



**PREFEITURA DA CIDADE DO RIO DE JANEIRO**

Secretaria Municipal de Saúde.

Instituto Municipal de Vigilância Sanitária, Vigilância de Zoonoses e de  
Inspeção Agropecuária.

Coordenadoria Geral de Inovação, Projetos, Pesquisa e Educação Sanitária.

Programa de Residência Uniprofissional em Vigilância Sanitária

**AVALIAÇÃO DA SUSCEPTIBILIDADE DE FUNGOS DO COMPLEXO**

*Sporothrix schenckii* AO ITRACONAZOL PELO MÉTODO DE

**DISCO-DIFUSÃO EM FELINOS DO MUNICÍPIO DO RIO DE JANEIRO**

Yasmin Luzorio de Souza

Rio de Janeiro

Ano 2024

Yasmin Luzorio de Souza

**Avaliação da susceptibilidade de fungos do Complexo *Sporothrix schenckii* ao itraconazol pelo método de disco-difusão em felinos do município do Rio de Janeiro.**

Trabalho de Conclusão da Residência apresentado ao Programa de Residência Uniprofissional em Vigilância Sanitária, no Instituto Municipal de Vigilância Sanitária, Vigilância de Zoonoses e de Inspeção Agropecuária, da Secretaria Municipal de Saúde do Rio de Janeiro, como requisito final para a obtenção do título de Especialista em Vigilância Sanitária.

Orientador(a): Dra. Cíntia Silva dos Santos

Rio de Janeiro

2024

Yasmin Luzorio de Souza

**Avaliação da susceptibilidade de fungos do Complexo *Sporothrix schenckii* ao itraconazol pelo método de disco-difusão em felinos do município do Rio de Janeiro.**

Trabalho de Conclusão da Residência apresentado ao Programa de Residência Uniprofissional em Vigilância Sanitária, no Instituto Municipal de Vigilância Sanitária, Vigilância de Zoonoses e de Inspeção Agropecuária, da Secretaria Municipal de Saúde do Rio de Janeiro, como requisito final para a obtenção do título de Especialista em Vigilância Sanitária.

Aprovado em: 21 de fevereiro de 2024.

Banca Examinadora:

Dr (a). Liliane Simpson Lourêdo

Instituto Municipal de Medicina Veterinária Jorge Vaitsman – IVISA-Rio

Dr (a). Vivian dos Santos Baptista

Centro Biomédico - Universidade Federal Fluminense

Dr (a). Cíntia Silva dos Santos (Orientador)

Instituto Municipal de Medicina Veterinária Jorge Vaitsman – IVISA-Rio

Rio de Janeiro

2024

Para Ilidia.



## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço a todo apoio que sempre recebi da minha grande família ao longo de todos os anos da minha formação pessoal e também profissional, todos são exemplos de força e motivação para que eu não duvide ou desista dos meus sonhos. Meus pais, Andre e Neide, minha irmã Jessica, minhas avós e avôs, Lúcia, Ilidia, Carlos e Nei e minha grande amiga Luísa, obrigada por nunca soltar minha mão!

Também agradeço às minhas amigas da graduação Ialê e também à minha futura R2, Daniele, por ouvir minhas reclamações, ler meus trabalhos, pelas risadas e por sempre contribuir com muito carinho e, principalmente, paciência em todas as coisas.

Minha pequena família, Raphael, Amy e Lara, as últimas especificamente, me fizeram levantar cedo todos os dias, inclusive aos finais de semana, se certificando de que eu não perderia a hora, me acompanhando até a porta e me esperando voltar. Vocês preencheram meus dias mais difíceis com muito carinho e afeto e nunca me deixaram desistir. Eu amo todos vocês!

Minha orientadora, Cíntia, obrigada por aceitar este desafio e por sempre acreditar na minha capacidade, Aprendi que posso ir além do que eu um dia imaginei! E também a todos os residentes, estagiários, funcionários, servidores, professores e coordenadoras que me receberam com muito carinho nos diversos setores em que estive ao longo desses 24 meses. Pude aprender muito e me apaixonar pela saúde pública, pelo SUS e pela microbiologia. O espaço fica pequeno para agradecer a todos com quem cruzei nesses últimos anos!

Agradeço também à banca, por ler o meu trabalho e realizar essa tarefa tão importante para formar novos profissionais. Muito obrigada!

## RESUMO

A esporotricose é uma zoonose de relevância para a saúde pública, sobretudo no estado do Rio de Janeiro, que vive uma hiperendemia há mais de 20 anos. Causada por fungos *Sporothrix schenckii*, com predomínio de *S. brasiliensis* no Brasil, a principal forma de transmissão é zoonótica por felinos domésticos. Dentre as estratégias de enfrentamento desta zoonose, o Instituto de Medicina Veterinária Jorge Vaitsman (IJV/IVISA-Rio), no município do Rio de Janeiro, disponibiliza gratuitamente aos responsáveis por animais acometidos, o diagnóstico laboratorial e o tratamento clínico, através da dispensação do itraconazol, principal medicamento utilizado. Devido à documentada resistência a antifúngicos, o estudo analisa a susceptibilidade *in vitro* ao itraconazol, utilizando as técnicas de disco-difusão e microdiluição, em felinos assistidos pelo IJV/IVISA-Rio, envolvendo 99 animais. Dentre os felinos participantes, 51 (51,51%) foram positivos na cultura fúngica, e dentre estes, 7 (13,72%) tinham até 1 ano, 32 (62,74%) entre 1 e 6 anos e 12 (23,53%) acima de 6 anos, 23 (51,1%) eram machos e 22 (48,9%) fêmeas, 27 (52,9%) eram castrados e 24 (47,1%) não eram castrados. Todos os felinos eram SRD, 34 (66,7%) tinham acesso à rua, 8 não tinham (15,7%) e 9 (17,6%) não souberam informar. A maioria das lesões dos felinos estava localizada nas extremidades, 31 (60,78%) apresentaram lesões únicas e 20 (39,22%) em mais de uma região. Acerca do evento que possivelmente precedeu a doença, 21 (41,17%) não possuíam histórico, 11 (21,56%) relataram brigas, 10 (19,60%) contato com animal positivo, 3 (5,88%) fuga, 4 (7,86%) contato com planta/madeira e 2 (3,93%) após procedimento de castração. Sobre o tempo de evolução das lesões, 9 (17,64%) não possuíam histórico, 13 (25,49%) tinham menos de 1 mês, 21 (41,18%) entre 1 a 3 meses, 5 (9,80%) entre 4 a 6 meses, 1 (1,97%) entre 7 meses a 1 ano e 2 (3,92%) mais de 1 ano de evolução. Das 51 amostras positivas, 31 passaram pelo método de disco-difusão, sendo 11 (35,48%) sensíveis, 14 (45,16%) intermediárias e 6 (19,36%) resistentes ao itraconazol. Os casos de resistência a antifúngicos são de grande relevância para a saúde pública, sendo necessário mais estudos sobre o tema. A inclusão do antifungigrama na prática clínica pode auxiliar na conduta terapêutica e reduzir a transmissão da doença, bem como o incentivo à guarda responsável.

**Palavras-chave:** Zoonose. *Sporothrix schenckii*. Esporotricose. Farmacorresistência.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Morfologia dos conídios das espécies <i>S. schenckii</i> . (A) <i>S. brasiliensis</i> ; (B e C) <i>S. schenckii</i> ; (D) <i>S. globosa</i> e (E) <i>S. mexicana</i> .....	22
Figura 2 -	Forma filamentosa (A), com forma de “pétalas de margarida”, e leveduriforme (B), com formato de “charuto”, de <i>Sporothrix</i> spp.....	23
Figura 3 -	Macromorfologia de <i>S. schenckii</i> em Ágar Sabouraud Dextrose (40g/l) com Cloranfenicol (5mg/ml) após 10 dias a temperatura ambiente.....	23
Figura 4 -	Distribuição mundial de esporotricose felina ao redor do mundo. (A) Casos da doença no mundo. (B) Evolução espaço-temporal dos casos de esporotricose felina no Brasil, com SP e RJ atingidos em 1990, RS atingido entre 1990-2000 e em 2001-2016 a doença acometendo grande parte da região Sul e Sudeste do país.....	25
Figura 5 -	Ciclo da esporotricose.....	26
Figura 6 -	(A) Lesão granulomatosa nasal em felino, sendo caracterizada e denominada popularmente de “nariz de palhaço”. (B) Forma cutânea linfática generalizada em canino. Múltiplas lesões circulares, ulceradas e deprimidas.....	30
Figura 7 -	Esporotricose humana na forma cutâneo-linfática. Nódulos com secreção seropurulenta e pápulo-pústulas ao longo da cadeia linfática.....	30

Figura 8 -	Coleta de material para diagnóstico de esporotricose. (A) Coleta de material de lesão com <i>swab</i> . (B) Coleta com a técnica de <i>imprint</i> .....	32
Figura 9 -	Número e distribuição das lesões nos animais positivos para esporotricose na cultura fúngica.....	45
Figura 10 -	Teste de disco-difusão, demonstrando sensibilidade do <i>Sporothrix</i> spp. ao itraconazol.....	48
Figura 11 -	Teste de disco-difusão, demonstrando resistência do <i>Sporothrix</i> spp. ao itraconazol.....	49

## LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 - Resultados dos exames direto e de cultura fúngica para esporotricose.....	40
Gráfico 2 - Distribuição etária dos felinos positivos para esporotricose na cultura fúngica.....	41
Gráfico 3 - Sexo dos animais positivos para esporotricose na cultura fúngica.....	42
Gráfico 4 - Distribuição dos animais positivos para esporotricose na cultura fúngica quanto a esterilização cirúrgica.....	43
Gráfico 5 - Animais positivos na cultura fúngica, que possuíam ou não acesso à rua, segundo informação dos tutores, até o momento da entrevista....	44
Gráfico 6 - Evento que precedeu a esporotricose nos animais positivos na cultura fúngica.....	46

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Tempo de evolução das lesões de esporotricose relatado pelos tutores.....	47
Tabela 2 - Medição dos halos em milímetros (mm) da disco-difusão com itraconazol das amostras de <i>Sporothrix</i> spp.....	49

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

µg	Micrograma
µl	Microlitro
µm	Micrômetro
%	Porcentagem
BHI	<i>Brain Heart Infusion</i> (Ágar Infusão Cérebro Coração)
CCZ	Centro de Controle de Zoonoses
CDC	Centro de Controle e Prevenção de Doenças
CLSI	Instituto de Padrões Clínicos e Laboratoriais
DMSO	Dimetilsulfóxido
EUCAST	<i>European Committee for Antimicrobial Susceptibility Testing</i>
FIOCRUZ	Fundação Instituto Oswaldo Cruz
g	Gramma
h	Hora
I	Intermediário

IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
INI	Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas
IPB	Instituto Pet Brasil
ITZ	Itraconazol
IVISA-Rio	Instituto Municipal de Vigilância Sanitária, Vigilância de Zoonoses e de Inspeção Agropecuária
kg	Quilograma
KI	Iodeto de potássio
mg	Miligrama
MIC	Concentração inibitória mínima
ml	Mililitro
mm	Milímetro
nm	Nanômetro
não-WT	Não- <i>Wild Type</i> (Tipo não selvagem)
°C	Graus celsius
OMS	Organização Mundial da Saúde



ONG	Organização Não Governamental
PCR	Reação em Cadeia da Polimerase
R	Resistente
S	Sensível
SES/RJ	Secretaria de Estado de Saúde do Rio de Janeiro
SRD	Sem Raça Definida
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
UFC	Unidade Formadora de Colônias
USP	Universidade de São Paulo
WOAH	World Organization for Animal Health
WT	<i>Wild Type</i> (Tipo selvagem)

## SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	14
2	JUSTIFICATIVA.....	17
3	OBJETIVO.....	20
3.1	Objetivo geral.....	20
3.2	Objetivo específico.....	20
4	REFERENCIAL TEÓRICO.....	21
4.1	Características do agente etiológico.....	21
4.2	Histórico da doença.....	24
4.3	Epidemiologia.....	26
4.4	Fatores de risco.....	27
4.5	Desenvolvimento da doença nas diferentes espécies.....	29
4.6	Diagnóstico.....	31
4.7	Tratamento.....	32
4.8	Realização dos antifungogramas e monitoramento da resistência.....	34
5	MATERIAL E MÉTODOS.....	36
6	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	40
6.1	Caracterização clínico-epidemiológica da coorte o estudada.....	40
6.2	Análise da resistência <i>in vitro</i> pelo método de disco-difusão.....	48
6.3	Análise da resistência <i>in vitro</i> pelo método de microdiluição.....	50
7	CONCLUSÃO.....	51
	REFERÊNCIAS.....	53
	APÊNDICE I – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO.....	59
	APÊNDICE II - FICHA DE REGISTRO DE ENTREVISTA.....	60
	APÊNDICE III - QUADRO DE MEDIÇÃO DE HALOS DE INIBIÇÃO PELO ITRACONAZOL DE AMOSTRAS DE <i>Sporothrix</i> <i>spp</i> .....	67

## 1 INTRODUÇÃO

A esporotricose é uma doença zoonótica causada por fungos *Sporothrix schenckii*, classificados como dimórficos, geofílicos e sapróbios, sendo amplamente distribuídos na natureza, principalmente em solos ricos em matéria orgânica em decomposição, folhas secas, espinhos de plantas e madeira. É cosmopolita e afeta principalmente as zonas tropicais e subtropicais, sendo a doença endêmica no Brasil, sobretudo no estado do Rio de Janeiro. No ambiente a 25 °C, o fungo se apresenta na forma saprófita filamentosa e, no tecido do hospedeiro a 37 °C, em parasitismo, adquire morfologia leveduriforme (REZNIK, 2023; MARTINS *et al.*, 2023).

Classicamente, a transmissão da doença se dava a partir da inoculação traumática do fungo com plantas ou solos contaminados com a forma filamentosa. No Brasil, 91% dos casos em humanos estão associados ao contato com gatos, devido à presença de alta quantidade de agentes viáveis na superfície das lesões cutâneas dos felinos, sendo inoculados a partir de arranhaduras ou mordeduras, sendo os gatos os mais acometidos e principais reservatórios da enfermidade (REZNIK, 2023; MARTINS *et al.*, 2023).

Acredita-se que os fungos saprófitos dimórficos, como o *S. schenckii*, ao evoluírem, sofreram modificações morfológicas para se adaptarem ao ciclo de vida parasitária no seu hospedeiro. Há hipóteses de que mudanças no ambiente natural ao longo dos anos constituíram uma possível ponte entre o meio ambiente e o ser humano. Com o crescente aumento do número de animais e maior contato entre eles e humanos, o fungo entra em contato com a fauna, que interage com o ambiente e o retira da natureza. O agente, uma vez fora do ambiente em que exerce função decompositora, precisa adaptar-se ao novo meio, e desenvolve a função de parasita (SILVA, 2010; MATHIAS, 2014). Quando acontece esse tipo de “salto”, definido como “*spillover*”, em inglês, traduzido como “transbordamento”, definido segundo David Quammen, autor do livro “*Spillover: Animal Infections and the Next Human Pandemic*” (2012), como um “termo usado pelos ecologistas que estudam doenças para denotar o momento em que um patógeno passa de uma espécie hospedeira para membros de outra espécie”.

Muitas espécies fazem parte do gênero *Sporothrix*, porém o *S. brasiliensis*, *S. schenckii*, *S. globosa* e *S. luriei* são classificadas como patogênicas e consideradas importantes ameaças para a saúde humana e animal. As infecções causadas pelo *S.*

*brasiliensis* são altamente prevalentes nos casos animais no Brasil, estudos apontam diferenças na patologia e nos fatores de virulência, que apresenta maior carga fúngica, invasividade e dano tecidual extenso quando comparado com outros agentes *Sporothrix* (MONCRIEFF *et al.*, 2009; PEREIRA *et al.*, 2014; GREMIÃO *et al.*, 2017).

Com o atual panorama da epizootia no Rio de Janeiro, pode-se afirmar se tratar da maior epidemia de esporotricose felina do mundo, com 4.188 casos humanos diagnosticados até 2011 e 4.703 casos felinos diagnosticados com a doença até 2015. Os dados confirmam que a esporotricose deixou de ser uma doença restrita a trabalhadores rurais e floristas, tornando-se uma zoonose de caráter urbano (MICHELON *et al.*, 2019).

Em decorrência da conjuntura, o município do Rio Janeiro disponibiliza tratamento e diagnóstico gratuito para os animais acometidos pela doença através do Instituto de Medicina Veterinária Jorge Vaitsman (IJV) e o Centro de Controle de Zoonoses (CCZ), além da Fundação Instituto Oswaldo Cruz (FIOCRUZ). O itraconazol (ITZ) é o antifúngico de escolha para o tratamento, que pode ser associado ao iodeto de potássio (KI), indicado para os animais que apresentam sinais respiratórios da doença, lesões na região nasal, casos de recidiva ou falha terapêutica ao ITZ (REIS *et al.*, 2016; MIRANDA *et al.*, 2018; ROCHA *et al.*, 2018).

Apesar da disponibilização desses recursos, os responsáveis pelos animais enfrentam a dificuldade de administração da medicação aos animais, além da terapêutica ser prolongada, o que resulta em um alto índice de abandono de tratamento. Esse abandono pode causar danos individuais e coletivos, gerando um risco à saúde pública, tanto pelo prolongamento da doença, como no aumento da probabilidade de sua transmissão para humanos ou outros animais. O tratamento de gatos com esporotricose é essencial para controlar a endemia, sendo necessário um regime terapêutico efetivo. Medidas de saúde pública também devem ser colocadas em prática a fim de evitar a dispersão do fungo ou outras doenças infecciosas, tais como programas de conscientização para guarda responsável, castração e cremação de animais mortos (PEREIRA *et al.*, 2014; NASCIMENTO, 2019).

Pesquisas relatam casos de falhas terapêuticas mesmo após altas doses de ITZ em casos humanos, o que reflete um cenário preocupante para o controle da esporotricose. Isolados de *S. brasiliensis* de casos felinos e caninos têm sido descritos

como resistentes ao ITZ em estudos *in vitro*. Um estudo realizado em Rio Grande do Sul demonstrou que 34,5% dos isolados, derivados de cães e gatos, de *S. brasiliensis* foram considerados resistentes a todas as diferentes formulações testadas, o que destaca a emergência de isolados resistentes a ITZ de casos animais no Sul do Brasil (WALLER *et al.*, 2021).

## 2 JUSTIFICATIVA

Atualmente os animais de companhia têm representado um crescente e relevante papel na sociedade, contribuindo para o desenvolvimento físico, social e emocional de seus responsáveis. Tendo em vista essa relação próxima, os animais domésticos e silvestres, que convivem com pessoas no mesmo ambiente, seja ele natural ou urbano, são possíveis reservatórios de patógenos com potencial zoonótico. O estreitamento das relações entre o homem e os animais tem como resultado uma maior exposição humana às zoonoses, o que pode representar possíveis riscos à saúde pública (DE SOUSA *et al.*, 2015; GONÇALVES *et al.*, 2019).

Além da saúde humana e animal, também é importante destacar a saúde ambiental como um elemento indissociável e integrador com as demais. No livro “Veterinary Medicine and Human Health” de 1964, do médico veterinário norte-americano Calvin W. Schwabe, há um reforço acerca da importância da junção da saúde humana, animal e ambiental, com a expressão “One Medicine”, mais tarde denominada como “One Health”, em tradução para o português no Brasil como “Saúde Única”. O livro de Calvin traz na epígrafe a célebre frase do médico alemão Rudolf Virchow, que foi um dos precursores da Saúde Única: “Entre a medicina animal e a medicina humana não existem linhas divisórias, nem deveriam existir. O objeto é diferente, mas a experiência obtida constitui a base de toda medicina”.

Segundo a World Organization for Animal Health (WOAH), fatores como mudanças climáticas, o uso da terra e agricultura, a globalização, o comércio de vida selvagem, urbanização desordenada e a falta de saneamento básico, oferecem múltiplas oportunidades para que os patógenos evoluam para novas formas e se propaguem entre humanos e animais de forma mais frequente e intensa. As estatísticas apontam que cerca de 60% dos patógenos humanos e 75% dos patógenos emergentes humanos têm origem animal, e segundo o Centro de Controle e Prevenção de Doenças (CDC), mais da metade de todas as infecções humanas podem ser transmitidas por animais (WOAH, 2015; GONÇALVES *et al.*, 2019; CDC, 2020).

Os agentes zoonóticos podem ser diversos microrganismos, tais como, vírus, bactérias, fungos, protozoários e entre outros, e os animais podem desempenhar um papel essencial na manutenção das infecções zoonóticas, além de estarem vulneráveis ao desenvolvimento de doenças micóticas, como a esporotricose. Muitos fungos podem ser encontrados naturalmente no meio ambiente, no solo e no ar, como o *S. schenckii* (FERREIRA, 2018; RIBEIRO; PINTO; CHAVES, 2023).

Na atualidade, a esporotricose é considerada a principal micose subcutânea de caráter zoonótico diagnosticada em território brasileiro. Nesse contexto, os gatos domésticos desempenham um papel relevante na epidemiologia da doença, pois quando infectados pelo fungo, carregam uma abundância de células leveduriformes em suas lesões, sob as unhas, narinas e boca, infectando outros animais e humanos. As regiões do país mais afetadas pela doença são o Sul e o Sudeste, pois além dos aspectos sazonais, tais como o clima quente e úmido, também há questões culturais importantes, que contribuem para a disseminação de doenças, como o abandono de cães e gatos e a falta de guarda responsável dos animais domésticos (GONÇALVES *et al.*, 2019; RIBEIRO; PINTO; CHAVES, 2023).

A população dos felinos domésticos, segundo os levantamentos realizados pelo Censo Pet do Instituto Pet Brasil (IPB), aumentou cerca de 6% no Brasil no ano entre 2020 e 2021, fazendo com que eles ocupem o terceiro lugar no *ranking* nacional de animais de estimação, com uma população estimada em 27,1 milhões. Nos anos anteriores esse aumento já começou a ser observado, ultrapassando o crescimento populacional anual dos cães (Instituto Pet Brasil, 2022).

Segundo o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), em relação à presença de gatos, em 2019, cerca de 19,3% dos domicílios do País possuíam pelo menos um felino, o que equivale a 14,1 milhões de unidades domiciliares. Outros levantamentos revelam que cerca de 3,9 milhões de animais encontram-se em situação de vulnerabilidade ao abandono e 172.083 estão sob tutela de ONGs (Organização Não-Governamental) ou grupos de protetores (Instituto Pet Brasil, 2019; Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, 2020).

Além do aumento do número de gatos no País, os hábitos da espécie, tais como cobrir seus dejetos com terra, brigar com outros animais por território ou fêmeas, afiar as unhas em árvores, lamber as feridas, os predispõe a se tornarem transportadores do fungo e o disseminá-lo pelo ambiente (BAZZI *et al.*, 2016; CDC, 2020).

Desde 1998, a esporotricose é relatada como uma hiperendemia no Estado do Rio de Janeiro, em consequência de transmissão zoonótica por gatos, e desde 2013 a doença humana passou a ser de notificação compulsória a partir da Resolução n.º 674, de 12 de julho de 2013, da Secretaria de Estado de Saúde do Rio de Janeiro (SES/RJ). Estudos apontam o aumento de casos em humanos e animais, desde 1997 até os dias atuais, sendo vista como uma zoonose negligenciada no Brasil (GONÇALVES *et al.*, 2019; BARBOSA, 2020).

Para o tratamento da esporotricose felina, os antifúngicos do grupo dos azólicos, como o itraconazol, são uma opção terapêutica. Porém, devido a um número limitado dessas drogas orais, a terapia é um desafio quando os pacientes são os felinos domésticos. Muitos dos casos refratários aos antifúngicos convencionais são decorrentes de um prévio histórico de terapia sem sucesso clínico, e dentre os fatores que podem contribuir para isso estão a escolha de medicamentos e as doses terapêuticas de acordo com a suscetibilidade do agente aos antifúngicos. Estudos *in vitro* relataram altos valores de MIC (concentração inibitória mínima) para o itraconazol em território brasileiro, caracterizando resistência antifúngica, resultando, como consequência, em uma infecção de difícil controle (NAKASU *et al.*, 2021).

A resistência ao ITZ já é documentada em diversas localidades, incluindo países da América Latina, como o Brasil, Colômbia, México e Argentina, no entanto, até o momento não foi estabelecido um protocolo de monitoramento contínuo para tal evento (FLÓREZ-MUÑOZ *et al.*, 2019; GREMIÃO *et al.*, 2020 a; WALLER *et al.*, 2021; PINTO, 2021).

Considerando que: (i) a resistência a antifúngicos vem sendo documentada entre isolados das diferentes espécies que compõem o gênero *Sporothrix* spp.; (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 e outros antifúngicos se justifica e pode contribuir como indicador para a remodelação de estratégias de controle da esporotricose.



### 3 OBJETIVO

#### 3.1 Objetivo geral

Realizar estudo comparativo da resistência *in vitro* ao itraconazol de amostras de *Sporothrix schenckii* isoladas no Laboratório de Zoonoses de Bacteriologia e Micologia do Instituto Municipal de Medicina Veterinária Jorge Vaitsman (IJV) pelas metodologias de disco-difusão e microdiluição.

#### 3.2 Objetivos específicos

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

- i. Isolar e identificar amostras de *Sporothrix schenckii* a partir de materiais encaminhados para análise no Laboratório de Zoonoses I - Bacteriologia e Micologia do IJV;
- ii. Avaliar a resistência das amostras isoladas ao itraconazol (principal agente antimicrobiano indicado para o tratamento das infecções associadas de *S. schenckii* em felinos) por meio de métodos preconizados pelo *Clinical & Laboratory Standards Institute* (CLSI) (disco-difusão e microdiluição);
- iii. Estabelecer análise comparativa das metodologias aplicadas;
- iv. Correlacionar características microbiológicas dos isolados e resistência ao itraconazol.

## 4 REFERENCIAL TEÓRICO

### 4.1 Características do agente etiológico

Os fungos são organismos classificados como eucariotos, heterotróficos, ou seja, não produzem o próprio alimento, se alimentam por absorção, crescem de forma difusa e têm como unidade celular as chamadas hifas e a parede celular é composta por quitina e glucano. Há uma variedade imensa de espécies e diversas funções ecológicas, dentre elas, por exemplo, a decomposição da matéria orgânica, desempenhando um papel fundamental na manutenção dos ecossistemas (JUVINO, 2022).

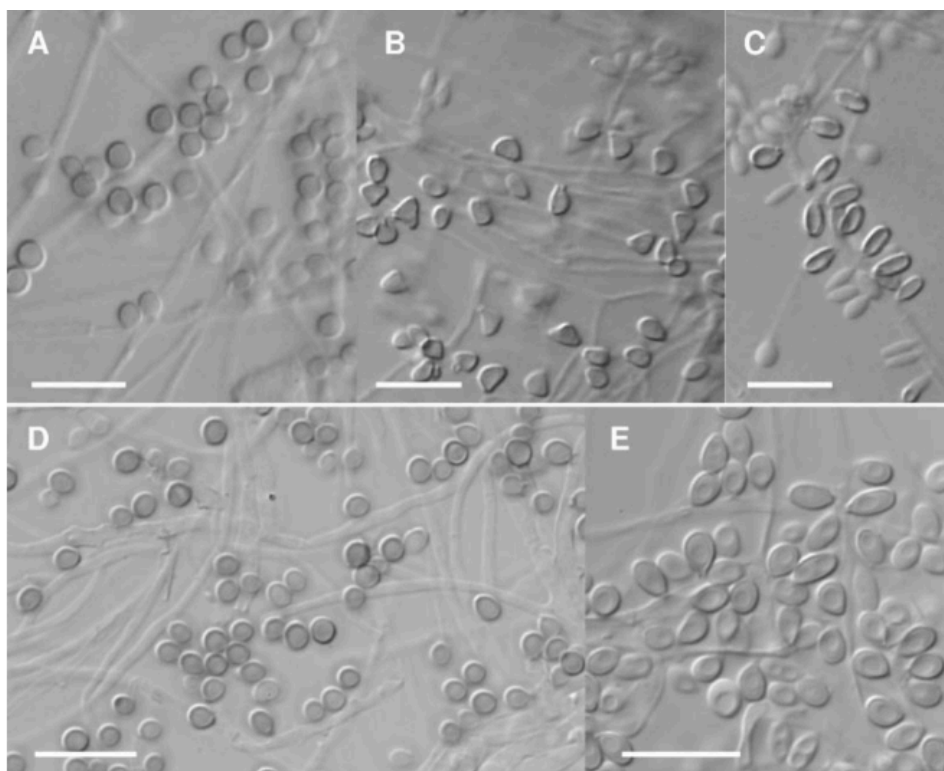
Além do papel ecológico, os fungos são utilizados na indústria farmacêutica, pois a partir da produção de compostos enzimáticos como produto do metabolismo, geram citotoxinas que inibem o crescimento bacteriano, como exemplo, a penicilina, produzida a partir do gênero *Penicillium*, que teve o mecanismo descoberto por Alexander Fleming, descoberta esta que revolucionou a medicina. Na culinária, o *Agaricus bisporus* é amplamente consumido, sendo conhecido popularmente como champignon (ROSA, 2021; JUVINO, 2022).

Além das aplicabilidades citadas, os fungos também são agentes etiológicos de diversas doenças que afetam humanos e animais, tais como a *Candida albicans*, agente causador da candidíase, e o *Cryptococcus neoformans*, que causa a criptococose, bem como a esporotricose, doença causada por fungos de *Sporothrix* spp. (JUVINO, 2022).

Atualmente, o fungo causador da esporotricose é classificado como pertencente ao Reino Fungi, Sub-reino Dikarya que abrange o Filo Ascomycota, Subfilo Pezizomycotina, Classe Sordariomycetes, Subclasse Sordariomycetidae, Ordem Ophiostomatales, Família Ophiostomataceae e Gênero *Sporothrix*, com mais de 100 espécies identificadas até o momento. As espécies *S. schenckii*, *S. brasiliensis*, *S. globosa*, *S. mexicana* já foram isoladas no Brasil, no entanto, o *S. brasiliensis* é considerado a espécie mais virulenta de *Sporothrix*, sendo o agente encontrado predominante em gatos domésticos (Figura 1) (BAZZI *et al.*, 2016; MYCOBANK, 2023).

**Figura 1** - Morfologia dos conídios das espécies *S. schenckii*. (A) *S. brasiliensis*; (B e C) *S. schenckii*;

(D) *S. globosa* e (E) *S. mexicana*.

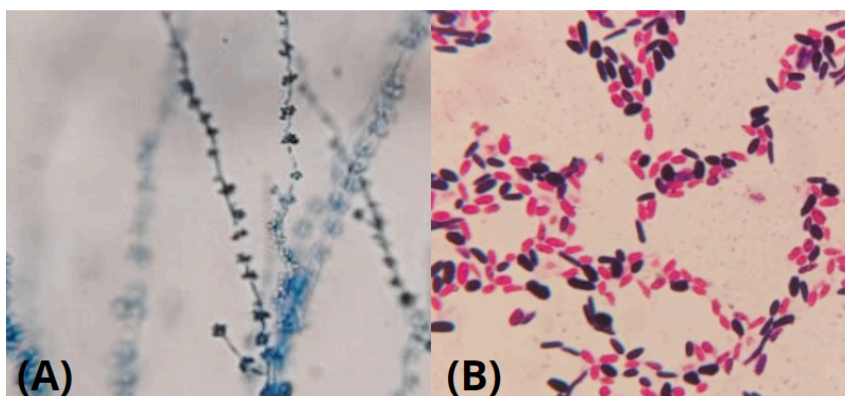


Fonte: MARIMON *et al.*, 2007.

O *Sporothrix* spp. é aeróbio, se reproduz de forma sexuada, adquire nutrientes a partir de material orgânico em decomposição. Também é classificado como dimórfico, pois assume a forma filamentosa na natureza a temperatura ambiente (25 °C), sendo caracterizada pela presença de hifas hialinas, septadas com conídios arranjados em forma de “pétalas de margarida”, enquanto a forma leveduriforme, nos tecidos do hospedeiro (37 °C), é composta de células globosas ou ovais, semelhante a um formato de “charuto” (Figura 2). As espécies que pertencem ao complexo apresentam diferenças morfológicas, fenotípicas e genotípicas, tendo a termotolerância como fator comum dentro da biologia das mesmas (LOPES, 2018; GUEDES, 2022).

**Figura 2** - Forma filamentosa (A), com forma de “pétalas de margarida”, e leveduriforme (B), com

formato de “charuto”, de *Sporothrix* spp.



Fonte: autora, 2023.

Macro-morfológicamente é possível observar, na forma sapróbia, o crescimento de colônias claras, de aspecto algodinoso com sulcos, tendendo a colônia a escurecer com o tempo (Figura 3). Na forma parasitária, observam-se colônias de coloração de branco a creme com aspecto cremoso e irregular (GUEDES, 2022).

**Figura 3** - Macromorfologia de *S. schenckii* em Ágar Sabouraud Dextrose (40g/l) com Cloranfenicol (5mg/ml) após 10 dias a temperatura ambiente.



Fonte: autora, 2023.

O *Sporothrix* spp. pode ser isolado nos meios de cultivo Ágar Infusão Cérebro e Coração (Brain Heart Infusion, ou BHI) e em Ágar Sabouraud Dextrose com cloranfenicol e Ágar Mycosel com cicloheximida em que se observa o desenvolvimento da forma micelial (GREMIÃO *et al.*, 2020 a; GUEDES, 2022;

REZNIK, 2023).

#### 4.2 Histórico da doença

A esporotricose foi descrita pela primeira vez em 1898, nos Estados Unidos, pelo estudante de medicina Benjamin Schenck. O agente etiológico foi identificado pelo patologista Erwin F. Smith como uma espécie de fungo pertencente ao gênero *Sporotrichum*. Em 1900, foi relatado outro caso por Hektoen e Perkins, que sugeriram o nome atualmente conhecido *Sporothrix schenckii* (OROFINO-COSTA *et al.*, 2017).

Os primeiros casos registrados eram transmitidos a partir da inoculação traumática causada por plantas ou contato do fungo com a mucosa, sendo popularmente conhecida como “doença do jardineiro”. No entanto, com o surgimento de novos fatores houve um maior registro de casos de transmissão zoonótica, principalmente a partir de arranhadura ou mordedura de gatos domésticos (OROFINO-COSTA *et al.*, 2017; SILVA, 2018).

Historicamente foi documentado surtos da doença, como o caso que ocorreu no século XX, em uma mina de ouro na África do Sul entre os anos 1938 e 1947, em que aproximadamente 3.300 mineiros ficaram doentes ao respirarem esporos do fungo, adquirindo a forma pulmonar, e na década de 90, nos Estados Unidos, em que 84 jardineiros de diferentes Estados se infectaram com palha contaminada pelo fungo oriundas de um mesmo fornecedor (BARBOSA, 2020).

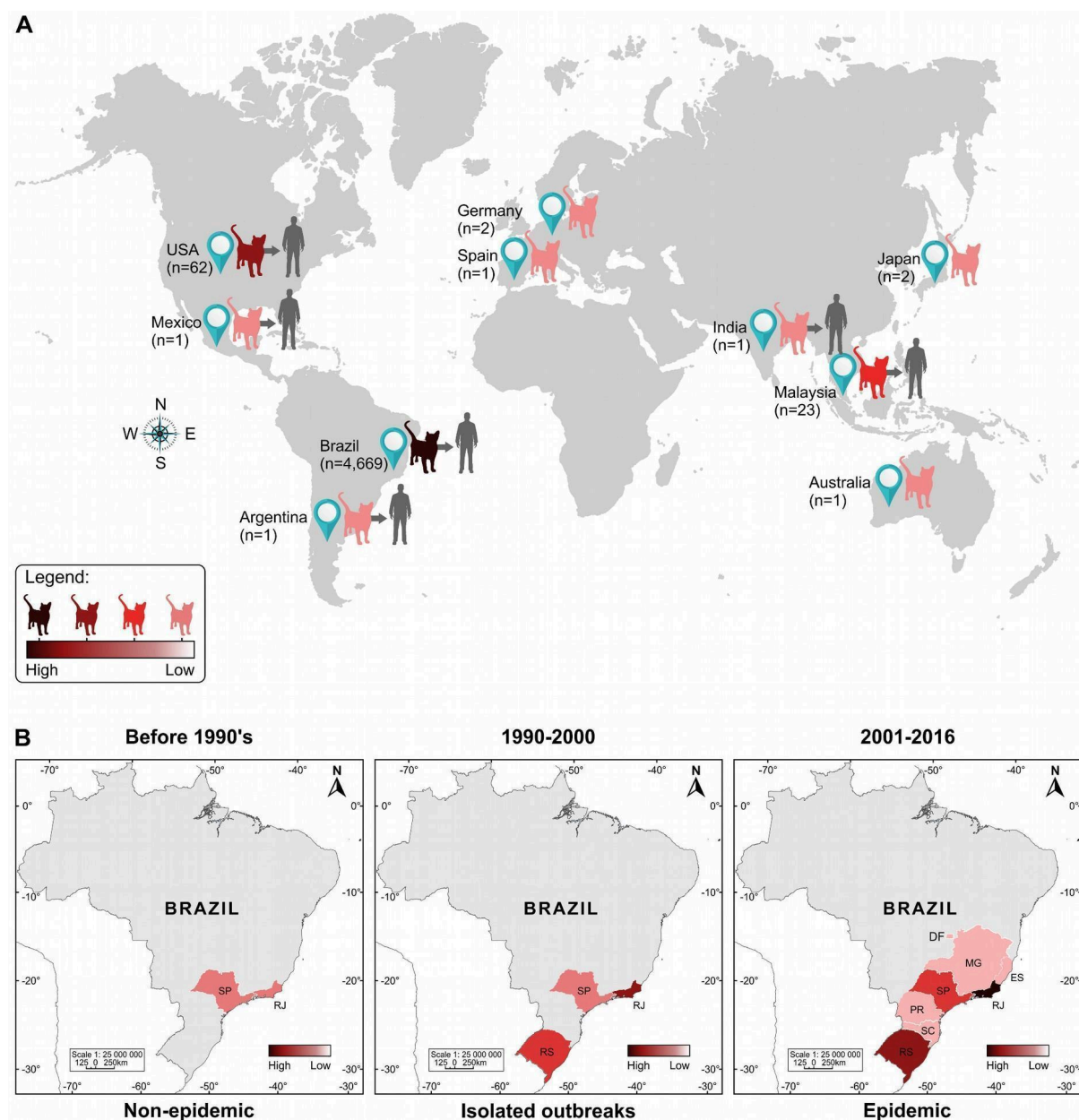
A primeira evidência de transmissão da esporotricose a partir de gatos foi documentada em 1952, nos Estados Unidos. No Brasil, o primeiro caso da doença, transmitido a partir de um felino, foi reportado em 1955, no Estado de São Paulo. Décadas depois, novos casos da doença animal foram documentados, bem como casos humanos transmitidos pelos felinos (GREMIÃO *et al.*, 2020 a).

No final do século XX, a esporotricose foi considerada um problema de saúde pública no Brasil, sobretudo no Estado do Rio de Janeiro, no entanto, mais casos da doença começaram a ser relatados em demais regiões do país. Desde 1990 a doença é considerada epidêmica no Estado, considerado um dos maiores surtos de esporotricose em humanos e animais já registrados (LIMA *et al.*, 2019; BARBOSA, 2020; BISON; PARENTONI, BRASIL, 2020).

Segundo o CDC (2020), antes de 1990, o *S. brasiliensis* era conhecido apenas no Sudeste, próximo de São Paulo e Rio de Janeiro, porém, em 2018, casos de esporotricose foram identificados em mais oito estados nas regiões Sul e Leste do

Brasil (Figura 4), havendo também uma preocupação da doença atingir países vizinhos em decorrência do trânsito de animais doentes.

**Figura 4** - Distribuição mundial de esporotricose felina ao redor do mundo. (A) Casos da doença no mundo. (B) Evolução espaço-temporal dos casos de esporotricose felina no Brasil, com SP e RJ atingidos em 1990, RS atingido entre 1990-2000 e em 2001-2016 a doença acometendo grande parte da região Sul e Sudeste do país.



Fonte: GREMIÃO *et al.*, 2017.

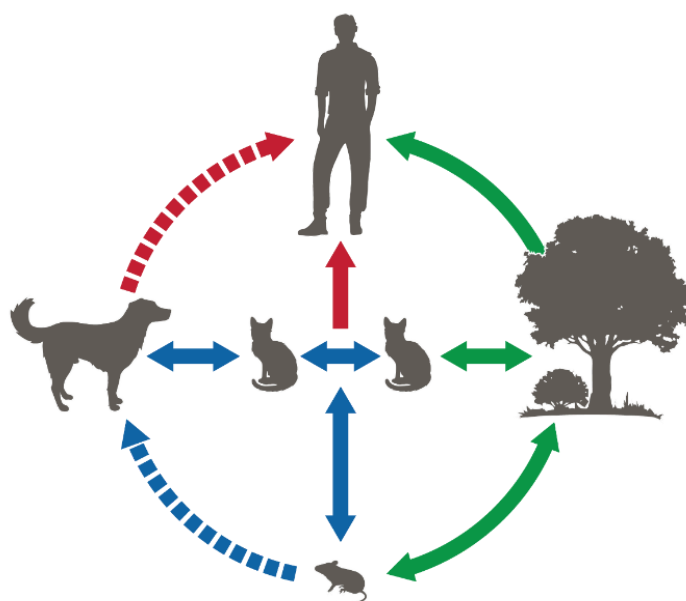
Em 1906, na França, cientistas isolaram o fungo da pelagem de ratos, gatos e

coelhos que viviam em estábulos com cavalos infectados, o que corrobora com a hipótese que animais saudáveis podem carrear o fungo, fato este que expõe a importância epidemiológica significativa dos felinos, podendo ser considerado como um gatilho para os casos relacionados enfrentados atualmente. Isto é, o ciclo de transmissão de *Sporothrix* spp. de animais para humanos já havia sido relatado, porém, seu significado epidemiológico só foi reconhecido a partir do surto de esporotricose transmitida por gatos em 1998, no estado do Rio de Janeiro. Em outras palavras, o surto destacou a importância desse ciclo de transmissão para a saúde pública (GREMIÃO *et al.*, 2020 a).

### 4.3 Epidemiologia

Com a interação entre os gatos domésticos e o meio ambiente, onde o fungo está naturalmente presente, houve a ponte para a infecções humanas e animais pelo *S. schenckii* (Figura 5), no entanto, há fatores que aumentam o risco de ocorrência da infecção, tais como o crescente e significativo aumento na população de felinos domésticos bem como os hábitos da espécie, como afiar as unhas, enterrar dejetos e disputar território, o que favorece a inoculação do fungo em outros animais ou humanos (SILVA, 2010; GONÇALVES *et al.*, 2019).

**Figura 5** – Ciclo da esporotricose.



Fonte: CDC, 2020.

A esporotricose pode ser transmitida a partir da inoculação traumática do

agente etiológico, que pode ocorrer durante o manuseio de solo contaminado, plantas ou matéria orgânica, em que o fungo penetra na pele não íntegra ou em mucosas ou por transmissão zoonótica, que está associada a inoculação a partir da arranhadura, mordedura, ou ainda de lambeduras em pele não íntegra ou mucosas, em que o fungo entra em contato com o hospedeiro causando a infecção (GONÇALVES *et al.*, 2019).

Para os humanos, a doença é atualmente transmitida majoritariamente de maneira zoonótica, a partir de arranhadura ou mordedura de um felino que esteja doente ou carregando o fungo presente no ambiente. Os demais mamíferos e os cães não estão diretamente relacionados à transmissão zoonótica da esporotricose, alguns autores associam a uma possível menor quantidade de carga fúngica presente em suas lesões, além dos hábitos de vida desses animais. Desta forma, a transmissão entre os gatos e entre gato-humano perpetua a transmissão, o que provoca uma expansão territorial dos casos observada atualmente (SCHECHTMAN *et al.*, 2022; GUEDES, 2022).

Segundo a tese de VIANA (2016), que levantou dados acerca da esporotricose canina, foi observado que 78,2% dos cães positivos para esporotricose atendidos no Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas (INI/FIOCRUZ) tiveram contato com felinos, ratificando a importância desses animais como fonte de infecção do *Sporothrix* spp. não só para os humanos, mas para os cães e demais espécies.

#### **4.4 Fatores de risco**

O alto índice de abandono de animais é um fator que contribui para a ocorrência de zoonoses, uma vez que esses animais em situação de vulnerabilidade estão expostos a outros animais, a doenças e situações diversas. Os números de abandonos no Brasil são alarmantes, a Organização Mundial da Saúde (OMS) estima que em 2014 existiam mais de 30 milhões de animais abandonados no país, sendo 20 milhões de cães e 10 milhões de gatos. Em cidades de grande porte, para cada cinco habitantes há um cachorro, e destes, 10% estão em situação de abandono. Para o Poder Público, a diminuição do número de animais abandonados nas ruas proporciona uma melhora na saúde pública, pois reduz as chances da ocorrência de doenças transmitidas pelo contato com os animais (SANTOS, 2021).

Além da questão do abandono, as mudanças climáticas podem contribuir para o crescimento da doença, devido ao aumento da temperatura. Nos últimos 50 anos observou-se que a taxa de temperatura do mundo dobrou, e que aquecimento global e



as variações climáticas influenciam diretamente na epidemiologia das doenças zoonóticas, pois altera a dinâmica dos hospedeiros, vetores e patógenos, bem como suas interações. Fortes associações já foram documentadas acerca do acontecimento de eventos climáticos e surtos de malária, cólera, peste, hantavírus e várias outras doenças emergentes. No Rio de Janeiro o clima úmido e quente é favorável ao desenvolvimento do agente etiológico (GONÇALVES *et al.*, 2019; RUPASINGHE, CHOMEL, MARTÍNEZ-LÓPEZ, 2022).

As doenças zoonóticas são frequentemente originadas e transmitidas por animais selvagens ou domésticos, porém há também outros fatores que produzem condições adequadas que permitem que patógenos zoonóticos se amplifique e se adaptem a novos nichos, tais como forças ecológicas, econômicas, sociais e política. A dinâmica das doenças zoonóticas não pode ser projetada por modelos que consideram apenas os fatores climáticos, embora muitas pesquisas sejam dedicadas à compreensão do impacto das mudanças climáticas na dinâmica das doenças zoonóticas, há um amplo conhecimento do papel de outros processos globais, como mudança no uso da terra, urbanização, comércio e viagens internacionais e fatores socioeconômicos (RUPASINGHE, CHOMEL, MARTÍNEZ-LÓPEZ, 2022).

Em relação aos felinos domésticos, sendo a principal e mais sensível espécie afetada pela doença, bem como a espécie com maior potencial de transmissão, a maior ocorrência é relatada em animais adultos jovens, machos e não castrados. A mobilidade e acesso dos gatos em áreas abertas ao redor de suas residências, ou animais errantes, comunitários ou semi domiciliados, o envolvimento em brigas, principalmente os gatos machos não castrados, por território e também por fêmeas, tornando os animais em idade reprodutiva mais expostos, além do hábito de arranhar troncos de árvores e entre outros fatores comportamentais, facilitam a dispersão de *Sporothrix* spp. no meio ambiente e os animais doentes, por sua vez, ampliam deste modo a contaminação ambiental, sendo relevantes fatores de risco. Esses animais têm um papel importantíssimo na transmissão e propagação da zoonose (MACÊDO-SALES *et al.*, 2018; ALMEIDA *et al.*, 2018; GREMIÃO *et al.*, 2020 a; CARDOSO *et al.*, 2023).

Outro aspecto importante a ser abordado é o destino incorreto de animais que faleceram em decorrência da esporotricose. A destinação correta é a cremação desses animais, mas devido à falta de informação e conhecimento, muitos animais são enterrados, por conseguinte, o fungo entra em contato e contamina a terra, se mantendo

no ambiente e contribuindo para o ciclo, podendo originar outros focos da doença. Segundo o Professor Alberto Pacheco, do Instituto de Geociências da Universidade de São Paulo (USP), na cidade, cerca de 60% dos animais mortos são depositados em terrenos, quintais e jardins. Dos outros, 7% são colocados em sacos de lixo na calçada ou caçambas, 20% são jogados na rua e apenas 13% são entregues a uma clínica veterinária para a destinação correta. Embora seja uma ação que pareça inofensiva, o enterro inadequado pode gerar danos ambientais e impactar a saúde pública, pois após um período, o local em que o animal foi enterrado pode ser reutilizado para outros fins, como para plantações e criação de animais, e diversos microrganismos zoonóticos são capazes de sobreviver por longos períodos no ambiente (MENEZES, 2021).

A esporotricose tem se tornado presente em áreas urbanas e prevalentemente em regiões periféricas negligenciadas, com condições de saneamento básico precário, o que é considerado também como um fator de risco para a ocorrência da doença, pois a falta de saneamento contribui para instalação e disseminação de algumas doenças, inclusive as zoonoses, como a esporotricose (GONÇALVES *et al.*, 2019; GUEDES, 2022).

A conscientização acerca da guarda responsável dos animais é uma ferramenta importante para a prevenção da doença, quebrando o ciclo de transmissão. Com a conscientização acerca da castração da população felina, do abandono, a correta criação de felinos, bem como a correta destinação dos cadáveres dos animais que vieram a óbito ou que foram destinados à eutanásia são fundamentais no combate a esporotricose zoonótica transmitida sobretudo pelos felinos domésticos (MENNA BARRETO, 2018).

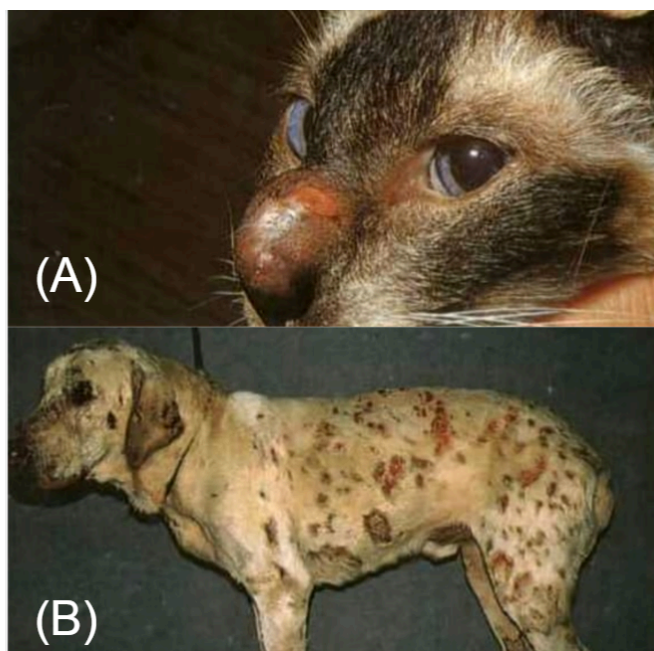
#### **4.5 Desenvolvimento da doença nas diferentes espécies**

O *Sporothrix* pode causar a esporotricose tanto em humanos como também em várias outras espécies animais, além dos felinos domésticos, tais como cavalos, cães, muares, camelos, golfinhos, pássaros, suínos e bovinos. São descritas três formas clínicas para a esporotricose: cutânea, cutânea linfática e disseminada, podendo também coexistir entre si (SANTOS; ALESSI, 2010).

Nos gatos, a forma mais comum é a cutâneo-linfática, em que se observam nódulos, ulcerados ou não, enquanto nos cães, as formas mais comuns são cutânea e cutânea linfática (Figura 6). Nos equinos a doença está relacionada após algum acidente traumático perfurante, resultando em diversos nódulos que podem ulcerar. Nos

humanos (Figura 7), a forma doença se apresenta principalmente na forma cutâneo-linfática, em mais de 75% dos casos, em que se observa lesões ulceradas com secreção mucopurulenta, que costumam ser restritas à pele, tecido subcutâneo e vasos linfáticos adjacentes, formas mais graves estão relacionadas com pacientes imunodeprimidos (SANTOS; ALESSI, 2010; SCHECHTMAN *et al.*, 2022).

**Figura 6** - (A) Lesão granulomatosa nasal em felino, sendo caracterizada e denominada popularmente de “nariz de palhaço”. (B) Forma cutânea linfática generalizada em canino. Múltiplas lesões circulares, ulceradas e deprimidas.



Fonte: WILKINSON; HARVEY, 1996 adaptado.

**Figura 7** - Esporotricose humana na forma cutâneo-linfática. Nódulos com secreção seropurulenta e pápulo-pústulas ao longo da cadeia linfática.



Fonte: SCHECHTMAN *et al.*, 2022.

A localização mais frequente das lesões nos gatos é na cabeça e nos membros

anteriores, o que pode refletir as áreas mais expostas durante as brigas ou até mesmo que entram em contato com o solo ou com plantas. Nos cães, as lesões predominantemente são observadas em região cefálica, principalmente no nariz, na mucosa nasal e nos membros locomotores e em humanos, em maioria, as lesões estão localizadas nas mãos, antebraços, pernas e rosto, que estão mais expostos ao contato e à arranhaduras e/ou mordeduras dos felinos domésticos (VIANA, 2016; MACÊDO-SALES *et al.*, 2018; SCHECHTMAN *et al.*, 2022).

A enfermidade não é muito frequente nos cães, sendo eles pouco sensíveis ao agente etiológico em comparação aos felinos. Não há relatos consideráveis até então acerca da transmissão canina ao homem, o que pode ser explicado pela ínfima quantidade fúngica presente nos exsudatos e/ou lesões. Em relação à doença nos equinos, são poucos os relatos recentes no país (LARSSON, 2011).

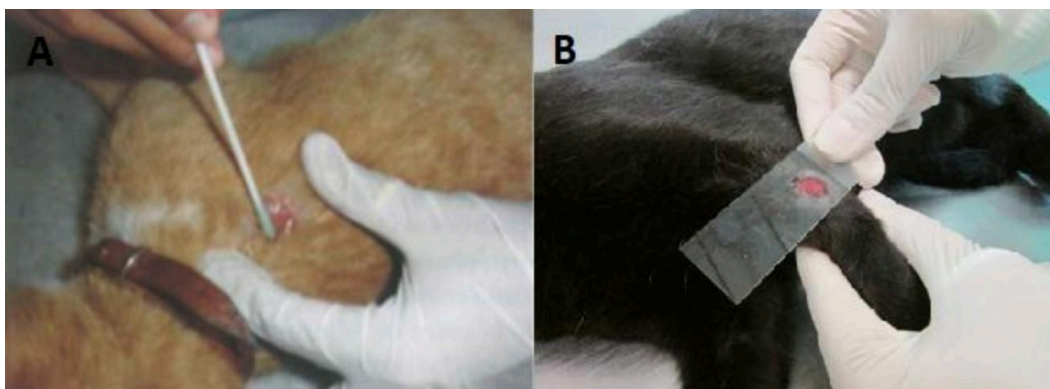
#### 4.6 Diagnóstico

Para diagnosticar a esporotricose é fundamental que haja uma suspeita clínica aliada com o histórico, anamnese, dados epidemiológicos, manifestações clínicas e exames complementares, no entanto, o diagnóstico definitivo se dá a partir do isolamento do agente com *swab* estéril (Figura 8), a partir de exsudado ou fragmento da lesão obtido sendo semeado em meio de cultura, com a identificação do patógeno a partir das características morfológicas, sendo considerado este o padrão-ouro (MENNA BARRETO, 2018; LIMA *et al.*, 2019).

Também é possível realizar a citologia, que é um exame direto feito pressionando a lâmina diretamente em contato com a lesão, para obtenção da secreção com elevada celularidade, para posterior coloração e análise à microscopia de luz, método chamado de *imprint* (Figura 8), no entanto, pode acusar um falso negativo por faltas de levedura naquele material no momento da coleta, especialmente nas infecções com baixa produção de leveduras, como ocorre em alguns felinos e na maioria dos casos em caninos e humanos. A histopatologia e a sorologia também são opções de técnicas a serem utilizadas, enquanto a imunohistoquímica e reação em cadeia de polimerase (PCR) não são técnicas implementadas rotineiramente (MENNA BARRETO, 2018; GREMIÃO *et al.*, 2020 b).

**Figura 8** - Coleta de material para diagnóstico de esporotricose. (A) Coleta de material de lesão com

swab. (B) Coleta com a técnica de *imprint*.



Fonte: MENNA BARRETO, 2018.

Segundo a Nota Técnica n.º 3/2011 da FIOCRUZ, que tornou todos os casos suspeitos da esporotricose felina e humana de notificação compulsória no estado do Rio de Janeiro, o diagnóstico laboratorial baseia-se exclusivamente no isolamento do *Sporothrix*. Isto se dá pelo alto número de casos refratários ao tratamento, sendo imprescindível a realização da cultura para investigação do agente etiológico e o perfil de susceptibilidade aos antifúngicos (MACÊDO-SALES *et al.*, 2018).

As lesões cutâneas nos felinos contêm uma maior quantidade de células fúngicas infectantes, diferentemente das demais espécies, os caracterizando como notável fonte de infecção, diferentemente dos cães, que possuem poucas leveduras nos exsudatos das feridas, raramente observadas ao exame direto pela técnica de *imprint*, sendo fundamental o isolamento fúngico para confirmação do diagnóstico (LARSSON, 2011; ALMEIDA *et al.*, 2018).

#### 4.7 Tratamento

Segundo o “Guideline for the management of feline sporotrichosis caused by *Sporothrix brasiliensis* and literature revision” de GREMIÃO *et al.* (2020 b), há um número limitado de agentes antifúngicos orais para o tratamento da esporotricose em gatos, sendo o itraconazol e iodeto de potássio os antifúngicos mais comumente utilizados para o tratar da doença. No entanto, o ITZ é a principal droga de escolha para o tratamento monoterápico, devido à eficácia já relatada, mas, com o passar do tempo, cepas insensíveis ao ITZ estão sendo documentadas.

O tratamento com KI associado ao ITZ é uma opção relevante para os casos refratários à monoterapia com ITZ, principalmente para os animais com lesões em

plano nasal e/ou sinais respiratórios. Outro fármaco utilizado é a anfotericina B, as formulações lipídicas são indicadas para tratar formas disseminadas da doença e não apresentaram toxicidade para os felinos, no entanto, por via intravenosa, o uso é limitado, devido aos efeitos adversos. O uso intralesional ou subcutâneo em associação a ITZ oral também é uma boa alternativa nos casos refratários à monoterapia com ITZ. A terbinafina demonstrou eficácia no tratamento da esporotricose humana e nos cães, mas em felinos os efeitos ainda são desconhecidos, enquanto o antifúngico fluconazol tem histórico de ter sido utilizado no tratamento de um felino com lesões e sinais respiratórios recorrentes, em que se obteve êxito na cura clínica da doença, no entanto, a eficácia e segurança precisa ser esclarecida. Além dos fármacos citados, a termoterapia, tratamento cirúrgico e criocirurgia também são outras opções para o tratamento da esporotricose animal (GREMIÃO *et al.*, 2020 b).

Conforme a avaliação clínica do animal a terapêutica é estabelecida, sendo as doses de ITZ, administrado por via oral, preconizadas para felinos com peso maior ou igual a 3 quilogramas (kg) a dosagem de 100 miligramas (mg)/24 horas (h); para animais com peso menor que 3 kg maior ou igual a 1 kg a dosagem de 50 mg/24h e para animais com peso menor que 1 kg a dosagem de 25 mg/kg/24h. Quando o ITZ é associado ao KI, administrado por via oral, as doses são de 2,5 a 5 mg/kg/24h, no entanto, se não houver resposta, a dose pode ser aumentada até 20 mg. Na primeira semana de terapêutica com o KI, as cápsulas devem ser administradas alternadas a cada 48h, e na segunda semana, ofertada a cada 24h. Pelo fato da metabolização do ITZ e KI serem hepáticas, os animais podem sofrer com a elevação nos níveis de transaminases e associar ao tratamento os hepatoprotetores, tais como a silimarina oral (30 mg/kg/24h) ou S-adenosilmetionina (20 mg/kg/24h), em conjunto com o monitoramento clínico e bioquímico (GREMIÃO *et al.*, 2020 b).

Ainda conforme o *guideline*, o ITZ não deve ser administrado com antiácidos (antagonistas dos receptores H<sub>2</sub> ou bomba de prótons bloqueadores), pois a alcalinidade diminui a absorção. Para facilitar o manejo e evitar acidentes durante a administração, que podem acarretar a transmissão zoonótica da esporotricose, as cápsulas de ITZ e KI podem ser abertas e misturadas em ração úmida.

A administração do ITZ deve ser feita diariamente por cerca de pelo menos três a seis meses, se estendendo por mais um mês após a remissão dos sinais clínicos. Levando em consideração a longa duração do tratamento, a terapêutica e o manejo em cães e gatos são grandes desafios para os responsáveis em condições socioeconômicas

vulneráveis devido ao alto custo do tratamento (WALLER *et al.*, 2020).

#### 4.8 Realização dos antifungogramas e monitoramento da resistência

Os uso dos *guidelines* com os padrões para realização de testes de microdiluição estabelecidos pelo CLSI e pelo EUCAST (*European Committee for Antimicrobial Susceptibility Testing*) permitiu verificar a existência de um perfil de susceptibilidade antifúngica nos últimos anos. Há muitos relatos de resistência relacionados às espécies de *Sporothrix*. Estudos classificaram a suscetibilidade antifúngica de *S. schenckii*, com as MICs apresentando valores iguais ou superiores a 8 µg/mililitros (ml), sendo considerado como resistente. Em decorrência disso, espécies de *S. brasiliensis* isoladas de humanos e animais foram descritas como resistentes ao itraconazol (WALLER *et al.*, 2020).

Segundo WALLER *et al.* (2020), Espinel-Ingroff, caracterizou os valores de corte epidemiológicos (ECVs) com base nas MICs, preconizadas pelo CLSI, de agentes antifúngicos em laboratórios em todo o mundo, e esses valores permitem identificar as espécies de *Sporothrix* classificadas como não selvagem (não-WT) com a suscetibilidade reduzida ao antifúngico devido ao mecanismo mutacional adquirido ou isolados do tipo selvagem (WT), que são resistentes, mas sem mecanismo adquirido.

No estudo, foi possível observar que o *S. schenckii* no Brasil e no mundo foram classificados como isolados não-WT quando testados com ITZ, em decorrência do alto valor de MIC<sub>50</sub> (MIC do medicamento capaz de inibir 50% das cepas submetidas ao teste) e MIC<sub>90</sub> (MIC do medicamento capaz de inibir 90% das cepas). O itraconazol demonstrou uma melhor ação contra o *S. brasiliensis* em comparação com *S. schenckii*, no entanto, os altos valores de MIC deste agente antifúngico foram observados nos isolados de *S. brasiliensis* de origem animal na região Sul do Brasil, cujos valores de MIC<sub>90</sub> classificaram esses isolados como não-selvagens. Desta forma, vale ressaltar que o *S. schenckii* e o *S. brasiliensis*, classificados como cepas não-WT ao ITZ, anfotericina B, terbinafina e voriconazol, tendem a não responder bem à terapia antifúngica e, portanto, isolados potencialmente resistentes a esses agentes.

Frente aos estudos realizados acerca do tema, é possível compreender a relevância da realização dos antifungogramas e do monitoramento da resistência, uma vez que se observou o *S. brasiliensis* como uma espécie fúngica com grande capacidade de adquirir mecanismo mutacional ou de resistência. Nos estudos apresentados por WALLER *et al.* (2020), poucos focaram no mecanismo de desenvolvimento da

resistência aos antifúngicos, devendo ser realizadas mais pesquisas acerca da questão, para que ocorra o desenvolvimento de novos alvos terapêuticos e para o combate mais eficaz da esporotricose humana e animal.



## 5 MATERIAL E MÉTODOS

Trata-se de estudo prospectivo de avaliação da resistência de amostras de *S. schenckii* ao itraconazol *in vitro*, principal 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.

**Coorte estudada** - A coorte estudada foi composta de felinos (*Felis catus domesticus*), de idades, sexos e portes diversos, portadores ou não de comorbidades, assistidos pelo serviço de Clínica do IJV do Instituto Municipal de Vigilância Sanitária, Vigilância de Zoonoses e de Inspeção Agropecuária (IVISA-Rio) no período de 16 de agosto a 23 de novembro de 2023, que, após consulta clínica, foram encaminhados ao Laboratório de Zoonoses do IJV/IVISA-Rio para coleta de amostras para diagnóstico de esporotricose. A obtenção das amostras ocorreu mediante o preenchimento do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (Apêndice I) pelos responsáveis pelos animais, bem como a aplicação de um questionário preenchido no Google Forms (Apêndice II), gerando Planilhas Google, analisadas posteriormente. As amostras para pesquisa de esporotricose foram coletadas no Laboratório de Zoonoses I, como parte da rotina de diagnóstico e assistência clínico-laboratorial do IJV/IVISA-RIO.

**Crítérios 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 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. Foram selecionados isolados identificados como pertencentes ao gênero *Sporothrix* spp. através de análises macro e micromorfológicas, na rotina de diagnóstico de esporotricose do Laboratório de Zoonoses I – Bacteriologia e Micologia.

**Crítérios de Exclusão** – Não participaram da pesquisa animais (a) que apresentaram infecção reincidente por *Sporothrix* spp., (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 TCLE) a utilização dos isolados na pesquisa.

***Isolamento e identificação das amostras*** – As culturas foram realizadas a partir de amostras de exsudato de feridas coletadas com uso de *swab* estéril de algodão hidrofílico por rolamento. Os *swabs* foram devidamente identificados e usados para semeadura em ágar sabouraud com 2% 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 *Sporothrix* spp.) 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 gênero *Sporothrix* spp. (*S. brasiliensis*, *S. schenckii*, *S. mexicana*, *S. globosa*, *S. albicans* e *S. luria*).

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

***Cultivos de leveduras*** – O cultivo leveduriforme do fungo foi obtido por duas passagens sucessivas em ágar *brain heart infusion* (BHI) e incubação por 7 dias, a 37°C (GUTIERREZ-GALHARDO *et al.*, 2010).

***Avaliação da susceptibilidade ao Itraconazol pelo método de disco-difusão (Kirby & Bauer)*** – Foi realizada a disco-difusão a partir do ágar sabouraud dextrose 2% com cloranfenicol em placa, em um meio comercialmente pronto. As amostras leveduriformes foram suspensas em salina estéril (cloreto de sódio 0,9%), com a turbidez ajustada a 0,5 da escala MacFarland. A suspensão foi semeada uniformemente com auxílio de *swab* estéril sobre a superfície do meio de cultivo e sem seguida foram dispostos os discos de papel de filtro contendo itraconazol na concentração de 10 µg e as placas foram incubadas a 35-37°C por período suficiente para a formação do halo (elipse) de inibição (aproximadamente 72 horas) e o diâmetro da zona de inibição foi mensurado com auxílio de um paquímetro milimetrado digital (EUCAST, 2021). As amostras foram classificadas como sensível (S), quando apresentaram halo de inibição com diâmetro maior ou igual a 20 milímetros (mm), intermediária (I) para halos de

inibição com diâmetro entre 12-19 mm e resistente (R) com halo de inibição com diâmetro menor ou igual a 11 mm, sendo utilizados como referência os valores preconizados pelo CLSI (2015).

***Determinação das Concentrações Inibitórias Mínimas pelo método de Microdiluição em placa*** – Para o teste de suscetibilidade, foi obtida a forma de levedura do fungo e o estudo para determinar a concentração inibitória mínima será de acordo com o documento M27-A3 (CLSI, 2008) com adequações mínimas.

***Preparo do meio RPMI 1640 tamponado*** – Os inóculos serão preparados pela suspensão de cultivos leveduriformes em meio de cultivo celular Roswell Park Memorial Institute (RPMI) 1640. O pó será diluído seguindo as orientações do fabricante e tamponado com o ácido 3-[N-morfolino] propanosulfônico (MOPS) em pH 7. A solução será esterilizada por filtração em membrana de 0,22 µm, para preservação dos açúcares do meio.

***Preparo do inóculo de leveduras*** - Após a incubação, as culturas serão recuperadas com alças estéreis e adicionadas à solução salina estéril (0,85%). A solução será homogeneizada por agitação e analisada em espectrofotômetro ao comprimento de onda 530 nanômetro (nm), uma absorvância de 80-82%. Essa solução será diluída em duas etapas, nos meios 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  $5,0 \times 10^3$  unidades formadoras de colônias (UFC)/ml. Os inóculos finais serão de  $0,5 \times 10^3$  a  $2,5 \times 10^3$  UFC/ml (MEINERZ *et al.*, 2010; PINTO, 2021).

***Preparo da solução de itraconazol*** - A solução de itraconazol será diluída em dimetilsulfóxido (DMSO) na concentração de 32 µg/ml como solução estoque. No ensaio de susceptibilidade será 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 (MEINERZ *et al.*, 2010; SONG *et al.*, 2020; PINTO, 2021).

***Determinação da MIC*** - 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 (32µg/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 para os controles

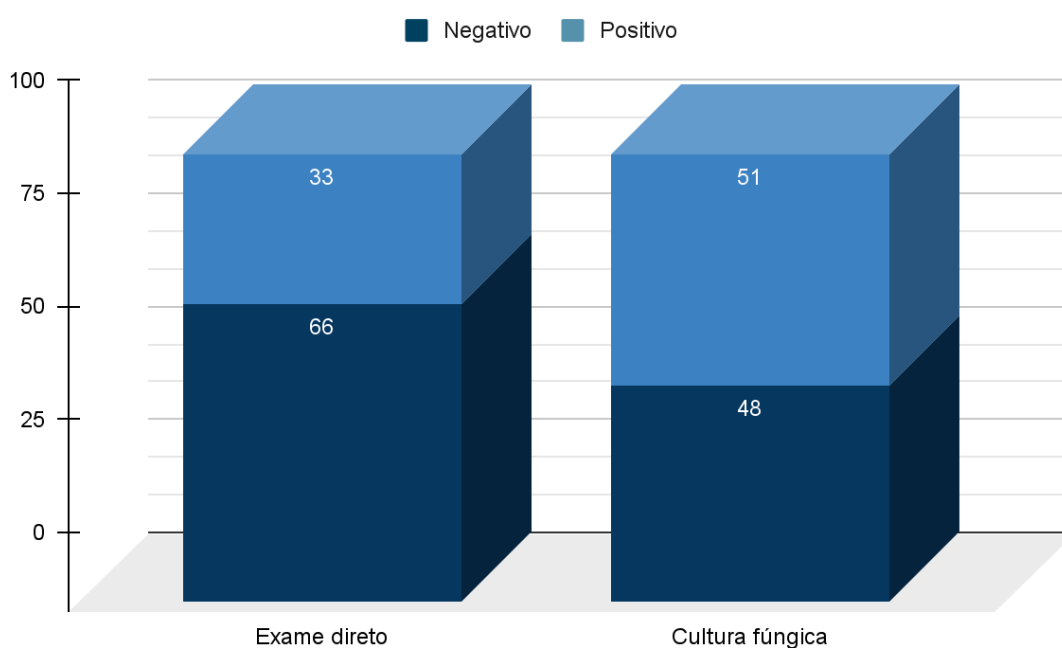
negativo (RPMI 1640) e positivo (RPMI 1640 com inóculo de levedura, sem antifúngico). A determinação da MIC será feita após a incubação das placas em estufa a 37°C por 72 horas (SONG *et al.*, 2020; PINTO, 2021). A concentração mínima será observada de acordo com o crescimento ou não do fungo por análise 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  $MIC \leq 2$  µg/ml são classificados como sensíveis e isolados com  $MIC > 2$  µg/ml, como resistentes ao itraconazol.

## 6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 6.1 Caracterização clínico-epidemiológica da coorte estudada

Foram coletados noventa e nove Termos de Consentimento Livre e Esclarecido de 16 de agosto a 23 de novembro de 2023. Dentre a população estudada e os termos coletados, 66 (66,67%) animais foram negativos e 33 (33,33%) positivos no exame direto, enquanto 51 (51,51%) animais foram positivos e 48 (48,49%) negativos na cultura fúngica (Gráfico 1).

**Gráfico 1** - Resultados dos exames direto e de cultura fúngica para esporotricose.



Fonte: autora, 2024.

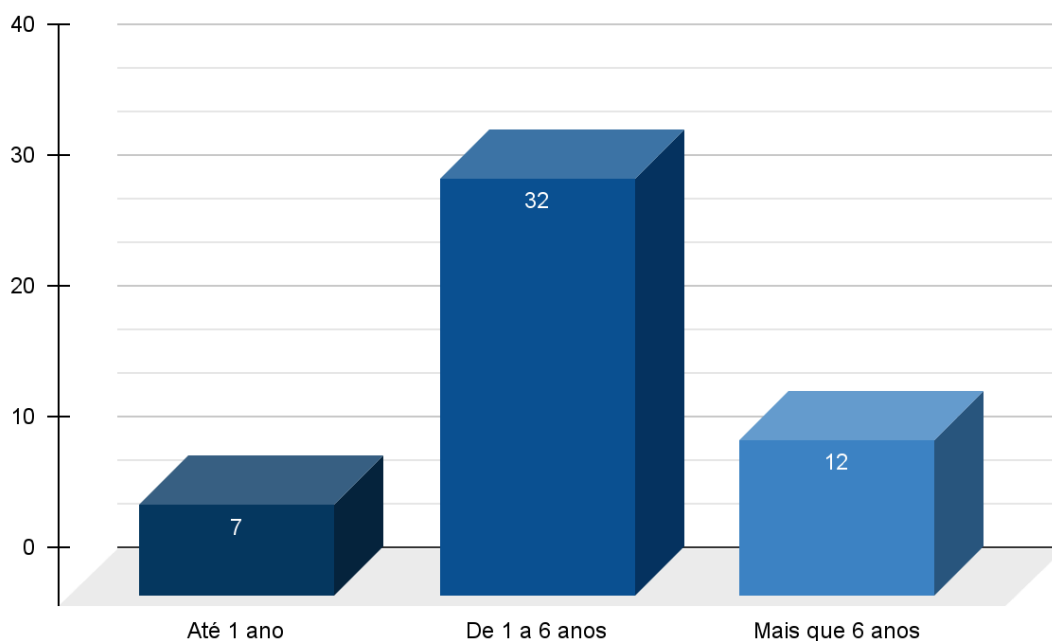
Conforme o artigo de LIMA *et al.* (2019), a cultura fúngica é o exame padrão-ouro para o diagnóstico de esporotricose, sendo assim, o exame direto é considerado como de baixa sensibilidade, podendo gerar resultados falsos negativos. Apesar da sensibilidade relativamente baixa, em comparação ao cultivo micológico, o exame direto oferece, especialmente nos casos de infecções em felinos, vantagens que justificam sua realização sendo recomendada em todos os casos. A rapidez na execução, permitindo que, nos casos positivos o diagnóstico seja confirmado em menos de uma hora, corrobora para o sucesso terapêutico, uma vez que o tutor pode sair do serviço com o diagnóstico confirmado, e o animal pode receber a medicação para o tratamento. Adicionalmente, a análise microscópica pode fornecer informações relevantes para a

orientação da conduta terapêutica a ser estabelecida, como a intensidade da produção de leveduras, presença, tipo e intensidade de infiltrados celulares, sinais da ocorrência de infecções bacterianas oportunistas concomitantes, presença de anomalias celulares sugestivas de processos imunomediados e/ou neoplásicos, presença de outros tipos fúngicos etc.

No estudo, conforme o esperado, foi possível observar que mais animais tiveram resultado positivo na cultura fúngica do que pelo exame direto. Todos os animais positivos na citologia foram confirmados com crescimento em pelo menos um dos meios de cultivo utilizados na rotina de diagnóstico. Para as demais análises, todos os animais positivos na cultura fúngica foram considerados nos resultados deste estudo.

Em relação à distribuição etária dos animais positivos (Gráfico 2), apenas 7 (13,72%) tinham até 1 ano, 32 (62,74%) tinham entre 1 e 6 anos e 12 (23,53%) tinham acima de 6 anos.

**Gráfico 2** - Distribuição etária dos felinos positivos para esporotricose na cultura fúngica.



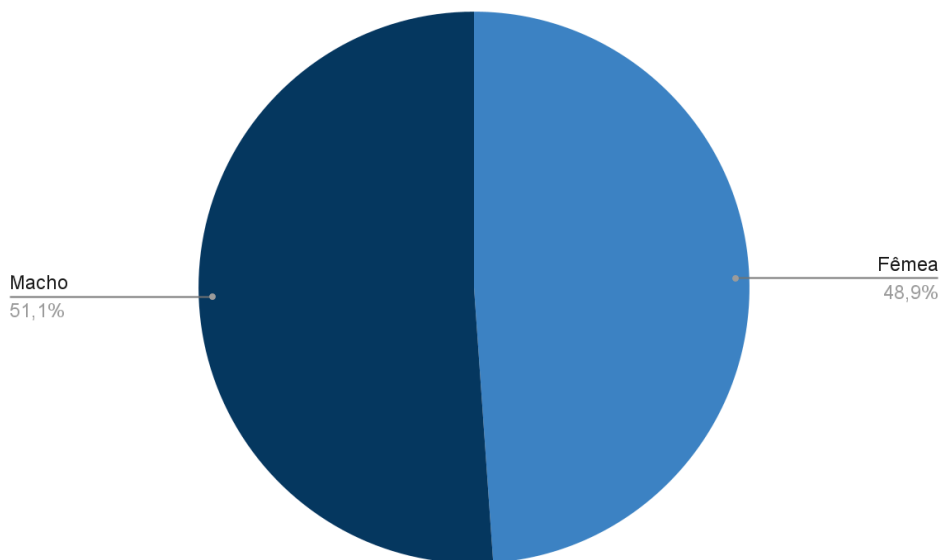
Fonte: autora, 2024.

De acordo com MACÊDO-SALES *et al.* (2018), a doença afeta principalmente animais jovens no período reprodutivo em consequência de disputas territoriais e por fêmeas, quando ocorrem arranhões ou mordidas que podem transmitir a esporotricose entre os felinos. Os achados corroboram com o encontrado na literatura, no entanto,

animais de qualquer faixa etária podem se infectar e transmitir a doença.

Dentre os felinos positivos, 23 (51,1%) eram machos e 22 (48,9%) eram fêmeas (Gráfico 3) e dentre esses, 27 animais (52,9%) eram castrados e 24 (47,1%) não eram castrados no momento da entrevista (Gráfico 4).

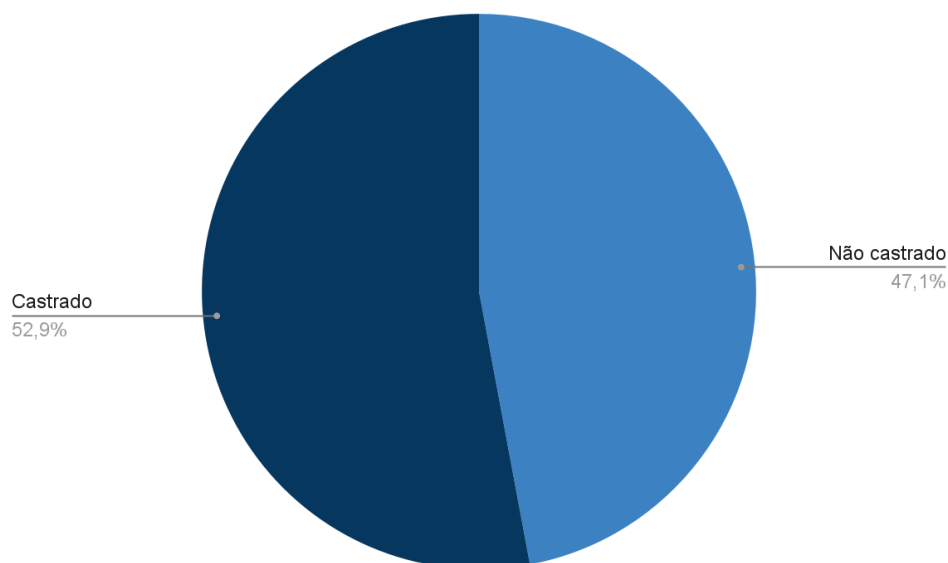
**Gráfico 3** - Sexo dos animais positivos para esporotricose na cultura fúngica.



Fonte: autora, 2024.

Ainda segundo o artigo de MACÊDO-SALES *et al.*, (2018), a doença afeta principalmente machos não castrados, devido ao comportamento de brigas e territorialismo. No trabalho de GONÇALVES *et al.* (2019), também é relatado que o gato é considerado o principal agente transmissor da zoonose no país, e os machos, adultos e jovens, sem raça definida e não castrados, que têm acesso à rua, são os mais acometidos e envolvidos na dispersão do fungo, transmitindo-o a outros animais e seres humanos. É possível observar que os resultados encontrados na pesquisa contemplam uma pequena diferença entre os casos de acordo com o sexo ou se o felino já era castrado ou não, não sendo, contudo, diferença significativa, isto parece se dever ao fato de a maioria dos animais participantes do trabalho ser constituída de animais domiciliados, uma subpopulação com menor probabilidade de participação de lutas por disputas territoriais.

**Gráfico 4** - Distribuição dos animais positivos para esporotricose na cultura fúngica quanto a esterilização cirúrgica.



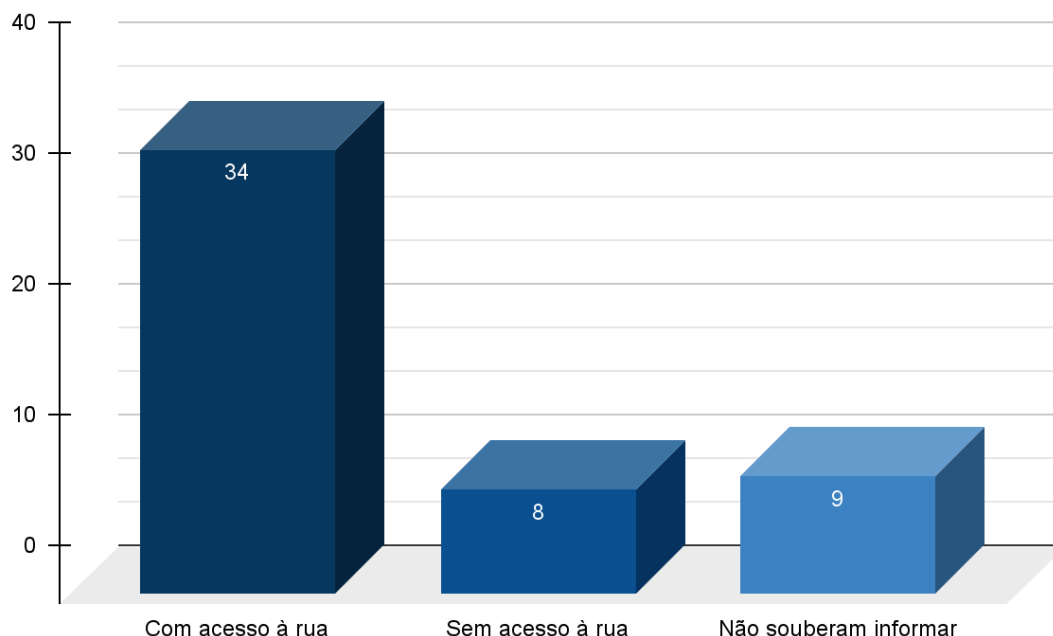
Fonte: autora, 2024.

Quanto à raça, todos os animais diagnosticados com esporotricose foram identificados como Sem Raça Definida (SRD), destacando-se que na área de abrangência do Instituto de Medicina Veterinária Jorge Vaitsman (IJV/IVISA-Rio), gatos SRD são muito representados. De acordo com GONÇALVES *et al.* (2019), a doença afeta principalmente os SRDs e também no estudo de BAZZI *et al.* (2016), que 7 em 10 animais acometidos pela doença eram sem raça definida, não havendo correlação da raça com a gravidade da doença nos casos relatados.

Acerca do acesso à rua (Gráfico 5), informações dos tutores, 34 animais (66,7%) tinham livre acesso à rua, 6 não possuíam acesso à rua, 2 estavam abrigados em gatil e também não possuíam acesso à rua (15,6%), e 9 (17,6%) não souberam informar.



**Gráfico 5** - Animais positivos na cultura fúngica que possuíam ou não acesso à rua, segundo informação dos tutores, até o momento da entrevista.



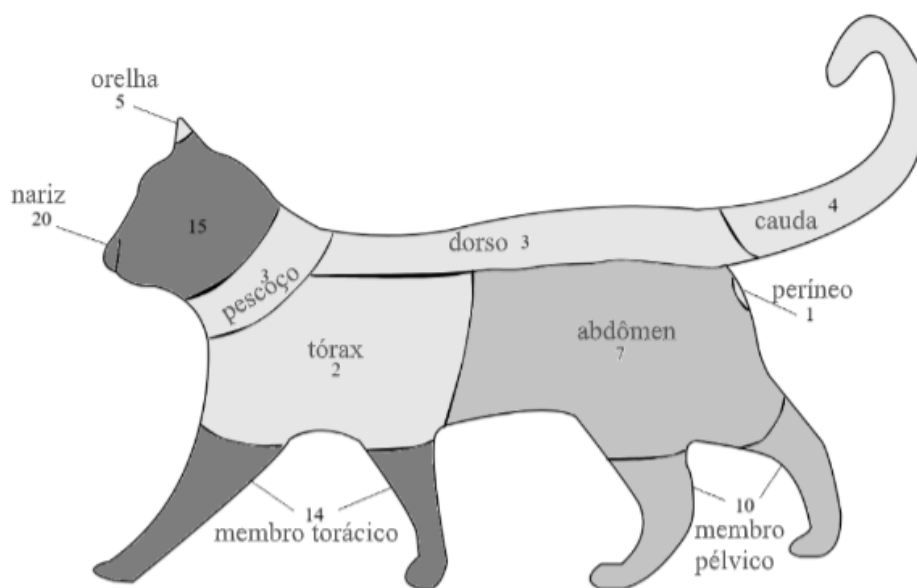
Fonte: autora, 2024.

Como dito anteriormente, na pesquisa de GONÇALVES *et al.* (2019), o acesso à rua é caracterizado como um forte fator de risco para a esporotricose e ressalta-se a importância da guarda responsável para prevenir não apenas a esporotricose, mas outras doenças zoonóticas e não zoonóticas que podem afetar os felinos.

No presente estudo, mais da metade dos animais com esporotricose tiveram acesso à rua e, conseqüentemente, exposição a animais positivos ou carregando o fungo, bem como áreas contaminadas, que foram fontes de infecção para a doença. Tendo em vista a importância desses animais na dispersão da doença e na transmissão para outros animais e humanos, restringir o acesso à rua dos felinos domésticos é fundamental no combate à esporotricose.

Em relação às lesões causadas pela esporotricose (Figura 9), foi possível observar que foram distribuídas nos animais da seguinte maneira: 20 lesões afetaram o nariz dos animais positivos, 15 afetaram a cabeça, 5 a orelha, 3 o pescoço, 2 o tórax, 3 o dorso, 7 o abdômen, 14 o membro torácico, 10 o membro pélvico, 4 a cauda e 1 o períneo.

**Figura 9** - Número e distribuição das lesões nos animais positivos para esporotricose na cultura fúngica.



Fonte: autora, 2024.

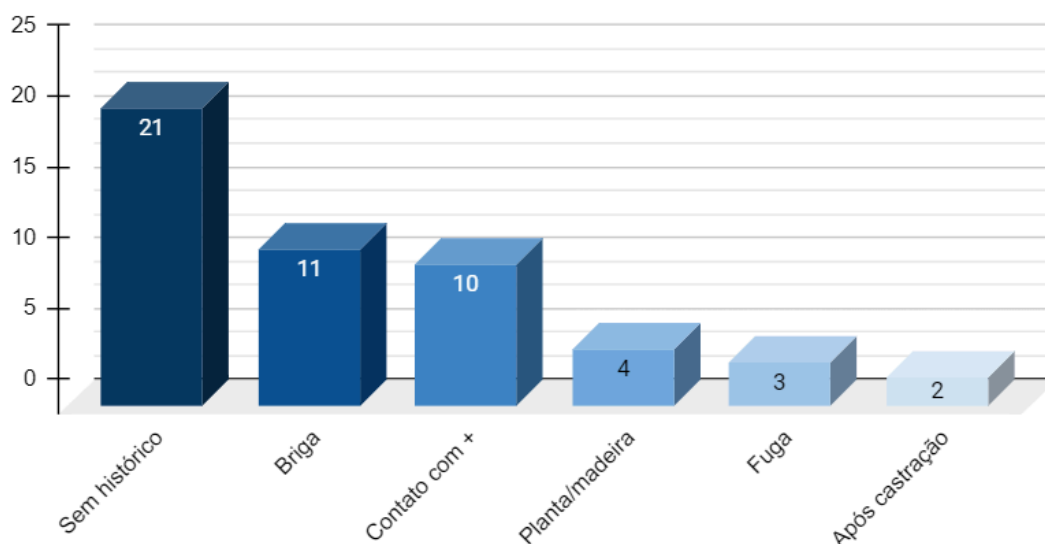
As lesões na cabeça, nariz e extremidade são comuns, segundo MACÊDO-SALES *et al.*, (2018), pois são regiões mais afetadas por arranhões durante as brigas, e foram também as regiões de lesões mais relatadas no presente estudo, representadas na figura pelas cores mais escuras.

Em relação à disseminação das lesões, pudemos observar que 9 animais possuíam lesão pontualmente apenas no nariz, conhecida popularmente como “nariz de palhaço”, se apresentando de maneira ulcerada e/ou com inchaço, comumente relatada na esporotricose felina e além desses animais com lesões no nariz, 7 animais possuíam lesão apenas no membro torácico, 6 apenas na cabeça, 3 na orelha, 1 no dorso, 3 no membro pélvico, 1 pescoço e 1 no períneo, totalizando 31 (60,78%) animais com lesões únicas, e os 20 (39,22%) demais, com lesões em mais de uma região corporal. De acordo com NAKASU *et al.* (2021), a apresentação de formas graves da doença, com múltiplas lesões cutâneas disseminadas, é comum em casos felinos do Sudeste e Sul do Brasil, o que não foi observado no presente estudo.

Acerca de algum evento que precedeu a doença (Gráfico 6), segundo os tutores, 21 (41,17%) animais não possuíam histórico, 11 (21,56%) animais se infectaram a partir de brigas com outros animais de rua, 10 (19,60%) a partir de contato com outro animal positivo, 4 (7,86%) se infectaram com a doença a partir de contato com planta, espinho

ou madeira, 3 (5,88%) apareceram com lesões após uma fuga e outros 2 (3,93%) após procedimento de castração.

**Gráfico 6** - Evento que precedeu a esporotricose nos animais positivos na cultura fúngica.



Fonte: autora, 2024.

Uma expressiva parte dos tutores não sabiam responder acerca do evento que pode ter acarretado a doença nos animais, tendo em vista que a esporotricose possui uma progressão lenta e gradual, e o tutor pode não associar um evento passado com as lesões identificadas tempo depois, além disso, muitos animais já foram resgatados com as lesões que não cicatrizaram e tiveram o diagnóstico positivo para a doença.

Podemos observar que muitos tutores relataram que o felino com esporotricose surgiu com as feridas após ter acesso à rua, como visto previamente, e em que houve o envolvimento em brigas com outros felinos. Como dito no estudo de GONÇALVES *et al.* (2019) anteriormente, o acesso à rua e, consequentemente, as brigas territoriais e por fêmeas, são um fator de risco importante no ciclo de transmissão da doença nesses animais. Segundo GREMIÃO *et al.* (2020 b), a principal fonte de infecção da esporotricose para os gatos domésticos, e também para os humanos, é por mordidas e arranhões de um felino infectado, sendo de suma importância ressaltar novamente a importância da guarda responsável a fim de combater a esporotricose bem como outras doenças de importância para a saúde animal e para a saúde pública.

Segundo a dissertação de VIANA (2016), a doença pode ocorrer também por meio do contato corporal com gatos com esporotricose e/ou contato com ambiente

contaminado com o agente etiológico. De acordo com GREMIÃO *et al.* (2020 b), geralmente a presença de pelo menos dois gatos por domicílio é relatada na maioria dos casos.

No presente estudo, o contato com animais positivos, sem que tenha ocorrido briga entre esses animais, foi o segundo maior evento relatado que precedeu a esporotricose nos felinos, enquanto o ambiente contaminado, como plantas, solo e madeiras, que também é relatado como forma de transmissão, expressou uma porcentagem menor dos casos.

Os relatos de início da esporotricose após castração podem ser explicados tanto pelo instrumental utilizado na cirurgia ou fômites e/ou materiais em procedimentos cirúrgicos, contaminados com o fungo, ou mesmo após o procedimento, em que o contato da ferida cirúrgica é porta de entrada para o agente presente no ambiente, conforme caso relatado por CORGOZINHO *et al.* (2006).

Acerca do tempo de evolução das lesões relatado pelos tutores (Tabela 1), 9 (17,64%) não possuíam histórico, 13 (25,49%) tinham menos de 1 mês de evolução, 21 (41,18%) tinham entre 1 a 3 meses de evolução, 5 (9,80%) entre 4 a 6 meses, 1 (1,97%) entre 7 meses a 1 ano e 2 (3,92%) mais de 1 ano de evolução.

**Tabela 1** - Tempo de evolução das lesões de esporotricose relatado pelos tutores.

Tempo de evolução das lesões	Nº de casos
Sem histórico	9 (17,64%)
Menos de 1 mês	13 (25,49%)
Entre 1 mês a 3 meses	21 (41,18%)
Entre 4 meses a 6 meses	5 (9,80%)
Entre 7 meses a 1 ano	1 (1,97%)
Mais de 1 ano	2 (3,92%)
Total	51 (100%)

Fonte: autora, 2024.

Cerca de dois terços dos animais acometidos participantes da pesquisa demonstram uma evolução gradativa da doença, conforme o relatado pelos tutores, entre 1 e 3 meses de evolução (66,67%). Este resultado parece se dever ao fato de que muitos dos tutores participantes da pesquisa frequentarem o IJV/IVISA-Rio há muito tempo e já conhecerem a evolução da esporotricose, por terem experiência anterior com outros animais também em tratamento, o que pode explicar menor tempo de evolução em relação aos relatados por outros autores.

## 6.2 Análise da resistência *in vitro* pelo método de disco-difusão

Os ensaios de disco-difusão (Figura 10) com o itraconazol foram realizados com 31 amostras coletadas dos isolados de *Sporothrix* e as amostras foram classificadas como sensível (S) (halo de inibição com diâmetro maior ou igual a 20 milímetros), intermediária (I) (halo de inibição com diâmetro entre 12-19 mm) e resistente (R) (halo de inibição com diâmetro menor ou igual a 11 mm) sendo utilizados como referência os valores preconizados pelo CLSI (2015).

**Figura 10** - Teste de disco-difusão, demonstrando sensibilidade do *Sporothrix* spp. ao itraconazol.



Fonte: autora, 2024.

Dentre os isolados analisados, 11 (35,48%) amostras foram consideradas sensíveis, 14 (45,16%) intermediárias e 6 (19,36%) resistentes ao itraconazol (Tabela 2).

**Tabela 2** - Medição dos halos em milímetros (mm) da disco-difusão com itraconazol das amostras de *Sporothrix* spp.

Classificação	Diâmetro do halo de inibição (mm)	Percentual das amostras (%)
Sensível	$\geq 20,0$	35,48 (11)
Intermediário	$11 < \varnothing < 20,0$	45,16 (14)
Resistente	$\leq 11,0$	19,36 (6)
Total		100% (31)

Fonte: autora, 2024.

No estudo, não caracterizamos o *Sporothrix* de acordo com a espécie, no entanto, SCHECHTMAN *et al.* (2022) discorre que o *S. brasiliensis* é a espécie mais frequente no país. Nos casos confirmados, cerca de 96,5% são causados pelo *S. brasiliensis*. Ainda segundo os autores, o *S. brasiliensis* apresenta uma maior virulência, no entanto, não parece ter maior resistência a antifúngicos. Porém, podemos observar que outros estudos, como o de WALLER *et al.* (2021), já apontam a farmacoresistência (Figura 11), como uma grande questão no tratamento da doença.

**Figura 11** - Teste de disco-difusão, demonstrando resistência do *Sporothrix* spp. ao itraconazol.



Fonte: autora, 2024.

No levantamento feito por XAVIER *et al.* (2019), 287 felinos foram tratados para esporotricose e desses quase 40% apresentaram resistência quando tratados apenas com itraconazol, enquanto associando o itraconazol com outros medicamentos, obteve-se uma maior eficácia em animais refratários, pois, possivelmente a resposta aos tratamentos realizados com associações sejam mais efetivas devido ao fato de que os agentes antifúngicos agirem em diferentes sítios de ação, abrangendo o espectro e oferecendo uma resposta sinérgica ao uso, melhorando a resposta terapêutica, porém, em contrapartida, aumentando os efeitos adversos.

No trabalho de WALLER *et al.* (2021), foi relatada resistência em 34,5% (10/29) dos isolados de *S. brasiliensis* destacou o surgimento de isolados resistentes ao itraconazol em casos de animais no Sul do Brasil. Já NAKASU *et al.* (2021), relata 12 casos de resistência ao itraconazol também na região Sul, devido a abandono do tratamento e erros terapêuticos, alertando para a necessidade de testes de susceptibilidade antifúngica *in vitro* em casos de felinos de regiões endêmicas, para adequar protocolos terapêuticos e tomar medidas para prevenir a disseminação de clones resistentes ao itraconazol entre animais e humanos.

Em nosso trabalho os casos foram previamente selecionados e apenas animais que não haviam sido anteriormente tratados com itraconazol foram avaliados, diante desta conjuntura, um percentual de quase 20% de casos resistentes pode ser considerado bastante elevado, o que alerta para a necessidade imperiosa de monitoramento da resistência em amostras clínicas do *Sporothrix* spp. no município do Rio de Janeiro e para a elucidação dos processos que corroboram para este importante mecanismo de patogenicidade.

De acordo com WALLER *et al.* (2020), em uma revisão de estudos, poucos focaram no mecanismo de desenvolvimento dessa farmacoresistência, que ainda não foi totalmente elucidado, mas algumas hipóteses apontam para a produção de melanina, baixa diversidade genética devido ao número anormal de cromossomos e para mutações no citocromo P450, sendo necessário que esses estudos se aprofundem para serem exploradas também novas opções terapêuticas.

### **6.3 Análise da resistência *in vitro* pelo método de microdiluição**

Não foi possível realizar, no presente estudo, a análise para a determinação das concentrações inibitórias mínimas pelo método de microdiluição em placa devido à indisponibilidade dos recursos necessários em tempo hábil para a realização da análise.

## 7 CONCLUSÃO

É possível ressaltar a importância da resistência dos isolados de *Sporothrix* spp. tendo em vista que a esporotricose é uma zoonose de grande dimensão para a saúde pública no território carioca, que vive uma das mais importantes epidemias de caráter zoonótico nas duas últimas décadas.

Tendo em vista essa relevância, mais estudos acerca dos mecanismos de resistência do *Sporothrix* spp. devem ser realizados, bem como a implementação de antifungigrama na rotina clínica pode auxiliar o clínico em um protocolo terapêutico mais adequado, a fim de uma cura clínica mais rápida e eficaz, reduzindo também a transmissão e propagação da esporotricose.

Deve-se enfatizar que a guarda responsável é uma ferramenta importante na prevenção da doença, pois o livre acesso à rua é um dos fatores de risco de grande importância para a disseminação da esporotricose.

O IJV/IVISA-Rio é uma importante instituição de referência no enfrentamento da esporotricose e, portanto, a introdução da prática de monitoramento da resistência ao itraconazol na rotina de diagnóstico da esporotricose nesta Unidade de Saúde pode impactar positivamente o conjunto de ações para o controle da doença, contribuindo para o sucesso terapêutico em pacientes portadores de agentes resistentes ao itraconazol, pela detecção precoce da resistência e introdução de outros antifúngicos na terapia, reduzindo o tempo de tratamento do animal e, conseqüentemente, reduzindo o tempo de exposição do tutor ao agente infeccioso, bem como a eliminação de formas resistentes para o ambiente. Tendo em vista que uma das principais causas do abandono da terapia é o longo período de tratamento, quanto mais cedo o animal infectado com o agente resistente receber a terapia adequada a sua situação, menor a chance de ocorrer abandono do tratamento.

O método de disco-difusão se mostrou eficaz, rápido e muito prático na identificação de amostras resistentes, podendo ser utilizado para monitoramento da resistência em amostras do *Sporothrix* spp. Uma vez que o agente tenha sido isolado o resultado da análise da resistência pode ser liberado em 7 a 10 dias.

Adicionalmente, o custo relativamente baixo e a prévia disponibilidade da maioria dos materiais necessários ao desenvolvimento dos ensaios corroboram para sua utilização como ferramenta de monitoramento. Atualmente os insumos necessários para a realização dessa análise podem ser obtidos comercialmente como produtos nacionais não sofrendo influência de flutuações de câmbio e retenções em barreiras alfandegárias



que comprometem o cumprimento de prazos de entrega, conforme ocorrido com alguns dos insumos necessários para os ensaios de microdiluição.

Mais estudos para investigação dos mecanismos de resistência do *Sporothrix* spp. devem ser realizados para a elucidação dos processos envolvidos bem como para a elaboração de novas estratégias de enfrentamento da doença.

## REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, Adriana J. *et al.* Esporotricose em felinos domésticos (*Felis catus domesticus*) em Campos dos Goytacazes, RJ. **Pesq. Vet. Bras.**, [s. l.], v. 38, n. 7, p. 1438-1443, 2018. DOI <https://doi.org/10.1590/1678-5150-PVB-5559>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/pvb/a/W4y6kRMWDxZ5XKwjnqgVWKv/?format=html#>. Acesso em: 06 abr. 2023.
- BARBOSA, G. S. **Estratégia de diagnóstico, suscetibilidade antifúngica e epidemiologia da esporotricose**. Orientador: Oliane Maria Correia Magalhães. 2020. 62 f. Dissertação (Mestrado em Biologia de Fungos) - Universidade Federal de Pernambuco, [S. l.], 2020.
- 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.
- BAZZI, Talissa *et al.* Características clínico-epidemiológicas, histomorfológicas e histoquímicas da esporotricose felina. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, [s. l.], v. 36, n. 4, p. 303-311, 7 fev. 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0100-736X2016000400009>. Acesso em: 06 abr. 2023.
- BISON, I.; PARENTONI, R. N.; BRASIL, A. W. L. Metanálise de esporotricose felina: Um destaque para sua ocorrência no Brasil. **Ars Veterinaria**, Jaboticabal, SP, v. 36, n. 4, p. 301-315, 2020. DOI <http://dx.doi.org/10.15361/2175-0106.2020v36n4p301-315>. Disponível em: <http://143.0.151.14/ars/article/view/1303/1323>. Acesso em: 06 abr. 2023.
- BrCAST** - Método de Disco-Difusão para Teste de Sensibilidade aos Antimicrobianos Versão 9.0, janeiro de 2021 do EUCAST. Versão para o português em 24/6/2021-<http://brcast.org.br/>
- CARDOSO, Tadeu Campioni Morone *et al.* Perfil clínico-epidemiológico de felinos domésticos notificados com esporotricose no município de São Paulo no ano de 2020. **BEPA. Boletim Epidemiológico Paulista**, v. 20, p. 1-14, 2023.
- CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION - CDC. ***Sporothrix brasiliensis***. [S. l.], 2020. Disponível em: <https://www.cdc.gov/fungal/port/sporotrichosis/brasiliensis.html>. Acesso em: 06 abr. 2023.
- 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.
- CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE (CLSI). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing, M-100, 29rd ed. Wayne, PA: **Clinical and Laboratory Standards Institute**, 2015.

CORGOZINHO, K.B. *et al.* Um caso atípico de esporotricose felina. **Acta Scientiae Veterinariae**. 34: 167-170, 2006.

DE SOUSA, J.O. *et al.* Análise parasitológica da areia das praias urbanas de João Pessoa/PB. **Revista Brasileira de Ciências da Saúde**, v. 18, n. 3, p. 195-202, 2015. DOI <https://doi.org/10.4034/RBCS.2014.18.03.02>.

ESPINEL-INGROFF, A. *et al.* Multicenter, international study of MIC/MEC distributions for definition of epidemiological cutoff values for *Sporothrix* species identified by molecular methods. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 61, n. 10, p. 10.1128/aac. 01057-17, 2017.

FERREIRA, J.S. **Caracterização fenotípica de cepas dentro do complexo *Sporothrix schenckii* e correlação com as formas clínicas da esporotricose**. Orientador: Zélia Braz Vieira da Silva Pontes. 2018. 66 f. Trabalho de conclusão de curso (Bacharelado em Farmácia) - Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa.

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, Colômbia. **Mycopathologia**, v. 184, p. 53–63, 2019.

GONÇALVES, J.C. *et al.* Esporotricose, o gato e a comunidade. **Enciclopédia Biosfera**, v. 16, n. 29, p. 769-787, 2019.

GREMIÃO, I. D. F. *et al.* Zoonotic epidemic of sporotrichosis: Cat to human transmission. **PLOS Pathogens**, v.13(1), p. 1-7, 2017.

GREMIÃO, I. D. F. *et al.* Geographic Expansion of Sporotrichosis, Brazil. **Emerging Infectious Diseases**, v. 26, n. 3, p. 621–624, 2020 a.

GREMIÃO, I. D. F. *et al.* Guideline for the management of feline sporotrichosis caused by *Sporothrix brasiliensis* and literature revision. *Brazilian Journal of Microbiology*, 52 (1), 107-124, 2020 b.

GUEDES, F. E. B. **Complexo *Sporothrix schenckii* e esporotricose, uma atualização da literatura**. Orientador: Guilherme Maranhão Chaves. 2022. 40 f. Trabalho de conclusão de curso (Bacharelado em Farmácia) - Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal.

GUTIERREZ-GALHARDO, M. C. *et al.* 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.

HOOGE, G. S.; GUARRO, J.; GENÉ, J.; FIGUERAS, M. J. *Atlas of Clinical Fungi*. 2 ed. The Netherlands and Spain: Centraalbureau voor Schimmelcultures/Universitat Rovira i Virgili, 2001.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (ed.). **Pesquisa Nacional de Saúde 2019**: Informações sobre domicílios, acesso e utilização dos serviços de saúde. Rio de Janeiro: IBGE, 2020. 85 p. ISBN 978-65-872-0118-4.

INSTITUTO PET BRASIL. **Censo Pet IPB: com alta recorde de 6% em um ano, gatos lideram crescimento de animais de estimação no Brasil, 2022**. Disponível em: <http://institutopetbrasil.com/fique-pordentro/amor-pelos-animais-impulsiona-os-negocios-2-2/> Acesso em: 06 abr. 2023.

INSTITUTO PET BRASIL. **País tem 3,9 milhões de animais em condição de vulnerabilidade**. Disponível em: <http://institutopetbrasil.com/imprensa/pais-tem-39-milhoes-de-animais-em-condicao-de-vulnerabilidade/> Acesso em: 07 abr. 2023.

JUVINO, M.I.R.L. **Percepção de discentes de cursos de graduação da Universidade Federal da Paraíba - Campus I sobre os fungos**. 2022. 58 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Ciências Biológicas) - Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa.

LARSSON, C. A. Esporotricose. **Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.**, São Paulo, v. 48, n. 3, p. 250-259, 2011.

LIMA, R. M. *et al.* Esporotricose brasileira: desdobramentos de uma epidemia negligenciada. **Rev. APS.**, [s. l.], v. 22, n. 2, p. 405-422, 2019. DOI <https://doi.org/10.34019/1809-8363.2019.v22.16496>. Disponível em: <https://periodicos.ufjf.br/index.php/aps/article/view/16496/20794>. Acesso em: 20 abr. 2023.

LOPES, Jhamisson Ribeiro. **A esporotricose: uma micose causada pelo fungo dimórfico *Sporothrix* sp.** Orientador: Karen Spadari Ferreira. 2018. 47 f. Trabalho de conclusão de curso (Bacharelado em Farmácia) - Universidade Federal de São Paulo, Diadema, 2018.

MACÊDO-SALES, P. A. *et al.* Diagnóstico laboratorial da esporotricose felina em amostras coletadas no estado do Rio de Janeiro, Brasil: limitações da citopatologia por imprint. **Rev Pan-Amaz Saude**, 9(2):13-19, 2018.

MARIMON, R. *et al.* *Sporothrix brasiliensis*, *S. globosa*, and *S. mexicana*, three new *Sporothrix* species in clinical interest. **J. Clin. Microbiol.** 2007. v.45(10), p. 3198-3306.

MARTINS, I.B.V. *et al.* Esporotricosis transmitted by *Felis catus*: 4 Cases report. **Clinics Biopsychosocial**. 2023; 01(1):000-000. DOI <http://doi.org/10.36311/jhgd.v01.0000>

MATHIAS, L.S. ***Sporothrix* spp. e a bioatividade de extrato de *Capsicum annuum* L., análogos sintéticos da capsaicina e moléculas sintéticas não convencionais: multiavaliação de resposta in vitro e em modelo invertebrado**. Orientador: Olney Vieira da Motta. 2014. 235 f. Tese (Doutorado em Ciência Animal) - Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campos dos Goytacazes, 2014.

MENNA BARRETO, Nicole Borba. **Esporotricose no Distrito Federal: Descrição de casos**. 2018. 55 p. Monografia (Graduação em Medicina Veterinária) - Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Brasília, Brasília, 2018.

MENEZES, W. B. **Meu pet morreu, e agora? uma análise acerca da destinação de animais domésticos de estimação no município de Natal-RN à luz da legislação brasileira**. Orientador: Marise Costa de Souza Duarte. 2021. 49 f. Monografia (Graduação em Direito) - Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal.

MEINERZ, A.R.M. *et al.* Avaliação dos métodos de ETEST e microdiluição em caldo para o estudo da susceptibilidade do *Sporothrix schenckii* com o itraconazol. **Ci. Anim. Bras.**, Goiânia, v. 11, n. 2, p.344-348, abr/jun. 2010.

MICHELON, L. *et al.* Dados epidemiológicos da esporotricose felina na região sul do Rio Grande do Sul: uma abordagem em saúde pública. **Braz. J. Hea. Rev.**, Curitiba, v. 2, n. 6, p. 4874-4890 nov./dec. 2019.

MIRANDA, L.H.M. *et al.* Monitoring Fungal Burden and Viability of *Sporothrix* spp. in Skin Lesions of Cats for Predicting Antifungal Treatment Response. **Journal of Fungi**, [s. l.], v. 4, 2018. DOI <https://doi.org/10.3390/jof4030092>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2309-608X/4/3/92>. Acesso em: 09 abr. 2023.

MONCRIEFF, A. *et al.* Different virulence levels of the species of *Sporothrix* in a murine model. **Clin. Microbiol. Infect.** v.15, p. 651-655, 2009.

MYCOBANK. [S. l.], 2023. Disponível em: <https://www.mycobank.org/page/Simple%20names%20search>. Acesso em: 21 abr. 2023.

NASCIMENTO, J.M.V. **Estudo de intervenção em educação em saúde: uma estratégia para a redução do abandono de tratamento na esporotricose felina**. Orientador: Sandro Antonio Pereira. 2019. 90 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas, Rio de Janeiro, 2019. Disponível em: <https://www.arca.fiocruz.br/bitstream/icict/48573/2/000247346.pdf>. Acesso em: 09 abr. 2023.

NAKASU, C.C.T. *et al.* Feline sporotrichosis: a case series of itraconazole-resistant *Sporothrix brasiliensis* infection. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 52, p. 163–171, 2021. DOI <https://doi.org/10.1007/s42770-020-00290-5>

OROFINO-COSTA, Rosane *et al.* Sporotrichosis: an update on epidemiology, etiopathogenesis, laboratory and clinical therapeutics. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, Rio de Janeiro, Brazil, v. 92, ed. 5, p. 606-620, 2017.

PEREIRA, S. A. *et al.* 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.

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.

QUAMMEN, David. **Spillover: Animal Infections and the Next Human Pandemic.** [S. l.]: W. W. Norton & Company, 2012. 587 p. ISBN 0393346617.

REIS, E.G. *et al.* Association of itraconazole and potassium iodide in the treatment of feline sporotrichosis: a prospective study. **Medical Mycology**, [s.l.], v. 54, p. 684-690, 2016. DOI <https://doi.org/10.1093/mmy/myw027>. Disponível em: <https://www.arca.fiocruz.br/handle/icict/32488> Acesso em: 09 abr. 2023.

REZNIK, A. U. **Esporotricose felina.** Universidade Estadual Paulista (Unesp), 2023. Disponível em: <http://hdl.handle.net/11449/239203>

RIBEIRO, U.R.; PINTO, P.N.; CHAVES, B.R. **ESPOROTRICOSE FELINA E SEU IMPACTO NA SAÚDE PÚBLICA.** In: X Colóquio Técnico Científico de Saúde Única, Ciências Agrárias e Meio Ambiente - Online, 2023. Disponível em: <https://www.doity.com.br/anais/x-cscm/trabalho/261436> Acesso em: 06 abr. 2023.

RIO DE JANEIRO. **Resolução nº 674, de 12 de julho de 2013.** Redefine a relação de doenças e agravos de notificação compulsória no âmbito do Estado do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro, 12 jul. 2013. Disponível em: <http://www.rio.rj.gov.br/dlstatic/10112/4364979/4115670/ResolucaoSESN674DE12.07.2013.pdf>. Acesso em: 09 abr. 2023.

ROCHA, R. F. D. B. *et al.* Refractory feline sporotrichosis treated with itraconazole combined with potassium iodide. **Journal of Small Animal Practice**, [s.l.], v. 59, p. 720-721, 2018. DOI <https://doi.org/10.1111/jsap.12852>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29708594/>. Acesso em: 09 abr. 2023.

ROSA, G. N. **Fungos e sua relação com a sobrevivência humana, animal e reciclagem de ecossistemas.** 2021. 14 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Ciências Biológicas) - Universidade Santo Amaro, São Paulo.

RUPASINGHE, R.; CHOMEL, B. B.; MARTÍNEZ-LÓPEZ, B. Climate change and zoonoses: A review of the current status, knowledge gaps, and future trends. **Acta Tropica**, 2022.

SANTOS, Renato de Lima; ALESSI, Antônio Carlos. Patologia veterinária. **São Paulo: Roca**, p. 855-880, 2010.

SANTOS, Paula de Paiva. **A necessidade de consolidação dos fundamentos dos direitos dos animais domésticos no Brasil: bem-estar animal, combate aos maus-tratos e ao abandono.** Orientador: Gabriela Garcia Batista Lima Moraes. 2021. 160 p. Dissertação (Mestrado em Direito, Estado e Constituição) - Universidade de Brasília, Brasília, 2021.

SCHECHTMAN, R. C. *et al.* Esporotricose: hiperendêmica por transmissão zoonótica, com apresentações atípicas, reações de hipersensibilidade e maior gravidade. **An. Bras. Dermatol.**, 97:1-13, 2022.

SHWABE, Calvin. **Veterinary Medicine and Human Health**. [S. l.]: The Williams & Wilkins Company, 1964.

SILVA, M.B.T. **Distribuição sócio-espacial da esporotricose humana de pacientes atendidos no Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas no período de 1997 a 2007, residentes no Estado do Rio de Janeiro**. Orientador: Rosely Magalhães de Oliveira. 2010. 132 f. Dissertação (Mestre em Ciências na área de Saúde Pública) - Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca, Rio de Janeiro, 2010.

SILVA, Cláudia Elise Ferraz. **Esporotricose humana em Pernambuco: apresentação clínica, identificação e sensibilidade das espécies, avaliação dos testes diagnósticos e resposta terapêutica**. Orientador: Vera Magalhães. 2018. 196 f. Tese (Doutorado em Medicina Tropical) - Universidade Federal de Pernambuco, Pernambuco, 2018.

SONG, Y. *et al.* 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.

VIANA, P. G. **Esporotricose canina: estudo epidemiológico, clínico e terapêutico na região metropolitana do Rio de Janeiro (2004 – 2014)**. Orientador: Martha Cecília Suarez Mutis. 77 f. Dissertação (Pós-graduação em Medicina Tropical) - Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2016.

WALLER, S. B. *et al.* Antifungal resistance on *Sporothrix* species: an overview. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 52, n. 1, p. 73–80, 2020.

WALLER, S. B. *et al.* Susceptibility and resistance of *Sporothrix brasiliensis* to branded and compounded itraconazole formulations. **Brazilian Journal of Microbiology**, 2021. doi:10.1007/s42770-020-00280-7

WILKINSON, G. T.; HARVEY, R. G. Dermatoses psicogênica. **Atlas colorido de dermatologia dos pequenos animais**, p. 255-258, 1996.

WORLD ORGANIZATION FOR ANIMAL HEALTH – WOAH. **One Health: Controlling global health risks more effectively**. [S. l.], 2015. Disponível em: <https://www.woah.org/en/what-%20we-do/global-initiatives/one-health/>. Acesso em: 06 abr. 2023.

XAVIER, J. R. B. *et al.* Revisão sobre a resistência ao tratamento da esporotricose em felinos com itraconazol - resultados parciais. **XXI Encontro de pós-graduação (Enpos)**, 2019.

## APÊNDICE I - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO



### TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE)

Você está sendo convidado (a) a participar como voluntário (a) da pesquisa intitulada "Estudo comparativo da susceptibilidade de fungos do complexo *Sporothrix schenckii* isolados de felinos domésticos assistidos no Centro de Medicina Veterinária Jorge Vaitzman ao itraconazol por disco-difusão e microdiluição", desenvolvida pela Dra. Cintia Silva dos Santos (CJV/IVISA-Rio) e por Yasmin Luzorio de Souza (CJV/IVISA-Rio), cujo objetivo é comparar a susceptibilidade dos fungos que causam Esporotricose no município do Rio de Janeiro apresentam resistência ao Itraconazol e quais métodos podem ser utilizados para detectar e avaliar precocemente esta resistência.

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

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 Yasmin Luzorio de Souza, no telefone (21) 98239-0668, pelo e-mail luzorioyasmin@gmail.com, 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 segunda via 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 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.

Pesquisador responsável: \_\_\_\_\_

Rio de Janeiro, de de 2023.



## APÊNDICE II - FICHA DE REGISTRO DE ENTREVISTA



**FICHA DE REGISTRO DE ENTREVISTA**

TCR Yasmin Luzorio - Susceptibilidade de fungos do Complexo *Sporothrix schenckii* ao itraconazol pelos métodos de Disco Difusão e Microdiluição

luzorioyasmin@gmail.com [Alternar conta](#)

 Não compartilhado 

Prontuário

Sua resposta

**Identificação do animal**

Idade \*

☐ Até 1 ano

☐ Acima de 1 ano até 6 anos

☐ Acima de 6 até 12 anos

☐ Acima de 12 anos

Sexo \*

☐ Macho

☐ Fêmea

## Castrado \*

- ☐ Sim
- ☐ Não

## Raça \*

- ☐ SRD
- ☐ Persa
- ☐ Siamês

## Estado nutricional \*

- ☐ Obeso
- ☐ Sobrepeso
- ☐ Ideal
- ☐ Magro
- ☐ Caquético

## Procedência \*

- ☐ Gatil
- ☐ Casa sem acesso a rua
- ☐ Apartamento sem acesso a rua
- ☐ Casa com livre acesso a rua
- ☐ Apartamento com livre acesso a rua
- ☐ Animal Comunitário
- ☐ Adotado (não sabe informar)

## Área onde o animal vive \*

- ☐ Urbana
- ☐ Rural
- ☐ Outra

Possíveis fontes ambientais de infecção \*

- ☐ Grama
- ☐ Terra
- ☐ Plantas em vasos
- ☐ Tecidos, madeiras, papelão ou outros inservíveis
- ☐ Lixo orgânico ou adubo
- ☐ Não foram identificadas possíveis fontes

Com que frequência o animal coça as lesões (escala de 0 a 10, sendo 0 nunca e 10 a intensidade máxima)? \*

- ☐ 0 (nunca)
- ☐ 1-2
- ☐ 3-4
- ☐ 5-6
- ☐ 7-8
- ☐ 9-10 ( o tempo todo, não dorme)

Tem contato com outros animais \*

- ☐ Não
- ☐ Cão
- ☐ Gato
- ☐ Cão e Gato
- ☐ Outro: \_\_\_\_\_

Tem contato com outros animais que apresentem problemas de pele? \*

- ☐ Sim
- ☐ Não
- ☐ Não sabe informar

O tutor ou alguém de sua família, apresentou lesões após contato com o animal <sup>\*</sup> afetado?

- ☐ Sim
- ☐ Não
- ☐ Não sabe informar

Que tipo de contato? <sup>\*</sup>

- ☐ Nenhum
- ☐ Arranhadura
- ☐ Mordedura
- ☐ Lambida sobre lesão aberta
- ☐ Dorme com o animal na cama
- ☐ Limpa as feridas do animal sem luvas ou outra barreira

Está em tratamento? <sup>\*</sup>

- ☐ Sim
- ☐ Não
- ☐ Outro: \_\_\_\_\_

Este animal já teve esporotricose? <sup>\*</sup>

- ☐ Sim
- ☐ Não
- ☐ Não sabe informar
- ☐ Outro: \_\_\_\_\_

Algum evento procedeu ao início do processo? \*

Sua resposta

Coadjuvante ao quadro cutâneo há sinais clínicos sistêmicos?

- ☐ Sim
- ☐ Não
- ☐ Não sabe informar
- ☐ Outro: \_\_\_\_\_

Aspecto das lesões do animal

- ☐ Erosões/úlceras
- ☐ Bolhas/vesículas
- ☐ Cicatriz
- ☐ Cistos
- ☐ Crostas
- ☐ Descamação
- ☐ Depigmentação
- ☐ Eritema
- ☐ Hiperpigmentação
- ☐ Fissuras
- ☐ Fístula
- ☐ Máculas
- ☐ Mancha
- ☐ Massas
- ☐ Nódulos

- ☐ Pápulas
- ☐ Placas
- ☐ Pus
- ☐ Pústulas
- ☐ Sangue
- ☐ Tumefação
- ☐ Vegetações
- ☐ Outro: \_\_\_\_\_

#### Localização das lesões no animal

- ☐ Cabeça
- ☐ Nariz
- ☐ Membro torácico
- ☐ Membro pélvico
- ☐ Pescoço
- ☐ Abdomen
- ☐ Disseminada
- ☐ Cauda
- ☐ Dorso
- ☐ Escroto
- ☐ Períneo
- ☐ Tórax
- ☐ Outro: \_\_\_\_\_

Tempo de evolução das lesões

Sua resposta

O animal já fez ou faz tratamento com itraconazol?

☐ Sim

☐ Não

O animal apresenta alguma comorbidade?

Sua resposta

Resultado do exame direto (citologia)

☐ Positivo

☐ Negativo

☐ Não realizado

Resultado do cultivo micológico

☐ Positivo

☐ Negativo

☐ Não realizado

[Voltar](#)

[Enviar](#)

[Limpar formulário](#)

**APÊNDICE III - QUADRO DE MEDIÇÃO DE HALOS DE INIBIÇÃO PELO  
ITRACONAZOL DE AMOSTRAS DE *Sporothrix* spp.**

N.º da amostra	Halo em mm	Classificação
1	14,2	I
2	18,8	I
3	0	R
4	19,9	I
5	22	S
6	15	I
7	12,9	I
8	12,5	I
9	25,2	S
10	11,9	R
11	20,9	S
12	18,7	I
13	0	R
14	18	I
15	14,6	I
16	20,1	S
17	27,3	S
18	22,4	S
19	28,8	S
20	25,5	S
21	22,8	S
22	0	R
23	23,7	S



N.º da amostra	Halo em mm	Classificação
24	17,2	I
25	22,5	S
26	16,7	I
27	14,5	I
28	12,9	I
29	0	R
30	14,1	I
31	0	R



PREFEITURA MUNICIPAL DO RIO DE JANEIRO  
SECRETARIA MUNICIPAL DE SAÚDE  
INSTITUTO MUNICIPAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, VIGILÂNCIA DE ZOOSES E DE INSPEÇÃO AGROPECUÁRIA  
COORDENAÇÃO GERAL DE INOVAÇÃO, PROJETOS, PESQUISA E EDUCAÇÃO SANITÁRIA  
PROGRAMA DE RESIDÊNCIA PROFISSIONAL E MULTIPROFISSIONAL EM MEDICINA VETERINÁRIA E VIGILÂNCIA SANITÁRIA

#### ATA DE DEFESA

##### **Ata de Sessão Pública nº 03/2024 de arguição e defesa do Trabalho de Conclusão de Residência do Programa de Residência Uniprofissional de Medicina Veterinária em Vigilância Sanitária**

Aos 21 dias do mês de fevereiro de 2024, às 14:30h, realizou-se no Centro de Treinamento do Humaitá, a sessão pública para arguição e defesa do Trabalho de Conclusão de Residência intitulado *Avaliação da susceptibilidade de fungos do Complexo Sporothrix schenckii ao Itraconazol pelo método de disco-difusão em felinos do município do Rio de Janeiro*, apresentado por **Yasmin Luzorio de Souza**, sob orientação de **Cintia Silva dos Santos**. A Banca Examinadora aprovada pelo Programa de Residência Uniprofissional de Medicina Veterinária em Vigilância Sanitária foi constituída pelos seguintes membros:

**Dra. Cintia Silva dos Santos - Presidente da Banca examinadora**

**Dra. Liliane Simpson Lourêdo - Membro interno**

**Dra. Vivian dos Santos Baptista - Membro externo**

Após arguição e defesa da residente, a Banca Examinadora passou à arguição pública e realizou o seu julgamento.

#### PARECER:

A comissão decidiu pela:

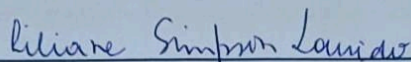
- ☒ Aprovação
- ☐ Aprovação condicionada às modificações
- ☐ Reprovação

Para constar do processo respectivo, a Banca Examinadora elaborou a presente ata, que vai assinada por todos os seus membros.

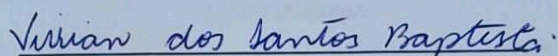
Observações da Banca: (Recomendações de modificações, ajustes, sugestões de publicações, outros comentários; se necessário anexar folhas adicionais com parecer detalhado)

*A defesa teve o local de realização modificado para o Auditório do Complexo Regulador do Hospital Souza Aguiar em fase de evento com bloqueio de ruas públicas no Bairro do Humaitá Rua nº 62A.*

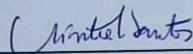
---



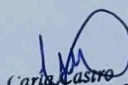
Assinatura do Membro Interno  
(Dra. Lillane Simpson Lourêdo)



Assinatura do Membro externo  
(Dra. Vivian dos Santos Baptista)



Assinatura da orientadora  
(Dra. Cíntia Silva dos Santos)



Coordenadora do Programa de Residência  
Uniprofissional em Vigilância Sanitária  
S/IVISA-RIO/CGIPE  
Matrícula: 11/319479-2

**Dra. Carla Oliveira de Castro**  
Coordenadora do Programa de Residência Uniprofissional de Medicina Veterinária  
em Vigilância Sanitária  
S/IVISA-RIO/CGIPE  
Matrícula: 11/319479-2