



Ministério da Saúde

FIOCRUZ  
**Fundação Oswaldo Cruz**

Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas



FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ  
INSTITUTO NACIONAL DE INFECTOLOGIA EVANDRO CHAGAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO STRICTO SENSU EM PESQUISA  
CLÍNICA EM DOENÇAS INFECCIOSAS

FREDERICO RAMOS VIRGÍLIO DE LIMA

**ESPOROTRICOSE FELINA: AVALIAÇÃO DA CARGA FÚNGICA E DA  
VIABILIDADE DE *SPOROTHRIX* SP. AO LONGO DO TRATAMENTO  
ANTIFÚNGICO E SUA ASSOCIAÇÃO COM A RESPOSTA CLÍNICA**

Rio de Janeiro

2020

FREDERICO RAMOS VIRGÍLIO DE LIMA

**ESPOROTRICOSE FELINA: AVALIAÇÃO DA CARGA FÚNGICA E DA VIABILIDADE DE *SPOROTHRIX* SP. AO LONGO DO TRATAMENTO ANTIFÚNGICO E SUA ASSOCIAÇÃO COM A RESPOSTA CLÍNICA**

Dissertação apresentada ao curso de pós-graduação em Pesquisa Clínica em Doenças Infecciosas do Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas para obtenção do grau de Mestre em Ciências.

Orientador: Dr Sandro Antonio Pereira e Dra Isabella Dib Ferreira Gremião

Rio de Janeiro

2020

LIMA, FREDERICO RAMOS VIRGÍLIO DE .

Esporotricose felina: avaliação da carga fúngica e da viabilidade de *Sporothrix sp.* ao longo do tratamento antifúngico e sua associação com a resposta clínica / FREDERICO RAMOS VIRGÍLIO DE LIMA. - Rio de Janeiro, 2020.

ix, 35f f.; il.

Dissertação (Mestrado) – Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas, Pós-Graduação em Pesquisa Clínica em Doenças Infecciosas, 2020.

Orientador: Sandro Antonio Pereira.

Co-orientadora: Isabella Dib Ferreira Gremião.

Bibliografia: f. 26-31

1. *Sporothrix sp.*. 2. Carga fúngica. 3. Esporotricose. 4. Tratamento. 5.

Gatos. I. Título.

FREDERICO RAMOS VIRGÍLIO DE LIMA

**ESPOROTRICOSE FELINA: AVALIAÇÃO DA CARGA FÚNGICA E DA VIABILIDADE DE *SPOROTHRIX* SP. AO LONGO DO TRATAMENTO ANTIFÚNGICO E SUA ASSOCIAÇÃO COM A RESPOSTA CLÍNICA**

Dissertação apresentada ao curso de pós-graduação em Pesquisa Clínica em Doenças Infecciosas do Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas para obtenção do grau de Mestre em Ciências.

Orientador: Dr. Sandro Antonio Pereira

Dra. Isabella Dib Ferreira Gremião

Aprovada em / /

BANCA EXAMINADORA

---

Dr. Leonardo Pereira Quintella (Presidente)

Doutor em Ciências (INI/FIOCRUZ)

Fundação Oswaldo Cruz

---

Dra. Elisabeth Martins da Silva Rocha

Doutora em Ciências Biológicas (UFRJ)

Universidade Federal Fluminense

---

Dr. Rodrigo Caldas Menezes

Doutor em Biologia Parasitária (IOC/FIOCRUZ)

Fundação Oswaldo Cruz

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, em primeiro lugar, pelo dom da vida e por poder realizar meus sonhos.

À minha mãe, Rosiane, obrigado por estar sempre ao meu lado, por se esforçar ao máximo para transmitir valores e educação desde a minha infância, por ser meu exemplo de força e garra, e pelo amor sem medidas.

À minha irmã, Bárbara, por todo incentivo, colaboração na minha formação, por ser um exemplo de dedicação e que mesmo longe se faz perto.

À toda minha família que sempre me incentivou e demonstrou amor e carinho.

Aos meus queridos orientadores, Sandro Antonio Pereira e Isabella Dib Ferreira Gremião, obrigado por confiarem este trabalho a mim, por toda a paciência e dedicação nesses dois anos, por toda generosidade e amizade.

À Luiza Helena Monteiro de Miranda, que desde o início, se dedicou a este estudo e contribuiu de forma inigualável, mesmo estando do outro lado do mundo. Serei eternamente grato.

À família Dermzoo, por toda alegria e amizade, que fazem nossa rotina ser mais agradável, obrigado pelo apoio de sempre. Especialmente à Maria, que foi meu braço direito durante todo o estudo, sem você não seria possível.

À Isabela Maria, pela amizade e carinho, por ter dado todo seu apoio durante os atendimentos, e por estar presente na minha vida.

Ao laboratório de Micologia do INI, pela realização dos exames de cultura micológica.

Aos gatos deste estudo, e aos meus gatos, Adam e Eve, que são fonte infinita de amor.

LIMA, F. R. V. **Esporotricose felina: avaliação da carga fúngica e da viabilidade de *Sporothrix* sp. ao longo do tratamento antifúngico e sua associação com a resposta clínica.** 44f. Dissertação [Mestrado em Pesquisa Clínica em Doenças Infeciosas] – Fundação Oswaldo Cruz, Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas, Rio de Janeiro, 2020.

## RESUMO

A esporotricose é uma micose subcutânea frequente em diversas regiões do Brasil, principalmente no Rio de Janeiro. Acomete os humanos e animais, principalmente gatos, nos quais os principais sinais clínicos são lesões cutâneas ulceradas. O gato geralmente apresenta uma elevada carga fúngica em suas lesões cutâneas, sendo uma importante fonte de infecção de *Sporothrix* sp. para o ser humano e outros animais. A cultura fúngica é o método de referência para o diagnóstico da esporotricose felina, entretanto, o exame citopatológico é utilizado frequentemente devido à boa sensibilidade. O itraconazol associado ao iodeto de potássio tem se mostrado efetivo no tratamento da esporotricose felina. A determinação da carga fúngica nas lesões cutâneas ulceradas de gatos com esporotricose, antes e durante o tratamento antifúngico, é importante no diagnóstico e na adoção precoce de medidas de prevenção e controle dessa micose. Este estudo teve como objetivo avaliar a carga fúngica e a viabilidade de *Sporothrix* sp. nos casos de esporotricose felina ao longo do tratamento com itraconazol e iodeto de potássio e sua associação com a resposta clínica. Foram incluídos 28 gatos com diagnóstico definitivo de esporotricose atendidos no Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas/Fundação Oswaldo Cruz. Mensalmente foram realizados exame citopatológico e cultura fúngica a partir da lesão cutânea ulcerada de maior diâmetro presente em diferentes regiões anatômicas. Por meio do exame citopatológico foi quantificada a carga fúngica com base na leitura de uma lâmina de cada lesão selecionada da respectiva região anatômica. A cultura micológica foi realizada para o diagnóstico inicial e avaliação da viabilidade do fungo ao longo do tratamento. Todos os gatos foram tratados com a associação de itraconazol (100 mg/gato/24h) e iodeto de potássio (2,5-5 mg/kg/24h) por via oral. A carga fúngica mediana das lesões cutâneas ulceradas após quatro semanas de tratamento foi 44,05 e após oito semanas foi zero, permanecendo assim até o final da avaliação (12 semanas). Gatos com maior carga fúngica lesional antes do início do tratamento tenderam a apresentar um tempo maior até a cicatrização completa. Após quatro semanas de tratamento, houve diminuição de 57,14% de resultados positivos na cultura micológica. Em relação à viabilidade de *Sporothrix* sp., após 12 semanas apenas três gatos tiveram resultado positivo na cultura. Dos 28 gatos incluídos, a cura clínica foi observada em 27 casos. Em apenas dois casos, os tutores se infectaram após o início do tratamento dos gatos. Houve redução da carga fúngica em todas as lesões estudadas, sugerindo uma diminuição no potencial zoonótico de gatos em tratamento antifúngico.

Palavras-chave: *Sporothrix* sp., Carga fúngica, Esporotricose, Tratamento, Gatos.

LIMA, F.R.V. **Feline sporotrichosis: evaluation of the fungal burden and the viability of *Sporothrix* sp. during the antifungal treatment and its association with the clinical response.** 44f. Thesis [Master Thesis in Clinical Research on Infectious Diseases] - Oswaldo Cruz Foundation, Evandro Chagas National Institute of Infectious Diseases. Rio de Janeiro, 2020

## ABSTRACT

Sporotrichosis is a subcutaneous mycosis, common in several regions of Brazil, mainly in Rio de Janeiro. It affects humans and animals, especially cats. The main clinical signs in cats are ulcerated cutaneous lesions. The cat generally has a high fungal burden on its cutaneous lesions, being an important source of infection of *Sporothrix* sp. for humans and other animals. Fungal culture is the reference method for the diagnosis of feline sporotrichosis, however, cytopathological examination is often used due to its good sensitivity. Itraconazole associated with potassium iodide has been shown to be effective for the treatment of feline sporotrichosis. The determination of the fungal burden in ulcerated cutaneous lesions of cats with sporotrichosis, before and during the antifungal treatment, is important for the diagnosis and early adoption of measures to prevent and control this mycosis. The purpose of this study was to evaluate the fungal burden and the viability of *Sporothrix* sp. in cases of feline sporotrichosis during the treatment with itraconazole and potassium iodide and its association with the clinical response. Twenty-eight cats with a definitive diagnosis of sporotrichosis, seen at the Evandro Chagas National Institute of Infectious Diseases /Fundação Oswaldo Cruz, were included in the study. Cytopathological examination and fungal culture were monthly performed, from the largest diameter ulcerated cutaneous lesion located at different anatomical regions. Through the cytopathological examination, the fungal burden was quantified based on the reading of a slide of each selected lesion from respective anatomical region. The mycological culture was performed for the initial diagnosis and evaluation of the fungus viability throughout the treatment. All the cats were treated orally with the combination of itraconazole (100 mg/cat /24h) and potassium iodide (2.5-5 mg/kg/24h). The median fungal burden of the ulcerated cutaneous lesions after four weeks of treatment was 44.05 and after eight weeks was zero, remaining like this until the end of the evaluation (12 weeks). Cats with a greater lesional fungal burden before the treatment tended to have a longer time until complete healing. After four weeks of treatment, there was a 57.14% decrease in positive results in the mycological culture. Regarding the viability of *Sporothrix* sp., only three cats tested positive in the culture after 12 weeks. Of the 28 cats included, clinical cure was observed in 27 cases. In only two cases, the owners became infected after the treatment of the cats. There was a reduction in the fungal burden in all the lesions studied, suggesting a decrease in the zoonotic potential of cats under antifungal treatment.

Keywords: *Sporothrix* sp., Fungal burden, Sporotrichosis, Treatment, Cats.

## SUMÁRIO

<b>1. Introdução.....</b>	<b>1</b>
1.1 Aspectos clínicos .....	2
1.2 Diagnóstico .....	3
1.3 Aspectos terapêuticos.....	5
<b>2. Justificativa.....</b>	<b>8</b>
<b>3. Objetivo Geral.....</b>	<b>8</b>
3.1. Objetivos Específicos .....	9
<b>4. Metodologia .....</b>	<b>9</b>
4.1. Desenho do estudo.....	9
4.2. Casuística .....	9
4.2.1. População do estudo.....	9
4.3. Cálculo amostral .....	10
4.4 Critérios de elegibilidade .....	10
4.4.1. Critérios de inclusão .....	10
4.4.2. Critérios de exclusão.....	10
4.6. Critérios para suspender ou encerrar o estudo ou retirar animais incluídos .....	11
4.7. Consulta inicial (pré-tratamento).....	11
4.7.1. Histórico, anamnese e exame clínico .....	11
4.7.2. Coleta de material para exames micológicos.....	12
4.8. Processamento das amostras .....	12
4.8.1 Leitura dos exames citopatológicos .....	13
4.8.2. Cultura Fúngica.....	13
4.9. Tratamento antifúngico .....	14
4.11. Desfechos .....	15
4.12. Plano de Análise .....	15
<b>5. Resultados.....</b>	<b>16</b>

<b>6. Discussão .....</b>	<b>21</b>
<b>7. Conclusão.....</b>	<b>25</b>
<b>8. Referências Bibliográficas .....</b>	<b>26</b>
<b>ANEXO A - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido .....</b>	<b>32</b>
<b>ANEXO B – LICENÇA CEUA.....</b>	<b>35</b>

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Distribuição das características clínicas e epidemiológicas de gatos com esporotricose atendidos no Lapclin-Dermzoo/INI/Fiocruz (2018-2020). Página 14.

Tabela 2: Resultados dos exames micológicos realizados em lesões cutâneas de gatos com esporotricose durante o acompanhamento terapêutico atendidos no Lapclin-Dermzoo/INI/Fiocruz (2018-2020). Página 15.

Tabela 3: Número de regiões anatômicas com presença de lesão cutânea e suas respectivas cargas fúngicas durante o tratamento de gatos com esporotricose atendidos no Lapclin-Dermzoo/INI/Fiocruz (2018-2020). Página 16.

Tabela 4: Tempo até a cicatrização das lesões cutâneas avaliadas e as respectivas cargas fúngicas ao longo do tratamento de gatos com esporotricose atendidos no Lapclin-Dermzoo/INI/Fiocruz (2018-2020). Página 17.

Tabela 5: Carga fúngica das lesões cutâneas durante o acompanhamento terapêutico em relação à presença inicial de sinais respiratórios em gatos com esporotricose atendidos no Lapclin-Dermzoo/INI/Fiocruz. Página 18.

## 1. Introdução

A esporotricose é uma micose subcutânea que acomete humanos e animais causada por espécies do gênero *Sporothrix* (BOECHAT et al., 2018; RODRIGUES et al., 2016).

Atualmente, *Sporothrix brasiliensis*, *Sporothrix schenckii* (*sensu stricto*) e *Sporothrix pallida* são os agentes causadores da esporotricose felina (OLIVEIRA et al., 2011; RODRIGUES et al., 2013; THOMSON et al., 2019).

Casos de esporotricose felina foram relatados nos Estados Unidos, México, Argentina, Malásia, Espanha, Alemanha, Austrália, Japão, Tailândia e Brasil (CORDOBA et al., 2018; DUANGKAEW et al., 2018; ETCHECOPAZ et al., 2019; GREMIÃO et al., 2017).

No Brasil, o principal agente etiológico da esporotricose felina é *S. brasiliensis* (BOECHAT et al., 2018; MACÊDO-SALES et al., 2018; MONTENEGRO et al., 2014; RODRIGUES et al., 2013; SANCHOTENE et al., 2015; SOUZA et al., 2018;). No entanto, *S. schenckii* (*sensu stricto*) foi descrito em outros países como o principal agente causal dessa micose em gatos (DUANGKAEW et al., 2018; HAN et al., 2017; KANO et al., 2015; SIEW, 2017;).

A infecção geralmente ocorre após a inoculação traumática de *Sporothrix* spp. proveniente do solo ou matéria vegetal contaminada, ou ainda por meio da transmissão zoonótica, envolvendo principalmente gatos e tatus (BARROS et al., 2011).

O gato com esporotricose geralmente apresenta uma elevada carga fúngica de *Sporothrix* spp. em suas lesões cutâneas, e em virtude disso é uma importante fonte de infecção deste fungo para o ser humano e animais. A transmissão zoonótica envolvendo gatos ocorre principalmente por meio de arranhadura, mordedura ou contato com exsudato das lesões cutâneas desses animais (BARROS et al. 2011). Geralmente, os gatos adquirem a infecção principalmente após brigas com outros gatos infectados, quando ocorre a inoculação do fungo através da pele em decorrência de arranhões e mordidas (SCHUBACH et al., 2004).

Atualmente, o Brasil é o país com o maior número de casos de esporotricose animal no mundo. A primeira epidemia de esporotricose sob a forma de zoonose está em curso no Rio de Janeiro desde o final da década de 1990 (BARROS et al., 2004; GREMIÃO et al., 2017; SCHUBACH et al., 2004).

No período de 1991 a 2015, 4.517 casos humanos foram diagnosticados no Instituto Nacional de Infectologia/Fundação Oswaldo Cruz (FALCÃO, 2018). De 1998 até 2018, 5.113 casos felinos foram diagnosticados na mesma instituição (GREMIÃO et al., 2020). O estado do Rio de Janeiro é considerado hiperendêmico para esporotricose (FREITAS et al., 2015).

Casos de esporotricose felina e transmissão zoonótica foram relatados em toda a região sul e sudeste do Brasil, especialmente no Rio Grande do Sul (MADRID et al., 2010; MADRID et al., 2012; NOBRE et al., 2001; NOBRE et al., 2002; POESTER et al., 2018; SANCHOTENE et al., 2015) e São Paulo (LARSSON et al., 1989; MONTENEGRO et al., 2014; ROSSI et al., 2013). Também foram registrados casos em outras regiões do país, como Mato Grosso (FERNANDES et al., 2004) e Distrito Federal (CORDEIRO et al., 2011).

Recentemente, ocorreu uma expansão da esporotricose felina para a região nordeste, conforme descrito nos estados do Rio Grande do Norte (FILGUERA, 2009), Paraíba (NUNES et al., 2011), Pernambuco (ARAÚJO & LEAL, 2016) e Alagoas (MARQUES-MELO et al., 2014). Silva et al. (2018) relataram o primeiro surto de esporotricose felina na região metropolitana de Recife.

## **1.1 Aspectos clínicos**

A esporotricose felina apresenta um amplo espectro de manifestações clínicas (SCHUBACH et al., 2004). As lesões cutâneas mais frequentes em gatos são nódulos e úlceras, localizadas principalmente na cabeça, membros e cauda. A maioria dos gatos apresenta lesões cutâneas múltiplas em diferentes sítios anatômicos (PEREIRA et al, 2010; SCHUBACH et al, 2004). Os gatos geralmente exibem bom estado geral, mesmo nos casos em que apresentam múltiplas lesões cutâneas e comprometimento de mucosas (SCHUBACH et al., 2004).

A linfadenomegalia é o sinal extracutâneo mais observado e a presença de sinais respiratórios é frequente, principalmente os espirros, que podem estar associados à lesões localizadas na região nasal, inclusive em mucosa (PEREIRA et al., 2015). A maioria das lesões refratárias ao tratamento antifúngico, bem como as lesões recidivantes, são encontradas na região nasal (GREMIÃO et al., 2009; GREMIÃO et al., 2011; GREMIÃO et al., 2015). Lesões da mucosa nasal e sinais respiratórios foram associadas à falha de tratamento e ao óbito (PEREIRA et al., 2010; SOUZA et al., 2018). Além disso, febre, desidratação, perda de peso e anorexia também podem ser observadas (SCHUBACH et al., 2004).

## 1.2 Diagnóstico

O diagnóstico definitivo é feito pelo isolamento de *Sporothrix* sp. a partir de exsudato ou fragmento de lesão em cultura micológica, realizada inicialmente em meio de ágar Sabouraud dextrose ou ágar Mycosel a 25°C. Após o crescimento do fungo em sua forma filamentosa, este é inoculado em meio de infusão de cérebro e coração (BHI) a 37°C visando a conversão para forma leveduriforme (RIPPON, 1988). Os exames citopatológico e histopatológico são utilizados no diagnóstico da esporotricose em felinos (MIRANDA et al., 2013; PEREIRA et al., 2011).

O exame citopatológico é um método simples, rápido, barato e não invasivo. Portanto, é adequado para uso rotineiro por médicos veterinários treinados, levando ao diagnóstico rápido e início precoce do tratamento (PEREIRA et al., 2011; SILVA et al., 2015).

O exame citopatológico proveniente de lesões cutâneas de gatos com esporotricose geralmente revela inúmeras estruturas leveduriformes arredondadas, ovais ou em forma de charuto, com diâmetro de 3 a 5 µm e comprimento de 5-9 µm, circundadas por um halo claro, no interior de macrófagos, neutrófilos ou no meio extracelular (WELSH, 2003). Estas estruturas podem ser similares àquelas observadas no gênero *Histoplasma* ou *Cryptococcus* (SILVA et al., 2015).

As colorações mais indicadas nas técnicas citopatológicas são as derivadas do Romanowsky, como o método panótico rápido. A lâmina corada deve ser analisada por microscopia óptica usando lentes objetivas de 40 e 100x para a identificação de estruturas compatíveis com leveduras de *Sporothrix* sp. (PEREIRA et al., 2011; SILVA et al., 2015).

A alta carga fúngica presente nas lesões cutâneas de gatos com esporotricose facilita a observação de estruturas fúngicas (SILVA et al., 2018). Em geral, a sensibilidade deste método varia de 78,9% a 87% (PEREIRA et al., 2011; SILVA et al., 2015; SILVA et al., 2018). Em gatos sob tratamento antifúngico sistêmico, a carga fúngica tende a diminuir (MIRANDA et al., 2018), podendo levar à redução da sensibilidade do exame citopatológico (MACÊDO-SALES et al., 2018).

O exame histopatológico é uma importante ferramenta, pois permite o diagnóstico da esporotricose. Técnicas histoquímicas especiais, como impregnação pela prata de Grocott (IPG) e ácido periódico de Schiff (PAS) devem ser usadas para identificar estruturas compatíveis com *Sporothrix* sp. (MIRANDA et al., 2009, MIRANDA et al., 2013).

Embora a detecção de células semelhantes às leveduras nos tecidos ou preparações citológicas de lesões cutâneas geralmente não sejam um problema no diagnóstico de esporotricose felina, há casos em que a carga de fúngica é baixa e o uso de métodos como a imunohistoquímica (IHC) são necessários, pois permitem a detecção de antígeno no tecido por meio da interação antígeno – anticorpo (SILVA et al., 2018).

A ocorrência de granulomas bem formados é pouco frequente e está associada a baixa carga fúngica em gatos com esporotricose. Geralmente são descritos granulomas mal formados com histiócitos pouco ativados, que apresentam-se com frequência, repletos de leveduras. Neutrófilos, linfócitos, plasmócitos, mastócitos e eosinófilos também podem ser observados (MIRANDA et al., 2013; SOUZA et al., 2018). Lesões cutâneas com alta carga fúngica e granulomas ricos em leveduras são preditores de falha de tratamento e estão correlacionadas com um maior tempo de cicatrização da lesão (SOUZA et al., 2018).

O método de ensaio imunoenzimático (ELISA-“Enzyme-Linked Immunosorbent Assay”) pode ser utilizado como uma ferramenta de triagem

devido a sua sensibilidade e especificidade para a detecção de anticorpos de *Sporothrix* spp. no soro de gatos com esporotricose. Este método é considerado de fácil realização, rápido e de baixo custo, mas sua aplicação na rotina diagnóstica ainda não foi estabelecida (FERNANDES et al., 2010).

Os testes moleculares são outra ferramenta diagnóstica importante, baseados na definição de novas espécies patogênicas do gênero com importância epidemiológica. Alguns métodos moleculares foram desenvolvidos e refinados em modelos experimentais. Como as espécies diferem principalmente em epidemiologia, virulência e sensibilidade antifúngica, é desejável a identificação específica das espécies (OLIVEIRA et al., 2015; RODRIGUES et al., 2014; RODRIGUES et al., 2015a; RODRIGUES et al., 2015b). Entretanto, tais testes ainda não se encontram disponíveis na rotina para o diagnóstico da esporotricose felina.

### 1.3 Aspectos terapêuticos

O tratamento da esporotricose felina em muitos casos representa um desafio e um esforço em longo prazo (PEREIRA et al., 2010). O itraconazol e o iodeto de potássio são os medicamentos mais utilizados (REIS et al., 2016). O iodeto de sódio, a terbinafina, a anfotericina B, a termoterapia local, a remoção cirúrgica das lesões cutâneas e a criocirurgia representam outras opções de tratamento (SCHUBACH et al., 2004; PEREIRA et al., 2009; HONSE et al., 2010; GREMIÃO et al., 2015; de SOUZA et al., 2016; CARVALHO et al., 2018).

O itraconazol é efetivo no tratamento da esporotricose felina causada por *S. brasiliensis*, sendo utilizado na dose de 50 ou 100 mg/gato/dia (SOUZA et al., 2018; MIRANDA et al., 2018; PEREIRA et al., 2010). Apesar do itraconazol ser considerado o medicamento de escolha, casos de falha terapêutica são descritos (CROTHERS et al., 2009; GREMIÃO et al., 2015; ROCHA et al., 2018).

O itraconazol atua inibindo as enzimas oxidativas associadas ao citocromo P-450 (lanosterol 14- $\alpha$  demetilase), bloqueando a conversão de lanosterol em ergosterol, produzindo uma alteração na permeabilidade da membrana da célula fúngica. É um fármaco fungistático, que em altas concentrações tem ação fungicida. É lipofílico, queratinofílico e insolúvel em água. Devido à sua forte ligação com queratina, a concentração de itraconazol

na pele pode chegar a ser 10 vezes maiores na pele que no plasma. É metabolizado pelo fígado e excretado na urina e fezes (CATALÁN E MONTEJO, 2006; JAHAM et al., 2000).

O uso de iodetos na esporotricose foi descrito em 1903 e durante muitos anos estes compostos foram considerados a terapia de eleição na esporotricose em humanos devido ao baixo custo e efetividade (RIPPON 1988). O iodeto de potássio pertence ao grupo químico dos iodetos inorgânicos, constituído de 76% de halogênio-iodo e 23% de metal alcalino potássio (STERLING et al., 2000).

O mecanismo de ação dos iodetos permanece pouco conhecido, mas acredita-se que o iodeto de potássio atue por meio da modulação da resposta inflamatória e aumento da resposta imune (GOUGEROT 1950). Resultados de estudos *in vitro* sugeriram que pode haver dano celular da levedura por meio da conversão de iodeto de potássio em iodo (TORRES-MENDOZA et al., 1997). Outros autores sugeriram que este medicamento inibe significativamente a quimiotaxia neutrofílica no sangue periférico (STERLING et al., 2000).

Os gatos são sensíveis às preparações de iodetos e devem ser cuidadosamente monitorados em busca de sinais de iodismo, como apatia, anorexia, vômito e diarreia (NOBRE et al., 2002), outros efeitos também estão relacionados ao seu uso como hipotermia, hipertermia, cardiomiopatia, hiperexcitabilidade, espasmos musculares e ptialismo (SCHUBACH et al., 2012). Em caso de reações adversas, o medicamento deve ser suspenso temporariamente e reinstituído em doses mais baixas (DUNSTAN et al., 1986; YAMADA et al., 2011).

O iodeto de potássio em cápsulas associado ao itraconazol é uma opção importante no tratamento de gatos com esporotricose provenientes de áreas endêmicas do Rio de Janeiro (ROCHA et al., 2018).

O iodeto de potássio (15mg/kg/dia) foi utilizado em 48 gatos com esporotricose. A ocorrência de reações adversas foi observada em 52,1% dos casos (REIS et al., 2012), sendo superior ao do itraconazol (PEREIRA et al., 2010; SOUZA et al., 2018).

A combinação de itraconazol e iodeto de potássio no tratamento da esporotricose felina apresenta alta taxa de cura e representa uma opção de tratamento efetiva em gatos virgens de tratamento, principalmente aqueles

apresentando lesões na região nasal (REIS et al., 2016), como também em gatos refratários ao itraconazol (ROCHA et al., 2018).

A associação de itraconazol (100 mg/dia) e iodeto de potássio (2.5 mg-20 mg/kg/dia) foi utilizada em 30 gatos com esporotricose virgens de tratamento, sendo a taxa de cura clínica igual a 96,15%, com 14 semanas de tempo mediano de tratamento (REIS et al., 2016).

Em 38 gatos com esporotricose não responsiva ao itraconazol, a associação deste azólico (100 mg/dia) ao iodeto de potássio (2,5 a 10 mg/kg/dia), apresentou resposta clínica satisfatória, com taxa de cura clínica de 63% num tempo mediano de tratamento de 20 semanas (ROCHA et al., 2018).

Poucos estudos foram realizados até o momento para verificação da carga fúngica na esporotricose felina. Miranda e colaboradores (2013) verificaram a carga fúngica inicial (antes do tratamento antifúngico) de lesões cutâneas de gatos com esporotricose por meio de avaliação histopatológica (IPG) e observaram uma elevada carga inicial (> 400 estruturas leveduriformes/campo de 400x) em 54% dos casos. Essa elevada carga fúngica foi observada principalmente em gatos apresentando lesões em três ou mais sítios anatômicos não contíguos (63%), demonstrando associação entre a carga fúngica e a apresentação da doença no gato.

Recentemente, foi descrita a avaliação da carga fúngica antes e durante o tratamento da esporotricose felina com itraconazol como monoterapia ou associado ao iodeto de potássio. Foi selecionada uma lesão cutânea ulcerada por gato (n=130), sendo realizado o seu acompanhamento por até 12 semanas por meio da avaliação citopatológica. A maioria das lesões avaliadas (56,8%) cicatrizou durante o primeiro mês de tratamento. Uma redução significativa na carga fúngica ocorreu nos dois primeiros meses, após o início do tratamento. Em 12 gatos foi observada persistência de lesão após 12 semanas de tratamento, a qual foi relacionada a maiores cargas fúngicas detectadas antes do tratamento, quando comparadas às lesões cicatrizadas. Mesmo nos gatos nos quais as lesões não cicatrizaram, a mediana da carga fúngica foi zero após 12 semanas de tratamento (MIRANDA et al., 2018).

## 2. Justificativa

Um elevado número de casos de esporotricose em seres humanos, gatos e cães provenientes da região metropolitana do Rio de Janeiro vem sendo descrito ao longo dos últimos 22 anos.

Após a implementação do tratamento antifúngico sistêmico regular, espera-se que ocorra a diminuição da viabilidade do fungo e da carga fúngica nas lesões de gatos com esporotricose, com conseqüente redução do risco de transmissão para humanos e animais. Entretanto, deve-se ressaltar que, apesar do importante papel do gato como fonte de infecção, pouco se sabe acerca da possibilidade de isolamento do fungo a partir de lesões cutâneas de gatos após o início da terapia antifúngica.

O conhecimento sobre a viabilidade do *Sporothrix* sp. e a carga fúngica nas lesões cutâneas felinas antes e durante o tratamento antifúngico é importante principalmente no que diz respeito às medidas de tratamento, prevenção e controle da esporotricose.

O estudo da carga fúngica nas lesões cutâneas dos gatos ao longo do tratamento pode fornecer subsídios para a determinação de possíveis fatores de prognóstico e para verificação do papel desses animais como fonte de infecção após o início do tratamento.

## 3. Objetivo Geral

Avaliar a carga fúngica e a viabilidade de *Sporothrix* sp. nos casos de esporotricose felina ao longo do tratamento antifúngico e sua associação com a resposta clínica.

### 3.1. Objetivos Específicos

- Quantificar o número de estruturas leveduriformes presentes ao exame citopatológico do exsudato de lesões cutâneas ulceradas felinas obtidos na consulta inicial (pré-tratamento) e nas consultas de seguimento (durante o tratamento antifúngico);
- Descrever o tempo decorrido após o início do tratamento antifúngico, no qual não é mais possível o isolamento de *Sporothrix* sp. em meio de cultivo, a partir do exsudato das lesões cutâneas ulceradas dos gatos;
- Verificar a frequência de contactantes humanos dos gatos avaliados que foram infectados por *Sporothrix* sp. após o início do tratamento dos gatos;
- Verificar a associação entre a carga fúngica e a resposta clínica ao tratamento.

## 4. Metodologia

### 4.1. Desenho do estudo

Foi realizado um estudo longitudinal prospectivo em uma coorte de gatos com esporotricose assistidos no Laboratório de Pesquisa Clínica em Dermatozoonoses em Animais Domésticos (Lapclin-Dermzoo)/INI/Fiocruz. O projeto para a realização do estudo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Fundação Oswaldo Cruz (CEUA – Fiocruz).

### 4.2. Casuística

#### 4.2.1. População do estudo

A população alvo foi constituída de gatos acompanhados no Lapclin-Dermzoo/INI/Fiocruz, que preencheram os critérios de elegibilidade abaixo descritos.

### **4.3. Cálculo amostral**

Foi utilizada uma amostra de conveniência de 28 gatos para realização do exame citopatológico e da cultura antes e durante o tratamento antifúngico.

### **4.4 Critérios de elegibilidade**

#### **4.4.1. Critérios de inclusão**

- Gatos que apresentavam lesão cutânea ulcerada com diagnóstico definitivo de esporotricose por meio do isolamento de *Sporothrix* sp. em meio de cultura;
- Gatos que após o diagnóstico definitivo de esporotricose iniciaram o tratamento antifúngico sistêmico no Lapclin-Dermzoo/INI/Fiocruz;
- Gatos cujos responsáveis aceitaram participar do estudo mediante a assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido.

#### **4.4.2. Critérios de exclusão**

- Gatos que foram previamente tratados com substâncias antifúngicas sistêmicas ou tópicas;
- Diagnóstico clínico de gestação ou gatas em lactação;
- Uso de terapia concomitante com antineoplásicos ou corticosteroides.

#### **4.5. Plano de recrutamento**

Os responsáveis pelos gatos que preencheram os critérios de elegibilidade foram convidados a participar do estudo. Após a concordância dos responsáveis, por meio da assinatura de um termo de consentimento livre e esclarecido, os gatos foram submetidos ao protocolo do estudo.

#### **4.6. Critérios para suspender ou encerrar o estudo ou retirar animais incluídos**

- Por decisão do responsável pelo gato;
- Não comparecimento em duas consultas de seguimento consecutivas;
- Utilização de terapia com corticoides, antineoplásicos ou outros antifúngicos diferentes do prescrito pelo médico veterinário após a inclusão no estudo.

#### **4.7. Consulta inicial (pré-tratamento)**

##### **4.7.1. Histórico, anamnese e exame clínico**

Foi confeccionado o histórico do animal e realizada a anamnese junto ao tutor, o qual foi perguntado sobre tempo de evolução da doença e presença de seres humanos ou outros animais com esporotricose na mesma residência.

Os gatos foram submetidos à exame clínico geral, avaliando-se seu estado geral, número de lesões cutâneas, distribuição e tipo das lesões cutâneas, sinais extracutâneos (presença de sinais respiratórios, linfadenomegalia e/ou lesões em mucosas).

#### **4.7.2. Coleta de material para exames micológicos**

Para fins de coleta de material neste estudo, foi considerada a divisão da superfície corporal do gato em oito diferentes regiões anatômicas: cabeça e pescoço (CP), tronco (TR), membro anterior direito (MAD), membro anterior esquerdo (MAE), membro posterior direito (MPD), membro posterior esquerdo (MAE), genitália (GEN) e cauda (CD).

A lesão cutânea ulcerada de maior diâmetro (preferencialmente a mais recente) presente em cada região anatômica foi selecionada para coleta de exsudato para realização de cultivo fúngico e o exame citopatológico.

Para o exame citopatológico, foram realizadas três impressões do exsudato presente na lesão(ões) cutânea(s) ulcerada(s) selecionada(s), por contato em lâmina de vidro limpa e seca. Em seguida, foi realizada a coleta para o exame de cultura fúngica.

Para o cultivo fúngico, foram utilizados *swabs* estéreis para coletar o exsudato da(s) mesma(s) lesão(ões) selecionada(s) para o exame citopatológico. Imediatamente após a coleta do exsudato para realização da cultura fúngica, foi realizada a semeadura da amostra nos meios ágar Sabouraud Dextrose acrescido de cloranfenicol e ágar Mycobiotic (Difco). Em seguida, os tubos com meios de cultura semeados foram enviados para o Laboratório de Micologia/INI/Fiocruz para processamento.

#### **4.8. Processamento das amostras**

A coloração das lâminas do exame citopatológico pelo método panótico rápido foi realizada no Lapclin-Dermzoo/INI/Fiocruz, de acordo com as instruções do fabricante (Laborclin).

Após a semeadura da amostra clínica, os tubos contendo os meios de cultura foram enviados ao Laboratório de Micologia/INI/Fiocruz.

#### 4.8.1 Leitura dos exames citopatológicos

A leitura das lâminas foi realizada no Lapclin-Dermzoo/INI em microscópio óptico na objetiva de imersão de 100x, procurando-se estruturas leveduriformes compatíveis com *Sporothrix* sp.. O resultado foi positivo quando se observou pelo menos uma estrutura leveduriforme compatível com *Sporothrix* sp..

A avaliação da carga fúngica foi realizada com base na leitura de uma lâmina de cada lesão selecionada, na qual foi realizada a contagem de estruturas leveduriformes em um campo de cada uma das três impressões, sendo calculada posteriormente a média da contagem nos três campos. A seleção do campo foi realizada com aumento de 400x e a contagem de leveduras com aumento de 1000x. Os campos apresentando maior carga fúngica em cada impressão foram selecionados para contagem.

Para comparação de carga fúngica de gatos com diferentes distribuições de lesões, foi calculada a média de carga fúngica de todas as lesões avaliadas. Para verificar a ocorrência de diferenças de carga fúngica relacionadas à localização anatômica, foi considerada a carga fúngica de cada lesão individualmente.

#### 4.8.2. Cultura Fúngica

Os tubos contendo os meios de cultura ágar Sabouraud dextrose e ágar Mycosel, após a semeadura, foram enviados ao Laboratório de Micologia/INI, incubados a 25°C por 5 a 7 dias, sendo que em alguns casos esse tempo pode ser prolongado. Após esse período de incubação inicial, observou-se crescimento de um fungo hialino na forma filamentosa que adquire capacidade de produzir melanina, este foi inoculado em meio de infusão de cérebro e coração (BHI) e incubado a 37°C por cinco a sete dias, para que ocorra a conversão do fungo para a forma de levedura, de aspecto cremoso, concluindo o diagnóstico micológico. As culturas negativas foram mantidas por pelo menos quatro semanas (RIPPON, 1988).

#### **4.9. Tratamento antifúngico**

Após o diagnóstico de esporotricose, os gatos foram tratados por via oral com itraconazol (100 mg/gato) associado ao iodeto de potássio (2,5-5,0 mg/kg) a cada 24 horas.

#### **4.10. Consultas de seguimento (após início do tratamento)**

As consultas de seguimento foram realizadas mensalmente, quando ocorreu a coleta de material para realização dos exames citopatológico e da cultura fúngica da lesão inicialmente selecionada, seguindo o mesmo protocolo descrito para a consulta inicial. Foi realizada a anamnese junto ao tutor, o qual foi perguntado sobre tempo de evolução da doença e presença de seres humanos ou outros animais com esporotricose na mesma residência.

Nos casos nos quais a lesão cutânea ulcerada selecionada inicialmente cicatrizou, foi selecionada, quando presente, outra lesão cutânea ulcerada na mesma região anatômica, para coleta de amostras e realização do exame de cultura fúngica, excluindo-se nesse caso a análise da carga fúngica. A avaliação sequencial da carga fúngica foi realizada somente na mesma lesão inicialmente selecionada, sendo finalizada em caso de sua cicatrização.

Os animais foram acompanhados até o desfecho do caso ou no máximo 40 semanas após o início do protocolo terapêutico.

#### 4.11. Desfechos

Foram considerados como desfechos:

- cura clínica (remissão total dos sinais clínicos apresentados – cicatrização total das lesões cutâneas e/ou mucosas, desaparecimento dos sinais extracutâneos – sinais respiratórios e linfadenomegalia)
- falha terapêutica (estagnação ou piora do quadro clínico após quatro semanas de tratamento)
- óbito.

Foi considerado abandono de tratamento (perda de seguimento) o gato que não foi trazido pelo tutor em duas consultas de seguimento consecutivas.

#### 4.12. Plano de Análise

Todos os dados foram armazenados e posteriormente analisados no software *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS) versão 16. Os testes de Kruskal Wallis e Mann-Whitney foram utilizados para a análise. Foram descritas as frequências simples das variáveis categóricas (sexo, raça, status reprodutivo, estado geral, tipo das lesões cutâneas, distribuição das lesões cutâneas, presença de sinais extracutâneos, resultado dos exames micológicos, desfecho e presença de seres humanos ou outros animais com esporotricose na mesma residência) e as medidas de tendência central e dispersão das variáveis quantitativas contínuas (idade, tempo de evolução da doença antes do tratamento, tempo de positividade dos exames micológicos durante o tratamento antifúngico em semanas, número de lesões cutâneas, número de estruturas leveduriformes observadas no exame citopatológico antes e durante o tratamento, tempo de cicatrização de cada lesão avaliada).

## 5. Resultados

Vinte e oito gatos com esporotricose foram incluídos no estudo. Todos os gatos eram sem raça definida e apresentavam bom estado geral. A idade mediana dos gatos foi 25,5 meses (6-96 meses). As demais características clínicas e epidemiológicas dos pacientes encontram-se na tabela 1.

Tabela 1: Distribuição das características clínicas e epidemiológicas de gatos com esporotricose atendidos no Lapclin-Dermzoo/INI/Fiocruz (2018-2020).

Variáveis	n (%)
Sexo	
Macho	22 (78,57%)
Fêmea	6 (21,42%)
Acesso à rua	
Sim	25 (89,28%)
Não	3 (10,71%)
Castrados	
Sim	12(42,85%)
Não	16 (57,14%)
Acometimento de mucosas	
Sim	15 (53,57%)
Não	13 (46,42%)
Sinais respiratórios	
Sim	21 (75%)
Não	7 (25%)
Linfadenomegalia	
Sim	24 (85,71%)
Não	4 (14,28%)

Fonte: Elaborado pelo autor

A maioria dos gatos iniciou o tratamento apresentando lesões em uma (n=7; 25 %) região anatômica ou em duas regiões anatômicas (n=9; 32,14%). Entre os demais, seis apresentaram lesões em três regiões (21,42%), três apresentaram em quatro regiões (10,71%), e três em seis regiões (10,71%). O tempo mediano de início das lesões cutâneas até a consulta inicial foi quatro (1-22) semanas.

Os resultados dos exames micológicos realizados a partir de amostras coletadas das lesões cutâneas ulceradas dos gatos (exame citopatológico e cultura fúngica) durante o acompanhamento terapêutico são mostrados na Tabela 2.

Tabela 2: Resultados dos exames micológicos realizados em lesões cutâneas de gatos com esporotricose durante o acompanhamento terapêutico atendidos no Lapclin-Dermzoo/INI/Fiocruz (2018-2020).

Exames micológicos		Gatos com lesões cutâneas ulceradas			
		Período de tratamento em meses (T)			
		T0 (n=28)	T1 (n=20)	T2 (n=4)	T3 (n=4)
<b>Exame citopatológico</b>	<b>+</b>	24	5	0	1
	<b>-</b>	4	15	4	3
<b>Cultura micológica</b>	<b>+</b>	28	12	1	3
	<b>-</b>	0	8	3	1

T0: primeiro atendimento. T1: segundo atendimento. T2: terceiro atendimento. T3: quarto atendimento.

Fonte: Elaborado pelo autor

No segundo atendimento (T1), 12 animais tiveram resultado positivo no exame de cultura, demonstrando diminuição de 57,14 % na positividade deste exame após quatro semanas de tratamento. Após 12 semanas de tratamento, apenas três animais tiveram resultado positivo no exame de cultura micológica.

A positividade do exame citopatológico diminuiu progressivamente durante o tratamento antifúngico até o terceiro atendimento. Em relação à carga fúngica das lesões cutâneas, foi observada redução ao longo do tratamento, sendo significativa ( $p < 0,001$ ) entre a primeira consulta (T0-pré-tratamento) e a segunda consulta (T1- sob tratamento antifúngico), conforme observado na Tabela 3.

Tabela 3: Número de regiões anatômicas com presença de lesão cutânea e suas respectivas cargas fúngicas durante o tratamento de gatos com esporotricose atendidos no Lapclin-Dermzoo/INI/Fiocruz (2018-2020).

Número de regiões anatômicas acometidas		Carga fúngica			
		T0 (28)	T1 (20)	T2 (4)	T3 (4)
1 (n=7)	Mediana	77	0	0	0
	(Mín-Máx)	(0-341,60)	(0-0,3)	(0-0)	(0-0)
2 (n=9)	Mediana	43,3	0	0	45,60
	(Mín-Máx)	(0,3-302,9)	(0-1,1)	(0-0)	(45,6-45,6)
3 (n=6)	Mediana	15,9	0	0	0
	(Mín-Máx)	(0-230,20)	(0-2,65)	(0-0)	(0-0)
4 (n=3)	Mediana	112,2	0	0	NR
	(Mín-Máx)	(101,4-223,3)	(0-0,6)	(0-0)	
6 (n=3)	Mediana	0,1	0	NR	0
	(Mín-Máx)	(0-705,8)	(0-0)		(0-0)
Total (n=28)	Mediana	44,0	0	0	0
	(Mín-Máx)	(0-705,8)	(0-2,65)	(0-0)	(0-45,6)

T0: primeiro atendimento. T1: segundo atendimento. T2: terceiro atendimento. T3: quarto atendimento. NR: Não realizado.

Fonte: Elaborado pelo autor

A maioria das lesões cutâneas (n = 24, 85,71%) havia cicatrizado após oito semanas de tratamento. Após 12 semanas de tratamento, apenas dois gatos ainda apresentavam lesões cutâneas ulceradas, no entanto, ambos apresentavam carga fúngica média igual a zero. Um deles apresentou cultura fúngica negativa e outro, cultura fúngica positiva.

Em três casos houve a reabertura de lesão cutânea, um animal apresentou carga fúngica média de 45,6 e cultura fúngica positiva, e os demais, carga fúngica média igual a zero sendo uma cultura positiva e outra negativa.

Os tempos de cicatrização das lesões cutâneas e as respectivas cargas fúngicas foram avaliados e encontram-se descritos na Tabela 4.

Tabela 4: Tempo até a cicatrização das lesões cutâneas avaliadas e as respectivas cargas fúngicas ao longo do tratamento de gatos com esporotricose atendidos no Lapclin-Dermzoo/INI/Fiocruz (2018-2020).

Tempo de cicatrização		Carga fúngica			
		T0 (28)	T1 (20)	T2 (4)	T3 (4)
Até 8 semanas	Mediana (Mín-Máx)	22,87 (0-341,60)	0 (0-0)	0 (0-0)	NR
8 a 12 semanas	Mediana (Mín-Máx)	94,60 (0,3-705,80)	0 (0-1,1)	0 (0-0)	0 (0-45,60)
>12 semanas	Mediana (Mín-Máx)	223,30 (223,30-223,30)	0,60 (0,6-0,6)	0 (0-0)	NR
Total	Mediana (Mín-Máx)	44,80 (0-705,80)	0 (0-1,10)	0 (0-0)	0 (0-45,60)

T0: primeiro atendimento. T1: segundo atendimento. T2: terceiro atendimento. T3: quarto atendimento. NR: não realizado por lesão cicatrizada.

Fonte: Elaborado pelo autor

Observou-se que gatos com maior carga fúngica lesional antes do início do tratamento (T0) tenderam a apresentar um tempo maior até a cicatrização. Após 12 semanas, cinco gatos ainda estavam sob tratamento, quatro ainda apresentavam sinais respiratórios sendo que dois deles também apresentavam linfadenomegalia regional. Apenas um gato não apresentava sinais respiratórios ou linfadenomegalia.

Os resultados da carga fúngica das lesões cutâneas ao longo do tratamento em relação à presença ou não de sinais respiratórios na consulta inicial (pré-tratamento) encontram-se descritos na Tabela 5.

Tabela 5: Carga fúngica das lesões cutâneas durante o acompanhamento terapêutico em relação à presença inicial de sinais respiratórios em gatos com esporotricose atendidos no Lapclin-Dermzoo/INI/Fiocruz.

Sinais respiratórios		Carga fúngica			
		T0	T1	T2	T3
Sim	Mediana	53,80	0	0	0
	(Mín-Máx)	(0-705,80)	(0-2,6)	(0-0)	(0-45,60)
Não	Mediana	26,60	0	0	NR
	(Mín-Máx)	(0-223,30)	(0-1,10)	(0-0)	
Total	Mediana	44,05	0	0	0
	(Mín-Máx)	(0-705,80)	(0-2,65)	(0-0)	(0-45,60)

T0: primeiro atendimento. T1: segundo atendimento. T2: terceiro atendimento. T3: quarto atendimento. NR: não realizado por lesão cicatrizada.

Fonte: Elaborado pelo autor

Ainda que a diferença não tenha sido estatisticamente significativa, a carga fúngica na consulta inicial foi maior nos gatos que apresentaram sinais respiratórios.

Dos 28 gatos incluídos no estudo, 27 tiveram como desfecho a cura clínica (96,42%). Apenas um gato permanecia sob tratamento no momento da análise. Foram observados dois casos de infecção por *Sporothrix* spp. entre os tutores após o início do tratamento dos gatos incluídos no estudo. Um dos gatos apresentava carga fúngica média de 223,3 no momento da inclusão no estudo, e apresentou cicatrização total das lesões cutâneas entre oito e doze semanas. O segundo gato apresentava carga fúngica média de 302,9 no momento da inclusão no estudo, com tempo de cicatrização das lesões cutâneas menor que quatro semanas.

## 6. Discussão

Foi realizado um estudo prospectivo da carga fúngica e da viabilidade de *Sporothrix sp.* em gatos na vigência de tratamento antifúngico para esporotricose felina com associação de itraconazol e iodeto de potássio.

Estudos sobre esporotricose felina que realizaram a mensuração da carga fúngica e avaliaram a positividade da cultura fúngica das lesões cutâneas no momento do diagnóstico inicial e ao longo do tratamento antifúngico são escassos (SOUZA et al, 2018; MIRANDA et al, 2018). O fato do gato com esporotricose geralmente apresentar uma alta carga fúngica em suas lesões cutâneas e ser a principal fonte de *Sporothrix brasiliensis* para o ser humano, cães e outros gatos no Brasil, reforça a importância desse tipo de estudo em áreas endêmicas dessa micose.

O exame citopatológico do exsudato das lesões cutâneas de gatos com suspeita de esporotricose tem sido utilizado rotineiramente com elevada positividade no diagnóstico presuntivo dessa micose desde o início da epidemia de esporotricose na região metropolitana do Rio de Janeiro (PEREIRA et al, 2011; SILVA et al, 2015; SILVA et al, 2018; MIRANDA et al, 2018). Esse método de diagnóstico foi utilizado recentemente em um estudo pioneiro sobre a mensuração da carga fúngica de uma única lesão cutânea antes e durante o tratamento da esporotricose felina (MIRANDA et al, 2018). O presente estudo utilizou os mesmos métodos de diagnóstico, porém avaliou um número maior de lesões cutâneas ulceradas em diferentes regiões anatômicas do paciente, buscando obter uma maior fidedignidade da viabilidade e carga fúngica de *Sporothrix sp.* por gato.

A maioria dos gatos incluídos neste estudo era macho, adulto jovem, não castrado e com acesso à rua e apresentava bom estado geral, semelhante aos achados previamente descritos nos estudos sobre esporotricose felina realizados na mesma região endêmica (MACÊDO-SALES et al., 2018; PEREIRA et al., 2010; REIS et al., 2012; REIS et al., 2016; SCHUBACH et al., 2004; SOUZA et al., 2018,).

Na esporotricose felina, o envolvimento das mucosas é frequente, especialmente a mucosa nasal, associado à presença de sinais respiratórios como espirros, rinorreia e dispneia. A linfadenomegalia também é frequentemente observada (MACÊDO-SALES et al., 2018; REIS et al., 2012; ROCHA et al., 2018). A maioria dos gatos incluídos no presente estudo apresentava os sinais clínicos extracutâneos acima descritos.

No presente estudo, observou-se uma redução de 57,14% de resultados positivos das culturas micológicas entre o primeiro e segundo atendimento, corroborando os resultados de Silva (2016), que após um mês de tratamento dos gatos com itraconazol, o cultivo micológico foi negativo em aproximadamente 50% dos casos. Após o início da administração do itraconazol associado ao iodeto de potássio, é esperada a redução na carga fúngica e ausência de crescimento fúngico na cultura, assim como nos resultados encontrados por Miranda e colaboradores (2018).

Neste estudo, observou-se que a carga fúngica após quatro semanas de tratamento tendeu a zero, independentemente do número de lesões cutâneas, com a associação de itraconazol e iodeto de potássio. Essa redução sugere que gatos sob tratamento antifúngico parecem não representar um papel importante na transmissão de *Sporothrix* sp., mesmo aqueles que apresentavam elevada carga fúngica no primeiro atendimento (T0), conforme também observado por Miranda e colaboradores (2018).

Foi observado que a positividade do exame citopatológico diminuiu consideravelmente durante o tratamento antifúngico, corroborando os achados de Miranda e colaboradores (2018). A presença de resultados falso negativos no exame citopatológico em relação ao cultivo fúngico, observados durante o tratamento no segundo (n=7) e terceiro atendimentos (n=1), reforça que o método padrão de referência deve ser realizado sempre que possível para confirmação do diagnóstico da esporotricose, conforme descrito por outros autores (MACÊDO-SALES et al., 2018). Miranda e colaboradores (2018) recomendam o uso de pelo menos dois métodos de diagnóstico em gatos que estejam sob tratamento antifúngico.

No presente estudo, a maior carga fúngica observada foi proveniente de gatos com lesões cutâneas presentes em seis regiões anatômicas (705,8), em consonância aos achados de estudos prévios que descreveram a maior carga

fúngica em gatos apresentando lesões cutâneas em mais de duas regiões anatômicas (Miranda et al, 2013; Miranda et al, 2018). Foi observado que o tratamento com a associação de itraconazol e iodeto de potássio levou à redução da carga fúngica nas lesões cutâneas ulceradas e obteve alta taxa de cura clínica (96,4%), independente da distribuição e número das lesões, sugerindo que a resposta ao tratamento no presente estudo não está associada ao número de regiões acometidas.

Gatos com múltiplas lesões e alta carga fúngica tendem a apresentar lesões persistentes após 12 semanas de tratamento antifúngico. Apesar disso, a carga fúngica mediana nas lesões diminui para zero (MIRANDA et al., 2018). No presente estudo, observou-se a presença de poucas lesões persistentes cuja mediana da carga fúngica foi zero, reforçando a importância do tratamento precoce dos gatos como medida de controle.

No presente estudo foi observado que gatos com maior carga fúngica lesional antes do início do tratamento (T0) tenderam a apresentar um tempo maior até a cicatrização, concordando com os achados de estudo prévio (MIRANDA et al., 2018; SOUZA et al, 2018).

A positividade do exame citopatológico e da cultura fúngica até o terceiro mês de tratamento com itraconazol em gatos com esporotricose, pode estar associada a um desfecho negativo. Desta forma, o acompanhamento das lesões cutâneas com base nos resultados dos testes de diagnóstico pode ser indicativo de animais refratários ao azólico, e alternativas terapêuticas devem ser consideradas (SILVA, 2016). No presente estudo, não foi observado desfecho negativo com a associação de itraconazol e iodeto de potássio. Este esquema terapêutico tem sido descrito como mais efetivo que a monoterapia com itraconazol na esporotricose felina (MIRANDA et al., 2018; REIS et al., 2016; ROCHA et al., 2018).

Na esporotricose, a combinação de hospedeiros suscetíveis, uma espécie infectante mais virulenta e ausência de estrutura em termos de saúde pública são alguns dos possíveis fatores associados à hiperendemia que ocorre no município do Rio de Janeiro atualmente (GUTIERREZ-GALHARDO et al., 2015). Em nosso estudo, ocorreram apenas duas infecções em humanos que tinham contato com o gato durante o tratamento. Sendo que em um caso, não foi possível afirmar que a infecção ocorreu após a inclusão do gato no estudo,

devido ao hábito do tutor de dar banho no gato doente antes de receber as orientações durante a consulta inicial para evitar essa prática. Esse baixo número de contactantes humanos infectados por *Sporothrix* sp., pode estar associado à diminuição da carga fúngica após o início do tratamento, assim como as orientações sobre medidas de prevenção fornecidas aos tutores durante a primeira consulta.

## 7. Conclusão

- A mensuração da carga fúngica de lesões cutâneas ulceradas de gatos com esporotricose foi realizada com sucesso na consulta inicial (pré-tratamento) e nas consultas de seguimento (durante o tratamento);
- A visualização e a quantificação das estruturas leveduriformes no exame citopatológico foi maior antes do início do tratamento antifúngico devido a maior carga fúngica;
- Após quatro semanas de tratamento antifúngico, observou-se uma diminuição significativa da carga fúngica do exsudato de lesões cutâneas e a ocorrência de resultados falso negativos no exame citopatológico;
- A alta frequência de cicatrização de lesões cutâneas ulceradas em gatos com esporotricose após oito semanas de tratamento antifúngico, associada à diminuição precoce da carga fúngica e a infecção de apenas dois contactantes humanos após o início do protocolo terapêutico, sugerem que o gato sob tratamento tem o potencial zoonótico reduzido;
- Após 12 semanas de tratamento antifúngico, aproximadamente 10% dos gatos incluídos ainda apresentavam lesões e crescimento de *Sporothrix* sp. em meio de cultivo;
- A redução da carga fúngica ao longo do tratamento antifúngico foi diretamente proporcional a resposta clínica favorável, evidenciada pela cicatrização da maioria das lesões cutâneas ulceradas e alta frequência de cura clínica dos gatos.

## 8. Referências Bibliográficas

ARAÚJO, A.K.L., LEAL, C.A.S. Esporotricose felina no município de Bezerros, Agreste Pernambucano: relato de caso [article in portuguese]. PubVet 10: 816-820, 2016.

BARROS, M.B., ALMEIDA-PAES, R., SCHUBACH, A.O.. *Sporothrix schenckii* and Sporotrichosis. Clin Microbiol Reviews 24(4): 633-654, 2011.

BARROS, M.B.L., SCHUBACH, A.O., DO VALLE, A.C., *et al.* Cat-transmitted sporotrichosis epidemic in Rio de Janeiro, Brazil: description of a series of cases. Clin Infect Dis 38:529-535, 2004.

BOECHAT, J.S., OLIVEIRA, M.M.E., ALMEIDA-PAES, R., *et al.* Feline sporotrichosis: associations between clinical-epidemiological profiles and phenotypic-genotypic characteristics of the etiological agents in the Rio de Janeiro epizootic area. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz 113, 185–196, 2018.

CARVALHO, B.W.; PEREIRA, S.A.; FIGUEIREDO, A.B.F.; *et al.* Iodeto de sódio: uma alternativa de tratamento para a esporotricose felina? Acta Sci Vet., v. 46, p. 1618, 2018.

CATALÁN, M.; MONTEJO, J.C. Antifúngicos sistémicos. Rev Iber Micol., v. 23, p. 39-49, 2006.

CORDEIRO, F.N., BRUNO, C.B., PAULA, C.D., *et al.* Familial occurrence of zoonotic sporotrichosis. An Bras Dermatol 86:121–124, 2011.

CROTHERS, S.L., WHITE, S.D., IHRKE, P.J., *et al.* Sporotrichosis: a retrospective evaluation of 23 cases seen in northern California (1987-2007). Vet Dermatol 20:249-259, 2009.

CÓRDOBA, S., ISLA, G., SZUSZ, W., *et al.* Molecular identification and susceptibility profile of *Sporothrix schenckii* sensu lato isolated in Argentina. Myc 61:441-448, 2018.

DE SOUZA, C.P., LUCAS, R., RAMADINHA, R.H., *et al.*, Cryosurgery in association with itraconazole for the treatment of feline sporotrichosis. J Feline Med Surg. Feb;18(2):137-143, 2016.

DUANGKAEW, L., YURAYART, C., LIMSIVILAI, O., *et al.* Cutaneous sporotrichosis in a stray cat from Thailand. Med Mycol Case Rep. Dec 21;23:46-49, 2018.

DUNSTAN, R.W., REIMANN, K.A., LANGHAM, R.F.. Feline sporotrichosis. J Am Vet Med Assoc.; 189(8):880-3, 1986.

ETCHECOPAZ, A.N., LANZA, N., TOSCANINI, M.A., *et al.*. Sporotrichosis caused by *Sporothrix brasiliensis* in Argentina: Case report, molecular identification and in vitro susceptibility pattern to antifungal drugs. J Mycol Med. Oct 15:100908. 2019. doi: 10.1016/j.mycmed.2019.100908.

FALCÃO, EDUARDO MASTRANGELO MARINHO. Hospitalizações e mortalidade por esporotricose no Brasil com ênfase no estado do Rio de Janeiro: uma análise de 25 anos. 2018. 96 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Tropical)-Fundação Oswaldo Cruz, Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2018.

FERNANDES, G.F., LOPES-BEZERRA, L.M., BERNARDES-ENGEMANN, A.R., *et al.*. Serodiagnosis of sporotrichosis infection in cats by enzyme-linked immunosorbent assay using a specific antigen, SsCBF, and crude exoantigens. Vet Microbiol 147:445-449, 2010.

FERNANDES, C.G.N., MOURA, S.T., DANTAS, A.F.M., FERNANDES, M.C.S.B. Feline Sporotrichosis - Clinical and Epidemiological Aspects: Case Reports (Cuiabá, Mato Grosso, Brazil) [article in portuguese]. MedVet Rev Cient Med Vet Peq An 2:39-43, 2004.

FREITAS, D.F., VALLE, A.C., DA SILVA, M.B., *et al.*. Sporotrichosis: an emerging neglected opportunistic infection in HIV-infected patients in Rio de Janeiro, Brazil. PLoS Negl Trop Dis. 8(8):e3110, 2014.

FREITAS, D.F.; SANTOS, S.S.; ALMEIDA-PAES, R.; *et al.* Increase in virulence of *Sporothrix brasiliensis* over five years in a patient with chronic disseminated sporotrichosis. **Virulence**, v. 6, n. 2, p. 112-120, 2015.

FILGUEIRA, K.D. Esporotricose na espécie canina: Relato de um caso na cidade de Mossoró, RN [article in portuguese] Cienc Anim Bras; 10:673-677, 2009.

GOUGEROT H. New insight gained in general pathology and practical medicine by the study of sporotrichoses. Ann N Y Acad Sci. Sep;50(10):1348-1356, 1950.

GREMIÃO, I.D., SCHUBACH, T.M., PEREIRA, S.A., *et al.*. Intralesional amphotericin B in a cat with refractory sporotrichosis. J Feline Med Surg: 1:720-723, 2009.

GREMIÃO, I.D.F., SCHUBACH, T.M., PEREIRA, S.A., *et al.*. Treatment of refractory feline sporotrichosis with a combination of intralesional amphotericin B and oral itraconazole. Aust Vet J 89:346-351, 2011.

GREMIÃO, I.D.F., MENEZES, R.C., SCHUBACH, T.M.. Feline sporotrichosis: epidemiological and clinical aspects. Med Mycology. 2015; 53: 15-21

GREMIÃO, I.D.F., MIRANDA, L.H.M., REIS, E.G.. Zoonotic Epidemic of Sporotrichosis: Cat to Human Transmission. PLoS Pathog 13(1): e1006077, 2017. doi:10.1371/journal.ppat.1006077

GREMIÃO, I.D.F., OLIVEIRA, M.M.E., MIRANDA, L.H.M., *et al.*. Geographic expansion of sporotrichosis, Brazil. Emerg Infect Dis. 2020. <https://doi.org/10.3201/eid2603.190803>

GUTIERREZ-GALHARDO, M.C.; FREITAS, D.F.S.; VALLE, A.C.F., *et al.*. Epidemiological Aspects of Sporotrichosis Epidemic in Brazil. Current Fungal Infection Reports. 9. 10.1007/s12281-015-0237-y, 2015.

HAN, H.S., KANO, R., CHEN, C., *et al.*. Comparison of two in vitro antifungal sensitivity tests and monitoring during therapy of *Sporothrix schenckii* sensu stricto in Malaysian cats. Vet Dermatol 28, 156-e32, 2017.

HONSE, C.O., RODRIGUES, A.M., GREMIAO, I.D., *et al.*. Use of local hyperthermia to treat sporotrichosis in a cat. Vet Rec 13:208-209, 2010.

JAHAM, C., PARADIS, M., PAPICH, M.. Antifungal dermatologic agents: azoles and allylamines. Small Anim/Exotics 22(6): 548-558, 2000.

KANO, R., OKUBO, M., SIEW, H.H., KAMATA, H., *et al.*. Molecular typing of *Sporothrix schenckii* isolates from cats in Malaysia. Mycoses 58, 220-224, 2015.

LARSSON, C.E., GONÇALVES, M.A., ARAÚJO, V.C., *et al.*. Feline sporotrichosis: clinical and zoonotic aspects. Rev Inst Med Trop S Paulo 31:351-358, 1989.

MACÊDO-SALES, P.A., SOUTO, S.R.L., DESTEFANI, C.A., *et al.*. Domestic feline contribution in the transmission of *Sporothrix* in Rio de Janeiro State, Brazil: a comparison between infected and non-infected populations. BMC Veterinary Research 14, 1-10, 2018.

MADRID, I.M., MATTEI, A., MARTINS, A., *et al.*. Feline sporotrichosis in the southern region of Rio Grande do Sul, Brazil: clinical, zoonotic and therapeutic aspects. Zoonoses Public Health 57:151–154, 2010.

MADRID, I.M., MATTEI, A.S., FERNANDES, C.G., *et al.*. Epidemiological findings and laboratory evaluation of sporotrichosis: a description of 103 cases in cats and dogs in southern Brazil. Mycopathologia 173:265-273, 2012.

MARQUES-MELO, E.H., LESSA, D.F.S., NUNES A.C.B.T., *et al.*. Felino doméstico como agente transmissor de esporotricose para humano: relato de primeiro caso no estado de Alagoas [article in portuguese]. Rev Baiana Saúde Pública 38:490-498, 2014.

MIRANDA, L.H.M., QUINTELLA, L.P., DOS SANTOS, I.B. *et al.* Histopathology of Canine Sporotrichosis: A Morphological Study of 86 Cases from Rio de Janeiro (2001-2007). *Mycopathologia*, 168: 79, 2009.

MIRANDA, L.H.M., CONCEIÇÃO-SILVA F., QUINTELLA L.P., *et al.* Feline sporotrichosis: Histopathological profile of cutaneous lesions and their correlation with clinical presentation. *Comp Immunology, Microb and Infect Diseases*, 36: 425–432, 2013.

MIRANDA, L.H.M.; SILVA, J.N.; GREMIÃO, I.D.F.; *et al.* Monitoring Fungal Burden and Viability of *Sporothrix* spp. in Skin Lesions of Cats for Predicting Antifungal Treatment Response. *Journal of Fungi*, v. 4, n. 92, p. 1-11, 2018.

MONTENEGRO, H.; RODRIGUES, A.M.; DIAS, M.A.G.; *et al.* Feline sporotrichosis due to *Sporothrix brasiliensis*: an emerging animal infection in São Paulo, Brazil. *BMC Veterinary Research*, v.10, n.269, 11p., novembro, 2014.

NOBRE, M.O., CASTRO, A.P., CAETANO, D., SOUZA, L.L., MEIRELES, M.C.A., FERREIRO, L. Recurrence of sporotrichosis in cats with zoonotic involvement. *Rev Iberoam Micol* 18:137–40, 2001.

NOBRE, M.O., MEIRELES, M.C.A., CAETANO, D.T., *et al.* Esporotricose zoonótica na região sul do Rio Grande do Sul (Brasil) e revisão da literatura brasileira [artigo em português]. *Rev Bras Ciên Vet* 9:36–41, 2002.

NOBRE, M.O., NASCENTE, P.S., MEIRELES, M.C., *et al.* Drogas Antifúngicas para Pequenos e Grandes Animais. *Ciência Rural* 31(1): 175-184b, 2002.

NUNES, G.D.L., CARNEIRO, R.S., FILGUEIRA, K.D., *et al.* Esporotricose felina no município de Itaporanga, estado da Paraíba, Brasil: relato de um caso. *Arq Cienc Vet Zool Unipar* 14:157-161, 2011.

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* 172, 257-267, 2011.

OLIVEIRA, M.M.E., FRANCO-DUARTE, R., ROMEO, O., *et al.* Evaluation of T3B fingerprinting for identification of clinical and environmental *Sporothrix* species, *FEMS Microbiology Letters*, Volume 362, Issue 6, March, 2015, fnv027, <https://doi.org/10.1093/femsle/fnv027>

PEREIRA, S.A., SCHUBACH, T.M.P., GREMIÃO, I.D.F., *et al.* Therapeutic aspects of feline sporotrichosis. *Acta Sci Vet* 37: 311-321, 2009,

PEREIRA, S.A., MENEZES, R.C., GREMIÃO, I.D.F., *et al.* Sensitivity of cytopathological examination in the diagnosis of feline sporotrichosis. *J of Feline Med and Surg*. 2011; 13(4): 220-223

PEREIRA, S.A., PASSOS, S.R.L., SILVA, J.N., *et al.* Response to azolic antifungal agents for treating feline sporotrichosis. *Vet Rec* 166: 290-294, 2010.

PEREIRA, S.A., GREMIÃO, I.D.F., MENEZES, R.C.. Sporotrichosis in Animals: Zoonotic Transmission. In: Carlos IZ, ed. *Sporotrichosis: New Developments and Future Prospects*: Springer International Publishing, 83-102, 2015.

POESTER, V.R., MATTEI, A.S., MADRID, I.M., *et al.* Sporotrichosis in Southern Brazil, towards an epidemic? *Zoonoses Public Health* 65:815-821, 2018.

REIS, E.G., GREMIAO, I.D., KITADA, A.A., *et al.* Potassium iodide capsule treatment of feline sporotrichosis. *J Feline Med Surg.* 14(6):399-404, 2012.

REIS, E.G., SCHUBACH, T.M.P., PEREIRA, S.A., *et al.* Association of itraconazol and potassium iodide in the treatment of feline sporotrichosis: a prospective study. *Medical Mycology* 2016:54, 684-690.

RIPPON, J., SPOROTRICHOSIS. IN: J. RIPPON (Ed.). *Medical Mycology - The Pathogenic Fungi and the Pathogenic Actinomycetes*. Philadelphia: W. B. Saunders Company, Sporotrichosis, p.325-352, 1988.

ROCHA, R.F.D.B., SCHUBACH, T.M.P., PEREIRA, S.A., *et al.* *J Small Anim Pract.*, Nov;59(11):720-721. 2018. doi: 10.1111/jsap.12852. Epub 2018 Apr 30.

RODRIGUES, A.M., DE HOOG, G.S., DE CAMARGO, Z.P.. Genotyping species of the *Sporothrix schenckii* complex by PCR-RFLP of calmodulin. *Diagn Microbiol Infect Dis* 78:383-387, 2014.

RODRIGUES, A.M., DE HOOG, G.S., DE CAMARGO, Z.P..Molecular diagnosis of pathogenic *Sporothrix* species. *PLOS Neg Trop Dis* 9:1-22a, 2015.

RODRIGUES, A.M., NAJAFZADEH, M.J., DE HOOG, G.S., *et al.* Rapid identification of emerging human-pathogenic *Sporothrix* species with rolling circle amplification. *Front Microbiol* 6:1-14b, 2015.

RODRIGUES, A.M., TEIXEIRA, M.M., HOOG, G.S., *et al.* Phylogenetic analysis reveals a high prevalence of *Sporothrix brasiliensis* in feline sporotrichosis outbreaks. *PLoS Negl Trop Dis* 7, e2281, 2013.

ROSSI, C.N., ODAGUIRI, J., LARSSON, C.E.. Retrospective assessment of the treatment of sporotrichosis in cats and dogs using itraconazole. *Acta Sci Vet* 41: 1-5, 2013.

SANCHOTENE, K.O., MADRID, I.M., KLAFKE, G.B., *et al.* *Sporothrix brasiliensis* outbreaks and the rapid emergence of feline sporotrichosis. *Mycoses* 58:652-658, 2015.

SCHUBACH, T.M., SCHUBACH, A., OKAMOTO, T., *et al.* Evaluation of an epidemic of sporotrichosis in cats: 347 cases (1998-2001). *J Am Vet Med Associa.* 224(10):1623-9, 2004.

SCHUBACH, T.M., MENEZES, R.C., WANKE, B.. SPOROTRICHOSIS. IN: GREENE EC. Infectious diseases of the dog and cats. 4th ed. Missouri: Elsevier; 2012. p. 645-650.

SIEW, H.H. The current status of feline sporotrichosis in Malaysia. *Med Mycol J* 58: E107-E113, 2017.

SILVA, G.M., HOWES, J.C.F., LEAL, C.A.S., *et al.*. Surto de esporotricose felina na região metropolitana do Recife [article in portuguese]. *Pesq Vet Bras* 38:1767-1771, 2018.

SILVA, J.N., PASSOS, S.R.L., MENEZES, R.C., *et al.*. Diagnostic accuracy assessment of cytopathological examination of feline sporotrichosis, *Medical Mycology*, 53 (8): 880-884, 2015.

SILVA, J.N., Avaliação da sensibilidade de métodos diagnósticos e da carga fúngica durante o tratamento com itraconazol na esporotricose felina. 2016. 109 f. Tese (Doutorado) UFRGS, Porto Alegre. 2016.

SILVA, J.N., MIRANDA, L.H.M., MENEZES, R.C., *et al.*. Comparison of the sensitivity of three methods for the early diagnosis of sporotrichosis in cats. *Journal Of Comparative Pathology*, 160: 72-78, 2018.

SOUZA, E.W., BORBA, C.M., PEREIRA, S.A., *et al.*. Clinical features, fungal load, coinfections, histological skin changes, and itraconazole treatment response of cats with sporotrichosis caused by *Sporothrix brasiliensis*. *Sci Rep* 8: 9074, 2018.

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*. Oct;43(4):691-697, 2000.

THOMSON, J., TROTT, D.J., MALIK, R., An atypical cause of sporotrichosis in a cat. *Med Mycol Case Rep* 23, 72–76, 2019.

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

WELSH, R.D. Sporotrichosis. *J Am Vet Med Assoc*; **223**: 1123–1126, 2003.

YAMADA, K., ZAITZ, C., FRAMIL, V.M., *et al.*. Cutaneous sporotrichosis treatment with potassium iodide: a 24 year experience in Sao Paulo State, Brazil. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*. 53(2):89-93, 2011.

**ANEXO A - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido****INSTITUIÇÃO: INSTITUTO NACIONAL DE INFECTOLOGIA EVANDRO CHAGAS (INI)/ FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ (Fiocruz)**

Coordenador da Pesquisa: Frederico Ramos Virgílio de Lima

Endereço: Avenida Brasil, 4365 – Manguinhos – Rio de Janeiro / RJ – CEP 21045-900 Telefone (0XX21) 3865-9536 e 3865-9553

**Nome do Projeto:** Esporotricose felina: avaliação da carga fúngica e da viabilidade de *sporothrix* sp ao longo do tratamento antifúngico e sua correlação com a resposta clínica.**Nome do paciente:**\_\_\_\_\_**Prontuário:**\_\_\_\_\_**Nome****do responsável:**\_\_\_\_\_

A esporotricose é uma doença infecciosa causada pelo fungo *Sporothrix* sp. e que acomete homens e animais, incluindo cães e gatos.

Os gatos são animais bastante sensíveis a essa doença e costumam adquiri-la quando vão as ruas e brigam com outros gatos doentes. É uma zoonose, isto é, uma doença que pode ser naturalmente transmissível entre gatos e seres humanos.

Desde 1998, a ocorrência dessa micose em cães, gatos e seres humanos tem aumentado muito na cidade do Rio de Janeiro e arredores.

O presente documento tem o objetivo de esclarecê-lo sobre a pesquisa que será realizada, prestando informações, explicando os procedimentos clínicos, exames laboratoriais, benefícios, inconvenientes e riscos potenciais.

Você está sendo convidado(a) a participar de uma investigação clínica que será realizada no INI/Fiocruz, com o seguinte objetivo:

- Avaliar a carga fúngica e a viabilidade de *Sporothrix* sp. em esporotricose felina durante o tratamento.

A participação de seu animal neste estudo é voluntária e você poderá recusar-se a permitir a participação dele no estudo ou retirá-lo a qualquer instante, bem como está garantido o atendimento de rotina no Laboratório de Pesquisa Clínica em Dermatozoonoses em Animais Domésticos (Lapclin-Dermzoo). O médico veterinário também poderá interromper a participação do seu gato a qualquer momento, se julgar necessário. Para que seu gato participe desse projeto, você deverá comparecer às consultas e autorizar a realização de exames laboratoriais. Serão realizadas fotografias do seu gato em todas as consultas para o acompanhamento do tratamento. Os exames, procedimentos e medicações contra o fungo serão oferecidos de forma gratuita pela Instituição.

Os resultados desse estudo poderão ou não beneficiar diretamente a você e o seu animal, mas no futuro poderão beneficiar outros animais e pessoas com a mesma doença.

Os resultados dessa pesquisa serão publicados, preservando o anonimato e em caso de necessidade, as informações médicas estarão disponíveis para toda a equipe médica veterinária envolvida, para a Comissão de Ética no Uso de Animais da Fiocruz, para autoridades sanitárias e para você.

Você pode e deve fazer todas as perguntas que achar necessárias à equipe de médicos veterinários antes de concordar que seu gato participe dos estudos, assim como durante o tratamento.

#### **Procedimentos, exames e testes que poderão ser utilizados:**

Antes do início do tratamento, serão realizados exame clínico geral e exame dermatológico.

Seu animal será sedado em todas as consultas para coleta de material biológico para acompanhamento do tratamento.

Após o início do tratamento, o animal deverá ser trazido ao Lapclin-Dermzoo a cada 30 dias durante o tempo de estudo, estimado em 4 meses.

Todos os animais incluídos no estudo receberão gratuitamente o itraconazol e/ou iodeto de potássio (a critério do Médico Veterinário), mensalmente. A medicação deverá ser administrada pelo tutor do gato após orientação do médico veterinário. Os animais serão mantidos em acompanhamento clínico e terapêutico no Lapclin-Dermzoo após o término do estudo, caso seja necessário.

**Inconvenientes e riscos principais conhecidos atualmente:**

Todo procedimento anestésico, como é o caso da sedação a ser realizada, pode acarretar risco de morte para qualquer animal. Muito raramente ocorrem reações indesejáveis, entretanto, todas as etapas desse procedimento serão monitoradas adequadamente por equipe médica veterinária.

No caso da biópsia, poderão ocorrer inflamação e infecção por bactérias. Caso isso ocorra, serão receitados os medicamentos apropriados.

A medicação via oral para combater o fungo, pode, em alguns casos, ocasionar efeitos indesejáveis como: falta de apetite, vômito, diarreia e apatia (“tristeza”). Caso isso ocorra com seu animal, você deve entrar em contato com a equipe de médicos veterinários do Lapclin-Dermzoo nos telefones (0XX21) 3865-9536, 3865-9553 e 99216 9778

## ANEXO B – LICENÇA CEUA



Ministério da Saúde  
**FIOCRUZ**  
 Fundação Oswaldo Cruz  
 Vice- Presidência de Pesquisa e  
 Coleções Biológicas



**Comissão de Ética  
 no Uso de Animais**

### LICENÇA

**LW-43/19**

Certificamos que o protocolo (P-18/19-3), intitulado "Esporotricose Felina: Avaliação da Carga Fúngica e da Viabilidade de *Sporothrix* sp ao Longo do Tratamento Antifúngico e Sua Correlação Com a Resposta Clínica", sob a responsabilidade de SANDRO ANTONIO PEREIRA, atende ao disposto na Lei 11794/08, que dispõe sobre o uso científico no uso de animais, inclusive aos princípios da Sociedade Brasileira de Ciência em Animais de Laboratório (SBCAL). A referida licença não exime a observância das Leis e demais exigências legais na vasta legislação nacional.

Esta licença tem validade até 08/08/2021 e inclui o uso total de :

*Felis sylvestris catus*

- 20 Machos, Idade: 20, Peso: 3500,0000 Grama(s).
- 10 Fêmeas, Idade: 10, Peso: 3500,0000 Grama(s).

Rio de Janeiro, 8 de agosto de 2019

Octavio Augusto França Presgrave  
 Coordenador da CEUA

**Etelcia M. Molinaro**  
 Vice - Coordenador  
 CEUA / FIOCRUZ  
 SIAPE: 0463096