientais do México e em casos de esporotricose humana na Europa e no Brasil, associado a casos leves da doença (MARIMON et al., 2007; DIAS et al., 2011; RODRIGUES et al., 2013a). Em relação a *S. brasiliensis*, parece estar restrito ao Brasil, é responsável pela hiperendemia em curso na região metropolitana do Rio de Janeiro (RODRIGUES et al., 2013a), relacionado principalmente à transmissão zoonótica e é considerada a espécie mais virulenta (FERNANDES et al., 2013; ZHANG et al., 2015). *Sporothrix luriei* é um agente raro de esporotricose humana, com um único caso comprovado na África do Sul (MARIMON et al., 2008), e dois casos na Itália e na Índia (ZHANG et al., 2015). Poucos casos de infecção foram relatados por *S. mexicana* e *Sporothrix pallida* (ZHOU et al., 2014; RODRIGUES et al., 2014a), tendo sido a última espécie, associada a casos de imunossupressão, como em transplantados (MORRISON et al., 2013). A espécie *Sporothrix chilensis* também pertence ao complexo, mas está até o momento restrita ao Chile, com potencial patogênico baixo, não sendo atribuída até então a quadros clássicos de esporotricose (RODRIGUES et al., 2016).

2.3 Epidemiologia

A esporotricose possui ocorrência global, mais comum em regiões tropicais e subtropicais, sendo a micose subcutânea mais prevalente na América Latina (BARROS et al., 2004). Ocorre principalmente sob a forma de casos isolados ou pequenos surtos envolvendo pessoas expostas a vegetais ou solo rico em matéria orgânica, como agricultores, floristas, jardineiros e mineiros. Transmissão profissional em laboratoristas também já foi descrita (CARRADA-BRAVO, 1975; COOPER et al., 1992).

Diversos surtos foram documentados em vários países, mas a maior epidemia no século XX ocorreu entre 1941 e 1944 na África do Sul onde cerca de 3.000 mineradores adquiriram a doença após contato com vigas de madeira contaminadas com o fungo (HELM; BERMAN, 1947). Nos Estados Unidos, foram descritos surtos relacionados ao contato com musgo e pinheiros (COLES et al., 1992), além de uma microepidemia no início dos anos 90 em que pessoas adquiriram esporotricose após exposição com feno, que albergava *Sporothrix*, estocado numa casa abandonada, onde se realizavam festas de *Halloween* (DOOLEY et al., 1997). Na Austrália, entre os anos de 2000 e 2003, um surto foi também relacionado ao feno contaminado (FEENEY et al., 2007). No nordeste da China, onde a doença é endêmica, 457 casos foram descritos no período de 2007 a 2009 (SONG et al., 2013). Na Ásia, especialmente na China, estudos moleculares demonstraram que 99,3% dos casos são causados por *S. globosa* (ZHANG et al., 2015; MOUSSA et al., 2017). No Brasil, os casos de esporotricose relacionados à via clássica de transmissão, adquiridos por exposição à matéria orgânica contaminada, foram descritos principalmente nos estados de São Paulo e Rio Grande do Sul (SAMPAIO et al., 1954; LONDERO; RAMOS, 1989; LOPES et al., 1999; DA ROSA et al., 2005).

Casos esporádicos de transmissão zoonótica têm sido relatados relacionados com picadas de mosquitos, abelhas, cobras, bicadas de papagaios e outras aves, ou mordidas de ratos, cavalos, cachorros e peixes (MEYER, 1915; KWON-CHUNG; BENNETT, 1992; SARAVANAKUMAR et al., 1996; LACAZ, 2002). Outros animais como tatus, roedores, aves e cães já foram envolvidos na transmissão da doença (KAUFFMAN, 1999; MEYER, 1915) e mais recentemente, uma calopsita foi descrita como agente da transmissão da micose (FICHMAN et al., 2017).

Epidemias foram relatadas relacionadas à caça de tatus no Uruguai, Argentina e Brasil (CONTI-DIAZ, 1980; ALVES et al., 2010). A importância do gato na transmissão zoonótica começou a ser discutida após um surto envolvendo cinco pessoas que adquiriram esporotricose após contato com um gato doente (READ; SPERLING, 1982).

No estado do Rio de Janeiro, desde 1998, foi notado um aumento no número de casos de esporotricose relacionada à transmissão por gatos, e que hoje configura uma epidemia, ou mesmo, uma hiperendemia de esporotricose (FREITAS et al., 2010). A maioria dos casos é proveniente do município do Rio de Janeiro e arredores como: Duque de Caxias, São João de Meriti, Nova Iguaçu, Belford Roxo e Nilópolis, onde as condições socioeconômicas são desprivilegiadas, com precariedade nos serviços de saneamento, saúde e urbanismo

(BARROS et al., 2004). O perfil epidemiológico é caracterizado principalmente por pessoas fora do mercado de trabalho, aposentados, mulheres que exercem atividades domésticas e crianças, caracterizando uma transmissão zoonótica domiciliar tendo o gato como transmissor (BARROS et al., 2008; SILVA et al., 2012). Estudos moleculares identificaram *S. brasiliensis* como a principal espécie envolvida nesta epidemia (OLIVEIRA et al., 2011; RODRIGUES et al., 2013b, ALMEIDA-PAES et al., 2014).

2.4 Patogenia

A patogenia da esporotricose é multifatorial, envolvendo o mecanismo de transmissão da doença, o tamanho do inóculo, a virulência da cepa infectante, a profundidade da inoculação traumática e a resposta imunológica do hospedeiro (CARLOS et al., 2009).

A infecção por *Sporothrix* spp. geralmente ocorre após inoculação do fungo na pele em decorrência de traumas. Na via de transmissão clássica, o fungo presente em matéria orgânica, entra na pele após acidentes com gravetos, espinhos e outros, por isso tradicionalmente a esporotricose ficou conhecida como “doença do jardineiro” ou “doença da roseira”. Ocorre implantação do fungo na forma de micélio, que alcança as camadas mais profundas da pele, onde assumirá a forma parasitária. Na via de transmissão zoonótica, a implantação do fungo ocorre por mordedura ou arranhadura de gatos, ou mesmo por contaminação em solução de continuidade cutânea pré-existente. Gatos com esporotricose têm alta carga parasitária em suas lesões e, neste modo de transmissão, os humanos podem ser infectados diretamente por leveduras, ou por hifas (SCHUBACH et al., 2002; BARROS et al., 2004).

Na esporotricose, a resposta imune do hospedeiro e virulência dos isolados são determinantes nas manifestações clínicas da doença. Os mecanismos imunológicos envolvidos frente a infecções por *Sporothrix* spp. ainda não são muito bem compreendidos, mas nos últimos anos essa área de conhecimento vem se expandindo. A fagocitose conduzida por macrófagos, células dendríticas e neutrófilos constitui a primeira linha de defesa para o hospedeiro contra *Sporothrix* spp. Após a fagocitose, essas linhagens promovem, através de várias vias de sinalização, processamento e apresentação de antígenos; tráfico intracelular; produção de oxigênio reativo e espécies de nitrogênio levando a uma resposta inflamatória. O sistema complemento pode ser ativado pelo *Sporothrix* spp., especialmente a via alternativa. A ativação do complemento pode auxiliar na fagocitose de leveduras por células do

hospedeiro por deposição do componente C3b na parede celular fúngica. Além disso, o complexo de ataque à membrana também contribui para a lise das leveduras (TORINUKI; TAGAMI, 1985; SCOTT et al., 1986).

Na resposta imune adaptativa, antígenos distintos de superfície celular do fungo são capazes de desencadear tanto a resposta celular como humoral no hospedeiro (CARLOS et al., 1992; 2009; MAIA et al., 2006). A resposta humoral é induzida por proteínas secretadas pelo fungo, os exoantígenos (CARLOS et al., 2003), e dirigida por IL-4 produzida por células Th2. (CARLOS et al., 2009). Os anticorpos específicos produzidos contra *Sporothrix* spp. parecem não desempenhar um papel protetor específico na patogênese da esporotricose, mas são úteis para fins de diagnóstico (BARROS et al., 2011a). Estudos recentes enfatizam a importância de receptores do tipo *Toll* na esporotricose. Esse processo envolve uma resposta inata através do reconhecimento do *Sporothrix* spp. pelos receptores *Toll like* (TLR) e uma resposta adaptativa que consiste num padrão misto de linfócitos *T helper* 1 e *T helper* 17 (Th1/Th17). Duas moléculas TLR têm destinos opostos na patogênese da esporotricose: o reconhecimento do *Sporothrix* spp. pelo TLR4 leva a uma resposta inflamatória, enquanto a ativação dos TLR2 por exoantígenos do fungo suprime a resposta inflamatória, constituindo um mecanismo de escape do *Sporothrix* spp. (CARLOS et al., 2015). As respostas Th1 e TH17 atuam como fator de controle da infecção, sendo importantes na patogênese da esporotricose (UENOTSUCHI et al., 2006; VERDAN et al., 2012). A secreção de IL17, pela resposta Th17, promove atividade pró-inflamatória, incluindo o recrutamento de neutrófilos e produção de citocinas pró-inflamatórias pelas células epiteliais (ROSSATO, 2017).

Com relação ao fungo, existem vários fatores que podem alterar a patogenia da esporotricose. A termotolerância é um dos mais conhecidos. Isolados de *Sporothrix* spp. capazes de crescer a 35°C, mas não a 37°C, em geral, produzem lesões fixas. Por outro lado, aqueles que crescem a 37°C, costumam determinar surgimento de formas linfáticas, disseminadas ou extracutâneas (ALMEIDA-PAES et al., 2015). Outros, como adesinas, essenciais para, como o nome diz, adesão em tecidos do hospedeiro, e melanina, que protege o fungo de uma série de eventos na resposta do hospedeiro, são fatores que podem ser atribuídos a sua virulência, facilitando sua penetração na corrente sanguínea e consequente disseminação hematogênica (BARROS et al., 2011a).

2. 5 Diagnóstico laboratorial

2.5.1 Diagnóstico micológico

2.5.1.1 Exame micológico direto

Colhe-se o pus de lesões abertas ou fechadas com auxílio de alças ou punção com agulha. Na ausência de exsudato, procede-se à biópsia da lesão. À dependência da forma clínica, outros materiais biológicos como líquido, líquido sinovial e escarro também podem ser utilizados. No exame micológico direto, o material colhido das lesões é colocado sobre lâmina de vidro com adição de hidróxido de potássio (KOH) a 10 – 20% ou hidróxido de sódio (NaOH) a 4% para observação ao microscópio óptico. Em humanos, é raramente positivo, pois as células leveduriformes são pequenas e muito escassas e, portanto, de difícil visualização (KWON-CHUNG; BENNETT, 1992; ZANCOPÉ-OLIVEIRA et al., 2011). É um exame com bom rendimento em gatos, nos quais a carga fúngica é muito alta (BARROS et al., 2011a).

2.5.1.2 Cultura

O isolamento e identificação do fungo em cultura é considerado o método padrão-ouro. O isolamento de *Sporothrix* spp. é obtido por semeadura dos espécimes clínicos colhidos em meios ágar-Sabouraud com cloranfenicol e em meio com cicloheximida - Mycosel (Mycobiotic Agar – DIFCO). Após três a cinco dias, mas que pode se estender até quatro semanas de incubação a 25°C, observam-se colônias úmidas de aspecto membranoso inicialmente de coloração branca a creme que posteriormente produzem pigmento preto. Ao exame microscópio, essas colônias apresentam-se como hifas delgadas, hialinas, septadas e ramificadas com conídios unicelulares ovais ou piriformes dispostos ao longo da hifa com aparência de cachos ou buquê. Esses conídios podem apresentar-se como demáceos ou hialinos. Quando submetida à temperatura de 37 °C, em meio *brain heart infusion* (BHI) com extrato de levedura, a colônia é revertida à fase leveduriforme e apresenta-se com textura cremosa, de coloração branca a creme, cuja micromorfologia revela elemento fúngico unicelular ovalado, globoso ou fusiforme, com aspecto de “charuto” que pode apresentar um ou mais brotamentos. Este processo de reversão termo-dependente, chamado de dimorfismo,

confirma o diagnóstico de esporotricose (RIPPON, 1988; KWON-CHUNG; BENNETT, 1992; PENHA; BEZERRA, 2000; LACAZ, 2002; ZANCOPE-OLIVEIRA et al., 2011).

2.5.2 Diagnóstico imunológico

O teste cutâneo (intradermorreação) com esporotriquina detecta reação de hipersensibilidade do tipo tardia, ou seja, resposta imune celular (tipo IV). Pode ser uma ferramenta diagnóstica útil em estudos epidemiológicos. Entretanto, hoje está em desuso, pois apesar de sensibilidade acima de 90%, tem baixa especificidade e pode indicar infecção prévia (ITOH et al., 1986; LOPES-BEZERRA et al., 2006; ALMEIDA-PAES, 2007b).

A sorologia visa detecção de anticorpos no soro de pacientes com esporotricose. Auxilia o diagnóstico em formas atípicas e extracutâneas da doença e quando há dificuldade de obtenção de espécimes clínicos, por escassez de material ou quando há necessidade de métodos mais invasivos para acessar o sítio anatômico acometido (BERNARDES-ENGEMANN et al., 2005; LOPES-BEZERRA et al., 2006). Dois testes imunoenzimáticos, ambos com elevada acurácia, vêm sendo utilizados. Um deles utiliza um antígeno purificado da parede celular da fase leveduriforme do fungo (BERNARDES-ENGEMANN et al., 2005) e o outro, um extrato bruto de cultivo da fase filamentosa de *Sporothrix* spp. (ALMEIDA-PAES et al., 2007b).

2.5.3 Diagnóstico histopatológico

Os achados histopatológicos são, em geral, inespecíficos, podendo se assemelhar a outras doenças inflamatórias e infecciosas. A exemplo do que ocorre no exame micológico direto, o fungo raramente é visualizado, mesmo com uso de técnicas específicas que aumentam sua detecção como a coloração com o ácido periódico de Schiff (PAS) e a impregnação pela prata, dada sua escassez no tecido humano e seu diminuto tamanho (MORRIS-JONES, 2002). Dermatite difusa, infiltrado inflamatório granulomatoso com necrose caseosa ou de liquefação são achados comuns. O granuloma mais típico é composto de três zonas distintas: uma área central de necrose com predomínio de polimorfonucleares; a zona intermediária com histiócitos epitelioides e a mais externa rica em plasmócitos e linfócitos (QUINTELLA et al., 2011, 2012). Em alguns casos, pode ser visualizado o corpo

asteroide, formado pela estrutura fúngica basofílica cercada por raios eosinofílicos de complexos antígeno-anticorpo (RIPPON, 1988; KWON-CHUNG; BENNETT, 1992).

2.5.4 Diagnóstico molecular

O diagnóstico molecular na esporotricose é importante, pois permite a identificação das espécies, aumentando a precisão no diagnóstico, além de ser um método rápido. Entre as tecnologias disponíveis atualmente, métodos baseados em cadeia da reação da polimerase (PCR) predominam, por terem, em geral, maior sensibilidade e especificidade entre as espécies do complexo *Sporothrix* quando comparados aos testes fenotípicos (OLIVEIRA et al., 2011; RODRIGUES et al., 2015). O padrão-ouro para identificação molecular das espécies de *Sporothrix* é o sequenciamento parcial do gene da calmodulina (MARIMON et al., 2007). A técnica de análises de *fingerprinting* utiliza o iniciador T3B, que amplifica uma região do RNA transportador, onde cada espécie de *Sporothrix* apresenta um perfil de bandas específico em gel de agarose (OLIVEIRA et al., 2012). O método baseado no polimorfismo dos fragmentos gerados por endonucleases de restrição (PCR-RFLP) do gene da calmodulina demonstra também especificidade entre as espécies (RODRIGUES et al., 2014b). Recentemente, Oliveira et al. (2015) validaram a técnica de espectrometria de massas por MALDI-TOF na identificação das espécies do complexo *Sporothrix*, podendo ser também uma ferramenta no diagnóstico.

2.6 Apresentação clínica

A esporotricose é uma doença de curso subagudo ou crônico, que afeta principalmente a pele e os vasos linfáticos, mas com potencial de disseminação para articulações, ossos e órgãos internos, principalmente em indivíduos imunossuprimidos (RIPPON, 1988; KWON-CHUNG; BENNETT, 1992; LACAZ, 2002; ZANCOPÉ-OLIVEIRA et al., 2011). A doença pode ser dividida em quatro formas clínicas: linfocutânea; fixa; cutânea disseminada e extracutânea (SAMPAIO et al., 1954).

A linfocutânea é a forma clínica mais comum, correspondendo a cerca de 70% dos casos (LOPES-BEZERRA et al., 2006; BARROS et al., 2011a). A lesão primária surge em 7 a 30 dias após trauma no local e encontra-se usualmente nos sítios mais expostos como mãos e antebraços. A lesão de inoculação aumenta e progride com nódulos subcutâneos ao longo do

trajeto linfático regional, que podem sofrer necrose e fistulizar, caracterizando as gomas. Em geral, não há sintomas sistêmicos e a dor é de intensidade baixa ou ausente.

A forma fixa é a segunda forma mais frequente, abrange cerca de 25% dos casos. A lesão permanece restrita ao local de inoculação, sem envolvimento linfático, apresentando-se como úlcera, placa verrucosa, crostosa ou infiltrada com ou sem lesões satélites. Forma comum em crianças, associada a um bom estado imunológico do hospedeiro e a sensibilização prévia do indivíduo ao fungo (LAVALLE; MARIAT, 1983; BARROS et al., 2008). Pode ocorrer involução espontânea ou tender a grande cronicidade. Representa importante diagnóstico diferencial com outras doenças infecciosas como leishmaniose cutânea, tuberculose cutânea, micobacterioses atípicas, cromoblastomicose, e mesmo com carcinoma cutâneo.

A forma cutânea disseminada caracteriza-se por múltiplas lesões cutâneas que afetam mais de um segmento corporal. É menos frequente e conjuntamente com as formas extracutâneas/disseminadas representam 5% dos casos de esporotricose. Estas formas estão associadas a condições imunossupressoras tais como infecção pelo HIV, uso de corticoterapia, diabetes, alcoolismo, neoplasias e transplantes de órgãos (principalmente de rins). As lesões são pleomórficas e evoluem de forma subaguda, em semanas a meses. São caracterizadas por pápulas, lesões moluscoides, placas, nódulos e ou lesões císticas. Tendem a ulcerar, ser numerosas e de maiores dimensões do que nas formas localizadas. No contexto atual da hiperendemia de transmissão zoonótica pode ser causada por múltiplos inóculos em locais de trauma causados pelo animal, não relacionada à doença sistêmica (BARROS et al., 2011a; FREITAS, 2014a).

Nas formas extracutâneas, qualquer órgão ou tecido pode ser acometido pela esporotricose e os sintomas são relacionados ao órgão afetado. São formas muitas vezes associadas à imunossupressão causadas, por exemplo, por diabetes, alcoolismo, uso de drogas ilícitas, aids (Síndrome da Imunodeficiência Adquirida) e neoplasias (RIPPON, 1988; KWON-CHUNG; BENNETT, 1992; LACAZ, 2002). Essas formas podem se manifestar em um sítio somente como doença extracutânea localizada ou unifocal, ou acometer vários locais, caracterizando doença extracutânea disseminada. A esporotricose extracutânea unifocal geralmente envolve doença cavitária dos pulmões ou doença articular.

O sistema osteoarticular é o local mais acometido depois da pele, podendo resultar de trauma direto, disseminação hematogênica ou por lesão cutânea sobrejacente (OROFINO-COSTA et al., 2017). Na osteomielite associada à esporotricose, a presença de artrite e lesões

cutâneas podem estar ou não associadas ao quadro. Edema local e fístula são sinais que podem ajudar na suspeição da osteomielite. Tíbia, ossos dos pés e/ou das mãos, rádio, ulna, ossos do crânio e da face são os mais afetados. O joelho é a articulação mais afetada, seguida das articulações da mão, cotovelo e tornozelo. Ao exame, observam-se sinais de artrite e, se a doença é unifocal, sintomas sistêmicos estão ausentes. Tenossinovite isolada ou associada à esporotricose osteoarticular pode aparecer.

A forma pulmonar pode ocorrer por inalação de conídios, que pode ser assintomática, ou por disseminação hematogênica em pacientes imunossuprimidos. As manifestações clínicas são semelhantes às de outras micoses pulmonares, tuberculose e sarcoidose, com febre, tosse e mal-estar.

O acometimento do sistema nervoso central pode ocorrer com abscesso cerebral ou meningite crônica. Hidrocefalia é descrita como complicação potencialmente grave nesses casos (FREITAS, 2014a). Está muito associado a quadros de imunossupressão avançada, e principalmente nos últimos anos à aids.

Acometimento da mucosa oral, nasal, faringe, nariz e laringe pode ocorrer tanto por via direta, por contiguidade a lesões adjacentes quanto por disseminação hematogênica (FREITAS, 2014a). Eritema e ulceração estão presentes. Perfuração de septo nasal já foi observada em pacientes com aids. Odinofagia, coriza, obstrução nasal, disfagia são sintomas decorrentes da linfadenomegalia satélite.

A mucosa ocular é a mais frequentemente envolvida podendo manifestar-se como conjuntivite, uveíte, coroidite e lesões retrobulbares. Dacriocistite pode ser uma complicação quando o ducto lacrimal é afetado (FREITAS et al., 2014b; DE MACEDO et al., 2015). Coriorretinite e outras lesões retrobulbares estão mais relacionadas à disseminação hematogênica do fungo, enquanto lesões anteriores estão associadas à inoculação direta (OROFINO-COSTA et al., 2017).

Reações de hipersensibilidade podem ocorrer associadas ao quadro de esporotricose, como eritema nodoso (GUTIERREZ-GALHARDO et al., 2002), eritema multiforme (GUTIERREZ-GALHARDO et al., 2005), Síndrome de Sweet (FREITAS et al., 2012) e artrite reativa (OROFINO-COSTA et al., 2010). Essas manifestações, assim como a forma ocular e a forma cutânea disseminada em pessoas hígidas, estão associadas à transmissão zoonótica.

2.7 Tratamento

As opções terapêuticas incluem os antifúngicos orais, solução saturada de iodeto de potássio e medidas locais que, em geral, são utilizadas como adjuvantes.

2.7.1 Solução saturada de iodeto de potássio

Foi inicialmente utilizada para esporotricose por De Beurmann e Ramond (1903), por sugestão de Sabouraud. Seu mecanismo de ação permanece não totalmente esclarecido, mas sugere-se que atue na resposta imune inflamatória, promovendo uma desestruturação do granuloma, quimiotaxia de neutrófilos e aumento da fagocitose (TORRES-MENDOZA et al., 1997; STERLING; HEYMANN, 2000). É indicado para formas localizadas da doença, em indivíduos imunocompetentes, e também para formas de hipersensibilidade, como eritema nodoso e artrite reativa, devido ao seu efeito imunomodulador. Apesar do itraconazol ser hoje o fármaco de escolha no tratamento da esporotricose, a solução saturada de iodeto de potássio ainda é muito utilizada devido ao seu baixo custo e efetividade (DE MACEDO, 2014; OROFINO-COSTA et al., 2017). A dose usualmente recomendada é de 6-7,5 gramas por dia para adultos, e de 3,75-6 gramas por dia para crianças, dividida em três tomadas diárias (KAUFFMAN et al., 2007; OROFINO-COSTA et al., 2017), porém, em um estudo mais recente sugeriu-se que doses diárias menores e administradas duas vezes ao dia são efetivas para a maioria dos casos (MACEDO et al., 2015). Os principais efeitos adversos são gosto metálico, náusea, diarreia e erupção acneiforme. O uso prolongado pode acarretar em sintomas de iodismo (acentuado gosto metálico e queimação na boca, sialorreia, sensibilidade nos dentes e gengivas e cefaleia) ou toxicidade pelo potássio (arritmias, fraqueza, confusão mental, parestesia em mãos). É contraindicado para pacientes com disfunção tireoidiana, alergia a iodo, insuficiência renal crônica ou usuários de diurético poupador de potássio, além de gestantes e nutrízes (risco categoria D) (STERLING; HEYMANN, 2000).

2.7.2 Derivados Azólicos

O itraconazol é considerado o fármaco de primeira escolha no tratamento da esporotricose cutânea e osteoarticular, também indicado para crianças. Suas vantagens são efetividade, posologia cômoda, tolerabilidade e baixa toxicidade, mesmo com o uso

prolongado. Em formas disseminadas e sistêmicas da doença, pode ser usado em sequência ao tratamento com anfotericina B (KAUFFMAN et al., 2007; BARROS et al., 2011b).

O itraconazol é um triazólico sintético, lipossolúvel, com ação fungistática, que atua inibindo a síntese do ergosterol na membrana citoplasmática, interferindo com o crescimento do fungo (BENNETT, 2001). A dose recomendada é de 100 a 400 mg por dia, dependendo da forma clínica e gravidade da doença. Nas formas cutâneas, inicia-se com 100 mg por dia, que é efetivo na maioria dos casos, e nas formas osteoarticulares com 400 mg por dia (KAUFFMAN et al., 2007; BARROS et al., 2011a).

A principal restrição ao uso do itraconazol, além do custo, são as interações medicamentosas, uma vez que é metabolizado no fígado, principalmente pela isoenzima CYP3A4 do citocromo P450, via comum de metabolização de vários outros fármacos (BENNETT, 2001; FRANCESCONI et al., 2011). Os efeitos adversos mais comuns são dor de cabeça e manifestações no trato gastrointestinal. É hepatotóxico, com potencial teratogênico e embriotóxico, não devendo ser usado por pacientes hepatopatas e gestantes (categoria de risco C). Além disso, possui efeito inotrópico negativo, exigindo cautela em pacientes com história de insuficiência cardíaca (BENNETT, 2001; OROFINO-COSTA et al., 2017).

O posaconazol é um triazólico de amplo espectro, que demonstrou boa atividade contra *Sporothrix* spp. em estudos de susceptibilidade *in vitro* (RODRIGUES et al., 2014c; BORBA-SANTOS et al., 2015; ALMEIDA-PAES et al., 2017a). Em modelo murino, preveniu a morte por *S. schenckii* e *S. brasiliensis* nos animais testados, além de ter reduzido a carga fúngica nos tecidos a níveis próximos aos conseguidos com a anfotericina B (FERNÁNDEZ-SILVA et al., 2012). O posaconazol foi usado com sucesso em dois casos de esporotricose disseminada: causada por *S. brasiliensis*, em paciente com aids (PAIXÃO et al., 2015); e por *S. schenckii*, em combinação com a anfotericina B, em um paciente com leucemia de células T cabeludas (BUNCE et al., 2012). Um fator limitante para o uso deste fármaco é o seu alto custo.

2.7.3 Terbinafina

A terbinafina é uma alilamina sintética com atividade fungicida que atua inibindo a síntese de ergosterol da parede do fungo por sua ação sobre a enzima esqualeno-epoxidase (BENNETT, 2001). Indicada para formas cutâneas de esporotricose, principalmente em casos

de contraindicação ao uso do itraconazol (KAUFFMAN et al., 2007). Sua eficácia já foi bem avaliada em estudos que utilizaram doses variando de 250 a 1.000 mg/dia (CHAPMAN et al., 2004; FRANCESCONI et al., 2009, 2011). A terbinafina possui menor potencial de interação medicamentosa por não ser metabolizada pela via do citocromo P450 o que a torna especialmente útil em pacientes com muitas comorbidades (FRANCESCONI et al., 2009). Pode ocasionar, como efeito adverso, dor de cabeça, alteração do paladar, desconforto gastrointestinal, neutropenia e erupção cutânea. Considerada como categoria B para uso em gestantes, devendo ser evitada inclusive durante a amamentação por ser excretada no leite (BENNETT, 2001). É contraindicada em pacientes com lúpus eritematoso por seu potencial fotossensibilizante.

2.7.4 Anfotericina B

A anfotericina B pertence à família dos antibióticos macrolídeos poliênicos, com ação fungicida, atua ligando-se ao ergosterol, formando poros ou canais na membrana celular, alterando sua permeabilidade, com consequente morte da célula por desequilíbrio osmótico (BENNETT, 2001). É indicada em casos graves de esporotricose, nas formas extracutâneas ou cutâneas disseminadas, principalmente em pacientes imunossuprimidos. Em gestantes com formas complicadas da doença, em que não se pode aguardar o parto ou tratar de forma conservadora, a anfotericina B é a única medicação sistêmica recomendada (categoria B) (KAUFFMANN et al., 2007; VALLE; GUTIERREZ-GALHARDO, 2012). É administrada por infusão intravenosa na dose de 0,25 a 1 mg/kg/dia na forma de desoxicolato, ou de 3 a 5 mg/Kg/dia na apresentação lipossomal e mantida até melhora clínica. Pode ocasionar hipocalemia, além de ser cardiotóxica e nefrotóxica. Sua apresentação lipossomal apresenta menor potencial de efeitos adversos (BENNETT, 2001; KAUFFMAN et al., 2007).

2.7.5 Tratamentos adjuvantes

O uso de terapias não farmacológicas é uma abordagem interessante uma vez que pode acelerar a cura clínica, reduzindo o custo do tratamento e tempo de exposição aos antifúngicos sistêmicos (ALMEIDA-PAES et al., 2017b).

2.7.5.1 Calor local

Aplicação de calor local sobre lesões cutâneas de esporotricose baseia-se na termossensibilidade de *Sporothrix* spp. que não tolera temperaturas acima de 39°C (KAUFFMAN, 1999; LACAZ et al., 2002). É realizado com bolsa de água quente, fonte de infravermelho ou outro método, com objetivo de se atingir uma temperatura próxima a 45°C, durante 30 minutos, três vezes ao dia. Constitui opção terapêutica nos casos de contraindicação ao uso de medicações sistêmicas, sendo o método mais descrito para gestantes com formas não complicadas de esporotricose (RIPPON, 1988; BUSTAMANTE et al., 2004; DOHERTY et al., 2010; OROFINO-COSTA et al., 2011; FERREIRA et al., 2012).

2.7.5.2 Eletrocoagulação e curetagem

Eletrocoagulação e/ou curetagem, assim como aspiração de lesões nodulares flutuantes, também podem ser utilizados, principalmente como métodos adjuvantes, possibilitando em alguns casos até mesmo a suspensão do antifúngico (VALLE; GUTIERREZ-GALHARDO, 2012; OROFINO-COSTA et al., 2017).

2.7.5.3 Terapia Fotodinâmica

A terapia fotodinâmica, associada a doses intermitentes de itraconazol, foi descrita para o tratamento de um caso de esporotricose cutânea, com cicatrização das lesões após três a cinco sessões (GILABERTE et al., 2014). Mais recentemente o mesmo autor publicou outro caso de esporotricose cutânea tratada unicamente com terapia fotodinâmica que evoluiu para cura após seis sessões (GILABERTE et al., 2017), porém esses resultados não parecem ter sido reproduzidos por outros autores.

2.7.6 Tratamento de gestantes

A epidemia zoonótica de esporotricose em curso no Rio de Janeiro tem como uma de suas características um acometimento maior de mulheres na idade adulta, e nesse contexto, as gestantes representam um grupo em risco de adquirir a doença (BARROS et al., 2004, 2011b; SILVA et al., 2012). Alguns quadros infecciosos podem evoluir de forma mais grave no

momento da gestação, devido uma influência hormonal ou por supressão da resposta imune celular com diminuição da relação de linfócitos T CD4⁺/CD8⁺ (LAPINSKY, 2013; WHITE et al., 2014; SAMPAIO et al., 2015), mas tal evolução não foi relatada na esporotricose. Em uma série de casos publicada por Orofino et al. (2011), 5 gestantes foram diagnosticadas com esporotricose no período de 1997 a 2009. Quatro pacientes apresentaram a forma linfocutânea, sendo duas tratadas com anfotericina B, uma com terbinafina, que engravidou durante o tratamento, e outra com calor local; uma paciente apresentou forma cutânea fixa e também foi tratada com calor local. Ferreira et al. (2012), descreveram uma série de casos com 12 gestantes diagnosticadas entre 2005 e 2010, em que 10 apresentaram a forma linfocutânea e 2, a forma cutânea fixa. Calor local foi o único tratamento instituído em oito casos; duas pacientes, além da termoterapia, receberam itraconazol após o parto, e em dois casos houve perda de seguimento.

A esporotricose na gestação representa um desafio terapêutico, sendo o ideal não medicar. O itraconazol, assim como outros azólicos, é contraindicado em gestantes, devido aos seus potenciais efeitos teratogênicos e embriotóxicos, sendo considerado categoria C. O iodeto de potássio é considerado categoria D, e está associado a hipotireoidismo neonatal, obstrução respiratória fetal e tempo de parto prolongado. Os efeitos da terbinafina sobre o feto são desconhecidos, e apesar de ser classificada com categoria de risco B, não há experiência clínica suficiente do seu uso na gestação, além disso, é excretada no leite materno podendo ter efeitos deletérios no lactente (PILMIS et al., 2015). Em casos graves de doença disseminada ou de difícil controle, a anfotericina B deve ser empregada (KAUFFMAN et al., 2007). Devido aos riscos apresentados pelas medicações sistêmicas, métodos físicos de tratamento são preferíveis. Aplicação de calor local é a modalidade terapêutica mais descrita nesse grupo de pacientes, podendo ser realizada com bolsas térmicas, 30 minutos, 3 vezes ao dia, conforme já descrito anteriormente (ROMIG et al., 1972; VANDERVEEN et al., 1982; KAUFFMAN et al., 2007; AGARWAL et al., 2008). A criocirurgia é outro método físico disponível, considerado seguro para outros tratamentos dermatológicos em gestantes, como verrugas (AL HAMMADI et al., 2006), mas pouco explorado na esporotricose.

3 CRIOCIRURGIA

A criocirurgia é um recurso terapêutico há muito usado na dermatologia para o tratamento de diversas lesões cutâneas benignas, pré-malignas e malignas, tendo por objetivo a destruição controlada dessas lesões por meio do congelamento (ZOUBOULIS, 1999; ZIMMERMAN; CRAWFORD, 2012). Os termos crioterapia e criocirurgia são muitas vezes utilizados como sinônimos, porém, nos EUA, convencionou-se que o primeiro deveria ser reservado para procedimentos em que não há destruição dos tecidos, como no uso para acne, alopecia areata e *peelings* superficiais (KUFLIK, 1994).

James Arnott, um médico inglês, foi o primeiro a utilizar a aplicação local de frio extremo para destruição de tecidos, com trabalhos publicados entre 1819 e 1879. Ele usava uma mistura de sal com gelo triturado para tratamento, na maioria dos casos paliativo, de tumores de mama, útero e pele, obtendo controle de dor e sangramento, e advogava o uso do frio na acne, neuralgias e cefaleia (COOPER; DAWBER, 2001). Em 1885, C. Gerhardt, um dermatologista alemão, descreveu o uso de compressas de gelo sobre lesões de tuberculose cutânea aplicadas durante três horas, duas vezes ao dia, obtendo melhora em quatro casos após duas a quatro semanas (ZOUBOULIS, 1999). A criocirurgia, no entanto, só se tornou mais efetiva com o advento dos criógenos, capazes de gerar temperaturas mais baixas nos tecidos.

O primeiro criógeno usado na medicina foi o ar líquido, por Campbell White, em Nova York. Em 1899, ele descreveu ensaios clínicos usando o ar líquido em spray para várias condições como, lúpus eritematoso, herpes zoster, nevos, verrugas e carcinomas basocelulares (WHITE, 1899). Alguns anos mais tarde, em Chicago, William Pusey (1935), usou neve de dióxido de carbono como criógeno e relatou o tratamento de um nevo na face de uma menina, ressaltando o bom resultado estético da técnica. Em 1940, o nitrogênio líquido passou a ser aplicado por meio de *swabs*. Ao longo do tempo, equipamentos específicos foram sendo desenvolvidos que permitiam um congelamento e destruição tecidual mais profundos. O nitrogênio líquido é o criógeno mais usado atualmente, e isso se deve ao fato de possuir o mais baixo ponto de evaporação (-196°C), o que o torna adequado para o tratamento tanto de lesões benignas quanto malignas, além de ter efeitos previsíveis e já bem documentados (COOPER; DAWBER, 2001).

As alterações biológicas provocadas pela criocirurgia ocorrem por redução de temperatura, com a transferência de calor entre o tecido e o criógeno, com consequente congelamento. A injúria tecidual é induzida pelo congelamento das células e pela estase vascular que sucede a fase de descongelamento (CRANWELL; SINCLAIR, 2017). Um dos fatores determinantes do grau de dano causado pelo frio no tecido é a velocidade com que a transferência de temperatura ocorre. O resfriamento lento provoca cristalização da água extracelular, que é um dano reversível, enquanto o resfriamento rápido provoca cristalização da água intracelular com dano irreversível. Quanto menor for a temperatura alcançada, e quanto mais rápido for esse processo, maior será a formação de gelo intracelular. A taxa de descongelamento também influencia o grau de injúria, pois o descongelamento lento provoca maior acúmulo de eletrólitos no intracelular (THAI; SINCLAIR, 1999). Após o período de descongelamento, a estase vascular leva à anóxia e consequente necrose isquêmica. A repetição dos ciclos de congelamento e descongelamento amplifica todo o processo descrito e leva a efeitos máximos de destruição (KUFLIK, 1994; ZOUBOULIS, 1999).

A criocirurgia pode ser indicada para muitas dermatoses, como método isolado ou como adjuvante aos tratamentos medicamentosos ou cirúrgicos convencionais. Entre as indicações mais comuns estão lesões benignas como ceratose seborreica, hemangiomas e lentigos; lesões pré-malignas como a ceratose actínica e lesões malignas com doença de Bowen e carcinoma basocelular (DACHÓW-SIUVÉC, 1990; AFSAR et al., 2015; CRANWELL; SINCLAIR, 2017). Também é uma modalidade útil para muitas lesões infecciosas, devido ao seu efeito necrótico tecidual e, consequentemente, destrutivo sobre os agentes infecciosos, além dos seus efeitos de indução da resposta inflamatória local. Algumas dermatoses virais como verruga e molusco contagioso são umas das principais indicações do método, mas a criocirurgia já foi relatada como opção terapêutica para herpes simples e sarcoma de Kaposi, relacionado ao herpes vírus tipo 8 (SERFLING; HOOD, 1991; TUR et al., 1996; MORAES et al., 2008). O congelamento pode ser usado para redução do prurido e destruição do parasita na larva migrans, e já foi bem documentado para tratamento da leishmaniose cutânea, apresentando resultados satisfatórios (MORAES et al., 2008; LÓPEZ-CARVAJAL et al., 2016; PARVIZI et al., 2017). Em uma revisão sistemática com oito estudos, a eficácia e segurança da criocirurgia no tratamento da leishmaniose cutânea foi avaliada e comparada ao uso de antimonial pentavalente, sendo em sete estudos de uso intralesional e em um estudo de uso intramuscular. Demonstrou-se que a criocirurgia teve

eficácia semelhante ao tratamento com antimonialis com uma menor duração e melhor adesão ao tratamento (LÓPEZ-CARVAJAL et al., 2016).

Com relação às micoses subcutâneas, a cromoblastomicose é uma doença muitas vezes refratária, com resposta insatisfatória ao tratamento medicamentoso isolado necessitando de tratamentos adjuvantes como cirurgia, termoterapia, *laser* e terapia fotodinâmica. Nestes casos, a criocirurgia pode ser indicada principalmente em associação com antifúngicos sistêmicos, como uma opção custo-efetiva, reduzindo o tempo de tratamento quando comparada ao tratamento medicamentoso isolado (CASTRO et al., 2003; RANAWAKA et al., 2009; QUEIROZ-TELLES et al., 2017; AGARWAL et al., 2017). Na esporotricose, a criocirurgia ainda foi pouco explorada e documentada.

A criocirurgia apresenta como vantagens, o seu relativo baixo custo, facilidade de uso por profissionais que dominem a técnica, baixo índice de complicações, efeitos colaterais em gerais leves e transitórios, resultado estético satisfatório e o uso eletivo de anestesia. Pode ser indicada em situações de difícil manejo terapêutico como no caso de gestantes e pacientes idosos com múltiplas comorbidades ou em outros casos em que medicações sistêmicas são contraindicadas (ZIMMERMAN; CRAWFORD, 2012; CRANWELL; SINCLAIR, 2017). A criocirurgia apresenta complicações inerentes ao procedimento: dor, sangramento, quando realizada em área de biópsia prévia, formação de bolhas e edema são efeitos adversos possíveis, imediatos ou precoces. Mais tardiamente, ainda que incomuns, podem surgir infecção, sangramento tardio e tecido de granulação excessivo. Efeitos mais prolongados, mas que costumam ser transitórios são hiperpigmentação, milia, cicatrizes hipertróficas e alterações sensoriais. Alguns efeitos podem ser permanentes como a hipopigmentação, alopecia na região tratada e atrofia (ZIMMERMAN; CRAWFORD, 2012). O risco de ocorrência de cicatrizes extensas, alopecia, hipopigmentação e parestesia pode ser reduzido limitando o tempo de congelamento a um máximo de 30 segundos (THAI; SINCLAIR, 1999).

As contraindicações à criocirurgia não são comuns, mas incluem doenças agravadas ou precipitadas pelo contato com frio como doença de Raynaud, urticária ao frio e crioglobulinemia. Pioderma gangrenoso, discrasias sanguíneas de origem desconhecida são citadas como contraindicações relativas (AFSAR et al., 2015).

3.1 Criocirurgia na esporotricose

Existem poucos relatos de criocirurgia no tratamento da esporotricose. Bargman (1995) foi o primeiro autor a destacar os efeitos benéficos da criocirurgia na esporotricose, relatando um caso tratado com criocirurgia devido à intolerância ao iodeto de potássio após oito semanas de uso e mais dois casos de forma fixa como tratamento isolado, todos com cura. A criocirurgia como terapia adjuvante para tratamento de lesões residuais de esporotricose a despeito da cicatrização das demais vem sendo enfatizada por diversos autores no contexto da hiperendemia da região metropolitana do Rio de Janeiro. Francesconi et al. (2009) em um estudo com 50 pacientes, dos quais 94% apresentavam comorbidades, relataram um aumento na taxa de cura de 86% para 96% quando esta era associada a terapias adjuvantes (curetagem e/ou criocirurgia, n = 5). Ferreira et al. (2011) relataram nove pacientes em que a criocirurgia foi utilizada, obtendo-se cura das lesões após uma média de 2,2 sessões. Dos nove pacientes, cinco fizeram uso de itraconazol, três, de itraconazol e terbinafina e um, de iodeto de potássio. Paixão et al. (2015) relataram uma paciente com aids avançada e esporotricose disseminada grave, com múltiplas lesões cutâneas em que a criocirurgia realizada semanalmente ajudou no controle do quadro cutâneo associada à terapia antifúngica. Almeida-Paes et al. (2017b) ressaltaram a importância do procedimento para a cura nos casos de esporotricose refratária. Secchin et al. (2017) relataram três casos de esporotricose cutânea com resposta incompleta após mais de seis meses de tratamento com itraconazol e/ou iodeto de potássio, sendo um paciente com forma linfocutânea e dois com forma fixa, em que a criocirurgia adjuvante contribuiu para cura após uma a três sessões.

4 OBJETIVOS

4.1 Objetivo geral

Descrever a resposta terapêutica dos pacientes submetidos à criocirurgia para tratamento da esporotricose.

4.2 Objetivos específicos

- Descrever o perfil sociodemográfico, formas de transmissão, formas clínicas de esporotricose e comorbidades dos pacientes.
- Determinar o tratamento antifúngico empregado anterior à criocirurgia e a frequência de suas indicações.
- Definir o número mediano de sessões de criocirurgia realizadas para se atingir a cura clínica, tempo mediano entre início do tratamento com antifúngico oral e indicação da criocirurgia, entre criocirurgia e cura clínica e tempo mediano do tratamento total.
- Identificar os fatores de risco para o sucesso do tratamento.
- Descrever quatro casos de gestantes com esporotricose cutânea que foram tratadas com criocirurgia como única modalidade terapêutica.

5 METODOLOGIA

5.1 Desenho do estudo

Estudo de coorte conduzido com pacientes diagnosticados com esporotricose cutânea que foram submetidos à criocirurgia para tratamento da esporotricose no ambulatório do INI/Fiocruz.

5.2 População do estudo

Pacientes com diagnóstico de esporotricose tratados no ambulatório do INI/Fiocruz.

5.3 Critérios de inclusão

Foram incluídos pacientes com idade igual ou superior a 18 anos, com diagnóstico de esporotricose confirmado por isolamento de *Sporothrix* spp. e tratados com criocirurgia nas seguintes situações: a) resposta clínica parcial aos antifúngicos sistêmicos (itraconazol e/ou terbinafina) durante o acompanhamento; b) interrupção do antifúngico oral por reações adversas; c) presença de lesões verrucosas ou úlcero-vegetantes extensas (maiores que 4 cm) no início do tratamento ou d) gestantes que não desejavam realizar termoterapia.

5.4 Critérios de exclusão

Pacientes com aids (Síndrome da Imunodeficiência Adquirida); pacientes com lesões cutâneas de esporotricose, mas com forma extracutânea e disseminada associadas; pacientes tratados com criocirurgia de forma isolada (exceto no caso de gestantes); pacientes que fizeram uso de iodeto de potássio ou que realizaram outra modalidade de tratamento como eletrocoagulação ou cirurgia convencional; gestantes que fizeram uso prévio de antifúngico oral para o tratamento de esporotricose e pacientes em cujos prontuários havia falta de dados essenciais.

5.5 Período e duração do estudo

O projeto teve duração de 24 meses, e realizou-se o levantamento dos casos de esporotricose tratados no ambulatório do INI/Fiocruz, durante o período de janeiro de 2006 a dezembro de 2016.

5.6 Plano de recrutamento

Após a aprovação do CEP, todos os pacientes que preencheram critérios para entrada no estudo foram convidados a participar e o fizeram após assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido (ANEXO A). Para aqueles anteriores a esse período, o investigador principal assinou um termo de responsabilidade garantindo a confidencialidade dos dados (ANEXO B).

5.7 Materiais, procedimentos e técnicas

A avaliação inicial dos pacientes com esporotricose admitidos no INI seguiu um protocolo padronizado que incluiu avaliação clínica (ANEXO C) e rotina de exames laboratoriais (hemograma completo, glicose, creatinina, ureia, fosfatase alcalina, gama-glutamil transpeptidase e transaminases séricas). Demais exames foram realizados conforme evolução clínica e para acompanhamento do uso de fármacos.

O diagnóstico micológico foi realizado pela coleta de espécimes clínicos obtidos (exsudato, crosta, aspirado de lesão nódulo-cística ou biópsia de pele), que foram enviados ao setor de Diagnóstico Micológico do Laboratório de Micologia do INI. Foram semeados em meio de Ágar-Sabouraud (DIFCO) com cloranfenicol (400 mg/L) e Mycosel (Mycobiotic Agar – DIFCO) sem tratamento prévio e incubados a 25 °C para isolamento e identificação de *Sporothrix* spp. Os isolados com morfologia miceliana compatível com *Sporothrix* spp. foram semeados em meio com Ágar e infusão de cérebro e coração (BHI), incubados a 37 °C por sete dias, para observação do dimorfismo. O processo de identificação baseou-se em características macro e micromorfológicas observadas em cultivo das amostras. Características fenotípicas como tipo de colônia (filamentosa ou leveduriforme), textura, cor e produção de pigmento foram primeiramente observadas. Posteriormente, montagem em lâmina utilizando o corante lactofenol-azul de algodão foi utilizada para a observação das

características micromorfológicas do fungo, quando havia dúvida diagnóstica na macromorfologia.

As reavaliações foram mensais até a cura, a contar do início do tratamento. O tratamento da esporotricose nas formas cutânea fixa, linfocutânea e cutânea disseminada (não relacionada à imunossupressão) foi feito com itraconazol na dosagem de 100 a 200 mg/dia. A principal alternativa, em caso de contraindicação ou resposta clínica ausente ou insatisfatória, foi a terbinafina 250 a 500 mg/dia. Entretanto, para alguns casos que não obtiveram resposta, esquemas individualizados, com dosagens de itraconazol de até 400 mg/dia ou associação de itraconazol 200 com terbinafina 250 mg foram utilizados.

O momento da indicação da criocirurgia variou de acordo com a situação clínica da esporotricose, condição sistêmica do paciente e o tipo de lesão de apresentação da micose. O procedimento foi indicado para lesões ulceradas (nódulo-ulceradas e úlcero-vegetantes), verrucosas e para lesões nodulares epidérmicas (exofíticas).

O nitrogênio líquido foi armazenado em um botijão de 30 litros e utilizado em alíquotas de até 500 mL em recipiente térmico próprio, Cry-Ac® (Brymill, Ellington, USA), em formato de garrafa de alumínio com gatilho para disparo do jato de nitrogênio líquido pressurizado em vapor, dotado de diferentes ponteiros para direcionamento do jato, com orifícios que variam de 0,4 a 1,02 mm de diâmetro.

As sessões de criocirurgia foram feitas mensalmente, enquanto havia persistência das lesões a serem tratadas. Cada lesão era submetida a dois ciclos de congelamento e descongelamento com a técnica de spray intermitente, utilizando-se as ponteiros A (1,02 mm) ou B (0,8 mm). O tempo do ciclo era condicionado ao tipo de lesão (lesões úlcero-vegetantes e infiltradas eram tratadas um tempo maior) e à tolerância do paciente, em geral, em torno de 10-30 segundos, com halo de congelamento de 3 a 5 mm. Em casos de lesões com crostas espessas, era realizada a sua retirada prévia, geralmente feita pelo serviço de enfermagem, após a embebição das crostas com soro fisiológico 0,9% ou água oxigenada 10 volumes, objetivando a melhor penetração do jato. Aos pacientes que referiam dor a partir da intensidade 6 (escala 0 a 10), era oferecida analgesia (dipirona 500 mg ou paracetamol 500 mg, ambos por via oral, ou cetorolaco de trometamol 10 mg por via sublingual) durante o procedimento e orientado para a próxima sessão de criocirurgia seu uso 15 a 30 minutos antes. Após o término do procedimento, os pacientes eram reagendados para a sessão mensal e orientados a procurar a equipe antes, caso apresentassem alguma complicação.

Alcançada a cura clínica, o tratamento era suspenso. A cura clínica foi definida pela reepitelização das lesões e ausência de crostas, exsudato, eritema e infiltração. O paciente era, então, reavaliado entre 1 e 3 meses após, quando recebia alta definitiva caso não houvesse sinais de recidiva das lesões. A recidiva foi considerada como retorno da lesão após cicatrização, com novo isolamento do fungo.

5.8 Plano de análise e definição de variáveis

Foram consideradas as seguintes variáveis sociodemográficas e epidemiológicas: idade, sexo, etnia, naturalidade, procedência, ocupação, fonte de infecção, tipo de transmissão. Em relação à clínica, as suas apresentações (cutânea fixa, linfocutânea ou cutânea disseminada), localização das lesões, comorbidades, uso de antifúngicos sistêmicos (itraconazol e/ou terbinafina) e número de sessões de criocirurgia. Foi considerado se o paciente teve seu diagnóstico e tratamento iniciados no INI ou se o paciente fez tratamento externo prévio ao INI. Quanto à ocupação, foi utilizada a Classificação Brasileira de Ocupações de 2002 (CBO2002) que divide as ocupações em 10 grandes grupos.

O tempo total de tratamento foi definido como o intervalo entre a data de início de tratamento e o desfecho e incluiu o tempo de uso de antifúngico, de realização da criocirurgia e retratamentos em casos de recidiva. O tempo até início da criocirurgia foi definido como o intervalo entre início do tratamento oral e a primeira sessão de criocirurgia. O tempo criocirurgia-desfecho foi o intervalo entre a primeira sessão de criocirurgia e o desfecho. Como desfechos foram considerados: cura clínica, perda de seguimento, óbito causado pela esporotricose ou óbito não relacionado à esporotricose. O desfecho favorável foi definido como cura clínica.

As variáveis foram obtidas a partir de revisão dos prontuários médicos eletrônicos e foram armazenadas e analisadas com auxílio das ferramentas do programa Epidata versão 3.1 e R versão 3.4.2 (2017). As estimativas de incidências, razão de chances e seus respectivos intervalos de confiança foram calculados para avaliação da associação dos fatores relacionados aos desfechos de interesse. Foi realizada uma análise comparando as características dos 199 pacientes incluídos no estudo e divididos em dois grupos, de acordo com o número de sessões de criocirurgia realizadas (até 4 sessões ou mais de 4 sessões). Testes de normalidade foram aplicados para avaliar a distribuição da população do estudo para cada variável analisada. No que se refere aos dados que necessitaram de análise

comparativa, o teste t ou o de Mann-Whitney (na dependência do padrão de distribuição) foi utilizado para as variáveis quantitativas e o teste χ^2 (qui-quadrado) ou o teste exato de Fisher, para as qualitativas.

A análise exploratória da sobrevida até a ocorrência de desfecho favorável foi investigada pelo método de Kaplan-Meier. A partir das variáveis significativas no modelo de Kaplan-Meier e com ajuste para variáveis consideradas de relevância teórica (sexo, idade, origem do paciente - primeiro atendimento no INI ou fora do INI, uso de terbinafina e diabetes), foi construído o modelo múltiplo de Cox. As razões de chances bruta e ajustada e seus intervalos de 95% de confiança foram usados para avaliar os efeitos dos modelos simples e múltiplo de Cox, respectivamente. O resíduo de Schoenfeld mostrou falta de proporcionalidade dos efeitos da variável doença cardiovascular estimados pelo modelo múltiplo de Cox em 180 dias ($p=0,0281$, gráfico não demonstrado). Assim, 2 modelos estratificados de Cox foram construídos: modelo A (até 180 dias), considerando pacientes com cura até 180 dias e censurando os demais e modelo B (mais de 180 dias), considerando pacientes com tempo de cura superior a 180 dias e censurando os demais. O tempo foi calculado pela diferença em dias da primeira sessão de criocirurgia até a data de desfecho. A censura foi determinada por pacientes que tiveram um desfecho desfavorável ao fim do tratamento (óbito) ou que abandonaram o estudo. Os fatores de risco para o desfecho foram obtidos pela comparação das curvas pelos testes de Log-Rank e Peto. Todos os testes de hipótese foram realizados levando em consideração um nível de significância de 5%.

O grupo de gestantes foi analisado de forma separada devido a sua peculiaridade, com cálculo das medidas de resumo (média, mínimo e máximo) das variáveis.

5.9 Aspectos éticos

Esse projeto foi aprovado no dia 19/07/2016 pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) do INI/Fiocruz, sob número do parecer 1.989.565 e do CAAE 55348416.5.0000.5262 (ANEXO D). Todos os preceitos éticos regulamentados na resolução CNS 466/2012 do Ministério da Saúde foram resguardados. Foram respeitadas as normas éticas de privacidade e confidencialidade. Nenhuma identificação em relação aos pacientes foi realizada. A proteção legal foi garantida por meio do Termo de responsabilidade assinado pelos pesquisadores (ANEXO B) ou pelo Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (ANEXO A).

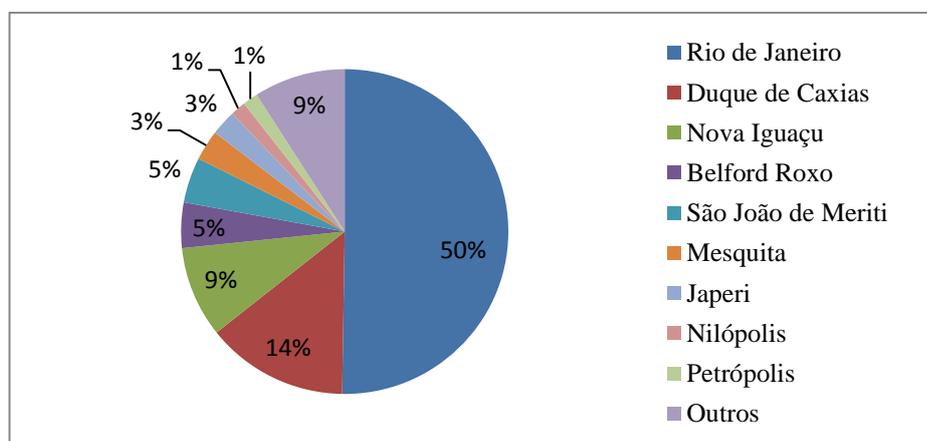
6 RESULTADOS

Entre janeiro de 2006 e dezembro de 2016, 3.677 pacientes com esporotricose foram tratados no INI, 344 foram submetidos à criocirurgia, 203 preencheram os critérios de inclusão do estudo, sendo 199 pacientes tratados com criocirurgia de forma adjuvante e 4 pacientes gestantes tratadas com criocirurgia isolada, que serão descritas separadamente. Desses 199 pacientes, 149 tiveram sua primeira consulta para diagnóstico e tratamento da esporotricose no INI e 50 eram originários de outros centros de saúde com tratamento externo prévio. Dos 344 pacientes, foram excluídos: 110 pacientes por não possuírem isolamento de *Sporothrix* spp. em cultura; 13 pacientes por ainda não terem terminado o tratamento ao final do período de análise dos dados; 3 pacientes por serem menores de 18 anos; 3 pacientes por terem feito tratamento oral com iodeto de potássio; 7 pacientes por terem realizado cirurgia ou eletrocoagulação; 4 pacientes por serem gestantes tratadas com antifúngicos orais além de criocirurgia e 1 paciente por ter HIV e esporotricose extracutânea.

6.1 Aspectos sociodemográficos

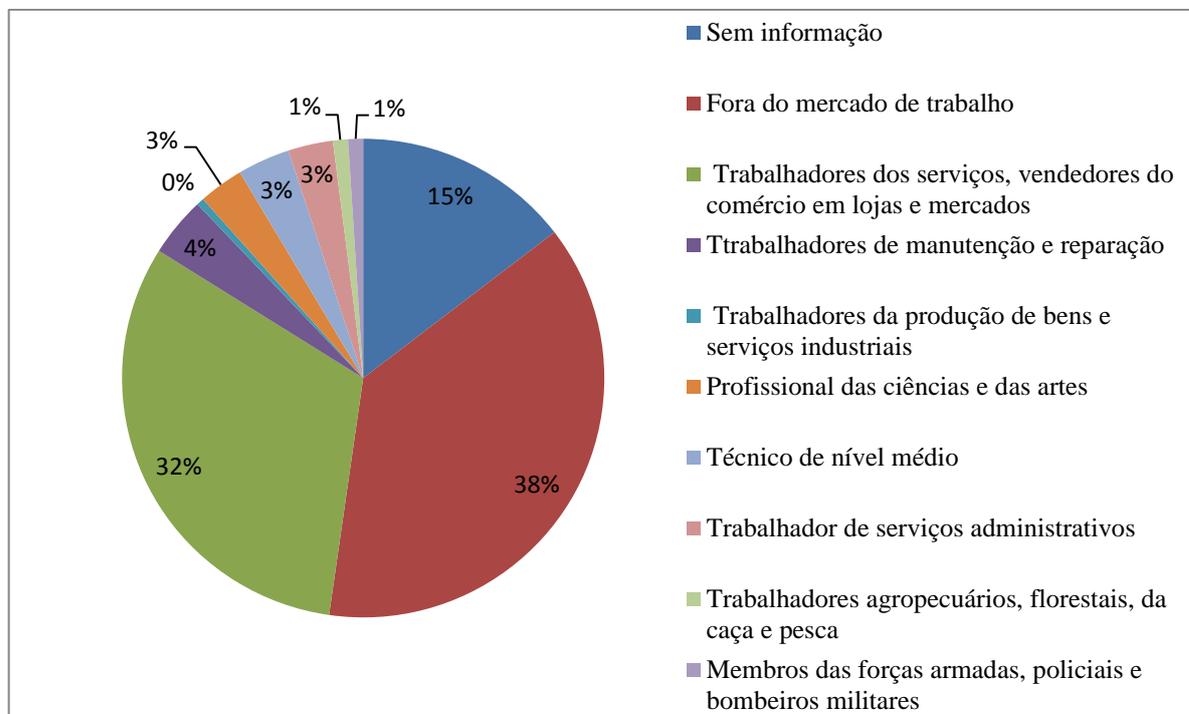
A maioria dos pacientes era procedente de áreas hiperendêmicas, que compreendem o cinturão de esporotricose, incluindo o município do Rio de Janeiro e municípios vizinhos, como mostra o gráfico 6.1.

Gráfico 6.1 - Municípios de procedência de 199 pacientes submetidos à criocirurgia adjuvante para tratamento da esporotricose, INI/Fiocruz (2006 – 2016).



Houve predominância do sexo feminino (67,3%) e a média de idade foi de 55,7 anos, variando de 18 a 89 anos. Os pacientes do estudo foram alocados em 9 dos 10 grandes grupos conforme a CBO 2002. Quanto à ocupação, as duas categorias mais encontradas foram de pessoas fora do mercado de trabalho (aposentados, trabalhadores do lar e estudantes) e trabalhadores dos serviços, vendedores do comércio em lojas e mercados. Domésticas e diaristas foram alocadas no grupo de trabalhadores dos serviços, vendedores do comércio em lojas e mercados. O único grupo não representado foi o grupo de dirigentes de organizações de interesse público e de empresas e gerentes (gráfico 6.2).

Gráfico 6.2 - Ocupação dos 199 pacientes submetidos à criocirurgia adjuvante para tratamento da esporotricose conforme a Classificação Brasileira de Ocupações de 2002, INI/ Fiocruz (2006 – 2016).



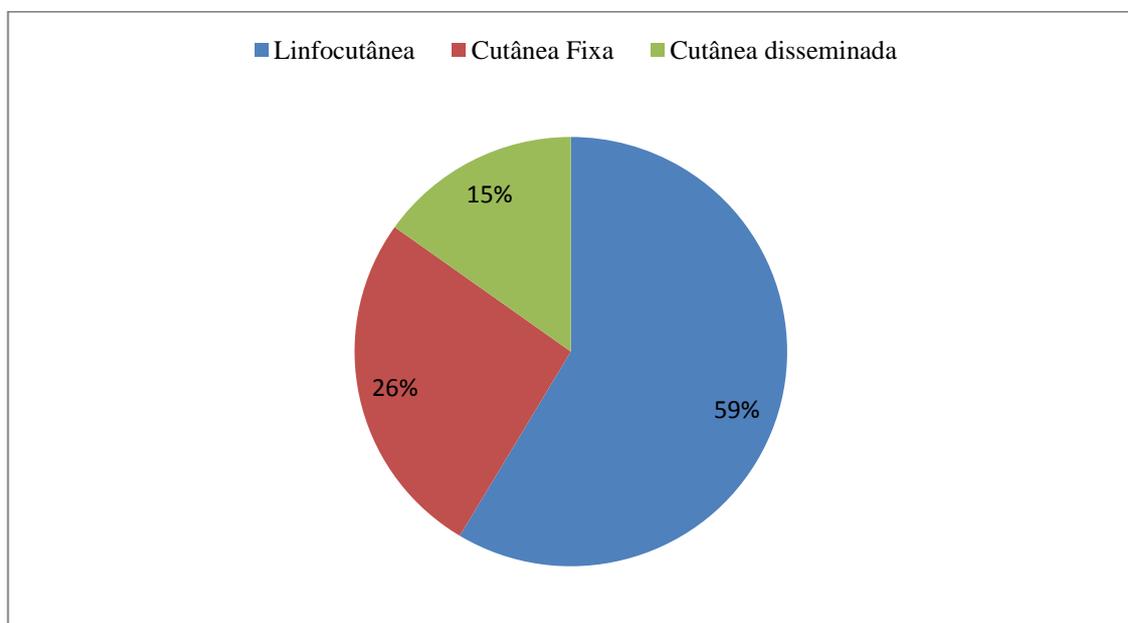
6.2 Formas de transmissão

Na história epidemiológica, o contato com gatos foi relatado por 164 pacientes (82,4%), estando a arranhadura e/ou mordedura presentes em 115 (57,8%). O trauma com plantas ocorreu em 5 casos (2,5%) e 30 (15,1%) pacientes não souberam identificar possíveis fatores para transmissão de esporotricose.

6.3 Formas clínicas

A forma clínica mais comum foi a linfocutânea, como demonstrado no gráfico 6.3. Em um paciente este dado não estava disponível. As lesões foram mais frequentes nos membros superiores (84,9%, n=169), seguidos pela localização nos membros inferiores (16,1%, n= 32), e na face (2,5%, n=5). Alguns pacientes apresentavam lesões em mais de um segmento corporal.

Gráfico 6.3 - Formas clínicas apresentadas por 198* pacientes submetidos à criocirurgia adjuvante para tratamento de esporotricose, INI/Fiocruz (2006 – 2016).



Nota: em um paciente esse dado não constava no prontuário

6.4 Comorbidades

Dos 199 pacientes, 163 (81,9%) possuíam dados sobre comorbidades no prontuário, sendo que uma ou mais comorbidades estavam presentes em 120 pacientes (60,3% do total), perfazendo um total de 187 dados sobre comorbidades, como observado na tabela 6.1. Desses 163 pacientes, a hipertensão arterial (54,0%) foi a comorbidade mais relatada, vindo a seguir diabetes mellitus (21,5%), dislipidemia (9,8%) e doenças gastrointestinais. Todos esses pacientes utilizavam fármacos para controle das comorbidades. Para 36 pacientes, não havia esse dado no prontuário.

Tabela 6.1 - Frequência de comorbidades em 163 pacientes submetidos à criocirurgia adjuvante para tratamento da esporotricose, INI/Fiocruz (2006 – 2016).

Comorbidades		
	N	%
Hipertensão arterial	88	54,0
Diabetes mellitus	35	21,5
Dislipidemia	16	9,8
Doença gastrointestinal*	16	9,8
Doença cardiovascular**	11	6,7
Doença neuropsiquiátrica***	10	6,1
Nefropatia/uropatia****	5	3,1
Doenças respiratórias (Asma)	2	1,2
Hipotireoidismo	2	1,2
Insuficiência venosa crônica	2	1,2
Total	187 [¶]	

*Gastrite, doença do refluxo gastroesofágico, esteatose e colelitíase

**Angina, insuficiência cardíaca e histórico prévio de infarto agudo do miocárdio

***Depressão, epilepsia e demência

****Insuficiência renal, hiperplasia benigna de próstata

¶Presentes em 120 pacientes, em 36 pacientes não havia esse dado no prontuário.

A seguir, são apresentadas fotos clínicas de alguns pacientes deste estudo, antes e após o tratamento realizado.

Figura 6.1 - Paciente de 85 anos, hipertensa, diabética com doença cardiovascular apresentando forma fixa de esporotricose, úlcero-vegetante de aproximadamente 6 cm no joelho após mais de 6 meses de tratamento com antifúngicos orais (A). Após 4 sessões de criocirurgia com importante cicatrização, persistindo 2 áreas exulceradas (B).

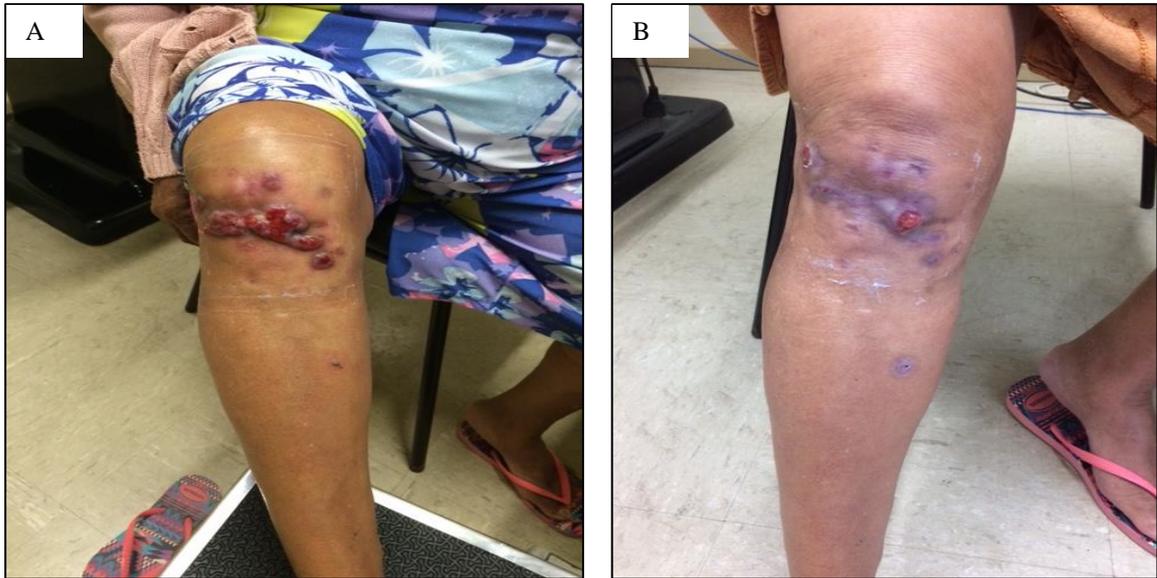


Figura 6.2 - Paciente com esporotricose, forma fixa, verrucosa, com 10 cm, em membro superior com 2,5 anos de tratamento com antifúngico oral e 8 sessões de criocirurgia (A). Remoção das crostas antes do procedimento (B). Durante a aplicação de criocirurgia com nitrogênio líquido (C). Dois meses após a cura com um total de 15 sessões de criocirurgia (D).



Figura 6.3 - Paciente com forma linfocutânea, múltiplas lesões ulceradas, acometendo toda extensão da mão e antebraço após 1 mês de tratamento oral (A) e após 1 mês de cura com 3 sessões de criocirurgia (B).



Figura 6.4 - Paciente com esporotricose, forma fixa, apresentando lesão verrucosa de 7 cm, no tornozelo, após uma semana de tratamento oral e antes da primeira sessão de criocirurgia (A), e após duas sessões de criocirurgia (B). Lesão cicatrizada, dois meses após a cura, tendo realizado um total de três sessões de criocirurgia (C).

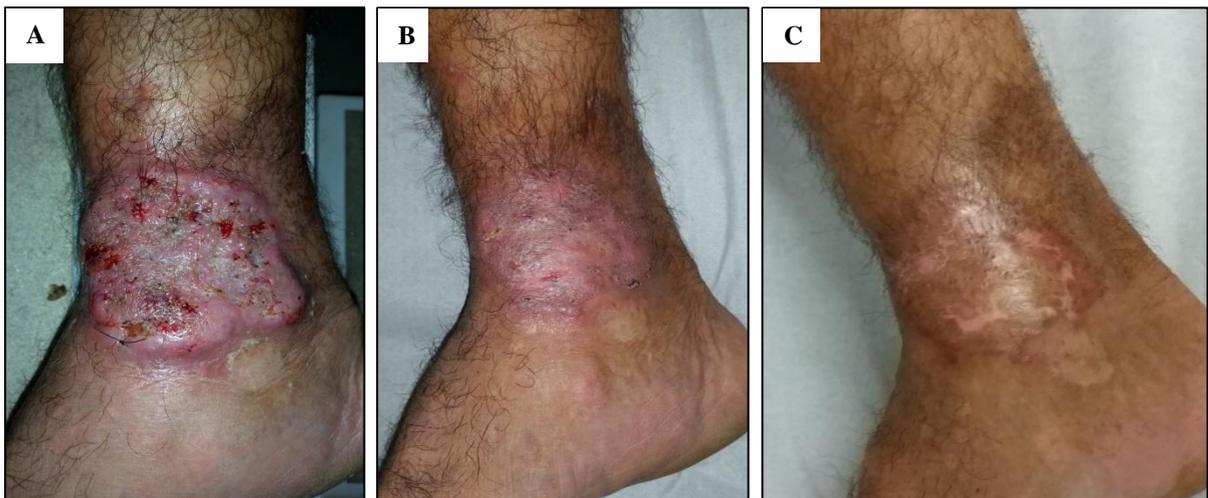
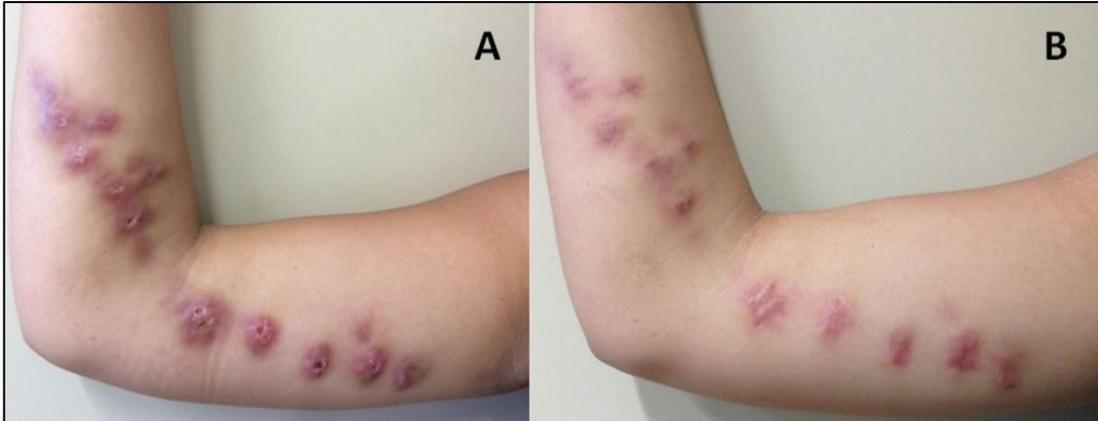


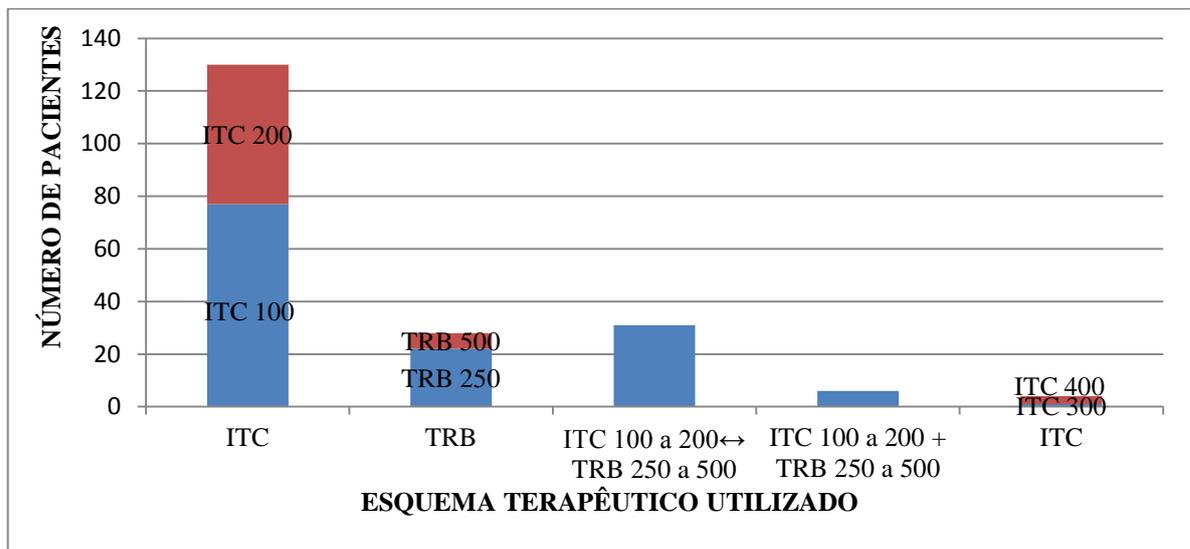
Figura 6.5 - Paciente gestante com lesão de esporotricose linfocutânea no membro superior (A). Lesão cicatrizada após duas sessões de criocirurgia (B).



6.5 Tratamento antifúngico empregado

O esquema terapêutico medicamentoso mais utilizado foi itraconazol na dosagem de 100 mg/dia (38,7%) e 200 mg/dia (26,6%). Em 15,6% dos casos, houve troca entre os antifúngicos, com o itraconazol e a terbinafina sendo utilizados em momentos diferentes. Terbinafina na dosagem de 250 mg/dia foi utilizada em 11,1% dos casos e de 500 mg/dia em 3,0%. Esquemas envolvendo a combinação de ambos antifúngicos (3,0%) e dosagens de itraconazol, 300 ou 400 mg/dia (2,0%) também foram utilizados (gráfico 6.4). Em 104 pacientes (52,3%) os esquemas foram mantidos desde o início do tratamento.

Gráfico 6.4 - Antifúngicos orais e suas respectivas dosagens, usados por 199 pacientes submetidos à criocirurgia adjuvante para tratamento de esporotricose, INI/Fiocruz (2006 – 2016).



Legendas – ITC itraconazol; TRB terbinafina; ↔ troca; + associação.

6.6 Criocirurgia

A tabela 6.2 apresenta as frequências de indicações da criocirurgia. A principal indicação foi a resposta incompleta aos antifúngicos utilizados (91,0%). Os efeitos adversos que levaram a suspensão da terapia antifúngica e início da criocirurgia foram hepatotoxicidade (n=3) e diarreia (n=1) relacionados ao itraconazol; aumento de escórias nitrogenadas (n=1) e anemia (n=1), relacionadas à terbinafina.

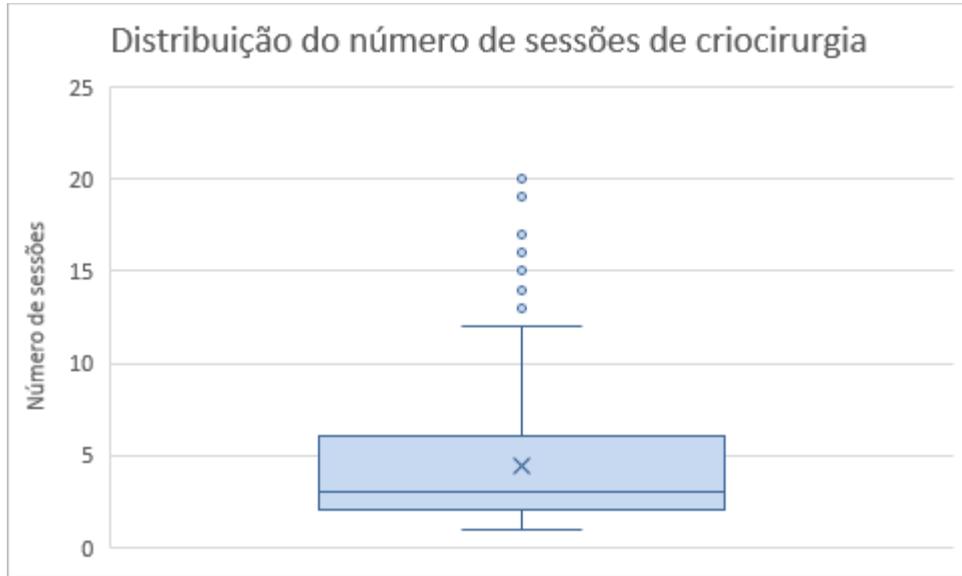
Tabela 6.2 - Frequência das indicações de criocirurgia adjuvante em 199 pacientes com esporotricose, INI/Fiocruz (2006 – 2016).

Indicação de criocirurgia		
	N	%
Resposta incompleta aos antifúngicos	181	91,0
Lesões ulceradas extensas, verrucosas e vegetantes	12	6,0
Efeitos adversos à terapia medicamentosa	6	3,0

A mediana de tempo até o início da criocirurgia foi de 151 dias (0 – 2.632 dias). Devido à variação ampla de tempo, optamos por estabelecer um critério em relação ao início da criocirurgia baseado no tempo médio de tratamento de esporotricose cutânea: precoce, antes dos 90 dias, e tardio, após esse período. O início precoce ocorreu somente em 28,1%, enquanto a maioria, 71,9%, teve uma indicação tardia.

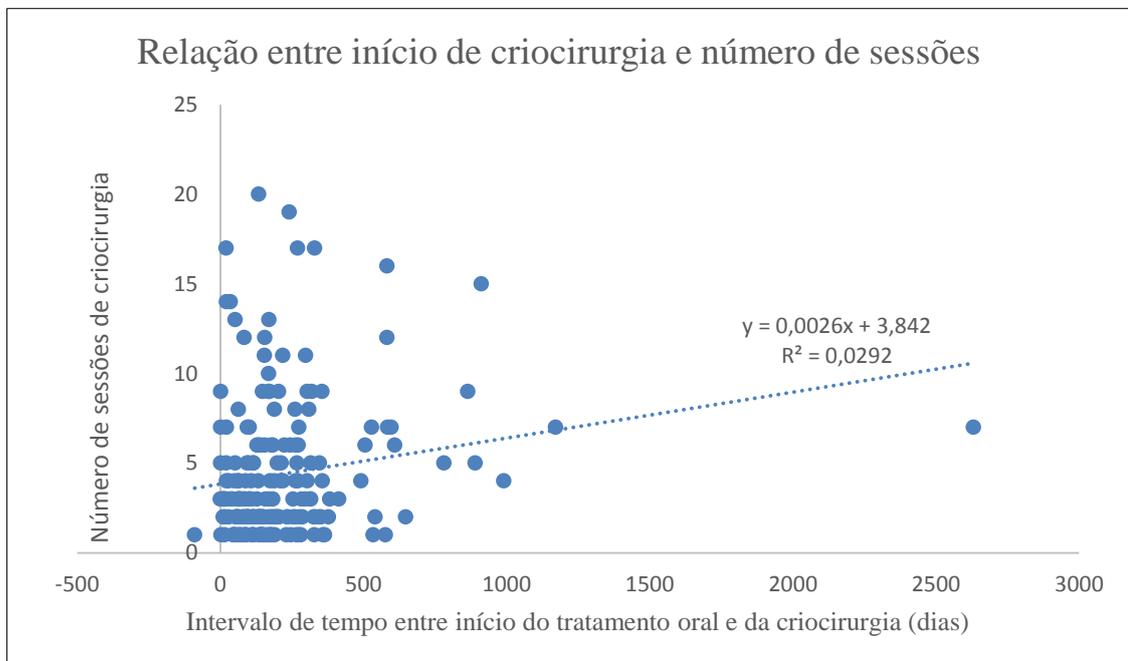
O número de sessões de criocirurgia variou de 1 a 20, com mediana de 3 (gráficos 6.5 e 6.6). A mediana do tempo criocirurgia-desfecho foi 125 dias. A mediana do tempo total de tratamento foi de 325 dias (28 – 2.901 dias).

Gráfico 6.5 - Distribuição do número de sessões de criocirurgia realizadas por 199 pacientes com esporotricose, INI/Fiocruz (2006 – 2016).



Nota: Mediana: 3; Intervalo interquartil = 2 a 6

Gráfico 6.6 - Relação entre o início da criocirurgia e número de sessões realizadas de 199 pacientes com esporotricose, INI/Fiocruz (2006 – 2016).



6.7 Desfechos

A cura clínica foi alcançada por 91,0% dos pacientes (n = 181) e perda de seguimento ocorreu em 8,0% dos casos (n = 16). Óbito foi o desfecho em 1,0% dos casos, sendo dois pacientes, com 85 e 89 anos, de causas naturais não relacionadas à esporotricose.

O grupo que necessitou de mais de 4 sessões de criocirurgia foi de pacientes mais velhos (p = 0,034), com uma maior proporção de comorbidades (p = 0,047), especificamente diabetes mellitus (p = 0,028) e doença cardiovascular (p = 0,001), que utilizaram com maior frequência a terbinafina (p = 0,005) e iniciaram tardiamente a criocirurgia (p = 0,030), como demonstrado na tabela 6.3.

Tabela 6.3 - Características clínicas e epidemiológicas de 199 pacientes submetidos à criocirurgia adjuvante para tratamento de esporotricose segundo o número de sessões de criocirurgia (até 4 sessões ou mais de 4 sessões), INI/Fiocruz (2006 - 2016).

		≤ 4 sessões (N=132)	> 4 sessões (N=67)	p-valor
Sexo (%)	Feminino	90 (68,2)	44 (65,7)	0,751
	Masculino	42 (31,8)	23 (34,3)	
Média de idade (DP)		54,1 (14,3)	58,8 (15,4)	0,034
Comorbidades (%)*	Sim	73 (55,3)	47 (70,1)	0,047
	Não	59 (44,7)	20 (29,9)	
Hipertensão arterial (%)	Sim	54 (50,9)	34 (59,6)	0,325
	Não	52 (49,1)	23 (40,4)	
Diabetes mellitus (%)	Sim	17 (16,0)	18 (31,6)	0,028
	Não	89 (84,0)	39 (68,4)	
Doença Cardiovascular (%)	Sim	2 (1,9)	9 (15,8)	0,001
	Não	104 (98,1)	48 (84,2)	
Dislipidemia (%)	Não	10 (9,4)	6 (10,5)	0,790
	Não	96 (90,6)	51 (89,5)	
Forma clínica**				
Linfocutânea (%)	Sim	77 (58,8)	39 (58,2)	0,733
	Não	54 (41,2)	28 (41,8)	
Cutânea fixa (%)	Sim	33 (25,2)	19 (28,4)	1,000
	Não	98 (74,8)	48 (71,6)	
Cutânea disseminada (%)	Sim	21 (16,0)	9 (13,4)	0,681
	Não	110 (84,0)	58 (86,6)	
Antifúngicos orais				
Itraconazol (%)	Sim	112 (84,8)	59 (88,1)	0,668
	Não	20 (15,2)	8 (11,9)	
Terbinafina (%)	Sim	31 (23,5)	29 (43,3)	0,005
	Não	101 (76,5)	38 (56,7)	
Tempo até o início da criocirurgia (%)	≤ 90 dias	44 (33,3)	12 (17,9)	0,030
	>90 dias	88 (66,7)	55 (82,1)	

Nota: (p-valor <0,05); DP = Desvio Padrão; *Para 36 pacientes não havia este dado; **Para um paciente não havia este dado

A análise de sobrevivência pelo método de Kaplan-Meier demonstrou três fatores de risco para cura clínica (Log-rank e Peto, p-valor <0,05): doença cardiovascular, início tardio da criocirurgia e uso de terbinafina.

O modelo múltiplo de Cox foi realizado com os fatores de risco demonstrados pelo Kaplan-Meier e ajustado por sexo, idade, diabetes, uso de terbinafina e tratamento externo prévio. Devido à falta de proporcionalidade (p=0,0281), os dois modelos de Cox estratificados em 180 dias são mostrados na tabela 6.4. A variável sobre uso de terbinafina foi usada apenas como fator de ajuste por não ter proporcionalidade mesmo após estratificação do modelo de Cox. Os efeitos são importantes apenas em pacientes com tempo de cura até 180 dias. No modelo A, pacientes sem doença cardiovascular tiveram uma tendência de cura 8,5 vezes maior (HR=9,45, 95% IC=1,27 - 69,83) e o início tardio de criocirurgia teve efeito oposto, com tempo maior até a cura (HR=0,48, 95% IC=0,29 - 0,78), como mostrado na tabela 6.4. Os resíduos de Schoenfeld não mostraram falta de proporcionalidade nesses dois modelos finais de regressão. Não houve grande diferença entre a razão de chances bruta e ajustada. A diferença existente entre a razão de chances bruta e ajustada da variável doença cardiovascular só surgiu após introdução da variável de controle – tratamento externo prévio.

Tabela 6.4 - Razão de chances obtidas no modelo de Cox para o evento cura em 163 ** pacientes com esporotricose tratados com criocirurgia e antifúngicos orais, INI/Fiocruz (2006 - 2016).

	Variáveis	Categoria	HR Bruta (95% IC)	HR ajustada (95% IC)*
Modelo A (tempo até 180 dias)	Doença Cardiovascular	Não	6,70 (0,93 – 48,24)	9,45 (1,27- 69,83)
	Indicação tardia de criocirurgia	Sim	0,52 (0,34 – 0,80)	0,48 (0,29 – 0,78)
Modelo B (mais de 180 dias)	Doença Cardiovascular	Não	1,35 (0,64 -2,83)	1,44 (0,66-3,15)
	Indicação tardia de criocirurgia	Sim	0,93 (0,55 – 1,56)	0,83 (0,45 -1,51)

Nota: *Controlado pelas variáveis: Sexo; idade; tratamento com terbinafina; diabetes; tratamento externo prévio.

**36 pacientes foram excluídos devido à falta de informação na variável doença cardiovascular.

HR=Razão de chances; IC=Intervalo de confiança.

6.8 Gestantes

Na revisão dos 344 pacientes que foram submetidos à criocirurgia, 8 pacientes eram gestantes. Entretanto, 4 engravidaram durante o tratamento e fizeram uso de antifúngicos orais. Desta forma, foram incluídas 4 gestantes tratadas unicamente com criocirurgia.

A média de idade foi de 26,5 anos (18 a 34 anos) e todas estavam no 2º trimestre de gestação quando o tratamento foi iniciado. Eram todas procedentes do Rio de Janeiro. Quanto à ocupação, duas eram trabalhadoras domésticas e nas demais, essa informação não constava no prontuário. Em relação à forma de transmissão da esporotricose, o contato com gatos foi relatado por três pacientes (75%), sendo que somente uma referia trauma por arranhadura. Uma paciente desconhecia a forma de contágio (25%). Na Tabela 6.5 estão os dados clínicos e número de sessões realizadas que variou de uma a três, com média de duas sessões. Quanto à morfologia das lesões cutâneas, eram úlcero-vegetativas (n = 3) e úlcero-nodulares (n = 1). Todas evoluíram com cura clínica e não foram relatados eventos adversos.

Tabela 6.5 - Características clínicas das 4 pacientes gestantes com esporotricose e o número de sessões de criocirurgia realizadas, INI/Fiocruz (2006-2016).

Caso	Idade (Anos)	Idade Gestacional (Semanas)	Forma Clínica	Localização das Lesões	Nº de Sessões de criocirurgia
1	18	20	Cutânea fixa	Coxa	2
2	22	16	Linfocutânea	Braço	2
3	34	20	Cutânea fixa	Ombro	1
4	32	24	Linfocutânea	Mão e antebraço	3

6.9 Reações adversas à criocirurgia

Em relação a todos os pacientes incluídos no estudo (n=203), não foram observados efeitos adversos graves. A dor foi referida durante o procedimento, mas de baixa intensidade, pois a maioria não necessitou de analgésicos após. Em relação aos efeitos tardios, nenhum paciente necessitou procurar a equipe antes do agendamento mensal devido a alguma reação adversa e ao serem perguntados na consulta subsequente, nada foi digno de nota.

7 DISCUSSÃO

A esporotricose é uma micose subcutânea com evolução benigna na maioria dos casos e com cura em uma média de 12 semanas de tratamento com antifúngicos orais (BARROS et al., 2004; FREITAS et al., 2014a). Na atual hiperendemia do Rio de Janeiro que já perdura 20 anos, foi demonstrado que *S. brasiliensis* é a espécie relacionada, sendo mais virulenta, e responsável pelas manifestações clínicas atípicas e por quadros potencialmente mais graves (BARROS et al., 2011a; ALMEIDA-PAES et al., 2017a). Da mesma forma, existe um grupo de pacientes com um perfil que vem apresentando uma resposta insatisfatória ao tratamento padrão. Nesse contexto, a criocirurgia tem sido cada vez mais indicada no INI. Aproximadamente 10% de todos os nossos casos de esporotricose tratados entre 2006 e 2016 foram submetidos à criocirurgia, sendo que 5% preenchem os critérios de inclusão para o presente estudo, representando a maior casuística envolvendo o método no tratamento da esporotricose.

Em relação aos aspectos sociodemográficos e epidemiológicos, o perfil de pacientes foi similar ao descrito anteriormente em estudos sobre a hiperendemia de esporotricose vigente no Rio de Janeiro, com predomínio de pacientes do sexo feminino, de pessoas que passam maior parte do tempo no domicílio (trabalhadores do lar, estudantes e aposentados) (61,3%) e com transmissão zoonótica por gatos. Nesse estudo foram incluídas unicamente as formas clínicas cutâneas. A forma cutânea disseminada, presente em alguns pacientes, esteve associada a indivíduos hígidos, causada por múltiplos inóculos, o que pode ocorrer na transmissão zoonótica (BARROS et al., 2003). A forma linfocutânea foi a predominante assim como as lesões se apresentaram mais frequentemente nos membros superiores, como anteriormente descrito por outros autores. (BARROS et al., 2004, 2011b; FREITAS et al., 2014a; DE MACEDO, 2014).

A média de idade (55,7 anos) e a frequência de comorbidades (60,3%) encontradas foram altas quando comparadas à maioria das outras séries de casos no Rio de Janeiro (BARROS et al., 2004, 2008, 2011b; FREITAS et al., 2010, 2014a). Inclusive com dois óbitos de causas naturais durante o tratamento da micose. Esses achados foram similares aos descritos por Francesconi et al. (2009), em um estudo envolvendo pacientes com

contraindicações ao uso de itraconazol que foram, então, tratados com terbinafina 250 mg em doses diárias por utilizarem medicamentos para controle de comorbidades (94%).

Nesse estudo, a indicação da criocirurgia foi, na grande maioria das vezes, por uma resposta inadequada aos antifúngicos utilizados (91,0%). Em 104 pacientes (52,3%) os esquemas de terapia antifúngica foram mantidos desde o início, mas persistiam lesões residuais a despeito da regressão das demais. Em uma menor proporção, outros esquemas terapêuticos foram realizados. Em 31 pacientes (15,6%) houve troca entre itraconazol e terbinafina, por efeitos adversos ou uma baixa resposta. Embora os efeitos adversos de ambos sejam muito semelhantes, relacionados principalmente ao aparelho gastrointestinal e hepatite (BENNETT, 2001), podem não se sobrepor e a troca pode ser benéfica (VETTORATO et al., 2017). Em outra pequena parcela, n=4 (2%), dosagens de itraconazol de 300 a 400 mg por dia foram utilizadas, que são indicadas geralmente para formas extracutâneas, como a osteoarticular (KAUFFMAN et al., 2007). A combinação de antifúngicos foi tentada em 6 pacientes (3%), esquema esse não padronizado na esporotricose, mas que tem sido tentado em casos de cromoblastomicose e micetoma de difícil controle, mas também sem resultados satisfatórios (QUEIROZ-TELLES et al., 2017; SAMPAIO et al., 2017).

Outros estudos já haviam apontado que o tratamento da esporotricose cutânea pode ter uma duração de 6 a 12 meses (RESTREPO et al., 1986; NOGUCHI et al., 1999; BARROS et al., 2004; FRANCESCONI et al., 2011). Barros et al. (2011b), em um estudo abrangendo uma grande casuística de pacientes com esporotricose cutânea (n = 645), observaram um tempo máximo de até 64 semanas para se atingir a cura, sendo que 9% (n = 59) necessitaram aumentar dosagens para até 400 mg e 1,3% (n = 5) precisaram mudar para terbinafina, iodeto de potássio ou para termoterapia (n = 4). Dos 645 pacientes, 547 foram tratados com itraconazol 100mg/dia, e destes, 9% (n = 50) ainda não estavam curados após 20 semanas. Recentemente, Almeida-Paes et al. (2017b), avaliando 7 pacientes com esporotricose refratária, investigaram o perfil de sensibilidade aos antifúngicos de 25 cepas de *S. brasiliensis* coletadas durante a evolução do tratamento e não encontraram resistência aos antifúngicos padrões (itraconazol e terbinafina) que pudessem justificar uma resposta mais demorada. Os autores ressaltam que a causa para esse tipo de resposta pode ser multifatorial, como baixa susceptibilidade da cepa, baixa difusão e biodisponibilidade do antifúngico, alteração do metabolismo intrínseco através de vias específicas do citocromo P450 ou distúrbios do paciente na absorção dos antifúngicos, principalmente do itraconazol. No nosso

estudo, a mediana de tempo total de tratamento foi de 325 dias, resultado esse que só corrobora com uma resposta lenta ao tratamento.

O grupo de pacientes aqui descrito já estava em uso de antifúngicos orais por um período de 21 semanas, superior à média de cura, quando a criocirurgia foi iniciada. Após a introdução da criocirurgia, uma mediana de três sessões, com uma grande variação (de uma a 20), foram necessárias até a cura clínica. Os pacientes submetidos a mais de quatro sessões eram mais velhos, com uma maior proporção de comorbidades, em particular, doença cardiovascular e diabetes. A terbinafina foi usada em maior proporção por esse grupo. Além disso, eles tiveram uma maior frequência de indicação tardia de criocirurgia (com mais de 90 dias de início de tratamento oral) quando comparados ao grupo de pacientes submetidos a até quatro sessões.

O diabetes mellitus tem como consequência macro e microangiopatias. A disfunção endotelial presente está associada à adesão de leucócitos e plaquetas ao lúmen vascular, formação de trombos, e inflamação, mecanismos que podem retardar o processo de cicatrização assim como o processo de resposta a infecções (LOW WANG et al., 2016; OKONKWO et al., 2017). Já a doença cardiovascular é um evento final num contexto de múltiplas disfunções metabólicas, incluindo o diabetes, dislipidemia e hipertensão arterial sendo considerada uma condição de inflamação crônica (GOLIA et al., 2014). Resultados de estudos clínicos sugerem que pacientes com insuficiência cardíaca têm uma menor resposta imunológica quando comparados a indivíduos sem comorbidades, demonstrando maior predisposição a infecção por vírus da influenza assim como menor resposta com produção de anticorpos após vacinação. Modelos *in vitro* demonstraram que ativação e modulação de receptores β_2 adrenérgicos, que ocorrem como um mecanismo compensatório na insuficiência cardíaca, suprimem a síntese de interferon gama (INF γ), um importante fator na resposta imune contra os fungos (VARDENY et al., 2009).

O modelo múltiplo de Cox confirmou que a presença de doença cardiovascular e o início tardio da criocirurgia estavam associados a um tempo prolongado de tratamento, porém esses efeitos só são notados quando o tempo entre início da criocirurgia e desfecho é de até 180 dias. A partir de 180 dias nenhuma das variáveis estudadas mostrou-se importante. Entretanto, consideramos que fatores como realização das sessões de criocirurgia de forma não subsequente, por não adesão ao método, possam ter influenciado. A disfunção endotelial presente tanto no diabetes quanto na doença cardiovascular, muitas vezes associada a graus de doença arterial periférica, pode ter sido um ponto de preocupação quanto ao uso de um

método destrutivo local, e isso talvez tenha representado uma indicação tardia nesse grupo. Porém, a cicatrização com a criocirurgia foi satisfatória e o método se mostrou benéfico com seus resultados de necrose tecidual e estímulo da reposta imune. O início tardio da criocirurgia levando a um maior número de sessões e tempo prolongado para a cura, pode estar relacionado a tratamento de lesões mais antigas, com mais áreas de fibrose, o que pode ter interferido na resposta à criocirurgia. Os achados sugerem um possível benefício em iniciar a criocirurgia num período de até 90 dias de início do tratamento oral, caso não tenha ocorrido uma cicatrização completa até então, principalmente em pacientes com comorbidades como doença cardiovascular.

A associação do uso da terbinafina com um tempo maior de tratamento não era o esperado. Estudos prévios demonstraram um bom perfil de sensibilidade à terbinafina *in vitro* de isolados de *Sporothrix* spp. da hiperendemia do Rio de Janeiro. (GUTIERREZ-GALHARDO et al., 2008; ALMEIDA-PAES et al., 2017a). Da mesma forma, Francesconi et al. (2011), compararam o uso de itraconazol 100 mg/dia com terbinafina 250 mg/dia no tratamento da esporotricose cutânea num total de 304 pacientes, sendo a sua eficácia (92,7% e 92%, respectivamente) e tempos para obtenção de cura similares (11,5 e 11,8 semanas). O custo mensal do tratamento com a terbinafina hoje é, aproximadamente, de 86 reais (medicamento genérico cujo preço foi consultado em 23/01/2018. <https://consultaremedios.com.br/cloridrato-de-terbinafina-medley/p>). Normalmente, o INI fornece a medicação, mas cabe ao paciente arcar com a compra em períodos de falta, o que vem ocorrendo. Uma possível explicação seria uma impossibilidade de compra levando a interrupção de tratamento, mas que muitas vezes não é explicitado durante a consulta médica.

A criocirurgia estimula a resposta imune local e promove a destruição do agente infeccioso através da necrose tecidual causada pelo congelamento. Os mecanismos de injúria tecidual causados pelo frio incluem dano celular direto e estase vascular que ocorre após o descongelamento. O congelamento rápido provoca um dano irreversível para a célula, desejável em casos de neoplasias, enquanto o congelamento lento provoca dano menor e reversível. O descongelamento lento também aumenta o dano celular. Existe uma destruição seletiva dos tecidos, que favorece a cicatrização, pois as fibras de colágeno são mais resistentes ao frio do que as células da epiderme e fornecem um arcabouço de reparo à ferida (KUFLIK, 1994).

Uma resposta imunológica após tratamento criocirúrgico foi primeiramente demonstrada no final da década de 60 com a observação de alguns fenômenos como

involução de metástases após tratamento do tumor primário, e de várias lesões de verrugas após tratamento de apenas uma delas (ZOUBOULIS, 1999). A cascata imunológica parece ser iniciada a partir da necrose tecidual, com liberação do conteúdo intracelular que atrai para o local células da resposta imune inflamatória (CHU; DUPUY, 2014; KASUYA et al., 2015). Um estudo em modelo animal realizou aplicação de nitrogênio líquido na pele normal de 8 camundongos para avaliar a resposta imune subsequente. O nitrogênio líquido era aplicado por um *swab* em contato com a pele durante 5 ou 15 segundos. A amostra de tecido era coletada para análise histopatológica e imunohistoquímica após duas horas ou um dia da criocirurgia, além de análise por citometria de fluxo para identificação das células no infiltrado inflamatório. Foi demonstrado um aumento de neutrófilos, macrófagos, células dendríticas, com maior expressão de interferon alfa (INF α) e degranulação de mastócitos, além de migração das células dendríticas para os linfonodos regionais, configurando ativação principalmente da resposta imune inata (KASUYA et al., 2015).

A criocirurgia parece normalizar a diferenciação de fibroblastos e a síntese de colágeno em queloides, sendo inclusive demonstradas novas fibras de colágeno após o procedimento (DALKOWSKI et al., 2003; HAR-SHAI et al., 2006). Também foi visto que criocirurgia é capaz de modular a expressão de fatores de crescimento como o fator de crescimento endotelial vascular (VEGF) e proteínas de matriz extracelular como tenascina C, ambos aumentados em queloides (ABDEL-MEGUID et al., 2015). Em outro estudo mais recente com 26 pacientes, a criocirurgia foi utilizada com sucesso no tratamento de queloides, de 2 a 6 sessões, com posterior análise histopatológica e imunohistoquímica. Houve uma redução da expressão de fator de transformação do crescimento beta 1 (TGFB 1), resultado esse atribuído a parte de seu efeito terapêutico (AWAD et al., 2017).

O uso da criocirurgia no tratamento da esporotricose vem sendo ressaltado para lesões residuais (FRANCESCONI et al., 2009; FERREIRA et al., 2011; SECCHIN et al., 2017), entretanto, Paixão et al. (2015) relataram seu uso como adjuvante no tratamento de inúmeras lesões da forma cutânea disseminada. A indicação mais frequente no nosso estudo foi uma resposta incompleta à terapêutica com antifúngicos. Na maior parte dos casos, utilizaram-se doses baixas de antifúngicos, e os esquemas foram mantidos desde o início do tratamento (52,3%). Nesses, a introdução da terapia adjuvante foi capaz de evitar aumento das doses. Por outro lado, naqueles em que houve troca, aumento de antifúngicos ou associação, estas ações não foram suficientes para levar à cura, que só ocorreu com introdução da criocirurgia. Essa, com suas ações locais de destruição, e provavelmente também de uma maior

biodisponibilidade dos antifúngicos ao sítio da lesão, e de estímulo da resposta imune foi capaz de induzir a cura. Um segundo grupo de pacientes iniciou a criocirurgia já no primeiro mês de tratamento devido a lesões ulceradas extensas, verrucosas ou vegetantes que geralmente estão mais relacionadas à forma fixa de esporotricose. Estas, sabidamente, são mais espessas em relação a sua superfície e tendem a ter um curso mais crônico. A criocirurgia, ao provocar destruição da camada córnea e da epiderme, pode ser benéfica no tratamento deste tipo de lesão, principalmente nas lesões verrucosas, que além do efeito da necrose tecidual, auxilia na exposição do agente infeccioso ao sistema imune (KASUYA et al., 2015). Essa ação é destacada principalmente na infecção pelo papilomavírus humano no tratamento das verrugas. Em relação ao grupo no qual o antifúngico teve que ser suspenso em razão de efeitos adversos, a criocirurgia foi usada para concluir o tratamento como método isolado, com êxito, semelhante ao descrito por Bargman (1995).

Quanto às gestantes, apresentaram perfil epidemiológico semelhante ao dos demais pacientes, mas com média de idade menor e ausência de comorbidades. Não foi observada uma pior evolução do quadro de esporotricose, apesar de tal ocorrência já ter sido descrita em outras doenças infecciosas, em razão das alterações imunes próprias da gestação (SAMPAIO et al., 2015). Estudos anteriores em gestantes com esporotricose abordaram como opções de tratamento apenas a aplicação de calor local e para casos graves, anfotericina B (ROMIG et al., 1972; VANDERVEEN et al., 1982; AGARWAL et al., 2008; OROFINO-COSTA et al., 2011; FERREIRA et al., 2012). Nesse grupo, a criocirurgia foi bem tolerada, e uma média de duas sessões foram necessárias para obtenção da cura, sugerindo ser um método seguro e eficiente para esse grupo.

A criocirurgia contribuiu para uma taxa de cura de 91,0%, com uma mediana de três sessões em diferentes situações clínicas. Consideramos que a criocirurgia pode ser indicada em casos de dificuldade terapêutica, principalmente em pacientes com comorbidades, tão logo seja caracterizada uma resposta insatisfatória ao tratamento padrão, preferencialmente antes do término previsto, pois o número de sessões para obter a cura poderá ser menor. Em lesões verrucosas, vegetantes e extensas em que já é previsível uma tendência maior à cronicidade, a terapia adjuvante pode ser instituída de forma ainda mais precoce. Da mesma forma, para pacientes com impossibilidade de uso de antifúngicos orais, gestantes ou pacientes que apresentem reações adversas, a criocirurgia é eficiente como método isolado. Deve ser ressaltado, ainda, que a criocirurgia representa uma alternativa custo efetiva e segura. Estudos futuros controlados e randomizados seriam interessantes para aprofundar e confirmar

a eficácia da criocirurgia tanto no tratamento, como na redução do seu tempo na esporotricose cutânea.

8 CONCLUSÕES

1. Essa casuística representou 5% dos casos de esporotricose atendidos no INI/Fiocruz em 11 anos, caracterizada por predomínio de mulheres, com média de idade 55,7 anos e frequência elevada de comorbidades (60,3%).

2. A criocirurgia foi efetiva em 91,0% dos casos, com mediana de três sessões e de 125 dias até a cura clínica.

3. Itraconazol na dosagem de 100 e 200 mg/dia foi utilizado por 38,7% e 26,6% dos pacientes, respectivamente. Terbinafina na dosagem de 250 mg/dia foi utilizada em 11,1% dos casos e de 500 mg/dia em 3,0%. Em 15,6% dos casos, houve troca entre os antifúngicos. Esquemas envolvendo a combinação de ambos antifúngicos foram utilizados por 3,0% dos pacientes e outras dosagens de itraconazol, 300 ou 400 mg/dia, por 2,0%. Em 52,3% dos pacientes os esquemas foram mantidos desde o início do tratamento.

4. A criocirurgia foi indicada devido à resposta incompleta ao tratamento com antifúngicos orais (91,0%), para lesões verrucosas, vegetantes ou ulceradas e extensas (6,0%) ou em casos em que o antifúngico teve que ser interrompido por efeitos adversos (3,0%).

5. Pacientes que necessitaram de mais sessões de criocirurgia (mais de 4) para a obtenção da cura, foram mais velhos ($p = 0,034$), com mais comorbidades ($p = 0,047$), especificamente diabetes mellitus ($p = 0,028$) e doença cardiovascular ($p = 0,001$), que utilizaram com maior frequência a terbinafina ($p = 0,005$) e iniciaram tardiamente a criocirurgia ($p = 0,030$).

6. Na análise de sobrevida foram identificados que o início tardio da criocirurgia (mais de 90 dias de tratamento oral) esteve associado a um tempo prolongado de tratamento ($HR=0,48$, $95\% IC=0,29 - 0,78$), enquanto que ausência de doença cardiovascular teve efeito oposto, estando associada a uma tendência maior de cura ($HR=9,45$, $95\% IC=1,27- 69,83$).

7. As gestantes com esporotricose estavam no segundo trimestre gestacional, apresentaram média de idade de 26,5 anos e formas clínicas cutânea fixa ou linfocutânea. Foram tratadas com a criocirurgia como método terapêutico isolado, tendo sido submetidas a uma média de duas sessões e alcançado a cura clínica sem necessidade de terapia antifúngica após o parto.

9 PERSPECTIVAS

1. Estimular a incorporação da criocirurgia como método de tratamento adjuvante e mesmo como método isolado, em casos específicos, nos protocolos de terapêutica de esporotricose. Poderá ser empregada quando ocorrer uma resposta insatisfatória ao tratamento, principalmente em pacientes com comorbidades; já precocemente em lesões úlcero-vegetantes e verrucosas espessas, associada ao antifúngico ou como método isolado para pacientes com impossibilidade de uso de antifúngicos orais, como gestantes ou pacientes que tenham apresentado reações adversas.
2. Fomentar estudos controlados e randomizados que avaliem a eficácia do método, assim como estudos que aprofundem o conhecimento do mecanismo de ação da criocirurgia na esporotricose, com ênfase principalmente no seu efeito sobre a resposta imunológica do hospedeiro.

REFERÊNCIAS

- ABDEL-MEGUID, A. M.; WESHAHY, A. H.; SAYED, D. S. et al. Intralesional vs. contact cryosurgery in treatment of keloids: a clinical and immunohistochemical study. **Int. J. Dermatol.**, v.54, n.4, p.468-75, 2015.
- AFSAR, F. S.; ERKAN, C. D.; KARACA, S. Clinical practice trends in cryosurgery: a retrospective study of cutaneous lesions. **Postepy Dermatol. Alergol.**, v.32, n.2, p.88-93, 2015.
- AGARWAL, R.; SINGH, G.; GHOSH, A. et al. Chromoblastomycosis in India: Review of 169 cases. **PLoS Negl. Trop. Dis.**, v.11, n.8, p.e0005534, 2017.
- AGARWAL, S.; GOPAL, K.; UMESH et al. Sporotrichosis in Uttarakhand (India): a report of nine cases. **Int. J. Dermatol.**, v.47, n.4, p.367-71, 2008.
- AL HAMMADI, A.; AL-HADDAB, M.; SASSEVILLE, D. Dermatologic treatment during pregnancy: practical overview. **J. Cutan. Med. Surg.**, v.10, n.4, p.183-92, 2006.
- ALMEIDA-PAES, R.; BRITO-SANTOS, F.; FIGUEIREDO-CARVALHO, M. H. G. et al. Minimal inhibitory concentration distributions and epidemiological cutoff values of five antifungal agents against *Sporothrix brasiliensis*. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v.112, n.5, p.376-381, 2017a.
- ALMEIDA-PAES, R.; DE OLIVEIRA, M. M.; FREITAS, D. F. et al. Sporotrichosis in Rio de Janeiro, Brazil: *Sporothrix brasiliensis* is associated with atypical clinical presentations. **PLoS Negl. Trop. Dis.**, v.8, n.9, p. e3094, 2014. Disponível em: [http:// doi: 10.1371/journal.pntd.0003094](http://doi:10.1371/journal.pntd.0003094). eCollection 2014 Sep.
- ALMEIDA-PAES, R.; OLIVEIRA, M. M. E; FREITAS, D. F. S. et al. Refractory sporotrichosis due to *Sporothrix brasiliensis* in humans appears to be unrelated to in vivo resistance. **Med. Mycol.**, v.55, n.5, p.507-17, 2017b.
- ALMEIDA-PAES, R.; PIMENTA, M. A.; PIZZINI, C. V. et al. Use of mycelial-phase *Sporothrix schenckii* exoantigens in an enzyme-linked immunosorbent assay for diagnosis of sporotrichosis by antibody detection. **Clin. Vaccine Immunol.**, v.14, p.244-9, 2007.
- ALVES, S. H.; BOETTCHER, C. S.; OLIVEIRA, D. C. et al. *Sporothrix schenckii* associated with armadillo hunting in Southern Brazil: epidemiological and antifungal susceptibility profiles. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v.43, n.5, p.523-5, 2010.
- AWAD, S. M.; ISMAIL, S. A.; SAYED, D. S. et al. Suppression of transforming growth factor-beta1 expression in keloids after cryosurgery. **Cryobiology**, v.75, p.151-3, 2017.
- BARGMAN, H. Successful treatment of cutaneous sporotrichosis with liquid nitrogen: report of three cases. **Mycoses**, v.38, n.7-8, p.285-7, 1995.

- BARROS, M. B.; SCHUBACH, A. O.; SCHUBACH, T. M. et al. An epidemic of sporotrichosis in Rio de Janeiro, Brazil: epidemiological aspects of a series of cases. **Epidemiol. Infect.**, v.136, n.9, p.1192–6, 2008.
- BARROS, M. B.; SCHUBACH, A. O.; VALLE, A. C. et al. Cat-transmitted sporotrichosis epidemic in Rio de Janeiro, Brazil: description of a series of cases. **Clin. Infect. Dis.**, v.38, n.4, p.529-35, 2004.
- BARROS, M. B. L.; ALMEIDA-PAES, R.; SCHUBACH, A. O. *Sporothrix schenckii* and sporotrichosis. **Clin. Microbiol. Rev.**, v.24, n.4, p.633-54, 2011a.
- BARROS, M. B. L.; SCHUBACH, A. O.; DE VASCONCELLOS, R. C. O. et al. Treatment of cutaneous sporotrichosis with itraconazole--study of 645 patients. **Clin. Infect. Dis.**, v.52, n.12, p. e200-6, 2011b.
- BARROS, M. B. L.; SCHUBACH, A. O.; GUTIERREZ-GALHARDO, M. C. et al. Sporotrichosis with widespread cutaneous lesions: a report of 24 cases related to transmission by domestic cats in Rio de Janeiro, Brazil. **Int. J. Dermatol.**, v.42, n.9, p.677-81, 2003.
- BENNETT, J. E. Agentes antifúngicos. In: GILMAN, A. G.; GOODMAN, A. G. (Ed.). **Goodman & Gilman: as bases farmacológicas da terapêutica**. 10^a edição. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 2001. p.977-97
- BERNARDES-ENGEMANN, A. R.; OROFINO, R. C.; MIGUENS, B. P. et al. Development of an enzyme-linked immunosorbent assay for the serodiagnosis of several clinical forms of sporotrichosis. **Med. Mycol.**, v.43, n.6, p.487-93, 2005.
- BORBA-SANTOS, L. P.; RODRIGUES, A. M.; GAGINI, T. B. et al. Susceptibility of *Sporothrix brasiliensis* isolates to amphotericin B, azoles, and terbinafine. **Med. Mycol.**, v.53, n.2, p.178-88, 2015.
- BUNCE, P. E.; YANG, L.; CHUN, S. et al. Disseminated sporotrichosis in a patient with hairy cell leukemia treated with amphotericin B and posaconazole. **Med. Mycol.**, v.50, n.2, p.197-201, 2012.
- BUSTAMANTE, B.; CAMPOS, P. E. Sporotrichosis: a forgotten disease in the drug research agenda. **Expert. Rev. Anti Infect. Ther.**, v.2, n.1, p.85-94, 2004.
- CARLOS, I. Z.; FERREIRA, S. F.; GONÇALVES, A. C. Models of experimental sporotrichosis and immune response against *Sporothrix schenckii*. In: CARLOS, I. Z. (Ed). **Sporotrichosis New Developments and Future Prospects**. 1st ed. Springer, 2015. p103 -32.
- CARLOS, I. Z.; SASSÁ, M. F.; DA GRAÇA SGARBI, D. B.; PLACERES, M. C. et al. Current research on the immune response to experimental sporotrichosis. **Mycopathologia**, v.168, n.1, p.1-10, 2009.
- CARLOS, I. Z.; SGARBI, D. B.; ANGKUSTER, J. et al. Detection of cellular immunity with the soluble antigen of the fungus *Sporothrix schenckii* in the systemic form of the disease. **Mycopathologia**, v.117, n.3, p.139-44.

CARLOS, I. Z.; SGARBI, D. B.; SANTOS, G. C. et al. *Sporothrix schenckii* lipid inhibits macrophage phagocytosis: involvement of nitric oxide and tumour necrosis factor- α . **Scand. J. Immunol.**, v.57, n.3, p.214-20, 2003.

CARRADA-BRAVO, T. New observations on the epidemiology and pathogenesis of sporotrichosis. **Ann. Trop. Med. Parasitol.**, v. 69, n.3, p.267-73, 1975.

CASTRO, L. G.; PIMENTEL, E. R.; LACAZ, C. S. Treatment of chromomycosis by cryosurgery with liquid nitrogen: 15 years' experience. **Int. J. Dermatol.**, v.42, n.5, p.408-12, 2003.

CHAPMAN, S. W.; PAPPAS, P.; KAUFFMANN, C. et al. Comparative evaluation of the efficacy and safety of two doses of terbinafine (500 and 1000 mg day⁻¹) in the treatment of cutaneous or lymphocutaneous sporotrichosis. **Mycoses**, v.47, n.1-2 , p. 62-8, 2004.

CHU, K. F., DUPUY, D. E. Thermal ablation of tumours: biological mechanisms and advances in therapy. **Nat. Rev. Cancer**, v.14, n.3, p.199-208, 2014.

COLES, F. B.; SCHUCHAT, A.; HIBBS, J. R. et al. A multistate outbreak of sporotrichosis associated with sphagnum moss. **Am. J. Epidemiol.**, v.136, n.4, p. 475-87, 1992.

CONTI-DIAZ, I. A. Sporotrichosis in Uruguay: epidemiologic and clinical aspects. **Bull. Pan. Am. Health. Organ.**, p. 312-2, 1980.

COOPER, C. R.; DIXON, D. M.; SALKIN, I. F. Laboratory-acquired sporotrichosis. **J. Med. Vet. Mycol.**, v.30, n.2, p.169-71, 1992a.

COOPER, S. M.; DAWBER, R. P. R. The history of cryosurgery. **J. R. Soc. Med.**, v.94, n.4, p.196-201, 2001.

CRANWELL, W. C.; SINCLAIR, R. Optimising cryosurgery technique. **Aust. Fam. Physician**, v.46, n.5, p.270-4, 2017.

DA ROSA, A. C.; SCROFERNEKER, M. L.; VETTORATO, R. et al. Epidemiology of sporotrichosis: a study of 304 cases in Brazil. **J. Am. Acad. Dermatol.**, v.52, n.3, Pt,1, p. 451-9, 2005.

DACHÓW-SIUWÉC, E. Treatment of cryosurgery in the pre malignant and benign lesions of the skin. **Clin. Dermatol.**, v.8, n.1, p.69-79, 1990.

DALKOWSKI, A.; FIMMEL, S.; BEUTLER, C. et al. Cryotherapy modifies synthetic activity and differentiation of keloidal fibroblasts in vitro. **Exp. Dermatol.**, v.12, n.5, p.673-81, 2003.

DE BEURMANN, L.; RAMOND, L. Abce`s sous-cutane´s multiples d'origine mycosique. **Ann. Dermatol. Syph.**, v.4, p. 678-85, 1903.

DE MACEDO, P. M. **Estudo da efetividade e segurança de um novo esquema posológico da solução saturada de iodeto de potássio no tratamento da esporotricose linfocutânea e**

cutânea fixa, 2014. Dissertação (Mestrado) – Dermatologia, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2014.

DE MACEDO, P. M.; SZTAJNBOK, D. C.; CAMARGO, Z. P. et al. Dacryocystitis due to *Sporothrix brasiliensis*: a case report of a successful clinical and serological outcome with low dose potassium iodide treatment and oculoplastic surgery. **Br. J. Dermatol.**, v.172, n.4, p.1116-9, 2015.

DIAS, N. M.; OLIVEIRA, M. M.; SANTOS, C. et al. Sporotrichosis caused by *Sporothrix Mexicana*, Portugal. **Emerg. Infect. Dis.**, v.17, n.10, p.1975-6, 2011.

DOHERTY, C. B.; DOHERTY, S. D.; ROSEN, T. Thermoherapy in dermatologic infections. **J. Am. Acad. Dermatol.**, v.62, n.6, p.909-28, 2010.

DONADEL, K. W.; REINOSO, Y. D.; DE OLIVEIRA, J. C. et al. Esporotricose: revisão. **An. Bras. Dermatol.**, v.68, n.1, p.45-52, 1993.

DOOLEY, D. P.; BOSTIC, P. S.; BECKIUS, M. L. Spook house sporotrichosis: A point-source outbreak of sporotrichosis associated with hay bale props in a Halloween haunted-house. **Arch. Intern. Med.**, v.157, n.16, p.1885-7, 1997.

FEENEY, K. T.; ARTHUR, I. H.; WHITTLE, A. J. et al. Outbreak of sporotrichosis, Western Australia. **Emerg. Infect. Dis.**, v.13, n.8, p.1228-31, 2007.

FERNANDES, G. F.; DOS SANTOS, P. O.; RODRIGUES, A. M. et al. Characterization of virulence profile, protein secretion and immunogenicity of different *Sporothrix schenckii sensu stricto* isolates compared with *S. globosa* and *S. brasiliensis* species. **Virulence**, v.4, n.3, p.241-49, 2013.

FERNÁNDEZ-SILVA, F.; CAPILLA, J.; MAYAYO, E. et al. Efficacy of posaconazole in murine experimental sporotrichosis. **Antimicrob. Agents. Chemother.**, v.56, n.5, p.2273-7, 2012.

FERREIRA, C. P.; GALHARDO, M. C.; VALLE, A. C. Cryosurgery as adjuvant therapy in cutaneous sporotrichosis. **Braz. J. Infect. Dis.**, v.15, n.2, p.181-3, 2011.

FERREIRA, C. P.; VALLE, A. C. F.; FREITAS, D. F. S. et al. Pregnancy during a sporotrichosis epidemic in Rio de Janeiro, Brazil. **Int. J. Gynaecol. Obstet.**, v.117, n.3, p.294-5, 2012.

FICHMAN, V.; GREMIÃO, I. D. F.; MENDES-JÚNIOR, A. A. V. et al. Sporotrichosis transmitted by a cockatiel (*Nymphicus hollandicus*). **J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol.** Disponível em: <http://doi:10.1111/jdv.14661>. Out.2017

FRANCESCONI, G.; VALLE, A. C.; PASSOS S. et al. Terbinafine (250 mg/day): an effective and safe treatment of cutaneous sporotrichosis. **J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol.**, v.23, n.11, p.1273-6, 2009.

FRANCESCONI, G.; VALLE, A. C. F.; PASSOS S. R. L. et al. Comparative study of 250 mg/day terbinafine and 100 mg/day itraconazole for the treatment of cutaneous sporotrichosis. **Mycopathologia**, v.171, n.5, p. 349-54, 2011.

FREITAS, D. C.; DE MIGLIANO, M. F.; ZANI NETO, L. Esporotricose: Observação de caso espontâneo em gato doméstico (*F. catus*). **Rev. Fac. Med. Vet. S. Paulo**, v.5, p.601-4, 1956.

FREITAS, D. F.; LIMA, I. A.; CURI, C. L. et al. Acute dacryocystitis: another clinical manifestation of sporotrichosis. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v.109, n.2, p.262-4, 2014b.

FREITAS, D. F.; VALLE, A. C.; CUZZI, T. et al. Sweet syndrome associated with sporotrichosis. **Br. J. Dermatol.**, v.166, n.1, p.212-3, 2012.

FREITAS, D. F. S. **Avaliação de fatores epidemiológicos, micológicos, clínicos e terapêuticos associados à esporotricose**, 2014. Tese (Doutorado em Medicina Tropical), Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2014a.

FREITAS, D. F. S.; VALLE, A. C. F.; ALMEIDA-PAES, R. et al. Zoonotic sporotrichosis in Rio de Janeiro, Brazil: a protracted epidemic yet to be curbed. **Clin. Infect. Dis.**, v.50, n.3, p.453, 2010.

GILABERTE, Y.; ASPIROZ, C.; ALEJANDRE, M. C. et al. Cutaneous sporotrichosis treated with photodynamic therapy: an in vitro and in vivo study. **Photomed. Laser Surg.**, v.32, n.1, p.54-7, 2014.

GOLIA, E.; LIMONGELLI, G.; NATALE, F. et al. Inflammation and cardiovascular disease: from pathogenesis to therapeutic target. **Curr. Atheroscler. Rep.**, v.16, n.9, p.435, 2014.

GUARRO, J. Taxonomy and biology of fungi causing human infection. **Enferm. Infec. Microbiol. Clin.**, v.30, n.1, p.33-39, 2012.

GUTIERREZ-GALHARDO, M. C.; BARROS, M. B. L.; SCHUBACH, A. O. et al. Erythema multiforme associated with sporotrichosis. **J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol.**, v.19, n.4, p.507-9, 2005.

GUTIERREZ-GALHARDO, M. C.; OLIVEIRA, R. M. Z.; VALLE, A. C. F. et al. Molecular epidemiology and antifungal susceptibility patterns of *Sporothrix schenckii* isolates from a cat-transmitted epidemic of sporotrichosis in Rio de Janeiro, Brazil. **Med Mycol.**, v.46, n.2, p.141-51, 2008.

GUTIERREZ-GALHARDO, M. C.; SCHUBACH, A. O.; BARROS, M. B. L. et al. Erythema nodosum associated with sporotrichosis. **Int. J. Dermatol.**, v.41, n.2, p.114-6, 2002.

HAR-SHAI, Y.; SABO, E.; ROHDE, E. et al. Intralesional cryosurgery enhances the involution of recalcitrant auricular keloids: a new clinical approach supported by experimental studies. **Wound Repair Regen.**, v.14, n.1, p.18-27, 2006.

HEKTOEN, L.; PERKINS, C. F. Refractory subcutaneous abscesses caused by *Sporothrix Schenckii*. A new pathogenic fungus. **J. Exp. Med.**, v.5, n.1, p.77-89, 1900.

HELM, M. A. F.; BERMAN, C. The clinical, therapeutic and epidemiological features of the sporotrichosis infection on the mines. In: _____. **Proceedings of the Transvaal Mine Medical Officers' Association. Sporotrichosis Infection on Mines of the Witwatersrand.** Johannesburg: The Transvaal Chamber of Mines; 1947. p. 59-74.

ITOH, M.; OKAMOTO, S.; KARIYA, H. Survey of 200 cases of sporotrichosis. **Dermatologica**, v.172, n.4, p. 209–13, 1986.

KASUYA, A.; OHTA, I.; TOKURA, Y. Structural and immunological effects of skin cryoablation in a mouse model. **PLoS One**, v.10, n.3, p.e0123906, 2015.

KAUFFMAN, C. A. Sporotrichosis. **Clin. Infect. Dis.**, v.29, n.2, p. 231-7, 1999.

KAUFFMAN, C. A.; BUSTAMANTE, B.; CHAPMAN, S. W. et al. Clinical practice guidelines for the management of sporotrichosis: 2007 update by the Infectious Diseases Society of America. **Clin. Infect. Dis.**, v.45, P.1255-65, 2007.

KUFLIK, E. G. Cryosurgery updated. **J. Am. Acad. Dermatol.**, v.31,n.6, p.925-44, 1994.

KWON-CHUNG, K. J.; BENNETT, J. E. **Medical Mycology**. 2nd ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1992. p. 707-29.

LACAZ, C. S. Esporotricose e outras micoses gomosas. In: LACAZ, C.S.; PORTO, E.; MARTINS, J.E.C. et al. (Ed.). **Tratado de Micologia Médica Lacaz**. 9. ed. São Paulo: Sarvier, 2002. p. 479-97.

LAPINSKY, S. E. Obstetric infections. **Crit. Care Clin.**, v.29, n.3, p.509–520, 2013.

LAVALLE, P.; MARIAT, F. Sporotrichosis. **Bull. Inst. Pasteur**, v.81, p.295-322, 1983.

LONDERO, A. T.; RAMOS, C. D. Esporotricose no Rio Grande do Sul. Três décadas de observação. **An. Bras. Dermatol.**, v.64, n.6, p.307-10, 1989.

LOPES, J. O.; ALVES, S. H.; MARI, C. R. et al. Epidemiology of sporotrichosis in the central region of Rio Grande do Sul. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v.32, n.5, p.541-5, 1999.

LOPES-BEZERRA, L. M.; SCHUBACH, A. O.; COSTA, R. O. *Sporothrix Schenckii* and sporotrichosis. **An. Acad. Bras. Cienc.**, v.78, n.2, p.293-308, 2006.

LÓPEZ-CARVAJAL, L.; CARDONA-ARIAS, J. A.; ZAPATA-CARDONA, M. I. et al., Efficacy of cryotherapy for the treatment of cutaneous leishmaniasis: meta-analyses of clinical trials. **BMC Infect. Dis.**, v.16, p.360, 2016.

LOW WANG, C. C.; HESS, C. N.; HIATT, W. R. et al. Clinical Update: Cardiovascular Disease in Diabetes Mellitus: Atherosclerotic Cardiovascular Disease and Heart Failure in Type 2 Diabetes Mellitus - Mechanisms, Management, and Clinical Considerations. **Circulation**, v.133, n.24, p.2459-502, 2016.

LUTZ, A.; SPLENDORE, A. Sobre uma mycose observada em homens e ratos. **Rev. Med. S. Paulo**, v.21, p.433-50, 1907.

- MACEDO, P. M.; LOPES-BEZERRA, L. M.; BERNARDES-ENGEMANN, A. R. New posology of potassium iodide for the treatment of cutaneous sporotrichosis: study of efficacy and safety in 102 patients. **J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol.**, v.29, n.4, p.719-24, 2015.
- MAIA, D. C.; SASSA, M. F.; PLACERES, M. C. et al. Influence of Th1/Th2 cytokines and nitric oxide in murine systemic infection induced by *Sporothrix schenckii*. **Mycopathologia**, v.161, n.1, p. 11-9, 2006.
- MARIMON, R.; CANO, J.; GENE, J. et al. *Sporothrix brasiliensis*, *S. globosa*, and *S. mexicana*, three new *Sporothrix* species of clinical interest. **J. Clin. Microbiol.**, v.45, p.3198-206, 2007.
- MARIMON, R.; GENÉ, J.; CANO, J. et al. Molecular phylogeny of *Sporothrix schenckii*. **J. Clin. Microbiol.**, v.44, n.9, p.3251-6, 2006.
- MARIMON, R.; GENÉ, J.; CANO, J. et al. *Sporothrix luriei*: a rare fungus from clinical origin. **Med. Mycol.**, v.46, n.6, p.621-5, 2008.
- MEYER, K. F. The relation of animal to human sporotrichosis. **JAMA**, v.65, n.7, p.579-85, 1915.
- MORAES, A. M.; VELHO, P. E. N. F. V.; MAGALHÃES, R. F. Criocirurgia com nitrogênio líquido e as dermatoses infecciosas. **An. Bras. Dermatol.**, v.83, n.4, p.285-98, 2008.
- MORRIS-JONES, R. Sporotrichosis. **Clin. Exp. Dermatology**, v.27, n.6, p.427-31, 2002.
- MORRISON, A. S.; LOCKHART, S. R.; BROMLEY, J. G. et al. An environmental *Sporothrix* as a cause of corneal ulcer. **Med. Mycol. Case. Rep.**, v.2, p.88-90, 2013.
- MOUSSA, T. A. A.; KADASA, N. M. S.; AL ZHRANI, H. S. et al. Origin and distribution of *Sporothrix globosa* causing sapronoses in Asia. **J. Med. Microbiol.**, v.66, n.5, p.560-9, 2017.
- NOGUCHI, H.; HIRUMA, M.; KAWADA, A. Case report. Sporotrichosis successfully treated with itraconazole in Japan. **Mycoses**, v.42, n.9-10, p.571-6, 1999.
- OKONKWO, U. A.; DIPIETRO, L. A. Diabetes and Wound Angiogenesis. **Int. J. Mol. Sci.**, v.18, n.7, p.ii:E1419, 2017.
- OLIVEIRA, M. M.; ALMEIDA-PAES, R.; MUNIZ, M. M. et al. Phenotypic and molecular identification of *Sporothrix* isolates from an epidemic area of sporotrichosis in Brazil. **Mycopathologia**, v.172, n.4, p. 257-67, 2011.
- OLIVEIRA, M. M.; SANTOS, C.; SAMPAIO, P. et al. Development and optimization of a new MALDI-TOF protocol for identification of the *Sporothrix* species complex. **Res. Microbiol.**, v.166, n.2, p.102-10, 2015.
- OLIVEIRA, M. M. E.; SAMPAIO, P.; ALMEIDA-PAES, R. et al. Rapid Identification of *Sporothrix* Species by T3B Fingerprinting. **J. Clin. Microbiol.**, v.50, n.6, p.2159-162, 2012.

OROFINO-COSTA, R.; BERNARDES-ENGEMANN, A. R.; AZULAY-ABULAFIA, L. et al. Sporotrichosis in pregnancy: Case reports of 5 patients in a zoonotic epidemic in Rio de Janeiro, Brazil. **An. Bras. Dermatol.**, v.86, n.5, p.995-8, 2011.

OROFINO-COSTA, R.; BÓIA, M. N.; MAGALHÃES, G. A. et al. Arthritis as a hypersensitivity reaction in a case of sporotrichosis transmitted by a sick cat: clinical and serological follow up of 13 months. **Mycoses**, v.53, n.1, p.81-3, 2010.

OROFINO-COSTA, R.; DE MACEDO, P. M.; RODRIGUES, A. M. et al. Sporotrichosis: an update on epidemiology, etiopathogenesis, laboratory and clinical therapeutics. **An. Bras. Dermatol.**, v.92, n.5, p.606-20, 2017.

PAIXÃO, A. G.; GUTIERREZ-GALHARDO, M. C.; ALMEIDA-PAES, R. et al. The difficult management of disseminated *Sporothrix brasiliensis* in a patient with advanced AIDS. **AIDS Res. Ther.**, v.12, p.16, 2015.

PARVIZI, M. M.; HANDJANI, F.; MOEIN, M. et al. Efficacy of cryotherapy plus topical *Juniperus excelsa* M. Bieb cream versus cryotherapy plus placebo in the treatment of Old World cutaneous leishmaniasis: A triple-blind randomized controlled clinical trial. **PLoS Negl. Trop. Dis.**, v.11, n.10, p.e0005957, 2017.

PENHA, C. V.; BEZERRA, L. M. Concanavalin A-binding cell wall antigens of *Sporothrix schenckii*: a serological study. **Med. Mycol.**, v.38, n.1, p.1-7, 2000.

PILMIS, B.; JULLIEN, V.; SOBEL, J. et al. Antifungal drugs during pregnancy: an updated review. **J. Antimicrob. Chemother.**, v.70, n.1, p.14-22, 2015.

PUSEY, W. The use of carbon dioxide snow in the treatment of naevi and other lesions of the skin. **JAMA**, v. 49, p.1354-6, 1935.

QUEIROZ-TELLES, F.; DE HOOG, S.; SANTOS, D. W. et al. Chromoblastomycosis. **Clin. Microbiol. Rev.**, v.30, n.1, p.233-27, 2017

QUINTELLA, L. P.; PASSOS, S. R.; DE MIRANDA, L. H. et al. Proposal of a histopathological predictive rule for the differential diagnosis between American tegumentary leishmaniasis and sporotrichosis skin lesions. **Br. J. Dermatol.**, v.167, n.4, p.837-46, 2012.

QUINTELLA, L. P.; PASSOS, S. R.; DO VALE, A. C. et al. Histopathology of cutaneous sporotrichosis in Rio de Janeiro: a series of 119 consecutive cases. **J. Cutan. Pathol.**, v.38, n.1, p.25-32, 2011.

RANAWAKA, R. R.; AMARASINGHE, N.; HEWAGE, D. Chromoblastomycosis: combined treatment with pulsed itraconazole therapy and liquid nitrogen cryotherapy. **Int. J. Dermatol.**, v.48, n.4, p.397-400, 2009.

READ, S. I.; SPERLING, L. C. Feline sporotrichosis. Transmission to man. **Arch. Dermatol.**, v.118, n.6, p.429-31, 1982.

RESTREPO, A.; ROBLEDO, J.; GOMEZ, I. et al. Itraconazole therapy in lymphangitic and cutaneous sporotrichosis. **Arch. Dermatol.**, v.122, n.4, p.413-7, 1986.

RIPPON, J. W. **Medical Mycology: the pathogenic fungi and the pathogenic actinomycetes**. 3rd ed. Philadelphia: WB Saunders, 1988. p. 325-52.

RODRIGUES, A. M.; CRUZ CHOAPPA, R.; FERNANDES, G. F. et al. *Sporothrix chilensis* sp. nov. (Ascomycota: Ophiostomatales), a soil-borne agent of human sporotrichosis with mild-pathogenic potential to mammals. **Fungal Biol.** v.120, n.4, p.246-62, 2016.

RODRIGUES, A. M.; DE HOOG, G.; ZHANG, Y. et al. Emerging sporotrichosis is driven by clonal and recombinant *Sporothrix* species. **Emerg. Microbes Infect.**, v.3, n.5, p.e32, 2014a.

RODRIGUES, A. M.; DE HOOG, G. S.; CAMARGO, Z. P. Genotyping species of the *Sporothrix schenckii* complex by PCR-RFLP of calmodulin. **Diagn. Microbiol. Infect. Dis.**, v.78, n.4, p. 383-7, 2014b.

RODRIGUES, A. M.; DE HOOG, G. S.; DE CAMARGO, Z. P. Molecular diagnosis of pathogenic *Sporothrix* species. **PLoS Negl. Trop. Dis.**, v.9, n.12, p.e0004190, 2015.

RODRIGUES, A. M.; DE HOOG, G. S.; DE CASSIA PIRES, D. et al. Genetic diversity and antifungal susceptibility profiles in causative agents of sporotrichosis. **BMC Infect. Dis.**, v.14, n., p.219, 2014c.

RODRIGUES, A. M.; DE HOOG, S.; DE CAMARGO, Z. P. Emergence of pathogenicity in the *Sporothrix schenckii* complex. **Med. Mycol.**, v.51, n.4, p.405-12, 2013.

ROMIG, D. A.; VOTH, D. H.; LIU, C. Facial sporotrichosis during pregnancy. A therapeutic dilemma. **Arch. Intern. Med.**, v.130, n.6, p.910-2, 1972.

ROSSATO, L. ***Sporothrix brasiliensis*: aspectos imunológicos e virulência**, 2017. Tese (Doutorado), Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade do Estado de São Paulo, São Paulo, 2017.

SAMPAIO, F. M.; GALHARDO, M. C.; DE FARIAS CARDOSO, R. et al. Eumycetoma on the foot caused by *Madurella mycetomatis*: amputation after significant worsening during pregnancy. **Acta. Derm. Venereol.**, v.95, n.3, p.374-5, 2015.

SAMPAIO, F. M.; WANKE, B.; FREITAS, D. F. et al. Review of 21 cases of mycetoma from 1991 to 2014 in Rio de Janeiro, Brazil. **PLoS Negl. Trop. Dis.**, v.11, n.2, p. e0005301, 2017.

SAMPAIO, S. A. P.; LACAZ, C. S.; ALMEIDA, F. Aspectos clínicos da esporotricose em São Paulo. **Rev. Hosp. Clin. Fac. Med. São Paulo**, v.9, n.6, p.391-402, 1954.

SARAVANAKUMAR, P. S.; ESLAMI, P.; ZAR, F. A. Lymphocutaneous sporotrichosis associated with a squirrel bite: case report and review. **Clin. Infect. Dis.**, v.23, n.3, p.647-8, 1996.

SCHENCK, B. R. On refractory subcutaneous abscess caused by a fungus possibly related to the *Sporotricha*. **Bull. Johns Hopkins Hosp.**, v.93, p.286-90, 1898.

SCHUBACH, A. O.; SCHUBACH, T. M. P.; BARROS, M. B. L. Epidemic cat-transmitted sporotrichosis. **N. Engl. J. Med.**, v.353, n.11, p.1185-6, 2005.

SCHUBACH, T. M. P.; SCHUBACH, A. O.; REIS, R. S. et al.. *Sporothrix schenckii* isolated from domestic cats with and without sporotrichosis in Rio de Janeiro, Brazil. **Mycopathologia**, v.153, n.2, p. 83-6, 2002.

SCOTT, E. N.; MUCHMORE, H. G.; FINE D. P. Activation of the alternative complement pathway by *Sporothrix schenckii*. **Infect. Immun.**, v.51, n.1, p.6-9, 1986.

SECCHIN, P.; SEABRA, G. R. P.; ISHIDA, C. E. et al. Criocirurgia como tratamento adjuvante na esporotricose: relato de três casos. **Surgical & Cosmetic Dermatology**, v.9, n.3, p.255-58, 2017.

SERFLING, U.; HOOD, A. F. Local therapies for cutaneous Kaposi's sarcoma in patients with acquired immunodeficiency syndrome. **Arch. Dermatol.**, v.127, n.10, p.1479-81, 1991.

SILVA, M. B.; COSTA, M. M.; TORRES, C. C. et al. Esporotricose urbana: epidemia negligenciada no Rio de Janeiro, Brasil. **Cad. Saude Publica**, v.28, n.10, p.1867-80, 2012.

SINGER, J. I. ; MUNCIE, J. E. Sporotrichosis; etiologic considerations and report of additional cases from New York. **N. Y. State J. Med.**, v. 52, n.17, 1, p.2147-53,1952.

SONG, Y.; LI, S. S.; ZHONG, S. X. et al. Report of 457 sporotrichosis cases from Jilin province northeast China, a serious endemic region. **J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol.**, v.27, n.3, p.313-8, 2013.

STERLING, J. B.; HEYMANN, W. R. Potassium iodide in dermatology: a 19th century drug for the 21st century-uses, pharmacology, adverse effects, and contraindications. **J. Am. Acad. Dermatol.**, v.43, n.4, p. 691-7, 2000.

THAI, K. E.; SINCLAIR, R. D. Cryosurgery of benign skin lesions. **Australas. J. Dermatol.**, v.40, n.4, p.175-84, 1999.

TORINUKI, W.; TAGAMI, H. Complement activation by *Sporothrix schenckii*. **Arch. Dermatol. Res.**, v.277, n.4, p.332-3, 1985.

TORRES-MENDOZA, B. M.; VAZQUEZ-VALLS, E.; GONZALEZ-MENDOZA, A. Effect of potassium iodide on the immune response in the sporotrichosis. **Rev. Iberoam. Micol.**, v.14, n.3, p.98-100, 1997.

TUR, E.; BRENNER, S.; LANDAU, M. et al. Treatment of Kaposi's Sarcoma. **Arch Dermatol.**, v.132, n.3, p.327-331, 1996.

UENOTSUCHI, T.; TAKEUCHI, S.; MATSUDA, T. et al. Differential induction of Th1-prone immunity by human dendritic cells activated with *Sporothrix schenckii* of cutaneous and visceral origin to determine their different virulence. **Int. Immunol.**, v.18, n.12, p.1637-46, 2006.

- VALLE, A. C. F.; GUTIERREZ-GALHARDO, M. C. Esporotricose. In: TAVARES, W.; MARINHO, L. A. C. (Ed.) **Rotinas de diagnóstico e tratamento das doenças infecciosas e parasitárias**. 3. ed. São Paulo: Atheneu, 2012. p. 332-6.
- VANDERVEEN, E. E.; MESSENGER, A. L.; VOORHEES, J. J. Sporotrichosis in pregnancy. **Cutis**, v.30, n.6, p.761-3, 1982.
- VARDENY, O.; SWEITZER, N. K.; DETRY, M. A. et al. Decreased immune responses to influenza vaccination in patients with heart failure. **J. Card. Fail.**, v.15, n.4, p.368-73, 2009.
- VERDAN, F. F.; FALEIROS, J. C.; FERREIRA, L. S. et al. Dendritic cell are able to differentially recognize *Sporothrix schenckii* antigens promote Th1/Th17 response in vitro. **Immunobiology**, v. 217, n. 8, p. 788–794, 2012.
- VETTORATO, R.; HEIDRICH, D.; FRAGA, F. et al. Sporotrichosis by *Sporothrix schenckii* senso stricto with itraconazole resistance and terbinafine sensitivity observed in vitro and in vivo: Case report. **Med. Mycol. Case Rep.**, v.19, p.18-20, 2017.
- WHITE, A. C. Liquid air: its application in medicine and surgery. **Med. Rec.**, v.56, p.109-12, 1899.
- WHITE, E. A.; PATEL, D. B.; FORRESTER, D. M. et al. Madura foot: two case reports, review of the literature, and new developments with clinical correlation. **Skeletal Radiol.**, v.43, n.4, p.547–553, 2014.
- ZANCOPE-OLIVEIRA, R. M.; ALMEIDA-PAES, R.; OLIVEIRA, M. M. E. et al. New diagnostic applications in sporotrichosis. In: KHOPKAR, U. (Ed.). **Skin biopsy perspectives**. Rijeka: In Tech, 2011. p. 53-72.
- ZHANG, Y.; HAGEN, F.; STIELOW, B. et al. Phylogeography and evolutionary patterns in *Sporothrix* spanning more than 14 000 human and animal case reports. **Persoonia**, v.35, p.1-20, 2015.
- ZHOU, X.; RODRIGUES, A. M.; FENG, P. et al. Global ITS diversity in the *Sporothrix schenckii* complex. **Fungal Divers.**, v.66, n.1, p.153-65, 2014.
- ZIMMERMAN, E. E.; CRAWFORD, P. Cutaneous cryosurgery. **Am. Fam. Physician.**,v.86, n.12, p.1118-24, 2012.
- ZOUBOULIS, C. C. Principles of cutaneous cryosurgery: an update. **Dermatology**, v.198, n.2. p.111-7, 1999.

APÊNDICE A – Artigo publicado na revista Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology (JEADV) em outubro de 2017

JEADV

LETTER TO THE EDITOR

Sporotrichosis transmitted by a cockatiel (*Nymphicus hollandicus*)

Editor

Sporotrichosis is caused by dimorphic, pathogenic species from the genus *Sporothrix*, which are found in nature as saprophytes in decaying vegetation and soil. Classic transmission occurs after traumatic inoculation while manipulating contaminated plant material, and zoonotic transmission is uncommon. The genus *Sporothrix* contains relevant species with diverse clinical features, infection routes and virulence traits. *Sporothrix schenckii* and *S. globosa* are often associated with classic transmission, whereas *Sporothrix brasiliensis* and, to a lesser extent, *S. schenckii* are associated with feline zoonotic sporotrichosis.^{1,2}

Since 1998, Rio de Janeiro, Brazil has faced a sporotrichosis hyperendemic of feline zoonotic transmission associated primarily with *S. brasiliensis*. To date, more than 5000 human cases, 4703 cats and 244 dogs have been diagnosed at our institution.² Here, we report the first case of sporotrichosis acquired after a cockatiel (*Nymphicus hollandicus*) scratch, as well as the first animal other than a cat to be associated with zoonotic transmission in the current hyperendemic.

A 35-year-old female resident of a hyperendemic sporotrichosis neighbourhood in Rio de Janeiro was referred to our hospital with an ulcerative plaque with two subcutaneous nodules on her chest (Fig. 1a). Forty days prior to admission, her cockatiel (Fig. 1b) scratched the lesion site, and 14 days later, a furuncle-like lesion appeared. She used amoxicillin and

clavulanate for 10 days with no improvement. A cutaneous biopsy was performed at our hospital. Histopathology showed a diffuse granulomatous dermatitis, and the culture yielded *Sporothrix* spp., identified as *S. brasiliensis* by T3B fingerprinting.³ Complete clinical resolution was obtained after 4 months of itraconazole at 100 mg/day.

The cockatiel was brought to the institute's zoonosis laboratory for further investigation. The animal was in good health, and its parasitological stool examination was negative. Fungal cultures of material obtained from oral cavity, cloaca, nails and from the bird's perch were also negative.

Many animal species are susceptible to *Sporothrix* spp. infections, but transmission from infected animals to humans is uncommon. Cats represent the most important zoonotic potential for sporotrichosis. After cats, dogs are the most affected animal species.² Sporotrichosis spontaneous infection has been described in other animals such as rats, armadillos, horses and dolphins. However, animals that were not visibly infected have been implicated in sporotrichosis cases that appeared after an animal injury to human skin, indicating that such animals act as passive carriers of *Sporothrix*. Armadillos, for example, the second most common mammal associated with sporotrichosis transmission, are rarely infected, but the fungus can be found on the dry grass they use for nesting.⁴⁻⁷ Reports of zoonotic transmission have been documented after bites from horses, dogs, rodents and from fish-induced injuries.^{4,8-10} Two cases of sporotrichosis transmitted by birds, a parrot and a hen, which were apparently uninfected, have also been reported.⁴

Nymphicus hollandicus belongs to the order Psittaciformes and is native to Australia. It was first brought to Brazil in 1970 and is a popular domestic bird in our country. In the case herein, the cockatiel acted as a mechanical vector and inoculated the fungus after the skin trauma. This carrier state was likely transient because we could not isolate the fungus from the bird. It probably acquired *S. brasiliensis* conidia from an environmental source not yet described and carried the fungus from a branch or soil in its claws. This case highlights that in the current sporotrichosis hyperendemic with a high circulation of *S. brasiliensis*, other domestic animals can transmit the fungus to humans.

V. Fichman,^{1,*} I.D.F. Gremião,² A.A.V. Mendes-Júnior,² F.M.S. Sampaio,¹ D.F.S. Freitas,¹ M.M.E. Oliveira,³ R. Almeida-Paes,³ A.C.F. Valle,¹ M.C. Gutierrez-Galhardo¹

¹Laboratory of Clinical Research on Infectious Dermatology, Evandro Chagas National Institute of Infectious Diseases, Oswaldo Cruz



Figure 1 Patient lesion and her cockatiel. (a) Patient's cockatiel (*Nymphicus hollandicus*) responsible for the transmission of sporotrichosis through the scratch. (b) Sporotrichosis presenting with ulcerative plaque with two subcutaneous nodules.

Foundation (Fiocruz), Av. Brasil, 4365 - Manguinhos, Rio de Janeiro - RJ, 21040-360, Brazil, ²Laboratory of Clinical Research on Dermatозoonosis in Domestic Animals, Evandro Chagas National Institute of Infectious Diseases, Oswaldo Cruz Foundation (Fiocruz), Av. Brasil, 4365 - Manguinhos, Rio de Janeiro - RJ, 21040-360, Brazil, ³Laboratory of Mycology, Evandro Chagas National Institute of Infectious Diseases, Oswaldo Cruz Foundation (Fiocruz), Av. Brasil, 4365 - Manguinhos, Rio de Janeiro - RJ, 21040-360, Brazil

*Correspondence: V. Fichman. E-mail: vivian.fichman@ini.fiocruz.br

References

- Zhang Y, Hagen F, Stidow B *et al*. Phylogeography and evolutionary patterns in *Sporothrix* spanning more than 14000 human and animal case reports. *Persoonia* 2015; **35**: 1–20.
- Gremião ID, Miranda LH, Reis EG, Rodrigues AM, Pereira SA. Zoonotic epidemic of sporotrichosis: cat to human transmission. *PLoS Pathog* 2017; **13**: e1006077.
- Oliveira MM, Franco-Duarte R, Romeo O *et al*. Evaluation of T3B fingerprinting for identification of clinical and environmental *Sporothrix* species. *FEMS Microbiol Lett* 2015; **362**: fmv027.
- Meyer KF. The relation of animal to human sporotrichosis. *JAMA* 1915; **65**: 579–585.
- Migaki G, Font RL, Kaplan W, Asper ED. Sporotrichosis in a Pacific white-sided dolphin (*Lagenorhynchus obliquidens*). *Am J Vet Res* 1978; **39**: 1916–1919.
- Wenker CJ, Kaufman I, Bacciarini LN, Robert N. Sporotrichosis in a nine-banded armadillo (*Dasypus novemcinctus*). *J Zoo Wildl Med* 1998; **29**: 474–478.
- Rodrigues AM, Bagagli E, de Camargo ZP, Bosco SM. *Sporothrix schenckii sensu stricto* isolated from soil in an armadillo's burrow. *Mycopathologia* 2014; **177**: 199–206.
- Frean JA, Isaacson M, Miller GB, Mistry BD, Heney C. Sporotrichosis following a rodent bite. *Mycopathologia* 1991; **116**: 5–8.
- Saravanakumar PS, Eslami P, Zar FA. Lymphocutaneous sporotrichosis associated with a squirrel bite: case report and review. *Clin Infect Dis* 1996; **23**: 647–648.
- Haddad VJ, Miot HA, Bartoli LD, Cardoso Ade C, de Camargo RM. Localized lymphatic sporotrichosis after fish-induced injury (*Tilapia* sp.). *Med Mycol* 2002; **40**: 425–427.

DOI: 10.1111/jdv.14661

APÊNDICE B – Artigo publicado na revista PLOS Neglected Tropical Diseases em maio de 2018

RESEARCH ARTICLE

Cryosurgery for the treatment of cutaneous sporotrichosis in four pregnant women

Vivian Fichman¹*, Antonio Carlos Francesconi do Valle¹, Priscila Marques de Macedo¹, Dayvison Francis Saraiva Freitas¹, Manoel Marques Evangelista de Oliveira², Rodrigo Almeida-Paes², Maria Clara Gutierrez-Galhardo¹

1 Laboratory of Clinical Research on Infectious Dermatology, Evandro Chagas National Institute of Infectious Diseases, Oswaldo Cruz Foundation (Fiocruz), Rio de Janeiro, Brazil, **2** Laboratory of Mycology, Evandro Chagas National Institute of Infectious Diseases, Oswaldo Cruz Foundation (Fiocruz), Rio de Janeiro, Brazil

* These authors contributed equally to this work.
* vivianfichman@gmail.com



Abstract

Background

Pregnant women with sporotrichosis should not receive systemic antifungal therapy except in severe cases when amphotericin B is recommended. Thermotherapy is the most reported treatment described in this group of patients. It entails weeks of daily self-application of heat to the lesions, requires that the patient faithfully apply it, and it could cause skin burns. Cryosurgery is a useful therapeutic tool for many cutaneous infectious diseases, safe for pregnant women, but not well evaluated for sporotrichosis treatment in this group.

Methodology

The authors conducted a retrospective study describing epidemiological, clinical, and therapeutic data related to four pregnant patients with sporotrichosis treated with cryosurgery. The authors reviewed the clinical records of four pregnant patients diagnosed with cutaneous sporotrichosis and treated with cryosurgery. The sessions were carried out monthly up to clinical cure. Molecular identification of the *Sporothrix* species was performed in two cases using T3B PCR fingerprinting assays.

Principal findings

All patients were in the second trimester of pregnancy and their age ranged from 18 to 34 years. With regard to clinical presentation, two patients had lymphocutaneous and two had the fixed form. *S. brasiliensis* was identified in two cases as the causative agent. Cryosurgery was well tolerated and the number of sessions ranged from 1 to 3. All the patients reached a complete clinical cure.

Conclusions

Cryosurgery was a safe, easy to perform and well tolerated method, and therefore it is suggested to be a suitable option for the treatment of cutaneous sporotrichosis in pregnant women.

OPEN ACCESS

Citation: Fichman V, Valle ACF, de Macedo PM, Freitas DFS, Oliveira MME, Almeida-Paes R, et al. (2018) Cryosurgery for the treatment of cutaneous sporotrichosis in four pregnant women. PLoS Negl Trop Dis 12(4): e0006434. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0006434>

Editor: Todd B. Reynolds, University of Tennessee, UNITED STATES

Received: December 5, 2017

Accepted: April 6, 2018

Published: April 23, 2018

Copyright: © 2018 Fichman et al. This is an open access article distributed under the terms of the [Creative Commons Attribution License](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

Data Availability Statement: All relevant data are within the paper and its Supporting Information files.

Funding: The authors received financial support from the Evandro Chagas National Institute of Infectious Diseases, Oswaldo Cruz Foundation (Fiocruz), which provided infrastructure and paid for publishing expenses. The funders had no role in study design, data collection and analysis, decision to publish, or preparation of the manuscript.

Competing interests: The authors have declared that no competing interests exist.

Author summary

Sporotrichosis is a cosmopolitan disease, considered the most important subcutaneous mycosis in Latin America. Since 1998, there is an ongoing cat-transmitted zoonotic epidemic of sporotrichosis occurring in Rio de Janeiro, Brazil. Pregnant women are a vulnerable population occasionally affected that require special attention regarding sporotrichosis treatment. Antifungal drugs should be avoided because of their potential risks to the fetus, unless in severe cases when amphotericin B (an intravenous antifungal drug) can be indicated. In this context, local measures are the treatment of choice. Cryosurgery consists in local application of intense cold using liquid nitrogen to destroy some infectious, tumoral and inflammatory cutaneous diseases. It is scarcely reported in the literature for the treatment of sporotrichosis, especially in pregnant women for whom local heat is most used. This work aims to describe the clinical response and outcome of cryosurgery for the treatment of sporotrichosis in four pregnant women. All patients reached clinical cure after one to three sessions. These results suggest that cryosurgery can be a well-tolerated, safe, and efficient method for the treatment of sporotrichosis in pregnancy.

Introduction

Sporotrichosis is caused by dimorphic fungi of the genus *Sporothrix*, found in its filamentous form as saprophytes on decaying and living vegetation, and soil [1]. However, since the late 1990s, sporotrichosis in the state of Rio de Janeiro, Brazil, has become an urban-epidemic phenomenon, being transmitted from naturally infected cats to humans [2]. The most affected population is characterized by having poor socioeconomic backgrounds and low access to health services. In this zoonotic scenario of sporotrichosis transmission, female patients with a median age of 39 years predominate, and most of them acquire the disease through bite or scratches from infected cats [2]. In this context, women in childbearing age are an at-risk population to acquire this mycosis.

Sporotrichosis in pregnancy is a therapeutic challenge. Pregnant women should not receive azole therapy due to the potential teratogenic effects, as well as potassium iodide saturated solution (SSKI), because of its toxicity to the fetal thyroid. Although terbinafine is classified by the US Food and Drug Administration (FDA) as a category B drug, there is no sufficient clinical experience in pregnancy. Besides that, terbinafine passes into the breast milk, which could have an effect on a nursing baby. For severe sporotrichosis cases that need to be treated during pregnancy, amphotericin B is recommended [3–5].

Since systemic treatment is hardly possible, local alternative treatment plays an important role in pregnancy. Thermotherapy is the most reported therapeutic option described in this group of patients entailing weeks of daily self-application of heat to the lesions, and requires a faithful application with a certain caution to avoid skin burns [3–7]. Cryosurgery is an effective and safe method, when applied by well-trained staff, being a useful therapeutic resource for many infectious skin diseases [8, 9]. Regarding the treatment of cutaneous sporotrichosis, it has already been reported as an effective adjuvant therapy when associated with oral antifungals [9–11]. However, to the best of our knowledge, has not yet been evaluated in pregnant women. The authors report four cases of pregnant women with cutaneous sporotrichosis that were successfully treated with cryosurgery.

Materials and methods

The study was approved by the Ethical Committee of the INI, Fiocruz, Rio de Janeiro, Brazil (CAAE 55348416.5.0000.5262). The patients' data were anonymized/de-identified to protect patients' privacy/confidentiality.

The authors reviewed the clinical records of pregnant patients diagnosed with cutaneous sporotrichosis who were treated at the cryosurgery outpatient clinic of the Laboratory of Clinical Research in Infectious Dermatology, Evandro Chagas National Institute of Infectious Diseases (INI), Oswaldo Cruz Foundation (Fiocruz) from 2006 to 2016. Briefly, the protocol of pregnant women with sporotrichosis included isolation of *Sporothrix* spp. in clinical specimens [2], complete blood count, and biochemical tests. They were instructed to perform thermotherapy with warm compresses for 20 minutes 3 times a day [7]. Subsequent follow-up was scheduled monthly or anytime in case of worsening of the lesions. For non-adherent patients or those who did not desire to perform thermotherapy for sporotrichosis treatment, cryosurgery was offered, and that was the case of the patients included in this work. Patients that received any other type of treatment for sporotrichosis besides cryosurgery were excluded. Cryosurgery sessions were carried out monthly, performed by dermatologists, up to clinical cure. In each session, lesions were treated with two cycles of 10 to 30 seconds of freeze time with liquid nitrogen in spray form. Clinical cure was defined as complete healing of the lesions. In a general way, once *Sporothrix* spp. was isolated, molecular identification of the species was performed using the T3B PCR fingerprinting method [12].

Results

From 2006 to 2016, 218 adult patients diagnosed with sporotrichosis, by fungal isolation in culture, were treated with cryosurgery. From these 218 patients, 8 were pregnant women, and 4 of them were treated exclusively with cryosurgery. These 4 patients were at the second trimester of pregnancy and their age ranged from 18 to 34 years. All of them lived in Rio de Janeiro state, Brazil. Two of them worked with domestic duties. The patients presented ulcerovegetative or nodular ulcerovegetative lesions (Fig 1).

Due to technical reasons, molecular identification of the agent was feasible in two patients (cases 3 and 4—Table 1), and the isolates were identified as *S. brasiliensis*. Complete blood count, and biochemical tests performed before, during, and after the treatment were within the normal ranges. Cryosurgery was well tolerated with no need for local anesthesia. The number of cryosurgery sessions ranged from 1 to 3. All the patients were discharged after a complete cure. No adverse reactions were observed during the treatment as well as no relapses

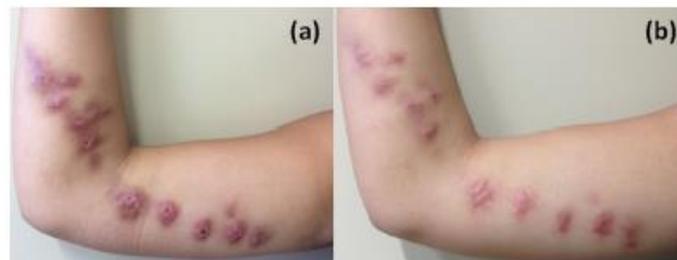


Fig 1. a) Case 2 presenting lymphocutaneous sporotrichosis in the arm; b) The same patient with complete healed lesions after 2 sessions of cryosurgery.

<https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0006434.g001>

Table 1. Epidemiological, clinical and therapeutic aspects of four pregnant patients with sporotrichosis treated with cryosurgery.

Case	Age (years)	Gestational age (weeks)	Transmission form	Clinical presentation	Lesion Sites	Number of cryosurgery sessions
1	18	20	Contact with infected cat	Fixed cutaneous Ulcerovegetative	Thigh	2
2	22	16	Unknown	Lymphocutaneous Nodular ulcerative	Arm	2
3	34	20	Contact with cat	Fixed cutaneous Ulcerovegetative	Shoulder	1
4	32	24	Scratch from infected cat	Lymphocutaneous Ulcerovegetative and nodular lesions	Hand and forearm	3

<https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0006434.t001>

were documented after delivery. Epidemiological, clinical, and therapeutic data of the patients are detailed in [Table 1](#).

Discussion

Despite the low number of pregnant women affected and the benign clinical course, the treatment of sporotrichosis in pregnancy can be always considered challenging. In these cases, topical alternative therapeutic resources are safer than systemic drugs and should be considered whenever possible. Since the 1950s, thermotherapy was reported as the unique topical method for the treatment of sporotrichosis in pregnancy, with a strength of recommendation and quality of evidence considered as BIII [4]. Cryosurgery emerges as a useful tool for many infectious skin diseases, with effects of local cellular and humoral inflammatory response induction in the tissue, with its necrotic effect and, consequently, destructive for the infectious agents [8, 9].

Cryosurgery has been used as an adjuvant treatment in sporotrichosis, especially in residual lesions or in cases of ulcerovegetative or nodular ulcerovegetative thick lesions since it allows a good penetration of liquid nitrogen in spray form [13]. In other subcutaneous mycoses such as chromoblastomycosis, cryosurgery has been indicated as an isolated method or associated to systemic antifungal agents with good results [14]. Some authors have warned about the risk of lymphatic dissemination with invasive methods performed without systemic drugs in cases of chromoblastomycosis [15, 16]. In contrast with other procedures, cryosurgery is not only an ablative technique but also promotes an immune response, what could reduce this risk. A recent study with murine model found that cryosurgery was responsible for an increase in antigen-presenting dendritic cells (DCs), neutrophils and macrophages in subcutaneous tissue, as well as migration of DCs to regional lymph nodes [17]. Cryosurgery is contraindicated for patients who are sensitive to cold (cold urticaria, cryoglobulinemia, or cryofibrinogenemia) and should be avoided in extensive lesions or flexor surfaces due to the risk of fibrosis [18]. Until now, cryosurgery for sporotrichosis treatment has been poorly explored and documented especially considering cases that involve a supposed more virulent phylogenetic species such as *S. brasiliensis*.

All patients herein reported came from hyperendemic areas of sporotrichosis in Rio de Janeiro state, and become infected during pregnancy. None referred prior trauma with plants, but only contact and/or trauma with cats, in agreement with the zoonotic epidemic profile reported in the literature [2]. Although *S. brasiliensis*, could be identified in only two cases, it is well known that it is the main species involved in Rio de Janeiro epidemic. All patients presented cutaneous-limited clinical forms on the extremities, similar to previous publications [3, 5], in contrast with other mycoses, which can be more aggressive during pregnancy [19]. This work suggests that cryosurgery is a safe and well-tolerated method, easy to perform, being a promising alternative in the treatment of cutaneous sporotrichosis in pregnant women.

Further studies with a larger number of patients are necessary to confirm efficacy of cryosurgery for sporotrichosis in pregnant patients.

Supporting information

S1 Checklist. STROBE checklist.
(DOC)

Author Contributions

Conceptualization: Vivian Fichman, Antonio Carlos Francesconi do Valle, Maria Clara Gutierrez-Galhardo.

Data curation: Vivian Fichman, Maria Clara Gutierrez-Galhardo.

Formal analysis: Vivian Fichman, Maria Clara Gutierrez-Galhardo.

Investigation: Vivian Fichman, Antonio Carlos Francesconi do Valle, Manoel Marques Evangelista de Oliveira, Rodrigo Almeida-Paes, Maria Clara Gutierrez-Galhardo.

Methodology: Vivian Fichman, Antonio Carlos Francesconi do Valle, Priscila Marques de Macedo, Dayvison Francis Saraiva Freitas, Maria Clara Gutierrez-Galhardo.

Project administration: Maria Clara Gutierrez-Galhardo.

Supervision: Antonio Carlos Francesconi do Valle, Maria Clara Gutierrez-Galhardo.

Writing – original draft: Vivian Fichman, Antonio Carlos Francesconi do Valle, Priscila Marques de Macedo, Dayvison Francis Saraiva Freitas, Manoel Marques Evangelista de Oliveira, Rodrigo Almeida-Paes, Maria Clara Gutierrez-Galhardo.

Writing – review & editing: Vivian Fichman, Antonio Carlos Francesconi do Valle, Priscila Marques de Macedo, Dayvison Francis Saraiva Freitas, Manoel Marques Evangelista de Oliveira, Rodrigo Almeida-Paes, Maria Clara Gutierrez-Galhardo.

References

1. Barros MB, de Almeida Paes R, Schubach AO. Sporothrix schenckii and Sporotrichosis. Clin Microbiol Rev. 2011; 24: 633–654. <https://doi.org/10.1128/CMR.00007-11> PMID: 21976602
2. Barros MB, Schubach AO, Valle AC, Gutierrez-Galhardo MC, Conceição-Silva F, Schubach TM, et al. Cat-transmitted sporotrichosis epidemic in Rio de Janeiro, Brazil: description of a series of cases. Clin Infect Dis. 2004; 38: 529–535. <https://doi.org/10.1086/381200> PMID: 14765346
3. Orofino-Costa R, Bernardes-Engemann AR, Azulay-Abulafia L, Benvenuto F, Neves ML, Lopes-Bezerra LM. Sporotrichosis in pregnancy: Case reports of 5 patients in a zoonotic epidemic in Rio de Janeiro, Brazil. An Bras Dermatol. 2011; 86: 995–998. PMID: 22147042
4. Kauffman CA, Bustamante B, Chapman SW, Pappas PG. Clinical practice guidelines for the management of sporotrichosis: 2007 update by the Infectious Diseases Society of America. Clin Infect Dis. 2007; 45: 1255–1265. <https://doi.org/10.1086/522765> PMID: 17968818
5. Ferreira CP, Valle ACF, Freitas DFS, Reis R, Galhardo MC. Pregnancy during a sporotrichosis epidemic in Rio de Janeiro, Brazil. Int J Gynaecol Obstet. 2012; 117: 294–295. <https://doi.org/10.1016/j.ijgo.2012.02.003> PMID: 22445393
6. Doherty CB, Doherty SD, Rosen T. Thermotherapy in dermatologic infections. J Am Acad Dermatol. 2010; 62: 909–927. <https://doi.org/10.1016/j.jaad.2009.09.055> PMID: 20466169
7. Bustamante B, Campos PE. Sporotrichosis: a forgotten disease in the drug research agenda. Expert Rev Anti Infect Ther. 2004; 2: 85–94. PMID: 15462174
8. Kuflik EG. Cryosurgery updated. J Am Acad Dermatol. 1994; 31: 925–944. PMID: 7962774
9. Moraes AM, Velho PENFV, Magalhaes RF. Criocirurgia com nitrogênio líquido e as dermatoses infecciosas. An Bras Dermatol. 2008; 83: 285–298.

10. Ferreira CP, Galhardo MC, Valle AC. Cryosurgery as adjuvant therapy in cutaneous sporotrichosis. *Braz J Infect Dis*. 2011; 15: 181–183. PMID: [21503410](#)
11. Bargman H. Successful treatment of cutaneous sporotrichosis with liquid nitrogen: report of three cases. *Mycoses*. 1995; 38: 285–287. PMID: [8559191](#)
12. Oliveira MM, Franco-Duarte R, Romeo O, Pais C, Criseo G, Sampab P, et al. Evaluation of T3B fingerprinting for identification of clinical and environmental *Sporothrix* species. *FEMS Microbiol Lett*. 2015; 362(6). pii: fnv027. <https://doi.org/10.1093/femsle/fnv027> PMID: [25714550](#)
13. Almeida-Paes R, Oliveira MME, Freitas DFS, Valle ACPD, Gutierrez-Galhardo MC, Zancopé-Oliveira RM. Refractory sporotrichosis due to *Sporothrix brasiliensis* in humans appears to be unrelated to in vivo resistance. *Med Mycol*. 2017; 55(5): 507–517. <https://doi.org/10.1093/mmy/nyw103> PMID: [27771622](#)
14. Castro LG, Pimentel ER, Lacaz CS. Treatment of chromomycosis by cryosurgery with liquid nitrogen: 15 years' experience. *Int J Dermatol*. 2003; 42(5): 408–412. PMID: [12755986](#)
15. Bonifaz A, Paredes-Solis V, Saúl A. Treating chromoblastomycosis with systemic antifungals. *Expert Opin Pharmacother*. 2004; 5: 247–254. <https://doi.org/10.1517/14656566.5.2.247> PMID: [14996622](#)
16. Queiroz-Telles F, Santos DW. Challenges in the therapy of chromoblastomycosis. *Mycopathologia*. 2013; 175:477–488. <https://doi.org/10.1007/s11046-013-9848-x> PMID: [23636730](#)
17. Kasuya A, Ohta I, Tokura Y. Structural and immunological effects of skin cryoablation in a mouse model. *PLoS One*. 2015; 10(3):e0123906. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0123906> PMID: [25821968](#)
18. Bonifaz A, Martínez-Soto E, Carrasco-Gerard E, Peniche J. Treatment of chromoblastomycosis with itraconazole, cryosurgery, and a combination of both. *Int J of Dermatol*. 1997; 36: 542–47.
19. Sampaio FM, Galhardo MC, de Farias Cardoso R, de Oliveira Coelho JM, Lyra MR, do Valle AC. Eumycetoma on the foot caused by *Madurella mycetomatis*: amputation after significant worsening during pregnancy. *Acta Derm Venereol*. 2015; 95: 374–375. <https://doi.org/10.2340/00015555-1963> PMID: [25178425](#)

ANEXO A – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE)
DE ACORDO COM AS NORMAS DA RESOLUÇÃO Nº 466, DO
CONSELHO NACIONAL DE SAÚDE DE 12 DE DEZEMBRO DE 2012.

Projeto: “Criocirurgia no tratamento da esporotricose: Experiência de uma década”

Pesquisador Responsável: Maria Clara Gutierrez Galhardo - Instituto Nacional de Infectologia
Evandro Chagas/FIOCRUZ, Av. Brasil 4365. Telefone (21) 386-59506 - Centro Clínico 4as e 5as-
feiras de 9h às 12h.

A esporotricose é uma doença infecciosa causada por fungos, organismos semelhantes a bolores, chamados de forma genérica pelo nome de *Sporothrix schenckii* e atinge homens e animais. Esta doença geralmente só causa lesões na pele. Desde 1997 vem ocorrendo no Rio de Janeiro um grande número de casos de esporotricose transmitida por gatos. Algumas pessoas não respondem bem ou não podem utilizar os remédios orais que normalmente são usados no tratamento, e precisam de algum outro método para ficarem curados, como a criocirurgia. Criocirurgia é uma técnica muito empregada na dermatologia para destruição de lesões na pele. É realizada através do congelamento da ferida com nitrogênio líquido e não envolve nenhum corte em sua pele com bisturi ou outro objeto cortante. Você está sendo convidado (a) a participar de uma pesquisa que tem como objetivo estudar as pessoas que tem esporotricose e foram submetidas à criocirurgia como parte de seu tratamento, analisando as anotações no seu prontuário. A sua participação no estudo não causará nenhuma mudança no seu acompanhamento, atendimento e tratamento. Durante a criocirurgia, você poderá ter dor no local, e na primeira semana poderão surgir bolhas e crostas, para as quais será receberá uma medicação no dia do atendimento, e que em geral cicatrizam em até sete dias. Sua participação não é obrigatória, mas voluntária. Você pode se recusar a participar da pesquisa ou, a qualquer momento, desistir de participar e retirar seu consentimento, sem que este fato cause qualquer constrangimento ou penalidade. Os pesquisadores se obrigam a não revelar seu nome, endereço ou qualquer informação que possa te identificar em qualquer texto resultante deste estudo, e também poderão interromper sua participação a qualquer tempo, por razões técnicas ou médicas quando, então, você receberá aconselhamento, orientação e uma nova forma de tratamento. Os exames e procedimentos aplicados serão gratuitos. Antes de assinar este termo, você deve se informar plenamente sobre ele, fazendo todas as perguntas que ache necessário. Devendo ficar esclarecido (a) quanto às informações que se seguem:

A) Sua participação nessa pesquisa consistirá em permitir que seus registros médicos e seus exames sejam usados como fonte de informação para a condução do estudo.

B) Sua participação neste estudo poderá não trazer benefícios diretos para você, mas você estará contribuindo para aumentar os conhecimentos no tratamento da esporotricose.

C) A sua participação no estudo em nada modificará seu atendimento, acompanhamento e tratamento no ambulatório.

D) Será feita uma coleta de material da sua ferida na primeira consulta, para detectar o fungo e confirmar o diagnóstico. Essa coleta poderá ser feita com *swab* (uma haste plástica com algodão na ponta, semelhante a um cotonete), alça plástica estéril e descartável, aspiração de nódulo com agulha ou biópsia de pele, que é a retirada de um pedaço bastante pequeno da pele ao redor da sua ferida. No caso da biópsia, esta será feita sob anestesia local e pode ser que você tenha coceira e um pouco de dor no local, que geralmente é bem fraca e suportável e some após alguns minutos. Esse procedimento faz parte da rotina de atendimento de todos os pacientes, participantes ou não do estudo.

E) Por participar dessa pesquisa, seus registros médicos serão usados como fonte de informação para a condução do estudo, mas as informações obtidas através dessa pesquisa serão confidenciais e asseguramos o sigilo sobre a sua participação. Os dados não serão divulgados de forma a possibilitar sua identificação. Os resultados serão divulgados em apresentações ou publicações com fins científicos ou educativos, e sua identidade não será jamais exposta. O Comitê de Ética em Pesquisa do INI pode ter acesso aos registros do estudo.

F) Participar dessa pesquisa não implicará em nenhum custo para você e, como voluntário, você não receberá qualquer valor em dinheiro como compensação pela participação.

G) Você receberá uma cópia deste termo onde constam o telefone e o endereço de trabalho dos pesquisadores responsáveis, podendo tirar dúvidas sobre o projeto e sua participação, agora ou em qualquer momento.

Nome do Paciente

Assinatura do Paciente

Nome do Pesquisador

Assinatura do Pesquisador

Nome da Testemunha

Assinatura da Testemunha

Rio de Janeiro, ____/____/____

ANEXO B – Termo de compromisso e responsabilidade

Eu, Maria Clara Gutierrez Galhardo, coordenadora do projeto de pesquisa intitulado: “Criocirurgia no tratamento da esporotricose: Experiência de uma década” comprometo-me em manter a confidencialidade e a privacidade dos participantes do projeto.

As identidades dos participantes, assim como os resultados obtidos com este projeto, serão mantidos em um banco de dados sob a minha responsabilidade.

Os resultados obtidos com esta pesquisa serão divulgados em comunicações científicas mantendo o anonimato dos participantes e o material utilizado não será empregado em outras pesquisas, a não ser quando abertos novos protocolos.

Rio de Janeiro, ____ / ____ / ____

Maria Clara Gutierrez Galhardo

ANEXO C - Ficha clínica

Nome: _____ Registro: _____
 DN: _____ Sexo: _____ Bairro: _____ Naturalidade: _____ Município: _____
 Profissão: _____ Cor: _____

Início do Preenchimento: ____/____/____ Término do Preenchimento: ____/____/____

Início do Quadro Clínico: ____/____/____

Primeira Consulta por Esporotricose: ____/____/____

Início do Tratamento: ____/____/____ Início da criocirurgia: ____/____/____

Término do Tratamento: ____/____/____

Data da avaliação final: ____/____/____ Número total de sessões de criocirurgia: _____

Paciente externo 1.() Sim 2.() Não Gestante 1.() Sim 2.() Não

1 - História epidemiológica:

Contato com gato: 1.() Sim 2.() Não

Gato Doente: 1.() Sim 2.() Não

arranhadura 1.() Sim 2.() Não

mordedura 1.() Sim 2.() Não

sem trauma 1.() Sim 2.() Não

Trauma com Planta 1.() Sim 2.() Não

Fonte desconhecida 1.() Sim 2.() Não

2 - Localização das lesões:

Cabeça 1.() Sim 2.() Não

Tronco 1.() Sim 2.() Não

MMSS 1.() Sim 2.() Não

MMII 1.() Sim 2.() Não

3 - Forma clínica:

Fixa 1.() Sim 2.() Não

linfocutânea 1.() Sim 2.() Não

cutânea disseminada 1.() Sim 2.() Não

disseminada 1.() Sim 2.() Não

4 - Comorbidades:

Etilismo 1.() Sim 2.() Não

HAS 1.() Sim 2.() Não

Doença cardiovascular 1.() Sim 2.() Não

Diabetes 1.() Sim 2.() Não

Dislipidemia 1.() Sim 2.() Não

HIV 1.() Sim 2.() Não

5 - Uso de medicamentos associados à Criocirurgia para o tratamento da esporotricose:

Itraconazol 1.() Sim 2.() Não

Terbinafina 1.() Sim 2.() Não

Iodeto de Potássio 1.() Sim 2.() Não

Outros: _____

6 - Efeitos adversos ao tratamento:

Intolerância gastrointestinal

1.() Sim 2.() Não

Nefrotoxicidade

1.() Sim 2.() Não

Hepatotoxicidade :

1.() Sim 2.() Não

Outros: _____

7-Motivo da indicação da criocirurgia:

Contraindicações à terapia sistêmica

1.() Sim 2.() Não

Listar: _____

Lesão residual ou persistente após ou durante a

terapia sistêmica 1.() Sim 2.() Não

Justificar: _____

Indicada já no início do tratamento

1.() Sim 2.() Não

8-Evolução

Cura 1.() Sim 2.() Não

Abandono 1.() Sim 2.() Não

Óbito por esporo 1.() Sim 2.() Não

Óbito por outra causa 1.() Sim 2.() Não

ANEXO D – Parecer consubstanciado do CEP

INSTITUTO NACIONAL DE
INFECTOLOGIA EVANDRO
CHAGAS - INI / FIOCRUZ



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Criciografia no tratamento da esporotricose: Experiência de uma década

Pesquisador: MARIA CLARA GUTIERREZ GALHARDO

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 55348416.5.0000.5262

Instituição Proponente: INSTITUTO NACIONAL DE INFECTOLOGIA EVANDRO CHAGAS - INI/FIOCRUZ

Patrocinador Principal: Fundação Oswaldo Cruz

DADOS DA NOTIFICAÇÃO

Tipo de Notificação: Envio de Relatório Parcial

Detalhe:

Justificativa:

Data do Envio: 02/02/2017

Situação da Notificação: Parecer Consubstanciado Emitido

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.989.565

Apresentação da Notificação:

Envio de relatório parcial referente ao segundo semestre.

Objetivo da Notificação:

Apresentar o relatório parcial referente ao segundo semestre.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Não se aplica.

Comentários e Considerações sobre a Notificação:

O pesquisador principal informou no relatório que o projeto está em desenvolvimento com todos os pacientes já incluídos

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Endereço: Avenida Brasil 4365

Bairro: Manguinhos

CEP: 21.040-360

UF: RJ

Município: RIO DE JANEIRO

Telefone: (21)3865-9585

E-mail: cep@ini.fiocruz.br

INSTITUTO NACIONAL DE
INFECTOLOGIA EVANDRO
CHAGAS - INI / FIOCRUZ



Continuação do Parecer: 1.989.565

Não se aplica.

Recomendações:

Não há.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Não há.

Considerações Finais a critério do CEP:

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Envio de Relatório Parcial	CRIOCIRURGIA2016DEZ.jpg	02/02/2017 16:49:24	MARIA CLARA GUTIERREZ GALHARDO	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

RIO DE JANEIRO, 29 de Março de 2017

Assinado por:
Léa Ferreira Camillo Coura
(Coordenador)