



PREFEITURA DA CIDADE DO RIO DE JANEIRO SECRETARIA MUNICIPAL
DE SAÚDE DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO MUNICIPAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, VIGILÂNCIA DE
ZONOSESE DE INSPEÇÃO AGROPECUÁRIA
COORDENADORIA GERAL DE INOVAÇÃO, PROJETOS, PESQUISA E
EDUCAÇÃO SANITÁRIA.

Programa de Residência Profissional em Medicina Veterinária

Raphael Delecrodi Leonardo Pereira

ANÁLISE DA RESISTÊNCIA AO ITRACONAZOL EM AMOSTRAS DE FUNGOS DO
COMPLEXO *Sporothrix schenckii* ISOLADAS DE FELINOS DOMÉSTICOS
ASSISTIDOS NO CENTRO DE MEDICINA VETERINÁRIA JORGE VAITSMAN

Rio De Janeiro
2023

Raphael Delecrodi Leonardo Pereira

**ANÁLISE DA RESISTÊNCIA AO ITRACONAZOL EM AMOSTRAS DE FUNGOS
DO COMPLEXO *Sporothrix schenckii* ISOLADAS DE FELINOS DOMÉSTICOS
ASSISTIDOS NO CENTRO DE MEDICINA VETERINÁRIA JORGE VAITSMAN**

Trabalho de Conclusão de Residência apresentado ao Programa de Residência em Medicina Veterinária como requisito obrigatório para obtenção da Declaração de Conclusão de Residência.

Orientador (a): Cintia Silva dos Santos

Rio de Janeiro
2023

Raphael Delecrodi Leonardo Pereira

**ANÁLISE DA RESISTÊNCIA AO ITRACONAZOL EM AMOSTRAS DE FUNGOS
DO COMPLEXO *Sporothrix schenckii* ISOLADAS DE FELINOS DOMÉSTICOS
ASSISTIDOS NO CENTRO DE MEDICINA VETERINÁRIA JORGE VAITSMAN**

Trabalho de Conclusão de Residência apresentado ao Programa de Residência em Medicina Veterinária como requisito obrigatório para obtenção da Declaração de Conclusão de Residência.

Orientador (a): Cintia Silva dos Santos

Aprovado em: __/__/____

BANCA EXAMINADORA

Dra. Cintia Silva dos Santos
IVISA-Rio

Dra. Liliane Simpson Lourêdo
IVISA-Rio

Dra. Vivian dos Santos Baptista
UFF – Universidade Federal Fluminense

Rio de Janeiro
2023

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer primeiramente à minha família, meu pai, minha mãe e meus irmãos por me apoiarem e me acolherem sempre.

Aos meus amigos, por entenderem os períodos que precisei estar mais ausente e, mesmo assim, estarem ao meu lado.

Ao Centro de Medicina Veterinária Jorge Vaitsman e todo o IVISA/RJ pela oportunidade de fazer parte da equipe por esses dois anos. Foram muitos aprendizados e experiências que moldaram o profissional que estou me tornando.

À minha orientadora, Cintia, por todos os ensinamentos de microbiologia e da vida. Se hoje sou menos interessado na vida alheia e mais focado em aprender em todas as ocasiões possíveis, parabéns, a culpa é sua. Obrigado pelas orientações em todos os horários possíveis e todo o apoio sempre.

À Leticia, por toda a atenção e por sempre se dedicar a ouvir as demandas da nossa turma e por sempre pensar no melhor possível para todos os residentes.

Agradeço aos membros da banca pela disponibilidade de oferecer o conhecimento técnico na avaliação e aprimoramento deste trabalho.

“A incerteza é algo presente, desejável e necessário para a evolução”

Nassim Nicholas Taleb

RESUMO

ANÁLISE DA RESISTÊNCIA AO ITRACONAZOL EM AMOSTRAS DE FUNGOS DO COMPLEXO *SPOROTHRIX SCHENCKII* ISOLADAS DE FELINOS DOMÉSTICOS ASSISTIDOS NO CENTRO DE MEDICINA VETERINÁRIA JORGE VAITSMAN.

As zoonoses são um relevante problema de saúde no Brasil, dada sua elevada casuística, destacando-se a esporotricose em áreas urbanas. A esporotricose é uma micose de distribuição mundial, registrada desde 1998 no Brasil onde, apesar da reconhecida subnotificação, apresenta crescimento contínuo do número de relatos de casos, acometendo milhares de pessoas e felinos anualmente. A doença é causada pelo Complexo *Sporothrix schenckii*, principalmente por *S. brasiliensis*. É considerada hiperepidêmica no estado do Rio de Janeiro, onde os felinos domésticos são os principais transmissores. Dentre as estratégias de enfrentamento desta zoonose, o Centro de Medicina Veterinária Jorge Vaitsman (CJV/IVISA-Rio), no município do Rio de Janeiro, disponibiliza gratuitamente aos responsáveis por animais acometidos, o itraconazol, medicamento utilizado no tratamento. Considerando que: (i) a resistência a antifúngicos vem sendo documentada no Complexo *Sporothrix schenckii*; (ii) o fornecimento de itraconazol tem elevado custo para a rede de saúde pública; (iii) o tratamento de felinos pode levar meses a anos até a completa recuperação; (iv) o mesmo medicamento é utilizado no tratamento de animais e humanos infectados; e (v) a ocorrência da resistência ao itraconazol pode representar a perda da principal ferramenta de enfrentamento da esporotricose, o presente estudo investigou a resistência *in vitro* ao itraconazol, utilizando a técnica de microdiluição, de amostras do complexo *Sporothrix schenckii* isoladas de felinos assistidos pelo CJV/IVISA-Rio. Conforme descrito anteriormente, foram acometidos principalmente felinos machos, adultos jovens, não esterilizados cirurgicamente, domiciliados e com acesso livre à rua, mantidos em ambientes com presença de terra, plantas e gramas. A maioria dos responsáveis relatou ter havido contato prévio do animal com outros suspeitos de esporotricose, sinais cutâneos em todos os animais, com destaque para erosões, úlceras, crostas e prurido de moderado à intenso e sinais sistêmicos em mais da metade dos animais. O tempo de evolução até a busca pelo atendimento foi de 30 a 60 dias para metade dos entrevistados, representando risco de transmissão ambiental e zoonótica. Dentre as 34 amostras isoladas, 13 foram selecionadas para a avaliação da susceptibilidade ao itraconazol, duas delas puderam ser classificadas como resistentes. Não foi possível estabelecer correlação entre aspectos microbiológicos e susceptibilidade ao itraconazol. A técnica de microdiluição em placa permitiu a detecção de cepas resistentes ao itraconazol. A identificação de responsáveis com lesões dérmicas sugestivas de esporotricose reforça a importância de ações de vigilância, controle e orientação quanto ao manejo de animais acometidos e põe em destaque a atuação do médico veterinário como técnico responsável pelo diagnóstico precoce, multiplicação da informação para a prevenção da disseminação da esporotricose e manutenção da saúde ambiental por meio de todas as ferramentas disponíveis, sendo protagonista nas colaborações em prol da Saúde Única.

Palavras Chaves: Zoonose; Complexo *Sporothrix schenckii*; esporotricose; tratamento;

resistência; itraconazol.

LISTA DE GRÁFICOS

Figura 1	Fluxograma das etapas do experimento realizado para a determinação da MIC dos testes positivos para Complexo <i>S. schenckii</i> .	22
Gráfico 1	Distribuição (%) de felinos com esporotricose segundo a faixa etária (n=34).	23
Gráfico 2	Distribuição (%) de felinos com esporotricose segundo sexo e <i>status</i> reprodutivo (n=34)	24
Gráfico 3	Distribuição (%) de felinos com esporotricose segundo <i>status</i> corpóreo (n=34)	24
Gráfico 4	Distribuição (%) de felinos com esporotricose segundo procedência (n=34)	25
Gráfico 5	Distribuição (%) de felinos com esporotricose segundo contato com possíveis fontes de infecção, exceto transmissão por contato com outros animais (n=34)	26
Gráfico 6	Ocorrência (%) de contato prévio com animais suspeitos de esporotricose (n=34)	27
Gráfico 7	Prevalência de sinais cutâneos (%), em felinos com esporotricose assistidos pelo CJV (n=34)	27
Gráfico 8	Distribuição (%) por intensidade de prurido de felinos com esporotricose assistidos pelo CJV (n=21)	28
Gráfico 9	Prevalência de sinais clínicos sistêmicos em felinos com esporotricose assistidos pelo CJV (n=18)	29
Gráfico 10	Ocorrência (%) de contactantes humanos com lesões dérmicas suspeitas de esporotricose (n=34)	29
Gráfico 11	Distribuição (%) de felinos com esporotricose segundo tempo de evolução da doença até a busca do diagnóstico específico (n=34)	30
Gráfico 12	Número de contactantes dos animais positivos para esporotricose. A letra “F” na legenda representa felinos, a letra “C” representa caninos, o número que acompanha a letra representa o número de contactantes do animal em questão (n=34)	31
Gráfico 13	Médias das Concentrações inibitórias mínimas das cepas do Complexo <i>Sporothrix schenckii</i> isoladas de felinos assistidos no CJV, de acordo com os critérios de inclusão e exclusão delineados neste trabalho (n=13).	32

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

BHI	Infusão de Cérebro e Coração
CCZ	Centro de Controle de Zoonoses
CJV	Centro de Medicina Veterinária Jorge Vaitsman
ELISA	Ensaio de Imunoabsorção Enzimático
FAO	Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura
FeLV	Vírus da Leucemia Felina
Fiocruz	Fundação Oswaldo Cruz
FIV	Vírus da Imunodeficiência Felina
IPEC	Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas
ITZ	Itraconazol
IVISA-Rio	Instituto Municipal de Vigilância Sanitária, Vigilância de Zoonoses e de Inspeção Agropecuária do Rio de Janeiro
MIC	Concentração Inibitória Mínima
MOPS	ácido 3-(N-morfolino) propanosulfônico
OIE	Organização Mundial de Saúde Animal
OMS	Organização Mundial de Saúde
RPMI	Roswell Park Memorial Institute
rRNA	Ácido Ribonucleico Ribossômico
SID	1 vez ao dia
UFC	Unidades formadoras de colônia

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	9
2	OBJETIVOS.....	12
2.1	OBJETIVO GERAL.....	12
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	12
3	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	13
4	METODOLOGIA.....	19
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	23
6	CONCLUSÃO.....	34
7	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	36
	APÊNDICE I.....	43
	APÊNDICE II.....	45
	ANEXO I.....	46

1 INTRODUÇÃO

As zoonoses são um problema de saúde pública para o Brasil, que possui uma alta casuística dessas doenças. Dentre elas, destacam-se a Doença de Chagas, raiva, leishmanioses, leptospirose, febre amarela e a esporotricose (SANGUINETTE, 2015).

A esporotricose é uma micose de distribuição mundial e já foi relatada em vários países na América Latina, na África do Sul, Índia e Japão. Na América do Sul, a doença se restringe ao Peru, Brasil, México, Uruguai, Costa Rica, Guatemala, Colômbia e Venezuela (CHAKRABARTI et al., 2015). Devido a essa grande distribuição epidemiológica, evolução taxonômica e diversos surtos, a esporotricose emergiu como infecção fúngica mais prevalente nas últimas duas décadas (ROJAS et al., 2018).

No Brasil, a doença tem sido registrada desde 1998, com crescimento contínuo do número de casos, principalmente envolvendo os felinos domésticos. Nestes animais a doença tem diversas manifestações, desde lesões cutâneas superficiais a infecções sistêmicas fatais (GREMIÃO et al. 2017; LOPES-BEZERRA et al., 2018; GONSALES, 2018).

Em nosso país, a esporotricose é mais frequente em áreas urbanas, estando associada aos fungos do gênero *Sporothrix*, em especial ao *Sporothrix brasiliensis* (RODRIGUES et al. 2014). A principal forma de contágio da esporotricose ocorre por meio da inoculação do agente na pele de forma traumática (arranhadura e mordedura do animal infectado), mas pode acontecer por contato direto com lesões contaminadas e por fômites (GONSALES, 2018).

Além do Brasil, a esporotricose zoonótica já foi notificada na Argentina, Estados Unidos, Índia, Malásia, México e Panamá (GREMIÃO et al., 2017). No Brasil, a doença recebeu *status* epidêmico e, só no estado do Rio de Janeiro, até 2016, foram confirmados mais de quatro mil casos humanos e cinco mil casos em felinos (BARROS et al., 2010; GREMIÃO et al, 2017). Na Argentina, já houveram casos de esporotricose causados pelo *S. brasiliensis*, destacando a relevância do monitoramento da fronteira para evitar a disseminação dessa cepa pela América do Sul (GREMIÃO et al. 2020a). Também já existem relatos de casos de esporotricose causados pelo *S. brasiliensis* em humanos após contato com felino infectado no Reino Unido (BARNACLE et al., 2023)

No Rio de Janeiro, a Fundação Instituto Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), o Centro de Medicina Veterinária Jorge Vaitsman (CJV) e o Centro de Controle de Zoonoses (CCZ) oferecem aos responsáveis por animais tanto o diagnóstico quanto o tratamento gratuito para animais acometidos pela esporotricose. Apesar dessa medida de saúde pública, a interrupção

precoce do tratamento e seu abandono são frequentes, especialmente devido à dificuldade de administração da medicação aos animais e à rápida recuperação clínica a despeito da demora na extinção da infecção (PEREIRA et al., 2014).

O tratamento de eleição é realizado com o itraconazol (ITZ), podendo ou não ser associado a outras medicações. Outras alternativas terapêuticas incluem a crioterapia e a aplicação de anfotericina B intralesional (MADRID et al., 2010; PEREIRA et al., 2010). Estudos *in vitro* demonstraram o aumento da prevalência das infecções por *Sporothrix brasiliensis* cujas amostras revelaram valores elevados de concentração inibitória mínima (MIC) para o ITZ, podendo estar relacionados à resistência ao tratamento (SANCHOTENE et al., 2017; WALLER et al., 2017).

O CJV oferece atendimento direcionado para casos de esporotricose onde, à despeito do tratamento adequado, alguns pacientes apresentam recidiva ou demora na resposta à terapia proposta pelos Médicos Veterinários. Dentre os mecanismos de virulência do *Sporothrix* sp., destaca-se a resistência ao ITZ, que já documentada em diversas localidades, incluindo países da América Latina, como o Brasil, Colômbia, México e Argentina, contudo até o momento não foi estabelecido um protocolo de monitoramento contínuo desta propriedade (FLÓREZ-MUÑOZ et al., 2018; GREMIÃO et al., 2020a; WALLER et al., 2020; PINTO, 2021).

Segundo a Organização Mundial da Saúde Animal (OIE) (2019), cerca de 60% das doenças humanas têm em seu ciclo a participação de animais, portanto, tem caráter zoonótico, assim como 70% das doenças emergentes e reemergentes. Seres humanos sempre dependeram de animais para alimentação, transporte, trabalho e companhia. Entretanto, esses animais podem ser fonte de doenças infecciosas causadas por vírus, bactérias e parasitas, que podem ser transmitidas para a população humana (ZANELLA, 2016; SEIMENIS, 2008)

O conceito de Saúde Única proposto por diversas organizações, como Organização Mundial da Saúde (OMS), Organização Mundial da Saúde Animal (OIE) e Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura (FAO) considera indissolúvel o elo existente entre saúde animal, saúde humana e saúde ambiental, existindo, portanto, estreito vínculo entre o meio ambiente e a saúde de homens e animais (OIE, 2019). Neste sentido, torna-se muito importante o papel do Médico Veterinário como profissional da saúde capaz de atuar de forma significativa para a manutenção da saúde animal e ambiental, através de ações de vigilância sanitária, vigilância ambiental, controle de zoonoses e inspeção agropecuária, refletindo de forma direta na saúde humana (BRASIL, 2016).

As doenças zoonóticas mais conhecidas no Brasil são Doença de Chagas, raiva, leishmanioses, leptospirose, febre amarela, dengue e malária, transmitidas por vetores que convivem com humanos através de sinantropia (SANGUINETTE, 2015). O Brasil tem destaque mundial no número de casos em algumas delas, como é o caso da leishmaniose visceral, onde figura como o terceiro país com maior ocorrência da doença (FURTADO et al., 2015) e apresenta, também, números crescentes de casos de esporotricose.

Considerando que: (i) a resistência a antifúngicos vem sendo documentada entre isolados das diferentes espécies que compõem o Complexo *Sporothrix schenckii*; (ii) que tais espécies podem infectar seres humanos e animais sinantrópicos, possuindo, portanto, potencial zoonótico; (iii) que a epidemia de esporotricose vem acometendo milhares de animais e humanos anualmente no município do Rio de Janeiro e adjacências; (iv) representando uma das mais importantes epidemias de caráter zoonótico nesta região nas duas últimas décadas; (v) que, em nosso país, esta infecção zoonótica vem gradativamente se espalhando por vários estados; (vi) que o tratamento de felinos pode levar meses a anos até que se alcance a completa recuperação; (vii) que muitos tutores abandonam o tratamento antes da cura do animal; (viii) que o mesmo medicamento é utilizado no tratamento de animais e humanos infectados; (ix) que o fornecimento de itraconazol tem elevado custo para a rede de saúde pública; (x) que a ocorrência da resistência ao itraconazol representa a perda da principal ferramenta de enfrentamento da epidemia de esporotricose (tratamento dos animais enfermos, interrompendo o ciclo de transmissão) no nosso município, a investigação e monitoramento da resistência ao itraconazol, principal antifúngico utilizado no tratamento da doença em questão, se justifica e pode contribuir como indicador para a remodelação de estratégias de controle da esporotricose.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Investigar a resistência *in vitro* ao itraconazol de amostras do complexo *Sporothrix schenckii* isoladas no Laboratório de Zoonoses de Bacteriologia e Micologia do Centro de Medicina Veterinária Jorge Vaitsman (CJV).

2.2 Objetivos Específicos

No intuito de alcançar o objetivo geral idealizado foram delineados os seguintes objetivos específicos:

- i. Isolar e identificar amostras do Complexo *Sporothrix schenckii* a partir de materiais encaminhados para análise no Laboratório de Zoonoses I - Bacteriologia e Micologia do CJV/IVISA-RIO;
- ii. Avaliar a resistência das amostras isoladas ao itraconazol (principal agente antimicrobiano indicado para o tratamento das infecções associadas ao Complexo *S. schenckii* em felinos) através de métodos preconizados pelo CLSI;
- iii. Correlacionar características microbiológicas dos isolados e resistência ao itraconazol.

3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

A esporotricose é uma doença cutânea e subcutânea que pode ter caráter subagudo ou crônico, causada por fungos do gênero *Sporothrix*. Este gênero engloba 53 espécies e seis delas estão associadas a casos de esporotricose nas Américas (CHAKRABARTI et al, 2015; RODRIGUES et al, 2020), são elas a *S. schenckii stricto sensu*, *S. brasiliensis*, *S. globosa*, *S. mexicana*, *S. pallida* e *S. luriei* (MARIMON et al., 2006; MARIMON et al., 2007; GREMIÃO et al., 2017). As espécies do gênero *Sporothrix* se encontram distribuídas em vegetações, solos, madeiras, podendo ser encontradas no ambiente de modo geral. À temperatura ambiente (25°C a 28°C), encontram-se em sua forma filamentosa. No entanto, quando associada a um hospedeiro ou em estufa a 37°C, apresentam a forma de leveduras, sendo, portanto, termodimórficos (GREMIÃO et al., 2017). O *Sporothrix brasiliensis* tem recebido destaque como espécie emergente altamente patogênica tanto para gatos quanto para humanos e já foi encontrado no Brasil, Paraguai, Argentina e Chile (ROSSOW et al., 2020; THOMSON et al., 2023).

Por conta da presença no ambiente, originalmente a doença era associada a atividades ocupacionais da lida com plantas e solo, afetando principalmente trabalhadores agrícolas e jardineiros (POWELL et al., 1978; ITOH et al., 1986). Também era atribuída apenas à espécie *S. schenckii*. No entanto, estudos moleculares posteriores provaram que a doença é causada por várias espécies diferentes de fungos do gênero *Sporothrix* e passou a ser chamado de Complexo *Sporothrix schenckii* (MARIMON et al., 2006; 2007; 2008).

A esporotricose teve seu primeiro caso descrito pelo médico Benjamin Schenck, nos EUA em 1898. Nesse caso de esporotricose humana relatado, o paciente de sexo masculino apresentava abcesso em dedo e linfangite nodular no antebraço. O agente da lesão foi isolado e identificado como pertencente ao gênero *Sporothrichum* (SCHENCK, 1898).

O agente *Sporothrix schenckii* recebeu esse nome em 1900, quando Hektoen e Perkins descreveram o segundo caso humano da doença. Esse caso, um paciente jovem do sexo masculino, havia adquirido a doença após lesão com martelo (HEKTOEN; PERKINS, 1900).

Os primeiros casos de esporotricose humana da Europa foram relatados em 1903, na França, por De Beurmann e Ramond. Estes pesquisadores relataram mais de 200 casos no período entre 1903 e 1912, descrevendo as principais formas clínicas e a terapêutica da esporotricose (DE BEURMANN e GOUGEROT, 1912).

O primeiro caso de esporotricose animal no Brasil foi descrito em São Paulo, afetando ratos (*Mus decumanus*), em 1907 (LUTZ e SPLENDORE, 1907). No entanto, primeiro caso

de esporotricose com transmissão a partir de um felino foi relatado nos EUA apenas em 1952 (SINGER e MUNCIE, 1952). No Brasil, o primeiro relato de esporotricose felina foi descrito em 1956, vindo de um felino de Minas Gerais (FREITAS et al., 1956), mesmo sendo uma micose relativamente comum no país desde meados dos anos 1920s (PUPO, 1920; RODRIGUES et al., 2020). No Rio de Janeiro, haviam casos isolados de esporotricose relatados desde meados da década de 1980 (CRUZ et al., 2013), mas apenas em 1998 que houve a primeira descrição de um caso felino (BARONI et al., 1998).

Nas últimas décadas, a transmissão zoonótica envolvendo especialmente felinos domésticos, suplantou a infecção a partir de fômites e materiais contaminados no Brasil (GREMIÃO et al., 2017). Esses animais possuem hábitos relacionados a disputas por territórios e por fêmeas, ocasionando brigas, além de realizarem grandes deslocamentos espaciais, propiciando tanto dispersão quanto inoculação do fungo pelas arranhaduras e mordeduras (SCHUBACH et al., 2013). Muitos gatos também não são castrados e são criados com acesso à rua, o que corrobora para a manutenção desses hábitos (SANTOS et al., 2018).

Os comportamentos dos felinos é um dos fatores que relacionam a espécie à sua importância no ciclo da esporotricose. Outro fator relevante é a alta carga fúngica que as lesões cutâneas em felinos carregam. (PEREIRA et al., 2011; SANTOS et al., 2018). Por esse motivo, mesmo havendo relatos da doença em diversos outros animais como papagaios, camundongos, cachorros e cavalos (RIPPON et al., 1998; LARSSON et al., 2011), o gato é o que possui maior relevância na transmissão zoonótica da doença (SCHUBACH et al., 2013).

Além desses fatores de hábitos felinos, o *S. braziliensis* possui resistência térmica que pode ser um importante mecanismo de adaptação na sua infecção em felinos domésticos, que possuem temperatura corporal em torno de 39°C (RODRIGUES et al., 2013). Esse fator é relevante quando se compara com outras espécies de *Sporothrix* spp., como a *S. globosa*, que tem sensibilidade considerável às temperaturas superiores a 35°C (SCHUBACH et al., 2004; SOUZA et al., 2006; MIRANDA et al., 2018).

Muitos responsáveis por animais com esporotricose, quando conhecem o caráter zoonótico da doença ou mesmo se infectam por ela, acabam abandonando os animais longe de suas residências. Alguns sacrificam seus animais e jogam os corpos em terrenos baldios. Essas atitudes irresponsáveis promovem a disseminação e perpetuação do *Sporothrix* spp. pelo ambiente (BARROS et al., 2011).

Os gatos que são mais envolvidos na cadeia epidemiológica da esporotricose são os

que apresentam hábitos de frequentar a rua, sendo domiciliados ou semi-domiciliados. Gatos machos, principalmente os que não foram castrados, na faixa etária entre 2 a 3 anos e sem raça definida possuem hábitos que os tornam mais expostos à infecção (OTSUKA et al., 2004). Esse perfil de gatos é similar ao encontrado não só no Brasil, mas também na Argentina por exemplo (ETCHECOPAZ et al., 2021).

No Brasil, mais especificamente na região do Rio de Janeiro, foram relatados mais de 4000 casos em humanos (SILVA et al., 2012) e 3804 em gatos registrados pelo Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas (IPEC)/ Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz) apenas no período entre 1998 e 2011 (PEREIRA et al., 2014). A epidemia instalada no Rio de Janeiro reforça o potencial zoonótico da doença, tendo o gato doméstico como principal fonte de infecção (GREMIÃO et al., 2017).

Em felinos, a doença pode iniciar como uma lesão no local de inoculação que pode evoluir para cura espontânea após dias a semanas. A disseminação das lesões pode acontecer quando o próprio hospedeiro se coça e lambe, realizando a autoinoculação e permitindo que o fungo colonize cavidade oral e unhas (SCHUBACH et al., 2001; LARSSON, 2011). A doença pode variar de infecção subclínica, lesões cutâneas únicas ou múltiplas, podendo apresentar formas sistêmicas que afetem, ou não, o sistema respiratório. Tanto a via de transmissão, a espécie do *Sporothrix* spp. envolvida, quanto a resposta imune do felino infectado tem influência na apresentação da doença (OROFINO-COSTA et al., 2017).

A esporotricose, clinicamente, tem como características ser uma reação supurativa granulomatosa. Nos felinos, essas lesões se apresentam principalmente na forma pápulo-nodular ou ulcero-gomosa (KONG et al., 2006; LARSSON, 2011). Com base na localização das lesões, pode-se classificar a apresentação clínica como cutânea, disseminada ou linfocutânea e podem se manifestar como uma lesão única, com resolução espontânea, até formas sistêmicas fatais (SCHUBACH et al., 2004; LARSSON, 2011). Comumente são encontrados sinais extracutâneos respiratórios em gatos. Esses sinais podem se relacionar com resposta prejudicada ao tratamento e piora no quadro geral do animal.

As características histopatológicas das lesões por esporotricose costumam estar relacionadas a um processo inflamatório granulomatoso e piogênico, onde também estão presentes as leveduras do *Sporothrix* spp, como leveduras ovais ou arredondadas e em formato de charuto (MIRANDA et al., 2013; SILVA et al, 2018). Estudos como de Miranda e col. (2013) sugerem que uma resposta imune organizada, com granulomas bem formados e presença de células epitelióides tem relação com um melhor controle na carga fúngica.

A disseminação da doença para outros órgãos internos é rara, mas o pulmão pode ser acometido primariamente (NUNES et al., 2005). Em alguns dos casos pulmonares ou sistêmicos, não há presença nem histórico de lesões perfuro-cortantes. Por conta disso, existe a hipótese de infecção por via respiratória ou por ingestão do fungo (FARIAS et al, 2015).

Não foram encontrados resultados clínicos e laboratoriais significativos da relação entre a infecção pelos retrovírus da imunodeficiência felina (FIV) e com o vírus da leucemia felina (FeLV) com a infecção por *Sporothrix* spp. (SCHUBACH et al, 2004; PEREIRA et al, 2010; GREMIÃO et al., 2015).

O prognóstico da esporotricose é bem variado, dependendo da condição geral do animal, bem como de sinais de afecção do trato respiratório, número, extensão e localização das lesões dérmicas (GREMIÃO et al., 2015, 2020b). É comum o abandono do tratamento (aproximadamente 30% a 40% dos casos) e inconstância na administração da medicação, que leva à casos recorrentes e dificuldade na cura definitiva da doença (SCHUBACH et al., 2004; CHAVES et al., 2013). No caso do abandono, a principal causa é relacionada à cura visual das feridas notadas pelo responsável do animal. Esses dois fatores levam à dificuldade de resolução da doença e, conseqüentemente, maior transmissão e disseminação da micose (GREMIÃO et al., 2020b)

Existem diversos métodos diagnósticos para a esporotricose felina. O padrão ouro segue sendo a cultura, isolamento e identificação do fungo a partir de amostras biológicas, podendo ser feito em ágar Sabouraud Dextrose ou ágar Mycosel à temperatura de 25°C. A partir da cultura, é identificada a forma filamentosa, com colônias pequenas e claras inicialmente que tendem a ficar marrom à marrom escuro entre uma a duas semanas. (OUROFINO-COSTA et al., 2017; ARENAS et al., 2018).

O método mais utilizado para triagem em felinos é a citologia por *imprint* das feridas com coloração pelo corante hematológico do tipo Romanowsky (Panótico Rápido®, Laborclin). Essa técnica possibilita a visualização de estruturas leveduriformes, ovais e alongadas, com formato de charuto. É um bom método de triagem, apresentando sensibilidade de 85% segundo Gremião e col. (2015) e é muito utilizada em áreas endêmicas para a esporotricose felina por conta da alta carga fúngica presente nas feridas desses animais (MORA-MONTES, 2018).

Os métodos de cultura e isolamento junto com o citológico conseguem determinar o gênero ao qual o fungo é pertencente (*Sporothrix*), no entanto, não permite a definição da espécie (MARIMON et al., 2007; RODRIGUES, et al., 2015; LOPES-BEZERRA, et al.,

2018). Devido a elevada similaridade bioquímica, o sequenciamento de regiões do rRNA vem sendo indicada para identificação da espécie envolvida na infecção (RODRIGUES, et al., 2015; LOPES-BEZERRA, et al., 2018). Além das metodologias de isolamento e citologia (que são as utilizadas no CJV), existem pesquisas demonstrando boa eficácia no uso de metodologias de ELISA como diagnóstico e para avaliação da resposta terapêutica dos animais (BAPTISTA et al, 2020)

Tratar a esporotricose felina representa um desafio aos clínicos. Há um número limitado de antifúngicos orais e possuem efeitos adversos, alguns apresentam baixa eficácia e alto custo de tratamento (GREMIÃO et al., 2015). Os antifúngicos frequentemente usados são os azólicos (o itraconazol sendo o mais utilizado) com iodeto de potássio associado ou não (PEREIRA et al., 2010; REIS et al., 2012). Outras opções terapêuticas são a terbinafina, a anfotericina B *in loco*, crioterapia e ressecção cirúrgica (LLORET et al., 2013; ROCHA, 2014). O tratamento dura, em média, entre 4 a 9 meses, além de 2 meses após a cura clínica para diminuir a chance de recidiva (PEREIRA et al., 2010; GREMIÃO et al, 2011, GREMIÃO et al., 2020b).

Atualmente o tratamento mais indicado é com o uso do itraconazol com doses variando entre 100mg por dia para animais acima de 3kg, 50mg por dia para animais entre 1 e 3kg e 25mg por quilo em animais com menos de 1kg por dia (GREMIÃO et al., 2020b). O Instituto Municipal de Vigilância Sanitária, Vigilância de Zoonoses e de Inspeção Agropecuária (IVISA-RIO) da Prefeitura do Rio de Janeiro (2019) possui a Nota Técnica N° 03/2019 que estabelece o tratamento com 100mg/gato/dia para todas as diferentes apresentações da doença, podendo associar com iodeto de potássio em casos de resposta clínica prejudicada. As doses do iodeto de potássio são de 2,5 a 5 mg/kg, administrando em dias alternados na primeira semana e, a partir da segunda semana, diariamente (GREMIÃO et al, 2020b).

Por ser uma doença com longo período de tratamento e pela limitação da quantidade de fármacos que podem ser utilizados, existe a preocupação com o desenvolvimento da resistência do *Sporothrix* sp. ao itraconazol. O mecanismo de desenvolvimento da resistência não está totalmente elucidado, mas supõe-se que esteja relacionado à produção de melanina, à baixa diversidade genética, ao número anormal de cromossomos e às mutações no citocromo P450 (WALLER et al., 2020).

Relatos como o de Nakasu e col. (2020) observaram valores altos de concentrações inibitórias mínimas ($\geq 16\mu\text{g/mL}$) frente ao itraconazol em 58,3% dos isolados no estudo *in*

vitro. Neste mesmo relato, 12 felinos foram atendidos e tratados para esporotricose causada pelo *S. brasiliensis*. O tratamento instituído foi com itraconazol (100mg/gato) associado ao iodeto de potássio (20mg/kg) por três meses, com apenas 1 animal obtendo cura clínica nesse período. Nakasu e col. (2020) realizaram estudos onde compararam a resistência de isolados de *Sporothrix* do período entre 2016 e 2017, com isolados do período compreendido entre 2002 e 2006. Ambos estudos observaram que as cepas mais “recentes” eram menos suscetíveis ao itraconazol quando comparadas com as cepas do período mais antigo.

4 METODOLOGIA

Trata-se de estudo prospectivo de avaliação da resistência de amostras do Complexo *S. schenckii* ao itraconazol *in vitro*, antifúngico rotineiramente utilizado no tratamento de felinos com esporotricose. O estudo foi realizado no Laboratório de Zoonoses I - Bacteriologia e Micologia do Centro Municipal de Medicina Veterinária Jorge Vaitsman, da Prefeitura do Rio de Janeiro. Aprovação ética foi obtida pelo Comitê de Ética da Secretaria Municipal de Saúde do Rio de Janeiro (Parecer número: 5.788.933), em 04/11/2022 (Anexo I). Os responsáveis pelos felinos foram informados e instruídos sobre a pesquisa e todos participantes assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) (Apêndice I).

Coorte estudada - A coorte estudada foi composta de felinos (*Felis catus domesticus*), de idades, sexos, raças e portes diversos, portadores ou não de comorbidades, assistidos pelo serviço de Clínica do CJV/IVISA-Rio no período de 03 de janeiro e 28 de fevereiro de 2023, que, após consulta clínica, foram encaminhados ao Laboratório de Zoonoses do CJV/IVISA-Rio para coleta de amostras para diagnóstico de esporotricose. A obtenção das amostras foi realizada após o preenchimento do TCLE (Apêndice I) pelos responsáveis pelos animais e da realização de entrevista para captação de informações pelo autor que foram sumarizadas na Ficha de Registro de Entrevista (Apêndice II) para posterior análise. As amostras para pesquisa de esporotricose foram coletadas no Laboratório de Zoonoses I, como parte da rotina de diagnóstico e assistência clínico-laboratorial do CJV/IVISA-RIO.

Critérios de Inclusão – Participaram do estudo, unicamente, animais assistidos pelos veterinários de Setor de Clínica encaminhados para realização de diagnóstico de esporotricose, que não possuíam histórico de tratamento anterior utilizando os componentes base do antifúngico testado neste trabalho, mediante a autorização expressa do uso dos isolados fúngicos pelo tutor através da assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Apêndice I). Os isolados foram identificados como pertencentes ao Complexo *Sporothrix schenckii* através de análises macro e micro-morfológicas, na rotina de diagnóstico de esporotricose do Laboratório de Zoonoses I – Bacteriologia e Micologia.

Critérios de Exclusão – Não participaram da pesquisa animais (a) que apresentaram infecção recorrente pelo Complexo *Sporothrix*, (b) que haviam iniciado e abandonado tratamento de lesões dérmicas ou otológicas com antifúngicos, (c) que estavam fazendo uso de antifúngicos na data ou anteriormente à coleta, (d) animais que haviam recebido tratamento local com agentes antimicrobianos, crioterapia e/ou fitoterápicos, (e) cujos tutores não

autorizaram expressamente (através do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, Apêndice I) a utilização dos isolados na pesquisa.

Isolamento e identificação das amostras – As culturas foram realizadas a partir de amostras de exudato de feridas coletadas com uso de swab estéril de algodão hidrófilo por rolamento. Os swabs, devidamente identificados, foram usados para semeadura em Ágar Sabouraud com 4% de dextrose e Ágar Mycosel, seguida de incubação a temperatura ambiente (24-26°C) por até duas semanas (MACÊDO-SALES et al., 2018). Dentre as colônias desenvolvidas no meio de cultivo, aquelas consideradas suspeitas (morfologia colonial compatível com o Complexo *Sporothrix*) foram recolhidas para análise microscópica da morfologia, entre lâmina e lamínula, na presença de Lactofenol Azul de Algodão (BARROS et al., 2011). Foram consideradas positivas as amostras que revelaram crescimento fúngico com morfologia macro e microscópica compatível com as espécies que compõem o Complexo *Sporothrix schenckii* (*S. brasiliensis*, *S. schenckii*, *S. mexicana*, *S. globosa*, *S. albicans* e *S. luria*).

Caracterização fenotípica dos isolados – A caracterização abrangeu a análise da morfologia colonial, de aspectos morfo-tintoriais (micromorfologia sob coloração com Azul de Algodão), detecção de dimorfismo, análise da termotolerância e produção de fenoxidase (HOOG et al., 2001).

Determinação das Concentrações Inibitórias Mínimas – Para o teste de suscetibilidade, foram obtidas a forma de levedura do fungo e o estudo para determinar a concentração inibitória mínima (MIC) foi realizado de acordo com o documento M27-A3 (CLSI, 2008) com adequações mínimas.

Cultivos de leveduras – O cultivo leveduriforme do fungo foi obtido por duas passagens sucessivas em ágar *brain heart infusion* (BHI ágar) e incubação por 7 dias, a 35-37°C (SANCHOTENE et al., 2017).

Preparo do meio RPMI 1640 tamponado – Os inóculos foram preparados a partir da suspensão de cultivos leveduriformes em meio de cultivo celular Roswell Park Memorial Institute (RPMI) 1640. O pó foi diluído seguindo as orientações do fabricante e tamponado com o ácido 3-[N-morfolino] propanosulfônico (MOPS) em pH 7. A solução foi esterilizada por filtração em membrana de 0,22 µm, para preservação dos açúcares do meio. Foi adicionado Glicose 2% ao meio (BORBA-SANTOS et al., 2014).

Preparo do inóculo de leveduras - Após a incubação, as culturas foram recuperadas

com alças estéreis e adicionadas à solução salina estéril (0,85%). A solução foi homogeneizada por agitação e analisada em espectrofotômetro ao comprimento de onda 530nm a uma absorvância de 80-82%. Posteriormente, essa solução foi diluída em duas etapas no meio RPMI 1640 tamponado nas proporções de 1:50, na primeira, e de 1:20 na segunda para obtenção de $1,0 \times 10^3$ a $5,0 \times 10^2$ unidades formadoras de colônias (UFC)/mL. Os inóculos finais eram compostos de $0,5 \times 10^3$ a $2,5 \times 10^2$ UFC/mL (MEINERZ et al., 2010; PINTO, 2021).

Preparo da solução de itraconazol - A solução de itraconazol foi diluída em dimetilsulfóxido (DMSO) na concentração de 32 µg/mL como solução estoque. No ensaio de susceptibilidade foi realizada diluição seriada na base 2 a partir da solução estoque para obtenção de concentrações de desafio variando entre 16 µg/mL e 0,125 µg/mL.

Determinação da MIC - A determinação da MIC foi realizada em microplacas de 96 poços de fundo chato para ELISA. Foram adicionados 100 µL do meio RPMI 1640 tamponado em cada poço e 100 µL da solução estoque de itraconazol (32µg/mL) adicionado no poço referente à maior concentração de itraconazol e realizada diluição sequencial nos poços até a concentração de 0,125 µg/mL. Posteriormente, foram adicionados os inóculos de leveduras previamente preparados. Alguns poços foram reservados para os controles negativo (RPMI 1640) e positivo (RPMI 1640 com inóculo de levedura, sem antifúngico). A determinação da MIC foi feita após a incubação das placas em estufa a 37°C por 5 dias (SANCHOTENE et al., 2017). A concentração mínima observada de acordo com o crescimento ou não do fungo por análise visual de cada poço em comparação com os controles positivo e negativo, com turvação do meio quando houver crescimento fúngico. Esse trabalho seguirá o valor de corte proposto no documento M27-A3 (CLSI, 2008) onde isolados com $MIC \leq 2$ µg/mL são classificados como sensíveis e isolados com $MIC \geq 4$ µg/mL, como resistentes ao itraconazol.

Análise estatística dos dados – Cada ensaio foi realizado em triplicata em, pelo menos, três experimentos independentes. Os resultados das MIC's foram analisados e tratados estatisticamente através de programa estatístico Prisma (GraphpadPrism version 5.0) com intervalo de confiança de 95%.

O Fluxograma (Figura 1) abaixo apresenta as principais etapas da metodologia na ordem em que ocorrem.

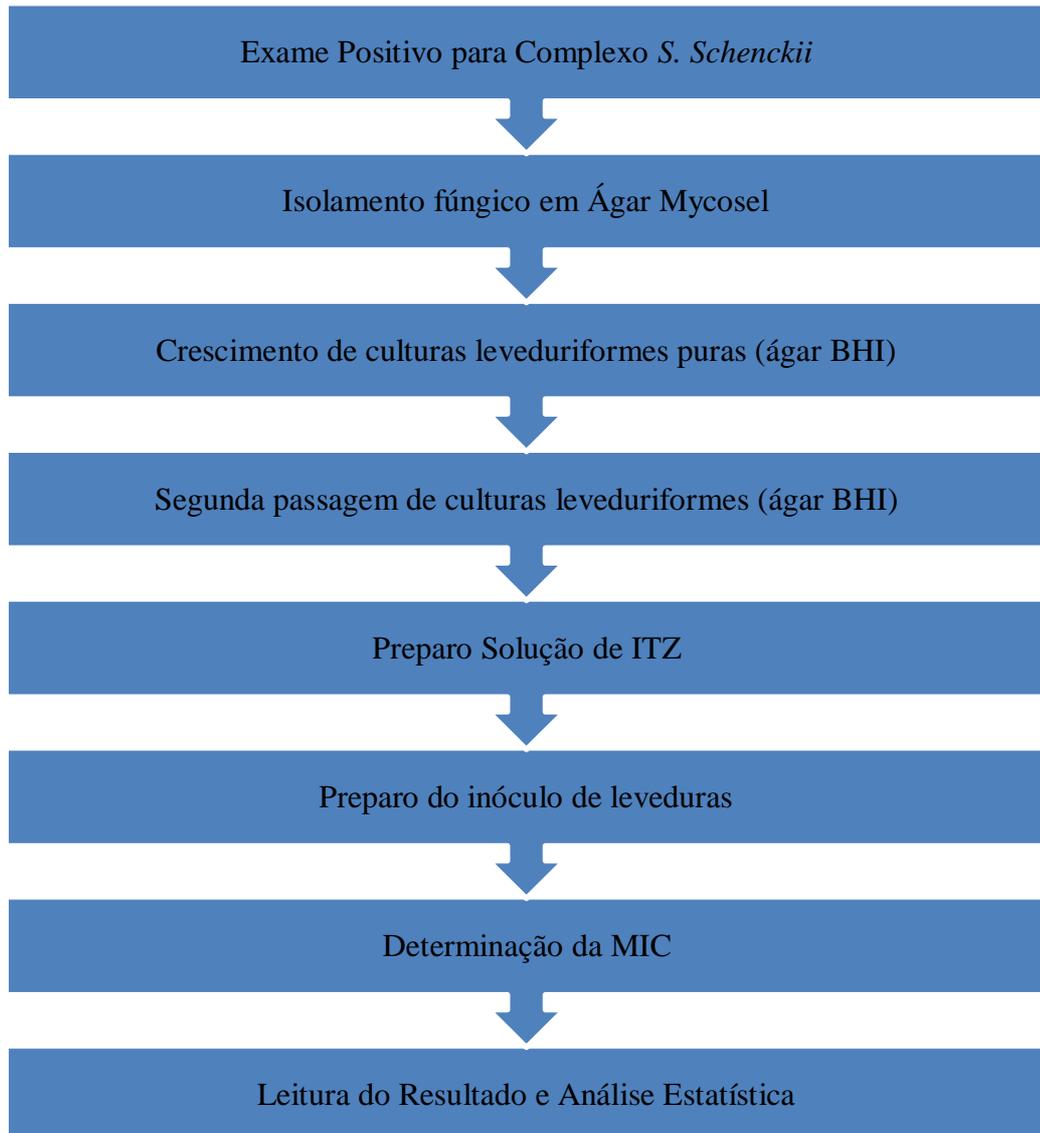


Figura 1. Fluxograma das etapas do experimento realizado para a determinação da MIC dos testes positivos para Complexo *S. schenckii*. **Fonte:** O Autor (2023).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Inicialmente foram coletadas amostras para exame de 62 felinos com suspeita clínica de esporotricose, que apresentavam lesões dérmicas diversas e/ou sinais de infecção sistêmica, encaminhados pelo Serviço de Atendimento Clínico do Centro Jorge Vaitsman para diagnóstico laboratorial, no período de 03 de janeiro a 28 de fevereiro de 2023. Dentre esses, 34 (54,8%) permitiram o isolamento de cepas do Complexo *Sporothrix schenckii*. Macêdo-Sales e col. (2018) obtiveram percentual semelhante ao nosso no isolamento por cultura micológica (49,5%), resultado que pode refletir a rotina no diagnóstico de esporotricose em clínicas e consultórios veterinários.

As idades que compõem a coorte estudada variaram desde 4 meses até 8 anos (em muitos casos não foi possível precisar a idade, principalmente para animais resgatados). A média das idades foi de 2,3 anos. Os felinos foram agrupados por faixa etária sendo o grupo dos adultos (entre 2 e 7 anos) o mais representativo (58,8%), seguido do grupo dos filhotes (até 1 ano) (38,2 %). Os idosos (acima de 7 anos) representaram apenas 3,0% do universo amostral. A maior parte da amostra tendo idade entre 2 e 7 anos é compatível com achados como de Macêdo-Sales e col (2018), onde a idade média da população acometida era de 3,75 anos, com desvio padrão igual a 3,1 anos.



Gráfico 1. Distribuição (%) de felinos com esporotricose segundo a faixa etária (n=34). **Fonte:** O Autor (2023).

Dos animais participantes, 25 (73,5%) eram machos e apenas 9 (26,5%) fêmeas, sendo 40,0% destes esterilizados cirurgicamente. Conforme descrito anteriormente, a maior frequência de casos confirmados foi de felinos machos inteiros (BOECHAT et al., 2018; PEREIRA et al., 2014). A elevada prevalência da doença entre animais esterilizados cirurgicamente parece ter relação com o número amostral relativamente baixo e o elevado

número de animais da amostra que tinham como contactantes outros animais com esporotricose previamente diagnosticados ou animais com feridas suspeitas, conforme informação dos responsáveis.

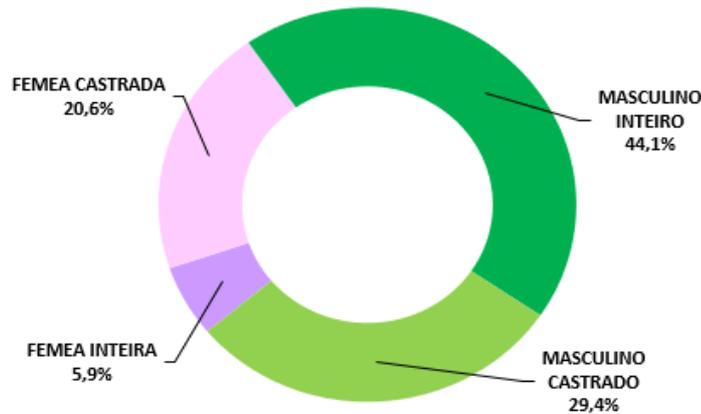


Gráfico 2. Distribuição (%) de felinos com esporotricose segundo sexo e *status* reprodutivo (n=34). **Fonte:** O Autor (2023).

Quanto ao *status* corpóreo, os felinos foram divididos em 5 classes (1 – muito magro; 2 – magro; 3 – ideal; 4 – sobrepeso e 5 – obeso). A maioria dos animais (85,2 %) apresentou *status* corpóreo ideal ou acima do peso. Não foi possível estabelecer uma correlação entre *status* corpóreo, sexo, faixa etária e tempo de evolução da doença. Embora o *status* corpóreo não esteja diretamente relacionado ao tempo de evolução da doença, foi anteriormente descrito que felinos com boa condição geral de saúde estão mais propensos a um prognóstico positivo (SCHUBACH et al., 2012; GREMIÃO et al., 2014).

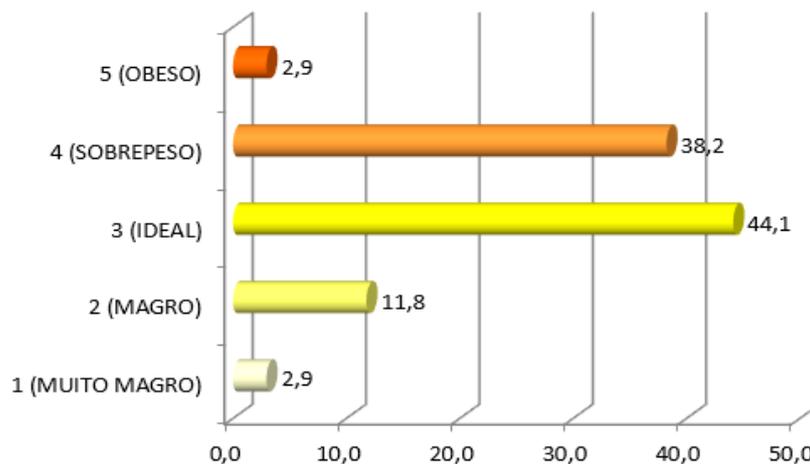


Gráfico 3. Distribuição (%) de felinos com esporotricose segundo *status* corpóreo (n=34). **Fonte:** O Autor (2023).

Quanto à procedência os felinos foram classificados como: adotados (rua) (4/34, 11,8%), casa com acesso à rua (22/34, 64,7%), casa sem acesso à rua (3/34, 8,8%), apartamento (1/34, 2,9%), gatil (4/34, 11,8%). A maioria dos animais tinham livre acesso à rua (22/34, 64,7%), foi adotado da rua (4/34, 11,8%), ou teve contato com animais com lesões suspeitas (6/34, 17,6%). Destes, apenas dois (2/34, 5,9%) animais não tiveram acesso à rua, nem à felinos com lesões suspeitas, mas se tratavam de casos de recidiva ou tratamento longo por erro de manejo (responsável relatou doença com cerca de 2 anos de evolução). A irregularidade na administração do tratamento prejudica a cura do animal (SCHUBACH et al, 2004; CHAVES et al., 2013) e permite a disseminação do fungo pelo ambiente, para outros animais e humanos contactantes.

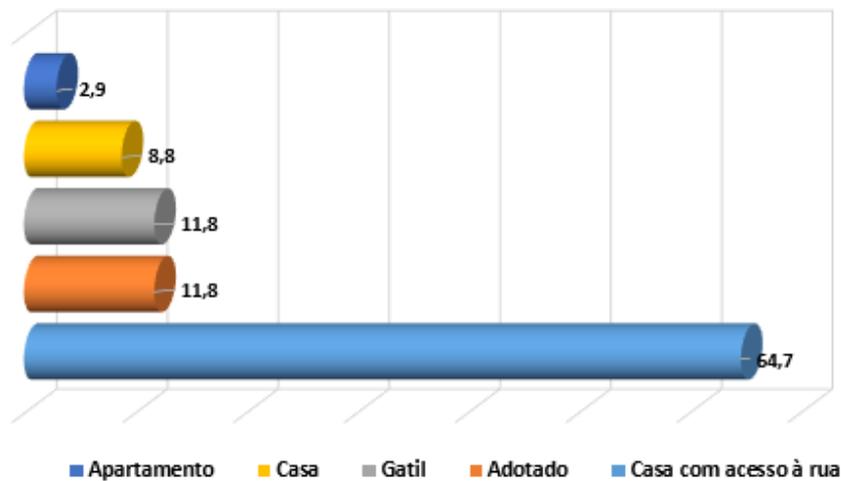


Gráfico 4. Distribuição (%) de felinos com esporotricose segundo procedência (n=34). **Fonte:** O Autor (2023).

O acesso à rua e contato com animais com suspeita de esporotricose são condições que permitem o contato com o agente etiológico e, como consequência, o desenvolvimento da doença (SANTOS et al., 2018). O hábito de acessar a rua favorece que animais tenham comportamentos de risco, como brigas por território, por fêmeas e, por meio das mordeduras e arranhaduras, tornar-se transmissor ou portador do *Sporothrix* spp. (LARSSON et al., 1989; SCHUBACH et al., 2001). Todos os animais do estudo são oriundos da zona urbana, provenientes da cidade do Rio de Janeiro, este fato parece estar relacionado a facilidade de acesso dos responsáveis dessas áreas ao serviço de Atendimento Clínico no CJV/IVISA-RIO. A respeito da concentração dos animais nas áreas urbanas, os mesmos podem ser expostos a fontes diversas do agente etiológico, incluindo coleções de terra, áreas gramadas, plantas mantidas em jardins, vasos e jardineiras, troncos de árvores mortas em decomposição,

materiais inservíveis de madeira, tecidos, papel, onde o fungo encontra condições ideais para sua manutenção (ALMEIDA et al., 2018; GONÇALVES et al, 2019).

Os fungos do gênero *Sporothrix* são geofílicos e podem permanecer no ambiente em sua forma filamentosa, produzindo conídios abundantemente (GREMIÃO et al, 2017). Para investigar possíveis fontes de contaminação para os felinos, além da transmissão animal-animal, os responsáveis foram inquiridos a respeito do possível contato dos felinos com fontes ambientais do patógeno e, desta forma verificamos que dentre os felinos estudados, 26 (76,5%) tiveram acesso à terra, grama ou plantas, podendo adquirir a infecção e/ou depositar fungos nesses ambientes e contaminá-los. Adicionalmente, 2 (5,8%) responsáveis afirmaram que os animais não tinham acesso à terra ou plantas, mas tinham livre acesso à rua, onde esse contato pode ocorrer embora não seja presenciado pelo responsável.

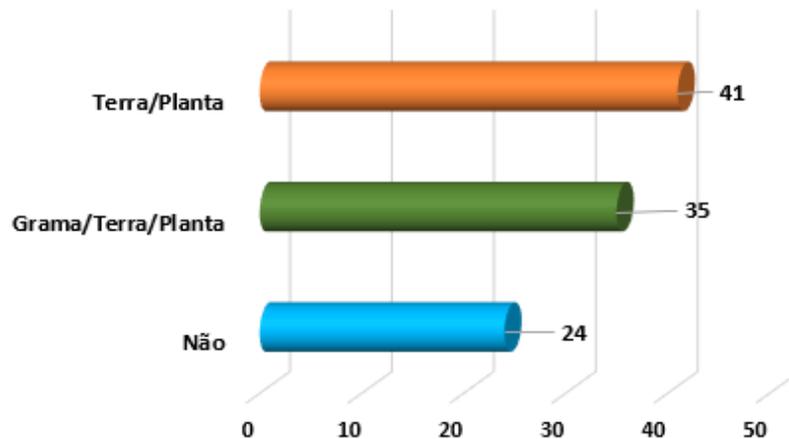


Gráfico 5. Distribuição (%) de felinos com esporotricose segundo contato com possíveis fontes de infecção, exceto transmissão por contato com outros animais (n=34). **Fonte:** O Autor (2023).

No intuito de verificar a provável fonte de infecção dos animais estudados inquerimos os responsáveis sobre a ocorrência de exposição da coorte a animais suspeitos e/ou confirmados com esporotricose, independentemente da ocorrência de agressões entre os animais. A transmissão por contato, mordida, arranhadura, lambedura de feridas, troca de secreções corpóreas foi documentada anteriormente como a forma predominante em nossa região (BARROS et al., 2010). Conforme esperado, a maioria (55,9%) dos responsáveis informou que houve tal contato prévio, contudo o percentual de responsáveis que relatou não ter havido contato prévio ainda foi muito elevado (44,1%), este fato pode estar relacionado a questões culturais, onde o responsável acredita que os felinos precisam “passear pela rua” como parte de sua rotina e não reconhecem os riscos associados a esta prática, inclusive o

risco de interação com felinos portadores e/ou doentes com esporotricose e outras entidades infectocontagiosas (MACHADO et al, 2019).

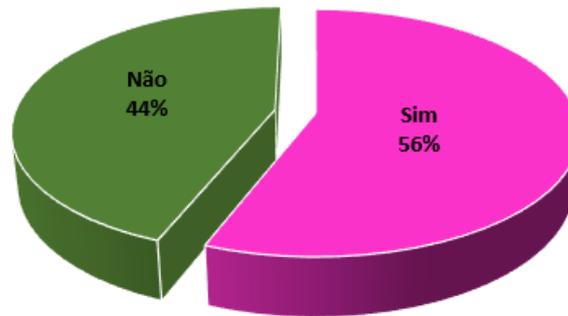


Gráfico 6. Ocorrência (%) de contato prévio com animais suspeitos de esporotricose (n=34). **Fonte:** O Autor (2023).

As infecções pelo Complexo *Sporothrix schenckii* em felinos se apresentam de forma diversa com uma ampla variedade de sinais clínicos locais e sistêmicos que podem se acumular ao longo do tempo (SCHUBACH et al., 2004; PEREIRA et al., 2015; GREMIÃO et al., 2020b). No intuito de caracterizar as infecções que ocorrem em nossa região relacionamos os sinais clínicos prevalentes na coorte de estudo.

Todos os animais infectados apresentaram, pelo menos, um sinal clínico cutâneo. Os principais sinais clínicos cutâneos dos animais relatados pelos responsáveis foram erosões e úlceras, estando presentes em 29 (85,3%) dos animais, seguidos da apresentação de crostas (67,7%) e prurido (61,8%). Apenas 5,9% dos animais apresentaram tumefação em plano nasal e 2,9% apresentou eritema.

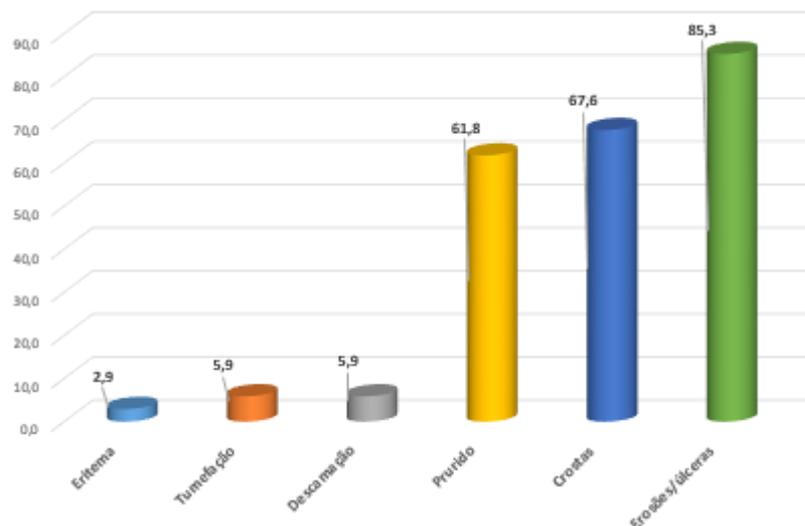


Gráfico 7. Prevalência de sinais cutâneos (%), em felinos com esporotricose assistidos pelo CJV (n=34). **Fonte:** O Autor (2023).

Ocupando o terceiro lugar entre os sinais cutâneos mais prevalentes, o prurido pode ser classificado quanto a sua intensidade e pode colaborar para o diagnóstico diferencial na comparação com outras dermatopatias que acometem os felinos, além de sugerir a presença de infecções oportunistas e de processos inflamatórios e/ou autoimunes (MARSELLA, 2021). Adicionalmente a ocorrência de prurido pode contribuir para a autoinoculação, amplificando as áreas de infecção além de facilitar o acesso aos tecidos subjacentes para patógenos diversos que podem atuar como oportunistas e comprometer o sucesso do tratamento (SCHUBACH et al., 2012; LLORET et al, 2013). O aumento das áreas lesionadas decorrente de automutilação também pode facilitar a transmissão zoonótica da esporotricose.

Dentre os animais que apresentaram prurido, mais da metade apresentou intensidade moderada à elevada de prurido. Cerca de 20,6% apresentaram elevada intensidade, 38,1% intensidade moderada e 28,6% apresentaram prurido discreto.

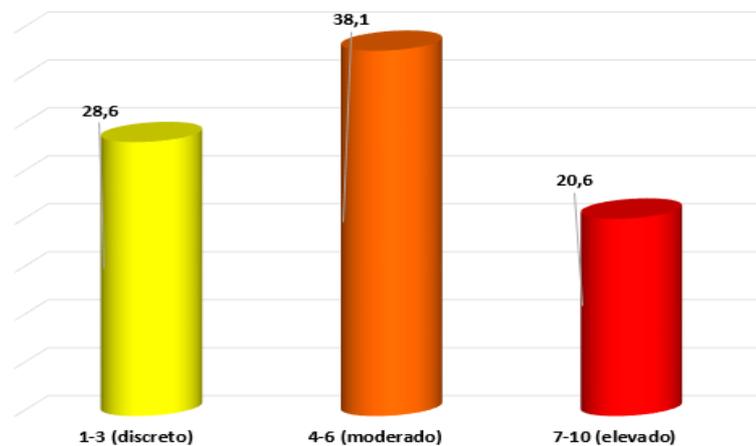


Gráfico 8. Distribuição (%) por intensidade de prurido de felinos com esporotricose assistidos pelo CJV (n=21).
Fonte: O Autor (2023).

Quanto à prevalência de sinais sistêmicos de infecção, mais da metade dos felinos infectados (52,9%) apresentou algum sinal, tendo 27,8% da população apresentado mais de um sinal. Dentre os sinais sistêmicos, os mais prevalentes foram os espirros (72,2%) e a apatia (22,2%); também foram observados dificuldade respiratória (11,1%), hiporexia (11,1%), perda de peso e secreção nasal (5,6%). Embora seja uma doença predominantemente cutânea ou subcutânea (RODRIGUES et al, 2020), observou-se que a maior parte da nossa coorte apresentou sinais clínicos que pode remeter a quadros sistêmicos, mais graves, da doença (OROFINO-COSTA et al., 2017).

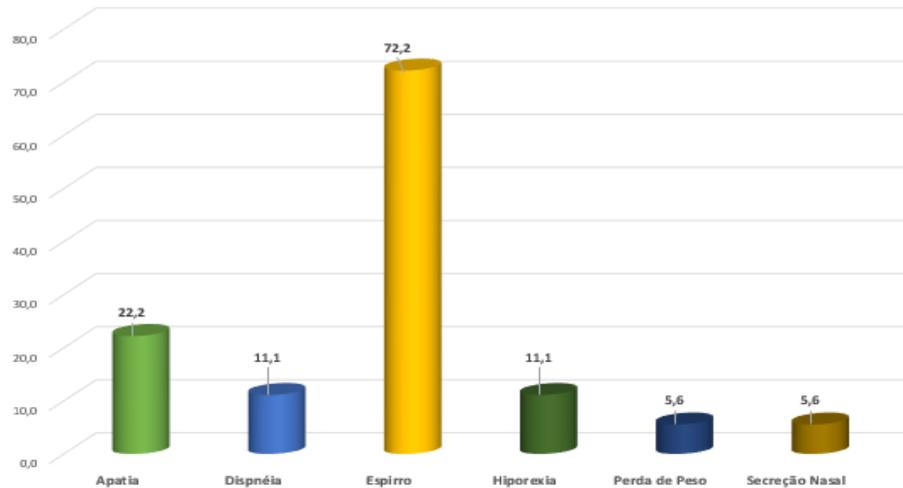


Gráfico 9. Prevalência de sinais clínicos sistêmicos em felinos com esporotricose assistidos pelo CJV (n=18).
Fonte: O Autor (2023).

A esporotricose emergiu como infecção fúngica com potencial zoonótico mais prevalente em felinos na América do Sul nas últimas duas décadas (ROJAS et al., 2018). Por conta do potencial zoonótico da esporotricose, inquiremos os responsáveis sobre a presença de feridas e lesões dérmicas em pessoas que tinham contato com os animais doentes. Dentre os 34 responsáveis, 5 (14,7%) deles relataram ou possuir lesões ou pessoas próximas ao felino com lesões, dado que reforça a importância da zoonose e vigilância da resistência do *Sporothrix* spp. aos medicamentos mais comumente utilizados no tratamento. Todos os responsáveis com lesões foram orientados a procurar o serviço de saúde para obtenção do diagnóstico e tratamento.

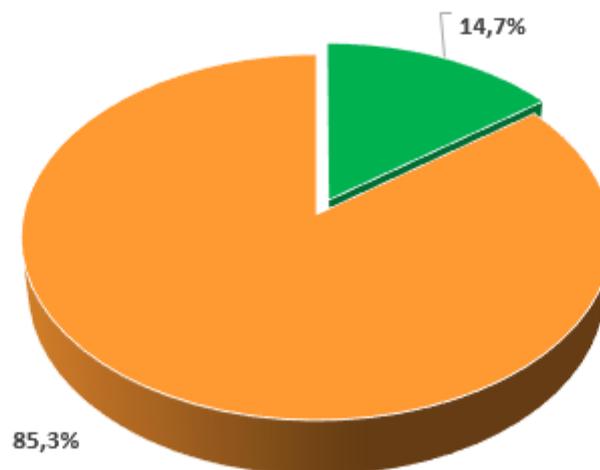


Gráfico 10. Ocorrência (%) de contactantes humanos com lesões dérmicas suspeitas de esporotricose (n=34).
Fonte: O Autor (2023).

A esporotricose é uma doença com característica subaguda ou crônica (RODRIGUES et al., 2020), e a doença tem a formação de úlceras e erosões como principais manifestações clínicas (OROFINO-COSTA et al., 2017), também observado na amostra analisada no presente trabalho (85,3% dos felinos apresentaram úlceras ou erosões como lesões cutâneas). Por conta dessas características, muitos responsáveis pelos animais relataram acreditar que o início das manifestações clínicas da esporotricose com um trauma comum e postergar o tratamento específico para a doença. Menos de um terço (29,4%) dos responsáveis informou ter buscado o serviço veterinário para diagnóstico de seus animais em menos de 20 dias de evolução da doença, e metade (50,0%) demoraram de 30 a 60 dias para levar o felino à consulta para diagnóstico para esporotricose (17,6%). Vale ressaltar que, neste período de tempo, a contaminação dos ambientes e a interação com outros animais e com humanos favoreceu a perpetuação do fungo e a transmissão zoonótica da infecção (ROSSOW et al., 2020; FRANKLIN et al., 2022).

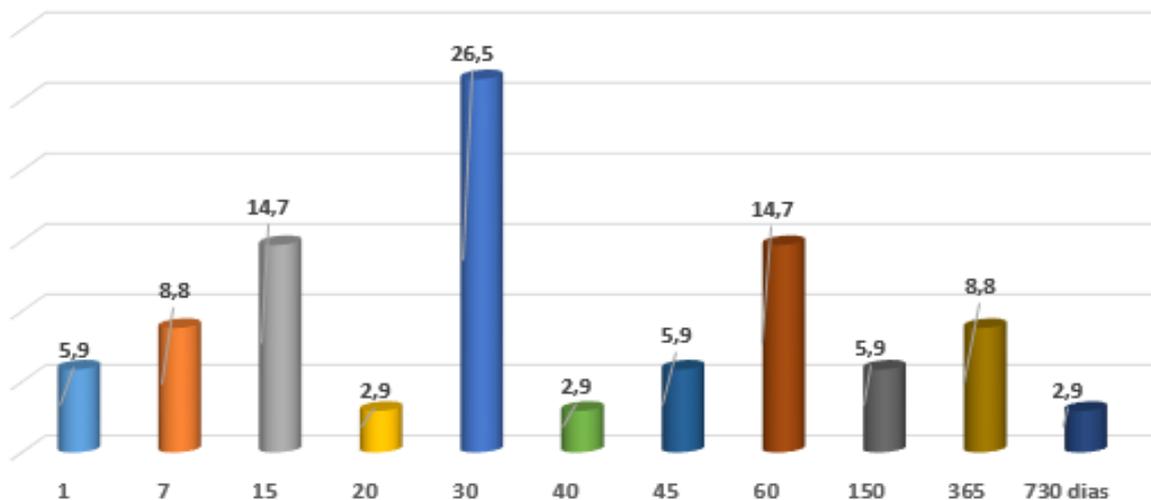


Gráfico 11. Distribuição (%) de felinos com esporotricose segundo tempo de evolução da doença até a busca do diagnóstico específico (n=34). **Fonte:** O Autor (2023).

No intuito de compreender melhor o risco de transmissão representado pelos animais da coorte estudada, inquerimos os responsáveis sobre o número de animais que compartilham ambientes com os felinos infectados, os resultados estão apresentados no Gráfico 12. Apesar do caráter infectocontagioso da esporotricose, a grande maioria dos felinos infectados (94,1%) foi registrada como tendo contato com outros animais. Quase um terço dos animais (26,5%) compartilhou ambientes e/ou teve contato direto com 10 ou mais animais, representando elevado risco de transmissão, especialmente no caso de animais com livre

acesso à rua, onde, além dos ambientes controlados pelo responsável, o animal tem acesso a casas de vizinhos e ambientes de uso comum.

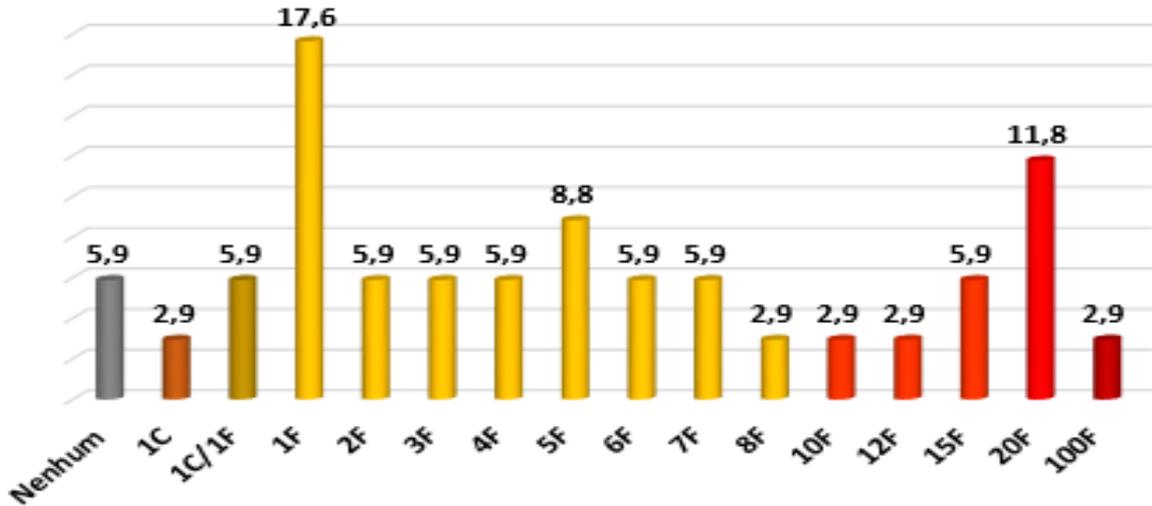


Gráfico 12. Número de contactantes dos animais positivos para esporotricose. A letra “F” na legenda representa felinos, a letra “C” representa caninos, o número que acompanha a letra representa o número de contactantes do animal em questão (n=34). **Fonte:** O Autor (2023).

Teste de susceptibilidade

Uma vez aplicados os critérios de inclusão e exclusão, dentre as amostras que permitiram o isolamento de cepas do Complexo *Sporothrix schenckii* (n=34), foram selecionados 13 isolados para a avaliação da susceptibilidade ao itraconazol através de ensaios de microdiluição, desta forma foram determinadas as Concentrações Inibitórias Mínimas (MICs). Os resultados das MICs obtidas seguem apresentadas no gráfico 13.

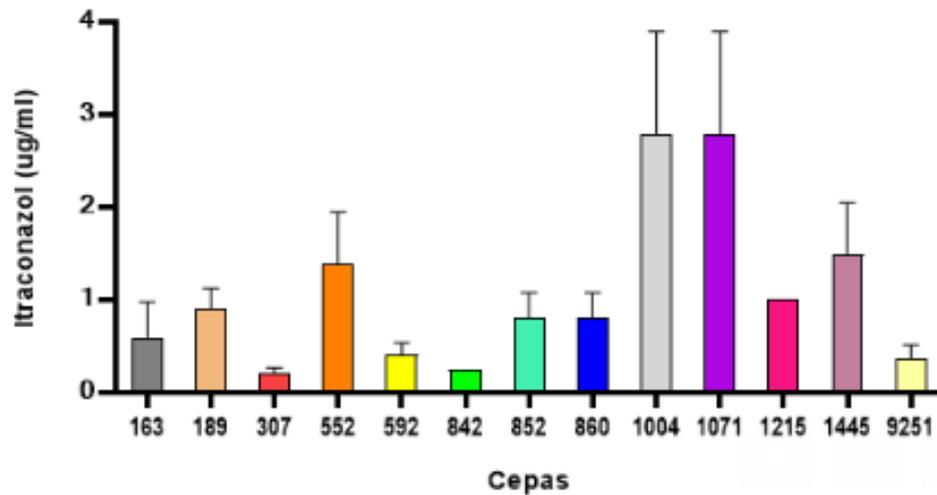


Gráfico 13. Médias das concentrações inibitórias mínimas das cepas do Complexo *Sporothrix schenckii* isoladas de felinos assistidos no CJV, de acordo com os critérios de inclusão e exclusão delineados neste trabalho (n=13). **Fonte:** O Autor (2023).

A avaliação da resistência ao itraconazol (ITZ) por cepas do Complexo *Sporothrix schenckii* seguiu o proposto no protocolo CSLI M27-A3 (2008), que sugere a classificação dos isolados como resistentes quando apresentam valores de MIC maiores ou iguais à 4µg/mL em ensaios de microdiluição e, como sensíveis quando apresentam valores de MIC menores ou iguais à 2µg/mL.

Dentre as amostras analisadas, apenas as cepas 1004 e 1071 (15,1%) apresentaram valores de MIC iguais a 4µg/mL (6 em 9 das réplicas). Nenhuma cepa apresentou valores superiores à 4µg/mL em quaisquer réplicas. Nossos resultados corroboram com os achados de Sanchotene e col. (2017), que observou cerca de 14,2% das amostras resistentes ao ITZ em amostras clínicas de felinos assistidos pelo Laboratório de Micologia da UFRG. Tais percentuais de resistência são baixos quando comparados com os relatos de Borba-Santos e col. (2014), que observaram 28,1% dos isolados com MIC igual ou superior à 4µg/mL e por Pinto (2021), onde todos os isolados foram classificados como resistentes. Esses autores também elegeram a microdiluição com inóculo de formas leveduriformes como metodologia de avaliação da susceptibilidade ao itraconazol. As diferenças observadas entre os resultados pode ser devido aos critérios de inclusão/exclusão delineados para nosso trabalho, onde somente animais cujos responsáveis podiam afirmar que não houve infecção anterior pelo *Sporothrix* e/ou tratamento com itraconazol para esta ou outra enfermidade foram selecionados.

Até o momento não foi estabelecido um ponto de corte epidemiológico da resistência para a forma leveduriforme do Complexo *Sporothrix schenckii* especificamente. Para a forma filamentosa, Espinel-Ingroff e col. (2017) propôs a concentração de itraconazol de 2,0 µg/mL como ponto de corte epidemiológico para *S. schenckii* e *S. brasiliensis*.

Cabe ressaltar que, de acordo com os achados de Waller e col. (2020) e Borba-Santos e col. (2014), existe a possibilidade de aumento da ocorrência de cepas do Complexo *S. schenckii* resistentes ao tratamento ao longo do tempo, uma vez que a coorte contemplou isolados obtidos em longos períodos (superiores a 7 anos).

De acordo com o esperado, no primeiro estudo citado, todas as cepas que apresentaram resistência foram obtidas no corte temporal mais recente do estudo (entre os anos de 2012 e 2013), sendo que as amostras foram coletadas no período entre 2005 e 2013. No segundo estudo, foram comparadas as MICs de amostras obtidas em anos anteriores a 2004 e 2011-2012, com as amostras do segundo grupo apresentando valores de MIC, geralmente, maiores que as amostras do primeiro grupo para todos os antifúngicos testados no trabalho.

Adicionalmente, Nakasu e col. (2020) relataram também que amostras obtidas entre 2016-2017 foram menos susceptíveis ao itraconazol que amostras antigas analisadas de casos entre 2002-2006. Por esse motivo, mesmo tendo sido evidenciadas apenas duas amostras resistentes, novos ensaios, dando continuidade à investigação iniciada neste trabalho, serão realizados no intuito de acompanhar a evolução da resistência ao itraconazol na coorte de animais assistidos no CJV, contribuindo para a vigilância da esporotricose em nosso município.

Não foi possível estabelecer correlação entre os aspectos microbiológicos e a resistência ao itraconazol nas condições do presente estudo, o fato pode ser devido ao reduzido número de amostras submetidas a avaliação da susceptibilidade ao medicamento e ao caráter homogêneo do grupo (todas as cepas foram produtoras de melanina, capazes de utilizar sacarose, glicose e amido, apresentaram tempo de crescimento micelial inferior a 10 dias a 25°C e leveduriforme inferior a 5 dias a 37°C).

Novos ensaios estão sendo realizados no intuito de ampliar o universo amostral da pesquisa e dar continuidade ao desenvolvimento das atividades deste e outros projetos

correlacionados do Laboratório de Zoonoses, bem como permitir a confecção de manuscritos para divulgação científica cumprindo as metas previamente delineadas pela equipe executora.

6 CONCLUSÃO

A técnica de Microdiluição em Placa permitiu a detecção de cepas resistentes ao ITZ em fungos do Complexo *Sporothrix schenckii* mostrando-se uma ferramenta útil, prática, acessível para a vigilância da esporotricose além de permitir que ajustes na terapia sejam realizadas precocemente, permitindo o controle da disseminação de cepas resistentes e promovendo a redução de custos com tratamento prolongado.

De todos os responsáveis entrevistados e que autorizaram o uso das amostras, pouco mais da metade permitiu o isolamento e identificação de fungos do Complexo *Sporothrix schenckii*.

Dentre os isolados obtidos, cerca de 15,1% demonstraram valores que permitem suas classificações como resistentes ao itraconazol, reforçando a importância da vigilância da resistência de fungos do Complexo *Sporothrix* spp. frente ao antifúngico, bem como de outros antifúngicos.

Uma parcela significativa dos responsáveis pelos felinos relatou a ocorrência de lesão dérmica sugestiva de esporotricose no mesmo ou familiares contactantes do animal, reforçando a necessidade de ações de vigilância e controle voltadas para a orientação quando ao manejo de animais acometidos, especialmente considerando a possibilidade de cepas resistentes. Tal situação vem se agravando quando consideramos que se trata de uma doença ambiental com potencial zoonótico e sua disseminação é favorecida pelo acesso livre dos felinos infectados à rua e ambientes naturais, incluindo áreas de mata residual onde o agente encontra ambiente favorável para sua proliferação e manutenção.

A detecção precoce de amostras com perfil de resistência ao itraconazol pode contribuir na tomada de decisão de profissionais da Saúde Única quanto ao manejo clínico dos pacientes infectados. Esses profissionais, sabendo da resistência *in vitro*, podem optar por estratégias com associação de bases farmacológicas e caminhos terapêuticos com maior agilidade e precisão. Com tratamento adequado dos animais, há diminuição da chance contaminação do ambiente, de pessoas e outros animais, cerceando a disseminação do fungo.

O CJV fornece o itraconazol como base farmacológica única no tratamento de animais com esporotricose. Atualmente, a práxis inclui a observação dos felinos sob tratamento monoterapico por 3 a 6 meses até que seja identificada resistência ao medicamento, reconhecida pela ausência da resposta clínica e/ ou recuperação do animal. Desta forma há elevados custos para o CJV, que fornece o medicamento, risco de infecção zoonótica,

insatisfação e tendência ao abandono do tratamento pelo responsável, além da manutenção/disseminação do agente nos ambientes frequentados pelo animal.

Com a detecção da resistência *in vitro*, os Médicos Veterinários atuantes poderão optar por terapias mais assertivas para os animais, representando economia para a Instituição, maior segurança, satisfação e confiança no sucesso terapêutico pelos responsáveis e promovendo a interrupção na cadeia de disseminação/manutenção do agente no meio ambiente.

A colaboração entre profissionais de todos os setores da saúde é mister para o controle e erradicação de epidemias e preservação da Saúde Única. Nesse contexto, destaca-se o médico veterinário como técnico capacitado para a diagnóstico precoce e multiplicador de informação fundamental para a prevenção da disseminação da esporotricose e para o estabelecimento da saúde ambiental devendo, o mesmo, utilizar todas as ferramentas disponíveis para assumir o protagonismo nas colaborações e ações de Vigilância em Saúde.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALMEIDA, A. J., REIS, N. F., LOURENÇO, C. S., COSTA, N. Q., BERNARDINO, M. L. A., VIEIRA-DA-MOTTA, O. Esporotricose em felinos domésticos (*Felis catus domesticus*) em Campos dos Goytacazes, RJ. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v, 38, n. 7, p. 1438–1443, 2018.
- ARENAS, R.; SANCHEZ-CARDENAS, C. D.; RAMIREZ-HOBAK, L.; RUIZ ARRIAGA, L. F.; VEGA MEMIJE, M. E. Sporotrichosis: from KOH to molecular biology. **Journal of Fungi**, v. 4, n. 2, p. 1-10, 2018.
- BAPTISTA, V.S.; MOTHÉ, G.B.; SANTOS, G. M. P.; MELIVILU, C. S.I.; SANTOS, T. O.; VIRGINIO, E. D.; MACÊDO-SALES, P. A.; PINTO, M. R.; MACHADO, R. L. D.; ROCHA, E. M. S.; LOPES-BEZERRA, L. M.; BAPTISTA, A. R. S. Promising application of the SsCBF ELISA test to monitor the therapeutic response of feline sporotrichosis caused by *Sporothrix brasiliensis* from Brazilian epidemics. **Brazilian Journal of Microbiology**. v. 52, n. 1, p. 145-153, 2021.
- BARNACLE, J. R.; CHOW, Y. J.; BORMAN, A. M.; WYLLIE, S.; DOMINGUEZ, V.; RUSSELL, K.; ROBERTS, H.; ARMSTRONG-JAMES, D.; WHITTINGTON, A. M. The first three reported cases of *Sporothrix brasiliensis* cat-transmitted sporotrichosis outside South America. **Medical Mycology Case Reports**, v. 39, p. 14-17, 2023.
- BARONI, F. A.; CAMPOS, S. G.; DIREITO, G. M. A cat sporotrichosis case. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**. v. 20, p. 25-27, 1998.
- BARROS, M. B. L.; ALMEIDA, P. R.; SCHUBACH A. O. *Sporothrix schenckii* and Sporotrichosis. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 24, n. 4, p. 633–54, 2011.
- BARROS, M. B. L.; SCHUBACH, T. P.; COLL, J. O.; GREMIÃO, I. D.; WANKE, B.; SCHUBACH, A. Esporotricose: a evolução e os desafios de uma epidemia. **Revista Panamericana de Saúde Pública**, v. 27, n. 6, p. 455–60, 2010.
- BOECHAT, J.S.; OLIVEIRA, M.M.E.; GREMIÃO, I.D.F.; ALMEIDA-PAES, R.; MACHADO, A.C.D.S.; ZANCOPE-OLIVEIRA, R.M.; OLIVEIRA, R.D.V.C.; MORGADO, D.S.; CORRÊA, M.L.; FIGUEIREDO, A.B.F.; et al. *Sporothrix brasiliensis* and Feline Sporotrichosis in the Metropolitan Region of Rio de Janeiro, Brazil (1998–2018). **Journal of Fungi**, v. 8, p. 749, 2022.
- BORBA-SANTOS, L. P.; RODRIGUES, A. M.; GAGINI, T. B.; FERNANDES, G. F.; CASTRO, R.; CAMARGO, Z. P.; NUCCI, M.; LOPES-BEZERRA, L. M.; ISHIDA, K.; ROZENTAL, S. Susceptibility of *Sporothrix brasiliensis* isolates to amphotericin B, azoles, and terbinafine. **Medical Mycology**, v. 53, n. 2, p. 178–188, 2014.
- BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE. DEPARTAMENTO DAS DOENÇAS TRANSMISSÍVEIS. Manual de vigilância, prevenção e controle de zoonoses: normas técnicas e operacionais. Brasília, 2016. 121 p.
- CHAKRABARTI, A.; BONIFAZ, A.; GUTIERREZ-GALHARDO, M. C.; MOCHIZUKI, T.; LI, S. Global epidemiology of sporotrichosis. **Medical Mycology**, v. 53, p. 3–14. 2015.
- CHAVES, A.R.; CAMPOS, M. P.; BARROS, M. B. L.; CARMO, C. N.; GREMIÃO, I. D. F.; PEREIRA, S. A.; SCHUBACH, T. M. P. Treatment Abandonment in Feline Sporotrichosis – Study of 147 Cases. **Zoonoses Public Health**. v. 60, p. 149–153, 2013.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE (CLSI). Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts, approved standard, **M27-A3**, 3rd ed. Wayne, PA: **Clinical and Laboratory Standards Institute**, 2008.

DE BEURMANN, L.; GOUGEROT, H. Les sporotrichoses. Paris: **Librarie Félix Alcan**, 1912.

ESPINEL-INGROFF, A.; ABREU, D. P. B.; ALMEIDA-PAES, R.; BRILHANTE, R. S. N.; CHAKRABARTI, A.; CHOWDHARY, A.; HAGEN, F.; CÓRDOBA, S.; GONZALEZ, G. M.; GOVENDER, N. P.; GUARRO, J.; JOHNSON, E. M.; KIDD, S. E.; PEREIRA, S. A.; RODRIGUES, A. M.; ROZENTAL, S.; SZESZS, M. W.; BALLESTÉ ALANIZ, R.; BONIFAZ, A.; BONFIETTI, L. X.; BORBA-SANTOS, L. P.; CAPILLA, J.; COLOMBO, A. L.; DOLANDE, M.; ISLA, M. G.; MELHEM, M. S. C.; MESA-ARANGO, A. C.; OLIVEIRA, M. M. E.; PANIZO, M. M.; PIRES DE CAMARGO, Z.; ZANCOPE- OLIVEIRA, R. M.; MEIS, J. F.; TURNIDGE, J. Multicenter, international study of MIC/MEC distributions for definition of epidemiological cutoff values for *Sporothrix* species identified by molecular methods. **Antimicrobial Agents Chemother**, v. 61, n. 10, p. 1-17, 2017.

ETCHECOPAZ, A.; TOSCANINI, M. A.; GISBERT, A.; MAS, J.; SCARPA, M.; IOVANNITTI, C. A.; BENDEZÚ, K.; NUSBLAT, A. D.; IACHINI, R.; CUESTAS, M. L. *Sporothrix brasiliensis*: A review of an emerging South American fungal pathogen, its related disease, presentation and spread in Argentina. **Journal of Fungi**, v. 7, p. 170, 2021.

EUDES-FILHO, J.; SANTOS, I.B.D.; REIS, C.M.S.; PATANÉ, J.S.L.; PAREDES, V.; BERNARDES, J.P.R.A.; POGGIANI, S.D.S.C.; CASTRO, T.C.B.; GOMEZ, O.M.; PEREIRA, S.A.; et al. A novel *Sporothrix brasiliensis* genomic variant in Midwestern Brazil: Evidence for an older and wider sporotrichosis epidemic. **Emerging Microbes Infections**, v. 9, p. 2515–2525, 2020.

FARIAS, M. R.; ASSUNÇÃO, D. L.; DUARTE, G.; VANDRESEN, G.; WERNER, J.; TASQUETI, U. Canine Sporotrichosis: A Case Report. *Semina: Ciências Agrárias*. v. 36, n. 3, p.1445-1450, 2015.

FLÓREZ-MUÑOZ, S.V.; ALZATE, J.F.; MESA-ARANGO, A.C. Molecular Identification and Antifungal Susceptibility of Clinical Isolates of *Sporothrix schenckii* Complex in Medellin, Colombia. **Mycopathologia**, v. 184, p. 53–63, 2019.

FRANKLIN, K. B. L.; BARROS, T. M., BEZERRA, T. DE A., SOARES, B. C. M., LUZ, A. M. F. DA ; MOREIRA, E. A. C. Esporotricose zoonótica e sua relação com o ambiente rural e urbano: Revisão. **Pubvet**, v. 16, n. 05, p. 1-6, 2022.

FREITAS; D. C.; MIGLIANO, M.F.; ZANI NETO, L. Sporotrichosis. Observation of spontaneous case in domestic cat (*Felis catus*). **Revista da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de São Paulo**. v. 5, p. 601–4. 1956.

FURTADO, A. S.; NUNES, F. B. B. F.; SANTOS, A. M.; CALDAS, A. J. M. Análise espaço-temporal da leishmaniose visceral no estado do Maranhão, Brasil. **Revista Ciência & Saúde Coletiva**, v. 20, n. 12, 2015.

GONÇALVES, J. C., GREMIÃO, I. D. F., KÖLLING, G., DUVAL, A. E. A., & RIBEIRO, P. M. T. Esporotricose, o gato e a comunidade. **Enciclopédia Biosfera**. v. 16, n. 29, p. 769–787, 2019.

GONSALES, F. F. Estudo da esporotricose em gatos domésticos no município de Guarulhos, estado de São Paulo. Doutorado em Epidemiologia Experimental Aplicada às Zoonoses—São Paulo: **Universidade de São Paulo**, 2018.

- GREMIÃO, I. D. F.; MENEZES, R. C.; SCHUBACH, T. M. P.; FIGUEIREDO, A. B. F.; CAVALCANTI, M. C. H.; PEREIRA, S. A. Feline sporotrichosis: epidemiological and clinical aspects. **Medical Mycology**, v. 53, n. 1, p. 15–21, 2015.
- GREMIÃO, I. D. F.; OLIVEIRA, M. M. E.; MIRANDA, L. H. M.; FREITAS, D. F. S.; PEREIRA, S. A. Geographic Expansion of Sporotrichosis, Brazil. **Emerging Infectious Diseases**, v. 26, n. 3, p. 621–624, 2020a.
- GREMIÃO, I. D. F.; ROCHA, E. M. S.; MONTENEGRO, H.; CARNEIRO, A. J. B.; XAVIER, M. O.; FARIAS, M. R.; MONTI, F.; MANSO, W.; MACEDO, R. H. A. P.; PEREIRA, S.A.; LOPES-BEZERRA, L.M. Guideline for the management of feline sporotrichosis caused by *Sporothrix brasiliensis* and literature revision. **Brazilian Journal of Microbiology**. v. 52, n. 1, p. 107-24, 2020b.
- GREMIÃO, I. D.; MIRANDA, L. H.; REIS, E. G.; RODRIGUES, A. M.; PEREIRA, S.A. Zoonotic Epidemic of Sporotrichosis: Cat to Human Transmission. **PLoS Pathogens**. v. 13, n. 1, e1006077, 2017.
- GREMIÃO, I. D.; SCHUBACH, T. M. P.; PEREIRA, S. A.; RODRIGUES, A.; HONSE, C.; BARROS, M. B. L. Treatment of refractory feline sporotrichosis with a combination of intralesional amphotericin B and oral itraconazole. **Australian Veterinary Journal**, v. 89, n. 9, p. 346–351, 2011.
- GUTIERREZ-GALHARDO, M. C.; ZANCOPÉ-OLIVEIRA, R. M.; MONZÓN, A.; RODRIGUEZ-TUDELA, J. L.; CUENCA-ESTRELLA, M. Antifungal susceptibility profile in vitro of *Sporothrix schenckii* in two growth phases and by two methods: microdilution and E-test. **Mycoses**, v. 53, n. 3, p. 227–231, 2010.
- HEKTOEN, L.; PERKINS, C.F. Refractory subcutaneous abscesses caused by *Sporothrix schenckii*: a new pathogenic fungus. **Journal of Experimental Medicine**. v. 5, n.1, p. 77–89, 1900.
- HOOG, G. S.; GUARRO, J.; GENÉ, J.; FIGUERAS, M. J. Atlas of Clinical Fungi. 2ed. The Netherlands and Spain: Centraalbureau voor Schimmelcultures / Universitat Rovira i Virgili, 2001. 1126 p
- ITOH, M.; OKAMOTO, S.; KARIYA, H. Survey of 200 cases of Sporotrichosis. **Dermatology**. v. 172, p. 209–13, 1986.
- KONG, X.; XIAO, T.; LIN, J.; WANG, Y.; CHEN, H-D. Relationships among genotypes, virulence and clinical forms of *Sporothrix schenckii* infection. **Clinical Microbiology and Infection**. v. 12, n. 11, p. 1077-81, 2006.
- LARSSON, C. E. Esporotricose. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 48, n. 3, p. 250-259, 2011
- LLORET, A.; HARTMANN, K.; PENNISI, M. G.; FERRER, L.; ADDIE, D.; BELÁK, S.; BOUCRAUT-BARALON, C.; EGBERINK, H.; FRYMUS, T.; GRUFFYDDJONES, T.; HOSIE, M. J.; LUTZ, H.; MARSILIO, F.; MÖSTL, K.; RADFORD, A. D.; THIRY, E.; TRUYEN, U.; HORZINEK, M. C. Sporotrichosis in Cats: ABCD guidelines on prevention and management. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, v. 15, n. 7, p. 619–623, 2013.
- LOPES-BEZERRA, L. M.; MORA-MONTES, H. M.; ZHANG, Y.; NINO-VEGA, G.; RODRIGUES, A. M.; DE CAMARGO, Z. P.; DE HOOG, S. Sporotrichosis between 1898 and 2017: The evolution of knowledge on a changeable disease and on emerging etiological agents. **Medical Mycology**, v. 56, n. 1, p. S126–S143, 2018.

- LUTZ A.; SPLENDORE A. On a mycosis observed in men and mice: contribution to the knowledge of the so-called sporotrichosis. **Revista Médica de São Paulo**. v. 21, p. 443–50, 1907.
- MACÊDO-SALES, P. A.; SOUTO, S. R. L. S.; DESTEFANI, C. A.; LUCENA, R. P.; ROCHA, E. M. S.; BAPTISTA, A. R. S. Diagnóstico laboratorial da esporotricose felina em amostras coletadas no estado do Rio de Janeiro, Brasil: limitações da citopatologia por imprint. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**. v. 9, n. 2, p. 13-19, 2018.
- MACHADO, D. S.; MACHADO, J. C.; SOUZA, J. O. T.; SANT'ANNA, A. C. A importância da guarda responsável de gatos domésticos: aspectos práticos e conexões com o bem-estar animal. **Ciência Animal Brasileira**, v. 12, n. 3, p. 1-13, 2019.
- MADRID, I. M.; MATTEI, A.; MARTINS, A.; NOBRE, M.; MEIRELES, M. Feline Sporotrichosis in the Southern Region of Rio Grande Do Sul, Brazil: Clinical, Zoonotic and Therapeutic Aspects. **Zoonoses and Public Health**, v. 57, n. 2, p. 151–154, 2010.
- MARIMON, R.; CANO, J.; GENE, J.; SUTTON, D. A.; KAWASAKI, M.; GUARRO, J. Sporothrix brasiliensis, S. globosa, and S. mexicana, Three New Sporothrix Species of Clinical Interest. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 45, n. 10, p. 3198-3206, 2007.
- MARIMON, R.; GENE, J.; CANO, J.; TRILLES, L.; DOS SANTOS LAZERA, M.; GUARRO, J. Molecular Phylogeny of Sporothrix schenckii. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 44, n. 9, p. 3251-56, 2006.
- MARSELLA, R. Abordagem Clínica ao Prurido em Gatos. In: MARSELLA, R. (ed) **Dermatologia felina: Uma Abordagem Clínica**. 1ª ed. Editora MedVet., p -39-49, 2021.
- MEINERZ, A. R. M.; CLEFF, M. B.; NASCENTE, P. S.; OSÓRIO, L. G.; LUND, R. G.; MEIRELES, M. C. A.; MELLO, J. R. B. Avaliação dos métodos de ETEST e microdiluição em caldo para o estudo da suscetibilidade do Sporothrix schenckii com o itraconazol. **Ciência Animal Brasileira**, v. 11, n. 2, p. 344-348, 2010.
- MIRANDA, L. H. M.; CONCEIÇÃO-SILVA, F.; QUINTELLA, L.P.; KURAIEM, B.P.; PEREIRA, S. A.; SCHUBACH, T.M.P. Feline sporotrichosis: Histopathological profile of cutaneous lesions and their correlation with clinical presentation. **Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases**. v. 36, n. 4, p. 425-32, 2013.
- MIRANDA, L.H.M.; SILVA, J.N.; GREMIAO, I.D.F.; MENEZES, R.C.; ALMEIDA-PAES, R., REIS, E.G., OLIVEIRA, R. V. C.; ARAUJO, D. S. A.; FERREIRO, L.; PEREIRA, S. A. 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.
- MORA-MONTES, H. M. Special Issue "Sporothrix and Sporotrichosis". **Journal of Fungi (Basel)**. v. 4, n. 4, p. 116, 2018
- NAKASU, C. C. T; WALLER, S. B.; RIPOLL, M. K.; FERREIRA, M. R. A.; CONCEIÇÃO, F. R.; GOMES, A. R.; OSÓRIO, L. G.; FARIA, R. O.; CLEFF, M. B. Feline sporotrichosis: a case series of itraconazole-resistant Sporothrix brasiliensis infection. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 1, n. 1, 2020.
- NUNES, F.C.; ESCOSTEGUY, C.C.. Esporotricose humana associada à transmissão por gato doméstico. **Clínica Veterinária**. v. 54, p. 66-68, 2005.

- OROFINO-COSTA, R. C.; MACEDO, P. M.; RODRIGUES, A. M.; BERNARDESENGEMANN, A.; R. Sporotrichosis: an update on epidemiology, etiopathogenesis, laboratory and clinical therapeutics. **Anais Brasileiros de Dermatologia**. v. 92, n. 5, p. 606–20, 2017.
- OTSUKA, M.; CASTRO, R. C. C.; MICHALANY, N. S.; LUCAS, R.; LARSSON JR., C. E.; LARSSON, C. E. Sporotrichosis in São Paulo (Brazil): Clinical and Epidemiological Features. **Veterinary Dermatology**. v. 15, p. 46, 2004.
- PEREIRA, S. A.; GREMIÃO, I. D. F.; KITADA, A. A. B.; BOECHAT, J. S.; VIANA, P. G.; SCHUBACH, T. M. P. The epidemiological scenario of feline sporotrichosis in Rio de Janeiro, State of Rio de Janeiro, Brazil. **Revista Da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 47, n. 3, p. 392-393, 2014.
- PEREIRA, S. A.; GREMIÃO, I. D. F.; MENEZES, R. C. Sporotrichosis in Animals: Zoonotic Transmission. In: Carlos, I.Z. (ed) Sporotrichosis. New Developments and Future Prospects, **USA: Springer**, p. 83–102, 2015.
- PEREIRA, S. A.; PASSOS, S. R. L.; SILVA, J. N.; GREMIÃO, I. D. F.; FIGUEIREDO, F. B.; TEIXEIRA, J. L.; MONTEIRO, P. C. F.; SCHUBACH, T. M. P. Response to azolic antifungal agents for treating feline sporotrichosis. **Veterinary Record**, v. 166, n. 10, p. 290-294, 2010.
- PINTO, P. N. Avaliação da sensibilidade in vitro de *Sporothrix brasiliensis* frente à bases de Schiff para o desenvolvimento de novos fármacos para o tratamento da esporotricose felina. Belo Horizonte: **Universidade Federal de Minas Gerais**, 2021.
- POWELL, K.E.; TAYLOR, A.; PHILLIPS, B.J.; BLAKEY, D. L.; CAMPBELL, G. D.; KAUFMAN, L.; KAPLAN, W. Cutaneous sporotrichosis in forestry workers. Epidemic due to contaminated Sphagnum moss. **JAMA**. 1978. 240(3):232–5.
- PREFEITURA DO RIO DE JANEIRO. NT N° 03/2019: Protocolo de Tratamento da Esporotricose Animal. Rio de Janeiro: S/SUBVISA, 2019.
- PUPO, J.A. Sporotrichosis in Brazil. **Anais Paulistas de Medicina e Cirurgia**. v. 8, p.200–7, 1920.
- REIS, É. G.; GREMIÃO, I. D. F.; KITADA, A. A. B.; ROCHA, R. F. D. B; CASTRO V. S. P.; BARROS, M. B. L.; MENEZES, R. C.; PEREIRA, S. A.; SCHUBACH, T. M. P. Potassium iodide capsule treatment of feline sporotrichosis. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, v. 14, n. 6, p. 399–404, 2012.
- RIPPON J. Sporotrichosis. In: RIPPON, J. (ed). **Medical Mycology - The Pathogenic Fungi and the Pathogenic Actinomycetes**. 3ª ed. Philadelphia: W. B. Saunders Company. p. 325-352, 1988.
- ROCHA, R. F. D. B. Tratamento da Esporotricose Felina Refratária com a Associação de Iodeto de Potássio e Itraconazol Oral. Rio de Janeiro: **Fundação Oswaldo Cruz**, 2014.
- RODRIGUES, A. M.; DE HOOG, G. S.; DE CAMARGO, Z. P. Genotyping species of the *Sporothrix schenckii* complex by PCR-RFLP of calmodulin. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, v. 78, n. 4, p. 383–387, 2014.
- RODRIGUES, A. M.; TERRA, P. P. D.; GREMIÃO, I. D. F.; PEREIRA, S. A.; OROFINO-COSTA, R.; CAMARGO, Z. P. The threat of emerging and re-emerging pathogenic *Sporothrix* species. **Mycopathologia**, v. 185, n. 5, p. 813–842, 2020.

RODRIGUES, A. M.; DE HOOG, G. S.; DE CAMARGO, Z. P. Molecular Diagnosis of Pathogenic Sporothrix Species. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 9, n.12, p. 1-22, 2015.

RODRIGUES, A.M.; DE HOOG, G.S.; DE CAMARGO, Z.P. *Sporothrix* species causing outbreaks in animals and humans driven by animal-animal transmission. **PLoS Pathogens**. v. 12, n.7, 2016

ROJAS, O. C.; BONIFAZ, A.; CAMPOS, C.; TREVIÑO-RANGEL, R. J.; GONZÁLEZ-ÁLVAREZ, R.; GONZÁLEZ, G. M. Molecular Identification, Antifungal Susceptibility, and Geographic Origin of Clinical Strains of Sporothrix schenckii Complex in Mexico. **Journal of Fungi**, v. 4, n. 3, p. 86, 20 jul. 2018.

ROSSOW, J. A.; QUEIROZ-TELLES, F.; CACERES, D. H.; BEER, K. D.; JACKSON, B. R.; PEREIRA, J. G.; GREMIÃO, I. D. F.; PEREIRA, S. A. A one health approach to combatting Sporothrix brasiliensis: narrative review of an emerging zoonotic fungal pathogen in South America. **Journal of Fungi**, v. 6, n. 4, p. 247, 2020.

SANCHOTENE, K. O.; BRANDOLT, T. M.; KLAFKE, G. B.; POESTER, V. R.; XAVIER, M. O. In vitro susceptibility of Sporothrix brasiliensis: Comparison of yeast and mycelial phases. **Medical Mycology**, v. 55, n. 8, p. 869–876, nov. 2017.

SANGUINETTE, S. P. Zoonoses em livros didáticos de ciências: uma contribuição entre às articulações entre educação e saúde. Monografia (Licenciatura em Biologia) - **Universidade Federal do Rio Grande do Sul**, 2015.

SANTOS, A. F.; ROCHA, B. D.; BASTOS, C. V.; OLIVEIRA, C. S. F.; SOARES D. F. M.; PAIS, G. C. T.; XAULIM, G. M. D.; KELLER, K. M.; SALVATO, L. A.; LECCA, L. O.; FERREIRA, L.; SARAIVA, L. H. G.; ANDRADE M. B.; PAIVA M. T.; ALVES, M. R. S.; MORAIS, M. H. S.; AZEVEDO, M. I.; TEIXEIRA, M. K. I.; ECCO, R.; BRANDÃO S. T. Guia Prático para enfrentamento da Esporotricose Felina em Minas Gerais. **Revista V&Z Em Minas**, v. 1, n.137, p. 16-27, 2018

SCHENCK, B. On refractory subcutaneous abscesses caused by a fungus possibly related to the Sporotricha. **Johns Hopkins Hospital Bulletin**, v. 240, n. 93, p. 286-290, 1898.

SCHUBACH, T. M. P.; SCHUBACH, A.; OKAMOTO, T.; BARROS, M. B. L.; FIGUEIREDO, F. B.; CUZZI, T.; FIALHO-MONTEIRO, P. C.; REIS, R. S.; PEREZ, M. A.; WANKE, B. T. Evaluation of an epidemic of sporotrichosis in cats: 347 cases (1998–2001). **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 224, n. 10, p. 1623-1629, 2004.

SCHUBACH, T. M. P.; VALLE, A. C. F.; GUTIERREZ-GALHARDO, M. C.; MONTEIRO, P. C. F.; REIS, R. S.; ZANCOPÉ-OLIVEIRA, R. M.; MARZOCHI, K. B. F.; SCHUBACH, A. Isolation of Sporothrix schenckii from the nails of domestic cats (Felis catus). **Medical Mycology**, v. 39, n.1, p. 147-149, 2001

SCHUBACH, T.M.P.; MENEZES, R.C.; WANKE, B. Sporotrichosis. *In*: GREENE, C.E (ed). **Infectious Diseases of the Dog and Cat**. 4. ed. St. Louis: Elsevier, 2012, p.645- 650.

SEIMENIS, A.M. The spread of zoonoses and other infectious diseases through the international trade of animals and animal products. **Veterinaria Italiana**, v.44, p.591-599, 2008.

SILVA, J. N.; MIRANDA, L. H. M.; MENEZES, R. C.; GREMIÃO, I. D. F.; OLIVEIRA, R. V. C.; VIEIRA, S. M. M.; CONCEIÇÃO-SILVA, F.; FERREIRO, L.; PEREIRA, S. A. Comparison of the sensitivity of three methods for the early diagnosis of sporotrichosis in cats. **Journal of Comparative Pathology**. v. 160, p. 72-78, 2018.

SILVA, M. B. T.; COSTA, M. M. M.; TORRES, C. C. S.; GALHARDO M. C. G.; VALLE A. C. F.; MAGALHÃES, M. A. F. M.. Esporotricose urbana: epidemia negligenciada no Rio de Janeiro, Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 28, n. 10, p. 1867–1880, 2012.

SINGER, J.I.; MUNCIE, J.E. Sporotrichosis: etiologic considerations and report of additional cases from New York. **New York State Journal of Medicine**. v. 52, n.17, p. 2147–53, 1952.

SONG, Y.; LI, S.; SHI, Y; ZHAO, L.; CUI, Y.; YAO, L.; ZHEN, Y.; CHEN, R.; CUI, Y. In vitro antifungal susceptibility of *Sporothrix globosa* isolates from Jilin Province, northeastern China: comparison of yeast and mycelial phases. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 52, p. 81–90, 2020.

SOUZA, C.P.; LUCAS, R, RAMADINHA, R.H.; PIRES, T.B. Cryosurgery in association with itraconazole for the treatment of feline sporotrichosis. **Journal of Feline Medicine and Surgery**. v. 18, n. 2, p.137–43, 2016.

THOMSON, P.; GONZÁLEZ, C.; BLANK, O.; RAMÍREZ, V.; RÍO, C. D.; SANTIBÁÑEZ, S.; PENA, P. Sporotrichosis Outbreak Due to *Sporothrix brasiliensis* in Domestic Cats in Magallanes, Chile: A One-Health-Approach Study. **Journal of Fungi**, v. 9, p. 226, 2023.

WALLER, S. B.; LANA, D. F. D.; QUATRIN, P. M.; FERREIRA M. R. A.; FUENTEFRIA, A. M.; MEZZARI, A. Antifungal resistance on *Sporothrix* species: an overview. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 52, n. 1, p. 73–80, 2020.

WALLER, S. B.; PETER, C. M.; HOFFMANN, J. F.; PICOLI, T.; OSÓRIO, L. G.; CHAVES, F.; ZANI, J. L.; FARIA, R. O.; MELLO, J. R. B.; MEIRELES, M. C.. A Chemical and cytotoxic analyses of brown Brazilian propolis (*Apis mellifera*) and its in vitro activity against itraconazole-resistant *Sporothrix brasiliensis*. **Microbial Pathogenesis**, v. 105, p. 117–121, 2017.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO); FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS (FAO); WORLD ORGANISATION FOR ANIMAL HEALTH (OIE) Taking a Multisectoral, One Health Approach: A Tripartite Guide to Addressing Zoonotic Diseases in Countries. 2019. Disponível em: <https://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Media_Center/docs/EN_TripartiteZoonosesGuide_webversion.pdf>. Acesso em 28 de agosto de 2022.

ZANELLA, J. R. C. Zoonoses emergentes e reemergentes e sua importância para saúde e produção animal. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.51, n.5, p.510-519, 2016.

APÊNDICE I

Imagem do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido elaborado para o projeto.



TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE)

Você está sendo convidado (a) a participar como voluntário (a) da pesquisa intitulada "Análise da resistência ao itraconazol em amostras de fungos do complexo *Sporothrix schenckii* isoladas de felinos domésticos assistidos no Centro De Medicina Veterinária Jorge Vaitsman", desenvolvida por Dra. Cintia Silva dos Santos (CJV/IVISA-Rio) e por Raphael Delecrodi Leonardo Pereira (CJV/IVISA-Rio).

O objetivo desta pesquisa é investigar se os fungos que causam a Esporotricose estão resistentes ao Itraconazol e o grau de resistência.

Se concordar em participar desta pesquisa, a coleta de material para exame do seu animal não sofrerá qualquer modificação. Apenas as amostras de fungos isoladas serão utilizadas na pesquisa.

Os fungos isolados das amostras do seu animal serão testadas quanto a resistência ao itraconazol em uma análise extra, caso o diagnóstico seja positivo para esporotricose. Seu animal não corre nenhum risco de contrair doenças ao participar da pesquisa e poderá se beneficiar com as informações preliminares das amostras, que serão repassadas ao médico veterinário responsável pelo acompanhamento do tratamento.

Os dados coletados serão os relacionados às amostras e, em nenhum momento, seus dados pessoais ou do animal que permitam sua identificação serão divulgados.

As informações serão registradas em forma de código, preservando seu sigilo e confidencialidade, seja para propósitos de divulgação científica, ou educativa.

Essa pesquisa apresenta risco mínimo, pois as análises realizadas não afetarão a integridade física dos animais

A sua participação nesta pesquisa poderá trazer novas informações e conhecimentos, especialmente em relação ao controle de zoonoses, beneficiando-o de forma direta na promoção da saúde.

Sua participação não é obrigatória e não implicará em despesas para você. A qualquer momento você pode desistir de participar da pesquisa ou retirar seu consentimento. Sua recusa ou desistência não trará prejuízo para o seu vínculo ou acompanhamento nesta instituição.

Em caso de dúvidas ou se você quiser desistir de participar da pesquisa, entre em contato com Raphael Delecrodi Leonardo Pereira, no telefone (21) 991740484 ou no seguinte endereço Av. Bartolomeu de Gusmão, 1120 - Mangueira, Rio de Janeiro - RJ, 20941-160.

Se você tiver perguntas com relação aos seus direitos, como participante do estudo, também poderá entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa da SMS, situado Evaristo da Veiga, 16 - 4º andar - Centro - RJ 20031-040. Telefone: 2215-1485.

Li ou alguém leu para mim as informações contidas neste documento antes de assiná-lo. Declaro que recebi uma cópia deste termo, tendo todas as minhas dúvidas esclarecidas e entendido os objetivos; a forma de minha participação na pesquisa; os riscos e benefícios envolvidos. Dessa forma, concordo em participar desta pesquisa.

ASSINATURA DO PARTICIPANTE DA PESQUISA
(RESPONSÁVEL PELO FELINO)

Atesto que expliquei, cuidadosamente, a natureza e o objetivo deste estudo, os possíveis riscos e benefícios da participação no mesmo, junto ao participante.

Acredito que o participante tenha recebido todas as informações necessárias, fornecidas em linguagem adequada e compreensível.

Raphael Delecrodi Leonardo Pereira
Médico Veterinário Residente IVISA-RIO

_____ de _____ de 2022

APÊNDICE II

Ficha de registro de entrevista.

Ficha de registro de entrevista

1. CADASTRO

Prontuário : _____ Idade: _____ Sexo: Macho () Fêmea () Castrado: () Sim () Não

Raça: _____

2. Estado Nutricional: () Obeso () Sobrepeso () Ideal () Magro () Caquético

3. Procedência do animal:

() GATIL () CANIL
 () APTº () CASA (C/ ACESSO À RUA LIVRE)
 () CASA () ADOTADO (_____)

3. Área onde o gato vive: () URBANA () RURAL () OUTRA: _____

4. Possíveis fontes ambientais de infecção: () GRAMA () TERRA () PLANTAS (plantas ornamentais, árvores, jardins, etc)

5. O animal coça as lesões: () SIM () NÃO

6. Grau do prurido? NOTA (0-10) (_____)

7. Tem contato com outros animais? Quantos? (colocar quantidade entre os parênteses)

() CÃO () GATO () OUTROS: _____

8. Teve contato com outros animais que apresentavam problemas de pele?

() SIM () NÃO Se SIM, QUAIS? _____

9. Proprietário ou família apresentou lesão após contato com animal afetado?

() SIM () NÃO Tipo de lesão: _____

9.1 Qual tipo de contato? () arranhadura () mordedura outro() _____

9.2 Está em tratamento? () SIM () NÃO Qual? _____

10. Este animal já teve esporotricose?

() SIM () NÃO Se SIM, qual foi a medicação usada no tratamento? _____ Duração: _____

11. Algum evento procedeu ao início do processo: _____

12. Coadjuvante ao quadro cutâneo há sinais clínicos sistêmicos?

() SIM () NÃO Se SIM, quais? _____ (apatia, dificuldade respiratória, secreção nasal, espirro, tosse, epistaxe, hemoptise, dificuldade em andar, febre, perda de peso, etc.)

13. Aspecto das lesões

() BOLHAS	() DESPIGMENTAÇÃO	() HIPERPIGMENTAÇÃO	() PÁPULAS	() TUMEFACÇÃO
() CICATRIZ	() ERITEMA	() MÁCULAS	() PLACAS	() VEGETAÇÕES
() CISTOS	() EROSÕES/ÚLCERAS	() MANCHA	() PUS	() VESÍCULAS
() CROSTAS	() FISSURAS	() MASSAS	() PÚSTULAS	
() DESCAMAÇÃO	() FÍSTULA	() NÓDULOS	() SANGUE	

() OUTROS: _____

14. Localização e quantidade das lesões

() ABDÔMEN () CAUDA () DORSO () MEMBRO PÉLVICO () PERÍNEO () TÓRAX
 () CABEÇA () DISSEMINADA () ESCROTO () MEMBRO TORÁCICO () PESCOÇO

15. Evolução das lesões

INÍCIO DA LESÃO: ____ / ____ / ____ LOCAL DA PRIMEIRA LESÃO: _____

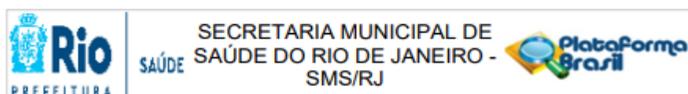
() DIAS () SEMANAS () MESES () ANOS

16. Faz ou fez tratamento com itraconazol? () SIM () NÃO

17. Comorbidade? _____

ANEXO I

Parecer consubstanciado do CEP da Secretaria Municipal de Saúde do Rio de Janeiro – SMS/RJ.



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: ANÁLISE DA RESISTÊNCIA AO ITRACONAZOL EM AMOSTRAS DE FUNGOS DO COMPLEXO *Sporothrix schenckii* ISOLADAS DE FELINOS DOMÉSTICOS ASSISTIDOS NO CENTRO DE MEDICINA VETERINÁRIA JORGE VAITSMAN

Pesquisador: RAPHAEL DELECRODI LEONARDO PEREIRA

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 63541622.5.0000.5279

Instituição Proponente: INSTITUTO MUNICIPAL DE VIGILANCIA SANITARIA, VIGILANCIA DE

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 5.788.933

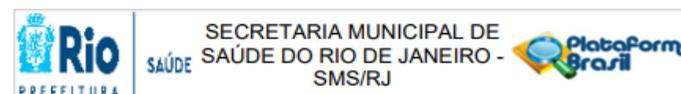
Apresentação do Projeto:

Conforme apresentado pelo pesquisador responsável:

Resumo:

As zoonoses são um relevante problema de saúde no Brasil, dada sua elevada casuística, destacando-se a esporotricose em áreas urbanas. A esporotricose é uma micose de distribuição mundial e já foi relatada em todos os continentes, sendo registrada desde 1998 no Brasil onde, apesar da reconhecida subnotificação, apresenta crescimento contínuo do número de relatos de casos, acometendo milhares de pessoas e felinos anualmente. A doença é causada pelo Complexo *Sporothrix schenckii*, principalmente por *S. brasiliensis*. É considerada hiperepidêmica no estado do Rio de Janeiro, onde os felinos domésticos são os principais transmissores no ciclo da doença. Dentre as estratégias de enfrentamento desta zoonose, o Centro de Medicina Veterinária Jorge Vaitsman (CJV/IVISA-Rio), no município do Rio de Janeiro, disponibiliza gratuitamente aos responsáveis por animais acometidos, o itraconazol, principal medicamento utilizado no tratamento. Considerando que: (i) a resistência a antifúngicos vem sendo documentada entre as espécies que compõem o Complexo *Sporothrix schenckii*; (ii) o fornecimento de itraconazol tem elevado custo para a rede de saúde pública; (iii) o tratamento de felinos pode levar meses a anos até a completa recuperação; (iv) o mesmo medicamento é

Endereço: Rua Evaristo da Veiga, 16, 4º andar
Bairro: Centro **CEP:** 20.031-040
UF: RJ **Município:** RIO DE JANEIRO
Telefone: (21)2215-1485 **E-mail:** cepsmrj@yahoo.com.br



Continuação do Parecer: 5.788.933

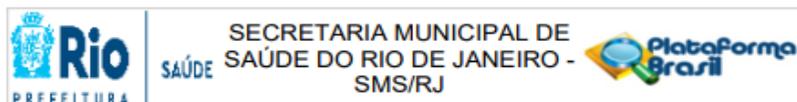
utilizado no tratamento de animais e humanos infectados; e (v) a ocorrência da resistência ao itraconazol representa a perda da

principal ferramenta de enfrentamento da epidemia de esporotricose, o presente estudo visa investigar a resistência in vitro ao itraconazol, utilizando a técnica de microdiluição, de amostras do complexo *Sporothrix schenckii* isoladas de felinos assistidos pelo CJV/IVISA-Rio.

Metodologia Proposta:

A coorte estudada será composta de felinos, de idades, sexos, raças e portes diversos, portadores ou não de comorbidades, assistidos pelo serviço de Clínica do CJV/IVISA-Rio no período de Setembro de 2022 a Janeiro de 2023, que, forem encaminhados para coleta de amostras para diagnóstico de esporotricose. A obtenção das amostras ocorrerá mediante o preenchimento do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE). As amostras para pesquisa de esporotricose serão coletadas no Laboratório de Zoonoses I, como parte da rotina de diagnóstico e assistência clínico-laboratorial do CJV/IVISA-RIO. As culturas serão realizadas a partir de amostras de exudato de feridas coletadas com swab estéril de algodão hidrófilo por rolamento. Os swabs serão usados para semeadura em Ágar Sabouraud com 4% de dextrose e Ágar Mycosel, seguida de incubação a temperatura ambiente (24-26°C) por até duas semanas (MACÊDO-SALES et al., 2018). Dentre as colônias desenvolvidas no meio de cultivo, aquelas consideradas suspeitas (morfologia colonial compatível com o Complexo *Sporothrix*) serão recolhidas para análise microscópica da morfologia, entre lâmina e lamínula, na presença de Lactofenol Azul de Algodão (BARROS et al., 2011). Serão consideradas positivas as amostras que revelarem crescimento fúngico com morfologia macro e microscópica compatível com as espécies que compõem o Complexo *Sporothrix schenckii*. A caracterização abrangerá a análise da morfologia colonial, de aspectos morfo-tintoriais (micromorfologia sob coloração com Azul de Algodão), detecção de dimorfismo, análise da termotolerância e produção de fenoloxidase e de urease (HOOG et al., 2001). Para o teste de suscetibilidade, será obtida a forma de levedura do fungo e o estudo para determinar a concentração inibitória mínima (MIC) será de acordo com o documento M27-A3 (CLSI, 2008) com adequações mínimas. A determinação da MIC será realizada em microplacas de 96 poços de fundo chato para ELISA. Serão adicionados 100 µL do meio RPMI 1640 tamponado em cada poço e 100 µL da solução estoque de itraconazol (32 µg/mL) será adicionada no poço referente à maior concentração de itraconazol e será realizada a diluição sequencial nos poços até a concentração de 0,125 µg/mL, posteriormente, serão adicionados os inóculos de leveduras. Serão reservados poços

Endereço: Rua Evaristo da Veiga, 16, 4º andar
Bairro: Centro **CEP:** 20.031-040
UF: RJ **Município:** RIO DE JANEIRO
Telefone: (21)2215-1485 **E-mail:** cepsmrj@yahoo.com.br



Continuação do Parecer: 5.788.933

para os controles negativo (RPMI 1640) e positivo (RPMI 1640 com inóculo de levedura, sem antifúngico). A determinação da MIC será feita após a incubação das placas em estufa a 37°C por 72 horas (SONG et al., 2020; PINTO, 2021). A concentração mínima será observada de acordo com o crescimento ou não do fungo por análise visual de cada poço em comparação com os controles positivo e negativo. Esse trabalho seguirá o valor de corte proposto por Espinel-Ingroff e col. (2017) onde isolados com MIC 2 µg/mL são classificados como sensíveis e isolados com MIC > 2 µg/mL, como resistentes ao itraconazol. Cada ensaio será realizado em triplicata em, pelo menos, três experimentos independentes. Os resultados das CIM's serão analisados e tratados estatisticamente (análises paramétricas e não paramétricas, incluindo análise da variância, teste T pareado e cálculo do coeficiente de correlação) através de programa estatístico Prism (GraphpadPrism version 5.0) e valores de P considerados significativos quando < 0.05 (MEINERZ et al., 2010).

Critério de Inclusão:

Participarão do estudo unicamente, animais assistidos pelos veterinários de Setor de Clínica encaminhados para realização de diagnóstico de esporotricose, que não possuam histórico de tratamento anterior utilizando os componentes base dos antifúngicos testados neste trabalho, mediante a autorização expressa do uso dos isolados fúngicos pelo tutor através da assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Apêndice I).

Serão selecionados isolados identificados como pertencentes ao Complexo *Sporothrix schenckii* através de análises macro e micro-morfológicas, na rotina de diagnóstico de esporotricose do Laboratório de Zoonoses I – Bacteriologia e Micologia.

Critério de Exclusão:

Não participarão da pesquisa animais (a) que apresentarem infecção recorrente pelo Complexo *Sporothrix*, (b) que tenham iniciado e abandonado tratamento de lesões dérmicas ou otológicas com antifúngicos, (c) que estejam fazendo uso de antifúngicos na data ou anteriormente à coleta, (d) animais que tenham recebido tratamento local com agentes antimicrobianos, crioterapia e/ou fitoterápicos, (e) cujos tutores não autorizem expressamente (através do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido) a utilização dos isolados na pesquisa.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Geral:

Endereço: Rua Evaristo da Veiga, 16, 4º andar
 Bairro: Centro CEP: 20.031-040
 UF: RJ Município: RIO DE JANEIRO
 Telefone: (21)2215-1485 E-mail: ceprsmrj@yahoo.com.br

Página 03 de 08



Continuação do Parecer: 5.788.933

Investigar a resistência in vitro ao itraconazol de amostras do complexo *Sporothrix schenckii* isoladas no Laboratório de Zoonoses de Bacteriologia e Micologia do Centro de Medicina Veterinária Jorge Vaitsman (CJV).

Objetivos específicos:

No intuito de alcançar o objetivo geral idealizado foram delineados os seguintes objetivos específicos:

- i. Isolar e identificar amostras do Complexo *Sporothrix schenckii* a partir de materiais encaminhados para análise no Laboratório de Zoonoses I - Bacteriologia e Micologia do C.JV/IVISA-RIO;
- ii. Avaliar a resistência das amostras isoladas ao itraconazol (principal agente antimicrobiano indicado para o tratamento das infecções associadas ao Complexo *S. schenckii* em felinos) através de métodos preconizados pelo CLSI;
- iii. Correlacionar características microbiológicas dos isolados e resistência ao itraconazol.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

O desenvolvimento das atividades previstas neste projeto não oferece risco aos participantes (animais e seus tutores), uma vez que, apenas os isolados fúngicos serão utilizados nas análises laboratoriais e que nenhuma alteração na rotina de coleta de amostras se faz necessária. A equipe executora foi previamente capacitada para a realização das análises micológicas previstas no projeto, tendo sido preparada para o uso adequado dos EPI's necessários e para atenção à normas técnicas de biossegurança na rotina de micologia. Embora nenhuma atividade laboratorial esteja isenta de risco, a preparação prévia dos envolvidos promove a minimização dos riscos.

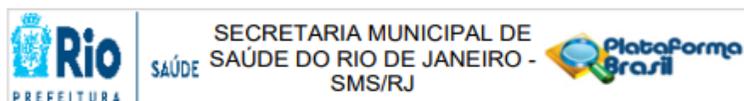
A avaliação da susceptibilidade das amostras clínicas ao itraconazol contribuirá para o monitoramento da circulação de amostras resistentes e, sendo estabelecida correlação clínica, poderá servir como indicador precoce da resistência in vivo fornecendo subsídios para o acompanhamento e revisão do tratamento e elaboração do prognóstico clínico. O desenvolvimento das atividades previstas neste projeto não oferece risco aos participantes.

Benefícios:

A avaliação da susceptibilidade das amostras clínicas ao itraconazol contribuirá para o monitoramento da circulação de amostras resistentes e, sendo estabelecida correlação clínica,

Endereço: Rua Evaristo da Veiga, 16, 4º andar
 Bairro: Centro CEP: 20.031-040
 UF: RJ Município: RIO DE JANEIRO
 Telefone: (21)2215-1485 E-mail: ceprsmrj@yahoo.com.br

Página 04 de 08



Continuação do Parecer: 5.788.933

poderá servir como indicado precoce da resistência in vivo fornecendo subsídios para o acompanhamento e revisão do tratamento e elaboração do prognóstico clínico.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Trata-se de um projeto de Residência apresentado no Instituto Municipal de Vigilância Sanitária, Vigilância de Zoonoses e de Inspeção Agropecuária – IVISA RIO, como requisito para a produção do Trabalho de Conclusão de Residência (TCR) do Programa de Residência Profissional em Medicina Veterinária.

A pesquisa será realizada no Centro de Medicina Veterinário Jorge Vaitsman, assinado pela direção da unidade.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Foram apresentados todos os documentos de apresentação obrigatória.

Recomendações:

Sem recomendações.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

O pesquisador respondeu todas as pendências.

A pesquisa foi Aprovada.

Considerações Finais a critério do CEP:

Sr.(a) Pesquisador(a),

Atentamos que o pesquisador deve desenvolver a pesquisa conforme delimitada no protocolo aprovado, exceto quando perceber risco ou dano não previsto ao sujeito participante ou quando constatar a superioridade de regime oferecido a um dos grupos da pesquisa que requeiram ação imediata (item V.3., da Resolução CNS/MS Nº 466/12). Qualquer necessidade de modificação no curso do projeto deverá ser submetida à apreciação do CEP/SMS-RJ como emenda. Deve-se aguardar o parecer favorável do CEP/SMS-RJ antes de efetuar a modificação. Atentar para a necessidade de atualização do cronograma da pesquisa.

Caso ocorra alguma alteração no financiamento do projeto ora apresentado (alteração de patrocinador, modificação no orçamento ou copatrocinio), o pesquisador tem a responsabilidade de submeter uma emenda ao CEP/SMS-RJ solicitando as alterações necessárias. A nova Folha de Rosto a ser gerada deverá ser assinada nos campos pertinentes e anexada novamente na Plataforma Brasil para análise deste CEP/SMS-RJ.

O CEP/SMS-RJ deve ser informado de todos os efeitos adversos ou fatos relevantes que alterem o

Endereço: Rua Evaristo da Veiga, 16, 4º andar
 Bairro: Centro CEP: 20.031-040
 UF: RJ Município: RIO DE JANEIRO
 Telefone: (21)2215-1485 E-mail: cepmsrj@yahoo.com.br

Página 05 de 08



Continuação do Parecer: 5.788.933

curso normal do estudo (item V.5., da Resolução CNS/MS Nº 466/12). É papel do pesquisador assegurar medidas imediatas adequadas frente a evento adverso grave ocorrido (mesmo que tenha sido em outro centro) e ainda enviar notificação à ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária, junto com seu posicionamento. Eventuais modificações ou emendas ao protocolo devem ser apresentadas a este CEP/SMS-RJ, identificando a parte do protocolo a ser modificada e suas justificativas.

Acrescentamos que o participante da pesquisa tem a liberdade de recusar-se a participar ou de retirar seu consentimento em qualquer fase da pesquisa, sem penalização alguma e sem prejuízo ao seu cuidado (item IV.3 .d., da Resolução CNS/MS Nº 466/12) e deve receber uma via do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, na íntegra, por ele assinado (item IV.5.d., da Resolução CNS/MS Nº 466/12).

Ressaltamos que o pesquisador responsável por este Protocolo de Pesquisa deverá apresentar a este Comitê de Ética um relatório das atividades desenvolvidas no período de 12 meses a contar da data de sua aprovação (item X.1.3.b., da Resolução CNS/MS Nº 466/12).

Caso haja interrupção do projeto ou não publicação dos resultados, solicitamos justificar fundamentalmente ao CEP/SMS-RJ.

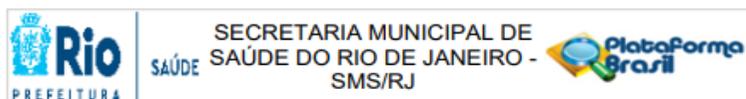
De acordo com o OFÍCIO CIRCULAR Nº 8/2020/CONEP/SECNS/MS com as orientações para a condução de pesquisas e atividades dos CEP's durante a pandemia provocada pelo SARS-COV-2 e enquanto perdurar o estado de emergência de saúde pública decorrente da Covid-19, recomenda-se que os CEP's e toda a comunidade científica adotem, para a condução dos protocolos de pesquisa, envolvendo seres humanos, as orientações da CONEP observando, ainda, no que couber, as diretrizes adotadas pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa).

Quando se tratar de pesquisas com seres humanos em instituições integrantes do Sistema Único de Saúde (SUS), os procedimentos não deverão interferir na rotina dos serviços de assistência à saúde, a não ser quando a finalidade do estudo o justificar, e for expressamente autorizado pelo dirigente da instituição. As pesquisas realizadas em instituições integrantes do SUS devem atender aos preceitos éticos e de responsabilidade do serviço público e de interesse social, não devendo ser confundidas com as atividades de atenção à saúde.

Em razão da Pandemia, a realização da pesquisa ficará a critério do gestor da Unidade de Saúde avaliar caso seja necessária a suspensão, a interrupção ou o cancelamento da pesquisa devido às demandas de serviços decorrentes da Covid-19. Caso haja a suspensão, interrupção ou cancelamento da pesquisa caberá aos investigadores a submissão de notificação via Plataforma

Endereço: Rua Evaristo da Veiga, 16, 4º andar
 Bairro: Centro CEP: 20.031-040
 UF: RJ Município: RIO DE JANEIRO
 Telefone: (21)2215-1485 E-mail: cepmsrj@yahoo.com.br

Página 06 de 08



Continuação do Parecer: 5.788.933

Brasil, para apreciação do Sistema CEP/CONEP. Para as pesquisas realizadas em instituições educacionais, ficará à critério do gestor/ diretor fazer a devida avaliação.

Este parecer possui validade de 12 meses a contar da data de sua aprovação.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_2017095.pdf	04/11/2022 20:42:46		Aceito
Outros	RespostaCEP_Raphael.docx	04/11/2022 20:39:45	RAPHAEL DELECRODI LEONARDO	Aceito
Orçamento	OrcamentodetalhadoejustificadoRaphael.doc	04/11/2022 20:30:57	RAPHAEL DELECRODI LEONARDO	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	ProjetoRaphaelDelecrodi2.docx	03/11/2022 20:25:21	RAPHAEL DELECRODI LEONARDO	Aceito
Outros	AusenciadeCustos.pdf	03/11/2022 20:14:22	RAPHAEL DELECRODI LEONARDO	Aceito
Outros	AnuencialInstitucional.pdf	03/11/2022 20:10:17	RAPHAEL DELECRODI LEONARDO	Aceito
Outros	TCUD.pdf	03/11/2022 20:09:02	RAPHAEL DELECRODI LEONARDO	Aceito
Cronograma	cronogramaRaphaelDelecrodi.docx	03/11/2022 20:07:43	RAPHAEL DELECRODI LEONARDO	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_Raphael.docx	03/11/2022 20:02:18	RAPHAEL DELECRODI LEONARDO PEREIRA	Aceito
Folha de Rosto	FolhadeRosto.pdf	03/11/2022 19:59:27	RAPHAEL DELECRODI LEONARDO	Aceito

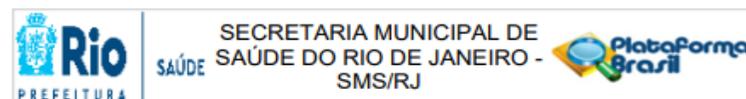
Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Endereço: Rua Evaristo da Veiga, 16, 4º andar
 Bairro: Centro CEP: 20.031-040
 UF: RJ Município: RIO DE JANEIRO
 Telefone: (21)2215-1485 E-mail: cepmsrj@yahoo.com.br

Página 07 de 08



Continuação do Parecer: 5.788.933

Não

RIO DE JANEIRO, 01 de Dezembro de 2022

Assinado por:
 Salesia Felipe de Oliveira
 (Coordenador(a))

Endereço: Rua Evaristo da Veiga, 16, 4º andar
 Bairro: Centro CEP: 20.031-040
 UF: RJ Município: RIO DE JANEIRO
 Telefone: (21)2215-1485 E-mail: cepmsrj@yahoo.com.br

Página 08 de 08